

Vaihtoehtoisten hedelmien ja hiivojen käyttö siiderien valmistuksessa

Biokemia
Kandidutkielma

Laatija:
Iina Eeva Marjatta Salomaa

4/2024

Turku

TURUN YLIOPISTO

Laitoksen nimi: Bioteknologian laitos

Oppiaine: Biokemia

Tekijä: IINA SALOMAA

Otsikko: Vaihtoehtoisten hedelmien ja hiivojen käyttö siiderien valmistuksessa

Sivumäärä: 20 sivua

Päivämäärä: 4/2024

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Siiderit ovat omena- tai päärynämehusta valmistettuja mietoja hedelmäviinejä, joiden tilavuusprosentti on alle 8,5 %. Siiderin fermentointiin voidaan käyttää vaihtoehtoisia hedelmiä, joilla on korkea sokeripitoisuus, happamuus ja sisältävät paljon makuyhdisteitä. Siiderihiivoina voidaan käyttää samoja hiivoja kuin viinien käymisessä. *Saccharomyces cerevisiae* on yleisessä käytössä siiderien sekä viinien käytössä. Se voidaan kuitenkin korvata vaihtoehtoisilla hiivoilla, jotka omaavat alkoholiaineenvaihdunnan lisäksi muita ominaisuuksia.

Tutkielman tarkoituksena on tutkia kiinanluumun (*Litchi chinensis*) ja lohikäärmehedelmän (*Hylocereus costaricensis*) käymisominaisuuksia sekä niiden soveltuvuutta siiderien tuottoon ja verrata *Torulasporea delbrueckii*, *Schizosaccharomyces pombe* ja *Saccharomyces cerevisiae* hiivojen ominaisuuksia siiderifermentointihiivoina. Lohikäärmehedelmä ja kiinanluumu fermentoituvat hiivojen avulla hedelmäviineiksi, joiden tilavuusprosentti oli alle 8,5 %. Litsimehussa havaittiin *cis*-ruusuoksidia, geraniolia ja linaloolia, mutta niitä ei kuitenkaan ollut fermentoinnin jälkeen litsiviinissä. Tämän takia kiinanluumusiiderin fermentointiin pitäisi etsiä sopivampi hiiva, sillä hedelmän yhdisteet hajosivat *S. cerevisiae* ja *T. delbrueckii* hiivojen käymisen aikana. Lohikäärmehedelmäviinin *T. delbrueckii* käymisessä havaittiin enemmän alkoholeja, estereitä ja betasyaniinipigmenttejä kuin *S. cerevisiae*, joten vaihtoehtoinen hiiva sopii paremmin siiderien valmistukseen tuottamaan niille monimutkaisemman maun. *S. pombe* hiivan havaittiin laskevan omenahappopitoisuutta omenasiidereissä, joten hiiva sopisi happopitoisuuden säätelyyn siidereissä.

Sisällys

1. Johdanto	1
2. Fermentoinnissa käytetyt hedelmät	2
2.1. Vaihtoehtoisia hedelmiä alkoholijuomien valmistuksessa	3
3. Alkoholijuominen valmistuksessa käytetyt hiivat	5
3.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5
3.2. Vaihtoehtoiset hiivat	5
4. Fermentointi	6
4.1. <i>S. cerevisiae</i> fermentointimetaboliaan tarvittavat yhdisteet ja suotuisin kasvuvaihe fermentoinnille	6
4.2. <i>S. cerevisiae</i> etanolin fermentointimetabolia	7
5. Siiderien yhdisteiden analysointi	8
5.1 Fermentointiin käytettyjen hiivojen vaikutus siiderin makuun	8
5.2 Etanoli ja glyseroli	12
5.3 Sokerit	13
5.4 Orgaaniset hapot	14
5.5 Muut haihtuvat yhdisteet	15
6. Päätelmät	16
7. Kirjallisuus	18

1. Johdanto

Suomen alkoholilain asetuksen 1 §:n 1 momentin 4 kohdan mukaan siiderillä tarkoitetaan hedelmäviiniä, joka on valmistettu tuoreista tai kuivatuista omenoista tai päärynöistä tai niistä valmistetuista täysmehuista taikka täysmehutiivisteistä ja jonka alkoholipitoisuus on enintään 8,5 tilavuusprosenttia. Lainsäädännön mukaan siiderit luokitellaan mietoihin alkoholijuomiin. (Finlex 2024.) Euroopan siideri- ja hedelmäviiniyhdistyksen (*engl.* European Cider and Fruit Wine Association) mukaan siidereitä ovat myös makusiiderit (*engl.* flavoured ciders), jotka sisältävät omena tai päärynämehun lisäksi muiden hedelmien mehua tai uutetta.

Hedelmäviinien ja siiderien hiivakäymisessä eli fermentoinnissa on päällekkäisyyttä, sillä fermentoinnissa käytetään samoja hiivoja, kuten *Saccharomyces cerevisiae* ja *Torulasporea delbrueckii* (Chen ja Liu 2016; He ja muut 2023; Jiang ja muut 2020). Myös fermentointimenetelmiä, kuten peräkkäis- (*engl.* sequential fermentation) ja yhteisfermentointia (*engl.* simultaneous fermentation) voidaan käyttää sekä viinin, että siiderin valmistuksessa (Chen ja Liu 2016; Guerrini ja muut 2023). Yhteisfermentoinnissa kaksi eri hiivalajia fermentoivat yhtä aikaa siideriä. Peräkkäisfermentoinnissa on myös kaksi hiivalajia mukana, mutta käymisreaktiot suoritetaan eri aikoihin.

Hiivan valitseminen vaikuttaa alkoholijuoman alkoholipitoisuuteen, makeuteen, happamuuteen ja muihin aistittaviin ominaisuuksiin. *S. cerevisiae* sekä *T. delbrueckii* ovat yleisessä käytössä teollisessa fermentoinnissa. *Schizosaccharomyces pombe* voidaan myös käyttää fermentoinnissa ja kyseisellä hiivalla on kyky hajottaa omenahappoa, jolloin alkoholijuomista pystyttäisiin hiivan avulla vähentämään happamuutta. (He 2022.)

Fermentoitumisen onnistumisen mahdollistamiseksi hiiva tarvitsee sokereita etanolin muodostamiseen. Hedelmissä on paljon luonnostaan sokereita, mutta käymisreaktioon voidaan lisätä niitä, jotta tuotetussa siiderissä olisi korkeampi etanolipitoisuus (Jiang ja muut 2020). Hedelmän orgaaniset hapot ja haihtuvat yhdisteet vaikuttavat myös alkoholijuoman makuun sokereiden lisäksi.

Hedelmiä, jotka ovat joko liian pieniä kooltaan, pehmentyneet kuljetuksen aikana tai kypsyneet liikaa eivät sovellu tiettyihin elintarviketeollisiin prosesseihin. Tämän takia osa hedelmäsadosta kuluu hukkaan (He ja muut 2023). Hedelmät voivat myös hankaloittaa teollisia prosesseja

pienien siemeniensä ja polysakkaridiensa avulla, jonka vuoksi hedelmiä voidaan kuluttaa vain tuoreena, mehuna tai pyreenä (Jiang ja muut 2020). Kyseisistä hedelmistä voidaan valmistaa alkoholijuomia, jolloin hukkahedelmiä saataisiin tehokkaammin hyödynnettyä. Alkoholikäymisen avulla hedelmän säilyvyyttä saataisiin myös pidennettyä.

Tässä tutkielmassa on tarkoitus tutkia siiderin valmistukseen vaihtoehtoisia hedelmiä, kokoamalla yhteen eri tutkimuksien hedelmäviinejä, jotka sopivat siiderin Suomen alkoholilainsäädännön määrittämiseen (Finlex 2024). Tutkielma kokoaa eri tutkimusten käyttämiä hedelmälajeja ja -lajikkeita, joista osa on siiderin valmistuksessa jo käytössä ja hedelmäviinien valmistukseen testissä olevia hedelmiä. Tutkielmassa tutkitaan *Torulasporea delbrueckii*, *Schizosaccharomyces pombe* ja *Saccharomyces cerevisiae* hiivakäymisen ominaisuuksia ja minkä hedelmän fermentointiin mikäkin hiiva sopisi parhaiten.

