

**Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου & Ποτών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής**

**Master of Science in Wine and Beer Science**

**«Μελέτη τριών ποικιλιών λυκίσκου ως προς το αρωματικό τους  
προφίλ: Εφαρμογή με πειραματικές ζυθοποιήσεις»**

**"Study of the aroma of three hop varieties:  
Experimental brews and evaluation with GC-MS"**



**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

**Master Thesis**

**Παϊαυλά Δήμητρα**

**2021**

**Παρουσιάσθηκε για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απονομή  
του Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών στο Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου &  
Ποτών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής  
Master of Science in Wine and Beer Science**

**Όνομα εισηγητή-Supervisor:**  
Ελισάβετ Κουσίση, Επίκουρη καθηγήτρια  
Elisabeth Koussissi, Assistant Professor

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**



**University of West Attica**

**Wine, Vine & Beverage Sciences Department**

**MSc in Wine and Beer Science**

**Diploma Thesis**

**"Study of the aroma of three hop varieties: Experimental brews  
and evaluation with GC-MS"**

**Paiavla Dimitra**

**Athens,2021**

Παΐαυλά Δήμητρα

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο **«Μελέτη τριών ποικιλιών λυκίσκου ως προς το αρωματικό τους προφίλ: Εφαρμογή με πειραματικές ζυθοποιήσεις»** που παρουσιάστηκε από την Παΐαυλά Δήμητρα, υποψηφία για τον μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στην Επιστήμη Οίνου και Ζύθου με κατεύθυνση: Ζύθος, και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

**Κουσίση Ελισάβετ, Επίκουρη Καθηγήτρια**

**Ταταρίδης Παναγιώτης, Επίκουρος Καθηγητής**

**Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα, Καθηγήτρια**


## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Παΐαυλά Δήμητρα του Σταματίου, με αριθμό μητρώου 18207 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Επιστήμη Οίνου και Ζύθου του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου & Ποτών της Σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα



Παΐαυλά Δήμητρα

## Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής για το τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών για το μεταπτυχιακό πρόγραμμα Επιστήμη Οίνου και Ζύθου. Η ολοκλήρωση της πτυχιακής εργασίας αυτής δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την πολύτιμη βοήθεια και υποστήριξη της καθηγήτριας μου Ελισάβετ Κουσίση. Πάρα τις δύσκολες εποχές που ζούμε κατάφερα με την υποστήριξη της να ολοκληρώσω με επιτυχία την μελέτη μου αυτή και γι' αυτό της εκφράζω ένα μεγάλο ευχαριστώ. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω πολύ την διδακτορική υπότροφο Ελιάννα Τσάπου για την βοήθειά της τόσο στο πειραματικό κομμάτι των χρωματογραφιών όσο και για την γνώση της και την βοήθεια της σε πολλά θέματα αυτή της εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κύριο Παναγιώτη Ταταρίδη και την κυριά Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα που δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην αξιολόγηση αυτής της εργασίας. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου από μεταπτυχιακό πρόγραμμα αλλά και τους καθηγητές που έπαιξαν καθοριστικό ρολό στην εξέλιξή μου κατά τη φοίτησή και φυσικά την οικογένειά μου και τους φίλους μου, που μου έχουν σταθεί όλα αυτά τα χρόνια της πορείας μου και με στηρίζουν.

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	6
Πίνακας περιεχομένων πινάκων .....	8
Περίληψη.....	9
Abstract .....	10
Κεφάλαιο 1. Λυκίσκος .....	11
1.1 Γενικά χαρακτηριστικά του λυκίσκου .....	11
1.2 Ιστορικά στοιχεία και Προέλευση του φυτού .....	15
1.3 Ο λυκίσκος και οι ποικιλίες του .....	17
1.4 Κατηγοριοποίηση και Διαχωρισμός των συστατικών.....	19
1.4.1 Οξέα.....	20
1.4.2 Αιθέρια Έλαια .....	22
1.5 Προϊόντα λυκίσκου.....	25
1.5.2 Πέλλετ λυκίσκου.....	26
1.5.3. Εκχυλίσματα .....	27
1.5.3.1 CO <sub>2</sub> Εκχύλισμα .....	27
1.5.3.2 Εκχύλισμα αιθανόλης.....	28
1.6 Ποικιλίες που μελετήθηκαν .....	30
1.6.1 Citra .....	32
1.6.2 Mosaic .....	39
1.6.3 Chinook.....	44
Κεφάλαιο 2. Σκοπός .....	48
Κεφάλαιο 3. Πειραματικό μέρος, υλικά και μέθοδοι .....	49
3.1 Υλικά για την παραγωγή των πειραματικών ζύθων.....	49
3.2 Πορεία ζυθοποίησης .....	51
3.3 Επεξεργασία δειγμάτων προς ανάλυση.....	56
3.4 Αέριος χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας.....	57
3.5 Στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων .....	58
Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα .....	59
4.1 Παραγόμενοι ζύθοι .....	59
4.2 Αποτελέσματα χρωματογραφικής ανάλυσης.....	62
4.2.1 Επίδραση του συνδυασμού ποικιλίας λυκίσκου και βρασιάς, στα αρώματα των προϊόντων (έξι διαφορετικά προϊόντα) .....	62
4.2.2 Επίδραση της διαφορετικής ποικιλίας λυκίσκου μόνο, στα αρώματα των ζύθων .....	72
4.2.2 Επίδραση του διαφορετικού batch.....	79
Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα .....	82

Κεφάλαιο 6. Βιβλιογραφία.....	85
Ιστοσελίδες/Websites & links .....	88

### **Πίνακας περιεχομένων πινάκων**

Πίνακας 1. Σύσταση και βασικές πληροφορίες της ποικιλίας Citra	35
Πίνακας 2. Σύσταση και βασικές πληροφορίες της ποικιλίας Mosaic	43
Πίνακας 3. Σύσταση και βασικές πληροφορίες της ποικιλίας Chinook	46
Πίνακας 4. Συγκεντρώσεις των διαφορετικών δειγμάτων για 78 πτητικές ενώσεις και επίδραση συνδυασμού λυκίσκου-βρασιάς στην διαφοροποίησή τους (Παράγοντας-factor της ανάλυσης: όλα τα διαφορετικά δείγματα που εξετάστηκαν).	63
Πίνακας 5. Οι ενώσεις που διαφοροποιούνται στατιστικά σημαντικά μεταξύ των έξι διαφορετικών δειγμάτων	66
Πίνακας 6. Οι ενώσεις που διαφοροποιούνται στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων που προκύπτουν από χρήση άλλης ποικιλίας λυκίσκου	72
Πίνακας 7. Οι ενώσεις που διαφοροποιούνται στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων που προκύπτουν από τις δυο διαφορετικές βρασιές	80



## Περίληψη

Ο λυκίσκος είναι ένα καθοριστικό συστατικό στην δημιουργία ζύθου από τα αρχαία χρόνια το οποίο προσδίδει χαρακτηριστική οσμή και γεύση στην μύρα αλλά ταυτόχρονα λειτουργεί και ως συντηρητικό. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν να μελετήσουμε τρεις δημοφιλείς παγκοσμίως ποικιλίες λυκίσκου, ως προς τα πτητικά αρωματικά συστατικά που προσδίδουν στους ζύθους. Οι ποικιλίες αυτές ήταν οι Citra, Mosaic και Chinook, όλες προερχόμενες από την Αμερική, και χαρακτηριζόμενες ως ποικιλίες διττής φύσεως. Για τον σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκαν έξι πειραματικές ζυθοποιήσεις περιλαμβάνοντας δυο επαναληπτικές ζυθοποιήσεις για κάθε ποικιλία. Κάθε ζύθος, προέκυψε από την ίδια διαδικασία και υλικά με μόνο παράγοντα διαφοροποίησης την χρησιμοποιούμενη ποικιλία λυκίσκου. Η ποσοτικοποίηση των πτητικών ενώσεων έγινε με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας- φασματομετρίας μάζας (GC-MS), και ανάλυση κάθε δείγματος εις διπλούν. Προέκυψαν μύρες χωρίς ελαττώματα και στα πλαίσια των προδιαγραφών του στυλ που θέλαμε (Blonde ale) με πολύπλοκα αρώματα και γεύσεις. Συνολικά ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν 78 ενώσεις στα δώδεκα δείγματα ζύθων. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση της διακύμανσης στα παραπάνω πτητικά συστατικά για να δούμε πως διαφορετικοί παράγοντες επηρέασαν την συγκέντρωση αυτών. Υπήρχε ξεκάθαρη επίδραση του παράγοντα βρασιά, με διαφορά αναμεσά στην πρώτη και δευτερά βρασιά λόγω καθυστέρησης του δευτέρου πειραματικού μέρους με συνέπεια να υπάρχει διαφορά στον χρόνο ωρίμανσης των δειγμάτων. Ως αποτέλεσμα, οι μύρες της δεύτερης βρασιάς κάθε ποικιλίας έδωσαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις ίδιες πτητικές ενώσεις. Η χρήση διαφορετικού τύπου λυκίσκου είχε στατιστικά σημαντική επίπτωση στην συγκέντρωση των ενώσεων Isoamyl alcohol , 2-methyl Butanoic acid, Isoamyl acetate, Phenylethyl Alcohol, 4-hydroxy Benzeneethanol και Estragole. Οι ενώσεις Isoamyl alcohol, 2-methyl Butanoic acid και Phenylethyl Alcohol εντοπίστηκαν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στις μύρες που προέκυψαν με χρήση της ποικιλίας *Chinook*, κατόπιν σε αυτές που χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία *Mosaic* και τέλος σε αυτές όπου χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία *Citra*. Η 4-hydroxy Benzene ethanol ήταν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στις μύρες με χρήση του *Chinook*, έπειτα σε αυτές με τον *Citra* και τέλος σε αυτές που είχαμε χρησιμοποιήσει την ποικιλία *Mosaic*. Τέλος, η ένωση Estragole βρέθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στους ζύθους που παρήχθησαν με *Mosaic*, μετά με *Chinook*, ενώ δεν εντοπίστηκε καθόλου στις μύρες που χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία *Citra*.

## Abstract

Hops are essential to the creation of beer since ancient times, giving characteristic taste to it but also acting as a preservative. The aim of this work was to study three hop varieties, recently gaining worldwide popularity, namely *Citra*, *Mosaic* and *Chinook*, with respect to their aromatic profile as measured with a GC-MS. All above varieties originate from the USA and are so called dual purpose hops. We therefore carried out six experimental brews, including a duplicate brew for each hop and for which all ingredients and processes were common apart from the type of hops used. Volatiles of each sample were quantified by GC-MS chromatography in duplicate. The produced beers were without off-flavors and within the specifications of the style we aimed for (Blonde Ale) with complex aromas and full body. Seventy eight (78) volatiles were identified and quantified in total in all beer samples. We therefore performed different approaches of analyses of variance in order to determine the factors that affected the differentiation of the samples with respect to the above volatiles. It was apparent that the factor: *batch*, had a strong effect on the concentration of those volatiles, the second batch of all varieties giving higher concentrations to most of the volatiles due to a significant delay in the analyses of the volatiles of the second batch (higher maturation period). The factor: *hop* on its own, significantly affected only six compounds on the same way across the two different brews/ batches. Those were the following: Isoamyl alcohol, 2-methyl Butanoic acid, Isoamyl acetate, Phenylethyl Alcohol, 4-hydroxy Benzene ethanol and Estragole. Isoamyl alcohol, 2-methyl Butanoic acid and Phenylethyl Alcohol were found in the highest concentrations in the beers brewed with *Chinook* variety, lower in those with *Mosaic*, and the lowest in those brewed with *Citra*. 4-hydroxy Benzene ethanol was found in the highest concentrations in beers with *Chinook*, then those with *Citra* and the lowest in beers with *Mosaic*. Finally, Estragole was the highest in beers brewed with *Mosaic* variety, then with *Chinook*, and it was not detected at all in the beers brewed with *Citra* hops.

## Κεφάλαιο 1. Λυκίσκος

### 1.1 Γενικά χαρακτηριστικά του λυκίσκου

Ο λυκίσκος (*Humulus lupulus Linnæus*) είναι ένα πολυετές αναρριχητικό φυτό με αιωνόβιο ριζώμα και ετήσια αναρριχώμενα στελέχη. Ανήκει στη οικογένεια *Cannabaceae* της τάξης *Urticales*. Εκτός από το πιο κοινό είδος *Humulus lupulus*, το γένος *Humulus* περιλαμβάνει δύο ακόμα είδη, τα *Humulus japonicus* και *Humulus yunnanensis* τα οποία δεν παρουσιάζουν την ίδια εμπορική και φαρμακευτική σημαντικότητα. Τα ριζώματα του λυκίσκου ζουν σχεδόν 30 χρόνια, όμως κάθε χειμώνα τα ταχέως αναπτυσσόμενα στελέχη του πεθαίνουν. Τα στελέχη του έχουν ύψος από 5-9 μέτρα κάθε καλλιεργητική σεζόν. Το σημαντικότερο τμήμα του φυτού για την ζυθοποίηση είναι ο θηλυκός κώνος, στον οποίον και εντοπίζονται οι ρητίνες και τα αιθέρια έλαια τα οποία προστίθενται σε διάφορες μορφές κατά τη δημιουργία μπίρας και προσδίδουν την χαρακτηριστική γεύση και άρωμα της. Ετησίως αυξάνεται κατά τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού, αλλά έχει μια σημαντική περίοδο 6-8 εβδομάδων που την περνάει σε λήθαργο σε θερμοκρασίες κάτω από τους 5 °C. Είναι ένα φωτοπεριοδικό (photoperiodic) φυτό, που χρειάζεται περίπου 15 ώρες της ημέρας φως και προτιμά 6-8 ώρες ηλιοφάνειας, και στο στάδιο της βλαστικής ανάπτυξης και στο στάδιο της ανθοφορίας. Η πρόσβαση στο νερό είναι επίσης πολύ σημαντική, αλλά όχι απαραίτητως από τη βροχή, δεδομένου ότι η απορρόφηση νερού γίνεται κυρίως μέσα από τις ρίζες που δεν μπορούν να μείνουν εμποτισμένες. Ο λυκίσκος προτιμά τα εδάφη γύρω από τα περιθώρια ποταμών στις κρύες ζώνες μεταξύ των γεωγραφικό πλάτος 30° και 55°. Η καλύτερη ακμάζουσα γεωγραφική περιοχή για την καλλιέργεια του είναι μεταξύ 40° και 50° στα βόρεια και Νότια ημισφαίρια, στην Ευρώπη, κεντρικές και βόρειες περιοχές στις Ηνωμένες Πολιτείες, Κεντρική Ασία, Νότια Αφρική, Αργεντινή και νότια της Ωκεανίας.

Ο *Humulus lupulus* όπως είπαμε είναι αναρριχητικό φυτό με φύλλα τριών ή πέντε λοβών. Περιγράφεται ως dioecious- δυικό φυτό, που σημαίνει ότι έχει διαφορετικά αρσενικά και θηλυκά φυτά, αλλά μόνο τα θηλυκά φυτά σχηματίζουν τους κώνους λυκίσκου μέσα στους οποίους αναπτύσσονται οι πολύ σημαντικοί, κίτρινοι λουπουλονικοί αδένες (λουπουλίνες –lupulin) που χρησιμοποιούμε στην μπίρα. Λόγω της παρουσίας των λουπουλενικών αδένων που είναι πλούσιοι σε έλαια και ρητίνες, η χημική σύσταση αποξηραμένων κώνων λυκίσκου δείχνει να είναι

διαφορετική από τα υπόλοιπα μέρη του φυτού. Εκτός από τη λουπουλόνη, οι κώνοι του λυκίσκου αποτελούνται κυρίως από κυτταρίνη, λιγνίνη, νερό, πρωτεΐνες, μονοσακχαρίτες, πηκτίνες, αμινοξέα, λιπίδια και κερύ (Machado *et al*, 2019; Hough *et al*, 1982; Anderson *et al*, 2019)

Σε μια άριστη και αναλυτική ανασκόπηση της χημείας του λυκίσκου, ο Stevens αναφέρει μια τυπική χημική σύσταση του φυτού του λυκίσκου ως εξής:

- Ρητίνες 15%
- Πρωτεΐνες 15%
- Μονοσακχαρίτες 2%
- Ταννίνες (πολυφαινόλες) 4%
- Πηκτίνες 2%
- Πτητικά έλαια 0,5%
- Τέφρα 8%
- Υγρασία 10%
- Κυτταρίνη και άλλα 43% (Stewart *et al*, 2018)

Τα αρσενικά φυτά του λυκίσκου χαρακτηρίζονται από μικρά κίτρινα άνθη και είναι απαραίτητα για την δημιουργία νέων ποικιλιών. Σε περίπτωση που αυτό δεν είναι επιθυμητό, και ιδιαίτερα σε πλάνα σχηματισμού ομοιογενούς καλλιέργειας, τα αρσενικά φυτά απομακρύνονται από την καλλιέργεια ώστε να αποφευχθούν διασταυρούμενες γονιμοποιήσεις και παραγωγή σπόρων. Η απαίτηση του κοινού των καταναλωτών μπίρας σχετικά με την εξειδίκευση των γεύσεων και αρωμάτων του προϊόντος, οδήγησε στην ανάγκη δημιουργίας εκατοντάδων νέων ποικιλιών λυκίσκου, οι οποίοι διαφέρουν ουσιαστικά στο περιεχόμενο τους σε αιθέρια έλαια, πικρικά οξέα και πολυφαινόλες. Ο λυκίσκος διασπείρεται μέσω ριζωμάτων των θηλυκών κώνων τα οποία είναι τα μοναδικά που καλλιεργούνται συστηματικά λόγω της εμπορικής τους χρησιμότητας. Στον χώρο φύτευσης τους πρέπει να προστίθεται κομποστοποιημένο υλικό και καλά ποτισμένο φυτό. Η

οργανική ύλη η οποία τοποθετείται περικλείοντας το νεαρό φυτό βοηθά στον έλεγχο της διασποράς και στη διατήρηση της υγρασίας του εδάφους (Hieronymus, 2012 ; Stewart *et al*, 2018).

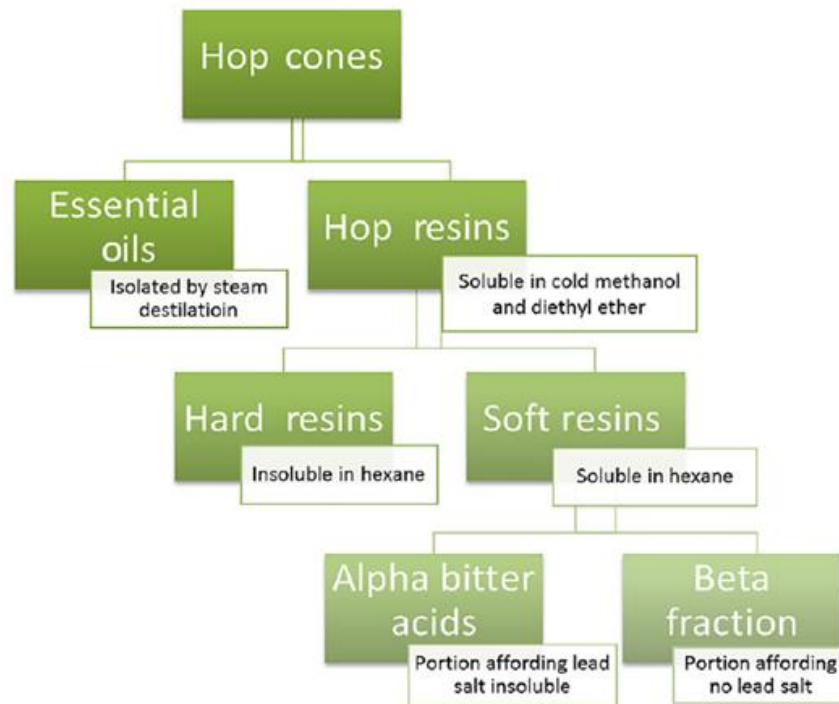
Η συλλογή, η συσκευασία και η αποθήκευση, διαδικασίες ιδιαίτερα χρονοβόρες στην περίπτωση του φυτικού είδους αυτού, καταλαμβάνουν ένα χρονικό διάστημα περίπου 2- 3 ετών έως την τελική παραγωγή προϊόντος. Στην περίπτωση μεγάλων καλλιεργητικών εκτάσεων λυκίσκου η συλλογή των κώνων γίνεται μηχανικά με τη χρήση εξειδικευμένου εξοπλισμού ενώ σε μικρότερης κλίμακας φυτείες επικρατεί η συγκομιδή χειρωνακτικά μέσω απομάκρυνσης των κώνων που βρίσκονται σε προχωρημένο στάδιο ωρίμανσης. Η εποχή συγκομιδής για τον λυκίσκο ξεκινά τον Αύγουστο και τελειώνει στα τέλη Σεπτεμβρίου ανάλογα με την ποικιλία και την τοποθεσία της καλλιέργειας. Τα χαρακτηριστικά που καθορίζουν τη φυσική εικόνα του ώριμου κώνου ο οποίος είναι έτοιμος για συγκομιδή περιλαμβάνουν την εμφάνιση, την αίσθηση του εξωτερικού περιβλήματος και την οσμή. Ο λυκίσκος συγκομίζεται όταν είναι μέγιστα αρωματικός και οι κώνοι έχουν μόλις ξεκινήσει να έχουν υγρασία. Το χρώμα μπορεί επίσης να αποτελέσει ένδειξη ωριμότητας καθώς οι κώνοι χάνουν ένταση χρώματος ενώ ωριμάζουν μεταβαίνοντας από ένα ιδιαίτερα φωτεινό σε ένα απαλό πράσινο χρώμα (Machado *et al*,2019 ; Hieronymus,2012).

Οι κώνοι λυκίσκου εισέρχονται στην αγορά σε αποξηραμένη μορφή, κυρίως πέλλετ είτε αυτό προορίζεται για προϊόν ή όταν πρέπει να αποθηκευτούν πριν γίνει περαιτέρω χρήση. Η διαδικασία ξήρανσης περιλαμβάνει σταθερή ροή αέρα και σε ορισμένες περιπτώσεις μια ελαφρά παροχή θερμότητας. Μετά την ξήρανση, οι κώνοι ψύχονται για να τεθούν σε διαδικασία συσκευασίας ή επεξεργασίας. Για να αποφευχθεί η γρήγορη αλλοίωση που επέρχεται λόγω φωτός, οξυγόνου ή υψηλών θερμοκρασιών, οι αποξηραμένοι κώνοι μπορούν να συσκευαστούν αεροστεγώς σε αδιαφανείς σακούλες και να αποθηκευτούν σε ψυγείο θερμοκρασίας μικρότερης από 4°C.

