

## ALKOL FERMANTASYONU SIRASINDA OLUŞAN AROMA MADDELERİ

### FORMATION OF AROMA COMPOUNDS DURING ALCOHOLIC FERMENTATION

Hüseyin ERTEN, Ahmet CANBAŞ

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana.

**ÖZET:** Aroma maddeleri alkollü içkilerin kimyasal ve duyuşsal özellikleri üzerinde etkili olurlar. Aroma maddelerinin önemli bir kısmı alkol fermentasyonu sırasında maya tarafından oluşturulur. Bu maddelerden başlıcaları yüksek alkoller, esterler, organik asitler ve karbonil bileşiklerdir. Bu makalede, alkol fermentasyonu sırasında maya tarafından oluşturulan aroma maddelerinin üretim mekanizmaları ele alınmıştır.

**ABSTRACT:** Aroma compounds affect chemical and sensory properties of alcoholic beverages. The majority of these compounds are formed during alcoholic fermentation by yeast. They are mainly higher alcohols, esters, organic acids and carbonyl compounds. This paper concentrated on the formation of aroma compound during the alcoholic fermentation by yeast.

#### GİRİŞ

Üzüm ve malt şırası gibi şekerli hammaddeler *Saccharomyces (S.) cerevisiae* tarafından fermentasyona uğratıldığında birincil ürün olarak etil alkol ve karbondiosit oluşur. Bu ürünler yanında miktar olarak, az fakat koku ve tat üzerinde, etkili, ikincil ürünler yani aroma maddeleri de ortaya çıkar. Aroma maddeleri genellikle uçucu olup, şarap, bira, viski gibi alkollü içkilerin kalitesi üzerinde belirleyici rol oynarlar.

Alkollü içkilerdeki aroma maddelerinden bir kısmı hammaddeden ortama geçerken (birincil aroma maddeleri), bir kısmı fermentasyon sırasında (ikincil aroma maddeleri) ve olgunlaşma sırasında (buke veya üçüncül aroma maddeleri) oluşurlar (ANGELINO, 1991; CABAROĞLU, 1995). Fermentasyon sırasında oluşan aroma maddeleri üzerinde fermentasyonu gerçekleştiren maya ve fermentasyon ortamındaki koşullar etkili olur. Bu nedenle maya kaliteyi etkileyen en önemli unsurlardan biridir. Alkollü içkilerde maya tarafından oluşturulan aroma maddelerinden başlıcaları yüksek alkoller, esterler, organik asitler ve karbonil bileşiklerdir. Bu maddelere ek olarak kükürtlü bileşikler, uçucu fenoller ve terpenler de önemlidir (LEHTONEN ve JOUNELA-ERIKSON, 1983; ETIÉVANT, 1991; BERRY, 1995). Bu makalede alkol fermentasyonu sırasında maya tarafından oluşturulan bazı aroma maddelerinin oluşum mekanizmaları ele alınmıştır.

#### Yüksek Alkoller

Yüksek alkoller, alkollü içkilerde miktar olarak en fazla bulunan aroma maddeleridir. Bu maddeler, aynı zamanda, füzöl yağları olarak da adlandırılır. Yüksek alkoller, etil alkolden daha uzun zincirlidir. *S. cerevisiae* tarafından fermentasyon sırasında oluşturulan alkollerden başlıcaları n-propanol, izobutanol (2-metilpropanol), 2-metil butanol (aktifamil alkol), 3-metil butanol (izoamil alkol), heksanol ve 2-fenil etanol"dur.

