

Διαφάνειες Παραδόσεων Οινολογίας 2015-16

10. Ένζυμα στην οινοποίηση

Πρόλογος

Οι διαφάνειες παραδόσεων – σημειώσεις είναι υπό επεξεργασία.

Υπάρχουν οι παρακάτω ενότητες

1. Οίνος και Ελληνικός πολιτισμός
2. Κατηγορίες και τύποι κρασιών. Οίνοι στον κόσμο
3. Το σταφύλι. Σύσταση γλεύκους
4. Επισκόπηση οινοποιήσεων
5. Επισκόπηση κατεργασιών οίνου
6. Ο θειώδης ανυδρίτης
7. Ζυμομύκητες γλεύκους και οίνου. Αλκοολική ζύμωση
8. Βακτήρια γλεύκους και οίνου. Μηλογαλακτική ζύμωση
9. Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου
10. Ένζυμα στην οινοποίηση
11. Σύσταση οίνου
12. Οξείδωση οίνου
13. Ανάλυση οίνου
14. Οργανοληπτική εξέταση οίνου
15. Οίνος και υγεία

Ιωάννης Ρούσσης

ΕΝΖΥΜΑ ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ



ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΣΤΟ ΓΛΕΥΚΟΣ

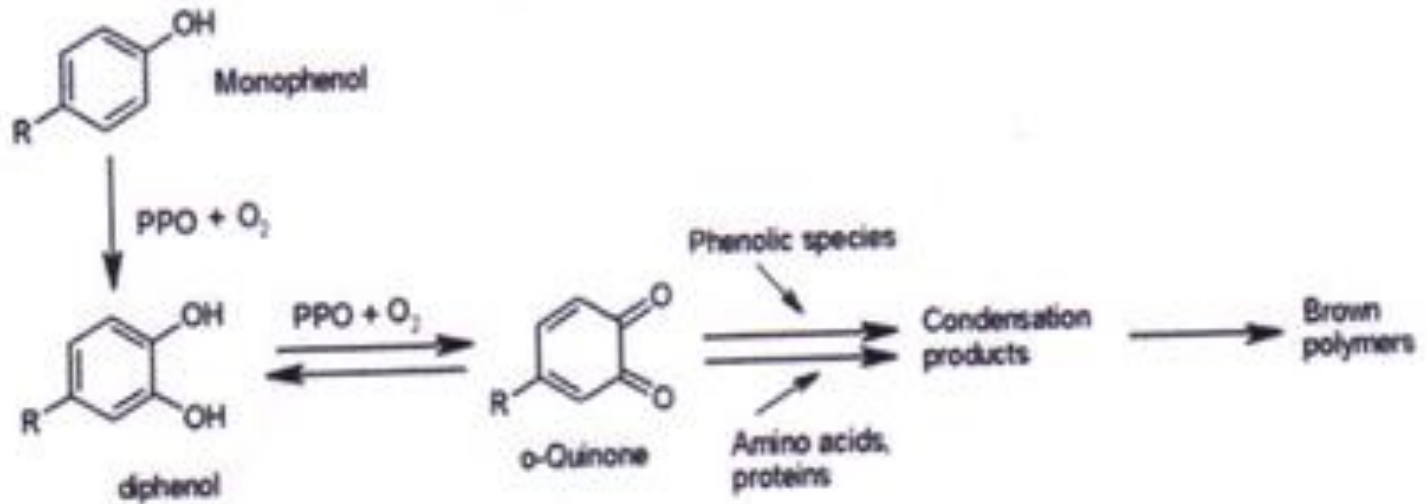
Η οξείδωση στο γλεύκος είναι ενζυμικό φαινόμενο. Τα οξειδωτικά ένζυμα είναι η πολυφαινυλοξειδάση και η λακκάση. Η πολυφαινυλοξειδάση είναι φυσικά υπάρχον ένζυμο, ενώ η λακκάση παράγεται από τον μύκητα *Botrytis cinerea* (φαιά σήψη).

Υποστρώματα είναι φαινολικά συστατικά, ενώ επίσης το οξυγόνο είναι απαραίτητο.

