



## **Mechanizmy powstawania oraz występowanie pirazyn w destylatach spirytusowych, jako element oceny prawidłowości obróbki termicznej surowca w procesie technologicznym**

Grzegorz Kłosowski<sup>1</sup>, Anna Błajet-Kosicka<sup>2</sup>

Zakład Biotechnologii<sup>1</sup>, Zakład Fizjologii i Toksykologii<sup>2</sup>,  
Instytut Biologii Eksperymentalnej, Wydział Nauk Przyrodniczych,  
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Bydgoszcz

### **Mechanisms of pyrazine compounds formation and validation of raw material thermal processing during technological process based on the presence of pyrazine in raw spirits**

#### Summary

Pressure-thermal processing of starchy plants raw materials with the use of Henze steamer can cause a number of unfavourable phenomena connected to sugars caramelization and Maillard reactions. In technological conditions, the effectiveness of starch grains extraction from cellular structures can be assessed macroscopically; however, it is not easy to gain information about the intensity of the phenomena mentioned above. Our experiments led to the conclusion that the raw spirits obtained from raw materials, subject to intensive thermal processing, contain pyrazine compounds such as 2,5-dimethylpyrazine and 2,3,5,6-tetramethylpyrazine. These compounds were not observed in the spirits prepared in the optimized pressure-thermal process. Optimization of the steaming process can limit losses in ethanol yield up to 0.85 dm<sup>3</sup>/100 kg of raw material. It also significantly increases the quality of raw spirit through lowering of acetaldehyde and organic acids concentrations. Our data suggest that determination of pyrazine compounds in raw spirits can be used as a sensitive indicator in the validation of pressure-thermal processing starchy plants raw materials used for ethanol production.

#### Adres do korespondencji

Grzegorz Kłosowski,  
Zakład Biotechnologii,  
Instytut Biologii  
Eksperymentalnej,  
Uniwersytet Kazimierza  
Wielkiego,  
ul. Chodkiewicza 30,  
85-064 Bydgoszcz

---

**biotechnologia**

1 (88) 147–160 2010

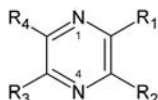
#### Key words:

pyrazins, thermal processing of raw material, alcoholic fermentation, alcoholic fermentation by-products.

## 1. Wstęp

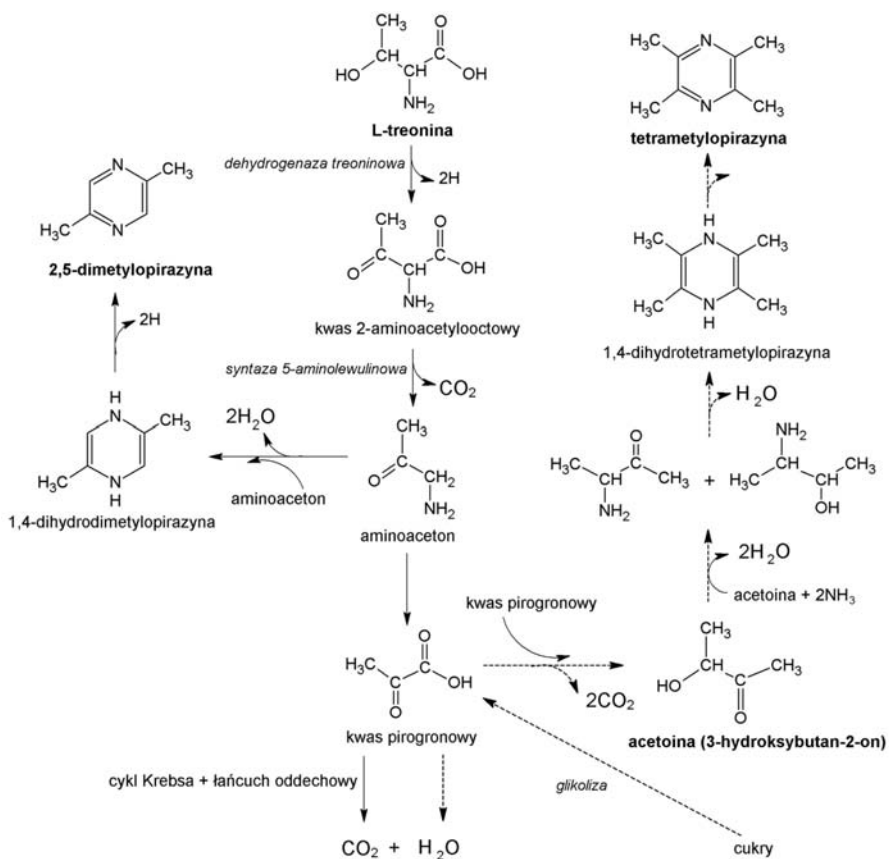
### 1.1. Mechanizmy biochemiczne i chemiczne prowadzące do powstawania pirazyn

Pirazyny to aromatyczne związki heterocykliczne, posiadające w swej strukturze 6-członowy pierścień, zawierający dwa atomy azotu w pozycjach 1 i 4 (rys. 1).



$R_n$ : -H, -alkil, -cykloalkil, -acyl, -alkoksyl, -aryl, -tiol, -sulfid, -hydroksyl

Rys. 1. Wzór ogólny cząsteczki pirazyn.



Rys. 2. Schemat biosyntezy 2,5-DMP i TMP (na podstawie Larroche i inni (4)).

