



Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής
Πανεπιστήμιο Αιγαίου (Λήμνος)

Βιοχημεία Τροφίμων

Μέρος ΙΙ: Ο Ρόλος των Ενζύμων στα Τρόφιμα – Ενζυμική Τεχνολογία

Ακαδημαϊκό Έτος 2014 - 2015

Ενότητα 7^η
Αμυλάσες & β-Γλυκοζιδάσες



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Δημήτρης Π. Μακρής *PhD DIC*
Επικουρος Καθηγητής

Άδειες Χρήσης

Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό διατίθεται με τους όρους χρήσης Creative Commons (CC) - Αναφορά Δημιουργού - Μη Εμπορική Χρήση - Όχι Παράγωγα Έργα.

Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, διαγράμματα, κείμενα, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.

Το έργο «Ανοιχτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αιγαίου» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.

Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



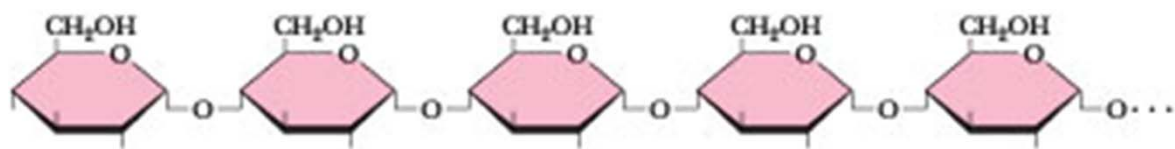
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

α-Αμυλάσες / Εισαγωγικά

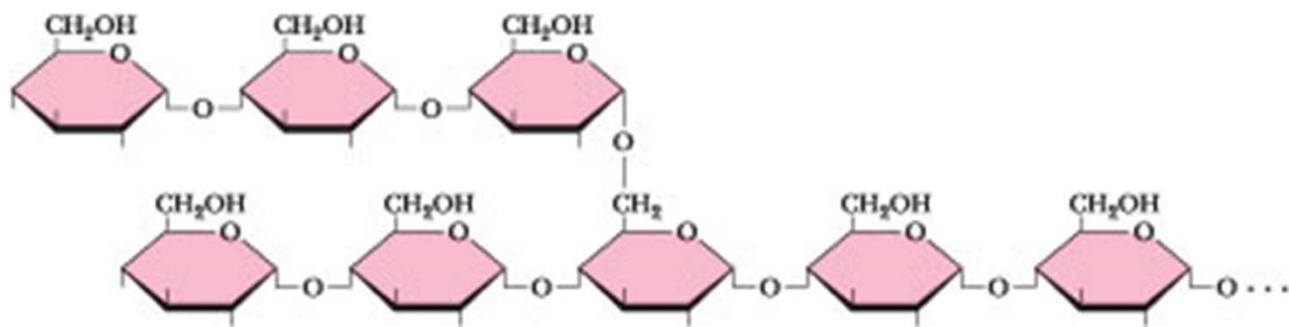
Οι *α*-αμυλάσες (E.C. 3.2.1.1) είναι ενδογλυκανάσες που καταλύουν τη διάσπαση εσωτερικών γλυκοζιτικών δεσμών στο άμυλο και παρόμοιους πολυσακχαρίτες, για να σχηματίσουν δεξτρίνες (γλυκόζη, μαλτόζη) και ολιγοσακχαρίτες.

Οι *α*-1,4 δεσμοί που βρίσκονται κοντά σε *α*-1,6 δεσμούς είναι ανθεκτικοί στην υδρόλυση. Εκτενής υδρόλυση αμυλοπηκτίνης με *α*-αμυλάση παράγει «*α*-περιορισμένες δεξτρίνες», καθώς η υδρόλυση τερματίζεται στους *α*-1,6 δεσμούς.

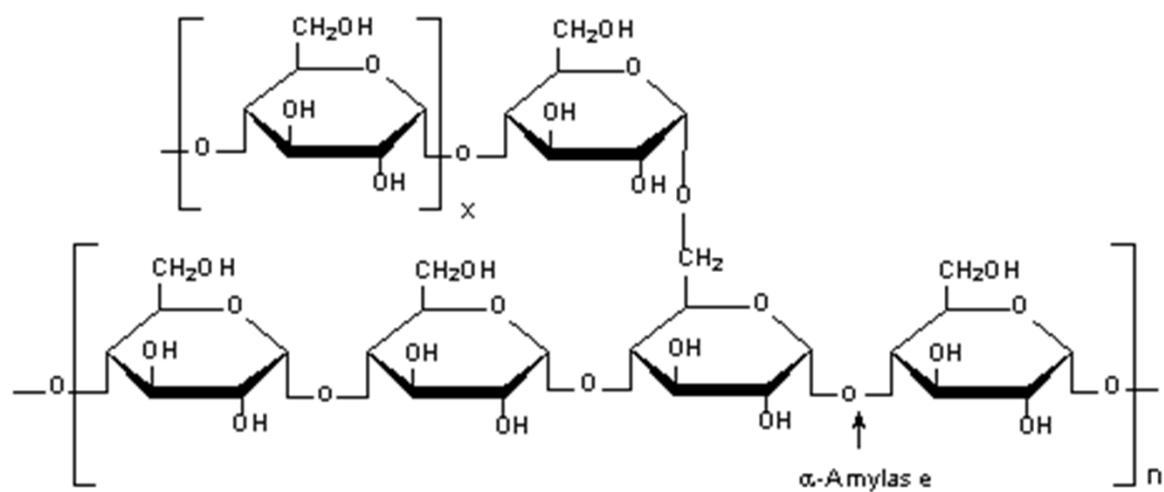
Οι *α*-αμυλάσες παίζουν κεντρικό ρόλο στο μεταβολισμό των υδατανθράκων σε μικροοργανισμούς, φυτά και ζώα.



Amylose



Amylopectin



Βιομηχανικές Χρήσεις

a-Αμυλάση για επεξεργασία τροφίμων παραλαμβάνεται κατόπιν ελεγχόμενης ζύμωσης με *Bacillus stearothermophilus*, ως ένα υπόλευκο / καστανό υγρό ή σκόνη. Τυπικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων συμπεριλαμβάνουν παρασκευή αμυλοσιροπιού, δεξτρόζης, αλκοόλης, ζύθου και προϊόντων αρτοποιίας.

Η *a*-αμυλάση χρησιμοποιείται βιομηχανικώς για τη «ρευστοποίηση» (liquefaction) του αμύλου για την παραγωγή δεξτρινών, οι οποίες σακχαροποιούνται περαιτέρω από γλυκοαμυλάσες και παράγουν γλυκόζη, την πρώτη ύλη για παρασκευή σιροπιού αραβόσιτου, καύσιμης αιθανόλης, ή αλκοολούχων ποτών.