Οι κώνοι λυκίσκου είναι ένα από τα τέσσερα απαραίτητα συστατικά μιας μπίρας. Υδρόφοβες ενώσεις από τους κώνους λυκίσκου παρουσιάζουν μια χαρακτηριστική επιθυμητή πικράδα, κυρίως λόγω α-και β-πικρικών οξέων, ενώ το χαρακτηριστικό του άρωμα παρέχεται από τα αιθέρια έλαια, τα οποία συγκεντρώνονται στην λουπουλόνη. Κατά συνέπεια, ο λυκίσκος είναι υπεύθυνος για την πικράδα και τις ιδιαίτερες γεύσεις και αρώματα των διαφορετικών τύπων μπίρας. Οι κώνοι λυκίσκου περιέχουν επίσης βιολογικά ενεργές φαινολικές ενώσεις, οι οποίες συμβάλλουν στη διατήρηση και τη σταθεροποίηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ποτού, κυρίως λόγω

των αντιοξειδωτικών, αντι-μικροβιακών, και των ιδιοτήτων σταθεροποίησης του αφρού. Διαφορετικά κλάσματα μπορεί να εξαχθούν από κώνους λυκίσκου και κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με τις φυσικοχημικές ιδιότητές τους. Τα αιθέρια έλαια είναι, εξ ορισμού, το κλάσμα του λυκίσκου που μπορεί να απομονωθεί με απόσταξη υπό ατμό (Machado *et al*, 2019 ; Hieronymus, 2012).

Τα μονοτερπένια *myrcene* και τα σесκιτερπένια,  $\alpha$ -humulene και  $\beta$ -καρυοφυλλένιο, αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των ουσιών του ελαίου, μαζί με μεγάλο αριθμό άλλων τερπένιων, όπως λιναλοόλη, λιμονένιο, πινένιο, και γερανιόλη μεταξύ άλλων αλκοολών, οξέων, κετόνων και αλδεϋδων που συμβάλλουν στη γεύση της μύρας και αποτελούν παραμέτρους ποιότητας, των διαφορετικών ποικιλιών του φυτού. Οι μη πτητικές ρητίνες λυκίσκου χαρακτηρίζονται από τη διαλυτότητα τους στην κρύα μεθανόλη και τον διαιθυλικό αιθέρα. Μπορούν να χωριστούν σύμφωνα με τη διαλυτότητα τους στο εξάνιο. Οι αδιάλυτες είναι οι σκληρές ρητίνες, που περιέχουν *chalcones* και *flavanones*, όπως η *xanthohumol* και *prenylnarigenin*. Ωστόσο, τα προϊόντα οξείδωσης που προέρχονται από  $\alpha$ -ή/και  $\beta$ -οξέα αναγνωρίστηκαν επίσης ως συστατικά της σκληρής ρητίνης. Οι μαλακές ρητίνες είναι διαλυτές σε εξάνιο και περιέχουν κυρίως  $\alpha$ -και  $\beta$ -οξέα. Οι εμπορικοί λυκίσκοι ταξινομούνται συνήθως σύμφωνα με τη συγκέντρωση των  $\alpha$ -οξέων. Ο λυκίσκος πικρικού σκοπού περιέχει περισσότερο από 5%  $\alpha$ -οξέα, ενώ οι λυκίσκοι αρώματος, εκτιμώνται κυρίως από τα αρωματικά προφίλ, παρουσιάζουν, κατά μέσο όρο, ένα ποσό  $\alpha$ -οξέων μέχρι 5%. Εάν αυτό το ποσό των  $\alpha$ -οξέων υπερβαίνει το 10% κατά βάρος οι πικρές ποικιλίες ταξινομούνται ως  $\alpha$ -υψηλές ποικιλίες. Μερικοί πικρικοί λυκίσκοι είναι επίσης πλούσιοι και σε αρωματικές ενώσεις. Οι ποικιλίες αυτές έχουν ταξινομηθεί ως λυκίσκοι διπλής χρήσης, επειδή έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν για να δώσουν πικράδα αλλά στο τέλος του βρασμού ή και σε αργότερη προσθήκη και ιδιαίτερα αρώματα και γεύσεις (Machado *et al*, 2019 ; Hieronymus, 2012 ; Olsovska *et al*, 2017 ; Obstacle *et al*, 2010).



Εικόνα 1. Τα κλάσματα του λυκίσκου από τους Machado *et al*, 2019.

## 1.2 Ιστορικά στοιχεία και Προέλευση του φυτού

Ιστορικά στοιχεία φτάνουν στο συμπέρασμα ότι η προέλευση του λυκίσκου εντοπίζεται στην Ασία και πιο συγκεκριμένα στη Μεσοποταμία, στα υψίπεδα του Καύκασου και την νότια Σιβηρία. Από την βοτανική πλευρά ωστόσο, το φυτικό είδος του λυκίσκου θεωρείται πως κατάγεται από την Κίνα, καθώς εκείνη είναι η μόνη χώρα στον κόσμο στην οποία και τα τρία είδη λυκίσκου (*H. lupulus*, *H. japonicus*, *H. yunnanensis*) είναι ενδημικά. Ο λυκίσκος ξεκίνησε να καλλιεργείται από το ξεκίνημα της εποχής μας. Καταγραφές δείχνουν πως ο λυκίσκος χρησιμοποιούνταν από Σλάβικες φυλές μόλις το 1500-1000 π.Χ. συμμετέχοντας στη διαδικασία συντήρησης του ζύθου. Άλλα έθνη ξεκίνησαν να χρησιμοποιούν το φυτό στη διαδικασία της παραγωγής ζύθου από τον 13<sup>ο</sup> αιώνα. Μέχρι τον 12<sup>ο</sup> αιώνα ωστόσο, ο λυκίσκος συλλέγονταν από άγρια φυτά. Πολύ σύντομα, οι θεραπευτικές του ιδιότητες ήρθαν στο προσκήνιο και εντάχθηκαν στη συστηματοποιημένη χρήση των φυσικών προϊόντων στα πλαίσια της παραδοσιακής ιατρικής (Chadwick *et al.*, 2006; Stewart *et al*, 2018).

Καταγραφές από τον 7<sup>ο</sup> και 9<sup>ο</sup> αιώνα δείχνουν πως οι πρώτοι κήποι λυκίσκου ιδρύθηκαν κάτω από μοναστηριακή διεύθυνση, όπου ο λυκίσκος καλλιεργήθηκε μαζί με άλλα φυτικά είδη λόγω των φαρμακευτικών του ιδιοτήτων. Ακόμα και σε εκείνη την εποχή, τα εκχυλίσματα λυκίσκου

αναγνωρίστηκαν για τις αντιφλεγμονώδεις και αντισηπτικές δράσεις τους καθώς αφεψήματα παρασκευασμένα από λυκίσκο χρησιμοποιούνταν για τη θεραπεία τραυματισμών με αργή επούλωση. Ακόμα ένα παράδειγμα παρόμοιων θεραπευτικών εφαρμογών αποτελεί η χρήση πολλού λυκίσκου κατά της πνευμονίας ή του πυρετού. Αλκοολικά εκχυλίσματα λυκίσκου χρησιμοποιούνταν στα πλαίσια της κινέζικης ιατρικής για τη θεραπεία της πνευμονικής φυματίωσης ή την οξεία βακτηριακή δυσεντερία. Κάποιες πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει πως τα αλκοολικά εκχυλίσματα του λυκίσκου κατέχουν μια ισχυρή σπασμολυτική επίδραση στους λείους μύες με αποτέλεσμα να είναι αποτελεσματικοί σε περιπτώσεις που χαρακτηρίζονται από τάση των υποδόριων λείων μυών, συμπεριλαμβανόμενης της σπαστικής κολίτιδας, της νευρικής δυσπεψίας, τους νευρικούς παλμούς, του βήχα και του άσθματος (Olsonska *et al.*, 2016; Chadwick *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2019).

Οι πρωιμότερες καταγραφές που αναφέρουν το φυτικό είδος του λυκίσκου και τη χρήση αυτού χρονολογούνται περί του 11<sup>ου</sup> αιώνα, όταν ο Αραβικής καταγωγής γιατρός Mesue, περιέγραψε την αντιφλεγμονώδη δράση του φυτού. Αργότερα, το 1158, η Γερμανίδα βοτανολόγος Hildegard von Bingen, επιβεβαιώνει τις αντιμικροβιακές ιδιότητες του φυτού, και προτείνει την προσθήκη του φυτού σε ροφήματα με σκοπό την παράταση του χρόνου ζωής αυτού του είδους των προϊόντων.

Στις ημέρες μας, η συστηματική μελέτη του λυκίσκου έχει βοηθήσει στην ακόμα πιο λεπτομερή χαρτογράφηση των δραστικών συστατικών του με αποτέλεσμα να αποδίδονται και νέες, πιο ειδικές φαρμακευτικές δράσεις, όπως εκείνη που συσχετίζεται με την αύξηση της δραστηριοποίησης των θηλυκών ορμονών, με αποτέλεσμα την μείωση των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης ή των ορμονικών διαταραχών σε γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακής ηλικίας. Πέραν όλων των παραπάνω, δεν παύει να αποτελεί τη βασική αρωματική ύλη που εμπλέκεται στη διαδικασία της ζυθοποίησης, με το ρόλο του να ανάγεται κατά βάση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ζύθου προσδίδοντας την χαρακτηριστική πικρή γεύση και άρωμα αλλά και στα λειτουργικά του χαρακτηριστικά, δρώντας ως μέσο σταθεροποίησης του αφρού. (Chadwick *et al.*, 2006; Karabin *et al.*, 2016 ; Dresel M. *et al.*, 2015).



### 1.3 Ο λυκίσκος και οι ποικιλίες του

Το φάσμα των ποικιλιών λυκίσκου που διατίθενται για ζυθοποιία σήμερα είναι ποικιλόμορφο και εκτεταμένο σε επιλογές σε σχέση με πιο παλιά. Σε πιο πρόσφατα χρόνια, η επιλογή άρχισε αλλάζει καθώς οι «παλαιότερες» ποικιλίες μειώνονται σταδιακά, ενώ οι «νεότερες» ποικιλίες που παρουσιάζουν αυξημένη αντοχή σε ασθένειες, υψηλότερη απόδοση και πιο ποικίλα ποιοτικά χαρακτηριστικά, χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο.

Οι ποικιλίες λυκίσκου έχουν ομαδοποιηθεί σε τρεις ευρείες κατηγορίες με κριτήριο την χρήση τους στην μύρα:

- Αρωματικές ποικιλίες, που έχουν λίγα α-οξέα και συνεπώς δεν δίνουν ιδιαίτερη πικρή γεύση, προσδίδουν όμως χαρακτηριστικά αρώματα που προέρχονται από τα αιθέρια έλαια, τα οποία συγκεντρώνονται στην λουπουλόνη. Οι ποικιλίες αυτές μπαίνουν στα τελευταία λεπτά του βρασμού ή και μετά την ολοκλήρωση του βρασίματος του γλεύκους
- Πικρικές ποικιλίες, οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε ά-οξέα τα οποία ισομεριωμένα θα δώσουν υψηλή πικρή γεύση, και χαμηλότερο άρωμα και συνήθως προστίθενται στην αρχή της διαδικασίας του βρασμού για 60' έως 90'.
- Διττής φύσεως ποικιλίες λυκίσκου, μια νέα κατηγορία που έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια και έχει και υψηλά α-οξέα και έντονο αρωματικό χαρακτήρα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάφορα στάδια της ζυθοποίησης και να δώσει διαφορετικά αποτελέσματα κάθε φορά ανάλογα με τον χρόνο και την θερμοκρασία εφαρμογής τους.

Ωστόσο, τελευταία, αυτή η κατηγοριοποίηση έχει γίνει κάπως θολή, καθώς έχουν εισαχθεί πολύ καλές ποικιλίες αρώματος με υψηλότερα επίπεδα α-οξέων, ενώ οι νέες high-alpha ποικιλίες με πολύ αποδεκτά και διακριτικά χαρακτηριστικά αρώματος έχουν επίσης βρει εύνοια στους ζυθοποιούς, ιδίως για το τέλος του βρασμού και για το λεγόμενο dry hopping. Σήμερα, αυτοί οι λυκίσκοι συχνά αναφέρονται ως flavo λυκίσκοι, αφαιρώντας την παραδοσιακή αναφορά στα επίπεδα άλφα οξέων και δίνοντας μια έμφαση στο άρωμα και γεύση που προσδίνουν στο τελικό προϊόν (Stewart *et al*, 2018; Hieronymus, 2012).

Με βάση γενετικούς δείκτες, οι ποικιλίες λυκίσκου μπορούν να διαχωριστούν σε τέσσερις κατηγορίες:

- Λυκίσκος ευρωπαϊκής προέλευσης του Saaz group
- Λυκίσκος ευρωπαϊκής προέλευσης του Fuggle group
- Λυκίσκος αμερικάνικης προέλευσης
- Λυκίσκος μικτής προέλευσης

Νέες ποικιλίες λυκίσκου συντίθενται μέσω διασταύρωσης διαφορετικού γενετικού υλικού με σκοπό την επίτευξη των επιθυμητών χαρακτηριστικών όπως είναι η υψηλή απόδοση, η αντοχή σε ασθένειες και η περιεκτικότητα και σύνθεση των ρητινών και αιθερίων ελαίων. (ATTRA, 2005; Chadwick *et al.*, 2006; Karabin *et al.*, 2016).

Ο λυκίσκος είναι η πιο περίπλοκη και δαπανηρή πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται κατά την ζυθοποίηση. Η χημική του σύνθεση εξαρτάται από γενετικά ελεγχόμενους παράγοντες που ουσιαστικά διακρίνουν τις ποικιλίες λυκίσκου μεταξύ τους, επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες και από τα στάδια επεξεργασίας που περνούν μετά τη συγκομιδή. Οι πτητικές ουσίες του λυκίσκου, γνωστές ως «hop oil», είναι ένα πολύ ετερογενές και πολύπλοκο μείγμα εκατοντάδων ενώσεων. Στατιστικά, το έλαιο λυκίσκου αντιπροσωπεύει 0,5-3,0% (κατά μάζα) του ξηρού βάρους του κώνου του λυκίσκου, στην οποία σχετικά λίγες, αλλά ποιοτικά σημαντικές ενώσεις, οι τερπενικοί υδρογονάνθρακες και τα τερπενοειδή, άμεσα βιοσυντίθενται. Η συντριπτική πλειονότητα των πτητικών είναι είτε υποπροϊόντα του μεταβολισμού των φυτών ή εξελίσσονται από οξειδωτικές δευτερεύουσες αντιδράσεις πτητικών και μη πτητικών προδρόμων μορίων. Ο συνδυασμός της βιοσύνθεσης του τερπενίου και των δευτερογενών αντιδράσεων οδηγεί στο γεγονός ότι η σύνθεση του ελαίου του λυκίσκου εξαρτάται σημαντικά από γενετικούς, γεωγραφικούς και καλλιεργητικούς, αλλά μπορεί επίσης να υποστεί σημαντικές αλλαγές κατά την συγκομιδή, ωρίμανση, την επεξεργασία και, τέλος, την αποθήκευση του. Οι δευτερεύουσες αντιδράσεις, όπως η οξείδωση και η υδρόλυση, συνεχίζονται καθ' όλη τη διαδικασία ζυθοποίησης. Ως αποτέλεσμα, μόνο λίγα αρωματικά που προέρχονται αρχικά από τον λυκίσκο επιβιώνουν αναλλοίωτα από τη διαδικασία παρασκευής ζύθου στην αρχική τους κατάσταση (Rettberg *et al.*, 2018; Stewart *et al.*, 2018; Hieronymus, 2012).

## 1.4 Κατηγοριοποίηση και Διαχωρισμός των συστατικών

Το χαρακτηριστικό άρωμα και η πικρή γεύση που εμπλουτίζουν το ζύθο λόγω της προσθήκης του λυκίσκου, αποδίδονται από τους κίτρινους λουπουλινικούς αδένες του φυτού οι οποίοι εκκρίνουν τις ρητίνες (α και β οξέα) και τα αιθέρια έλαια του φυτού. Επίσης, οι θηλυκοί κώνοι λυκίσκου περιέχουν ένα μεγάλο φάσμα πολυφαινολικών συστατικών όπως τα φαινολικά οξέα, οι προανθοκυανιδίνες και οι πρενυλιωμένες χαλκόνες τα οποία παράγονται επίσης στους λουπουλινικούς αδένες ( Oladokun *et al*, 2017; Stewart *et al*,2018).

Τα αιθέρια έλαια του λυκίσκου επηρεάζουν έντονα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της μύρας. Ωστόσο, αυτές οι ενώσεις δεν μεταφέρονται απευθείας στα προϊόντα μύρας με την ίδια σύσταση που υπάρχουν στον ακατέργαστο λυκίσκο. Αυτό σημαίνει ότι όταν οι ενώσεις του λυκίσκου περνούν από τα διαφορά στάδια επεξεργασίας της μύρας, με θερμική αντίδραση ή με βιομετασχηματισμό με μαγιά, μπορούν να συμβούν διάφορες χημικές μετατροπές, όπως οξείδωση / αναγωγή, ισομερισμός υδρόλυσης, ανταλλαγή εστέρων και άλλα ,οι οποίες οδηγούν τις ουσίες αυτές στο να αλλάξουν τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες. Παρόλο που τα τερπένια και τα οξέα στο αρχικό προϊόν του λυκίσκου είναι άοσμα ή παρουσιάζουν χαμηλή επίδραση στο άρωμα μύρας, αυτές οι ενώσεις μέσω αυτων των χημικών αλλαγών που προκύπτουν εμφανίζουν μεγαλύτερη επίδραση στην τελική μύρα. Το άρωμα λυκίσκου στην μύρα θεωρείται ότι αποτελείται από περισσότερες από 100 ενώσεις και μερικές από αυτές τις ενώσεις περιέχονται σε συγκέντρωση μικρότερη από το κατώτατο όριο αντίληψης του ανθρώπου. Ωστόσο, αυτές οι ενώσεις μπορεί να εμφανίζουν επίδραση στο άρωμα ή τη γεύση της μύρας όχι μόνη της η κάθε μια ξεχωριστά αλλά μέσω της αλληλεπίδρασης και συνύπαρξης τους με τις άλλες ενώσεις στα προϊόντα της μύρας (Inui T. *et al*, 2013; Oladokun *et al*, 2017; Kishimoto *et al*, 2006 ).

### 1.4.1 Οξέα

Τα πικρά οξέα του λυκίσκου είναι παράγωγα της φλωρογλυκινόλης και ταξινομούνται ως α- και β- οξέα. Και οι δυο κατηγορίες περιέχουν μια 3-,4-,5-, ή 6- καρβοξυ-αλκυλο πλευρική αλυσίδα και τα β- οξέα διαφέρουν από τα α- κατά μία περισσότερη ομάδα πρενυλίου.

Τα α-πικρά οξέα, είναι το πιο σημαντικό κλάσμα των ρητινών λυκίσκου. Εκκρίνονται με τη μορφή κίτρινης σκόνης και αποτελούν μείγμα 6 ουσιών, ανάλογων της χουμουλόνης (humulone). Έτσι, σε όλες τις ποικιλίες λυκίσκου, βρίσκουμε α-οξέα τα οποία αναγνωρίζονται ως τα εξής:

- Χουμουλόνη (Humulone), σε ποσοστό 35-70% των ολικών α-οξέων
- Συνχουμουλόνη (Cohumulone), σε ποσοστό 20-55% των ολικών α-οξέων
- Αντχουμουλόνη (Adhumulone), σε ποσοστό 10-15% των ολικών α-οξέων

Άλλες ουσίες που αναγνωρίζονται σε μικρές ποσότητες και ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι η Ποστχουμουλόνη (Post-humulone), Πρεχουμουλόνη (Pre-Humulone) και Αντπρεχουμουλόνη (Ad-pre-humulone).

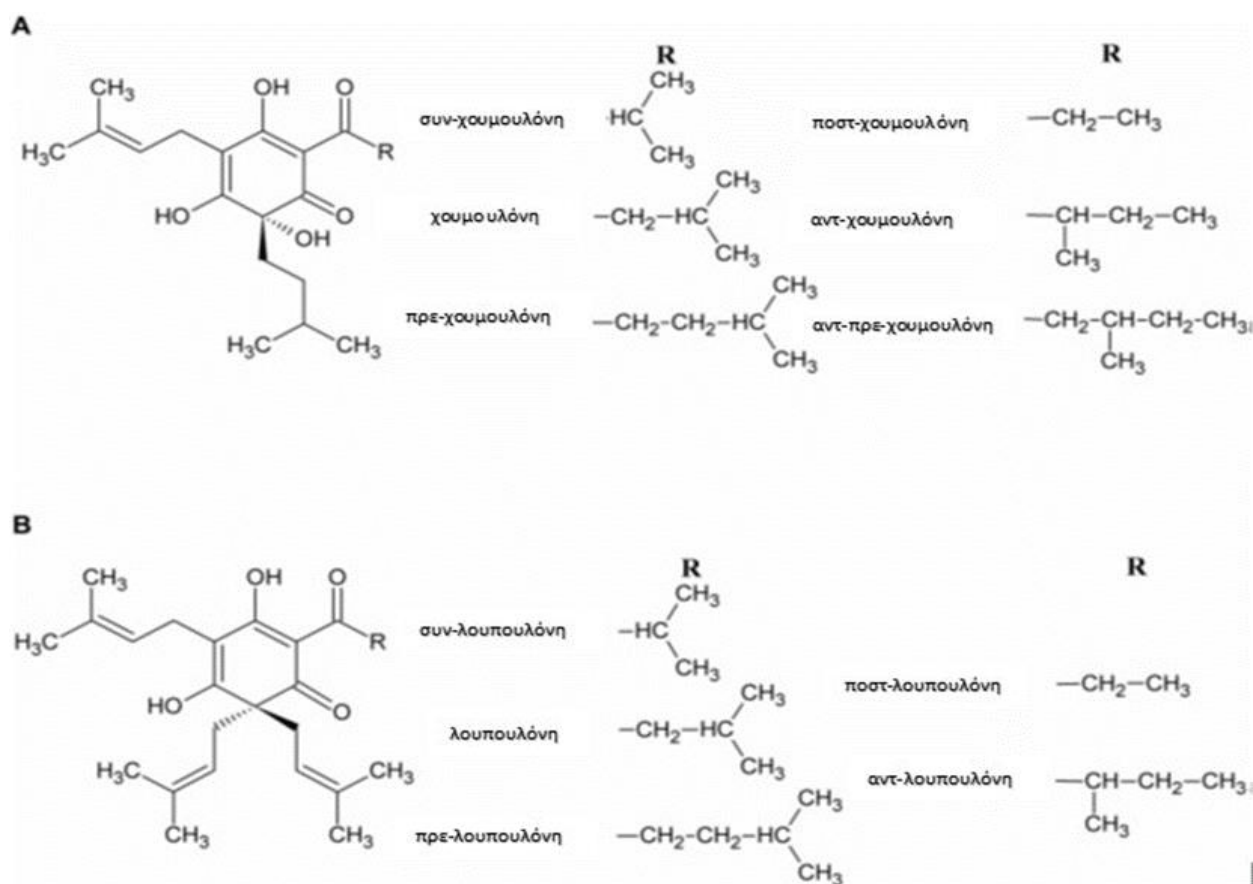
Κατά τη θερμική επεξεργασία (100 με 130 °C) η οποία εφαρμόζεται στην πρώτη ύλη κατά τη διαδικασία της ζυθοποίησης και σε συνδυασμό με την μετάβαση του pH στο εύρος 8-10, τα πικρά α-οξέα ισομεριώνονται προς ισο-α-πικρά οξέα. Στη βιομηχανία θεωρείται πως η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα κατά το βρασμό του λυκίσκου στους 100°C με ταυτόχρονη εφαρμογή ατμοσφαιρικής πίεσης για 90 λεπτά. Ωστόσο, μελέτες αναφέρουν πως σε αυτό το στάδιο η μετατροπή γίνεται μόλις κατά 50% (Stewart *et al*, 2018; Karabin *et al.*, 2016).