Związki te były izolowane z olejów fuzlowych już w drugiej połowie XIX w. (1). Naturalne występowanie pirazyn stwierdzono, m.in. w warzywach (np. groszek zielony) i owadach (np. owocanka południówka) (2,3). Związki te są produktami pierwotnych i wtórnych procesów metabolicznych niektórych mikroorganizmów. 2,5-Dimetylopirazyna (2,5-DMP) i 2,3,5,6-tetrametylopirazyna (TMP) są metabolitami bakterii z rodzaju *Bacillus* (rys. 2). Z kolei bakterie *Pseudomonas* charakteryzuje zdolność wytwarzania 2-metoksy-3-izopropylpirazyny i 2-metoksy-3-*sec*-butylopirazyny. Również grzyby pleśniowe *Aspergillus* wytwarzają, m.in. 1-tlenek 2-hydrokso-3-izobutylo-6-*sec*-butylopirazyny (kwas aspergilowy) (4,5).

Pirazyny mogą powstawać podczas termicznej obróbki żywności, w procesie nieenzymatycznego brązowienia (reakcje Maillarda). Substancje te są odpowiedzialne za powstawanie charakterystycznego zapachu i aromatu oraz koloru (tab. 1).

Tabela 1

## Aromaty wybranych alkilopirazyn (5-7)

| Związek                              | Aromat/Zapach                             | Próg wykrywalności zapachowej |            |  |
|--------------------------------------|---|-------------------------------|------------|--|
|                                      |   | woda (ppm)                    | olej (ppm) | powietrze ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) |
| 2-metylopirazyna                     | pieczeniowy, trawiasty, orzechowy         | 30-100                        | 27         | >2000                                  |
| 2-etylopirazyna                      | orzechowy, słodki, maślany, rumowy        | 4-21                          | 17         | >2000                                  |
| 2,3-dimetylopirazyna                 | skóry, pieczeniowy, ostry, gryzący        | 0,4-2,5                       | -          | 590-1170                               |
| 2,5-dimetylopirazyna                 | orzechowy, trawiasty                      | 1-35                          | 2-17       | 1210-2430                              |
| 2,6-dimetylopirazyna                 | słodki, przypominający pieczone ziemniaki | 1,5-54                        | 8          | 1140-2300                              |
| 2,5-dietylopirazyna                  | orzechy włoskie, słodki                   | 0,02                          | 0,27       | 1,1-2,2                                |
| 2-etylo-3-metylopirazyna             | orzechowy, pieczeniowy, ziemniaczany      | 0,13                          | -          | 23-46                                  |
| trimetylopirazyna                    | orzechowy, ostry, trawiasty               | 0,4-9                         | -          | 33-66                                  |
| 2-etylo-3,(5 lub 6)-dimetylopirazyna | migdałowy, orzechowy, pieczeniowy         | 0,004-15                      | 0,024-24   | 0,007-2                                |
| tetrametylopirazyna                  | sfermentowane ziarna soi, czekoladowy     | 1-10                          | 38         | >2000                                  |

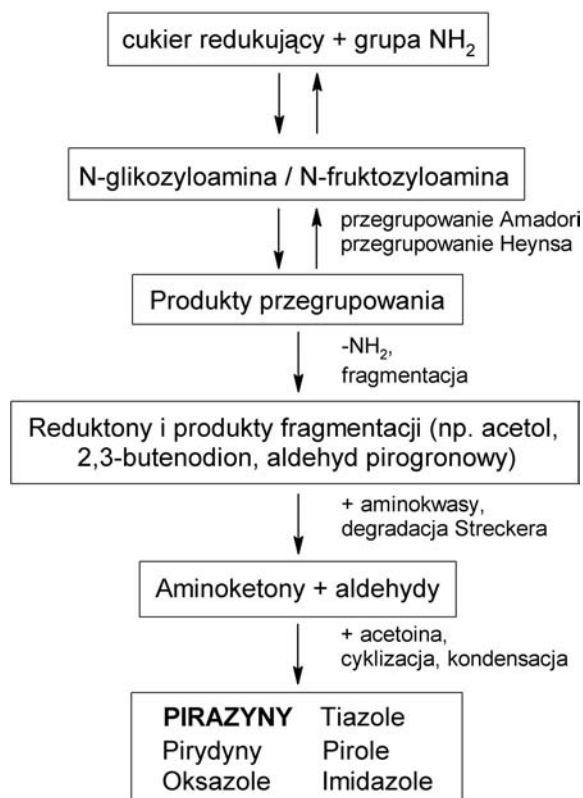
Roczna produkcja aromatów pirazynowych w Europie w 1995 r. wyniosła 2700 kg. Szacuje się, że około 2/3 całkowitej podaży stanowi produkcja trzech związków: 2,3,5-trimetylopirazyny, 2-etylo-3-metylopirazyny oraz 2-etylo-3,(5 lub 6)-dimetylopirazyny. W tabeli 2 przedstawiono dzienne spożycie wybranych alkilopirazyn w Europie i USA (8).