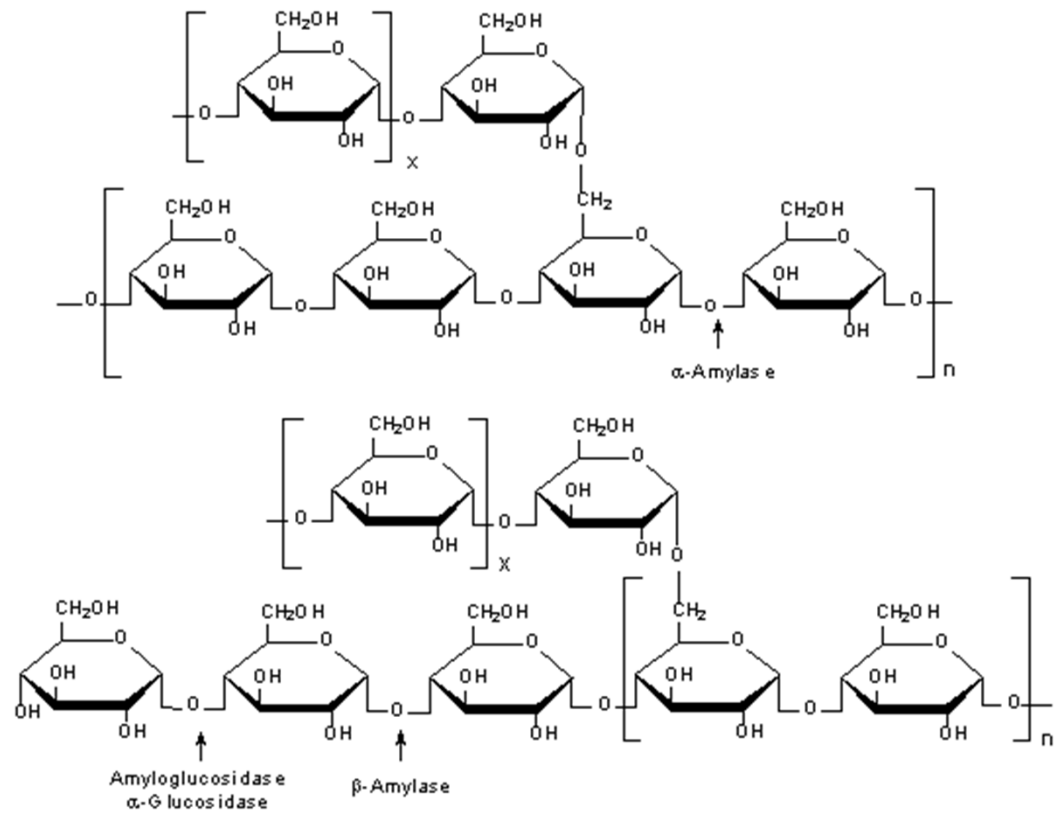
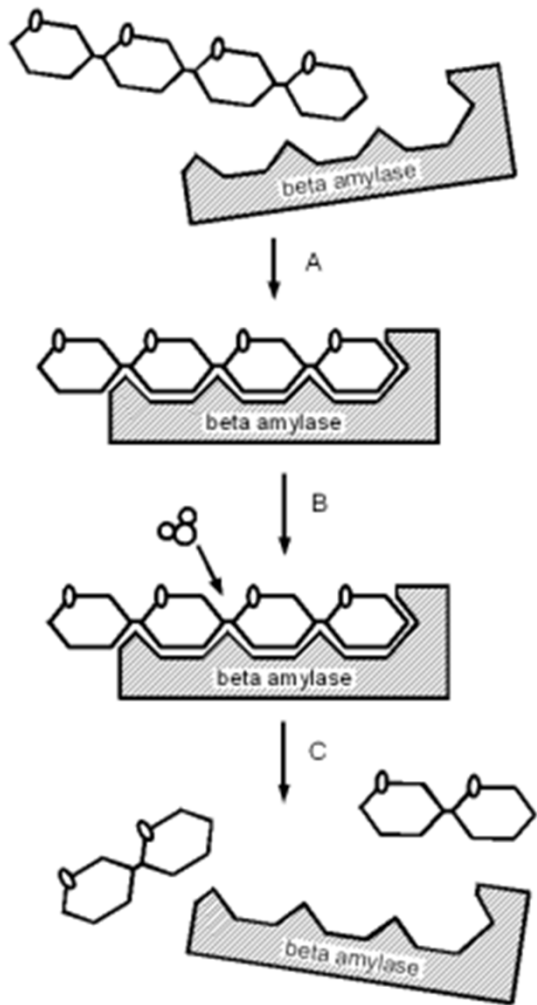
Στη βιομηχανία αρτοποιημάτων η *a*-αμυλάση προστίθεται στη ζύμη, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται συνεχής εφοδιασμός των ζυμομυκήτων με ζυμώσιμα σάκχαρα και παραγωγή CO₂.

β -Αμυλάσες

Η ύπαρξη των β -αμυλασών περιορίζεται στα ανώτερα φυτά και τα βακτήρια. Είναι ένα εξωένζυμο που καταλύει την υδρόλυση των 1,4- α -D-γλυκοζιτικών δεσμών σε πολυσακχαρίτες, για τη διαδοχική απόσπαση μονάδων μαλτόζης από το μη-αναγωγικό τέλος α -1,4-γλυκανών, όπως το άμυλο και το γλυκογόνο.

Η β -αμυλάση χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή σιροπιών από άμυλο με υψηλή περιεκτικότητα μαλτόζης.

Εν συγκρίσει με τα σιρόπια γλυκόζης, τα σιρόπια μαλτόζης έχουν υψηλότερο ιξώδες, χαμηλότερη υγροσκοπικότητα, μικρότερη τάση κρυστάλλωσης και μικρότερη επιρρέπεια στην αμαύρωση. Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν τα σιρόπια μαλτόζης πολύ καλή πρώτη ύλη στη ζαχαροπλαστική.



Γλυκοαμυλάσες

Η γλυκοαμυλάση [α -(1,4)-D-γλυκαν γλυκοϋδρολάση, E.C. 3.2.1.3] δρα στο μη-αναγωγικό τέλος γλυκανών που προέρχονται από το άμυλο και απελευθερώνει γλυκόζη. Η υδρόλυση μπορεί να συμβεί σε διάφορες αλυσίδες πολυ- ή ολιγοσακχαριτών από τη στιγμή που θ' αποσπαστούν από το άμυλο.

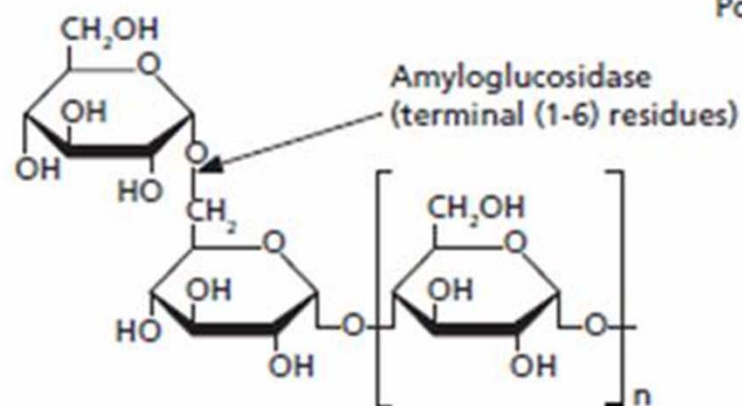
Αν και τα φυσικά υποστρώματα της γλυκοαμυλάσης (glucoamylase - GA) είναι αλυσίδες γλυκοζυλ- κατάλοιπων ενωμένων μέσω α -(1,4) γλυκοζιτικών δεσμών, με διακλαδώσεις που ξεκινούν με α -(1,6) γλυκοζιτικούς δεσμούς, η δράση της είναι πιο γενική καθώς καταλύει την υδρόλυση α -(1,4), α , β -(1,1), α -(1,6), α -(1,3) και α -(1,2) γλυκοζιτικών δεσμών.

Σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης, η GA αποκαθιστά όλους τους δεσμούς που υδρολύει, και «συμπυκνώνει» γλυκόζη σε διάφορους δι-, τρι- και τετρασακχαρίτες, όπως η μαλτόζη, η ισομαλτόζη, η ισομαλτοτριόζη, η ισομαλτοτετραόζη κ.α. Η GA μπορεί επίσης να παράξει και άλλους δισακχαρίτες, ενώνοντας μονάδες γλυκόζης σε σάκχαρα όπως αραβινόζη, φρουκτόζη, μαννόζη κ.α.