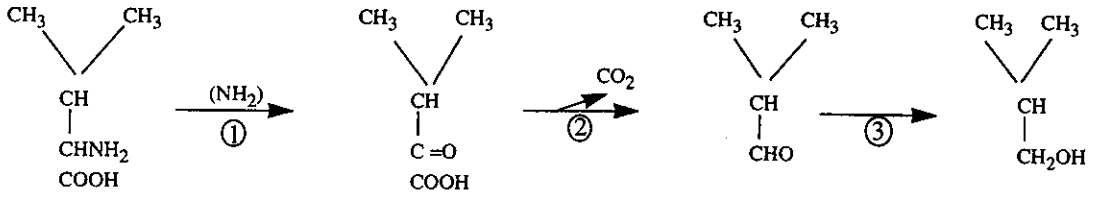
Maya, Ehrlich ve biyosentez (katabolik) yollarını kullanarak, yüksek alkollerini üretir (BERRY ve WATSON, 1987; HAMMOND, 1993; HENSCHKE ve JIRANEK, 1993; oshita VE ARK., 1995). Ehrlich yolu, ortam-

da amino asitlerin bulunması halinde kullanılır. Bu yolla bazı amino asitlerden oluşan yüksek alkoller Çizelge 1'de verilmiştir. Ehrlich yolunda fermentasyon ortamında bulunan amino asit maya tarafından hücre içine alınır. Hücre içinde amino asitin amino grubu transaminasyona uğrar ve keto asit oluşur. Daha sonra keto asit aldehite dönüşmek üzere dekarboksile olur. Oluşan aldehit indirgenir ve yüksek

Çizelge 1. Bazı Amino Asitlerden Üretilen Yüksek Alkoller (HOUGH ve ark., 1982; HENSCHKE ve JIRANEK, 1993).

Amino asit	Keto asit	Aldehit	Yüksek alkol
2-Amino bütirik asit	2- Keto bütirik asit	Propionaldehit	1- propanol
Valin	2- Keto izovalerik asit	İzobütir aldehit	İzobutanol
İzolösin	2- Keto 3-metilvalerik asit	2- Metil bitür aldehit	2- Metil bütanol
Lösin	2- Keto izokaproik asit	İzovaler aldehit	3- Metil bütanol
Fenil alanin	3- Fenil 2-keto propionik asit	-	2- Fenil ethanol
Serin	Hidroksi pürevik asit	Glioksal	Glikol

alkol ortaya çıkar. Bu reaksiyonda etkili olan enzimler sırasıyla transaminaz, dekarboksilaz ve alkol dehidrogenazdır. Örneğin valin amino asitinden izo-bütanolün oluşum mekanizması Şekil 1'deki gibidir (ANGELINO, 1991; LEWIS ve YOUNG, 1995).



Şekil 1. Valin amino asitinden izo-bütanolün oluşum mekanizması. 1. Transaminaz, 2. Dekarboksilaz, 3. Dehidrogenaz (LEWIS ve YOUNG, 1995).

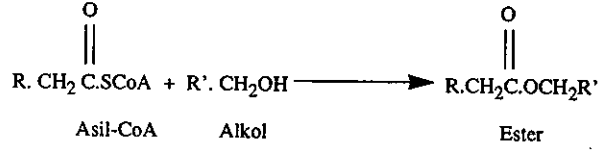
Öte yandan, ortamda bulunan amino asitler maya tarafından tüketildiğinde yüksek alkoller biyosentez yolu ile şekerlerden üretilir. Yani şeker metabolizmasından, püvrat yolu ile önce keto asitler oluşur ve daha sonra da yüksek alkoller meydana gelir (BERRY ve WATSON, 1987; REED ve NAGODAWITHANA, 1991). bazı çalışmalarda yüksek alkollerin %75'inin Ehrlich yolu ile ve geriye kalan %25'inin ise şekerlerden meydana geldiği ileri sürülmüş (ETIÉVANT, 1991), bazı çalışmalarda ise bu alkollerin önemli bir kısmının biyosentez yolu ile oluştuğu bildirilmiştir (RAPP ve VERSINI, 1991 ve 1995).