Ομοίως με τα α-πικρά οξέα, στα β-πικρά οξέα εντοπίζονται και πάλι ανάλογες ενώσεις. Έτσι βρίσκουμε τις παρακάτω:

- Λουπουλόνη (Lupulone), σε ποσοστό 30-55% των ολικών β-οξέων
- Κολουπουλόνη (Colupulone), σε ποσοστό 20-55% των ολικών β-οξέων
- Αντλουπουλόνη (Adlupulone), σε ποσοστό 5-10% των ολικών β-οξέων

Συμπληρωματικά βρίσκουμε Πρελουπουλόνη (Pre-lupulone) και Ποστλουπουλόνη (Post-lupulone).

Οι παραπάνω ενώσεις, ως μη διαλυτές στο νερό έχουν μικρή σημασία στη ζυθοποίηση. Ωστόσο, λόγω των βιολογικών δράσεων τους, μελετώνται εκτενώς για πιθανές βιοϊατρικές εφαρμογές. Σε εμπορικό επίπεδο ωστόσο, τα α- και β- οξέα στο σύνολό τους επιδρούν καθοριστικά στα τελικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ζύθου (πικράδα, άρωμα, γεύση, υφή αφρού) ενώ συνηθίζεται η αναγραφή του ποσοστού αυτών, επί τοις εκατό, του βάρους ξηράς δρόγης ή συμπυκνωμένου εκχυλίσματος καθώς επίσης και η περιεκτικότητα σε συνχουμουλόνη, ως ποσοστό των ολικών α-οξέων. (Karabin *et al.*, 2016; Lafontain & Shellhamer, 2018) .



Εικόνα 2. Χημικές δομές των πικρικών οξέων του λυκίσκου: (A) α-πικρικά οξέα και (B) β-πικρικά οξέα (Karabin *et al.*, 2016)

### 1.4.2 Αιθέρια Έλαια

Τα αιθέρια έλαια του λυκίσκου αποτελούν μια ομάδα εκατοντάδων ουσιών με διαφορετικές φυσικοχημικές, βιολογικές και οργανοληπτικές ιδιότητες. Οι ουσίες αυτές εκκρίνονται επίσης από τους λουπουλονικούς αδένες, μαζί με τα πικρά οξέα, όταν η βιοσύνθεση εκείνων ολοκληρωθεί.

Τα έλαια του λυκίσκου κατηγοριοποιούνται σε τρία βασικά κλάσματα :

1. Υδρογονάνθρακες, οι οποίοι περιλαμβάνουν τα μονοτερπένια, σέσκιτερπένια και τους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες,
2. Οξυγονωμένες ενώσεις, οι οποίες σχηματίζονται κατά βάση κατά την ωρίμαση, επεξεργασία και αποθήκευση των κώνων και περιλαμβάνουν τις τερπεν-αλκοόλες, αλδεΐδες, οξέα, κετόνες, εστέρες και άλλα οξυγονωμένα συστατικά, και
3. Ενώσεις που περιέχουν την σουλφο-ομάδα, όπως οι θειοεστέρες, τα σουλφίδια και άλλες σουλφο-ενώσεις.

Οι ενώσεις της πρώτης ομάδας (υδρογονάνθρακες, 50-80% του ολικού ελαίου), οι οποίες εντοπίζονται κατά μέσο όρο, συχνότερα στο αιθέριο έλαιο του λυκίσκου είναι τα μονοτερπένια α- και β- πινένιο, μυρκένιο και λιμονένιο όπως επίσης και τα σέσκιτερπένια, α-χουμουλένιο, β-φαρνεσένιο και β-καρνοφυλλένιο.

Από το δεύτερο κλάσμα του ελαίου (οξυγονωμένες ενώσεις, 30% του ολικού ελαίου), συναντούμε συχνότερα τις ενώσεις: λιναλοόλη, οξειδίο του καρνοφυλλενίου και φαρνεσόλη ενώ το τρίτο κλάσμα (ενώσεις με σουλφο-ομάδα) συμμετέχει σε ποσοστό μικρότερο του 1% του ολικού ελαίου με ενώσεις οι οποίες δεν φαίνεται να αντιστοιχίζονται βιβλιογραφικά με κάποιον ιδιαίτερο δραστικό χαρακτήρα (Stewart *et al*, 2018; Karabin *et al.*, 2016).

### 1.4.3 Φαινολικά Συστατικά

Όλοι οι λυκίσκοι περιέχουν ένα σύνθετο μείγμα πολυφαινολικών ουσιών, ένα ποσοστό των οποίων βρίσκεται υπό τη μορφή γλυκοζιτών. Αυτό το πολυφαινολικό περιεχόμενο είναι τυπικά σε ποσότητα επαρκή για να είναι σημαντική η σταθερότητα της μπύρας και μερικές φορές επίσης συμβάλει σε μικρό βαθμό στην γεύση της μπύρας, συνεισφέροντας στον βαθμό στυπτικότητας, πικράδας και σώματος στην μπύρα. Πράγματι, παρά την πολύ μικρή ποσότητα του λυκίσκου που χρησιμοποιείται στη διαδικασία ζυθοποιίας σε σύγκριση με εκείνη του κύριου συστατικού, της βύνης, ο λυκίσκος μπορεί να είναι υπεύθυνος για περίπου το 50% του πολυφαινολικού περιεχομένου της μπύρας. Στο λυκίσκο οι πολυφαινόλες εντοπίζονται κυρίως στα πέταλα του λυκίσκου. Έτσι, η ζυθοποιία που χρησιμοποιεί χαμηλό σε άλφα οξέα λυκίσκο αρωμάτων που προστίθεται στον βρασμό τείνει να προσθέσει περισσότερα πολυφαινολικά συστατικά στον γλεύκος, από τον ζυθοποιό που χρησιμοποιεί τις νέες ποικιλίες υψηλής συγκέντρωσής σε άλφα οξέα (Stewart *et al*, 2018; Karabin *et al.*, 2016).

Τα φαινολικά συστατικά του λυκίσκου αποτελούν μια ακόμη μεγάλη ομάδα βιολογικά ενεργών δραστικών συστατικών και καταλαμβάνουν το 3-6% του ξηρού βάρους των κώνων λυκίσκου. Η πλειοψηφία των πολυφαινολών εντοπίζεται στο φύλλο του μίσχου του άνθους, με την εξαίρεση των πρενυλ-φλαβονοειδών τα οποία εκκρίνονται από τους λουπουλονικούς αδένες μαζί με τα πικρά οξέα και τα αιθέρια έλαια.

Η ομάδα αυτή μπορεί να διαχωριστεί σε 4 υποομάδες: φλαβονόλες, φλαβον-3-όλες, φαινολικά καρβοξυλικά οξέα (παράγωγα του βενζοϊκού και κινναμικού οξέος) και άλλες φαινολικές ενώσεις (πρενυλιωμένα φλαβονοειδή, στυλβενοειδή κλπ). Αναλυτικά οι σημαντικότερες ενώσεις που συναντώνται από την κάθε ομάδα, είναι αντίστοιχα οι παρακάτω:

1. **Φλαβονόλες:** κερκετίνη, καμφερόλη, μυρικετίνη (εμφανίζονται κυρίως τα γλυκοζίδια αυτών, με την D-γλυκόζη και L-ραμνόζη να είναι οι πιο συχνά εμφανιζόμενες ομάδες σακχάρων)
2. **Φλαβαν-3-όλες:** κατεχίνη, γαλλική κατεχίνη και επιγαλλοκατεχίνη, μονομερή τα οποία δύνανται να σχηματίσουν διμερή, τριμερή και ολιγομερή (έως 20 μονομερικές μονάδες), ενώσεις γνωστές και ως προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες.

**3. Πολυφαινολικά Οξέα:** γαλλικό οξύ, πρωτοκατεχουϊκό οξύ, 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ, βανιλλικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ και σιναπικό οξύ. Η ομάδα αυτή αποτελείται από μονές αρωματικές πολυφαινόλες, υποκατεστημένες με υδροξυλ- και μεθοξυλ- ομάδες.

**4. Άλλα φαινολικά συστατικά:** οι σημαντικότερες ενώσεις που απαντώνται σε αυτή την κατηγορία είναι τα πρενυλιωμένα φλαβονοειδή από τα οποία συχνότερα συναντάμε την ξανθοχουμόλη, ίσο-ξανθοχουμόλη, δεσμέθυλοξανθοχουμόλη, 6 και 8 πρενυλ-ναρινγενίνη (Chadwick *et al.*, 2006, Viejo *et al.*, 2019).

Παρά το γεγονός ότι τα δραστικά συστατικά στην πλειοψηφία τους ανιχνεύονται στους θηλυκούς κώνους του λυκίσκου με συνέπεια εκείνοι να αποτελούν και την βασική πρώτη ύλη στην έρευνα της σύστασης του είδους, στην περίπτωση των φαινολικών συστατικών υπάρχουν κάποια επιπλέον δεδομένα. Πιο συγκεκριμένα, σε αντίστοιχη μελέτη του 2013 από τους Urgeonά E. και συνεργάτες, αποδεικνύεται πως όχι μόνο οι θηλυκοί κώνοι του φυτού σε περίοδο ανθοφορίας (Σεπτέμβρης), αλλά και το μείγμα αρσενικών με θηλυκά φύλλα αυτού κατά την πρώτη περίοδο του θερισμού (Απρίλιος), εμφανίζουν υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών συστατικών σε επίπεδο μάλιστα συγκρίσιμο με εκείνο των ώριμων ανθών του λυκίσκου (Stewart *et al.*, 2018; Karabin *et al.*, 2016). Η παρουσία των φαινολικών συστατικών στο λυκίσκο συμβάλλει στην τελική περιεκτικότητα του παραγόμενου ζύθου σε αυτά τα συστατικά κατά 20-30%, συμπληρωματικά της βύνης (70-80%), ποσοστό αρκετά σημαντικό για την αναλογία προσθήκης του στην διαδικασία της ζυθοποίησης. (Mudura & Coldea, 2015).



## 1.5 Προϊόντα λυκίσκου

Τα προϊόντα λυκίσκου υπάρχουν εδώ και πολλά χρόνια, με τις πρώτες προσπάθειες εκχύλισης λυκίσκου να χρονολογούνται από τα μέσα του 19ου αιώνα. Η ανάπτυξη προϊόντων λυκίσκου φαίνεται να είναι παράλληλη με την αυξημένη κατανόηση της χημείας του φυτού του λυκίσκου και την εισαγωγή νέων, καλύτερων αναλυτικών τεχνικών για τον ποσοτικό προσδιορισμό τους. Τα προϊόντα επεξεργάζονται από την αρχική τους μορφή ως άνθη για τους τρεις λόγους, για μείωση του όγκου που καταλαμβάνουν, για αύξηση της σταθερότητας τους φυσικοχημικά και για αύξηση της αποτελεσματικότητάς τους όταν προστεθούν στο τελικό προϊόν.

Ολόκληρος ο λυκίσκος συνήθως συμπιέζεται σε μεγάλα ορθογώνια δέματα, τα οποία συνήθως μπορούν να ζυγίσουν μεταξύ 50 και 100 κιλών, με πυκνότητα ανά δέμα από 100 έως 150 kg / m<sup>3</sup>. Ως αποτέλεσμα της επεξεργασίας, το κόστος αποθήκευσης και μεταφοράς του φορτίου μειώνεται, με τον χειρισμό του να γίνεται ασφαλέστερος και ευκολότερος. Περαιτέρω μειώσεις κόστους που σχετίζονται με τον όγκο μπορούν να επιτευχθούν μέσω της χρήσης προϊσομερισμένων προϊόντων. Οι ρητίνες λυκίσκου και τα έλαια που υπάρχουν σε ολόκληρο το λυκίσκο είναι ευαίσθητα στην οξείδωση, αν και οι απώλειες των βασικών συστατικών μπορούν να μειωθούν με αποθήκευση σε ψυχρές συνθήκες (Hieronymus, 2012; Stewart *et al*, 2018; Karabin *et al*, 2016).

Η επεξεργασία λυκίσκου σε προϊόντα συνήθως περικλείει το προϊόν σε αεροστεγείς συσκευασίες που κανονικά εκκενώνονται μετά την πλήρωση ή γεμίζουν με αδρανές αέριο πριν από τη σφράγιση τους. Έχει αποδειχθεί ότι σε μορφή δεματοποιημένου χυμά λυκίσκου ορισμένες ποικιλίες μπορούν να χάσουν ένα μεγάλο μέρος (έως περίπου 75%) της αρχικής τους περιεκτικότητας σε α-οξέα όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος για 12 μήνες. Συγκριτικά, τα pellets και τα εκχυλίσματα λυκίσκου μπορεί να χάσουν μόνο 10% έως 20%, όταν αποθηκεύονται στην ίδια θερμοκρασία κατά την ίδια περίοδο. Αυτές οι απώλειες μπορούν ουσιαστικά να μειωθούν περαιτέρω (στο ένα τρίτο περίπου αυτών των τιμών) με αποθήκευση σε θερμοκρασίες ψύξης (Stewart *et al*, 2018).

Η χρήση α-οξέων από λυκίσκο που δεν έχει υποστεί επεξεργασία που προστίθενται κατά την ζυθοποίηση μέχρι την τελική μπύρα είναι γενικά χαμηλή και συνήθως κυμαίνεται από 25% έως 35% για το λυκίσκο που προστίθεται στην αρχή του βρασμού του γλευκού. Η προσθήκη σε

δευτερο χρονο αρωματικων ποικιλιων λυκίσκου θα μειώσει περαιτέρω αυτή την αποτελεσματικότητα των α-οξέων του λυκίσκου, με αποτέλεσμα το υψηλότερο κόστος. Η κακή απόδοση μέσα στο δοχείο βρασμού οφείλεται στη σχετικά μη ευκολη προσβασιμότητα των α-οξέων στους αδένες της λουπουλίνης, στην χαμηλή διαλυτότητά τους και στην ανεπαρκή μετατροπή σε ισο-α-οξέα που οφείλεται στο χαμηλό pH του γλευκου και στην απορρόφηση τόσο των α- όσο και των ισο- α-οξέα στην επιφάνεια των καταβυθισμένων κυττάρων λασπης και ζύμης. Τα προϊόντα λυκίσκου βελτιώνουν γενικά την αποδοση αυτή σε μεγαλο βαθμο και, στην περίπτωση των προϊσομερισμένων προϊόντων, απαιτείται μόνο να διαλυθούν τα ισο-α-οξέα στο γλευκος ή στην μύρα (Stewart *et al*, 2018).

### 1.5.2 Πέλλετ λυκίσκου

Ο λυκίσκος χρησιμοποιείται στη διαδικασία της ζυθοποίησης με τη μορφή προϊόντων του φυτικού υλικού και με συνηθέστερες εκείνες του πέλλετ και του εκχυλίσματος. Όπως έχει αναφερθεί το τμήμα του φυτού που χρησιμοποιείται ως αρωματική ύλη για τον παραγόμενο ζύθο είναι ο θηλυκός κώνος. Σε αυτόν απαντώνται οι κίτρινοι λουπουλινικοί αδένες, οι οποίοι αντιστοιχούν στον ενδοκρινή παράγοντα όπου παράγονται οι σκληρές και μαλακές ρητίνες όπως επίσης και το αιθέριο έλαιο. Η μαλακές ρητίνες (υψηλό περιεχόμενο σε α και β οξέα) είναι εκείνες που προσδίδουν στο ζύθο την χαρακτηριστική πικρή γεύση ενώ το έλαιο (φαινολικά συστατικά) αποδίδει το άρωμα και τη γεύση του λυκίσκου.

Τα πέλλετ παράγονται με την κονιορτοποίηση των αποξηραμένων κώνων και συμπύεση του θρυμματισμένου υλικού προς σχηματισμό μικρών κυλινδρικών δισκίων. Τα πέλλετ τύπου P90 και τα εμπλουτισμένα πέλλετ τύπου P45, όπου η διαφορά τους είναι ότι λόγω αφαίρεσης τμήματος του φυτικού μέρους, η περιεκτικότητά τους σε α-οξέα είναι υψηλότερη. Οι μαλακές ρητίνες μπορούν να διαλυτοποιηθούν σε διαφορετικούς διαλύτες όπως η αιθανόλη και το διοξείδιο του άνθρακα με σκοπό την απόκτηση διαλύματος υψηλής περιεκτικότητας σε α, β-οξέα και άλλες ρητίνες. Από τη άλλη, οι πολυφαινόλες του λυκίσκου, βρίσκονται κατά βάση στα φύλλα του κώνου και έχουν υδατοδιαλυτές ιδιότητες. Τα πέλλετ P45, παράγονται μέσω διαχωρισμού των φύλλων από την λουπουλίνη. Αποτέλεσμα αυτού είναι η απώλεια του μεγαλύτερου μέρους της λουπουλίνης. Η ανάκτηση των δραστικών ουσιών γίνεται μέσω του εμπλουτισμού τους με ξανθοχουμόλη, η οποία είναι το βασικότερο πρενυλιωμένο φλαβονοειδές που συναντάται στους

λουπουλινικούς αδένες του φυτού και είναι διαλυτό σε αιθανόλη. (Mudura & Coldea, 2015; Hieronymus, 2012; Karabin *et al*, 2016).

### 1.5.3. Εκχυλίσματα

Οι προσπάθειες εκχύλισης και εξαγωγής των αιθέριων ελαίων του λυκίσκου σε εμπορική βάση χρονολογούνται από τα μέσα του 19ου αιώνα και κατά τα επόμενα χρόνια δοκιμάστηκαν διάφοροι οργανικοί διαλύτες για την εκχύλιση τους, όπως πετρελαϊκός αιθέρας, μεθανόλη, αιθανόλη, βενζόλιο, εξάνιο, διχλωρομεθάνιο και τελικά CO<sub>2</sub> σε υγρή ή υπερκρίσιμη μορφή (supercritical form). Σήμερα, αν και το εξάνιο χρησιμοποιείται ακόμη για την εξαγωγή άλλων τροφίμων, η εξαγωγή λυκίσκου περιορίζεται σχεδόν αποκλειστικά στη χρήση CO<sub>2</sub> και, σε πολύ μικρότερο βαθμό, της αιθανόλης. Μαζί, αυτά τα εκχυλίσματα σήμερα αντιπροσωπεύουν περίπου το 30% της χρήσης λυκίσκου στην παγκόσμια αγορά (Stewart *et al*, 2018).

#### 1.5.3.1 CO<sub>2</sub> Εκχύλισμα

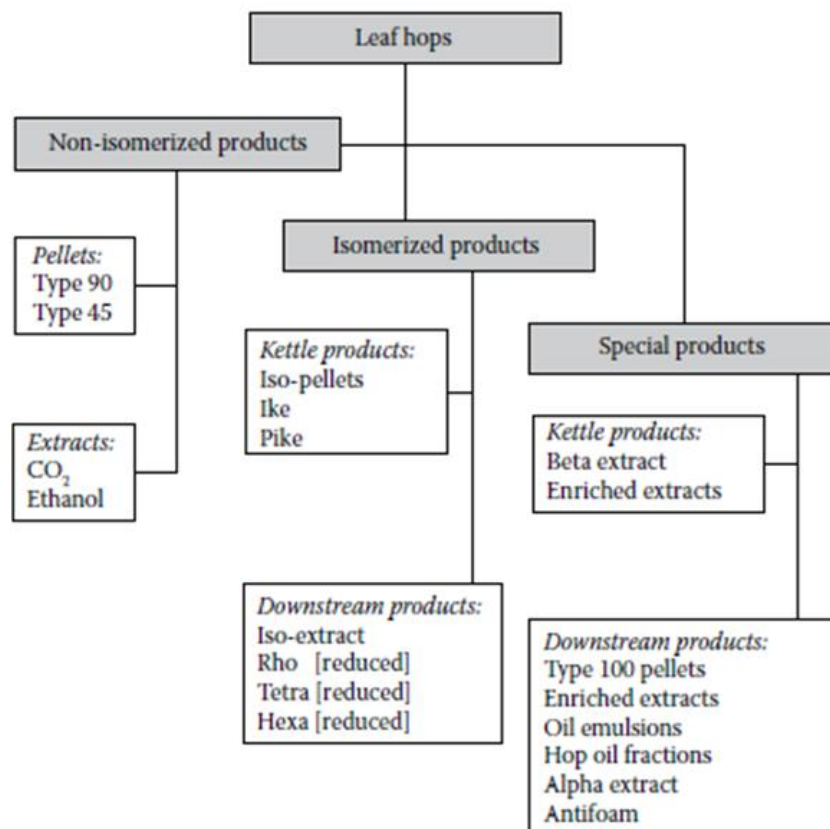
Η εκχύλιση με συμπιεσμένο CO<sub>2</sub> εφαρμόζεται στον λυκίσκο για την εξαγωγή ρητινών και ελαίων, οι κώνοι λυκίσκου επεξεργάζονται αρχικά σε σφαιρίδια (διαμέτρου περίπου 3 έως 4 mm). Εάν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν σχετικά υψηλές θερμοκρασίες εκχύλισης και πίεσεως, τότε τα σφαιρίδια εκχυλίζονται απευθείας ως έχουν, ενώ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες και πιέσεις αλέθονται πρώτα σε χονδρόκοκκη σκόνη και μετα φορτώνονται προς επεξεργασία από μια σειρά από δοχεία πίεσης (εκχυλιστές). Το υγρό CO<sub>2</sub> συμπιέζεται και θερμαίνεται ή ψύχεται όπως απαιτείται για την επίτευξη της επιθυμητής πίεσης και θερμοκρασίας πριν αντληθεί μέσω του στρώματος του λυκίσκου στα μηχανήματα αυτά. Οι ρητίνες λυκίσκου και τα λάδια διαλύονται στο CO<sub>2</sub>, το οποίο διέρχεται συνεχώς μέσω του εκχυλιστή μέχρι όλα αυτά τα συστατικά να αφαιρεθούν. Το διαλυμένο υλικό στη συνέχεια διαχωρίζεται από το CO<sub>2</sub> μειώνοντας την πίεση και περνώντας το μείγμα υγρού και αερίου μέσω ενός εξατμιστή, συνήθως σε θερμοκρασία 45°C έως 50°C. Το εκχύλισμα συλλέγεται σε δοχείο διαχωρισμού και το αέριο CO<sub>2</sub> συμπυκνώνεται, υγροποιείται και επιστρέφεται σε μια δεξαμενή όπου αποθηκεύεται, έτοιμο για επαναχρησιμοποίηση. Η χρήση CO<sub>2</sub> σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (περίπου -10 °C) και πιέσεις αναφέρεται γενικά ως εκχύλιση υγρού CO<sub>2</sub> και, υπό αυτές τις συνθήκες, το CO<sub>2</sub> δρα

ως μη πολικός διαλύτης. Ωστόσο, η πολικότητά του μπορεί να αυξηθεί αυξάνοντας την πίεση και τη θερμοκρασία πάνω από το κρίσιμο σημείο του (74 bar και 31°C), όπου οι φάσεις του ατμού και του υγρού συμπίπτουν. Πάνω από το κρίσιμο σημείο, το CO<sub>2</sub> γίνεται υπερκρίσιμο ρευστό και η διαλυτική του ισχύ αυξάνεται προοδευτικά σε συνάρτηση με την αύξηση της πίεσης και της θερμοκρασίας, με αποτέλεσμα την εξαγωγή-εκχύλιση ορισμένων πολικών προϊόντων και σκληρών ρητινών του λυκίσκου. Δεδομένου ότι η συνολική απόδοση των συστατικών του λυκίσκου είναι συνήθως μεγαλύτερη όταν χρησιμοποιείται υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub>, αυτή είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη επιλογή από εμπορικά εργοστάσια που παράγουν εκχυλίσματα λυκίσκου (Stewart *et al*, 2018).