Starch

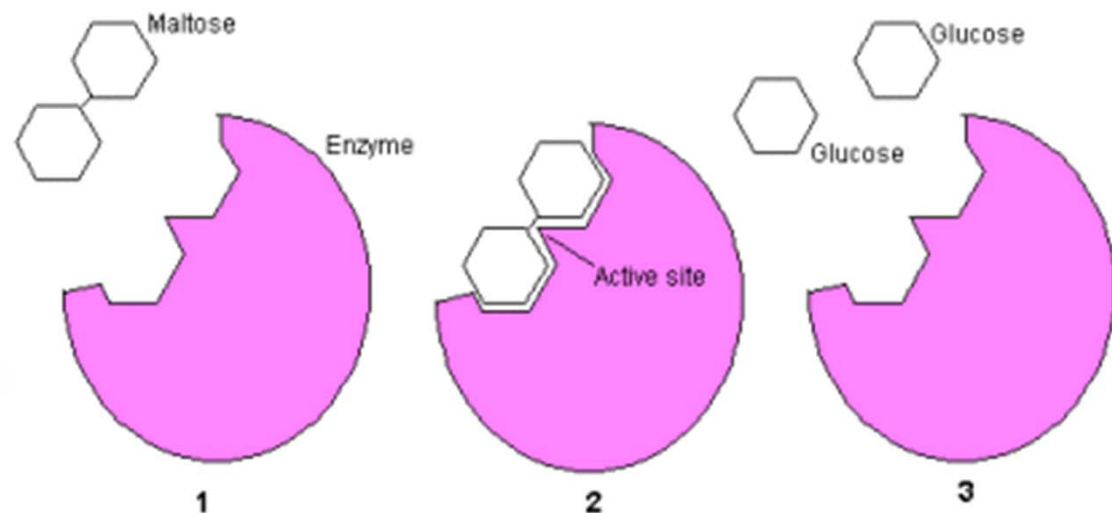
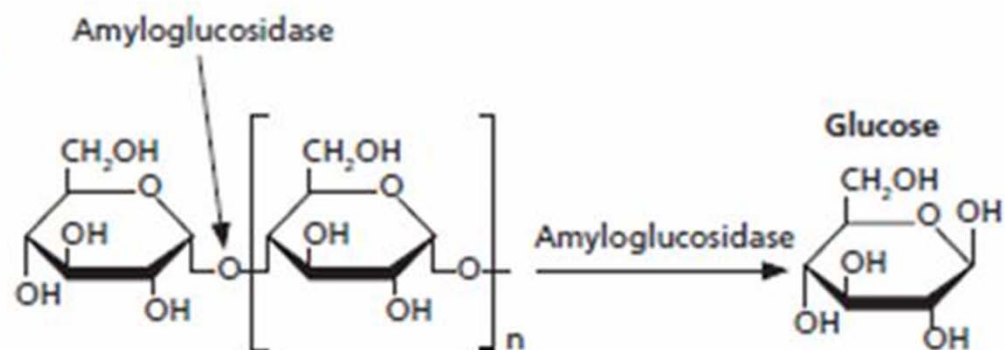
Amylopectin

Polymer of α -(1-4)-D-glycopyranosyl units with approximately 4 % α -(1-6) branching.



Amylose

Polymer of α -(1-4)-D-glycopyranosyl units



Η Γλυκοαμυλάση στα Τρόφιμα

Η GA παίζει σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία τροφίμων. Στην Ασία, νηματώδεις μύκητες *Aspergillus* και *Rhizopus* και ο ζυμομύκητας *Saccharomycopsis fibuligera* που εκκρίνουν GA χρησιμοποιούνται για την σακχαροποίηση ρυζιού και πατάτας, ωμών σπόρων κ.α. Στην Ιαπωνία χρησιμοποιείται στην παρασκευή σως σόγιας και σακέ.

Η σημαντικότερη χρήση GA είναι στην παραγωγή σιροπιών γλυκόζης από μαλτοδεξτρίνες που παράγονται μέσω α -αμυλάσης από άμυλο. Οι GA από *Aspergillus niger* και *Aspergillus awamori* χρησιμοποιούνται σχεδόν εξολοκλήρου για τη σακχαροποίηση αμύλου, επειδή είναι θερμοσταθερά ένζυμα και διατηρούν υψηλή ενεργότητα σε ευρύ φάσμα pH.

Η γλυκόζη χρησιμοποιείται ως σιρόπι και σε κρυσταλλική μορφή στα τρόφιμα, αλλά και ως πρώτη ύλη για σιρόπια με υψηλή περιεκτικότητα σε φρουκτόζη, καθαρή φρουκτόζη, μπύρες και καύσιμη αιθανόλη. Γι' αυτό το λόγο η GA είναι ένα από τα πιο εμπορικά ένζυμα.

Επίδραση Περιβαλλοντικών Παραγόντων & Κινητικές Ιδιότητες

Η GA από *Aspergillus niger* και *Aspergillus awamori* επιδεικνύει βέλτιστο pH 4.5. Σ' αυτό το pH υπάρχει και η μέγιστη θερμοσταθερότητα. Αυξημένες συγκεντρώσεις υποστρώματος και προϊόντων έχουν ισχυρή προστατευτική δράση για το ένζυμο, σε σχέση με την απενεργοποίησή του.

Η GA από *Aspergillus niger* και *Aspergillus awamori* σε θερμοκρασία 45 °C και pH 4.5 παρουσιάζει k_{cat} 60 s⁻¹ και K_m 0.13 mM, για την υδρόλυση της μαλτοεπταόζης, ενώ για την υδρόλυση της μαλτόζης οι αντίστοιχες τιμές είναι 10 s⁻¹ και 1.2 mM.

Γενικότερα, φαίνεται να ισχύει ότι μειωμένο μήκος της αλυσίδας του υποστρώματος και μεταβολές στο γλυκοζιτικό δεσμό μειώνουν την k_{cat} και αυξάνουν την K_m .