2. Fermentointiin käytetyt hedelmät

Hedelmien ominaisuudet vaikuttavat fermentoitavan siiderin lopulliseen makuun. Poiminnan jälkeinen säilytys, kypsyys ja laji tai lajike vaikuttavat hedelmän sisältäviin yhdisteiden muodostumiseen sekä hajoamiseen (He 2022). Hedelmien mehustaminen ja muut prosessointimenetelmät vähentävät hedelmien haihtuvien yhdisteiden pitoisuuksia mehuissa ja alkoholijuomissa, sillä prosessoinnin aikana osa hedelmän yhdisteistä haihtuu (Kokkinomagoulos ja muut 2020).

Tarhaomena (*Malus domestica*) on yleisesti käytössä siiderien fermentoinnissa. Omenasiiderien tuotantoon kiinnostus on kasvanut lähivuosina, jonka takia olemassa olevien omenalajikkeiden soveltuvuutta tutkitaan siiderituotantoon. Kiinnostuksen nousu on johtanut uusien ja perinteisten omenalajikkeiden, kuten Aino, Gustavs Bästa ja Hyviengiensis, testaamiseen siiderifermentointia varten Suomessa. (He ja muut 2021.)

Omenat voidaan jakaa jälkiruoka- ja siideriomenoihin. Kaikkia omenalajikkeita ei kuitenkaan pystytä jaottelemaan, sillä niiden ominaisuuksia ei olla tutkittu tarpeeksi, kuten *Malus Hyvingiensis*, joka kuuluu koristeomenapuihin. Jälkiruokaomenat ovat yleensä kookkaampia ja makeita sekä kyseisiä omenoita kulutetaan tuoreena. Siideriomenat ovat taas pienempiä ja enemmän happamampia kuin jälkiruokaomenat (He 2022; Soomro ja muut 2022). On kuitenkin huomattu, että jälkiruoka- ja siideriomenoilla on paljon päällekkäisyyttä ominaisuuksien, kuten

happamuuden, kanssa (Soomro ja muut 2022). Tämän takia molemmista ryhmistä olevia omenalajikkeita voidaan käyttää siiderien fermentoimiseen, mutta niiden valmistukseen sopivat parhaiten omenat, jotka ovat ominaisuudeltaan happamia ja tanniinisia eli astringoivia (He 2022; Soomro ja muut 2022). Hapot ja tanniinit vaikuttavat siiderin laatuun ja makuun (He 2022).

Karvaus ja astringoivuus, jotka vaikuttavat siiderin antamaan suun tuntumaan, ovat tärkeitä ominaisuuksia fermentoinnissa. Tarkastelluista omenalajikkeista Aino lajikkeen mehu sisältää vähemmän sokereita (111,68 g/L), kun taas Gustavs Bästa lajikkeen mehu sisälsi enemmän sokereita (172,89 g/L). Aino on kuitenkin huomattavasti happamampi kuin Gustavs Bästa, sillä lajikkeesta tuotettu mehun pH-arvo oli 2,68 ja Gustavs Bästän oli 3,54. Hyvingiensis on koristeomenapuulajike, joka on makeudeltaan (160,18 g/L) ja happamuudeltaan (3,41) Ainon ja Gustavs Bästän välistä. (He ja muut 2021.) Topaz omenalajiketta kuvailtiin jälkiruokahedelmäksi ja sen mehun sokeripitoisuus oli 59,33 g/L ja pH-arvo oli 3,44 (Tocci ja muut 2023).

Neljää omenalajiketta Aino, Gustavs Bästa, Topaz ja Hyvingiensis verrattiin muihin vaihtoehtoisten hedelmien siidereihin (He ja muut 2021; Tocci ja muut 2023). Hyvingiensis, Aino ja Gustavs Bästa fermentoinnissa käytettiin *Saccharomyces cerevisiae* ja *Schizosaccharomyces pombe* hiivaa (He ja muut 2021). Topaz lajikkeen fermentoinnissa käytettiin *Torulaspota delbrueckii* hiivaa (He ja muut 2021; Tocci ja muut 2023).

2.1. Vaihtoehtoisia hedelmiä alkoholijuomien valmistuksessa

Siiderin valmistukseen käytettäviltä päärynöiltä halutaan samanlaisia ominaisuuksia kuin fermentoitavilta omenoilta (He 2022). Päärynöitä käytetään siiderien tuottoon vähemmän kuin omenoita. *Pyrus communis* päärynälajin lajikkeita on tutkittu siiderien valmistusta varten, jotta fermentoimiseen saataisiin uusia ominaisuuksia. Ristipölytys on tuottanut uusia ominaisuuksia päärynälajikkeissa, kuten korkeampia alkoholipitoisuuksia hiivakäymisessä ja parantanut siiderien maku- ja hajuoimaisuuksia (He ja muut 2023). Tässä kappaleessa esitellään kahta ristipölytettyä päärynälajiketta Rumnaja Kedrina-Pakurlan Päärynä ja Pepi-Lück, sekä kahta ristipölyttämätöntä päärynälajiketta Stolishnaja ja Conference. Ristipölytetyt lajikkeet tuotettiin pölyttämällä Pepi lajike Lück lajikkeella ja Rumnaja Kedrina lajike Pakurlan Päärynä lajikkeella. (He ja muut 2023.)

Pepi-Lück-risteymää kuvailtiin jälkiruokahedelmäksi sekä hieman aromaattiseksi. Rumnaja Kedrina-Pakurlan Päärynä-risteymä taas oli karvas ja hieman hapan. Stolishnaja-lajike oli myös hapan ja karvas ja Conference-lajike oli jälkiruokahedelmä. Kyseisten päärynälajikkeiden fermentoinnissa käytettiin *S. cerevisiae* ja *T. delbrueckii* hiivoja. (He ja muut 2023.)

Kiinanluumua eli litsiä (*Litchi chinensis*) kasvatetaan eri puolella maailmaa. Se on trooppinen ja subtrooppinen hedelmä, jonka hedelmäliha on valkoinen. Makeutensa takia kiinanluumun käyttöä on tutkittu viinien fermentoinnissa (Chen ja Liu 2016). Litsi sisältää myös paljon hajuaistia aktivoivia haihtuvia yhdisteitä, kuten *cis*-ruusuoksidia, geraniolia ja linaloolia. Kyseiset yhdisteet antavat kiinanluumulle miellyttävän hajun ja hedelmäisen maun, vaikka yhdisteitä on vähemmän kuin muihin haihtuviin yhdisteisiin verrattuna. Yhdisteitä on hankala säilyttää lopulliseen alkoholijuomaan, sillä jo mehun pastöroinnin on havaittu vähentävän niiden pitoisuuksia. (Wang ja muut 2023.) Kiinanluumu ei sisällä paljon orgaanisia happoja, joita tarvitaan myös siiderien fermentointiin. Omena- ja päärynäsiideriä verrattiin *L. chinensis* lajin Nuomi Ci-lajikkeesta tuotettuun viiniin, joka fermentoitiin *T. delbrueckii* ja *S. cerevisiae* hiivoilla (Chen ja Liu 2016).