### 1.5.3.2 Εκχύλιση αιθανόλης

Η εκχύλιση με αιθανόλη είναι μια συνεχής διαδικασία, υψηλής χωρητικότητας, με χαμηλότερο κεφάλαιο και λειτουργικό κόστος από την εκχύλιση CO<sub>2</sub>. Η απόδοση α-οξέων από κώνο λυκίσκου στο εκχύλιμα αυτό κυμαίνεται κανονικά από 94% έως 95%. Κατά την εκχύλιση αιθανόλης, πραγματοποιούνται ορισμένες αλλαγές στα συστατικά του λυκίσκου όπως:

- Ισομερισμός μικρών ποσοτήτων α-οξέων σε ισο-α-οξέα (λιγότερο από 2,0%)
- Σχηματισμός μικρών ποσοτήτων προϊόντων πολικής αποδόμησης α-οξέων
- Απομάκρυνση ορισμένων πτητικών συστατικών (αιθέρια έλαια) του λυκίσκου και χημική τροποποίηση μικρής ποσότητας άλλων ελαιοειδών ενώσεων (Stewart *et al*, 2018).



Εικόνα 3. Τα προϊόντα του λυκίσκου (Handbook of brewing, 2018)

## 1.6 Ποικιλίες που μελετήθηκαν

Η επιλογή των ποικιλιών λυκίσκου που θα μελετηθούν έγινε βάση εμπορικών κριτηρίων αλλά και βάση του περιεχομένου τους σε  $\alpha$ -οξέα. Επιλέξαμε τρεις ποικιλίες από την Αμερική, όλες με μεγάλη εμπορική σημασία όπως θα αναλυθεί και παρακάτω. Οι τρεις αυτές ποικιλίες καταλαμβάνουν τις πρώτες θέσεις καλλιέργειας στην Αμερική σε ετήσια βάση αλλά και σε ζήτηση στην παγκόσμια αγορά. Τέλος και οι τρεις ποικιλίες θεωρούνται διττής φύσεως, δηλαδή χρησιμοποιούνται και για αρωματισμό αλλά και για να προσδώσουν πικράδα στην μπύρα, το οποίο τις κάνει κατάλληλες ποικιλίες ώστε να χρησιμοποιούνται ως μονοποικιλιακές σε μια μπύρα και να μπορούν να προσδώσουν μια ολοκληρωμένη γεύση σε αυτήν.

Τα πτητικά αρώματα που αναδύονται από τον λυκίσκο, θυμίζουν το άρωμα λουλουδιών, φρούτων, ξύλου, βοτάνων και μπαχαρικών τα οποία προκύπτουν από τις κυρίαρχες ομάδες ενώσεων του, τις αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, τερπένια, καρβοξυλικά οξέα και κετόνες. Η περιεκτικότητα του κάθε λυκίσκου στις ενώσεις αυτές είναι η παράμετρος εκείνη η οποία καθορίζει τελικά γευστικά και αρωματικά, τη χροιά που προσδίδει το φυτικό αυτό προϊόν στον τελικό ζύθο. Έτσι, οι εστέρες και κετόνες αποδίδουν τα φρουτώδη αρώματα, οι αλκοόλες τα αρώματα που θυμίζουν άνθη και τα τερπένια εκείνα που ομοιάζουν την οσμή μπαχαρικών, βοτάνων και ξύλου. (Salanta *et al*, 2015).

Ανάμεσα στις ενώσεις που αναμένονται στα δείγματα λυκίσκου που θα αναλύσουμε παρακάτω είναι το  $\alpha$ -χουμουλένιο,  $\beta$ -καρυοφυλλένιο και  $\beta$ -φαρνεσένιο, καθώς η παρουσία αυτών συνδέεται με την πιο χαρακτηριστική οσμή λυκίσκου, ενώ συγκεκριμένα αναφέρεται το άρωμα που αποδίδει το  $\beta$ -φαρνεσένιο ως ρητινώδες, πράσινο, που μοιάζει με το άρωμα του βαλσάμικο και του φρέσκου λυκίσκου (Ligor *et al.*, 2014).

Σε μελέτη που έγινε από τους Lafontaine και Shellhammer το 2018 σε διάφορες ποικιλίες λυκίσκου μεταξύ των οποίων ήταν και ο Chinook, οι κυριότερες αρωματικές ενώσεις που εντοπίστηκαν σε αυτήν την ποικιλία ήταν οι ακόλουθες: b-Myrcene, b-Caryophyllene, a-Humulene, b-Farnesene, Terpinen-4-ol , a-Terpineol, Linalool, Geraniol , Methyl Geranate, Geraniol Acetate και Caryophyllene (Lafontaine S.R. & Shellhammer T.H. , 2018).

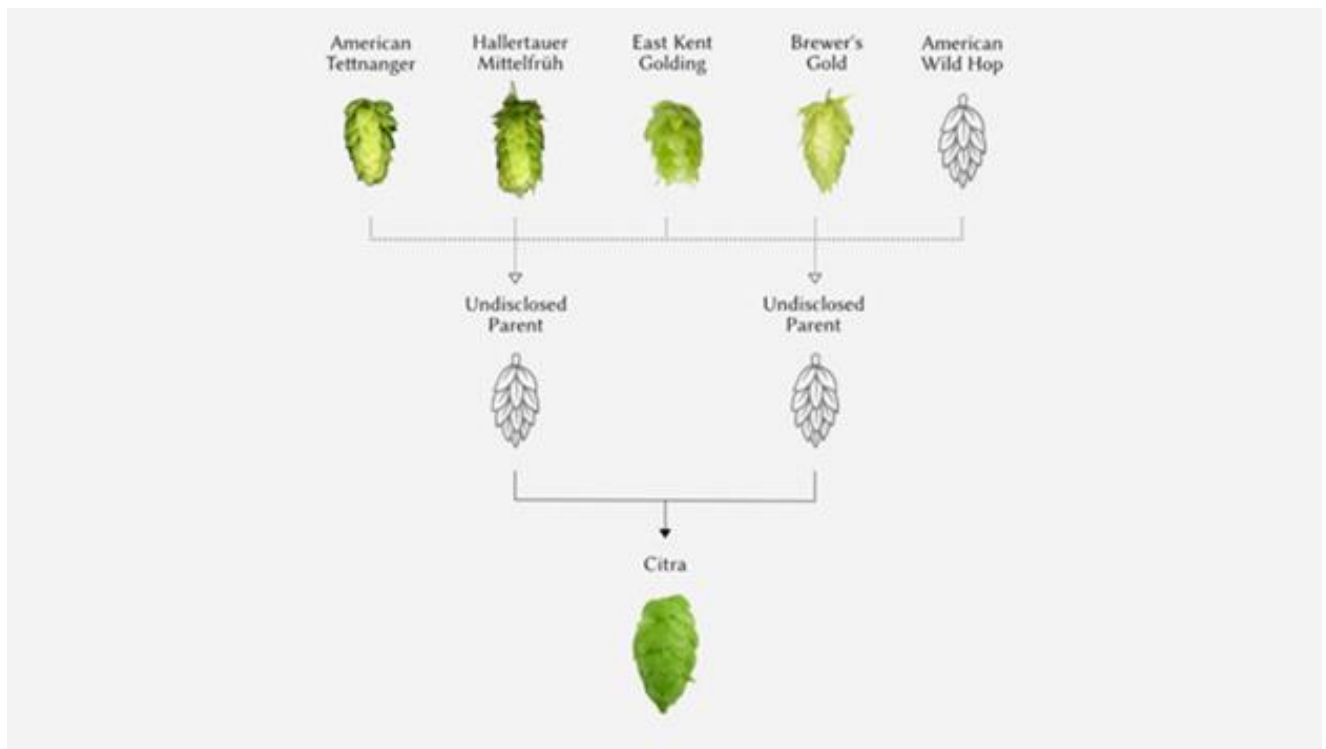
Σε μια αντίστοιχη έρευνα των Probasco G., Perrault J., Varnum S., Hysert D., από το 2017, ταυτοποιήθηκαν για την ποικιλία Mosaic μέσω ανάλυσης των ελαίων της ποικιλίας με GC-MS οι

παρακάτω αρωματικές ενώσεις: Myrcene, Humulene, Caryophyllene,  $\beta$ -Pinene, 3-Methylbutyl isobutyrate, Linalool και Geraniol (Probasco *et al*, 2017).

Για την ποικιλία Citra παρόλο που είναι μια από τις πιο εμπορικές ποικιλίες στον κόσμο δεν βρέθηκε μέχρι στιγμής καμία επιστημονική μελέτη των αρωμάτων της όπως αυτά μπορούν να μετρηθούν με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (GC-MS). Γενικά η επιλογή των παραπάνω τριών ποικιλιών έγινε όχι μόνο λόγω της ζήτησης που έχουν, αλλά και από το γεγονός ότι βιβλιογραφικά δεν έχουν μελετηθεί ακόμα εκτενώς. Παρακάτω αναλύονται τα βασικά φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτών, όπως αναφέρονται σε επιστημονικές δημοσιεύσεις αλλά και ιστοσελίδες εμπορικού ενδιαφέροντος. Τέλος, αναφέρονται και κάποιες επιπλέον πληροφορίες για κάθε μια από τις ποικιλίες αυτές.

### 1.6.1 Citra

Η αμερικάνικη ποικιλία λυκίσκου Citra, αλλιώς γνωστή και ως HBC 394 δημιουργήθηκε από τον John I. Haas, Inc. και την Botanicals Group, εταιρεία αναπαραγωγής λυκίσκου. Κυκλοφόρησε για πρώτη φορά στον κόσμο της ζυθοποιίας το 2008. Τώρα είναι ένας από τους πιο πολυζήτητους λυκίσκους στις ΗΠΑ, ιδιαίτερα μεταξύ των ζυθοποιών craft ζύθων, τόσο για τα ιδιαίτερα αρώματα που προσδίδει, όσο και για τον ελαφρύ πικρικό χαρακτήρα του. Μπορεί να υπερηφανεύεται για την πολύπλοκη γενεαλογία του που περιλαμβάνει τους Hallertau Mittelfrüh, Tettnanger, Brewer 's Gold και East Kent Golding. Ο Citra, ή αλλιώς 114, όπως ορίστηκε εκείνη την εποχή, προήλθε από μια διασταύρωση που κατασκευάστηκε από τους δημιουργούς (breeders) ποικιλιών λυκίσκου Gene Probasco και John I. Haas το 1990. Ένα μονοποικιλιακό φυτό επιλέχθηκε από τον αγρότη Jason Perrault το 1992 και στη συνέχεια επεκτάθηκε σε ένα δοκιμαστικό test plot τεσσάρων φυτών το 1993. Μετά από μια περίοδο αξιολόγησης αρκετών ετών, το test plot αυξήθηκε ξανά σε 21 φυτά το 2003 (Citra Patent) (Hieronymus, 2012; Beer Maverick, 2021).

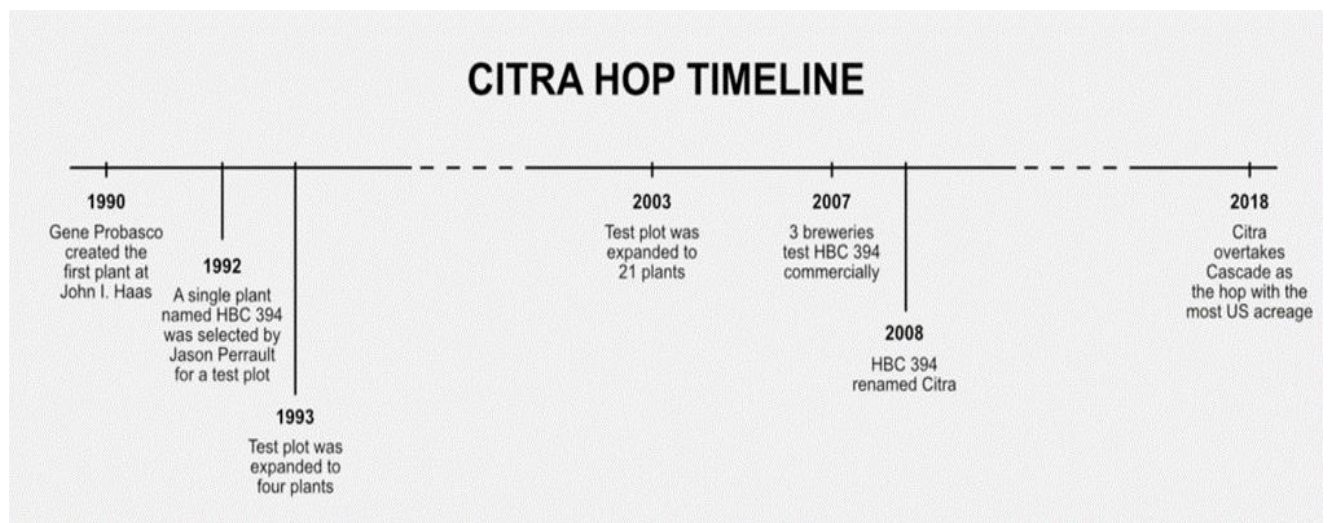


Εικόνα 4. Γενεαλογικό δένδρο της ποικιλίας Citra (πηγή: <https://beermaverick.com/the-complete-history-of-the-citra-hop/>)



Οι Widmer Brothers ήταν οι πρώτοι που χρησιμοποίησαν τον λυκίσκο αυτό όταν δημιούργησαν μια pale ale μπίρα και την εμφάνισαν στο Παγκόσμιο Κύπελλο Μπύρας (World Beer Cup) του 2008. Η νέα μπίρα τους πήρε το χρυσό μετάλλιο και υπογράφηκε γρήγορα ένα συμβόλαιο προμήθειας 5 ετών για τον συγκεκριμένο λυκίσκο.

Την ίδια περίοδο, η ζυθοποιία Sierra Nevada επίσης πειραματιζόταν με το λυκίσκο, τώρα γνωστό ως HBC 394 ή Citra. Μετά από δοκιμές κυκλοφόρησε την Torpedo, την πρώτη εμφιαλωμένη εμπορικά μπίρα που περιείχε το νέο λυκίσκο ως βασικό της συστατικό και αργότερα την χρησιμοποίησαν και στην Imperial I.P.A. (Hortimum). Οι παραπάνω δυο μπύρες ήταν από τις κορυφαίες σε πωλήσεις μέχρι και σήμερα. Μετά τη δοκιμή της νέας ποικιλίας από μεγάλες craft ζυθοποιίες όπως Deschutes, Sierra Nevada και άλλες, η εμπορική χρήση της επεκτάθηκε σημαντικά μέχρι την επίσημη κυκλοφορία της από μεγάλες εταιρίες το 2008 σε εκτεταμένη πλέον κλίμακα και συνεχίζει να είναι μια από τις πιο διαδεδομένες ποικιλίες λυκίσκου μέχρι και σήμερα (Hieronymus, 2012; Beer Maverick, 2021).



Εικόνα 5. Το timeline της ποικιλίας Citra (πηγή: <https://beermaverick.com/the-complete-history-of-the-citra-hop/>)

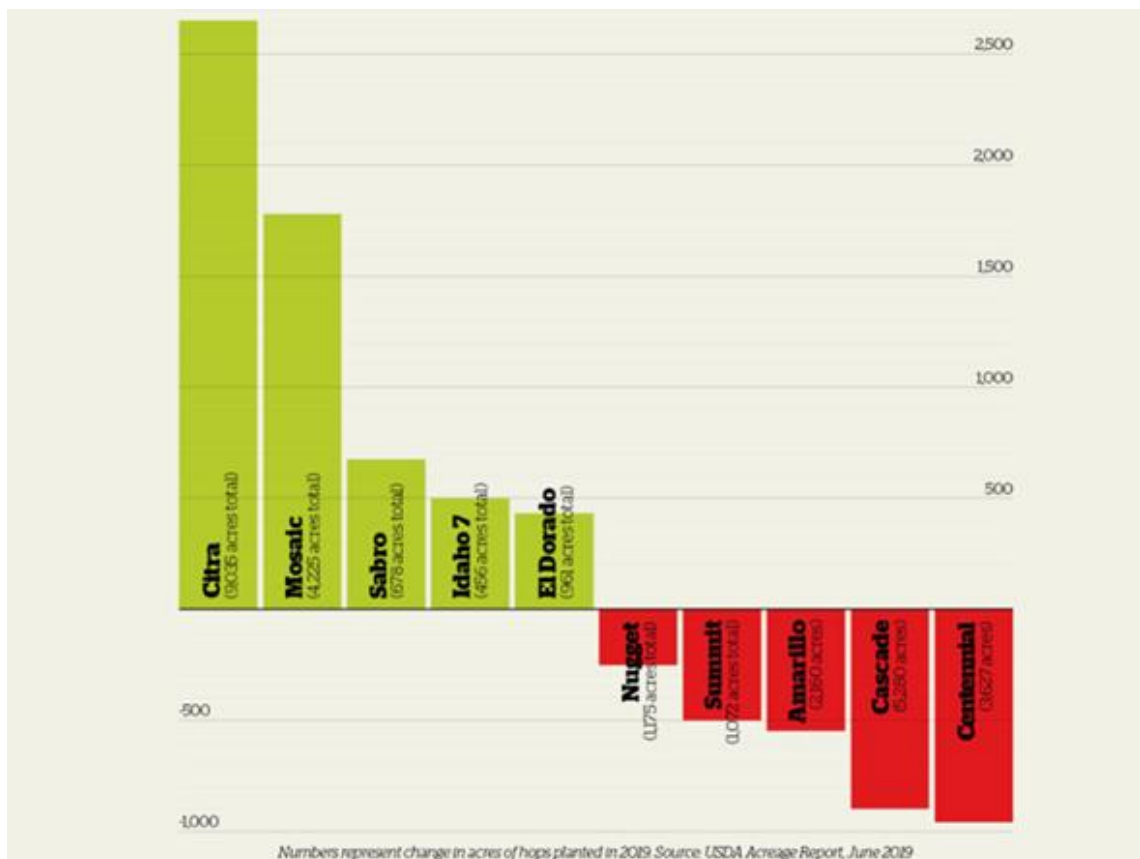
Ο Citra, όπως λέει και το όνομα του, χαρακτηρίζεται από ένα έντονο κιτρικό (citrusy) προφίλ, το οποίο οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην πολύ υψηλή περιεκτικότητά του σε μυρσένιο (myrcene content). Έχει ένα εξαιρετικό προφίλ γεύσεων όπως γκρέιπφρουτ, lime και τροπικά φρούτα. Παρά τις υψηλές συγκεντρώσεις του σε άλφα οξέα (high alphas) και χαμηλή συγκέντρωση σε co-humolone που θεωρητικά την κάνει μια καλή ποικιλία για πικρικό λυκίσκο, οι ζυθοποιοί συχνά προειδοποιούν για τη χρήση του αποκλειστικά ως πικρικού λυκίσκου, γιατί θεωρείται ότι είναι βγάζει μια ανεπιθύμητη έντονη επίγευση (harsh after taste). Ο Citra προσδίδει ένα ευρύ φάσμα εκλεπτυσμένων αρωματικών χαρακτηριστικών, όπως υπέροχα αρώματα και γεύσεις από γκρέιπφρουτ, έντονο πορτοκάλι, μάνγκο, λίτσι και φραγκοστάφυλο (Hieronymus, 2012; Beer Maverick, 2021; USDA-ARS, 2020; Yakima,2021).

### **CITRA COMPOSITION BREAKDOWN**

<b>ALPHA ACID</b>	11-15%
<b>BETA ACID</b>	3-4.5%
<b>CO-HUMULONE</b>	20-25%
<b>PURPOSE</b>	Dual
<b>COUNTRY</b>	USA
<b>CONE SIZE</b>	Medium
<b>TOTAL OIL COMPOSITION</b>	1.2-2.8 ml/100gr
<b>MYRCENE OIL COMPOSITION</b>	20-25%
<b>HUMULENE OIL COMPOSITION</b>	40-50%
<b>CARYOPHYLLENE OIL</b>	12-14%
<b>FARNESENE OIL</b>	0-1%
<b>LINALOOL OIL</b>	0.6-0.9%
<b>GERANIOL OIL</b>	0.3-0.5%
<b>CONE DENSITY</b>	Tight
<b>SEASONAL MATURITY</b>	Mid
<b>YIELD AMOUNT</b>	1600-1800 kg/hectare
<b>GROWTH RATE</b>	Medium to high
<b>STORABILITY</b>	Retains 75% alpha acid after 6 months storage at 20°C
<b>SUBSTITUTES</b>	Simcoe, Cascade (US), Centennial, Mosaic
<b>STYLE GUIDE</b>	India Pale Ale, American Ales, Amber

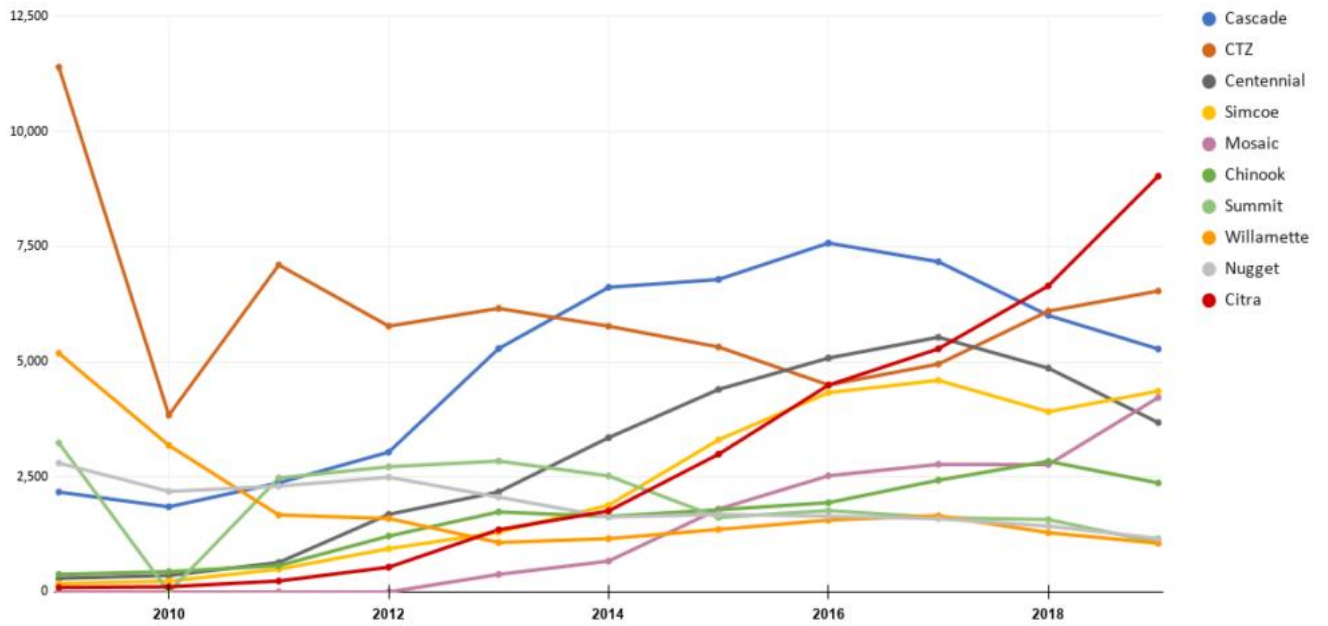
Πίνακας 1. Σύσταση και βασικές πληροφορίες της ποικιλίας Citra (Hieronymus, 2012; Hopslit, 2020; Beer Maverick, 2021; USDA-ARS, 2020; Yakima,2021)

Το 2009 η καλλιέργεια του ξεκίνησε με μικρές εκτάσεις και 30 χρόνια μετά την πρώτη του εμφάνιση ο Citra είναι η ποικιλία με την μεγαλύτερη καλλιέργεια ανά στρέμμα αυτή στην στιγμή στην Αμερική. Το 2019 η καλλιέργεια του Citra αντιστοιχούσε στο 15,4% (9,035 acres) της συνολικής ποσότητας λυκίσκου που καλλιεργήθηκε στην Αμερική και το 2018 πήρέ την θέση από την ποικιλία Cascade ως ο πιο καλλιεργήσιμος τύπος λυκίσκου, μια πρωτιά που κρατάει μέχρι και σήμερα. (Hopslis, 2018; Carr N. , 2015; Johnston E., 2014).