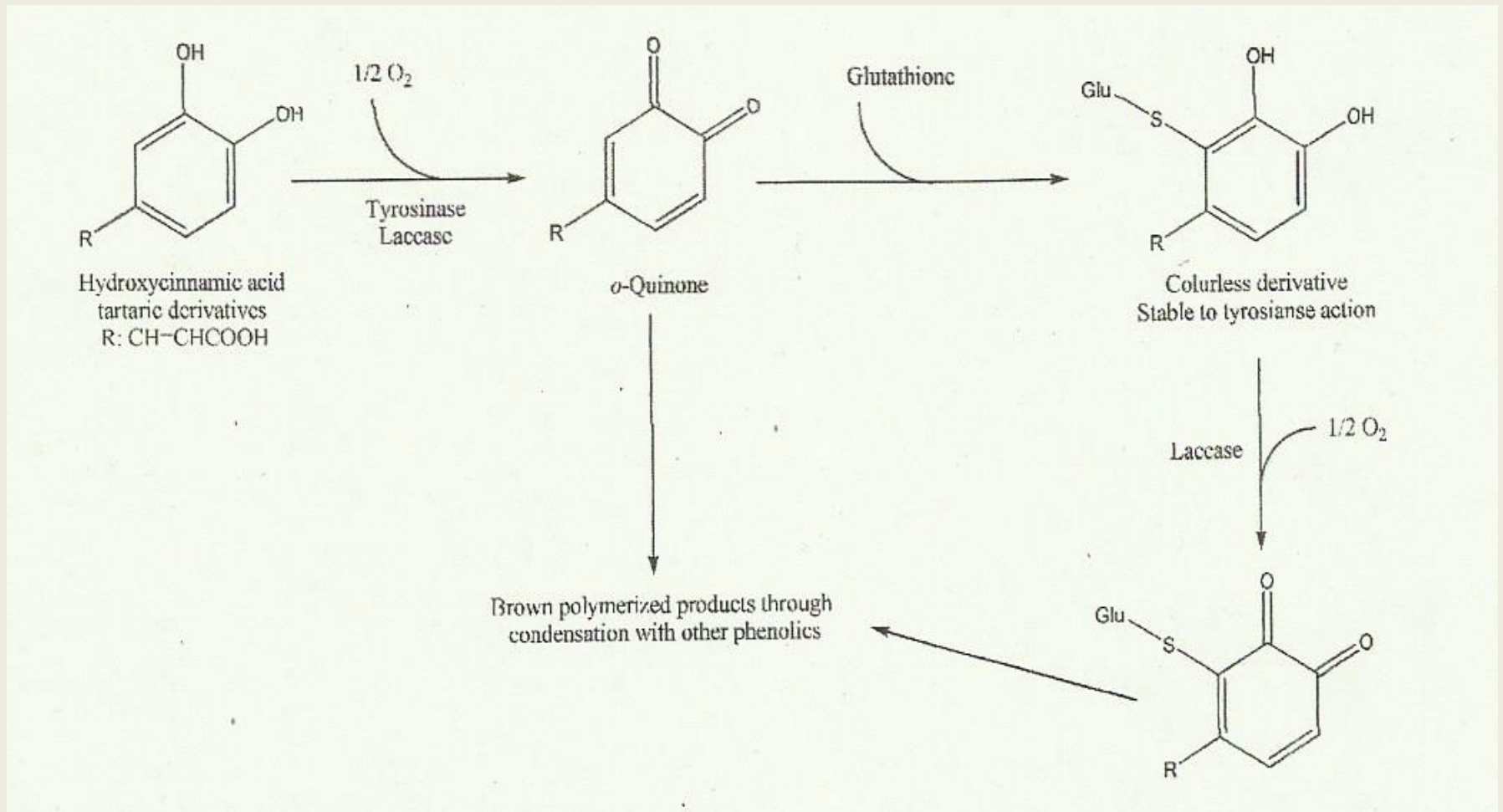
Με τη δράση κρεσολάσης μονοφαινόλες μετατρέπονται σε διφαινόλες, και με τη δράση κατεχολάσης οι διφαινόλες σε κινόνες.

Η γλουταθειόνη αναστέλει την οξείδωση / καστάνωση (browning) με σχηματισμό trans-γλουταθειονυλ-καφταρικού οξέος (καφταρικό οξύ = καφεουλ-τρυγικό οξύ), που είναι άχρωμο παράγωγο σχετικά σταθερό στην οξείδωση.

Όμως, στη συνέχεια η οξείδωση συνεχίζεται, όπως με δράση λακκάσης. Ο θειώδης ανυδρίτης είναι αναστολέας της οξείδωσης, όπως και το ασκορβικό οξύ.



Αντιδράσεις ενζυμικής καστάνωσης (browning) στο γλεύκος.



Σχηματισμός γλουταθειονυλ-καφταρικού οξέος, παραγώγου σχετικά σταθερού στην οξείδωση.