Lohikäärmehedelmä toiselta nimeltään pitaija on kuoreltaan vaaleanpunainen ja kuoren päällä on vihreän punaisia suomumaisia pintarakenteita. Alkuperältään lohikäärmehedelmä Meksikon keskiosista sekä Etelä-Amerikasta, mutta nykyään sitä kasvatetaan myös Aasiassa ja Australiassa (Jiang ja muut 2020). Pitaija kuuluu *Hylocereus* kaktussukuun. Yleisimmät syötävät lohikäärmehedelmät ovat *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polyrhizus* ja *Hylocereus costaricensis*. *H. undatus* tuottaa hedelmälle valkoisen hedelmälihan, kun taas *H. costaricensis* tuottaa hedelmälle violetinpunaisen hedelmälihan. Lohikäärmehedelmä sisältää paljon vitamiineja, mineraaleja ja hiilihydraatteja, kuten glukoosia ja fruktoosia (Jiang ja muut 2020). Hedelmälihan violetinpunaisen väriyhdisteet ovat ominaisuuksiltaan antioksidatiivisia ja antimikrobiaalisia. Lohikäärmehedelmämeahun prosessointia vaikeuttaa hedelmän pienet siemenet ja hedelmälihan sisältämä pektiini. Siidereitä verrattiin lohikäärmehedelmän violetinpunaisen hedelmälihan omaavaa lajista (*H. costaricensis*) tuotettuun viiniin, joka fermentoiti suoritetettiin *S. cerevisiae* ja *T. delbrueckii* hiivoilla. (Jiang ja muut 2020.)

3. Alkoholijuominen valmistuksessa käytetyt hiivat

3.1. *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces -suvun hiivoja käytetään paljon eri alkoholijuomien valmistuksessa. Niistä *Saccharomyces cerevisiae* on yksisoluinen sieni, jota sovelletaan eniten alkoholikäymisessä. Kyseinen hiiva on anaerobinen, mutta se tarvitsee happea rasvahappojen ja steroleiden valmistukseen (Walker ja Stewart 2016). Ilman näitä *S. cerevisiae* ei pysty fermentoimaan alkoholeja tehokkaasti.

S. cerevisiae on yleisin *Saccharomyces*-suvusta käytetty hiiva fermentoitavien juomien valmistukseen. Muitakin samaan sukuun kuuluvia hiivoja, kuten *S. paradoxus*, *S. bayanus*, *S. kudriavzevii*, *S. mikatae* ja *S. uvarum*, käytetään alkoholikäymisessä, sillä ne vaikuttavat fermentoitavien juomien havaittaviin ominaisuuksiin. *Saccharomyces*-suvun hiivoja ei kuitenkaan käytetä niin paljon kuin *S. cerevisiae* hiivaa, sillä niiden fermentointi on hitaampaa. (Walker ja Stewart 2016.)

3.2. Vaihtoehtoiset hiivat

Päärynäsiidereiden valmistuksessa *S. cerevisiae* on myös ollut pitkään käytettynä. Mikrobin korvaamiseksi on testattu *Torulaspora delbrueckii* hiivaa, joka on tuottanut erilaisia makuprofiileja siiderin fermentoinnissa. *T. delbrueckii* on raportoitu antavan päärynäsiiderille makeampaa makua kuin *S. cerevisiae*. *T. delbrueckii* on havaittu vähentävän mikrobien pilaantumista ja entsyymien aiheuttamaa hapettumista. (He ja muut 2023.) Hiiva vaikuttaa hyvältä korvikkeelta *S. cerevisiae* hiivalle, mutta fermentointiolosuhteet vaikeuttavat *T. delbrueckii* käyttöä. *T. delbrueckii* on herkempi anaerobisille olosuhteille, joka voi aiheuttaa fermentoinnin aikaisemman päättymisen (Chen ja Liu 2016).

S. cerevisiae on ollut pitkään käytössä alkoholijuomien valmistuksessa, mutta *Saccharomyces*-sukuun kuulumattomia hiivoja, kuten *Schizosaccharomyces pombe*, ovat nousseet mahdollisiksi vaihtoehdoiksi. *S. pombe* voitaisiin käyttää erityisesti pohjoisimmilla alueilla, koska hedelmien happamuutta siidereissä sekä viineissä voitaisiin vähentää hiivan omenahappoaineenvaihdunnan avulla (Benito 2019). Omenahapon pitoisuutta voidaan vähentää *S. pombe* hiivalla jopa 75-100 % fermentoinnin aikana (He 2022). *S. pombe* lisäksi *Schizosaccharomyces japonicus* tutkitaan *S. cerevisiae* korvikkeena viinien ja oluen alkoholifermentoinnissa (Choi ja muut 2023).

4. Fermentointi

Fermentointi on monimutkainen biokemiallinen reaktiosarja, jossa voidaan käyttää hiivaa ja bakteereja muodostamaan hedelmämehestä alkoholijuomia. Spontaanin fermentoinnissa (*engl. spontaneous fermentation*) ei käytetä tiettyä lisättyä hiivaa, kun taas hiivafermentoinnissa (*engl. inoculated fermentation*) käytetään. Hiiva, kuten *S. cerevisiae*, estää muiden mikro-organismien toiminnan fermentoinnissa, kun taas spontaani fermentointi perustuu mikrobien, kuten hiivojen, vuorovaikutuksiin. (Han ja Du 2023.)

Fermentointi voidaan suorittaa eri tavoin. Reaktiossa ei välttämättä tarvitse lisätä sokereita, jolloin syntyy yleensä alhaisempi alkoholipitoisuus (Chen ja Liu 2016). Fermentointiin voidaan käyttää myös monta eri hiivaa, jotka vaikuttavat yhdessä alkoholijuoman makuun. Näitä fermentointeja voidaan suorittaa lisäämällä hiivat yhtä aikaa fermentointiin tai peräkkäisesti lisäämällä.

Hedelmien fermentointireaktiossa käytetyt mikro-organismit, kuten hiivat, vaikuttavat tuotettavaan siiderin makuun. Lisäksi fermentoinnissa syntyviä orgaanisia happoja voidaan lisätä bakteerien avulla, kuten maitohappobakteerin avulla voidaan lisätä maitohaponpitoisuutta siidereissä (Han ja Du 2023). Maitohappobakteerit kykenevät myös vähentämään malolaktisen käymisen avulla omenahappoa ja tuottamaan siitä maitohappoa, joka ei ole yhtä voimakas kuin omenahappo. Tällöin alkoholijuoma ei ole yhtä hapan ja maitohappobakteereja käytetään usein ranskalaisien siiderien valmistuksessa.

Siidereiden valmistus on usein sama tai samankaltainen *S. cerevisiae* hiivalla kuin viinin valmistuksessa. Sen takia *S. cerevisiae* hiiva on jokaisen hedelmän fermentoinnissa mukana ja hiivan käymisreaktiota käydään läpi seuraavassa kappaleessa.

4.1. *S. cerevisiae* fermentointimetaboliaan tarvittavat yhdisteet ja suotuisin kasvuvaihe fermentoinnille

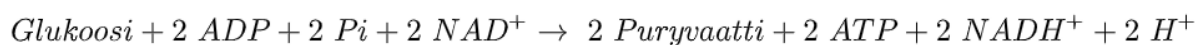
S. cerevisiae käyttää pääasiassa glukoosia hiililähteenä metaboliassaan. Glukoosi voidaan korvata fermentoinnissa esimerkiksi maltoosilla tai fruktoosilla viinien, oluen ja siiderin valmistuksessa (Walker ja Stewart 2016). Fermentoinnissa sokerin lisäksi typpi ja epäorgaaniset ravintoaineet vaikuttavat hiivan käymisen onnistumiseen. *S. cerevisiae* ei itse

pysty sitomaan typpeä ilmakehästä, joten se tarvitsee epäorgaanisia tai orgaanisia typpiyhdisteitä fermentointiin. Hiivasolu käyttää typpeä fermentoinnissa makuyhdisteiden muodostamiseen. Metallionit ovat tärkeitä fermentoinnin entsyymien toiminnassa. Sinkki toimii esimerkiksi alkoholikäymisen entsyymien kofaktorina ja magnesium on välttämätön etanolin tuotossa. (Walker ja Stewart 2016.)