### Esterler

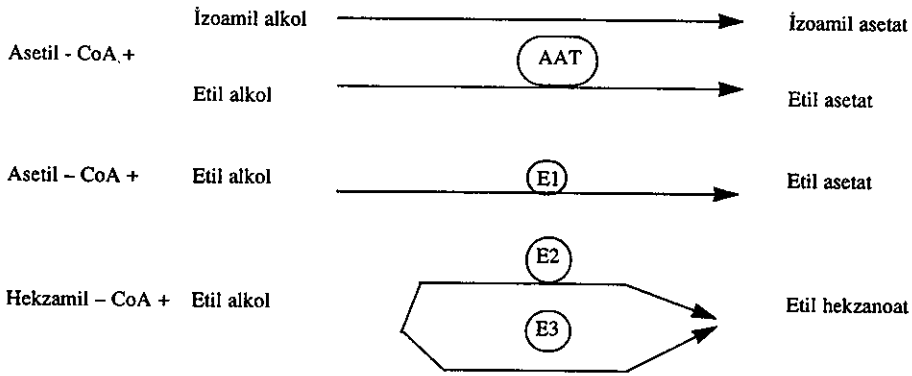
Esterler, alkollü içkilere meyvemsi tat ve kokul verdiklerinden, önemli aroma maddeleridir. Alkollü içkilerde *S. cerevisiae* tarafından üretilen esterlerden en önemlileri etil asetat, izoamil asetat (3-metil bütül asetat), izobütül asetat (2-metil propil asetat), heksil asetat, etil heksanoat (etil kaproat), etil oktanoat (etil kaprilat), etil dekanat (etil kaprat) ve 2-feniletül asetat'dır (PEDDIE, 1990; ETIÉVANT, 1991).

Esterler, kimyasal veya biyokimyasal yolla meydana gelirler. Kimyasal yol, yani alkol ve asit arasındaki basit ve kondensasyon reaksiyonu ile oluşum, oldukça yavaştır (PEDDIE, 1990; MOLL, 1991). Bu nedenle esterler, çoğunlukla, maya tarafından biyokimyasal yolla üretilir. Ester oluşum mekanizması Şekil 2'de gösterilmiştir. Esterler maya hücresi içinde alkol ve asetil-CoA arasında meydana gelen ve çeşitli enzimler tarafından katalizlenen reaksiyonlar sonucunda oluşurlar (CALDERBANK ve HAMMOND, 1994; BERRY, 1995). Asetil-CoA yanında diğer asil-CoA'ler de esterlerin üretiminde rol oynarlar (DUFUOR ve MALCORPS, 1995).

Ester üretiminde etkili olan enzimler Şekil 3'de verilmiştir. *S. cerevisiae* etil asetat ve izoamil asetat üretiminde alkol asetil transferaz enzimini kullanır. Etil asetat oluşumunda başka



bir enzim (E<sub>1</sub>) de rol oynamaktadır. Etil hekzanoat üretiminde, bu enzimlerin dışında iki ayrı enzimin (E<sub>2</sub> ve E<sub>3</sub>) de etkili olduğu ileri sürülmektedir (DUFUOR ve MALCORPS, 1995; LYNESS ve ark., 1996). Öte yandan, izoamil asetat ve etil asetat gibi asetat esterlerinin üretiminde alkol asetil transferaz, etanol asetil transferaz ve izoamil alkol asetil transferaz olmak üzere üç farklı enzimin rol oynadığı bildirilmektedir (LILLY ve ark., 2000).



Şekil 3. Ester oluşumunda etkili olan enzimler. AAT: Alkol asetil transferaz, E1: Enzim 1, E2: Enzim 2, E3: Enzim 3 (DUFUOR ve MALCORPS, 1995).

Mayanın esterleri neden oluşturduğu konusunda kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak bu konuda çeşitli varsayımlar ileri sürülmüştür (HAMMOND, 1993; LYNESS ve ark., 1996). Bu varsayımlara göre;

- esterler, alkol fermantasyonu sırasında şekerlerin metabolizmasından ortaya çıkan bileşikler olabilir ve hücre için önemli değildir,
- ester oluşumu asetil yükünün kontrolü açısından önemli olabilir, çünkü asetil-CoA ve serbest-CoA miktarları ara reaksiyonlar için önemlidir,
- ester üretimi, toksik maddeleri uzaklaştırma mekanizması ile ilgili olabilir; özellikle C8-C14 arasındaki yağ asitleri maya için toksiktir; ester oluşumu ile bu yağ asitlerinin maya hücresine olumsuz etkileri ortadan kaldırılır.