Εικόνα 6. Αριθμητική απεικόνιση των καλλιεργητικών εκτάσεων λυκίσκου που καλλιεργήθηκαν το 2019 (Hop growers of America, 2020)

US ACRES HARVESTED (2009-2019)



Εικόνα 7. Διακύμανση των καλλιεργειών των 10 δημοφιλέστερων ποικιλιών λυκίσκου για την δεκαετία 2009-2019 βάση μετρήσεων του USA Hops Annual Report του 2020 (Hop growers of America, 2020).



Εικόνα 8. Οργανοληπτικό προφίλ της ποικιλίας Citra.

# CITRA® BRAND



HBC 394 CV

Developed by Hop Breeding Company and released in 2007, Citra® HBC 394 cv. features high alpha acid and total oil content with a low percentage of co-humulone. It is one of the top ten aroma varieties for craft brewers imparting distinct citrus and tropical fruit flavors.

COUNTRY  
**UNITED STATES**

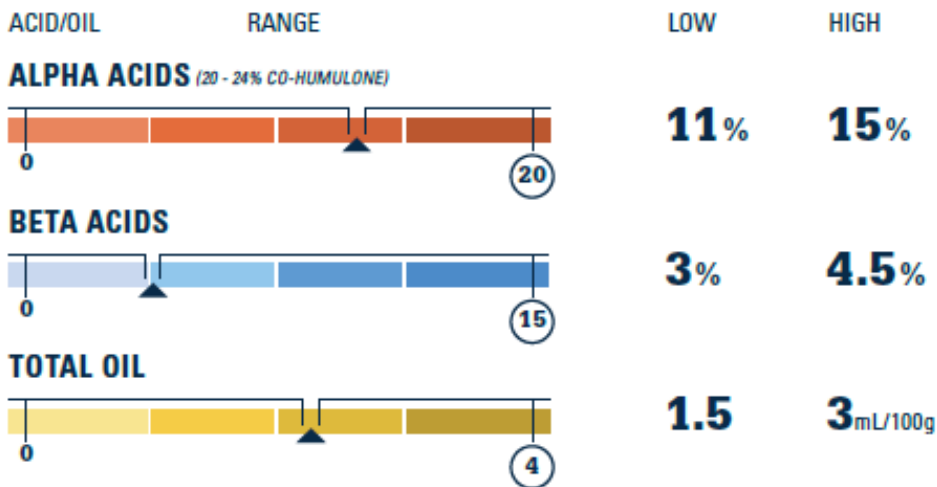
AROMA PROFILE  
**GRAPEFRUIT • MELON • LIME  
GOOSEBERRY • PASSION FRUIT**



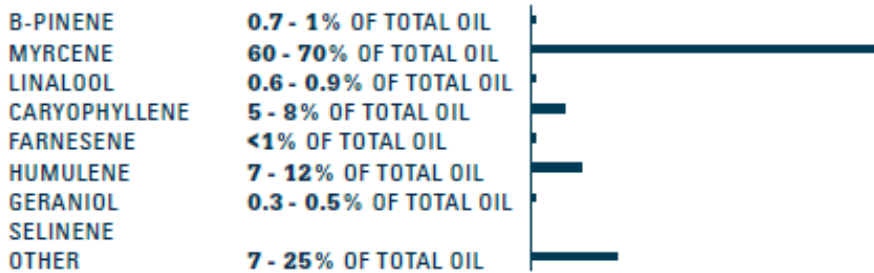
BEER STYLES

**IPA • AMERICAN PALE ALE**

## BREWING VALUES



## TOTAL OIL BREAKDOWN



Εικόνα 9: Συνοπτικές πληροφορίες για τον λυκίσκο Citra σύμφωνα με την Yakima Chief Hops (www.yakimachief.com ,2021)

## 1.6.2 Mosaic

Η ποικιλία Mosaic που κυκλοφόρησε το 2012 από την εταιρία Hop Breeding Company διαθέτει πολύπλοκα αλλά καθαρά οργανοληπτικά στοιχεία και είναι γνωστή για την τριπλή της χρήση: πικρική ιδιότητα, γεύση και έντονο άρωμα. Έχει υψηλή περιεκτικότητα σε άλφα οξέα, αλλά χαμηλή περιεκτικότητα σε co-humulone που τα καθιστά ευχάριστα hoppy, έχοντας γεύσεις από μάνγκο, πεύκο, εσπεριδοειδή, βότανα και αρώματα τροπικών φρούτων. Το Mosaic είναι η διασταύρωση των ποικιλιών Simcoe και Nugget και είναι κατοχυρωμένη με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας. Εφευρέθηκε από τον Jason Perrault μέσω της εταιρείας Hop Breeding Company (HBC), ο οποίος είναι επίσης υπεύθυνος για την δημιουργία και την μαζική κυκλοφορία των ποικιλιών Citra και Simcoe (Probasco *et al*, 2017; Hieronymus, 2012).

Η δημιουργία του ξεκίνησε το 2001, όταν διασταυρώσαν ένα θηλυκό άνθος της ποικιλίας Simcoe (YCR 14) και ένα αρσενικό που προήλθε από την ποικιλία Nugget, που προέρχεται από τις ποικιλίες Tomahawk, Brewers Gold και Early Green. Το δοκιμαστικό νέο είδος ονομάστηκε HBC 369. Το όνομα Mosaic δόθηκε στην ποικιλία λόγω των πολύπλοκων και πολυάριθμων αρωμάτων που δίνει. Το περίπλοκο προφίλ της συνυπάρχει με μια καθαρά πικρική γεύση, γεγονός που το καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλο για single hop ale τύπο μπύρας. Είναι η 3<sup>η</sup> μεγαλύτερη σε καλλιέργεια ποικιλία στην Αμερική αυτή την στιγμή και μόνο από το 2019 είχε αύξηση κατά 31,2% (HOP GROWERS OF AMERICA 2020). Η επιτυχία της οφείλεται εν μέρη στο γεγονός ότι οι ζυθοποιίες craft και μικροζυθοποιίες έχουν δείξει μεγάλο ενδιαφέρον για διττές ποικιλίες (dual varieties).

Με υψηλό ποσοστό άλφα οξέων (11,5% - 13,5%) ο Mosaic είναι φανταστικός για αμερικάνικου τύπου pale μπίρες, IPAs, saisons και wheats προδίνοντας τους έναν έντονο και εξωτικό χαρακτήρα και μια earthy πολυπλοκότητα. Οργανοληπτικά θεωρείται πολύπλοκη ποικιλία δίνοντας έναν έντονο χαρακτήρα και αρώματα βατόμουρου και μούρων γενικότερα (berry medley aromas) αλλά και μάνγκο, τροπικά φρούτα, ανθικό χαρακτήρα, τσιχλόφουσκα, εσπεριδοειδή, πεύκο, βότανα, μπαχαρικά αλλά και γήινες και grassy αρωματικές νότες. Αξιοσημείωτος είναι και ο χαρακτήρας μάνγκο, lime και μανταρίνι (Probasco *et al*, 2017; Hieronymus, 2012; Beer Maverick, 2021; USDA-ARS, 2020; Yakima, 2021).

# MOSAIC® BRAND



**HBC 369 CV**

Developed by Hop Breeding Company and released in 2012, Mosaic® HBC 369 cv. contains high alpha content and features a unique and complex aroma profile that translates favorably into a variety of beer styles. It is a daughter of Simcoe® YCR 14 cv. and a Nugget derived male. Mosaic® is named in honor of the artistic assortment of aromas and flavors it is capable of presenting.

**COUNTRY**  
**UNITED STATES**

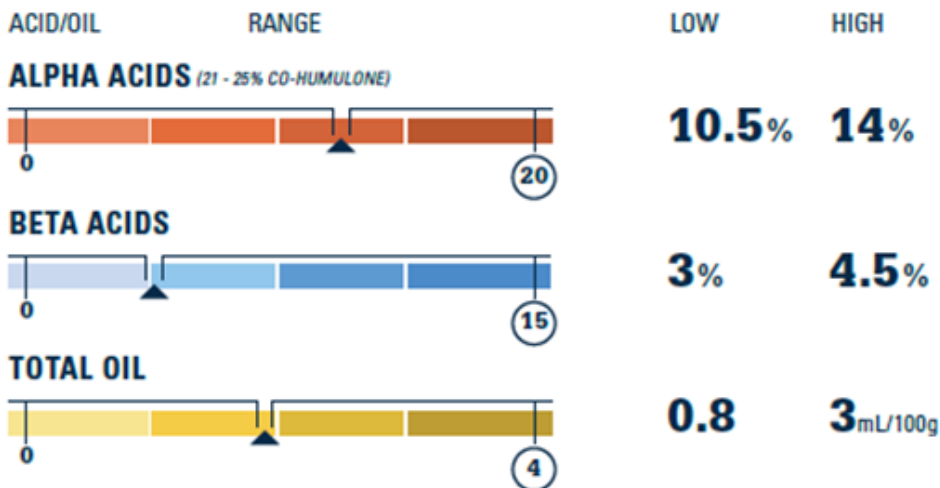
**AROMA PROFILE**  
**BLUEBERRY • TANGERINE**  
**PAPAYA • ROSE • BLOSSOM**  
**BUBBLE GUM**



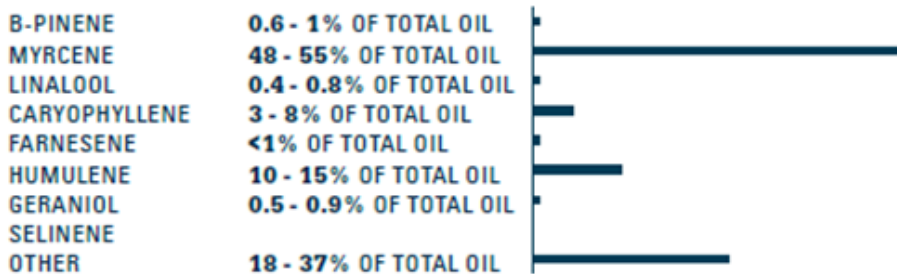
**BEER STYLES**

**PALE ALE • IPA • STOUT**

## BREWING VALUES



## TOTAL OIL BREAKDOWN



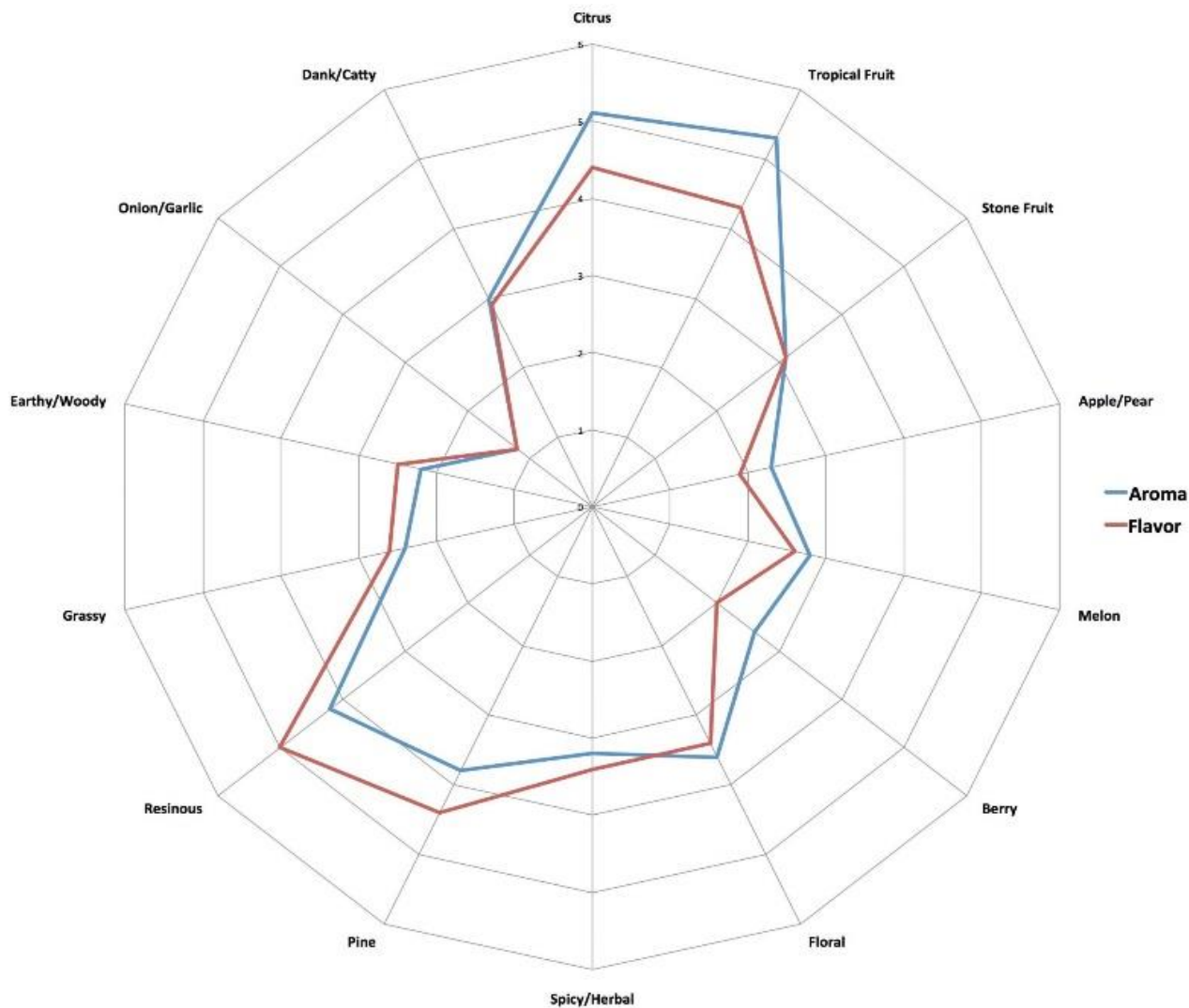
Εικόνα 10: Συνοπτικές πληροφορίες για τον λυκίσκο Mosaic σύμφωνα με την Yakima Chief Hops ([www.yakimachief.com](http://www.yakimachief.com), 2021)



Η επανάσταση της craft μπύρας στην Αμερική έχει μεταμορφώσει τη βιομηχανία λυκίσκου των ΗΠΑ. Η αμερικανική βιομηχανία λυκίσκου ήταν παραδοσιακά γνωστή για τους πικρικούς λυκίσκους της. Για παράδειγμα, το 2007 η αμερικανική βιομηχανία λυκίσκου αποτελούταν από 70% πικρικούς λυκίσκους και μόνο το 30% αρωματικούς, αλλά το 2014 η αμερικανική βιομηχανία λυκίσκου είχε φτάσει αυτή την αναλογία σε 70% αρωματικούς και 30% πικρικούς λυκίσκους . Αυτός ο μετασχηματισμός της συγκεκριμένης βιομηχανίας προέκυψε από δύο παράγοντες:

- 1) Οι μικροζυθοποιοί χρησιμοποιούν πολλές αρωματικές ποικιλίες και αρώματα για να παράγουν τα εμπορικά στυλ μπύρας τους που έχουν γίνει πλέον trademark styles των ΗΠΑ (για παράδειγμα, η Indian Pale Ale (IPA) είναι το ταχύτερα αναπτυσσόμενο στυλ μπύρας στις Ηνωμένες Πολιτείες).
- 2) οι Αμερικάνοι ζυθοποιοί τυπικά χρησιμοποιούν 10 φορές περισσότερο λυκίσκο ετησίως από οποιαδήποτε άλλη χώρα, κάτι που ανάγκασε την παγκόσμια παραγωγή και καλλιέργεια λυκίσκου να κάνει στροφή στην παραγωγή τους στις αρωματικές και διττής φύσεως ποικιλίες.

Η ποικιλία Mosaic είναι χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της τάσης καθώς προσδίδει ένα μοναδικό άρωμα και γεύση στο τελικό προϊόν και με το υψηλό ποσοστό του σε α-ισο-οξέα 12-14% είναι μια εξαιρετική επιλογή για τους ζυθοποιούς κάτι που αποδεικνύεται και στον αριθμό των βραβευμένων ζύθων των τελευταίων χρόνων που περιέχουν την ποικιλία αυτή ή άλλες διττής χρήσης ποικιλίες όπως citra, centennial και mosaic. (Swersey C., 2015; Watson B., 2015).



Εικόνα 11. Βασικό αρωματικό προφίλ της ποικιλίας Mosaic, σύμφωνα με τον Malcolm Frazer, 2017.

**Mosaic composition breakdown**

<b>Alpha Acid</b>	<b>10.5-14%</b>
<b>Beta Acid</b>	3-4.5%
<b>Co-Humulone</b>	24-26%
<b>Purpose</b>	Dual
<b>Country</b>	USA
<b>Total Oil Composition</b>	1-1.5 ml/100gr
<b>Myrcene Oil Composition</b>	47-53%
<b>Humulene Oil Composition</b>	13-16%
<b>Caryophyllene Oil</b>	5-8%
<b>Farnesene Oil</b>	None
<b>Seasonal Maturity</b>	Mid
<b>Yield Amount</b>	1600-1800 kg/hectare
<b>Growth Rate</b>	Medium to high
<b>Storability</b>	Retains 75% alpha acid after 6 months storage at 20°C
<b>Substitutes</b>	Citra
<b>Style Guide</b>	India Pale Ale, Pale Ale

Πίνακας 2. Σύσταση και βασικές πληροφορίες της ποικιλίας Mosaic (Hieronymus, 2012; Hopslit, 2020; Beer Maverick, 2021; USDA-ARS, 2020; Yakima,2021)

### 1.6.3 Chinook

Ο Chinook αναπτύχθηκε από το πρόγραμμα αναπαραγωγής λυκίσκου USDA και κυκλοφόρησε στο κοινό το 1985 και ήταν ένα από τα πρωτότυπα «C-hops» που βοήθησαν στον καθορισμό του κλασικού αμερικανικού χαρακτήρα των τύπων Pale Ale και IPA. Η δημιουργία του Chinook πραγματοποιήθηκε το 1974, από τον διάσημο ερευνητή και επιστήμονα Chuck Zimmermann, ενώ εργαζόταν για το πρόγραμμα αναπαραγωγής λυκίσκου USDA της Ουάσιγκτον. Στη συνέχεια έγιναν δοκιμές στην ποικιλία με την ονομασία W421-38 για 5 χρόνια και όταν τελειοποιήθηκε κυκλοφόρησε στο κοινό από τον Stephen Kenny. Εκτός από την υψηλή περιεκτικότητα του σε άλφα οξέα (12-15%), ο Chinook είναι γνωστό ότι προσδίδει ένα μείγμα από χαρακτηριστικά πεύκου, μπαχαρικών και γκρέιπφρουτ στην μύρα, καθιστώντας την ιδανική ποικιλία διπλής χρήσης. Η ποικιλία είχε απήχηση και σε μεγάλες βιομηχανίες αλλά και σε μικρά ζυθοποιία. Ο Chinook βρήκε το σπίτι του στην Yakima της πολιτείας Ουάσιγκτον και μέχρι σήμερα το μεγαλύτερο μέρος της ετήσιας προμήθειας του προέρχεται από εκεί (Hieronymus, 2012; Beer Maverick, 2021; USDA-ARS, 2020; Yakima,2021).

Ο Chinook παραμένει ένας από τους 10 κορυφαίους λυκίσκους της Αμερικής όπως δείχνουν οι έρευνες του American Brewer's Association που κάθε χρόνο εκδίδει τις εκθέσεις: Hop Usage Reports. Για το 2020, ο Chinook ήταν η ένατη σε καλλιεργητικές εκτάσεις ποικιλία λυκίσκου στις ΗΠΑ (Hop growers of America, 2020). Ο Chinook χρησιμοποιείται κυρίως για την υψηλή περιεκτικότητα του σε άλφα οξέα (πικρικές ιδιότητες). Κάθε χρόνο όμως η χρήση του ως λυκίσκος είτε στο τέλος του βρασμού είτε στο στάδιο του dry hopping γίνονται όλο και πιο δημοφιλείς καθώς μπορεί να προσφέρει αρώματα βότανων, πεύκου και καπνιστού στην μύρα. Θεωρείται δηλαδή κατάλληλη ποικιλία για κάθε στάδιο του βρασμού καθώς έχει να προσδώσει πολλά και διάφορα χαρακτηριστικά. Οργανοληπτικά μπορεί να προσδώσει έναν ελαφρώς πικάντικο χαρακτήρα με μια καπνιστή και γήινη γεύση. Έχει έντονα, εντυπωσιακά αρώματα πεύκου και grapefruit, όμως σε μεγάλες ποσότητες έχει παρατηρηθεί ότι βγάζει έναν δυσάρεστο χαρακτήρα (catty character). Είναι κατάλληλη ποικιλία όχι μόνο για αμερικάνικες παραδοσιακές μύρες όπως American Pale Ales και IPAs αλλά και για seasonal ales, barley wines ακόμα και porters ή stouts (Hieronymus, 2012; Beer Maverick, 2021; USDA-ARS, 2020; Yakima,2021).