S. cerevisiae viihtyy lämpimissä noin 20-30 °C:ssa ja happamissa olosuhteissa (pH=4,5–6,5). *S. cerevisiae* tuottaa parhaiten alkoholia eksponentiaalisessa kasvussa, koska etanolia ei voida tuottaa ilman merkittävää solukasvua. Kasvussa pysähtyneet solut fermentoivat sokereita solun ylläpitoa varten. Myös liiallinen solukasvu on haitallista, sillä hiivasolut keskittyvät jakaantumiseen eivätkä alkoholikäymiseen. (Walker ja Stewart 2016.)

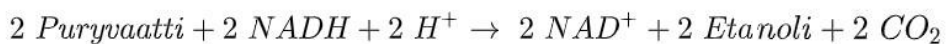
4.2. *S. cerevisiae*en etanolin fermentointimetabolia

Fermentoinnissa hiivat käyttävät sokereita elektronien luovuttajina, vastaanottajina ja hiililähteenä. *S. cerevisiae* tuottaa pääasiassa etanolia ja hiiva voi käyttää monosakkareita ja disakkareita. Sokerien hajottamisessa *S. cerevisiae* tuottaa etanolia ja hiilidioksidia. (Walker ja Stewart 2016.) Sokereita hajotetaan *S. cerevisiae* hiivan energiatuotantoon glykolyysissä (kuva 1). Reaktiotien ensimmäisessä vaiheessa glukoosi fosforyloidaan ATP molekyylillä, jolloin glukoosista muodostuu 1,6-bifosfaatti. Tämän jälkeen aldolaasi jakaa 1,6-bifosfataasin kahdeksi triosifosfaatiksi. Seuraavaksi reaktiosarjassa tapahtuu fosforylaatio, jossa kahdesta triosifosfaatista muodostetaan kaksi triosidifosfaattia ja reaktion aikana yhdisteistä irronneiden vetyatomit siirretään NAD⁺:lle. Glykolyysin lopussa muodostuu ATP:tä ja pyruvaattia. (Walker ja Stewart 2016.) Energian tuotto glykolyysin avulla ei ole yhtä tehokasta kuten soluhengityksessä, jossa ATP:tä syntyy enemmän (Walker ja Stewart 2016).



Kuva 1. Glykolyysin reaktioyhtälö. Muokattu ja suomennettu (Walker ja Stewart 2016) tutkimuksesta.

Alkoholifermentointi alkaa pyruvaatin pyruvaattidekarboksylaasin katalysoimalla dekarboksylaatiolla (kuva 2). Tämän jälkeen alkoholihydrogenaasi katalysoi dekarboksyloituneesta pyruvaatista alkoholia. Samalla pyruvaatista tuotetaan NAD⁺-molekyylejä, jotka ylläpitävät hapetus-pelkistymistasapainoa glykolyysissä. Ilman NAD⁺-molekyylejä, glykolyysi pysähtyisi, eikä *S. cerevisiae* pystyisi anaerobiseen energian tuottoon. (Walker ja Stewart 2016.)



Kuva 2. Alkoholikäymisen reaktioyhtälö. Yhtälö on muokattu ja suomennettu (Walker ja Stewart 2016) tutkimuksesta.

Glukoosi voi aiheuttaa *S. cerevisia*essa katabolista repressiota muille sokereille glykolyysissä. Tällöin glukoosi estää muiden sokereiden kataboliaa hiivasolussa (Walker ja Stewart 2016). Tämän voi aiheuttaa makuprofiilin muutoksia, sillä maltoosi ei pilkkoudu.

5. Siiderien yhdisteiden analysointi

Alkoholijuomien eri yhdisteitä analysoidaan tyypillisesti kromatografialla ja niiden eri detektoreilla. Kromatografinen menetelmä valitaan sillä perusteella, onko yhdiste haihtuva tai haihtumaton. Yhdisteitä, joita yleensä havaitaan siidereissä ovat sokerit, orgaaniset hapot, alkoholit, glyseroli ja fenoliset yhdisteet (He 2022). Kromatografian lisäksi yhdisteitä voidaan määrittää muilla menetelmillä, kuten happopitoisuus titraamalla.

Siiderin maku- ja aromiyhdisteitä havaitaan hajua- ja makureseptorien avulla ja varsinainen maku tai hajua muodostetaan aivoissa. Aistimuksien muodostumiseen vaikuttavat haihtuvat ja haihtumattomat yhdisteet. Tässä osiossa käsitellään hedelmäsiideriin muodostuvia yhdisteitä ja hedelmässä olevia alkuperäisiä yhdisteitä, joita havaittiin alkoholijuomassa, kuten orgaanisia happoja, sokereita, etanolia, glyserolia ja haihtuvia yhdisteitä. Joidenkin yhdisteiden muodostumiseen vaikuttaa fermentoinnissa käytetty hiiva, joten hiivojen vaikutuksia yhdisteiden syntyyn käsitellään myös.

5.1. Fermentointiin käytettyjen hiivojen vaikutus siiderin makuun

Fermentointimenetelmä ja alkoholikäymisessä käytetty hiiva vaikuttavat etanolin, glyserolin ja orgaanisten happojen muodostumiseen alkoholijuomissa. Hiivat vaikuttivat siiderien pH-arvoihin ja alkoholikäymisen keston (taulukko 1).

Fermentoinnin kestossa on paljon vaihtelua. Hedelmien fermentoinnissa havaittiin *S. cerevisia*en fermentoivan nopeammin kuin vaihtoehtoiset hiivat. Topaz omenoiden fermentoitumisessa kesti vähiten aikaa *T. delbrueckii* hiivalla kuin muiden omenasiidereiden valmistamisessa käytettyjen hiivojen. (Taulukko 1.)

Päärynälajikkeiden, kuten Stolishnaja sekä Conference, fermentointiaikojen välillä havaittiin myös eroja risteytettyihin lajikkeisiin (taulukko 1). Stolishnaja sisälsi vähemmän sokereita, joka vaikutti fermentointireaktion aikaisempaan päättymiseen (taulukko 2). Conference sisälsi vähemmän sokereita kuin risteytmälajikkeet, joka voisi selittää lyhyemmän fermentointiajan (He ja muut 2023).

Taulukko 1. Hedelmälajien sekä -lajikkeiden fermentointiin kulunut aika eri hiivalajeilla.

Hedelmä	Fermentointiin kulunut aika (vuorokausi)		
	<i>S. cerevisiae</i>	<i>T. delbrueckii</i>	<i>S. pombe</i>
Päärynä: Conference	10	14	
Päärynä: Pepi-Lück	26	30	
Päärynä: Rumnaja Kedrina-Pakurlan Päärynä	26	30	
Päärynä: Stolishnaja	10	14	
Omena: Topaz		10	
Omena: Aino	16		18-20
Omena: Gustavs Bästa	16		18-20
Omena: Malus Hyvingiensis	16		18-20
Kiinanluumu	12	12	
Lohikäärmehedelmä	14	14	

Taulukon fermentointiajat ovat alkuperältään (Chen ja Liu 2016; He ja muut 2021, 2023; Jiang ja muut 2020; Tocci ja muut 2023) tutkimuksista.

Vaihtoehtoiset hiivoilla fermentoidut päärynä- ja omenasiiderit, sisälsivät enemmän sokereita, kuten sorbitolia, kuin *S. cerevisiaella* fermentoidut siiderit (He ja muut 2021, 2023). Päärynäsiiderien fermentoinnissa *S. cerevisiae* ja *T. delbrueckii* hiivoilla ei ollut näkyvää vaikutusta pH-arvoon, sillä valmistetuilla rinnakkaissiidereillä ei ollut suurta vaihtelua arvojen välillä (He ja muut 2023). pH-arvo nousua todettiin kuitenkin *S. pombe* fermentoiduissa omenasiidereissä verrattuna *S. cerevisiae* fermentoiduissa siidereissä. *S. pombe* pystyy kuluttamaan fermentoinnin aikana omenahappoa, jonka vuoksi pH-arvo on korkeampi kuin *S. cerevisiae* sekä *T. delbrueckii* fermentoinnissa. (He ja muut 2021.)