ΛΙΠΟΞΕΙΔΑΣΗ (ΛΙΠΟΞΕΙΓΕΝΑΣΗ)

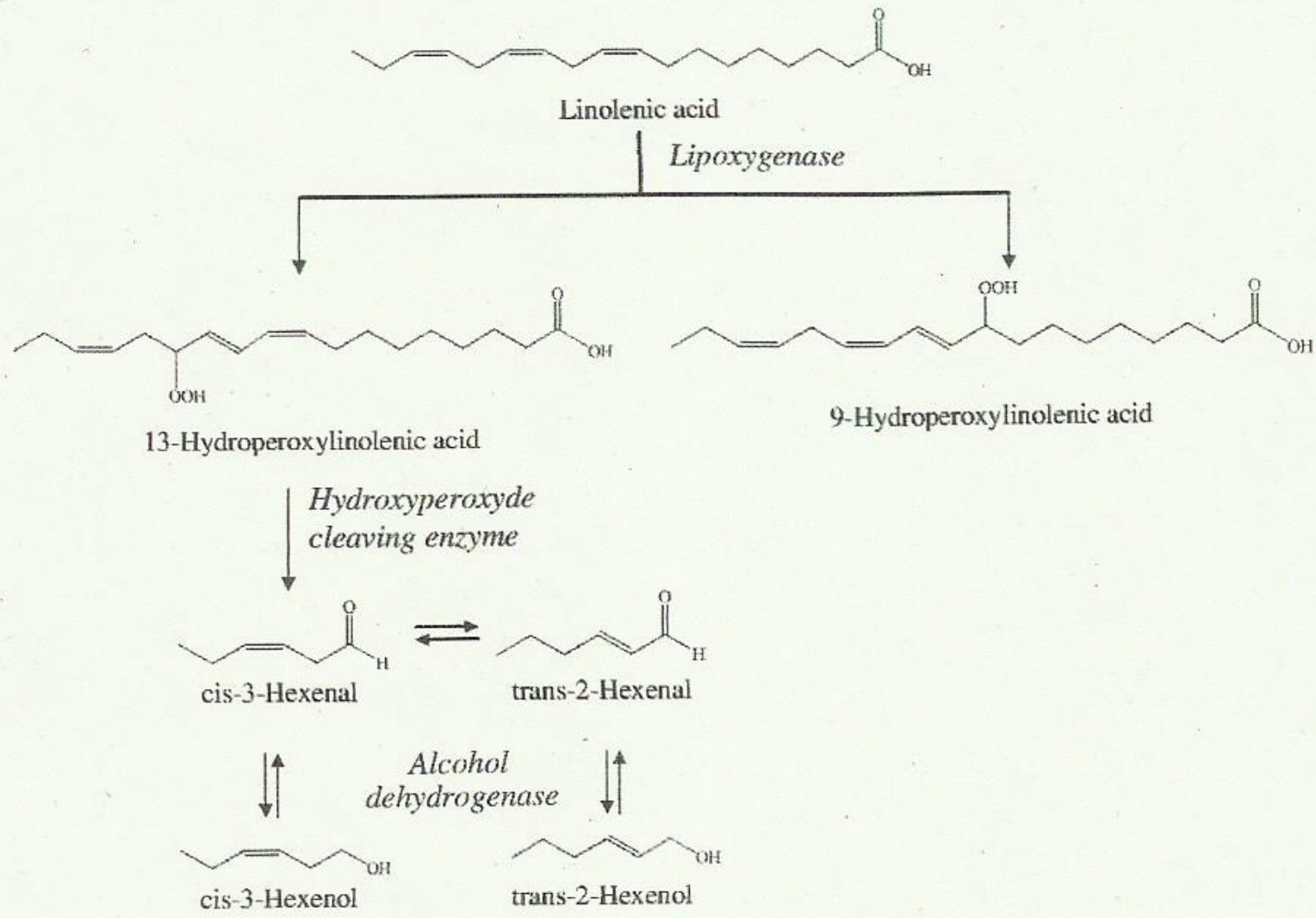
Κατά το προζυμωτικό στάδιο της οινοποίησης, με δράση λιποξειγενάσης σχηματίζεται ομάδα πτητικών ενώσεων με έξι άτομα άνθρακα. Στην ομάδα αυτή είναι οι εξανάλη, εξανόλη, *cis*-3-εξενόλη, *trans*-2-εξενόλη, και *cis*- και *trans*-ισομερή της

2- και 3-εξενάλης. Αυτές, ανάλογα με τη συγκέντρωση έχουν αρνητική επίδραση στο flavour προσδίδοντας οσμή χόρτου, βοτάνου.

Οι παραπάνω ενώσεις σχηματίζονται από το λινολενικό οξύ (βρίσκεται στο γλεύκος) με δράση λιποξειγενάσης που ακολουθείται από δράση άλλων ενζύμων (ένζυμο διάσπασης υδρουπεροξειδίων, αλκοολική δευδρογονάση).