Mechanizm powstawania pirazyn nie jest do końca poznany. Zaproponowano wieloetapowy przebieg reakcji Maillarda (rys. 3). W pierwszym etapie zachodzi kondensacja między związkiem zawierającym grupę aminową (aminokwasy, białka) a cukrem redukującym, co prowadzi do powstania N-glikozyloaminy (w przypadku

Tabela 2

Dzienne spożycie wybranych alkilopirazyń w Europie i USA (8)

| Związek                              | Dzienne spożycie<br>μg/osobę |     |
|--------------------------------------|------------------------------|-----|
|                                      | Europa                       | USA |
| 2-metylopirazyńa                     | 20                           | 7   |
| 2-etylopirazyńa                      | 3                            | 6   |
| 2,3-dimetylopirazyńa                 | 16                           | 4   |
| 2,5-dimetylopirazyńa                 | 22                           | 8   |
| 2-etylo-3-metylopirazyńa             | 84                           | 9   |
| trimetylopirazyńa                    | 120                          | 46  |
| 2-etylo-3,(5 lub 6)-dimetylopirazyńa | 44                           | 9   |
| tetrametylopirazyńa                  | 8                            | 19  |



Rys. 3. Schemat procesów zachodzących podczas reakcji Maillarda (9,10).

aldozy), ulegającej przegrupowaniu Amadori lub N-fruktozyloaminy (w przypadku ketozy) ulegającej przegrupowaniu Heynsa. W kolejnym etapie następuje uwolnienie grupy aminowej i produkt przegrupowania Amadori/Heynsa ulega fragmentacji, w wyniku której powstaje szereg reaktywnych produktów, biorących udział w dalszych przemianach. Związki dikarbonylowe reagują z aminokwasami (degradacja Streckera) tworząc aldehydy i aminoketony, ulegające cyklizacji i kondensacji, co prowadzi do powstania, m.in. pirazyn. Powstawanie różnych substancji smakowych i zapachowych w reakcji Maillarda zależy od wielu czynników: reagujących cukrów i aminokwasów, temperatury, czasu, pH układu, zawartości wody. Wszystkie te czynniki stanowią parametry procesowe w produkcji żywności (9,10).

Badanie stosunku 2-metylopirazyny i 2,5-dimetylopirazyny oraz 2-metylopirazyny i 2,6-dimetylopirazyny jest wykorzystywane w monitorowaniu procesu palenia ziaren kawy (1,11). Alkilopirazyny powstają w procesie obróbki termicznej mięsa, jeśli pH układu ma wartość powyżej 5,5 (12). Podczas fermentacji ziaren soi powstaje wiele związków pirazynowych – w zależności od przygotowania i wzbogacenia podłoża (4,13). 2,5-dimetylopirazyna wymieniana jest również jako jeden ze związków pirazynowych obecnych w dymie papierosowym.

Spożyte alkilopirazyny są szybko wchłaniane z przewodu pokarmowego, a ich metabolizm polega głównie na utlenianiu bocznych łańcuchów węglowych. Powstające kwasy 2-pirazynokarboksyłowe są wydalane w postaci wolnej lub skoniugowanej (np. jako glukuroniany, siarczany). W badaniach nad toksycznością ostrą, prowadzonych na szczurach obojga płci, ustalono wartości  $LD_{50}$  dla wybranych pochodnych pirazyny (tab. 3) (8).

Tabela 3

Wartości  $LD_{50}$  wybranych alkilopirazyn (droga pokarmowa, szczury) (8)

| Związek                              | $LD_{50}$<br>(mg/kg masy ciała) |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| 2-metylopirazyna                     | 180                             |
| 2,3-dimetylopirazyna                 | 610                             |
| 2,5-dimetylopirazyna                 | 1000                            |
| 2-etylo-3-metylopirazyna             | 600                             |
| trimetylopirazyna                    | 810                             |
| 2-etylo-3,(5 lub 6)-dimetylopirazyna | 460                             |
| tetrametylopirazyna                  | 1900                            |

Oceniono również toksyczność podprzewlekłą najczęściej wykorzystywanych alkilopirazyn (szczury obu płci, 90 dni, średnia dawka 25 mg/kg masy ciała). Stwierdzono, m.in. nieznaczny spadek masy ciała samic (u samców nie wystąpił taki efekt).

Nie zaobserwowano zmian patologicznych oraz różnic w wartościach parametrów krwi i moczu w stosunku do grupy kontrolnej. Ustalono, że podawanie samicom myszy 2,5-DMP w dawce 100 mg/kg masy ciała 1-2 razy dziennie opóźnia dojrzewanie płciowe, powoduje spadek masy macicy. Związek ten zwiększa śmiertelność noworodków myszy podczas laktacji (8,14).

Alkilopirazyny, obok kształtowania i polepszania właściwości organoleptycznych, wykazują działanie przeciwutleniające (15). Tetrametylopirazyna jest składnikiem aktywnym ziół *Ligusticum wallichii*, wykorzystywanych w medycynie chińskiej. Jej działanie polega, m.in. na hamowaniu agregacji płytek krwi i łagodzeniu zmian neurologicznych związanych z niedokrwieniem rdzenia kręgowego. Związek ten znalazł zastosowanie w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych i naczyniowo-mózgowych (8,16-18).

## 1.2. Obróbka barotermiczna surowców skrobiowych w gorzelnictwie

W polskim gorzelnictwie, stosowana jest w większości zakładów klasyczna, tradycyjna, ciśnieniowo-termiczna metoda uwalniania skrobi ze struktur komórkowych, z zastosowaniem parnika Henzego. Metoda ta charakteryzuje się stosunkowo dużą energochłonnością w porównaniu z technologią bezcisnieniowego uwalniania skrobi BUS. Główną jej zaletą jest całkowita sterylizacja podłoża, obejmująca zarówno formy wegetatywne jak również przetrwalnikowe niepożądanych mikroorganizmów. Ponadto, metoda ta pozwala na uniknięcie kłopotów technologicznych, związanych ze znacznym wzrostem lepkości zacierów, w przypadku przerobu surowców charakteryzujących się wysoką zawartością polisacharydów, takich jak pentozany i  $\beta$ -glukany (19-21).