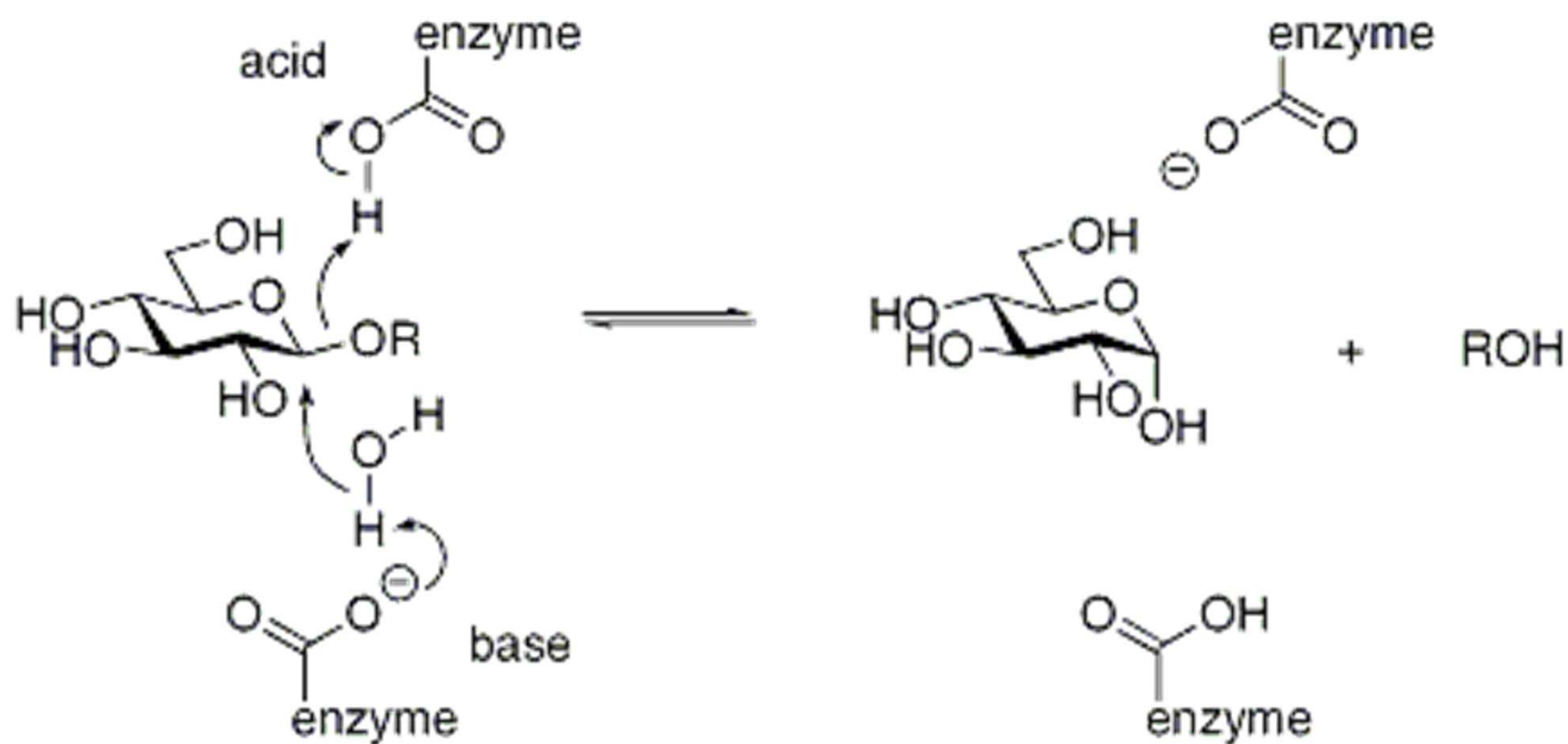
Εισαγωγικά

Η β -γλυκοζιδάση (γλυκοϋδρολάση β -D-γλυκοζιτη, E.C. 3.2.1.21) καταλύει την υδρόλυση του β -γλυκοζιτικού δεσμού μεταξύ δύο γλυκονών (π.χ. κελλοβιόζη) ή μεταξύ γλυκόζης και μιας αγλυκόνης.

Οι β -γλυκοζιδάσες συνιστούν μια κύρια ομάδα μέσα στις υδρολάσες γλυκοζιτών και βρίσκονται σε αμφότερα προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα.

Οι β -γλυκοζιδάσες αποτελούν αντικείμενο εκτενούς έρευνας γιατί παίζουν ρόλους - κλειδιά σε μια ποικιλία βιοτεχνολογικών διεργασιών (μετατροπή βιομάζας, αποτοξίνωση τροφών, ενίσχυση ποιότητας τροφίμων κτλ.).

Οι β -γλυκοζιδάσες υδρολύουν είτε O- β -γλυκοζιτικούς δεσμούς, είτε S- β -γλυκοζιτικούς δεσμούς, οι οποίοι καταλύονται από β -θειογλυκοζιδάσες (μυροσινάση ή γλυκοϋδρολάση β -D-θειογλυκοζιτη, E.C. 3.2.3.1).

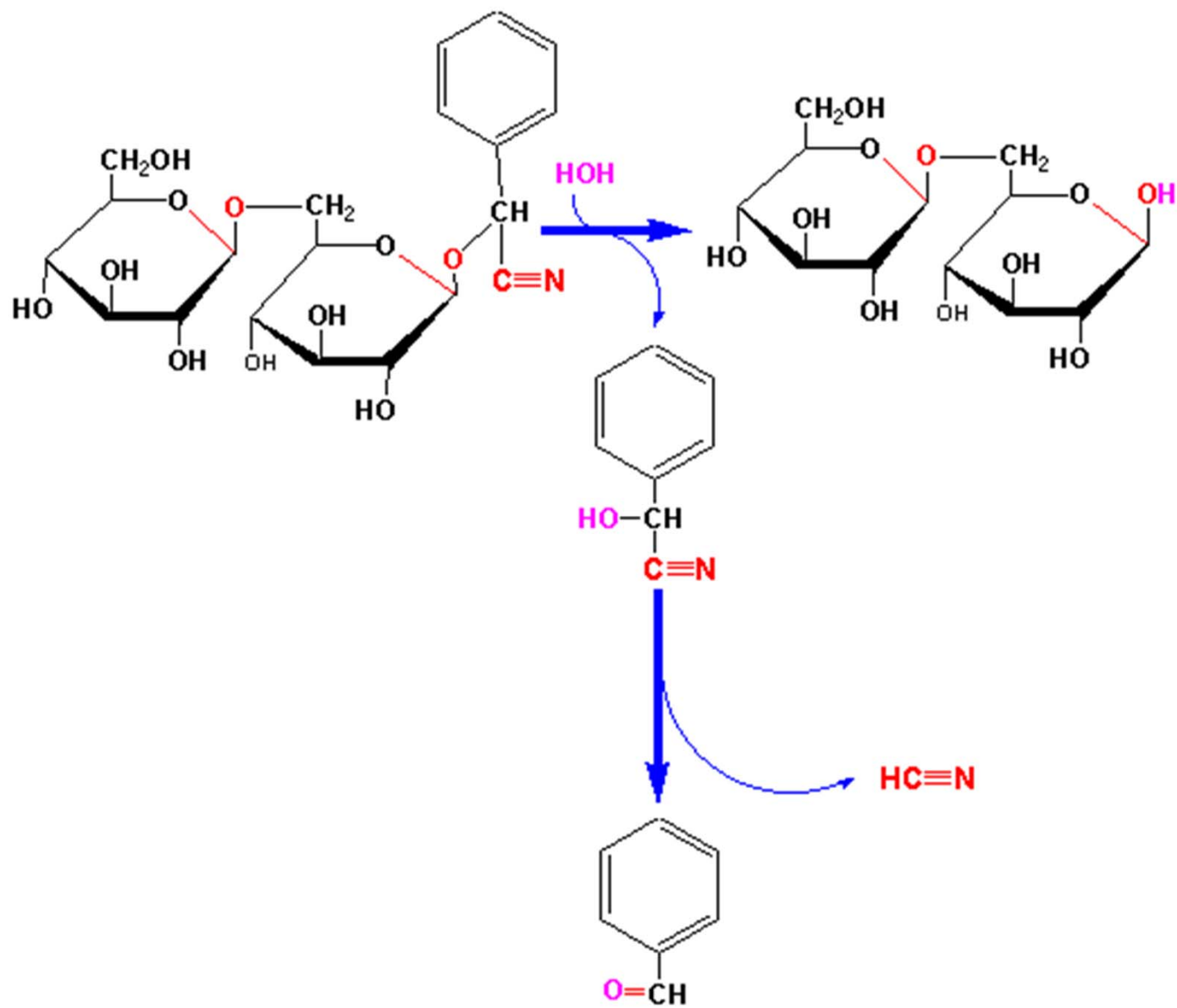


Χρήση β -Γλυκοζιδασών Στην Επεξεργασία Τροφίμων

Υπάρχουν αρκετές εκατοντάδες ουσίες που είναι πρόδρομες πτητικών οσμοφόρων ενώσεων. Οι πρόδρομες ουσίες βρίσκονται στους φυτικούς ιστούς υπό τη μορφή μη-πτητικών, μη-οσμοφόρων γλυκοζιτών. Κάθε ιστός που περιέχει παρόμοιες ουσίες περιέχει επίσης και τις κατάλληλες γλυκοζιδάσες για την υδρόλυσή τους (διάσπαση).

Μια άλλη περίπτωση που άπτεται της επεξεργασίας / ποιότητας των τροφίμων είναι η ύπαρξη β -γλυκοζιδάσης / β -γλυκοζιτών, οι οποίοι βρίσκονται διαμερισματοποιημένοι μέσα στους φυτικούς ιστούς. Επαφή των υποστρωμάτων με το ένζυμο παράγει ποσότητες HCN. Ένα παράδειγμα είναι οι ρίζες του φυτού cassava, το οποίο χρησιμοποιείται για τροφή σε περιοχές της Ασίας, της Αφρικής και της Νοτίου Αμερικής.

Οι ρίζες περιέχουν τον κυανογενή γλυκοζίτη λιναμαρίνη και το αντίστοιχο υδρολυτικό ένζυμο λιναμαράση. Όταν ο ιστός καταναλώνεται ωμός, μπορεί να επέλθει τροφική δηλητηρίαση, ανάλογα με την ποσότητα που καταναλώθηκε, προκαλώντας συμπτώματα όπως δυσκολία στην αναπνοή, παράλυση, σπασμοί, κώμα, ακόμα και θάνατο.