S. cerevisiae käytti tehokkaammin litsimehun ravinteita kuin *T. delbrueckii*. *T. delbrueckii* voi olla fermentoinnin alussa herkemmin happipitoisuuden tippumiselle, joka voisi selittää hiivan tehottomamman ravinteiden imeytymisen. Litsin *S. cerevisiae* hiivalla suoritettu fermentointi oli myös tehokkaampi kuin *T. delbrueckii* hiivalla, sillä *S. cerevisiaen* glukoosin ja fruktoosin glykolyysi oli nopeampi kuin *T. delbrueckii* (Chen ja Liu 2016).

Lohikäärmehedelmän fermentoinnissa havaittiin *S. cerevisiae* hitaampi eksponentiaalinen kasvuvaihe kuin *T. delbrueckii* hiivalla. Kasvuun saattoi vaikuttaa ravinteiden puute

lohikäärmehedelmämeheussa. *T. delbrueckii* havaittiin fermentoinnin lopussa hiivasolujen määrän laskua. *T. delbrueckii* on herkempi korkeille etanolipitoisuuksille, jonka vuoksi solujen määrä väheni. Hiivat fermentoivat samalla nopeudella, vaikka eksponentiaalisessa ja fermentoinnin lopussa solujen määrät vaihtelivat. (Jiang ja muut 2020.)

T. delbrueckii tuottaa vähemmän etikkahappoa, etanolia sekä glyserolia (He 2022). Yhdisteiden alhaisempi tuotto *T. delbrueckii* hiivalla havaitaan lohikäärmehedelmän ja kiinanluumun *T. delbrueckii* ja *S. cerevisiae* hiivojen fermentoiduissa tuotteissa (taulukko 2). *S. cerevisiae* fermentointi tuotti korkeammat pitoisuudet yhdisteille kuin *T. delbrueckii*. *S. cerevisiae* hiivalla oli parempi fermentointiaktiivisuus kuin *T. delbrueckii* hiivalla kiinanluumuviineissä, mutta *T. delbrueckii* hiiva säilytti enemmän kiinanluumun alkuperäisiä terpenoideja (Chen ja Liu 2016).

Taulukko 2. Eri hedelmäviinien vertailu päärynä- ja omenasidereihin. Taulukko on koottu (Chen ja Liu 2016; He ja muut 2021, 2023; Jiang ja muut 2020; Tocchi ja muut 2023) tutkimusten tuloksista.

Hiiva × hedelmä	Etanoli	glukoosi	fruktoosi	sorbitoli	sokerit	glyseroli	omenahappo	etikkahappo	orgaaniset
	(% v/v)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	hapot (g/L)
SP × MH	6,84±0,07	3,23±0,39	0,95±0,23	6,33±1,00	11,82±1,82	-	2,42±0,51	-	5,64±0,62
SP × GB	6,25±0,05	1,63±0,50	0,65±0,07	2,44±0,23	4,98±0,85	-	0,85±0,16	-	3,67±0,32
SP × A	5,19±0,20	1,71±0,19	0,27±0,02	4,13±0,27	6,69±0,59	-	12,23±0,33	-	20,24±0,92
SC × MH	7,37±0,24	0,57±0,08	ND	6,08±0,93	6,92±1,05	-	6,65±0,47	-	9,55±0,62
SC × GB	6,18±0,24	0,23±0,12	ND	2,45±0,36	2,84±0,52	-	3,06±0,12	-	5,71±0,28
SC × A	5,50±0,50	0,19±0,06	ND	4,23±0,28	4,63±0,35	-	17,73±0,71	-	25,91±1,17
SC × S	12,6±0,0	-	-	6,6±0,5	7,1±0,5	2,4±0,1	3,8±0,1	-	6,8±0,2
SC × RP	8,4±0,1	-	-	16,3±0,1	16,7±0,1	2,3±0,2	2,3±0,0	-	6,3±0,2
SC × PL	17,8±0,2	-	-	9,0±0,1	9,2±0,0	3,5±0,1	5,7±0,2	-	8,9±0,4
SC × C	14,2±0,1	-	-	9,0±0,3	9,5±0,3	2,9±0,1	2,4±0,1	-	4,9±0,2
SC × KL	8,08±0,03	ND	LOQ	-	-	5,7±0,06	11,2±0,03	0,36±0,007	-
SC × LH	8,25±0,23	ND	ND	-	-	9,60±0,23	6,16±0,44	0,38±0,03	-
TD × T	6,30±0,08	*	*	-	-	5,56±2,31	6,71±0,12	0,16±0,00	8,19±0,08
TD × S	12,2±0,1	-	-	7,2±0,5	7,6±0,5	2,6±0,1	3,9±0,4	-	7,3±0,7
TD × RP	7,4±0,2	-	-	18,1±0,1	18,8±0,1	2,9±0,1	2,4±0,1	-	7,2±0,2
TD × PL	17,0±0,1	-	-	8,8±0,1	9,2±0,1	5,6±0,1	5,2±0,1	-	9,1±0,1
TD × C	13,3±0,1	-	-	12,5±1,1	12,9±1,1	4,4±0,1	2,6±0,1	-	5,7±0,6
TD × LH	8,33±0,31	ND	ND	-	-	6,07±0,59	6,77±0,39	0,15±0,01	-
TD × KL	5,96±0,72	27,3±6,64	41,4±0,16	-	-	3,2±0,0	14,9±0,02	0,18±0,004	-

Käytössä olleet hiivat olivat *Torulaspora delbrueckii* =TD, *Saccharomyces cerevisiae* =SC ja *Schizosaccharomyces pombe* =SP. Fermentoinnissa fermentoituihin kiinanluumua =KL, lohikäärmehedelmää =LH, päärynälajike Conferencea =C sekä Stolisthnaja =S, päärynäristeytmälajiketta Pepi- Lück =PL sekä Rumnaja Kedrina-Pakurlan Päärynä =RP ja omenalajikkeita Malus Hyvingiensis =MH, Topaz =T, Aino =A sekä Gustavs Båsta =GB. ND= yhdistettä ei ole havaittu, LOQ= määrittäksen rajalla ja *=Topaz hedelmien fruktoosi ja glukoosi pitoisuus ilmoitettuun tutkimuksessa yhteispitoisuutena 0,02±0,02 g/L.

5.2. Etanoli ja Glyseroli

Etanoli muodostuminen alkaa glykolyysin jälkeen, jossa monosakkaridit, kuten glukoosi ja fruktoosi, katalysoidaan entsyymien avulla pyruvaatiksi ja lopulta alkoholikäymisessä etanoliksi (Walker ja Stewart 2016). Etanolin muodostumiseen vaikuttavat hedelmän sokeripitoisuus sekä hiivan ominaisuudet. Alkoholifermentointiin voi myös lisätä ylimääräistä sokeria, jotta fermentoituvan alkoholijuoman etanolipitoisuus kasvaisi (Jiang ja muut 2020).

S. cerevisiae hiiva tuotti korkeamman etanolipitoisuuden päärynäsiidereissä kuin *T. delbrueckii*. Alhaisimmat alkoholipitoisuudet saatiin Rumnaja Kedrina-Pakurlan Päärynäristeymällä ja korkeimmat Pepi-Lück-risteymällä. *T. delbrueckii* etanolipitoisuudet olivat 7,4-17,0 % väliltä ja *S. cerevisiae* olivat 8,4-17,8 % väliltä fermentoiduissa päärynäsiidereissä (taulukko 2).