Proces technologiczny produkcji alkoholu etylowego metodą fermentacyjną składa się z szeregu operacji i procesów jednostkowych. W każdym procesie biotechnologicznym warunki fizykochemiczne wykonania poszczególnych operacji powinny podlegać ścisłej kontroli, poprzez monitorowanie *online* najważniejszych parametrów decydujących o ich prawidłowym przebiegu i maksymalnej wydajności procesu.

Obróbka surowca skrobiowego w parniku, szczególnie w przypadku braku ścisłej kontroli może jednakże powodować szereg niekorzystnych zjawisk:

1. Utrata części węglowodanów obecnych w surowcu lub wytworzonych w trakcie hydrolizy termicznej na skutek reakcji z produktami hydrolizy białek i tworzeniem barwnych związków, tzw. produktów reakcji Maillarda.

2. W trakcie parowania surowca w podwyższonej temperaturze występuje również zjawisko tworzenia się karmelu z cukrów prostych, oraz przekształcenia ich w związki o ciemnej barwie i specyficznej woni. Przykładem może być powstawanie hydroksymetylofurfuralu przez odwodnienie heksoz.

3. Przedstawione wcześniej reakcje Maillarda i karmelizacji powodują, że część węglowodanów z technologicznego punktu widzenia ulega bezpowrotnemu zniszczeniu, gdyż staje się niedostępna dla procesu fermentacji.

4. Zmniejszenie wydajności spirytusu na skutek opisanych zjawisk, powoduje utratę od 0,5 do 1,0 litra alkoholu ze 100 kg zboża (22,23).

5. Dodatkowym skutkiem tworzenia się produktów reakcji Maillarda oraz lotnych związków wydzielających się w procesie powstawania karmelu, jest ich negatywny wpływ na rozwój i aktywność fermentacyjną drożdży, a w konsekwencji na wydajność fermentacji i zawartość produktów ubocznych oraz zanieczyszczeń w destylatach.

6. Niektórzy autorzy zwracają również uwagę na możliwość blokowania przyswajalności niektórych aminokwasów, w szczególności lizyny, na skutek blokowania grup aminowych z innymi składnikami organicznymi (cukrami, produktami utleniania tłuszczów), co kojarzone jest z nadmierną obróbką baro-termiczną (24).

Intensywność czy też stopień nasilenia wymienionych zjawisk jest w znacznym stopniu uzależniony od temperatury obróbki surowca, jej rozkładu w parowanej masie oraz od czasu oddziaływania, które to parametry powinny być ściśle monitorowane w celu usunięcia ewentualnych nieprawidłowości (25).

## **2. Cel badań**

Celem badań była ocena występowania pirazyn w surowych destylatach spirytusowych, oraz ustalenie czy w ocenie prawidłowości przebiegu procesu parowania może być pomocna analiza występowania związków pirazynowych w destylacie rolniczym.

W sposób makroskopowy w warunkach technologicznych, można ocenić skuteczność wydobycia ziaren skrobi ze struktur komórkowych i na tej podstawie ocenić prawidłowość doboru parametrów fizykochemicznych procesu parowania (26). Jednakże ocena nasilenia towarzyszących temu zjawisk związanych z karmelizacją i reakcjami Maillarda nie jest łatwa, szczególnie w warunkach technologicznych, co z kolei może skutkować wymienionymi negatywnymi konsekwencjami, wywierającymi bezpośredni wpływ na wydajność produkcji i uzyskiwane efekty ekonomiczne.

## **3. Materiały i metody**

### **3.1. Charakterystyka warunków technologicznych**

Badania przeprowadzono w warunkach technologicznych, w gorzelnii rolniczej, w której stosuje się technologię klasyczną. Surowiec stanowiło ziarno kukurydzy o wilgotności ok. 14%. W trakcie badań dokonano oceny zmian w parametrach pro-

cesu parowania surowca na wydajność fermentacji uzyskiwanej z jednostki surowca oraz jakość destylatów surowych, w tym występowanie związków pirazykowych w destylatach rolniczych.

### **3.2. Charakterystyka sposobu parowania przed wprowadzeniem zaleceń technologicznych**

Gorzelnie do przeprowadzenia doświadczenia wytypowano na podstawie wstępnych analiz destylatów dostarczanych do badań w ramach prac zleconych. Dostarczony destylat surowy charakteryzował się stosunkowo wysokim stężeniem 2,5-dimetylopirazyny i 2,3,4,5-tetrametylopirazyny co sugerowało nieprawidłowe parametry obróbki termicznej surowca w procesie parowania. W gorzelnii, gdzie wykonywano badania stosowano system parowania z jedną cyrkulacją zawartości parnika przy ciśnieniu 3 atm. Zawartość parnika przetrzymywano przy maksymalnym ciśnieniu, tj. 5 atm przez 30 min, co prowadziło do nasilenia karmelizacji cukrów i reakcji Maillarda, a konsekwencji do spadku wydajności alkoholu o ok. 0,5-1 dm<sup>3</sup> A<sub>100</sub>/100 kg surowca. Skutkiem dodatkowym przetrzymywania zacieru w parniku w tych warunkach, było również powstawanie związków pirazykowych, jako jednego z produktów reakcji Maillarda.