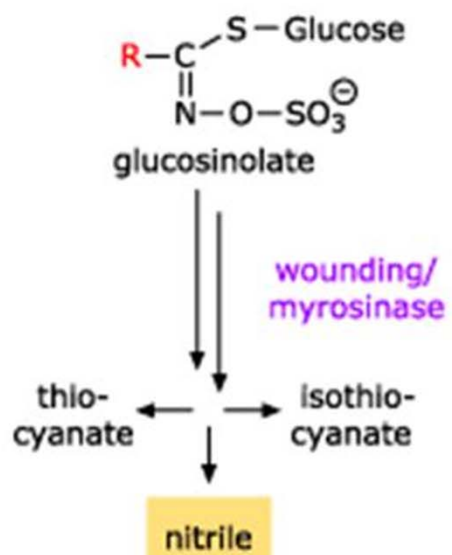
Χρήση β -Γλυκοζιδασών Στην Επεξεργασία Τροφίμων

Το σύστημα μυροσινάση / γλυκοσινολίτης (ή β -θειογλυκοζιδάση / β -θειογλυκοζίτης), το οποίο υπάρχει στα σταυρανθή λαχανικά (cruciferous vegetables) όπως το μπρόκολο, το κουνουπίδι, το σινάπι (μουστάρδα) και τα λαχανάκια Βρυξελλών, είναι υπεύθυνο για την πικρή, καυτερή γεύση και το χαρακτηριστικό άρωμα αυτών των τροφών.

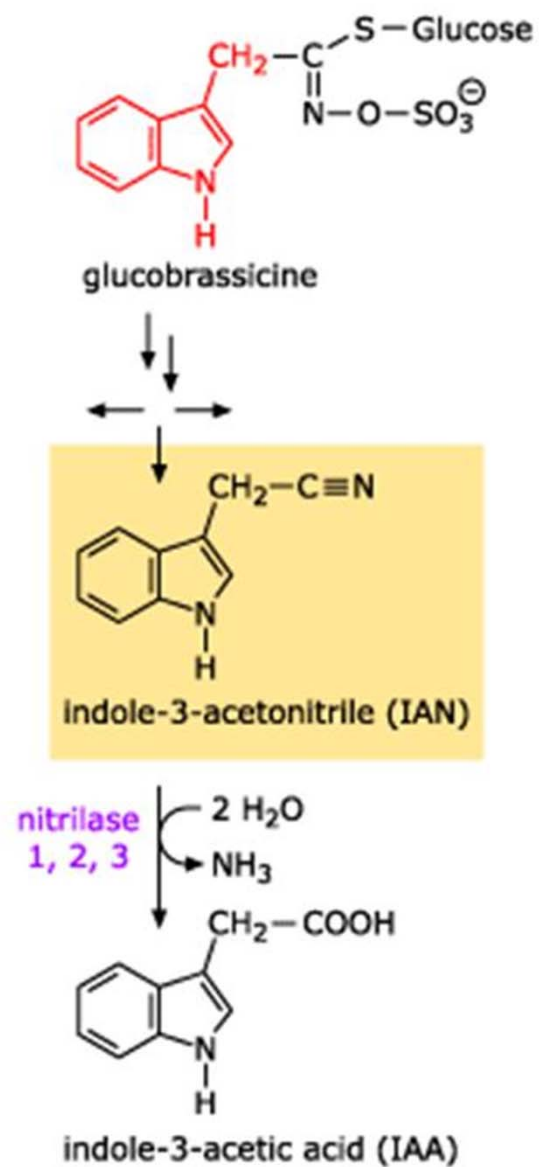
Οι ουσίες που προσδίδουν τη χαρακτηριστική γεύση σε κάθε περίπτωση είναι προϊόντα υδρόλυσης των γλυκοζινολιτών (glucosinolates) από τη μυροσινάση.

Οι γλυκοζινολίτες και τα προϊόντα διάσπασής τους μπορεί να είναι υπεύθυνα για ανεπιθύμητες οσμές στο γάλα, το κρέας και τα αυγά, όταν τα ζώα από τα οποία προέρχονται θρέφονται με φυτικούς ιστούς που περιέχουν τέτοιες ουσίες.

IN GENERAL



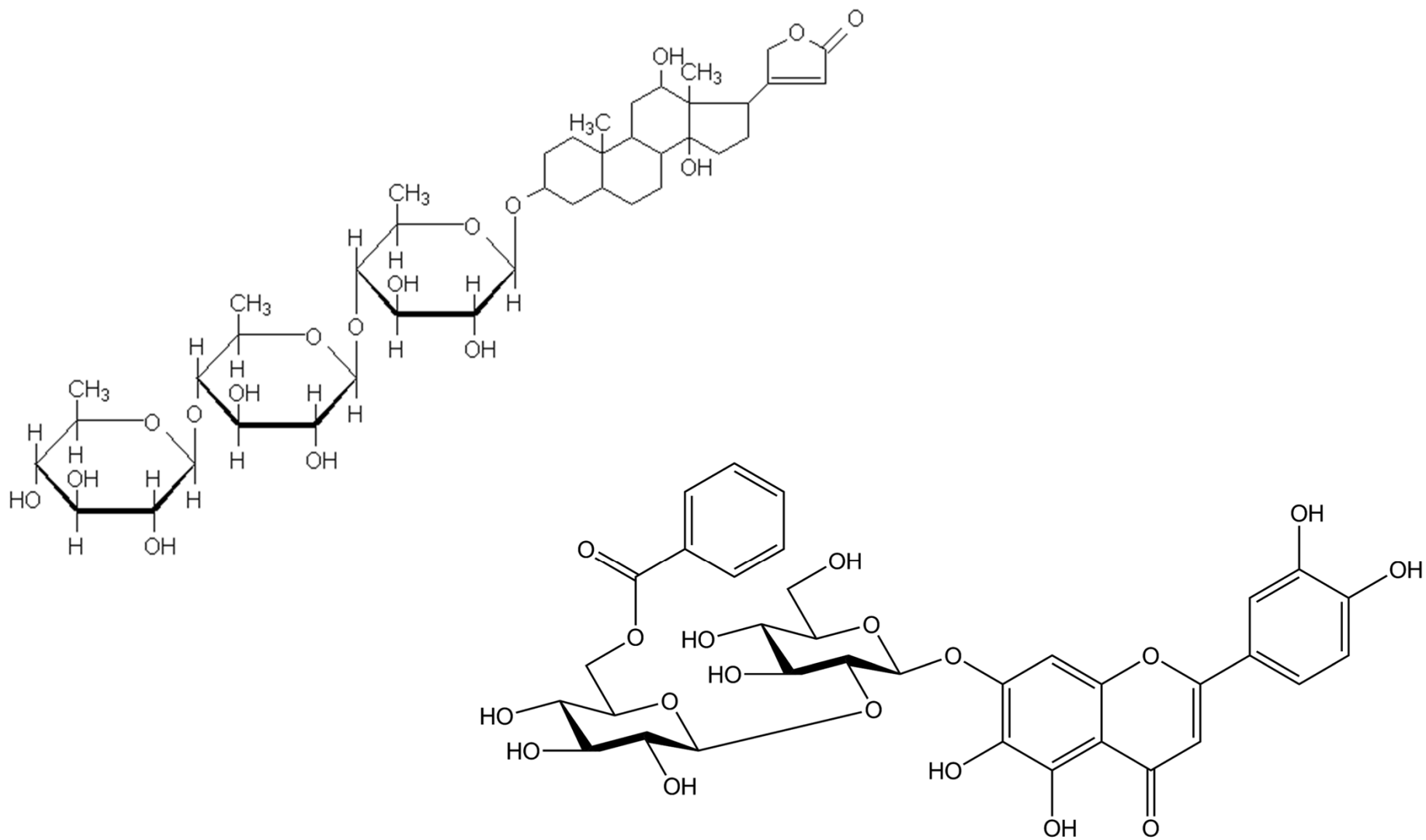
EXAMPLE



Εξειδίκευση Υποστρώματος

Εξειδίκευση υποστρώματος για τις β -γλυκοζιδάσες ουσιαστικά σημαίνει εξειδίκευση για τη χημική ομάδα που είναι ενωμένη με τη γλυκόνη (σάκχαρο) μέσω β -γλυκοζιτικού δεσμού, μιας και η γλυκόνη είναι πάντα το ίδιο μόριο (π.χ. γλυκόζη στους *O*- ή *S*- β -γλυκοζίτες).