Etanolin pitoisuuteen omenasiidereiden valmistuksessa vaikutti enemmän omenalajike kuin hiivalaji. Aino omenalajike tuotti pienimmän etanolipitoisuuden (5,19 % *S. pombe* ja 5,50 % *S. cerevisiae*), mikä voi johtua omenalajikkeen tuoreudesta sekä fermentoinnissa käytettiin vain omenassa olevia sokereita. (He ja muut 2021.) *T. delbrueckii* tuotti Topaz omenalajikkeella 6,30 % etanolipitoisuuden, vaikka Topaz omenoiden fermentointiin kului vähemmän aikaa kuin *S. pombe* ja *S. cerevisiae* fermentoiduilla omenoilla (taulukko 1 ja 2).

Lohikäärmehedelmä ja kiinanluumu tuottivat *S. cerevisiae* fermentoinnissa korkeampia etanolipitoisuuksia kuin *S. pombe* hiivalla fermentoidut omenasiiderit. *T. delbrueckii* fermentoinnissa lohikäärmehedelmä tuotti korkeamman etanolipitoisuuden (8,33 %) kuin kiinanluumu (5,96 %). (Taulukko 2.) Tämä voi johtua hedelmälahjin eroista, sillä omenalajikkeiden etanolipitoisuuksien vaihtelussa havaittiin sama ilmiö (He ja muut 2021). Lohikäärmehedelmän fermentointiin lisättiin myös sakkaroosia, jonka invertaasi-entsyymi hydrolysoi glukoosiksi ja fruktoosiksi. Lohikäärmehedelmäviinissä ei havaittu ollenkaan sakkaroosia, jolloin voidaan olettaa sakkaroosin pilkkoutuneen alkoholifermentoinnissa monosakkarideiksi, jonka vuoksi etanolipitoisuus oli korkeampi. (Jiang ja muut 2020.)

Glyseroli eli sokerialkoholi kuuluu suurimpiin sivutuotteisiin alkoholifermentoinnissa etanolin ja hiilidioksidin kanssa. Sen pitoisuus riippuu fermentoinnissa käytettyjen sokerien pitoisuudesta. Mitä enemmän sokereita on, sitä enemmän fermentointireaktiossa tuotetaan glyserolia. Glyseroli vaikuttaa siidereiden ja hedelmäviinien viskositeettiin ja pehmeeyteen. (He

2022.) Viineissä glyseroli ja etanoli muodostavat viinin täyteläisen maun. Siidereissä ei kuitenkaan ole yhtä suurta etanolipitoisuutta kuin tavallisissa hedelmäviineissä, joten siiderien täyteläiseen makuun vaikuttaa enemmän glyserolin muodostuminen fermentoinnissa (Ferremi Leali ja muut 2024.) Glyserolin kynnystaso maun havaitsemisessa on 5,2 g/L, mutta kynnystasoon vaikuttaa alkoholifermentoinnissa syntyvät etanolipitoisuus ja happamuutta aiheuttavat happojen pitoisuudet (He 2022).

Litsiviinin glyseroli tuotettiin glykolyysissa muodostuneesta dihydroksiasetonifosfaatista. *S. cerevisiae* glykolyysi oli tehokkaampi kuin *T. delbrueckii* hiivan (Chen ja Liu 2016). *S. cerevisiae* tuotti enemmän glyserolia kuin vaihtoehtoinen hiiva, koska *S. cerevisiae* glykolyysi on tehokkaampi (taulukko 2). *T. delbrueckii* hiivan glyserolin heikompi tuotto verrattuna *S. cerevisiae* tuottoon, voi myös huomata lohikäärmehedelmän fermentoinnissa (Jiang ja muut 2020). *T. delbrueckii* havaittiin tuottavan glyserolia solun sisälle, kun taas *S. cerevisiae* tuotti sokerialkoholia hiivasolun ulkopuolelle (Chen ja Liu 2016).

Päärynäsiidrierien fermentoinnissa havaittiin, että *T. delbrueckii* hiiva tuottaa enemmän glyserolia siidereihiin kuin *S. cerevisiae* hiiva. *T. delbrueckii* hiiva saattoi käyttää fermentointiin tarkoitettavia sokereita muiden yhdisteiden tuottoon, kuten glyserolin (He ja muut 2023). Tämä voi myös selittää *T. delbrueckii* hiivalla fermentoitujen päärynäsiidrierien hieman alhaisemman etanolipitoisuuden (taulukko 2). *S. pombe* hiivan viinin fermentoinnissa on havaittu glyserolia, mutta vähemmän kuin *T. delbrueckii* hiivan fermentoinnissa (Ivit ja muut 2020).

5.3. Sokerit

Sokerit ovat tärkeitä energian lähteitä hiivan etanolimetaboliaan. Monosakkarideja, kuten fruktoosia ja glukoosia, voidaan käyttää suoraan fermentointiin, kun taas sakkaroosi hajotetaan monosakkareiksi ennen kuin sitä voidaan käyttää fermentoinnissa (He 2022).

Omenoissa ja päärynöissä on paljon sokereita, jonka takia ne soveltuvat fermentointiin (He 2022). Sokerit, joita käytetään fermentoimiseen ovat omenoissa ja päärynöissä pääasiallisesti glukoosi, fruktoosi, sakkaroosi ja sorbitoli (He ja muut 2021, 2023). Fermentoitavan omenamehun sokeripitoisuuden vaikuttaa lajike, poiminta, säilytys sekä olosuhteet (Tocci ja muut 2023). Omenat sisältävä enemmän fruktoosia, sakkaroosia sekä glukoosia, kun taas sorbitolia löytyy 3 % omenatuotteista (He 2022). Päärynämeijerijien glukoosi-fruktoosi-suhde oli alhaisempi kuin omenameijerijien, mutta sorbitolin pitoisuus oli kuitenkin korkeampi kuin

omenamehuilla (He ja muut 2023). *S. cerevisiae* fermentoiduissa päärynäsiidereissä ei havaittu sorbitolinpitoisuuden laskua. Fermentoivat hiivat eivät yleensä pysty fermentoimaan sorbitolia omena- tai päärynäsiidereiden käymisessä. *Saccharomyces uvarum* pystyy kuitenkin käyttämään sorbitolia alkoholifermentaatioissa (Guerrini ja muut 2023).

Kiinanluumu on makea hedelmä, sillä se omaa korkean sokeripitoisuuden. Litsi sisältää pääosin glukoosia, fruktoosia sekä sakkaroosia. (Taulukko 2.) Fermentoinnin aikana *S. cerevisiae* käytti suuren osan litsimehun glukoosista, fruktoosista ja sakkaroosista etanolin fermentoimiseen. *T. delbrueckii* fermentoinnissa hiiva käytti pelkästään sakkaroosia fermentoinnissa eikä fruktoosia ja glukoosia. (Chen ja Liu 2016) *Saccharomyces*-suvun ulkopuolisilla hiivoilla, kuten *T. delbrueckii* hiivalla, on havaittu alhaisempi sokerien kulutus kuin sukuun kuuluvilla (He 2022). Tämän takia *T. delbrueckii* litsiviinissä voidaan havaita fruktoosia sekä glukoosia, kun taas *S. cerevisiae* hiivan tuottamassa viinissä monosakkarideja ei pystytä havaitsemaan (taulukko 2).

Lohikäärmehedelmä sisältää fermentointiin käyviä sokereita, kuten fruktoosia ja glukoosia (taulukko 2). Lohikäärmehedelmän mehuun lisättiin myös sakkaroosia, jonka avulla etanolipitoisuutta saatiin nostettua fermentoinnin aikana. (Jiang ja muut 2020.) Fermentoinnin jälkeen fruktoosia tai glukoosia ei havaittu hedelmäviinissä (taulukko 2).

5.4. Orgaaniset hapot

Orgaaniset hapot tarkoittavat happoja, jotka eivät haihdu (He 2022). Niitä tuotetaan tai käytetään alkoholifermentoinnin aikana riippuen hiivan aineenvaihdunnasta (He 2022; He ja muut 2021). Orgaaniset hapot vaikuttavat siiderin happamuuteen ja laatuun. Suuri pitoisuus orgaanisia happoja johtaa siiderin happamaan ja karvaaseen makuun. Astringoivuus johtuu myös orgaanisista hapoista. Jos taas orgaanisia happoja ei ole ollenkaan, siiderin muut maut eivät korostu ja maku on mitäänsanomaton. (He 2022.) Tutkielmassa esitellään etikka- ja omenahapon lisäksi myös hedelmissä esiintyviä muita happoja.