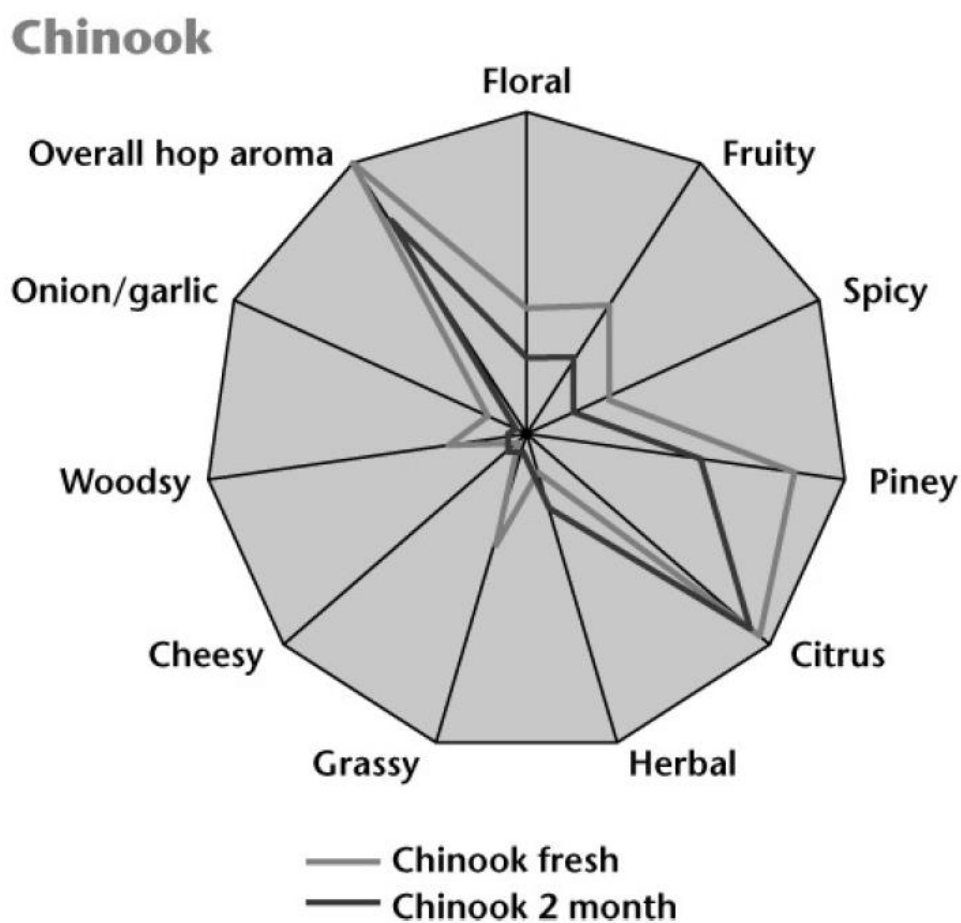
Εικόνα 12: Αρωματικό προφίλ του Chinook (Beer Maverick, 2018)

### Chinook composition breakdown

<b>Alpha Acid</b>	12-15%
<b>Beta Acid</b>	3-4%
<b>Co-Humulone</b>	29-34%
<b>Purpose</b>	Dual
<b>Country</b>	USA
<b>Cone Size</b>	Medium
<b>Total Oil Composition</b>	1.5-2.7 ml/100gr
<b>Myrcene Oil Composition</b>	30-40%
<b>Humulene Oil Composition</b>	18-25%
<b>Caryophyllene Oil</b>	9-11%
<b>Farnesene Oil</b>	0-1%
<b>Linalool Oil</b>	0.2-0.5%
<b>Geraniol Oil</b>	0.7-1.0%
<b>Cone Density</b>	Compact
<b>Seasonal Maturity</b>	Mid to Late
<b>Yield Amount</b>	1700-2230 kg/hectare
<b>Growth Rate</b>	Medium to high
<b>Storability</b>	Retains 68-70% alpha acid after 6 months storage at 20°C

<b>Substitutes</b>	Galena, Nugget, Bullion, Columbus, Northern Brewer
<b>Style Guide</b>	Winter Ale, Pale Ale, India Pale Ale, Porter, Stout, Barley Wine, American Lager, American Ale

Πίνακας 3. Σύσταση και βασικές πληροφορίες της ποικιλίας Chinook (Hieronymus, 2012; Hopslit, 2020; Beer Maverick, 2021; USDA-ARS, 2020; Yakima,2021)



Εικόνα 13: Αρωματικό προφίλ - της ποικιλίας Chinook σύμφωνα με τον Hieronymus,2012.

# CHINOOK



Developed by the USDA breeding program in Washington State and released in 1985 as a high alpha bittering variety, Chinook is a cross between Petham Golding and a USDA male. In recent years, it has found favor as a dual purpose hop in the craft brewing community as a result of its spice and pine aroma characteristics.

COUNTRY  
**UNITED STATES**

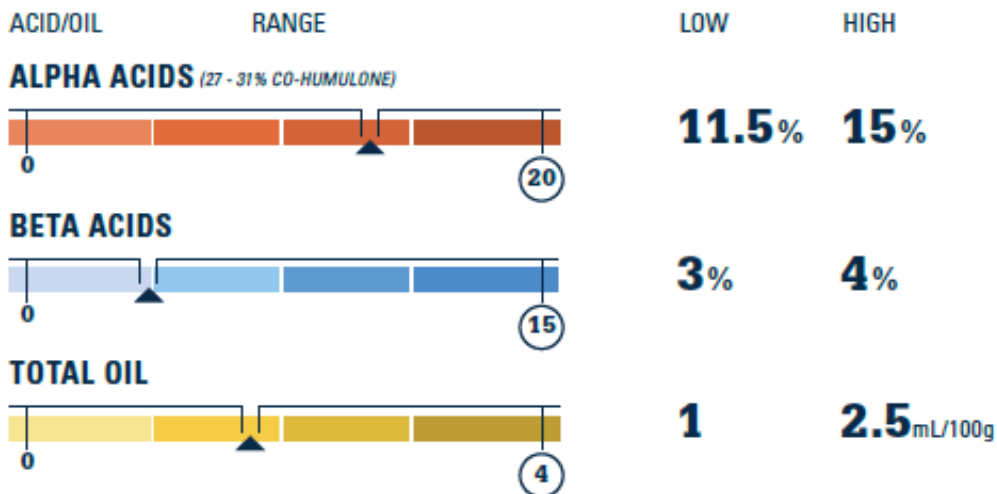
AROMA PROFILE  
**GRAPEFRUIT • SPICY • PINE**



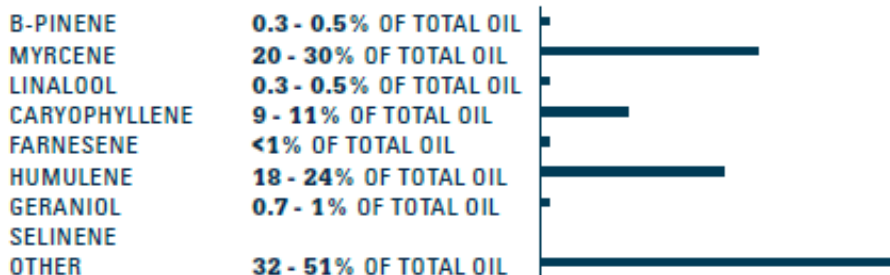
BEER STYLES

**IPA • AMERICAN PALE ALE • STOUT PORTER**

## BREWING VALUES



## TOTAL OIL BREAKDOWN



Εικόνα 14: Συνοπτικές πληροφορίες για τον λυκίσκο Chinook σύμφωνα με την Yakima Chief Hops ([www.yakimachief.com](http://www.yakimachief.com), 2021)

## Κεφάλαιο 2. Σκοπός

Η παρούσα εργασία είναι μια μελέτη διαφορετικών ποικιλιών λυκίσκου πάνω στην μύρα. Έναυσμα για την πραγματοποίηση της μελέτης αυτής αποτέλεσε το γεγονός ότι παρόλο το έντονο ενδιαφέρον που εμφανίζεται βιβλιογραφικά σχετικά με το συγκεκριμένο φυτικό είδος λόγω των σημαντικών θεραπευτικών δράσεων του, στην πλειοψηφία των συγγραμμάτων, η καταγραφή των συστατικών για πολλές και σημαντικές ποικιλίες λυκίσκου, δεν είναι πλήρης.

Επιλέχθηκαν τρεις διαφορετικές ποικιλίες, με μεγάλο εμπορικό και οργανοληπτικό ενδιαφέρον στην ζυθοποίηση σε παγκόσμιο επίπεδο: ο Citra, ο Mosaic και ο Chinook. Οι τρεις αυτές ποικιλίες είναι διττής φύσεως, δηλαδή θεωρούνται και αρωματικές αλλά και πικρικές ποικιλίες, που δίνουν την δυνατότητα δημιουργίας μιας μύρας ολοκληρωμένης γεύσης, μονοποικιλιακή σε λυκίσκο.

Σκοπός της εργασίας ήταν να μελετήσουμε την επίδραση αυτών των διαφορετικών ποικιλιών λυκίσκου στην τελική μύρα, τόσο ως προς τα συνολικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγομένων προϊόντων όσο και ως προς την ποιοτική και ποσοτική σύσταση των αρωματικών τους στοιχείων με τη χρήση αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας (GC-MS). Για το λόγο αυτό επιλέχθηκε η πειραματική ζυθοποίηση τριών τύπων μύρας τύπου ξανθιά ale στις οποίες η βάση ήταν κοινή, και η μόνη παράμετρος που άλλαζε ήταν η χρήση της διαφορετικής ποικιλίας λυκίσκου. Χρησιμοποιήθηκαν υπολογισμένες ποσότητες από κάθε ποικιλία ώστε να έχουν όλες τον ίδιο αριθμό πικράδας (IBU) αλλά και ίδια ποσότητα pellets στην διαδικασία αρωματισμού της μύρας –dry hopping. Πραγματοποιήθηκαν δυο βρασιές από κάθε είδος μύρας (για την κάθε ποικιλία), για καλύτερη επαναληψιμότητα. Τα έξι δείγματα που προέκυψαν, αναλυθήκαν με αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC-MS) εις διπλούν. Αρχικά, θέλαμε να μελετήσουμε τόσο το συνολικό οργανοληπτικό αντίκτυπο που θα είχε η προσθήκη κάθε ποικιλίας στην τελική μύρα, όσο και το αρωματικό προφίλ και την αποτύπωση των πτητικών ενώσεων του τελικού προϊόντος όπως αυτό μετριέται με έναν αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC-MS). Λόγω όμως των εξαιρετικών συνθηκών που δημιούργησε η πανδημία του Covid-19, και των σχετικών περιοριστικών μέτρων, η οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων δεν μπόρεσε να λάβει χώρα.



## Κεφάλαιο 3. Πειραματικό μέρος, υλικά και μέθοδοι

### 3.1 Υλικά για την παραγωγή των πειραματικών ζύθων

Δεδομένου ότι το ζητούμενο ήταν να μελετήσουμε τα αρώματα που προσδίδονται στον ζύθο από τα διαφορετικά είδη λυκίσκου, τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ζυθοποίηση όλων των συνθηκών ήταν τα ίδια με εξαίρεση τους λυκίσκους, για όλες τις βρασιές. Παρασκευάστηκαν συνολικά 6 διαφορετικές μύρες, αντιπροσωπεύοντας δυο επαναλήψεις για κάθε διαφορετική συνθήκη-λυκίσκο. Έτσι, σε όλες τις ζυθοποιήσεις χρησιμοποιήθηκαν 4.3kg βύνης Pale Ale Malt (2-row) Βεργίνα, 1 πακέτο μαγιά safale US-05, όπου ενυδατώθηκε και πολλαπλασιάστηκε σαν καλλιέργεια για 3 ώρες πριν προστεθεί στον κάδο ζύμωσης της μύρας, και δεξτρόζη περίπου 110 gr ώστε να δημιουργηθεί το CO<sub>2</sub> στην μύρα (2.5% CO<sub>2</sub>). Θέλαμε οι πικρικές μονάδες των ζύθων (IBU), να είναι στο ίδιο επίπεδο, περίπου στις 22 μονάδες για όλες τις μύρες, οπότε προστέθηκε η ανάλογη ποσότητα λυκίσκου ανά συνθήκη, ώστε να δώσει αυτό το αποτέλεσμα.

Χρησιμοποιήθηκαν:

16gr Citra (12,5% α-οξέα) για τον βρασμό της μύρας- δείγμα Citra, όπου έβρασαν για 60'

19gr Mosaic (10,1% α-οξέα) για τον βρασμό της μύρας- δείγμα Mosaic, όπου έβρασαν για 60'

17gr Chinook ( 12% α-οξέα) για τον βρασμό της μύρας- δείγμα Chinook, όπου έβρασαν για 60'

Σε όλες τις μύρες μετά την ολοκλήρωση της πρώτης φάσης της ζύμωσης έγινε αλλαγή του κάδου για απολάσπωση της μύρας και προσθήκη πάλι λυκίσκου σε δεύτερο στάδιο για το λεγόμενο Dry Hopring. Σε όλες τις συνθήκες βάλαμε ακριβώς 15gr λυκίσκου της κάθε ποικιλίας αντίστοιχα η οποία παρέμεινε σε επαφή με τον ζύθο, για 4 ημέρες.

Από εξοπλισμό χρησιμοποιήθηκε το σύστημα ζυθοποίησης Grainfather (εικόνα 14) χωρητικότητας 30 λίτρων, από ανοξείδωτο ατσάλι καθώς και το αντίστοιχο δοχείο νερού του για το στάδιο του sparging καθώς και ο εναλλάκτης αντίθετης ροής ώστε να ψύχει το γλεύκος μετά την λήξη του βρασμού και να το φέρνει σε κατάλληλη θερμοκρασία για να γίνει ο εμβολιασμός της μύρας με την μαγιά.



Εικόνα 15. Πλήρες σύστημα ζυθοποίησης Grainfather, που χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία των πειραματικών ζύθων

### 3.2 Πορεία ζυθοποίησης

Οι έξι ζυθοποιήσεις πραγματοποιήθηκαν χρονικά το τέλος Αύγουστου του 2020. Οι ζυθοποιήσεις της πρώτης βρασιάς- επανάληψης (batch), ολοκληρώθηκαν σε δύο ημέρες. Μια εβδομάδα αργότερα, έγιναν οι βρασιές (batch) της δεύτερης επανάληψης (1-6 Σεπτεμβρίου, 2020) . Δημιουργήθηκαν έτσι έξι εκφάνσεις μιας American Blonde Ale (18A στον οδηγό BJCP Style Guide). Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως σε όλες τις μπίρες χρησιμοποιήθηκαν ακριβώς τα ίδια υλικά, στις ίδιες συνθήκες με μόνη διαφορετική παράμετρο την ποικιλία του λυκίσκου ώστε να μελετήσουμε και να ποσοτικοποιήσουμε τα αρωματικά των ποικιλιών Citra, Mosaic και Chinook.

Αρχικά προστέθηκε το νερό, από περασμένο από φίλτρο ενεργού άνθρακα, απαλλαγμένο από μυρωδιές και άλατα, 16 λίτρα, στους 65°C και μόλις έφτασε αυτή την θερμοκρασία προστέθηκαν τα 4,3kg βύνης. Έγινε πολτοποίηση δυο σταδίων, 60 λεπτά στους 65°C και για 10 λεπτά στους 75°C. Όταν ολοκληρώθηκε αυτό το στάδιο έγινε sparging με ανύψωση του ειδικού καλαθιού (grain basket) που έχει το Grainfather και προσθέτοντας σταδιακά 13 λίτρα νερό στους 75°C. Αφού ολοκληρώθηκε η διαδικασία του sparging, ξεκίνησε η διαδικασία του βρασμού για μια ώρα. Εκεί στην αρχή του βρασμού προστέθηκε και η αρχική ποσότητα λυκίσκου από την κάθε ποικιλία ώστε να μας δώσει την απαραίτητη πικράδα (περίπου 22 IBU είχε υπολογιστεί). Με την ολοκλήρωση του βρασμού ακολουθήσε whirlpool για 15' και στην συνέχεια το γλεύκος πέρασε μέσα από το chiller ώστε να ρίξει την θερμοκρασία από τους 80°C + σε λιγότερο από 20°C. Έπειτα ακολουθήσε ο εμβολιασμός με επιλεγμένες ζύμες και η σφράγιση του δοχείου ζύμωσης και φύλαξη του σε χώρο ελεγχόμενης θερμοκρασίας 16-22°C, για 14 ημέρες. Μετα το πέρας των 2 εβδομάδων έγινε απολάσπωση της μπίρας με αλλαγή του κάδου ζύμωσης και στην συνέχεια προστέθηκε η υπόλοιπη ποσότητα λυκίσκου (dry hopping) και παραμονή αυτού στο δοχείο για 4 ημέρες, για να αποδοθεί το τυπικό άρωμα της κάθε ποικιλίας, στην αντίστοιχη μπίρα. Ακολουθήσε η εμφιάλωση της μπίρας με προσθήκη λίγης ακόμα δεξτρόζης ώστε να γίνει η ενανθράκωση μέσα στο μπουκάλι. Τέλος οι ζύθοι φυλάχθηκαν σε ψυγείο, σε θερμοκρασία 4 °C, μέχρι την ανάλυσή τους στον αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (οι μετρήσεις έγιναν την ίδια μέρα, οι ζύθοι δεν έμειναν περισσότερο από 3 ώρες εκτός ψυγείου πριν τις μετρήσεις) .

Συνοπτικά η συνταγή που ακολουθήθηκε για όλες τις μπύρες ήταν:

- 4,3Kg βύνη Pale Ale Malt (2-row) Βεργίνα
- 1 πακέτο μαγιά safale US-05
- 110 gr δεξτρόζη
- 16-19 gr της κάθε ποικιλίας λυκισκου ώστε να προκύψει πικράδα 22IBU
- 15 gr κάθε ποικιλίας για dry hopping



Εικόνα 16. Το στάδιο της πολτοποίησης



Εικόνα 17. Μετρήσεις Ph και gravity σε κάθε στάδιο της ζυθοποίησης



Εικόνα 18. Ψύξη του γλεύκους για να μπει στον κάδο της ζύμωσης



Εικόνα 19. Μεταφορά της μύρας από τον πρώτο κάδο ζύμωσης στον δεύτερο για απολάσπωση



Εικόνα 20. Διάγραμμα σταδίων ζυθοποίησης

### 3.3 Επεξεργασία δειγμάτων προς ανάλυση

Έπειτα από ωρίμανση των ζύθων για 45 ημέρες περίπου μετά την βρασιά τους, στις 15 Οκτωβρίου 2020, αναλύθηκαν και ποιοτικά και ποσοτικά οι πτητικές ενώσεις της πρώτης βρασιάς (batch) επανάληψης στον αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC-MS).

Λόγω των ιδιαίτερων συνθήκων του COVID-19, και των σχετικών περιοριστικών μέτρων, τα δείγματα της δεύτερης βρασιάς (batch)- επανάληψης αντίστοιχα, αναλύθηκαν χρωματογραφικά τον Μάρτιο του 2021:7 μήνες μετά την δημιουργία των ζύθων και περίπου 5 μήνες μετά το Batch 1.

Για να προετοιμαστούν τα δείγματα για τον αέριο χρωματογράφο πραγματοποιήθηκε εκχύλιση την αρωματικών συστατικών του κάθε δείγματος με την ακόλουθη μέθοδο.

Πάρθηκε ποσότητα 50ml από το κάθε δείγμα, προστέθηκε μαζί με δυο διαφορετικούς διαλυτές, πεντάνιο (95%) και διαιθυλαιθέρας (95%) και αναμείχθηκε υπό ανάδευση με το δείγμα για 10 min σε αναλογία 1:1:2. Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση και συλλογή της οργανικής φάσης. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε τρεις φορές. Στην συνέχεια έγινε ποσοτική μεταφορά της οργανικής φάσης σε μια διαχωριστική χοάνη για εκτόνωση. Ακολούθησε απομάκρυνση της υγρασίας από την οργανική φάση με άνυδρο θειικό νάτριο (Sodium sulfate anhydrous). Το δείγμα φιλτραρίστηκε και συλλέχθηκε σε απιοειδείς φιάλες με σκοπό την συμπύκνωση του με στήλη Vigreux σε θερμό υδατόλουτρο. Το εναπομείναν προϊόν συμπυκνώθηκε περαιτέρω με αέριο άζωτο μέχρι να έχει την κατάλληλη συγκέντρωση για να γίνει η ένεση του δείγματος στον χρωματογράφο.



### 3.4 Αέριος χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας

Η ανάλυση των δειγμάτων των τριών συνθηκών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση αέριου χρωματογράφου – φασματογράφου μάζας. Η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας βασίζεται στον διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος που εισάγεται στη στήλη με τη βοήθεια ενός αδρανούς, καθαρού από προσμίξεις φέροντος αερίου. Τα κλάσματα στη συνέχεια ανιχνεύονται στον ανιχνευτή και τα σήματα ανίχνευσης καταγράφονται από καταγραφικό. Το φέρον αέριο δεν πρέπει να περιέχει οξυγόνο, γιατί οξειδώνει τη στατική φάση και αυτό σημαίνει καταστροφή της στήλης, ιδιαίτερα όταν αυτή είναι τριχοειδής και η ποσότητα της στατικής φάσης είναι ελάχιστη.

Χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος μάρκας Agilent 6890 (Agilent Technologies, USA) σε συνδυασμό με ανιχνευτή φασματοσκοπία μάζας Agilent 5975C VLMSD (Agilent Technologies, USA) λειτουργίας EI (Electron Impact). Η Agilent HP-5MS τριχοειδής στήλη πυριτίου 30m x 0.32mm i.d. x 0.25μm πάχος φιλμ χρησιμοποιήθηκε για τις αναλύσεις όλων των δειγμάτων. Έγινε ένεση 1.0μL του εκχυλίσματος σε split mode 100:1 για κάθε δείγμα.

Η θερμοκρασία του θερμοθαλάμου όπου έγινε η κάθε ένεση ρυθμίστηκε στους 180°C. Το Ήλιο χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο με ρυθμό ροής 1.0 ml /min. Η ανάλυση διεξάχθηκε σύμφωνα με το παρακάτω πρόγραμμα: παραμονή στους 50°C για 2.5 min, αυξάνεται στους 180 °C με ρυθμό 2.5°C/min και από τους 180°C στους 230°C με ρυθμό 2 °C/min. Κατόπιν αυξάνει στους 250 °C με ρυθμό 6°C/min. Παραμένει στους 250°C για 5 min και τέλος αυξάνει στους 270 °C με 5°C/min και παραμένει για 2 λεπτά στους 270 °C. Η θερμοκρασία του θαλάμου μεταφορά ρυθμίστηκε στους 280°C. Η φασματοσκοπία μάζας λειτουργεί στην ρύθμιση ιονισμού (EI) με τάση ιονισμού 70 eV σε εύρος μάζας 40-550 amu και σε θερμοκρασία 270 °C. Τα φάσματα μάζας αναλύθηκαν και οι επιθυμητές ενώσεις ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τη βιβλιοθήκη δεδομένων φασματοφωτομετρικών μαζών (NIST 2000).

### 3.5 Στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων

Για την στατιστική ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα στατιστικής SPSS Statistics της IBM, Version 26. Εγινε ανάλυση της διακύμανσης των δειγμάτων με την επιλογή General Lineal Model, χρησιμοποιώντας κάθε φορά μια παράμετρο, αναλόγως με την εστίαση, και το αντίκτυπο αυτής σε όλες τις ουσίες που ποσοτικοποιήθηκαν στον αέριο χρωματογράφο. Έχοντας διεξάγει 2 βρασιές για κάθε ποικιλία λυκίσκου, που έδωσαν έξι (6) διαφορετικά πειραματικά δείγματα μύρας και έχοντας αναλύσει το κάθε δείγμα ζύθου σε δυο επαναλήψεις με το GC-MS, είχαμε τιμές για τα χρωματογραφικά δεδομένα δώδεκα (12) δειγμάτων.