Η χημική ομάδα που είναι ενωμένη με τη γλυκόζη είναι είτε ένα άλλο σάκχαρο, όπως στους δισακχαρίτες ενωμένους με β -γλυκοζιτικό δεσμό (π.χ. κελλοβιόζη), είτε μια αγλυκόνη, όπως σε όλους τους γλυκοζίτες. Στους γλυκοζίτες η αγλυκόνη είναι είτε μια αλκυλομάδα, είτε μια αρυλομάδα.

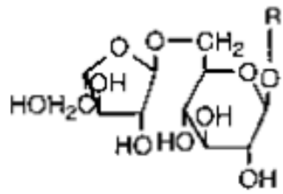


Ενίσχυση Αρώματος με β -Γλυκοζιδάση

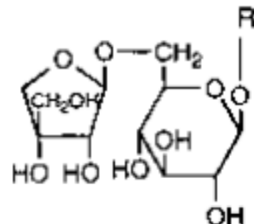
Σ' ένα μεγάλο αριθμό ιστών των φρούτων και λαχανικών, οι αρωματικές ουσίες συσσωρεύονται υπό τη μορφή μη-πτητικών, μη-οσμοφόρων ενώσεων, οι οποίες είναι πρόδρομα γλυκοζιτικά παράγωγα.

Τα γλυκοζιτικά παράγωγα των πτητικών ουσιών στα φρούτα και λαχανικά έχουν πολύ διαφορετικές και μερικές φορές πολύπλοκες δομές, όσον αφορά την αγλυκόνη. Το μέρος του σακχάρου είναι συνήθως ένα δισακχαρίτης και περιέχει γλυκοπυρανοζιτη (π.χ. 6-*O-a-L*-αραβινοφουρανοσυλ- β -D-γλυκοπυρανοζιτης, 6-*O-a-L*-αραβινοπυρανοσυλ- β -D-γλυκοπυρανοζιτης, κτλ.). Σε παράγωγα αρωματικών ουσιών έχουν βρεθεί μόνο 1 \rightarrow 6 δισακχαρικοί γλυκοζιτικοί δεσμοί.

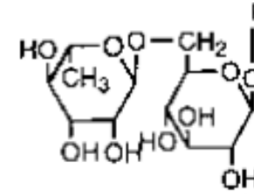
Σε παράγωγα από 150 φυτικά είδη έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 200 διαφορετικές αγλυκόνες, οι οποίες βιοσυνθετικά προέρχονται είτε από την οδό του μεβαλονικού οξέως (μονοτερπένια, σесκιτερπένια) ή από την οδό του σικιμικού οξέως (φαινολικά).



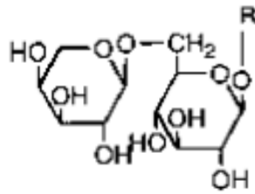
α -L-arabinofuranosyl- β -D-glucoside



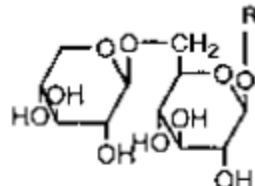
β -D-apiofuranosyl- β -D-glucoside



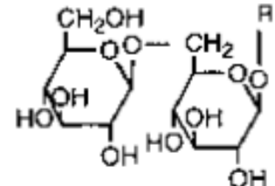
α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucoside



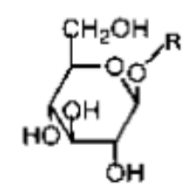
α -L-arabinopyranosyl- β -D-glucoside



β -D-xylopyranosyl- β -D-glucoside

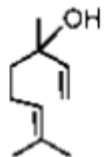


β -D-glucopyranosyl- β -D-glucoside

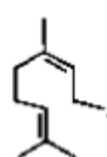


β -D-glucoside

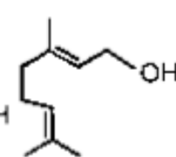
R-OH= Monoterpenes



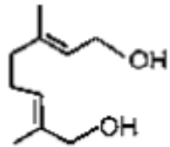
Linalool



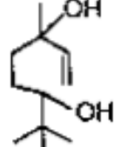
Nerol



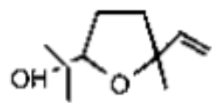
Geraniol



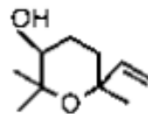
2,6-dien-1,8-diol



1-en-3,6,7-triol

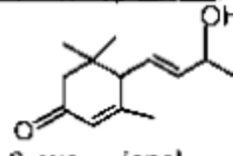


Linalool oxide-furan

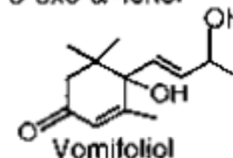


Linalool oxide-pyran

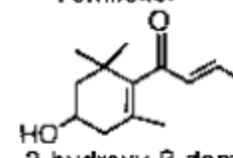
C13-norisoprenoids



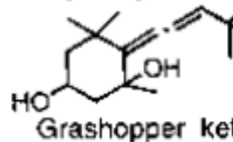
3-oxo- α -ionol



Vomifolol

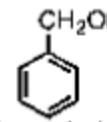


3-hydroxy- β -damascone

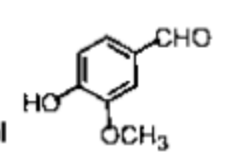


Grashopper ketone

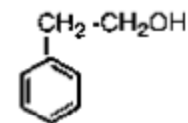
Shikimates



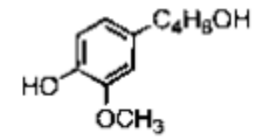
Benzyl alcohol



Vanillin



2-phenylethyl alcohol



Zingerol

Απελευθέρωση Αρωματικών Ουσιών

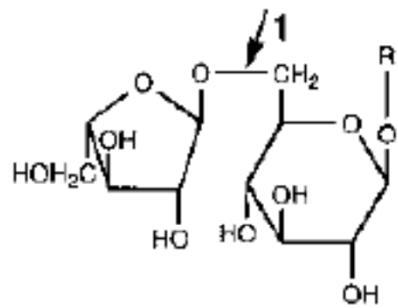
Γλυκοζιτικά παράγωγα αρωματικών ουσιών έχουν βρεθεί σε φρούτα όπως το σταφύλι, το βερίκοκο, το ροδάκινο, το ακτινίδιο, ο ανανάς, τα κεράσια και οι φράουλες. Η ποσότητα των γλυκοζιτικών παραγώγων είναι περίπου 2 - 10 φορές υψηλότερη από αυτή των ελεύθερων πτητικών ουσιών.

Οι πτητικές, οσμοφόρες ουσίες μπορούν ν' απελευθερωθούν από τα πρόδρομα γλυκοζιτικά παράγωγα είτε με ενζυμική είτε με όξινη (χημική) υδρόλυση. Η όξινη υδρόλυση μπορεί να συμβεί με αργό ρυθμό μέσα σε φρουτοχυμούς, εξαιτίας του όξινου pH.

Οι πτητικές ουσίες μπορούν ν' απελευθερωθούν από τους β-D-γλυκοζίτες μέσω της δράσης β-γλυκοζιδάσης. Η απελευθέρωση μπορεί να περιλαμβάνει δύο βήματα (διαδοχική υδρόλυση) ή ένα βήμα.