### **3.3. Charakterystyka sposobu parowania po wprowadzeniu zaleceń technologicznych**

Po uwzględnieniu wstępnych obserwacji rezultatów parowania, wprowadzono system trzech cyrkulacji zawartości parnika, tj. po osiągnięciu ciśnienia 1,5; 2,5; 3,5 atm. Przy zamkniętym zaworze doprowadzającym parę, otwierano na 2-3 minuty zawór odpowietrzający. W czasie cyrkulacji następowało przemieszczanie pary w rozplawianym surowcu i mieszanie zawartości, poprawiające rozkład masy i temperatury. Podczas tego zabiegu ciśnienie w parniku spadało o 0,2 do 0,5 atm. Dopływ pary do parnika regulowano w taki sposób, aby przy lekko uchylonym zaworze odpowietrzającym w ciągu 20-25 min ciśnienie wzrosło do 1,5 atm. Wówczas przeprowadzano pierwszą cyrkulację, po zamknięciu zaworu odpowietrzającego podnoszono ciśnienie do 2,5, a następnie 3,5 atm, przeprowadzając drugą i trzecią cyrkulację. Po osiągnięciu ciśnienia 3,5 atm utrzymywano je na tym poziomie przez 5-10 minut. Po upływie tego czasu ciśnienie w parniku podnoszono szybko do 5 atm i utrzymywano na tym poziomie przez 10-15 min.



### 3.4. Aparatura i metody analityczne

Optymalizację procesu parowania wykonano w warunkach produkcyjnych gorzelnii rolniczej, stosującej technologię klasyczną z parnikiem Henzego.

Badania chromatograficzne wykonano z zastosowaniem chromatografów gazowych: Hewlett-Packard HP 5890II ze spektrometrem mas HP 5971A oraz Perkin Elmer Auto System XL z detektorem TURBOMASS GOLD, wyposażonymi w następujące kolumny:

- HP5 (długość: 25 m, przekrój: 0,2 mm, grubość filmu: 0,33  $\mu\text{m}$ ),
- FFAP (długość: 25 m, przekrój: 0,32 mm, grubość filmu: 0,52  $\mu\text{m}$ ).

Proces identyfikacji prowadzono na bazie dostępnej wersji biblioteki widm masowych. Nomenklaturę zidentyfikowanych związków ustalono na podstawie numeru CAS.

Do przygotowania roztworów wzorcowych, wykorzystywanych do potwierdzenia identyfikacji związków oraz kalibracji detektora FID w analizie jakościowej i ilościowej, stosowano odczynniki wysokiej czystości pochodzące z firmy MERCK. Jako rozpuszczalnik do przygotowania wzorców kalibracyjnych zastosowano spirytus rektyfikowany luksusowy neutralny, zbożowy, z atestem o mocy 96,6% obj. wyprodukowanym przez „Akwawit” Leszno. Rozpuszczalnik charakteryzował się wysoką czystością i nie zawierał żadnych z analizowanych związków.

W pracach analitycznych wykorzystano chromatograf gazowy Hewlett-Packard serii 6890 z układem EPC, wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny FID, optymalizowany dla kolumn kapilarnych z układem EPC.

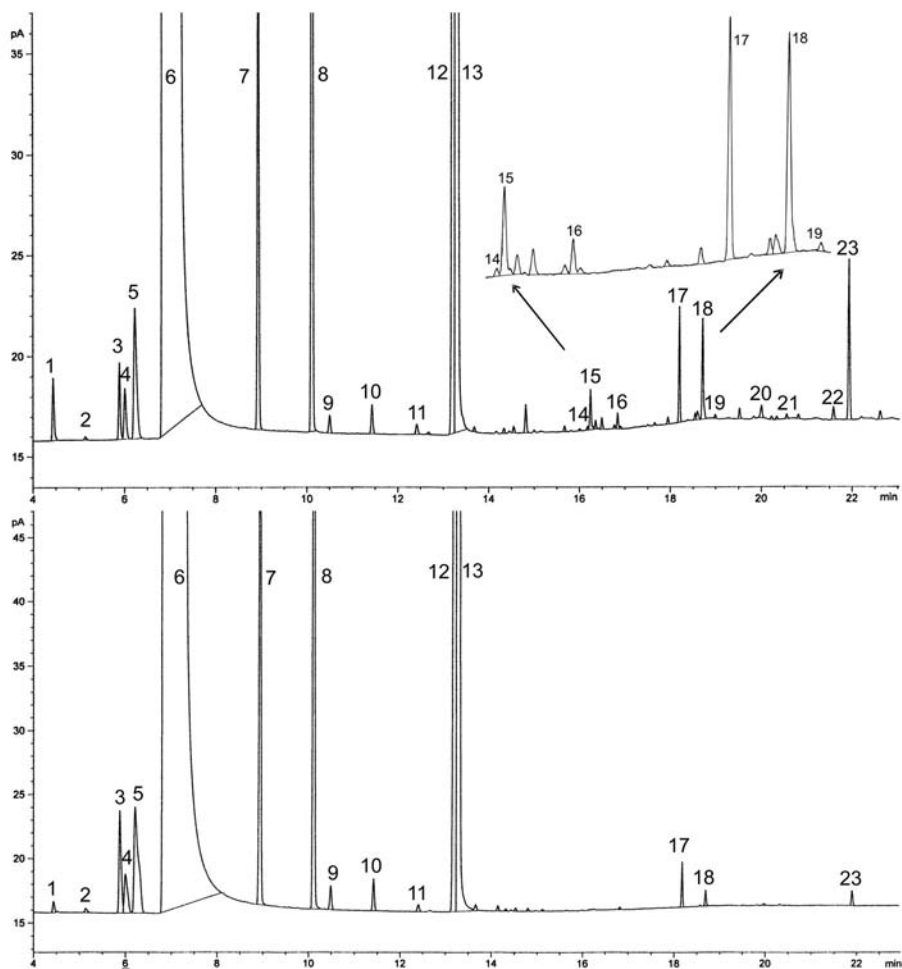
Do rozdziału analizowanych składników stanowiących zanieczyszczenia spirytusów użyto polarnej kolumny Varian Capillary Column, typu – CP-WAX 57CB (ang. *High Polarity Polyethylene Glycol*), o długości 50 m, średnicy wewnętrznej 0,32 mm i grubości filmu 0,20  $\mu\text{m}$ . Kolumna CP-WAX 57CB jest unikatowa i nie posiada odpowiedników wśród produktów innych firm. Jej specyficzność (optymalizacja w celu skutecznej analizy produktów ubocznych fermentacji) sprawia, że może być z powodzeniem stosowana do analizy produktów ubocznych w spirytusie i winie. Proces obróbki wyników analizy chromatograficznej był realizowany za pomocą analitycznej stacji komputerowej współpracującej z oprogramowaniem Chem-Station firmy Hewlett-Packard. Szczegóły dotyczące parametrów rozdziału chromatograficznego opublikowano wcześniej (27-29).