Συγκεκριμένα, με τη δράση λιποξειδάσης σχηματίζονται υπεροξειδα, και με επακόλουθη δράση ενζύμου διάσπασης υπεροξειδίων στο 13-υπεροξειδίο λινελαικού οξέος σχηματίζεται

cis-3-εξανάλη. Αυτή μερικώς ισομεριώνεται προς *rans*-2-εξανάλη. Στη συνέχεια, οι αλδεύδες μετασχηματίζονται στις αντίστοιχες αλκοόλες με δράση αλκοολικής δευδρογονάσης. Με παρόμοιο μηχανισμό συμβαίνει σχηματισμός εξανάλης και εξανόλης από το λινελαικό οξύ.



Σχηματισμός πτητικών ενώσεων με έξι άτομα άνθρακα από το λινελαικό οξύ, με ενζυμικές δράσεις.

ΕΝΖΥΜΑ ΓΙΑ ΔΙΑΥΓΑΣΗ ΚΑΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗ

Πηκτινολυτικά ένζυμα

Τα κύρια ένζυμα που χρησιμοποιούνται στη οиноποίηση είναι τα πηκτινολυτικά ένζυμα. Τα πηκτινολυτικά ένζυμα των σταφυλιών δεν είναι δραστικά στις συνθήκες οиноποίησης (pH και θειώδης ανυδρίτης). Μυκητιακά πηκτινολυτικά ένζυμα, όμως, είναι ανθεκτικά στις συνθήκες οиноποίησης. Έτσι, χρησιμοποιούνται ένζυμα από *Aspergillus niger* και *Trichoderma*.

Η χρήση πηκτινολυτικών ενζύμων είναι χρήσιμη

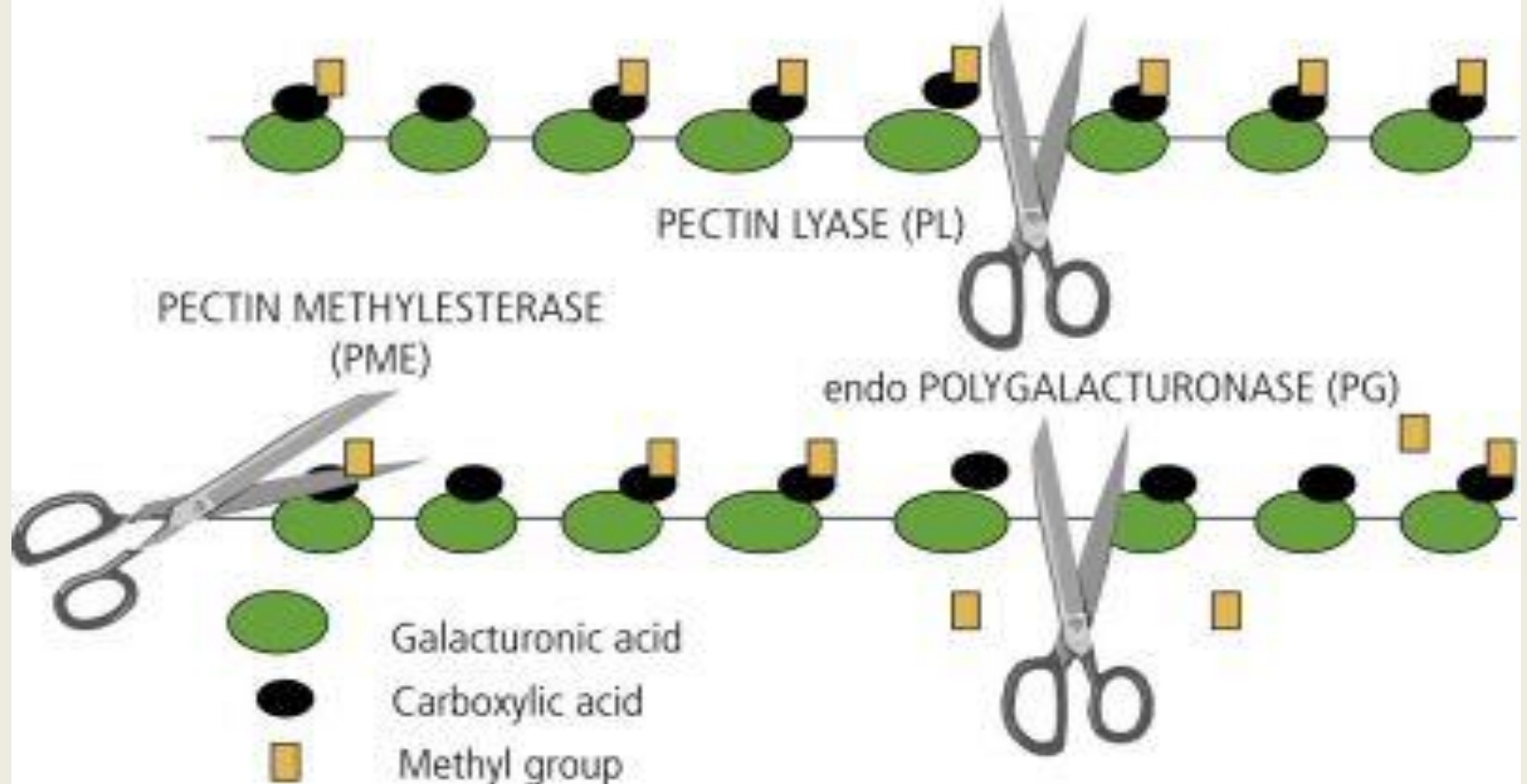
- α) για τη διαύγαση. Αυτό καθόσον οι πηκτίνες δρουν ως προστατευτικά κολλοειδή, και
- β) για εκχύλιση περισσότερου χυμού, και εκχύλιση συστατικών αρώματος και χρώματος.