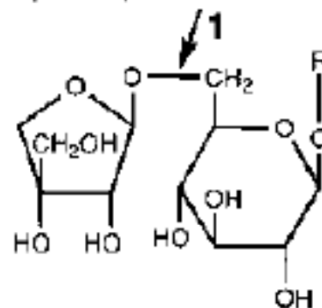
Σε γλυκοζίτες όπου το σάκχαρο είναι δισακχαρίτης, το σάκχαρο διασπάται από «εξωγλυκοζιδάσες». Αυτό απελευθερώνει ένα σάκχαρο και δημιουργεί β-D-γλυκοζίτες. Ακολούθως, διασπάται ο δεσμός του σακχάρου με την αγλυκόνη (πτητική ουσία).

α -L-arabinofuranosidase



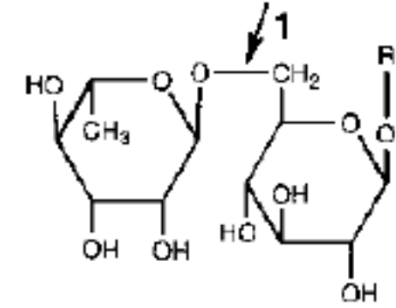
α -L-arabinofuranosyl- β -D-glucoside

β -D-apiofuranosidase



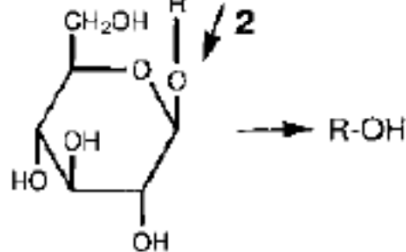
β -D-apiofuranosyl- β -D-glucoside

α -L-rhamnosidase



α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucoside

β -D-glucosidase



β -D-glucoside

R-OH : Monoterpenes, C₁₃- norisoprenoids, shikimates

Απελευθέρωση Αρωματικών Ουσιών

Στην υδρόλυση ενός βήματος, η απελευθέρωση της πτητικής αγλυκόνης γίνεται απευθείας με τη διάσπαση του γλυκοζιτικού δεσμού μεταξύ της αγλυκόνης και του δισακχαρίτη. Γλυκοζιδάσες που καταλύουν αυτού του τύπου υδρόλυση έχουν βρεθεί σε φύλλα τσαγιού και σε σταφύλι.

Οι εξωγλυκοζιδάσες που εμπλέκονται στην απελευθέρωση αρώματος είναι ευρέως διαδεδομένες σε φυτά και μικροοργανισμούς.

Σε διάφορες ποικιλίες σταφυλιών έχουν βρεθεί ενεργότητες β -γλυκοζιδάσης, α -αραβινοφουρανοζιδάσης, α -αραβινοπυρανοζιδάσης, α -ραμνοπυρανοζιδάσης και β -ξυλοζιδάσης.

Μυκητιακές γλυκοζιδάσες μπορεί να υπάρχουν σε φρούτα κυρίως λόγω της ανάπτυξης του μύκητα *Botrytis cinerea*. Άλλοι νηματώδεις μύκητες, όπως ο *Aspergillus sp.* αλλά και διάφοροι ζυμομύκητες μπορούν επίσης να βιοσυνθέσουν β -γλυκοζιδάσες.

Γλυκοζιδάσες & Επεξεργασία Τροφίμων

Τα βέλτιστα pH για τις φυτικές β -γλυκοζιδάσες κυμαίνονται μεταξύ 5 και 6. Οι περισσότερες γλυκοζιδάσες εκφράζουν το 5 - 15% της ενεργότητάς τους στο εύρος του pH των φρουτοχυμών. Οι μυκητιακές γλυκοζιδάσες όμως μπορεί να έχουν χαμηλότερα βέλτιστα pH (περίπου 3.5). Αυτό σημαίνει ότι μερικά μυκητιακά ένζυμα εκφράζουν περίπου το 50% της ενεργότητάς τους στο pH των φρουτοχυμών.

Οι περισσότερες φυτικές γλυκοζιδάσες, αλλά και αυτές που προέρχονται από ζύμες δεν παρουσιάζουν μεγάλη σταθερότητα σε σχετικά χαμηλά pH. Αντιθέτως, διάφορες γλυκοζιδάσες από *A. niger* επιδεικνύουν εξαιρετική σταθερότητα σε pH 2.7 - 7.

Οι βέλτιστες θερμοκρασίες για γλυκοζιδάσες από φυτικές πηγές και από ζύμες είναι 45 - 50 °C, ενώ γι' αυτές από *A. niger* 50 - 60 °C. Ταχεία απενεργοποίηση των γλυκοζιδασών επέρχεται σε θερμοκρασίες > 50 °C, αλλά οι μυκητιακές γλυκοζιδάσες απενεργοποιούνται σε θερμοκρασίες > 65 °C.

Γλυκοζιδάσες & Επεξεργασία Τροφίμων

Όσον αφορά στην εξειδίκευση υποστρώματος για γλυκοζίτες μονοτερπενίων, η υδρόλυση επηρεάζεται σημαντικά από τη δομή της αγλυκόνης είτε η γλυκοζιδάση προέρχεται από φυτική πηγή, είτε από μικροβιακή.

Οι φυτικές γλυκοζιδάσες επιδεικνύουν αυξημένη ενεργότητα σε γλυκοζίτες πρωτοταγών αλκοολών (π.χ. γερανιόλη, νερόλη) αλλά όχι σε γλυκοζίτες τριτοταγών (π.χ. λιναλοόλη, *α*-τερπινεόλη). Αυτό δείχνει και την περιορισμένη εφαρμογή φυτικών γλυκοζιδασών στην ανάκτηση αρώματος κατά την επεξεργασίων των τροφίμων (π.χ. φρουτοχυμοί).

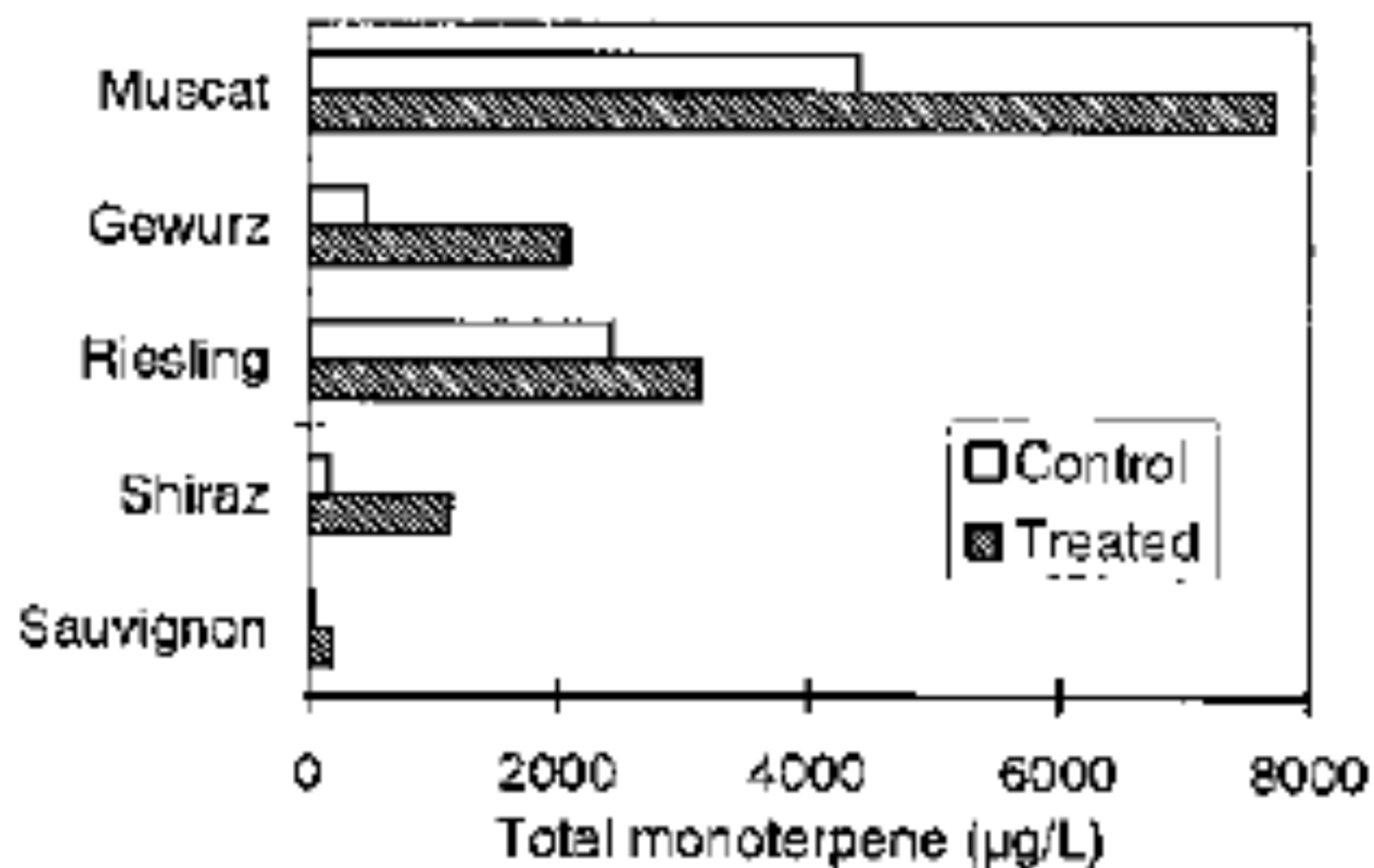
Ένας κοινός περιορισμός στην απελευθέρωση αρώματος σε φρουτοχυμούς με χρήση γλυκοζιδάσης είναι η αναστολή του ενζύμου από τη γλυκόζη. Αντιθέτως, σάκχαρα όπως η φρουκτόζη και η αραβινόζη δεν είναι αναστολείς. Καποια είδη ζυμομυκήτων, όπως μερικά που ανήκουν στα γένη *Candida* και *Debaryomyces* μπορούν να παράξουν γλυκοζιδάσες που είναι ανθεκτικές στην αναστολή από γλυκόζη.