Omenoiden tärkeimmät orgaaniset hapot ovat omenahappo, sukkinihappo ja sitruunahappo (He 2022). Omenahappoa ei käytetä fermentoinnissa, ellei hiivana ei käytetä *S. pombea*, sillä kyseinen hiiva hajottaa omenahappoa (He 2022; He ja muut 2021). Sukkinihappoa taas syntyy käymisen aikana ja antaa alkoholijuomalle karvasta makua (He 2022; Jiang ja muut 2020). Happamimmat alkoholijuomat syntyivät omenoilla, joista Aino lajike tuotti suurimman orgaanisen happopitoisuuden (25,91 g/L) (taulukko 2). Fermentoiduissa päärynöissä on

havaittu enemmän omenahappoa ja sitruunahappoa, mutta myös meripihkahapon osuus orgaanisista hapoista on suuri (He 2022; He ja muut 2023).

T. delbrueckii hiiva tuotti korkeamman omenahappopitoisuuden kuin *S. cerevisiae* Lohikäärmehedelmäviineissä (taulukko 2). Lohikäärmehedelmän etikkahappo- ja palorypälehappopitoisuus olivat korkeampia *S. cerevisiae* fermentoinnissa kuin *T. delbrueckii*. *T. delbrueckii* on raportoitu tuottavan alhaisempia etikkahappopitoisuuksia. Fermentoiduista viineistä löydettiin myös maito- ja sitruunahappoa. (Jiang ja muut 2020.)

Kiinanluumun mehuun lisättiin ennen fermentointia D- ja L-omenahappoa, jotta mehun pH-arvoa saataisiin laskettua (Chen ja Liu 2016). Luonnossa hedelmissä esiintyy vain L-omenahappoa (Khan ja muut 2013). *S. cerevisiae* hiiva tuotti paljon palorypälehappoa fermentoinnin alussa, mutta suurin osa syntyneestä haposta käytettiin asetaldehydinin tuotantoon. *T. delbrueckii* tuotti vähemmän palorypälehappoa, joka saattoi johtua *T. delbrueckii* hiivan vähäisemmästä sokerien kulutuksesta. Etikkahappoa tuotettiin asetaldehydista, jonka takia *S. cerevisiae* tuotti enemmän etikkahappoa. Korkean etikkahappopitoisuuden on havaittu aiheuttavan etikkamaisen hajun alkoholijuomissa, joten sen muodostumista pitäisi yrittää vähentää. (Chen ja Liu 2016.)

5.5. Muut haihtuvat orgaaniset yhdisteet

Osa haihtuvista yhdisteistä ovat hajuaktiivisia yhdisteitä. Haihtuvat yhdisteet reagoivat myös muiden haihtuvien ja haihtumattomien yhdisteiden kanssa. Ne voivat toimia haihtumattomille tai haihtuville yhdisteille antagonisteina. Yhdisteiden reagointi toisensa kanssa vaikuttaa siiderin makuun sekä suun tuntumaan. (He 2022) Suurin osa haihtuvista yhdisteistä muodostuu fermentoitavan hiivan aineenvaihdunnassa, kun taas osa on peräisin hedelmästä (He ja muut 2021).

Kypsissä omenoissa esiintyy estereitä 78-92 % ja alkoholeja 6-16 %. Yleisemmät esterit ja alkoholit omenoissa ovat heksyyliasettaatti, butyyliasettaatti, butan-1-oli ja heksan-1-oli. Harvinaisempiin yhdisteisiin omenoissa kuuluvat aldehydit, ketonit ja terpenoidit. (He 2022.) Osa haihtuvista yhdisteistä ei havaittu Aino, Hyvingiensis ja Gustavs Bästa omenalajikkeiden fermentoinnin jälkeen. Suurin osa havaituista yhdisteistä omenasiidereissä olivat etyyliesterit ja asetaattiesterit. Etyyliasettaatti tuottaa siiderille makean ja ananaksen hajun. *S. cerevisiae* tuotti enemmän aineenvaihdunnassaan etyyliasettaattia kuin *S. pombe*. Myös omenasta peräisin

oleva heksyyliasettaatti havaittiin omenasiidereissä. (He ja muut 2021.) Päärynöissä yleisempiä haihtuvia yhdisteitä ovat etyyliasettaatti, butyyliasettaatti, nonan-1-oli ja hepan-1-oli (He 2022). Päärynäsiidereissä havaittiin, että *T. delbrueckii* hiiva tuotti voimakkaamman kypsennetyn päärynän hajun (He ja muut 2023).

Litsissä on paljon hajuaistia aktivoivia yhdisteitä. Niistä 2-fenetyylialkoholi on havaittu antavan kukkamaisen tuoksun sekä *cis*-ruusuoksidia ja geraniolia taas on havaittu vaikuttavan sitruunaiseen makuun. Fermentoinnin jälkeen *cis*-ruusuoksidia, geraniolia ja litsin miellyttävään hajuun vaikuttava linalooli, ei kuitenkaan havaittu litsiviinistä (Chen ja Liu 2016). Linaloolin ja *cis*-ruusuoksidin pitoisuuksiin on huomattu vaikuttavan viinin ikääntyminen, jolloin yhdisteiden pitoisuuksissa havaittiin nousua (Wu ja muut 2011). Geranioli on havaittu säilyvän maitohappobakteerien fermentoinnin (Wu ja muut 2011). Viinin makuun vaikuttavien yhdisteiden pitoisuuden lasku voidaan selittää terpeenien aineenvaihdunnalla, yhdisteiden haihtumisella tai *S. cerevisiae* hiivan alhaisen β -glukosidaasin tuotannon avulla (Chen ja Liu 2016; Wu ja muut 2011).

Lohikäärmehedelmän fermentointi havaittiin tuottavan haihtuvia yhdisteitä, kuten alkoholeja sekä estereitä. *T. delbrueckii* tuotti paljon korkeampia alkoholeja (*engl.* higher alcohols), erityisesti isoamyylialkoholia ja 2-fenyylietyylialkoholia. *T. delbrueckii* hiivan korkeampien alkoholien tuottoa on kyseenalaistettu, sillä kaikissa tutkimuksissa ei olla päästy samaan tulokseen. Alkoholien tuotto voi myös johtua lohikäärmehedelmän vähäisestä typpipitoisuudesta. Lohikäärmehedelmän viinistä havaittiin etyyliestereitä ja asetaattiestereitä, mutta hiivat vaikuttivat niiden pitoisuuksiin alkoholijuomissa. (Jiang ja muut 2020.) Hedelmäviinistä löytyi myös terpeeneitä, kuten linaloolia, jota havaittiin myös litsimehussa (Chen ja Liu 2016; Jiang ja muut 2020).

6. Päätelmät

Kiinanluumu- ja lohikäärmehedelmäviinit tuottivat onnistuneesti alle 8,5 % etanolipitoisuuden, joten näitä hedelmiä voitaisiin käyttää siiderien fermentointiin yksikseen tai tuottaa omenan tai päärynän kanssa makusiidereitä. Lohikäärmehedelmä sopii fermentointiin, mutta hedelmän alhainen typpipitoisuus ei riitä hiivojen fermentointia varten. Typeä pitäisi lisätä hiivojen kasvatusta varten lohikäärmehedelmämehuun, jotta fermentoinnin aineenvaihdunta onnistuisi sekä hedelmäviinin makua pystyttäisi parantamaan. *T. delbrueckii* pystyi paremmin säilyttämään lohikäärmehedelmän betasyaniinipigmenttejä kuin *S. cerevisiae* fermentoinnin

aikana. Litsiviinissä huomattiin myös, että *T. delbrueckii* säilytti paremmin hedelmän terpenoideja, mutta tuotti vähemmän alkoholeja. *T. delbrueckii* tuotti alhaisempia etikkahappopitoisuuksia, joka vähentää alkoholijuomissa etikkamaista hajua.