Ως μίγματα με πηκτινολυτικά ένζυμα χρησιμοποιούνται ημικυτταρινάσες από *Aspergillus niger* και γλουκανάσες από *Trichoderma harzianum*, για διάσπαση των αντίστοιχων μεγαλομοριακών ενώσεων.

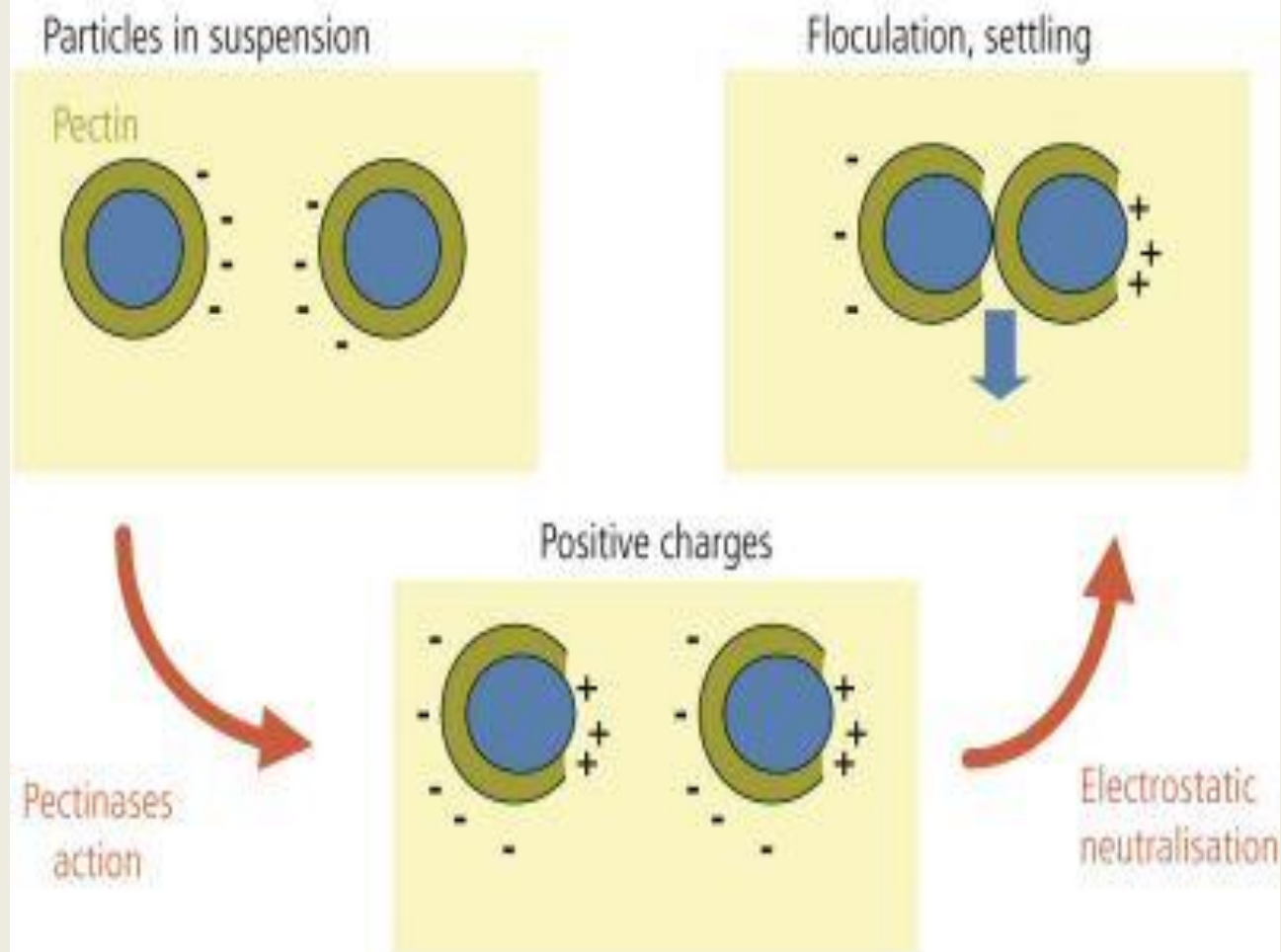
Στη λευκή οινοποίηση τα παραπάνω ένζυμα χρησιμοποιούνται για διαύγαση και εκχύλιση χυμού και ενώσεων αρώματος. Ενώσεις αρώματος όπως τερπενόλες, νορ-ισοπρενοειδή και πεντανόνες βρίσκονται κυρίως στους φλοιούς.