Χρήση των Γλυκοζιδασών για Ενίσχυση Αρώματος

Η χρήση των β-γλυκοζιδασών έχει μελετηθεί σημαντικά για εφαρμογές στην τεχνολογία οίνων α) γιατί μερικές ποικιλίες σταφυλιών περιέχουν υψηλά επίπεδα αρωματικών ουσιών που συσσωρεύονται υπό τη μορφή γλυκοζιτικών παραγώγων και β) γιατί τα ενδογενή ένζυμα και τα ένζυμα των ζυμομυκήτων αναστέλλονται ισχυρά από τη γλυκόζη που περιέχεται στον σταφυλοχυμό.

Τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται είναι παρασκευάσματα που προέρχονται κυρίως από μύκητες *Aspergillus spp.* Η προσθήκη αυτών των ενζύμων κατά τη διάρκεια της οινοποίησης απελευθερώνει αρωματικές ουσίες όπως τερπένια και πτητικές φαινόλες.

Όσον αφορά στα τερπένια, οι κυριότερες ουσίες που απελευθερώνονται είναι η γερανιόλη και η νερόλη και η λιναλοόλη, οι οποίες προσδίδουν στους παραγόμενους οίνους νότες λουλουδιών.



Χρήση των Γλυκοζιδασών για Ενίσχυση Αρώματος

Ανάμεσα στις πτητικές φαινόλες, αυτές που είναι δεσπόζουσας σημασίας για το άρωμα των οίνων είναι η βενζυλική αλκοόλη, η 2-φαινυλαιθανόλη, η βανιλίνη και η ευγενόλη. Η συγκέντρωση αυτών των ουσιών πολλές φορές ενισχύεται από τη χρήση ενζύμων.

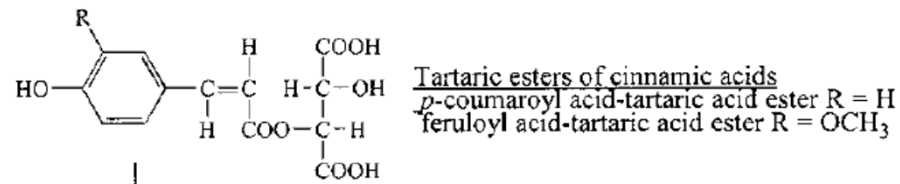
Σε φρουτοχυμούς οι εφαρμογές μυκητιακών γλυκοζιδασών είναι σχετικά περιορισμένες εν συγκρίσει με τους οίνους γιατί α) αυτά τα ένζυμα δεν μπορούν να υδρολύσουν, τουλάχιστον στην επιθυμητή έκταση, τα γλυκοζιτικά παράγωγα γιατί περιέχουν δισακχαρίτες και β) αναστέλλονται από τη γλυκόζη, της οποίας η συγκέντρωση είναι υψηλή.

Προβλήματα από τη Χρήση Ενζυμικών Παρασκευασμάτων

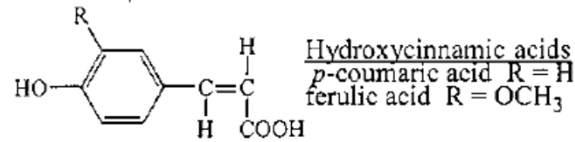
Η χρήση ενζυμικών παρασκευασμάτων δεν είναι πάντα ευεργετική και μπορεί να προκαλέσει προβλήματα, εξαιτίας του σχηματισμού δυσάρεστων / ανεπιθύμητων οσμών. Φαινορικά οξέα όπως το π-κουμαρικό και το φερουλικό, βρίσκονται υπό τη μορφή παραγώγων (εστέρων) με οξέα όπως το κινικό και το τρυγικό.

Ένας μεγάλος αριθμός ενζυμικών παρασκευασμάτων, όπως π.χ. πηκτινάσες, τα οποία προέρχονται από μυκητιακές πηγές, παρουσιάζουν επίσης παράπλευρες ενεργότητες, όπως αυτή της κινάμυλ εστεράσης. Αυτό έχει ως συνέπεια την απελευθέρωση των φαινολικών οξέων από τα παράγωγά τους.

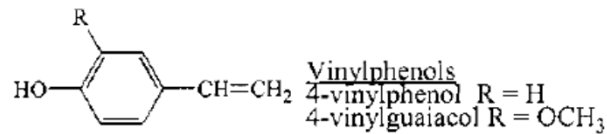
Φαινορικά οξέα όπως το π-κουμαρικό και το φερουλικό μπορούν ν' αποκαρβοξυλιωθούν από μύκητες ή βακτήρια και να δώσουν βινυλ- φανόλες, οι οποίες σε υψηλά επίπεδα έχουν ανεπιθύμητες οσμές. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται κι όταν παράγονται αιθυλ- φανόλες, μέσω μυκήτων ή βακτηρίων.



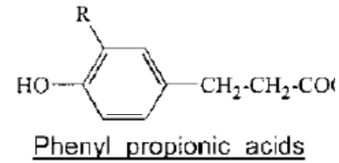
Cinnamate esterase



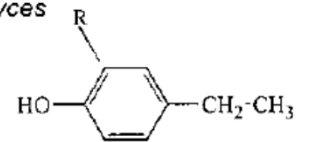
S. cerevisiae/bacteria
cinnamate decarboxylase
or thermal decarboxylation



Lactobacillus
reductase



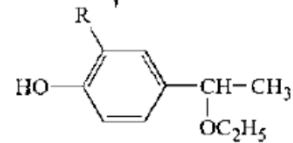
Lactobacillus
decarboxylase



Bacteria/*Brettanomyces*
reductase

Storage of alcoholic beverages

C₂H₅OH
H⁺



Ethoxyethylphenols
 4-(1-ethoxyethyl)phenol R = H
 4-(1-ethoxyethyl)guaiacol R = OCH₃