### Organik Asitler

Organik asitler, alkol fermantasyonu sırasında üç yoldan meydana gelirler. Asetik, süksinik, malik ve sitrik asitler şekerlerin parçalanması sırasında, trikarboksilik asit döngüsü aracılığıyla, pürivattan oluşurlar. İzo-bütirik ve izovalerik asitler hücre oluşumu ve yüksek alkole dönüşecek amino asitlerin kullanımı sırasında meydana gelirler. Ancak, asitlerin çoğu yağ asitlerinin sentezi sırasında melonil-CoA'den oluşurlar (BERRY ve WATSON, 1987).

Uzun zincirli doymamış yağ asitleri (örneğin C<sub>16,1</sub>, C<sub>18,1</sub>) sadece ortamda oksijen bulunması halinde üretilebilirler. Orta zincirli yağ asitleri (C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>) ise oksijen tüketildiği zaman oluşturulurlar. Hekzanoik, oktanoik ve dekanoik asitler gibi orta zincirli yağ asitleri aroma üzerinde etkili olabilirler. Ayrıca, bu asitler yağ asidi esterlerinin oluşumunda da öncül maddeler olarak rol oynarlar (HAMMOND, 1993).

### Karbonil Bileşikleri

Karbonil bileşikleri, çeşitli aldehit ve ketonları içerirler. Aldehitler arasında asetaldehit önemlidir ve alkollü içkilerde toplam aldehitin yaklaşık %90'nını oluşturur. Asetaldehit, alkol fermantasyonu sırasında pürivattan üretilir ve alkol dehidrogenaz enzimi tarafından etil alkole indirgenir. Fermantasyonun yoğun olduğu aşamada maya fazla miktarda asetaldehit ve diğer aldehitler üretir ve ortama verir. Aldehitler, yüksek alkollerin üretimi sırasında ara ürün olarak da ortaya çıkarlar (ANGELINO, 1991).

Ketonlardan diasetil (2,3-bütanedion) ve 2,3-pentanedion önemlidir. Diasetilin öncül maddesi  $\alpha$ -asetolaktat ve 2,3-pentanedion'un öncül maddesi ise a-ketobütirat'dır. Bu asitler sırasıyla valin ve izolösin amino asitlerinin sentezinde ara ürün olarak ortaya çıkarlar. a-Asetolaktik ve a-ketobütirik asitler maya tarafından fermantasyon ortamına verilir ve bunlar fermantasyon ortamında dekarboksile olarak sırasıyla diasetil ve 2,3-pentanediona dönüşür (LEWIS ve YOUNG, 1995; BERRY, 1995).

### SONUÇ

Aroma maddeerinin oluşum mekanizması karmaşık biyokimyasal işlemleri kapsar. Bu maddelerin temel kaynağı mayanın oluşturduğu ikinci metabolizma ürünleridir. Alkollü içki üretiminde biyokimyasal olayların ve bunların mekanizmalarının bilinmesi kaliteli bir ürün üretimi için son derece önemlidir.