Στην ερυθρή οινοποίηση τα παραπάνω ένζυμα χρησιμοποιούνται στην εκχύλιση, με επιπλέον στόχο την εκχύλιση χρώματος.

Mode of action of the main pectolytic enzymes



Mechanism of enzymatic settling



Καταβύθιση πηκτινών με ενζυμική δράση.

Κάποια παρασκευάσματα πηκτινολυτικών ενζύμων περιέχουν κινναμυλ-εστεράση. Το ένζυμο αυτό μαζί με κινναμυλ-αποκαρβοξυλάση (που έχουν κάποιοι ζυμομύκητες και *Brettanomyces*) παράγουν από υδροξυκινναμωμικά οξέα πτητικές βινυλ-φαινόλες, που μπορεί να έχουν αρνητική επίδραση στο άρωμα λευκών οίνων. Έτσι, καλό είναι τα παρασκευάσματα πηκτινολυτικών ενζύμων να είναι ελεύθερα κινναμυλ-εστεράσης.

ΕΝΖΥΜΑ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΑΡΩΜΑΤΟΣ

Γλυκοσιδάσες

Στα σταφύλια και στο γλεύκος υπάρχουν ενώσεις αρώματος που είναι γλυκοζιτικά δεσμευμένες.

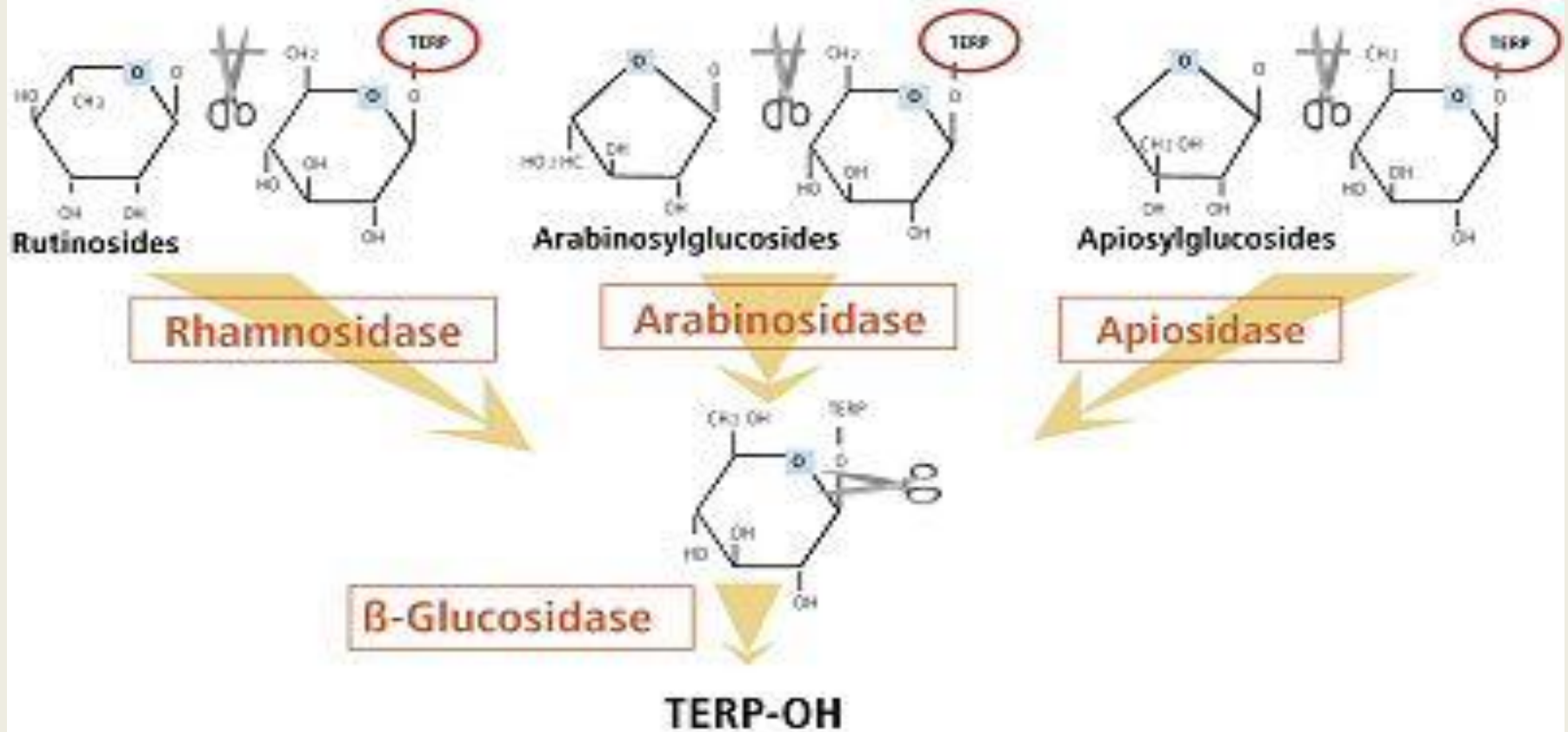
Η απελευθέρωση των γλυκοζιτικά δεσμευμένων αρωματικών ενώσεων μπορεί να επιτευχθεί είτε μέσω μιας διαδικασίας όξινης κατάλυσης είτε μέσω της δράσης γλυκοσιδασών. Ωστόσο, η όξινη υδρόλυση είναι αργή. Με ένζυμα, γλυκοσιδάσες, γίνεται άμεσα και απελευθερώνονται τα δεσμευμένα πτητικά συστατικά.