## 4. Wyniki badań

W wyniku przeprowadzonych metodą GC/MS analiz destylatów surowych pochodzących z gorzelnii, w której wykorzystywano technologię klasyczną z zastosowaniem parnika Henzego stwierdzono, że w destylatach otrzymanych z surowców, które były poddawane zbyt intensywnej obróbce termicznej (wydłużony czas paro-

wania, pominięcie cyrkulacji rozparowywanej masy w parniku, zbyt długie przetrzymywanie zawartości parnika przy maksymalnym ciśnieniu 5 atm występują związki pirazynowe takie jak 2,5-dimetylopirazyzna oraz 2,3,5,6-tetrametylopirazyzna (rys. 4).

Stwierdzono, że nie są one obecne w destylatach uzyskanych z zacierów sporządzonych w warunkach procesu obróbki parowo-termicznej prowadzonej zgodnie z sugerowanym schematem (rys. 4).



Rys. 4. Chromatogramy destylatów surowych z występującymi pirazynami (rys. górny – piki 15 i 19) i bez obecności pirazyn (po optymalizacji procesu parowania surowca).

1-aldehyd octowy; 2-octan metylu; 3-octan etylu; 4-acetal; 5-metanol; 6-etanol; 7-n-propanol; 8-izo-butanol; 9-octan izoamylu; 10-n-butanol; 11-niezidentyfikowany; 12-2-metylo-1-butanol; 13-3-metylo-1-butanol; 14-heptanian etylu; 15-2,5-dimetylopirazyzna; 16-mleczan etylu; 17-oktanian etylu; 18-kwas octowy; 19-2,3,5,6-tetrametylopirazyzna; 20-nonanian etylu; 21-kwas izomasłowy; 22-1,2-propanodiol; 23-dekanian etylu.

Tezę tę potwierdza fakt występowania tych związków w próbach destylatów pochodzących z gorzelnii, gdzie w wywiadzie z kierownictwem został potwierdzony fakt zbyt rygorystycznego traktowania surowca w procesie parowania, realizowanego z obawy przed niedostatecznym rozparowaniem surowca lub możliwością infekcji mikrobiologicznych, wywołanych jego złą jakością.

Destylaty rolnicze uzyskane po destylacji odfermentowanych zacierów po optymalizacji procesu parowania, poza brakiem związków pirazynowych, tj. 2,5-dimetylopirazyny oraz 2,3,5,6-tetrametylopirazyny, charakteryzowały się o ponad połowę mniejszym stężeniem aldehydu octowego, w stosunku do destylatów uzyskiwanych z surowca poddawanego zbyt intensywnej obróbce w parniku (tab. 4). Ponadto, w destylatach tych nie stwierdzono obecności innych zanieczyszczeń, takich jak: glikol 1,2-propylenowy, który może powstawać przez dehydratację glicerolu powstającego w procesie transestryfikacji tłuszczów i powstawania estrów etylowych wyższych kwasów tłuszczowych. Stężenie kwasów organicznych w destylatach otrzymanych z zacierów uzyskanych po optymalizacji obróbki barotermicznej było ok. pięć razy niższe, głównie za sprawą niższego stężenia kwasu octowego i nieobecności kwasu izomasłowego (tab. 4). W obrazie chromatograficznym nie występuje również większość obserwowanych wcześniej niewielkich pików, trudnych do zidentyfikowania związków, o czasach retencji od 14,3 do 20,8 min, co wiąże się również z poprawą właściwości organoleptycznych, w szczególności zapachu destylatów.

**Tabela 4**

Srednie stężenie produktów ubocznych fermentacji i zanieczyszczeń w destylatach surowych przed i po optymalizacji procesu parowania surowca [g/dm<sup>3</sup> A<sub>100</sub>]

| Wariant badań                         | Metanol [g/100 ml A <sub>100</sub> ] | Acetal | Aldehyd octowy | 1,2-propanodiol | 2,5-dimetylopirazyna | 2,3,5,6-tetrametylopirazyna | Alkohole wyższe |            |           |                   |                   |                   | Estry        |             |                |                 |               |               | Kwasy organiczne |         |             |                 |                    |
|---------------------------------------|--------------------------------------|--------|----------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|-----------------|------------|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------|-------------|----------------|-----------------|---------------|---------------|------------------|---------|-------------|-----------------|--------------------|
|                                       |                                      |        |                |                 |                      |                             | 1-propanol      | Izobutanol | 1-butanol | 2-metyl-1-butanol | 3-metyl-1-butanol | Σ alkohole wyższe | Octan metylu | Octan etylu | Octan izoamylu | Heptanian etylu | Mleczan etylu | Okanian etylu | Dekanian etylu   | Σ Estry | Kwas octowy | Kwas izomasłowy | Σ Kwasy organiczne |
| przed optymalizacją procesu parowania | 0,0242                               | 0,0273 | 0,0230         | 0,0019          | 0,0040               | 0,0006                      | 0,1158          | 0,2720     | 0,0058    | 0,4218            | 2,1007            | 2,9161            | 0,0021       | 0,0272      | 0,0076         | 0,0003          | 0,0017        | 0,0018        | 0,0144           | 0,0551  | 0,0120      | 0,0035          | 0,0155             |
| po optymalizacji procesu parowania    | 0,0454                               | 0,0383 | 0,0067         | -               | -                    | -                           | 0,2274          | 0,3918     | 0,0097    | 0,6942            | 2,4093            | 3,7324            | 0,0019       | 0,0747      | 0,0159         | -               | -             | -             | 0,0021           | 0,0946  | 0,0028      | -               | 0,0028             |