### KAYNAKLAR

- ANGELINO, S.A.G.F. 1991. Beer. "in, Volatile Compounds in Foods and Beverages, Ed. H. Maarse Marcel Dekker, New York, 581-616.
- BERRY, D.R. 1995. Alcoholic Beverage Fermentation. "in, Fermented Beverage Production, Eds A.G.H. Lea ve J.R. Piggott, Blackie, London, 32-61.
- BERRY, D.R., D.C. WATSON. 1987. Production of Organoleptic Compounds. "in, Yeast Biotechnology, Eds D.R. Berry, I. Russell ve G.G. Stewart, Allen-Unwin, London, 345-368.
- CABAROĞLU, T. 1995. Nevşehir Ürgüp Yöresinde Yetiştirilen Beyaz Emir Üzümünün ve Bu Üzümünden Elde Edilen Şarapların Aroma Maddeleri Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 152 sayfa.
- CALDERBANK, J., J.R.M. HAMMOND. 1994. Influence of Higher Alcohol Availability on Ester Formation by Yeasts. J. Am. Soc. Brew. Chem. 52, 84-90.
- DUFUOR, J.P., P. MALCORPS. 1995. Ester Synthesis During Fermentation: Enzyme Characterisation and Modulation Mechanism. "in, Proceedings of the Fourth Avimore Conference on Malting, Brewing and Distilling, Eds I. Campbell ve F.G. Priest The Intitute of Brewing, London, 137-151.
- ETIÉVANT, P. 1991. Wine "in, Volatile Compounds in Foods and Beverages, Ed H. Maarse, Marcel Dekker, New York, 483-546.
- HAMMOND, J.R.M. 1993. Brewer's Yeasts. "in, The Yeasts, Vol 5, Eds A.H. Rose ve J.S. Harrison, Academic Press, London, 7-56.
- HENSCHKE, P.A., V. JIRANEK. 1993. Yeasts-Metabolism of Nitrogen Compounds. "in, Wine Microbiology and biotechnology, Ed G.M. Fleet, Harword, Chur, 77-164.
- HOUGH, J.S., D.E. BRIGGS, R. STEVENS, T.W. YOUNG. 1982. Malting and Brewing Science, Vol 2, Hopped Wort and Beer, Chapman and Hall, London, 566-614.
- LEHTONEN; M., P. JOUNELA-ERIKSSON. 1983. Volatile and non-Volatile Compunds in the Flavour of Distilled beverages: Origin and Development, Ed J.R. Piggott, ellis Horwood, London, 64-78.
- LEWIS; M.J., T.W. YOUNG. 1995. Brewing. Chapman and Hall, London, 260 sayfa.
- LILY, M., M.G. LAMBRECHTS, I.S. PRETORIUS. 2000. Effect of Increased Yeast Alcohol Acetyltransferase Activity on Flavor Profiles of Wine and Distillates. Appl. Environ Microbiol. 66, 744-753.
- LYNESS, C.A., G.G. STEWART, G.M. STEELE. 1996. Investigating Ester Synthesis in Dittilling and Brewing Strains of Yeast. "in, Brewing Technology, The Market and The Environment-Proceedings of the Sixth International Brewing Technology Conference, Eds J.A. Irvine and R.V. Wenn, Brewing Technology Services, Surrey, 390-398.

- MÖLL, M. 1991. Beers and Coolers, Intercept, Andover, 495 sayfa.
- PEDDIE, H.A.B. 1990. Ester Formation in Brewery Fermentations. *J Inst. Brew.* 96, 327-331.
- RAPP, A., G. VERSINI. 1991. Influence of Nitrogen Compounds in Grapes on Aroma Compounds of Wines. "in, roceedings of International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine, Ed J.M. Rantz, The American Society for Enology and Viticulture, Davis, 156-163.
- RAPP, A., G. VERSINI. 1995. Influence of Nitrogen Compounds in Grapes on Aroma Compounds of Wines "in, Food Flavours: Analysis and Process Influence, Ed G. Charalambous, Elsevier, London, 1659-1694.
- REED, G., T.W. NAGODAWITHANA. 1991. Yeast Technology, Avi Book, New York, 453 sayfa.
- OSHITA, K., M. KUBOTA, M. UCHIDA, M. ONO. 1995. Clarification of The Relationship Between Fusel Alcohol Formation and Amino Acid Assimilation By Brewing Yeast Using <sup>13</sup>C-labeled Amino Acid "in, Proceedings of The 25th European Brewery Congress, IRL, 387-394.