Γλυκοσιδάσες υπάρχουν στα σταφύλια που, όμως, στις συνθήκες οινοποίησης δεν είναι πολύ δραστικές. Το ίδιο ισχύει και για γλυκοσιδάσες στελεχών ζυμομυκήτων οινοποίησης. Επίσης, με τη διαύγαση συμβαίνει απομάκρυνση γλυκοσιδασών.

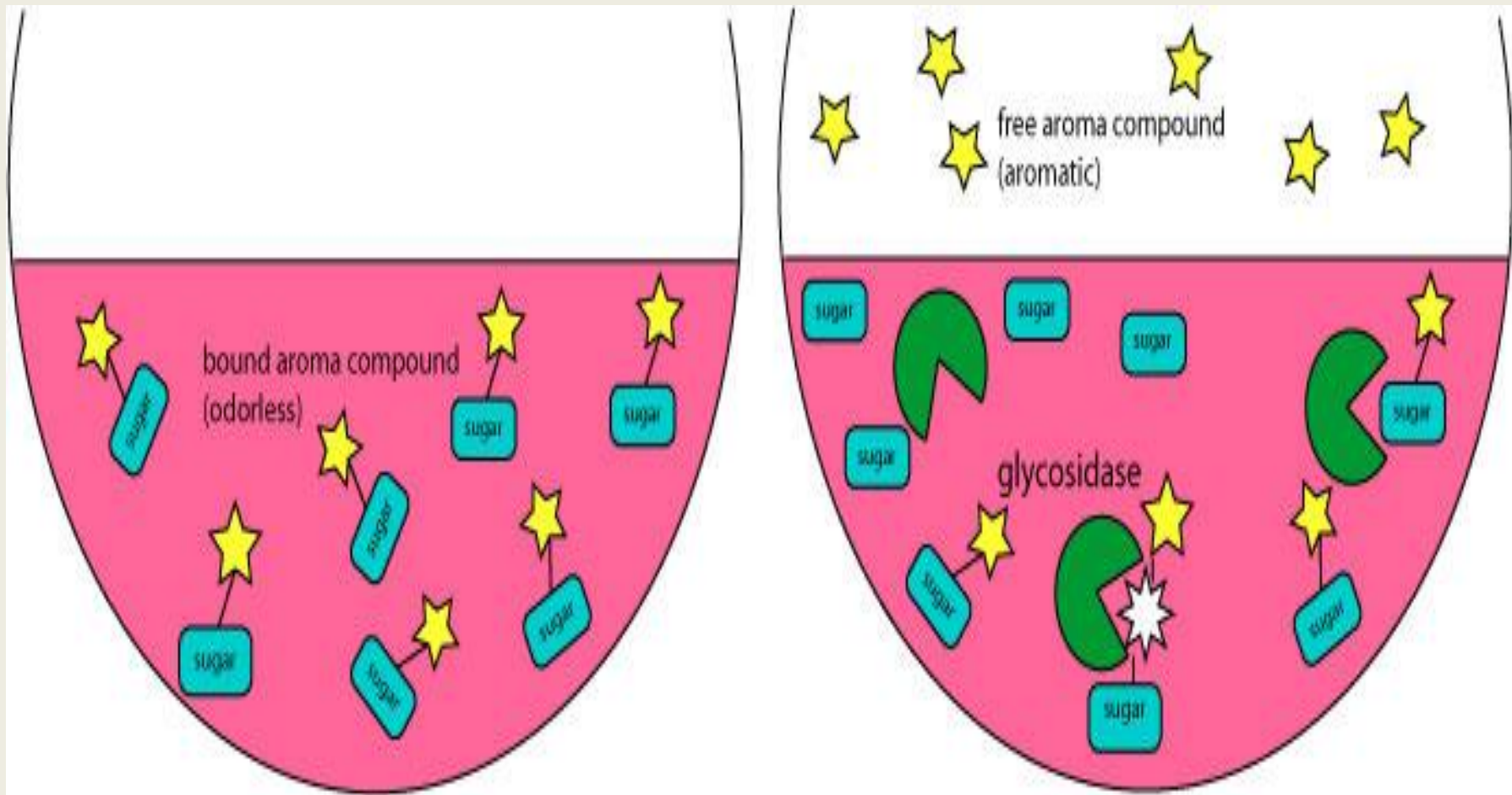
Τα ένζυμα που προστίθενται εξωγενώς είναι από *Aspergillus niger*. Οι γλυκοσιδάσες χρησιμοποιούνται συχνά σε μίγμα με πηκτινολυτικά ένζυμα.