Τα 12 αυτά δείγματα αναλυθήκαν στατιστικά με 3 διαφορετικές προσεγγίσεις. Η πρώτη προσέγγιση ήταν να ληφθεί ως παράμετρος (factor) για την επίπτωση στα αρωματικά, ο συνδυασμός της κάθε βρασιάς-λυκίσκου. Δηλαδή οι έξι διαφορετικοί πειραματικοί ζύθοι αντιμετωπίστηκαν σαν έξι αυτόνομες συνθήκες.. Η δεύτερη προσέγγιση, ήταν να ληφθεί ως παράμετρος (factor) για την επίπτωση στα αρωματικά των προϊόντων, η χρησιμοποιούμενη ποικιλία του λυκίσκου αποκλειστικά (λαμβάνοντας τα δείγματα από δυο διαφορετικές βρασιές του ίδιου λυκίσκου σαν την ίδια συνθήκη), και τέλος η τρίτη προσέγγιση ήταν να ληφθεί ως παράμετρος (factor) για την επίπτωση στα αρωματικά των προϊόντων, η κάθε βρασιά (batch) ξεχωριστά (λαμβάνοντας τα δείγματα από διαφορετικούς λυκίσκους της ίδιας βρασιάς σαν την ίδια συνθήκη). Μελετήσαμε την επίδρασή καθενός από αυτούς του παράγοντες ως προς τις αρωματικές ενώσεις που προέκυψαν από την ανάλυση των δειγμάτων στο GC-MS.

## Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα

### 4.1 Παραγόμενοι ζύθοι

Συνολικά παρήχθησαν 6 διαφορετικές μπύρες, κάθε ποικιλία δηλαδή από δυο επαναλήψεις. Οι παραπάνω βρασιές ήταν όλες επιτυχείς και δώσανε μπύρες χωρίς ελαττώματα, με αρώματα και χαρακτηριστικά όπως είναι καθορισμένα για το στυλ **18A. Blonde Ale**. Αναλυτικά, δίνονται τα ενδεικτικά εύρη τιμών του παραπάνω στυλ ζύθου, για τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: OG: 1.038 – 1.054, IBUs: 15 – 28, FG: 1.008 – 1.013, ABV: 3.8 – 5.5% ( BJCP Style guide No. 18A, 2015).

Η πρώτη μπύρα που παράχθηκε η Citra Batch 1 είχε τα εξής χαρακτηριστικά:

- Original Gravity: 1,052
- pH 4,9
- Final Gravity:1.010
- IBU: 22
- ABV : 5,5 %

Είχε ανοιχτό ξανθό χρώμα και προστέθηκε σε αυτήν 105gr δεξτρόζη ώστε να μας δώσει 2,5% CO<sub>2</sub>. Είχε σχετικά ελαφρύ σώμα, μεσαίο διοξείδιο του άνθρακα (carbonation) και είχε γλυκό, φρουτώδες άρωμα, με λίγο σταφύλι, εσπεριδοειδή και lime στα αρώματα και μια ελαφριά πικράδα κατά την επίγευση.

Η δεύτερη μπύρα που παράχθηκε η Mosaic Batch 1 είχε τα εξής χαρακτηριστικά:

- Original Gravity: 1,049
- pH 4,9
- Final Gravity:1.005
- IBU: 22,5
- ABV : 5,8 %

Είχε ανοιχτό ξανθό χρώμα και προστέθηκε σε αυτήν 105gr δεξτρόζη ώστε να μας δώσει 2,5% CO<sub>2</sub>. Είχε σχετικά ελαφρύ σώμα, μεσαίο διοξείδιο του άνθρακα (carbonation) και είχε γλυκά αρώματα τροπικών φρούτων, ελαφρώς earthy /woody νότες και λίγο τσιχλόφουσκα.

Η τρίτη μύρα που παράχθηκε η Chinook Batch 1 είχε τα εξής χαρακτηριστικά:

- Original Gravity: 1,050
- pH 5,1
- Final Gravity:1.006
- IBU: 22,5
- ABV : 5,7 %

Είχε ανοιχτό ξανθό χρώμα και προστέθηκε σε αυτήν 108 gr δεξτρόζη ώστε να μας δώσει 2,5% CO<sub>2</sub>. Είχε σχετικά ελαφρύ σώμα, μεσαίο διοξείδιο του άνθρακα (carbonation) και οργανοληπτικά είχε grapefruit, ελαφρύ ανθικό χαρακτήρα, φρούτα, citrus και piney αρώματα και ήπια πικάντικη επίγευση.

Η τέταρτη μύρα που παράχθηκε η Citra Batch 2 είχε τα εξής χαρακτηριστικά:

- Original Gravity: 1,050
- pH 5,1
- Final Gravity:1.008
- IBU: 22,5
- ABV : 5,5 %

Είχε ανοιχτό ξανθό χρώμα και προστέθηκε σε αυτήν 105gr δεξτρόζη ώστε να μας δώσει 2,5% CO<sub>2</sub>. Είχε σχετικά ελαφρύ σώμα, μεσαίο διοξείδιο του άνθρακα (carbonation) και είχε γλυκό, φρουτώδες άρωμα, με λίγο σταφύλι, εσπεριδοειδή και lime στα αρώματα και μια ελαφριά πικράδα κατά την επίγευση. Το άρωμα κίτρου και εσπεριδοειδών ήταν εντονότερο σχετικά με το πρώτο batch.

Η πέμπτη μύρα που παράχθηκε η Mosaic Batch 2 είχε τα εξής χαρακτηριστικά:

- Original Gravity: 1,050
- pH 5,1
- Final Gravity:1.009
- IBU: 22,5
- ABV : 5,4 %

Είχε ανοιχτό ξανθό χρώμα και προστέθηκε σε αυτήν 109gr δεξτρόζη ώστε να μας δώσει 2,5% CO<sub>2</sub>. Είχε σχετικά ελαφρύ σώμα, μεσαίο διοξείδιο του άνθρακα (carbonation) και είχε γλυκά αρώματα τροπικών φρούτων, ελαφρώς earthy /woody νότες και λίγο τσιχλόφουσα.

Η έκτη μπίρα που παράχθηκε η Chinook Batch 2 είχε τα εξής χαρακτηριστικά:

- Original Gravity: 1,050
- pH 5,1
- Final Gravity:1.008
- IBU: 22,5
- ABV : 5,5 %

Είχε ανοιχτό ξανθό χρώμα και προστέθηκε σε αυτήν 106gr δεξτρόζη ώστε να μας δώσει 2,5% CO<sub>2</sub>. Είχε σχετικά ελαφρύ σώμα, μεσαίο διοξείδιο του άνθρακα (carbonation) και οργανοληπτικά είχε grapefruit, ελαφρύ ανθικό χαρακτήρα, φρούτα, citrus και piney αρώματα και ήπια πικάντικη επίγευση. Σε σχέση με το πρώτο batch είχε εντονότερο λίγο το άρωμα του σταφυλιού και grapefruit.

## 4.2 Αποτελέσματα χρωματογραφικής ανάλυσης

Συνολικά ανιχνεύθηκαν 102 αρωματικές ενώσεις αλλά αφαιρέθηκαν όσες είχαν είτε πολύ μικρή συγκέντρωση, είτε βρέθηκαν σε μια μόνο από τις δυο επαναλήψεις ανάλυσης του ίδιου δείγματος ζύθου, επίσης σε χαμηλή συγκέντρωση. Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 78 πτητικές ενώσεις από τα 12 αυτά δείγματα. Για κάθε ίδιο δείγμα βάλουμε τον μέσο ορό των συγκεντρώσεων που βρέθηκε στην κάθε ένωση. Ακολουθούν αναλυτικά τα αποτελέσματα για κάθε μια από τις τρεις προσεγγίσεις στατιστικής ανάλυσης που ακολουθήσαμε (έναν από τους 3 παράγοντες που εξετάσαμε ξεχωριστά). Στην αρχική προσέγγιση όπου κάθε προϊόν λαμβάνεται σαν διαφορετική συνθήκη, δίνεται ο πίνακας με τις συγκεντρώσεις κάθε ζύθου για κάθε μια από τις εβδομήντα οχτώ (78) ουσίες που ταυτοποιήθηκαν. Κατόπιν, στις ακόλουθες στατιστικές προσεγγίσεις παρουσιάζονται σε πίνακες, μόνο οι ουσίες των οποίων οι συγκεντρώσεις παρουσίασαν στατιστική διαφοροποίηση για την εκάστοτε εξεταζόμενη συνθήκη.

### 4.2.1 Επίδραση του συνδυασμού ποικιλίας λυκίσκου και βρασιάς, στα αρώματα των προϊόντων (έξι διαφορετικά προϊόντα)

Από τα 78 αρωματικά που ταυτοποιήθηκαν συνολικά, τα 35 έδειξαν στατιστική διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων σε αυτή την ανάλυση. Παρακάτω ακολουθεί πίνακας με **όλες** τις πτητικές ουσίες που ταυτοποιήθηκαν στα διαφορετικά δείγματα.

Πίνακας 4. Συγκεντρώσεις των διαφορετικών δειγμάτων για 78 πτητικές ενώσεις και επίδραση συνδυασμού λυκίσκου-βρασιάς στην διαφοροποίησή τους (Παράγοντας-factor της ανάλυσης: όλα τα διαφορετικά δείγματα που εξετάστηκαν).

	Συγκέντρωση ουσίας σε mg/L						P value (διαφοροποίηση μεταξύ δειγμάτων)
	Citra A	Citra B	Mosaic A	Mosaic B	Chinook A	Chinook B	
Isoamyl alcohol	<b>2,31</b>	<b>2,37</b>	<b>2,44</b>	<b>2,87</b>	<b>7,58</b>	<b>6,55</b>	<b>0,005</b>
Active amyl alcohol	1,18	1,19	0,00	0,00	0,00	1,20	0,256
1-Butanol, 3-methyl	0,67	0,03	0,79	0,00	5,94	0,00	0,032
1-Butanol, 2-methyl	0,14	0,00	0,25	0,28	1,58	0,00	0,368
2-Butanol, 1-benzyloxy-3-methyl	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,516
Propanoic acid, 2-methyl	0,06	0,13	0,22	0,41	0,36	0,13	0,433
Butanoic acid	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>	<b>0,08</b>	<b>0,06</b>	<b>0,05</b>	<b>0,000</b>
Butanoic acid, ethyl ester	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,13	0,395
1-Propanol, 3-ethoxy	<b>0,04</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,02</b>	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	<b>0,000</b>
2-Furanmethanol	0,04	0,12	0,00	0,03	0,04	0,01	0,636
Hexanoic acid, ethyl ester	<b>0,00</b>	<b>0,03</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,48</b>	<b>0,005</b>
Butanoic acid, 3-methyl-	0,03	0,17	0,03	0,26	0,28	0,19	0,040
Butanoic acid, 2-methyl-	<b>0,03</b>	<b>0,08</b>	<b>0,02</b>	<b>0,14</b>	<b>0,21</b>	<b>0,13</b>	<b>0,000</b>
1-Butanol, 3-methyl-, acetate/ Isoamyl acetate	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,002</b>
2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	<b>0,000</b>
Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,489
1,2-Propanediol, 2-acetate	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,489
3-Methyl-hexanoic acid	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,12</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,012</b>
1-Propanol, 3-(methylthio)-	0,03	0,02	0,01	0,00	0,00	0,01	0,660
3-Octanone	0,03	0,00	0,30	0,02	0,00	0,00	0,490
3-Octanol	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>	
Phenylethyl Alcohol	<b>3,11</b>	<b>9,87</b>	<b>1,31</b>	<b>12,92</b>	<b>19,22</b>	<b>14,59</b>	<b>0,002</b>
Hexanoic acid	0,00	0,25	0,02	0,38	0,20	0,27	0,199
β-Linalool	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,489
Octanoic acid	<b>0,16</b>	<b>0,87</b>	<b>0,21</b>	<b>0,68</b>	<b>1,14</b>	<b>0,96</b>	<b>0,012</b>
Octanoic acid, ethyl ester	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>	<b>0,01</b>	<b>0,21</b>	<b>0,11</b>	<b>0,05</b>	<b>0,001</b>

Disulfide, bis (1-methylethyl)	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,02	0,084
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>	<b>0,06</b>	<b>0,07</b>	<b>0,04</b>	<b>0,000</b>
Undecane, 4,7-dimethyl-	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,489
2-Pentenoic acid, 2-methyl-	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,489
2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,489
Benzeneacetic acid	0,02	0,11	0,02	0,28	0,24	0,15	0,087
Benzene, 1,3-bis (1,1-dimethylethyl)-	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,002</b>
Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,06</b>	<b>0,000</b>
2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester	0,00	0,01	0,00	0,02	0,05	0,01	0,604
n-Decanoic acid	0,00	0,06	0,00	0,19	0,77	0,16	0,528
2(3H)-Furanone, 5-butyldihydro-	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,04	0,249
Geraniol	<b>0,00</b>	<b>0,02</b>	<b>0,00</b>	<b>0,13</b>	<b>0,00</b>	<b>0,02</b>	<b>0,000</b>
Benzeneethanol, 4-hydroxy	0,08	0,19	0,02	0,00	0,24	0,69	0,068
Butylated Hydroxytoluene	<b>0,09</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>
2(3H)-Furanone, dihydro-5-pentyl-	0,00	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,586
3-Decenoic acid	<b>0,00</b>	<b>0,14</b>	<b>0,00</b>	<b>0,22</b>	<b>0,00</b>	<b>0,03</b>	<b>0,002</b>
Tyrosol	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,68</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>
2(3H)-Furanone, dihydro-3-(phenylmethyl)-	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,10</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,002</b>
Geranyl phenylacetate	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>
Benzoic acid, 3-hydroxy-	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,04</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>
Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,09</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,001</b>
Dodecanoic acid	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,038</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>
4-Acetoxy-cinnamic acid	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,189</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>
Ferulic acid	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,329</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>
Geranyl isovalerate	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,025</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,002</b>
1,3-Cyclopentanedione, 4-isopentyl-2-isovaleryl-	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>1,218</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Humulone/ 2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5,6-trihydroxy-2-isovaleryl-4,6-bis(3-methyl-2-butenyl)-	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>1,039</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,006</b>
Isohumulone	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>4,381</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Humulone	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,372</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,009</b>
Butanedioic acid, diethyl ester	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,009</b>	<b>0,000</b>	<b>0,004</b>	<b>0,047</b>



<b>α-Terpineol</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,018</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Citronellol</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,034</b>	<b>0,000</b>	<b>0,030</b>	<b>0,000</b>
<b>Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-</b>	0,009	0,034	0,000	0,040	0,000	0,000	0,320
<b>Tryptophol</b>	0,710	4,141	0,418	3,948	5,350	6,920	0,379
<b>Oxalic acid, allyl butyl ester</b>	0,001	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,521
<b>Pentanoic acid, 5-hydroxy-, 2,4-di-t-butylphenyl esters</b>	0,003	0,000	0,003	0,000	0,074	0,009	0,528
<b>Toluene</b>	0,000	0,063	0,010	0,000	0,000	0,000	0,517
<b>1-Butanol, 3-methyl-, acetate</b>	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,027	0,542
<b>1-Hexanol, 4-methyl-</b>	0,000	0,004	0,009	0,000	0,000	0,000	0,553
<b>β-Myrcene</b>	0,000	0,000	0,006	0,000	0,030	0,000	0,508
<b>Estragole</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,011</b>	<b>0,052</b>	<b>0,000</b>	<b>0,013</b>	<b>0,000</b>
<b>4-Acetoxy-3-methoxystyrene</b>	0,000	0,000	0,003	0,000	0,009	0,000	0,493
<b>n-Hexadecanoic acid</b>	0,000	0,511	0,031	0,966	0,000	0,162	0,056
<b>Heptanoic acid, ethyl ester</b>	0,000	0,000	0,620	0,005	0,000	0,000	0,491
<b>Octanoic acid, 2-methyl-, methyl ester</b>	0,000	0,000	0,620	0,025	0,000	0,007	0,498
<b>Pentanoic acid, 2-methyl-, methyl ester</b>	0,000	0,000	0,623	0,000	0,000	0,000	0,481
<b>2-Butyn-1-ol, 4-methoxy-</b>	0,000	0,000	0,621	0,000	0,000	0,000	0,489
<b>BHT</b>	<b>0,000</b>	<b>0,438</b>	<b>0,040</b>	<b>0,593</b>	<b>0,833</b>	<b>0,531</b>	<b>0,000</b>
<b>Octadecanoic acid</b>	0,000	0,244	0,004	0,790	0,540	0,076	0,257
<b>2-Methoxy-4-vinylphenol</b>	0,000	0,060	0,000	0,017	0,018	0,014	0,501
<b>Caryophyllene oxide</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,024	0,000	0,489
<b>Propanoic acid, 2-methyl-, 3-methylbutyl ester</b>	0,000	0,011	0,000	0,000	0,023	0,000	0,563
<b>β-Phenylethyl phenylacetate</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,000	0,489

Πίνακας 5. Οι ενώσεις που διαφοροποιούνται στατιστικά σημαντικά μεταξύ των έξι διαφορετικών δειγμάτων (Παράγοντας-factor: όλα τα διαφορετικά δείγματα).

Δραστική Ουσία	Συγκέντρωση ουσίας (mg/L)						P value	Flavor	Odor
	Citra A	Citra B	Mosaic A	Mosaic B	Chinook A	Chinook B			
<b>Isoamyl alcohol</b>	2,31	2,37	2,44	2,87	7,58	6,55	0,005	Fusel, fermented, fruity, banana, ethereal, cognac	Fusel, alcoholic, pungent, ethereal, cognac, fruity, banana
<b>Butanoic acid</b>	0,01	0,04	0,01	0,08	0,06	0,05	0	Fruity, estery, slightly buttery	Sweet, fruity, pineapple
<b>1-Propanol, 3-ethoxy</b>	0,04	0	0	0,02	0	0,01	0	Fruity, estery.	Fruity, sweet.
<b>Hexanoic acid, ethyl ester</b>	0	0,03	0	0	0	0,48	0,005	Sweet, pineapple, fruity, waxy, banana	Sweet, fruity, pineapple, waxy, fatty and estery with a green banana nuance
<b>Butanoic acid, 2-methyl</b>	0,03	0,08	0,02	0,14	0,21	0,13	0		
<b>1-Butanol, 3-methyl-, acetate/ Isoamyl acetate</b>	0,01	0,03	0,01	0,03	0	0	0,002	Sweet, fruity, estery, banana- and pear-like	Sweet, banana, fruity, strong
<b>2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl</b>	0	0	0	0,01	0	0,01	0	Fruity	Ethereal, fruity
<b>3-Methyl-hexanoic acid</b>	0	0	0	0,12	0	0	0,012	Sour, fruity notes.	Sour, fatty.
<b>Phenylethyl Alcohol</b>	3,11	9,87	1,31	12,92	19,22	14,59	0,002	Floral, sweet, rosey and bready	Sweet, floral, fresh and bready

									with a rosey honey
<b>Octanoic acid</b>	0,16	0,87	0,21	0,68	1,14	0,96	0,012	Acidic, cheese, fruity notes	fatty, waxy, rancid, oily, vegetable, cheesy
<b>Octanoic acid, ethyl ester</b>	0,02	0,05	0,01	0,21	0,11	0,05	0,001	Waxy, fruity and pineapple with creamy, fatty, mushroom and cognac notes	Waxy, musty, pineapple and fruity
<b>Acetic acid, 2-phenylethyl ester</b>	0,01	0,03	0,01	0,06	0,07	0,04	0,000	Sweet, honey, floral, rosy with a slight green nectar fruity body and mouth feel	Sweet, honey, floral rosy, yeasty honey, cocoa
<b>Benzene, 1,3-bis (1,1-dimethylethyl)</b>	0	0,01	0	0	0	0	0,002		
<b>Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)</b>	0	0	0	0	0	0,06	0,000		
<b>Geraniol</b>	0	0,02	0	0,13	0	0,02	0,000	Floral, rosy, waxy and perfumey, fruity, peach-like nuance	Floral, sweet, rosey, fruity and citronella-like with a citrus nuance
<b>Butylated Hydroxytoluene</b>	0,09	0	0	0	0	0	0,000		
<b>3-Decenoic acid</b>	0	0,14	0	0,22	0	0,03	0,002		
<b>Tyrosol</b>	0	0	0	0,68	0	0	0,000		
<b>2(3H)-Furanone, dihydro-3-(phenylmethyl)</b>	0	0	0	0,1	0	0	0,002	Sweet, floral, fruity	Floral, fruity

<b>Geranyl phenylacetate</b>	0	0	0	0,01	0	0	0,000	Floral, rosy, honey and green with fatty, fruity	Floral, powdery, rosy, honey and dried fruit-like with balsamic
<b>Benzoic acid, 3-hydroxy</b>	0	0	0	0,04	0	0	0,000		
<b>Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy</b>	0	0	0	0,09	0	0	0,001		
<b>Dodecanoic acid</b>	0	0	0	0,038	0	0	0,000	Fatty, waxy, characteristic of dairy products	Creamy, buttery, fatty notes
<b>4-Acetoxy-cinnamic acid</b>	0	0	0	0,189	0	0	0,000		
<b>Ferulic acid</b>	0	0	0	0,329	0	0	0,000		
<b>Geranyl isovalerate</b>	0	0	0	0,025	0	0	0,002	Rosey, geranium, lemon, blueberry	Sweet, fruity, green, apple, blueberry, pineapple, melon
<b>1,3-Cyclopentanedione, 4-isopentyl-2-isovaleryl</b>	0	0	0	1,218	0	0	0,000		
<b>Humulone</b>	0	0	0	1,411	0	0	0,006		
<b>Isohumulone</b>	0	0	0	4,381	0	0	0,000		
<b>Butanedioic acid, diethyl ester</b>	0	0	0	0,009	0	0,004	0,047		

<b>Terpineol</b>	0	0	0	0,018	0	0	0,000	Citrus, woody, lemon and lime	Pine-like, woody and resinous with a lemon and lime citrus nuance, and a floral dry out
<b>Citronellol</b>	0	0	0	0,034	0	0,03	0,000	Floral, rose, sweet, green with fruity citrus	Floral, rose, sweet, green with fruity citrus
<b>Estragole</b>	0	0	0,011	0,052	0	0,013	0,000	Sweet, licorice, phenolic, weedy, spice, celery	Sweet, phenolic, anise, harsh, spice, green, herbal, minty
<b>BHT</b>	0	0,438	0,04	0,593	0,833	0,531	0,000		

Η ένωση Isoamyl alcohol βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook batch 1 και μετα στο batch 2, έπειτα στην ποικιλία Mosaic στο batch 2 και μετα στο batch 1 και σχεδόν σε ίδια συγκέντρωση βρέθηκε και στην ποικιλία Citra στο batch 2 και 1.

Η ένωση Butanoic acid βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Mosaic στο batch 2, έπειτα στην ποικιλία Chinook στο batch 1 και μετα στο batch 2 και σχεδόν σε ίδια συγκέντρωση βρέθηκε και στην ποικιλία Citra στο batch 2 και τελευταία στο batch 1.