W destylatach uzyskanych po optymalizacji obróbki baro-termicznej surowca, stwierdzono wzrost stężenia wyższych alkoholi z poziomu od ok. 2,9 do 3,7 g/dm<sup>3</sup> A<sub>100</sub>, spowodowany wzrostem stężenia każdego z oznaczanych alkoholi fuzlowych. Obserwowane zjawisko można tłumaczyć zmniejszonym udziałem aminokwasów w reakcjach Maillarda na skutek ograniczenia ich intensywności w trakcie długo-trwałej obróbki termicznej. Powoduje to wzrost dostępności wolnych aminokwasów dla drożdży, które zgodnie z modelem Ehrlicha wykorzystywane są jako źródło azotu aminowego (30,31). W wyniku reakcji deaminacji i dekarboksylacji aminokwasów mogą powstawać odpowiednie alkohole wyższe. W ten sposób izobutanol powstaje z waliny, 3-metylo-1-butanol z leucyny, 2-metylo-1-butanol z izoleucyny.

Optymalizacja parametrów fizykochemicznych procesu parowania surowca skutkowała również poprawą parametrów sensorycznych zacierów, tj. zmianami w wyglądzie (jaśniejsza barwa) i zapachu zacierów (łagodniejszy, bez drażniącego), a także nieco wyższym pH. Na prezentowanych chromatogramach (rys. 4) uwagę zwraca brak występowania po optymalizacji procesu parowania licznej grupy, niezidentyfikowanych w większości związków, o czasach retencji od 15-20 minuty. Jest to najprawdopodobniej frakcja wysokowrzących zanieczyszczeń, powstająca ze składników surowca podczas zbyt intensywnej obróbki termicznej.

W trakcie przeprowadzonych fermentacji stwierdzono poprawę wydajności alkoholu ze 100 kg surowca o ok. 0,85 dm<sup>3</sup>. W stosunku do prób przed wprowadzeniem modyfikacji procesu parowania (przy takiej samej zawartości ekstraktu początkowego w zacierze słodkim, wynoszącym ok. 17,5°Blg), zauważono poprawę odfermentowania pozornego i ekstraktu rzeczywistego średnio o ok. 0,3°Blg (tab. 5).

Tabela 5

**Wydajność alkoholu i parametry fizykochemiczne zacierów przed i po optymalizacji procesu parowania surowca**

| Wariant technologiczny procesu parowania | pH zacieru po procesie parowania | Wydajność alkoholu (dm <sup>3</sup> A <sub>100</sub> /100 kg surowca) | Ekstrakt zacieru po fermentacji (°Blg) |             |
|--|----------------------------------|---|--|-------------|
|  |                                  |   | pozorny                                | rzeczywisty |
| przed optymalizacją procesu parowania    | 5,4                              | 35,25   | -0,3                                   | 2,5         |
| po optymalizacji procesu parowania       | 5,6                              | 36,10   | -0,5                                   | 2,3         |

Monitorowanie parametrów obróbki baro-termicznej surowca skrobiowego w parniku powinno podlegać rejestracji i kontroli w gorzelnii. Jest to obecnie możliwe ze względu na rozwój i powszechną dostępność prostych systemów monitorowania podstawowych parametrów procesowych, złożonych z systemu czujników ciśnienia i temperatury, przetwornic analogowo-cyfrowych i stosunkowo prostych zestawów

komputerowych z odpowiednim oprogramowaniem. Rejestracja tych parametrów w połączeniu z analizą obecności pirazyn w destylacie surowym może być cennym narzędziem do optymalizacji procesu obróbki z zastosowaniem parnika Henzego.

W badaniach prowadzonych w ostatnich latach wskazuje się, że związki pirazynewe odgrywają pewną rolę w procesach angiogenezy, nawet w bardzo niewielkich dawkach. Ze względu na sugerowane przez niektórych autorów szerokie spektrum efektów wywoływanych przez związki z tej grupy należy brać pod uwagę fakt, że występowanie ich w towarach konsumpcyjnych, może okazać się nie tak bezpieczne jak do tej pory sądzono i należy kontynuować dalsze toksykologiczne badania nad związkami pirazynowymi (32,33). Jednakże biorąc pod uwagę, że surowe destylaty spirytusowe przeznaczone na cele spożywcze poddawane są procesowi rektyfikacji w trakcie, której związki te można z powodzeniem usunąć, ocena ich występowania ogranicza się w praktyce do znaczenia diagnostycznego, które może być pomocne w ocenie prawidłowości obróbki ciśnieniowo-termicznej surowca.