Στα σταφύλια υπάρχουν δι-γλυκοζίτες. Παράδειγμα τα μονοτερπένια είναι δεσμευμένα με γλυκόζη και ένα άλλο ζάχαρο όπως αραβινόζη, ραμνόζη ή απιόζη. Οι μυκητιακές γλυκοσιδάσες έχουν και τις 4 δραστηριότητες. Οι γλυκοσιδάσες προστίθενται είτε σε (τελικούς) οίνους είτε σε οίνους με χαμηλή συγκέντρωση ζαχάρων (μείωση δραστηριότητας του ενζύμου από τη γλυκόζη). Μετά τη δράση τους (1-4 μήνες) τα ένζυμα απομακρύνονται, συνήθως με κατεργασία με μπεντονίτη.

Enzymatic hydrolysis of the monoterpenic glycosides



Ενζυμική υδρόλυση δι-γλυκοζιτών μονοτερπενικών αλκοολών (TERP-OH).



Απελευθέρωση ενώσεων αρώματος στον οίνο με δράση γλυκοσιδασών.

β-λυάσες σε συζυγιακό δεσμό κυστεΐνης-S

Πτητικές θειόλες - 4-μερκαπτο-4-μεθυλο-πενταν-2-όνη, 3-μερκαπτο-εξαν-1-όλη, οξικός εστέρας της 3-μερκαπτο-εξαν-1-όλης - είναι σημαντικές ενώσεις αρώματος οίνων, όπως του *Sauvignon blanc*.

Πτητικές θειόλες υπάρχουν στα σταφύλια με τη μορφή μη-πτητικών άοσμων ενώσεων με συζυγιακό δεσμό κυστεΐνης, και η συγκέντρωσή των θειολών αυξάνει

κατά τη ζύμωση. Δηλαδή, οι ζυμομύκητες οινοποίησης απελευθερώνουν σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό θειόλες.

Γίνονται προσπάθειες για αύξηση της απελευθέρωσης θειολών.

ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ ENZYMA

Λυσοζύμη

Η λυσοζύμη είναι ένα ένζυμο που καταλύει τη διάσπαση κυτταρικών τοιχωμάτων Gram θετικών βακτηρίων, όπως των γαλακτικών βακτηρίων.

Χρησιμοποιείται για σταθεροποίηση του οίνου από γαλακτικά βακτήρια. Επίσης, έχει δοκιμαστεί μαζί με ταννίνες για μείωση του χρησιμοποιούμενου θειώδη ανυδρίτη.

Πάντως, ελέγχονται ανεπιθύμητα αποτελέσματα που επιφέρει η χρήση της, όπως απώλεια του χρώματος στα κόκκινα κρασιά και σχηματισμός θολώματος στα λευκά.