S. pombe vähensi omenahappopitoisuutta sekä omenasiidereissä, mutta aiheutti karvasta makua siiderissä. *S. pombe* havaittiin tuottavan enemmän makeampaa ja hedelmäisempää makua kuin *S. cerevisiae*. Päärynäsiidereissä *T. delbrueckii* tuotti korkeamman glyserolipitoisuuden kuin *S. cerevisiae*, mutta *S. cerevisiae* tuotti korkeamman etanolipitoisuuden. Omenasiiderien tuotossa käytettyjä omenalajikkeita Hyvingiensis, Aino sekä Gustavs Bästa voidaan käyttää fermentoinnissa. Karvaammat päärynälajikkeet Stolishnaja sekä Rumnaja Kedrina-Pakurlan Päärynä tuottivat enemmän astringoivia ja happamia päärynäsiidereitä, kun taas makeammat päärynälajikkeet Pepi-Lück ja Conference tuottivat makeampia siidereitä. Karvaampien päärynälajikkeiden fermentoimiseen voitaisiin käyttää *S. pombe* hiivaa vähentämään omenahappopitoisuutta, jolloin siidereistä saataisiin vähemmän happamia.

Litsisiiderien tuoton ongelmana on, että hedelmän yhdisteet hajoavat fermentoinnin aikana *S. cerevisiae* ja *T. delbrueckii* hiivoilla. Litsisiiderien jatkotutkimuksissa pitäisi löytää hiiva, joka ei aineenvaihduntansa avulla hajottaisi kiinanluumun haihtuvia yhdisteitä, kuten *cis*-ruusuoksidia, geraniolia ja linaloolia. Mahdolliseksi hiivaksi, joka pystyisi säilyttämään kiinanluumulle haihtuvia yhdisteitä voisi olla *Kluyveromyces lactis*, mutta sen etanolin tuotto on tehottomampi kuin *T. delbrueckii*.

Lohikäärmehedelmän fermentointiin sopisi *T. delbrueckii*, sillä hiiva tuotti enemmän alkoholeja, estereitä ja säilytti paremmin betasyaniinipigmenttejä kuin *S. cerevisiae*. *T. delbrueckii* käyminen tekisi lohikäärmesiiderille monimutkaisemman makuprofiilin kuin *S. cerevisiae*. Lohikäärmehedelmän haihtuvat yhdisteet sisältävät samoja yhdisteitä litsin kanssa. Tämän takia lohikäärmehedelmäsiiderien fermentointiin voitaisiin testata myös *K. lactis* hiivaa.

Vaihtoehtoisten hedelmien soveltaminen siiderien tuotannossa voisi vähentää hedelmien hävikkiä käyttämällä niitä alkoholijuomien valmistukseen. Paikallisesti tärkeiden hedelmien sopivuutta siiderituotantoon on tärkeää tutkia, koska voidaan löytää perinteisten hedelmäajikkeiden joukosta lajike, joka sopii paremmin alkoholijuomien tuottoon kuin käytössä olevat lajikkeet. Hiivalajien tutkiminen on myös tärkeää, sillä hiivojen aineenvaihdunnan avulla voitaisiin vähentää esimerkiksi omenahappoa, jolloin pystytään

säätämään yhdisteiden pitoisuuksia alkoholijuomissa. Vaihtoehtoisten hiivojen aineenvaihdunnalla voitaisiin vähentää hedelmän haihtuvien yhdisteiden hajoamista alkoholikäymisen aikana, jolloin kyseiset yhdisteet muodostaisivat monimutkaisemman maku- ja aromiprofiilin siidereille.

7. Kirjallisuus

Finlex. <https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1994/19941344#V1>. (Luettu 21.1.2024).

Benito, S. (2019) The impacts of *Schizosaccharomyces* on winemaking. *Appl Microbiol Biotechnol* **103**:4291–4312.

Chen, D. & Liu, S.-Q. (2016) Impact of simultaneous and sequential fermentation with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on non-volatiles and volatiles of lychee wines. *LWT - Food Science and Technology* **65**:53–61.

Ferremi Leali, N., Salvetti, E., Luzzini, G., Salini, A., Slaghenaufi, D., Fusco, S., ... Binati, R. L. (2024) Differences in the Volatile Profile of Apple Cider Fermented with *Schizosaccharomyces pombe* and *Schizosaccharomyces japonicus*. *Fermentation* **10**:128.

Guerrini, S., Galli, V., Barbato, D., Facchini, G., Mangani, S., Pierguidi, L. & Granchi, L. (2023) Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Starmerella bacillaris* on the physicochemical and sensory characteristics of sparkling pear cider (Perry). *Eur Food Res Technol* **249**:341–352.

He, W. (2022) Bioprocessing of Alcoholic Beverages from Apples and Pears: Effects of Raw Materials and Processes on Quality. *Food Sciences Department of Life Technologies* **2022**.

He, W., Liu, S., Heponiemi, P., Heinonen, M., Marsol-Vall, A., Ma, X., ... Laaksonen, O. (2021) Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe* strains

- on chemical composition and sensory quality of ciders made from Finnish apple cultivars. *Food Chemistry* **345**:128833.
- He, W., Tian, Y., Liu, S., Vaateri, L., Ma, X., Haikonen, T., ... Laaksonen, O. (2023) Comparison of phenolic composition and sensory quality among pear beverages made using *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii*. *Food Chemistry* **422**:136184.
- Ivit, N. N., Longo, R. & Kemp, B. (2020) The Effect of Non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces Non-Cerevisiae* Yeasts on Ethanol and Glycerol Levels in Wine. *Fermentation* **6**:77.
- Jiang, X., Lu, Y. & Liu, S. Q. (2020) Effects of Different Yeasts on Physicochemical and Oenological Properties of Red Dragon Fruit Wine Fermented with *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii* and *Lachancea thermotolerans*. *Microorganisms* **8**:315.
- Khan, S. A., Beekwilder, J., Schaart, J. G., Mumm, R., Soriano, J. M., Jacobsen, E. & Schouten, H. J. (2013) Differences in acidity of apples are probably mainly caused by a malic acid transporter gene on LG16. *Tree Genetics & Genomes* **9**:475–487.
- Kokkinomagoulos, E., Nikolaou, A., Kourkoutas, Y. & Kandyliis, P. (2020) Evaluation of Yeast Strains for Pomegranate Alcoholic Beverage Production: Effect on Physicochemical Characteristics, Antioxidant Activity, and Aroma Compounds. *Microorganisms* **8**:1583.
- Soomro, T., Watts, S., Migicovsky, Z. & Myles, S. (2022) Cider and dessert apples: What is the difference? *PLANTS, PEOPLE, PLANET* **4**:593–598.
- Tocci, N., Egger, M., Hoellrigl, P., Sanoll, C., Beisert, B., Brezina, S., ... Conterno, L. (2023) *Torulaspota delbrueckii* Strain Behaviour within Different Refermentation Strategies for Sparkling Cider Production. *Applied Sciences* **13**:4015.

- Walker, G. M. & Stewart, G. G. (2016) *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages* **2**:30.
- Wang, D., Deng, Y., Chen, X., Wang, K., Zhao, L., Wang, Z., ... Hu, Z. (2023) Elucidating the effects of *Lactobacillus plantarum* fermentation on the aroma profiles of pasteurized litchi juice using multi-scale molecular sensory science. *Current Research in Food Science* **6**:100481.
- Wu, Y., Zhu, B., Tu, C., Duan, C. & Pan, Q. (2011) Generation of Volatile Compounds in Litchi Wine during Winemaking and Short-Term Bottle Storage. *J Agric Food Chem* **59**:4923–4931.