## 5. Wnioski

1. W destylatach otrzymanych z surowców, które były poddawane zbyt intensywnej obróbce termicznej (wydłużony czas parowania, zbyt długie przetrzymywanie zawartości parnika przy maksymalnym ciśnieniu 5 atm) występują związki pirazynewe, takie jak 2,5-dimetylopirazyna oraz 2,3,5,6-tetrametylopirazyna.

2. Optymalizacja procesu parowania może ograniczać straty w wydajności alkoholu nawet do 0,85 dm<sup>3</sup>/100 kg surowca oraz wpływa w sposób zauważalny na poprawę parametrów fizykochemicznych i jakości organoleptycznej destylatu surowego.

3. Oznaczanie występowania związków pirazynowych w destylatach rolniczych może być czułym wskaźnikiem pomocnym w ocenie prawidłowości obróbki barotermicznej surowców w gorzelnii.

## Literatura

1. Flamet I., (2002), *Coffee Flavour Chemistry*, 289-321, John Wiley and Sons, Chichester.
2. Rappert S., Müller R., (2005), *Waste Management*, 25, 940-954.
3. Goncalves G. B., Silva C. E., Dos Santos J. C. G., Dos Santos E. S., Do Nascimento R. R., Da Silva E. L., de Lima Mendonca A., Do Rosario Tendorio de Freitas M., Santana A. E. G., (2006), *Florida Entomologist*, 89 (3), 375-379.
4. Larroche C., Besson I., Gros J-B., (1999), *Process Biochemistry*, 34, 667-674.
5. Beck H. C., Hansen A. M., Lauritsen F. R., (2003), *FEMS Microbiology Letters*, 220, 67-73.
6. Wagner R., Czerny M., Bielnradsky J., Grosch W., (1999), *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung A*, 208, 308-316.
7. Adams A., de Kimpe N., (2007), *Food Chemistry*, 101, 1230-1238.
8. Mattia A., Renwick A. G., Sipes L. G., (2001), *Pyrazine derivatives*, *WHO Food Additives*, 48.
9. van Boekel M. A. J. S., (2006), *Biotechnology Advances*, 24, 230-233.

10. Martins S. I. F. S., Jongen W. M. F., van Boekel M. A. J. S., (2001), *Trends in Food Science & Technology*, 11, 364-373.
11. Haskim L., Chaveron H., (1996), *Food Research International*, 28(6), 619-623.
12. Meynier A., Mottram D. S., (1995), *Food Chemistry*, 52, 361-366.
13. Dakwa S., Sakyi-Dawson E., Diako C., Annan N. T., Amoa-Awua W. K., (2005), *International Journal of Food Microbiology*, 104, 69-82.
14. Jemiolo B., Novotny M., (1993), *Biology of Reproduction*, 48, 926-929.
15. Osada Y., Shibamoto T., (2006), *Food Chemistry*, 98, 522-528.
16. Sheu J-R., Kan Y-C., Hung W-C., Ko W-C., Yen M-H., (1997), *Thrombosis Res.*, 88, 259-270.
17. Chrobot A., Matkowski A., (2007), *Postępy Fitoterapii*, 2, 95-108.
18. Chen S., Xiong L., Wang Q., Sang H., Zhu Z., Dong H., Lu Z., (2002), *BMC Neurology*, 2:1, online: <http://www.biomedcentral.com/1471-2377/2>
19. Czupryński B., Kłosowski G., Trzcińska M., Sieliwanowicz B., (1997), *Application of  $\beta$ -Glucosidase Preparation in the pressureless method of rye mashing*, 8<sup>th</sup> European Congress of Biotechnology, Budapest, 65.
20. Wolf H. H., Senge B., (1995), *Die Branntweinwirtschaft*, 135 (5), 66-70.
21. Wolf H. H., Senge B., (1994), *Die Branntweinwirtschaft*, 134 (9), 126-129.
22. Hahnefeld G., Pritzbuier K., (1981), *Die Branntweinwirtschaft*, 121 (16), 1-2.
23. Kreipe H., (1980), *Die Branntweinwirtschaft*, 120 (20), 354-356.
24. Matyka S., (2006), *Lizyna dostępna (przyswajalna) a jakość przemysłowych mieszanek paszowych*, Materiały XXII Konferencji Naukowo-Technicznej: „Jakość i bezpieczeństwo pasz – stan, wymagania i potrzeby”, Jachranka, 21-22 września, 9-12.
25. Kaczmarek S., (2003), *Nowe techniczne metody prowadzenia procesu parowania surowca w gorzelniach stosujących technologię ciśnieniowego uwalniania skrobi*, Bydgoszcz IBPRS-SPG, Materiały IX Seminarium „Aktualne problemy gorzelnictwa rolniczego”, 55-63.
26. Łączyński B., (1992-1993), *Skrócony kurs gorzelnictwa rolniczego, wkładki do miesięcznika: Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*.
27. Kłosowski G., Czupryński B., Sieliwanowicz B., Kotarska K., Wolska M., (2001), *Pol. J. of Food and Nutrition Sci.*, 10/51 (2), 19-24.
28. Kłosowski G., Czupryński B., Kotarska K., (2001), *Annals of the Pol. Chem. Soc.*, 235.
29. Kłosowski G., Czupryński B., (2006), *J. of Food Eng.*, 72 (3), 242-246.
30. Ehrlich F., (1907), *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 40, 1027-1047.
31. Derrick S., Large P. J., (1993), *J. of Gen. Microb.*, 139, 2783-2792.
32. Riveles K., Roza R., Arey J., Talbot P., (2004), *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2, 23, online: <http://www.rbej.com/content/2/1/23>
33. Thompson R. N., Robertson B. K., Napier A., (2004), *Chem. Senses*, 29, 749-754.