Η ένωση 1-Propanol, 3-ethoxy βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Citra στο batch 1 έπειτα στην ποικιλία Mosaic στο batch 2 και τέλος στην ποικιλία Chinook στο batch 2. Στα υπόλοιπα δείγματα δεν ανιχνεύτηκε.

Η ένωση Hexanoic acid, ethyl ester βρίσκεται κυρίως στην ποικιλία Chinook στο batch 2 και σε αρκετά χαμηλότερη συγκέντρωση στην ποικιλία Citra στο batch 2 επίσης.

Η ένωση Butanoic acid, 2-methyl βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook στο batch 1 έπειτα στην ποικιλία Mosaic στο batch 2, μετα στην Chinook στο batch 2 και τέλος στην ποικιλία Citra στο batch 2 και τέλος στο batch 1.

Η ένωση Isoamyl acetate βρίσκεται στην ποικιλία Mosaic και στην ποικιλία Citra σε ίσες ποσότητες, με υψηλότερη συγκέντρωση στο batch 2, ενώ δεν ανιχνεύεται καθόλου στην ποικιλία Chinook.

Η ένωση 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl βρίσκεται στην ποικιλία Mosaic και στην ποικιλία Chinook σε ίσες ποσότητες ενώ δεν ανιχνεύεται καθόλου στην ποικιλία Citra.

Η ένωση 3-Methyl-hexanoic acid βρίσκεται στην ποικιλία Mosaic στο batch 2 και δεν ανιχνεύεται καθόλου στις άλλες δυο ποικιλίες.

Η ένωση Phenylethyl Alcohol βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στην ποικιλία Chinook στο batch 2, έπειτα στην ποικιλία Mosaic στο batch 2 και μετα στο batch 1 και τέλος στην ποικιλία Citra, σε υψηλότερη συγκέντρωση στο batch 1.

Η ένωση Octanoic acid βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook στο batch 2 περισσότερο, έπειτα στην ποικιλία Citra στο batch 2 και μετα στο batch 1 και τέλος στην ποικιλία Mosaic.

Η ένωση Octanoic acid, ethyl ester βρίσκεται στην ποικιλία Mosaic σε μεγαλύτερη συγκέντρωση κυρίως στο batch 2, μετα στην ποικιλία Chinook, περισσότερο στο batch 1 και τέλος στην ποικιλία Citra στο batch 2 και μετα στο 1.

Η ένωση Acetic acid, 2-phenylethyl ester βρίσκεται στην ποικιλία Chinook σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο batch 1, μετα στην ποικιλία Mosaic σε μεγαλύτερη συγκέντρωση κυρίως στο batch 2 και τέλος στην Citra.

Η ένωση Benzene, 1,3-bis (1,1-dimethylethyl) βρίσκεται στην ποικιλία Citra στο batch 2.

Η ένωση Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl) βρίσκεται στην ποικιλία Chinook στο batch 2.

Η ένωση Geraniol εντοπίζεται και στις τρεις ποικιλίες μόνο στο δεύτερο batch.

Η ένωση Butylated Hydroxytoluene βρίσκεται στην ποικιλία Citra στο batch 1.

Η ένωση 3-Decenoic acid εντοπίζεται και στις τρεις ποικιλίες μόνο στο δεύτερο batch.

Η ένωση Tyrosol εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση 2(3H)-Furanone, dihydro-3-(phenylmethyl) εντοπίζεται στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Geranyl phenylacetate εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Benzoic acid, 3-hydroxy εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Dodecanoic acid εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση 4-Acetoxy-cinnamic acid εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Ferulic acid εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Geranyl isovalerate εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση 1,3-Cyclopentanedione, 4-isopentyl-2-isovaleryl εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Οι ενώσεις Humulone και Isohumulone εντοπίζονται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Butanedioic acid, diethyl ester εντοπίζεται στην ποικιλία Mosaic στο batch 2 σε μεγαλύτερη συγκέντρωση και μετα στην ποικιλία Chinook στο batch 2.

Η ένωση  $\alpha$ -Terpineol εντοπίζεται μόνο στην ποικιλία Mosaic στο batch 2.

Η ένωση Citronellol εντοπίζεται στην ποικιλία Mosaic στο batch 2 σε μεγαλύτερη συγκέντρωση και μετα στην ποικιλία Chinook στο batch 2 ενώ δεν ανιχνεύεται καθόλου στην ποικιλία Citra.

Η ένωση Estragole εντοπίζεται στην ποικιλία Mosaic σε μεγαλύτερη συγκέντρωση και μετα στην ποικιλία Chinook στο batch 2 ενώ δεν ανιχνεύεται καθόλου στην ποικιλία Citra.

Η ένωση BHT βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook στο batch 2, έπειτα στην ποικιλία Mosaic στο batch 2 και τέλος στην ποικιλία Citra περισσότερο στο batch 1 και μετα στο batch 2.

#### 4.2.2 Επίδραση της διαφορετικής ποικιλίας λυκίσκου μόνο, στα αρώματα των ζύθων

Σε αυτήν την προσέγγιση κωδικοποιήσαμε τα δείγματα από τους ίδιους λυκίσκους και αναζητήσαμε την επίδραση μόνο του διαφορετικού λυκίσκου (2 δείγματα για κάθε λυκίσκου), στην διαφοροποίηση των δειγμάτων βάση των 78 συνολικά ταυτοποιημένων πτητικών συστατικών. Το αποτέλεσμα ήταν ότι από τα 78 συνολικά αρωματικά που ταυτοποιήθηκαν στους ζύθους, μόνον 6 διαφοροποιήθηκαν σημαντικά με βάση αποκλειστικά την επίδραση της ποικιλίας του λυκίσκου.

Πίνακας 6. Οι ενώσεις που διαφοροποιούνται στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων που προκύπτουν από χρήση άλλης ποικιλίας λυκίσκου και η μέση συγκέντρωση των δειγμάτων από την εκάστοτε ποικιλία για τις παραπάνω ενώσεις. Παράγοντας-factor: Αποκλειστικά η χρησιμοποιούμενη ποικιλία λυκίσκου.

	Citra	Mosaic	Chinook	P value (factor: 3 διαφορετικές ποικιλίες)	Flavor	Odor
<i>Isoamyl alcohol</i>	<b>2,34</b>	<b>2,66</b>	<b>7,07</b>	<b>0,000</b>	Fusel, fermented banana, etherial, cognac and fruity	Fusel, alcoholic, pungent, etherial, cognac, fruity, banana
<i>Isoamyl acetate</i>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,00</b>	<b>0,023</b>	Mild, sweet, floral, fruity, honey.	Sweet, floral, fruity.
<i>Phenylethyl Alcohol</i>	<b>6,49</b>	<b>7,12</b>	<b>16,91</b>	<b>0,033</b>	Floral, sweet, rosey and bready	Sweet, floral, fresh and bready with a rosey honey



<i>Benzeneethanol, 4-hydroxy</i>	<b>0,14</b>	<b>0,02</b>	<b>0,49</b>	<b>0,038</b>	Mild, sweet, floral fruity.	Mild, sweet, floral fruity.
<i>Estragole</i>	<b>0,00</b>	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>	<b>0,031</b>	Sweet, licorice, phenolic, weedy, spice, celery	Sweet, phenolic, anise, harsh, spice, green, herbal, minty
<i>Butanoic acid, 2-methyl</i>	<b>0,06</b>	<b>0,08</b>	<b>0,25</b>	<b>0,026</b>	Mild, sweet, floral, fruity, honey.	Sweet, floral, fruity.

Η ένωση Isoamyl alcohol εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook, έπειτα στην ποικιλία Mosaic και μετα στην ποικιλία Citra.

Η ένωση Isoamyl acetate βρίσκεται σε ίσες συγκεντρώσεις στις ποικιλίες Citra και Mosaic.

Η ένωση Phenylethyl Alcohol βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook, έπειτα στην ποικιλία Mosaic και μετα στην ποικιλία Citra.

Η ένωση Benzeneethanol, 4-hydroxy βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook, έπειτα στην ποικιλία Citra και τέλος στην ποικιλία Mosaic.

Η ένωση Estragole βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Mosaic, μετα στην Chinook, ενώ δεν εντοπίστηκε καθόλου στην ποικιλία Citra.

Η ένωση Butanoic acid, 2-methyl εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία Chinook, έπειτα στην ποικιλία Mosaic και μετα στην ποικιλία Citra.

LSD tables αναμεσά στις έξι ποικιλίες που είχαν στατιστική διαφορά, όπου LSD = Least Significant Differences.

Τα LSD tables μας δείχνουν όχι μόνο ποια από τα αρωματικά που ταυτοποιήθηκαν είναι διαφοροποιούνται στατιστικά μεταξύ των δειγμάτων, αλλά μας δείχνουν και σε ποιο δείγμα είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά εν σύγκριση με τα άλλα δυο δείγματα -ποικιλίες. Αναλυτικά αναφέρονται οι 6 αρωματικές ενώσεις που βρέθηκαν και σε ποια ποικιλία η κάθε μια από αυτές.

### 1. Isoamyl alcohol

		P value
<b>CHINOOK</b>	<b>CITRA</b>	<b>0,0000</b>
	MOSAIC	0,0001
<b>CITRA</b>	CHINOOK	0,0000
	MOSAIC	0,6299
<b>MOSAIC</b>	CHINOOK	0,0001
	CITRA	0,6299

	Isoamyl alcohol C(mg/L)
<b>Citra</b>	2,34
<b>Mosaic</b>	2,66
<b>Chinook</b>	7,06

Από τις τιμές βλέπουμε ότι ο Chinook είναι η ποικιλία που διαφοροποιείται περισσότερο, έχει την υψηλότερη συγκέντρωση σε isoamyl alcohol και ότι ο Citra με τον Mosaic δεν έχουν μεγάλη διαφορά στις τιμές τους ως προς την ένωση Isoamyl alcohol, αρά είναι παρόμοιές αρωματικά σε σχέση με τα αρώματα που δίνει η ουσία αυτή ( μπανάνα, φρούτα, ποτό, etherial και κονιάκ όπως αναφέρεται αναλυτικά και στον πίνακα B2).

2. Butanoic acid, 2-methyl

		P value
<b>CHINOOK</b>	<b>CITRA</b>	<b>0,0108</b>
	MOSAIC	0,0352
<b>CITRA</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0108
	MOSAIC	0,4883
<b>MOSAIC</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0352
	<b>CITRA</b>	0,4883

	<b>Butanoic acid, 2-methyl C(mg/L)</b>
<b>Citra</b>	0,06
<b>Mosaic</b>	0,08
<b>Chinook</b>	0,17

Από τις τιμές βλέπουμε ότι ο Chinook είναι η ποικιλία που διαφοροποιείται περισσότερο, έχει τη μεγαλύτερη τιμή και ότι ο Citra με τον Mosaic είναι πιο κοντά στις τιμές τους ως προς την ένωση Butanoic acid, 2-methyl, με τον Citra να εντοπίζεται στην μικρότερη συγκέντρωση. Οργανοληπτικά δίνει ήπιες γλυκές νότες, ανθικό χαρακτήρα, γλυκό και φρουτώδες όπως αναφέρεται αναλυτικά και στον πίνακα Β2).

### 3. Isoamyl acetate

		P value
<b>CHINOOK</b>	<b>CITRA</b>	<b>0,0111</b>
	MOSAIC	0,0251
<b>CITRA</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0111
	MOSAIC	0,6261
<b>MOSAIC</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0251
	CITRA	0,6261

	<b>Isoamyl acetate C(mg/L)</b>
<b>Citra</b>	0,02
<b>Mosaic</b>	0,02
<b>Chinook</b>	0,00

Από τις τιμές βλέπουμε ότι ο Chinook έχει μεγάλη διαφορά με τις άλλες δυο ποικιλίες στην τιμή του καθώς δεν εντοπίστηκε καθόλου σαν ένωση στην συγκεκριμένη ποικιλία, ενώ στις ποικιλίες Citra και Mosaic εντοπίζεται σε ίσες τιμές για η ένωση Isoamyl acetate, η οποία οργανοληπτικά δίνει μπανάνα, φρούτα, γλυκύτητα, κ.α. όπως αναφέρεται αναλυτικά και στον πίνακα Β2).

### 4. Phenylethyl Alcohol

		P value
<b>CHINOOK</b>	<b>CITRA</b>	<b>0,0190</b>
	MOSAIC	0,0250
<b>CITRA</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0190
	MOSAIC	0,8687
<b>MOSAIC</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0250
	CITRA	0,8687

	<b>Phenylethyl Alcohol C(mg/L)</b>
<b>Citra</b>	6,49
<b>Mosaic</b>	7,12
<b>Chinook</b>	16,91

Από τις τιμές βλέπουμε ότι ο Chinook έχει μεγάλη διαφορά από τις άλλες δυο ποικιλίες καθώς εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ποικιλία αυτή ενώ στις άλλες δυο ποικιλίες, οι οποίες βρίσκονται σε σχετικά κοντινές συγκεντρώσεις με μεγαλύτερη σε συγκέντρωση στην Mosaic και μετα στην ποικιλία Citra για την ένωση Phenylethyl Alcohol η οποία οργανοληπτικά δίνει ανθικό χαρακτήρα, τριαντάφυλλο, κ.α. όπως αναφέρεται αναλυτικά και στον πίνακα Β2.

#### 5. Benzeneethanol, 4-hydroxy

		P value
<b>CHINOOK</b>	<b>CITRA</b>	<b>0,0591</b>
	MOSAIC	0,0150
<b>CITRA</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0591
	MOSAIC	0,4227
<b>MOSAIC</b>	<b>CHINOOK</b>	0,0150
	CITRA	0,4227

	<b>Benzeneethanol, 4-hydroxy C(mg/L)</b>
<b>Citra</b>	0,14
<b>Mosaic</b>	0,01
<b>Chinook</b>	0,47

Από τις τιμές βλέπουμε ότι ο Chinook έχει διάφορα από τον Citra γιατί εντοπίζεται σε υψηλότερη συγκέντρωση, αλλά μεγαλύτερη διάφορα εμφανίζει με τον Mosaic ο οποίος έχει την μικρότερη τιμή συγκέντρωσης για την ένωση Benzeneethanol, 4-hydroxy η οποία οργανοληπτικά μας δίνει ένα ήπιο γλυκό, ανθικό και φρουτώδες προφίλ όπως αναφέρεται και στον πίνακα Β2.

## 6. Estragole

		P value
<b>CHINOOK</b>	<b>CITRA</b>	<b>0,5479</b>
	MOSAIC	0,0373
<b>CITRA</b>	CHINOOK	0,5479
	MOSAIC	0,0135
<b>MOSAIC</b>	CHINOOK	0,0373
	CITRA	0,0135

	<b>Estragole C(mg/L)</b>
<b>Citra</b>	0,00
<b>Mosaic</b>	0,03
<b>Chinook</b>	0,01

Από τις τιμές βλέπουμε ότι την μεγαλύτερη διαφορά την έχει η ποικιλία Mosaic καθότι εντοπίστηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ οι άλλες δυο ποικιλίες είναι πιο κοντά στις τιμές τους με την ποικιλία Chinook, να εντοπίζεται σε πολύ μικρή ποσότητα ενώ στην ποικιλία Citra δεν εντοπίστηκε καθόλου η ένωση Estragole, η οποία οργανοληπτικά μας δίνει γλυκόριζα, μπαχαρικά, γλυκό και φαινολικό χαρακτήρα με στοιχεία πράσινου και μέντας όπως αναφέρεται αναλυτικά και στον πίνακα B2.

#### 4.2.2 Επίδραση του διαφορετικού batch

Σε αυτήν την προσέγγιση κωδικοποιήσαμε τα δείγματα από την ίδια βρασιά (batch), και αναζητήσαμε την επίδραση μόνον της βρασιάς (3 δείγματα από κάθε βρασιά), στην διαφοροποίηση των δειγμάτων βάση των 78 συνολικά ταυτοποιημένων πτητικών συστατικών. Το αποτέλεσμα ήταν ότι από τα 78 συνολικά αρωματικά που ταυτοποιήθηκαν στους ζύθους, έντεκα (11) ουσίες διαφοροποιήθηκαν σημαντικά με βάση αποκλειστικά την επίδραση της διαφορετικής βρασιάς. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι ουσίες που επηρεάστηκαν σημαντικά, αποκλειστικά από τον παράγοντα βρασιά (batch).

Πίνακας 7. Οι ενώσεις που διαφοροποιούνται στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων που προκύπτουν από τις δυο διαφορετικές βρασιές (τρία δείγματα ανά βρασιά), και η μέση συγκέντρωση των δειγμάτων από την εκάστοτε βρασιά. Παράγοντας-factor: Αποκλειστικά η βρασιά.

Δραστική Ουσία	Citra 1	Citra 2	Mosaic 1	Mosaic 2	Chinook 1	Chinook 2	P value	Flavor	Odor
<b>Butanoic acid</b>	0,01	0,04	0,01	0,08	0,06	0,05	0,045	Fruity, estery, slightly buttery	Sweet, fruity, pineapple
<b>1-Propanol, 3-ethoxy</b>	0,04	0	0	0,02	0	0,01	0,050	Fruity, estery.	Fruity, sweet.
<b>Hexanoic acid, ethyl ester</b>	0	0,03	0	0	0	0,48	0,029	Sweet, pineapple, fruity, waxy, banana	Sweet, fruity, pineapple, waxy, fatty and estery with a green banana nuance
<b>2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl</b>	0	0	0	0,01	0	0,01	0,025	Fruity	Ethereal, fruity
<b>Hexanoic acid</b>	0,00	0,25	0,02	0,38	0,20	0,27	0,020	Sharp, sour, acidic, cheesy, fruity notes	Sour, fatty, cheese
<b>2(3H)-Furanone, 5-butyldihydro-</b>	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,04	0,013	Spicy, green, fatty, sweet, coconut, almond	Spicy, green, coconut, almond
<b>Geraniol</b>	0,00	0,02	0,00	0,13	0,00	0,02	0,049	Floral, rosy, waxy and perfumey, fruity, peach-like nuance	Floral, sweet, rosey, fruity and citronella-like with a citrus nuance



<b>3-Decenoic acid</b>	0,00	0,14	0,00	0,22	0,00	0,03	0,005		
<b>Butanedioic acid, diethyl ester</b>	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,050		
<b>Citronellol</b>	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,03	0,011	Floral, rose, sweet, green with fruity citrus	Floral, rose, sweet, green with fruity citrus
<b>n-Hexadecanoic acid</b>	0,00	0,51	0,03	0,97	0,00	0,16	0,018	Waxy, creamy fatty, soapy, fatty	Low heavy waxy, with a creamy, candle waxy nuance

Η ένωση Butanoic acid εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2.

Η ένωση 1-Propanol, 3-ethoxy εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2 .

Η ένωση Hexanoic acid, ethyl ester εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2.

Η ένωση 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl εντοπίζεται σε ίσες συγκεντρώσεις στο Batch 2.

Η ένωση Hexanoic acid εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2.

Η ένωση 2(3H)-Furanone, 5-butylidihydro εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2.

Η ένωση Geraniol εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2.

Η ένωση 3-Decenoic acid εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2.

Η ένωση Butanedioic acid, diethyl ester εντοπίζεται στο Batch 2 μόνο.

Η ένωση Citronellol εντοπίζεται σε ίσες συγκεντρώσεις στο Batch 2 μόνο.

Η ένωση n-Hexadecanoic acid εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Batch 2.

## Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα

Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η μελέτη των αρωματικών πτητικών ουσιών σε τρεις ποικιλίες λυκίσκου. Επιλέχθηκαν για αυτή την μελέτη ποικιλίες αρκετά δημοφιλείς τα τελευταία χρόνια που όμως δεν έχουν μελετηθεί επιστημονικά ενδελεχώς μέχρι στιγμής. Οι ποικιλίες αυτές ήταν οι Citra, Mosaic και Chinook, τρεις ποικίλες που μοιάζουν αρκετά μεταξύ τους καθώς προέρχονται όλες από την Αμερική, είναι λυκίσκοι διττής φύσεως ,δηλαδή και αρωματικοί και πικρικοί, είναι παραπλήσιοι στο αρωματικό τους προφίλ και έχουν πολύ παρόμοια χημική σύσταση, κοντινά δηλαδή ποσοστά α-οξέων ώστε να καθιστάτε δυνατή η σύγκριση τους.

Για να συγκριθούν οι τρεις αυτές ποικιλίες πραγματοποιήσαμε έξι πειραματικές ζυθοποιήσεις δυο για κάθε ποικιλία λυκίσκου, έτσι ώστε να έχουμε καλύτερη επαναληψιμότητα και ορθότητα των αποτελεσμάτων. Οι μπύρες που παρήχθησαν ήταν όλες επιτυχείς, χωρίς κανένα ελάττωμα. Ήταν στα πλαίσια των προδιαγραφών του στυλ που θέλαμε (Blonde ale) με πολύπλοκα αρώματα και γεύσεις. Τα δείγματα αυτά αφού επεξεργαστήκαν καταλλήλως αναλύθηκαν για την ποιοτική και ποσοτική τους σύσταση σε πτητικές-αρωματικές ουσίες, μέσω αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας(GC-MS), όπου κάθε δείγμα αναλύθηκε σε δυο (2) επαναλήψεις. Τα αποτελέσματα των δώδεκα (12) συνολικά δειγμάτων που αναλύθηκαν στον χρωματογράφο επεξεργάστηκαν στατιστικά μέσω του προγράμματος SPSS Statistics και μας έδωσαν μια ξεκάθαρη εικόνα όχι μόνο των πτητικών ενώσεων που προέκυψαν στον ζύθο με χρησιμοποίηση της κάθε μιας από τις τρεις ποικιλίες λυκίσκου, αλλά και μια γενική σύγκριση μεταξύ των ποικιλιών. Τα αποτελέσματα της χρωματογραφικής ανάλυσης, μελετήθηκαν από τρεις διαφορετικές σκοπιές λαμβάνοντας δηλαδή, τρεις διαφορετικούς παράγοντες σε κάθε μια στατιστική προσέγγιση αντίστοιχα και συγκεκριμένα: 1) την επίδραση του κάθε διαφορετικού δείγματος (συνδυασμός ποικιλίας λυκίσκου και βρασιάς) , 2) αποκλειστικά την επίδραση της ποικιλίας του λυκίσκου, και 3) αποκλειστικά την επίδραση της βρασιάς. Με τις αναλύσεις αυτές βρήκαμε αρχικά ότι η παράμετρος της βρασιάς καθώς και η ανάλυση με παράμετρο στο κάθε δείγμα ξεχωριστά μας έδωσε πιο πολλές στατιστικά σημαντικές διαφορές στα πτητικά συστατικά των δειγμάτων από ότι όταν αναλύσαμε αποκλειστικά και μόνο την επίδραση της ποικιλίας του λυκίσκου.

Στην περίπτωση όπου λάβαμε ως παράμετρο διαφοροποίησης το κάθε δείγμα ξεχωριστά (συνδυασμός χρησιμοποιούμενου λυκίσκου-βρασιάς), βρήκαμε συνολικά 35 ενώσεις, οι οποίες διαφοροποιήθηκαν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων. Αυτές ήταν οι ακόλουθες:

Isoamyl alcohol, το Butanoic acid, Hexanoic acid, Butanoic acid, 2-methyl ,Isoamyl acetate, 2-Pentanone, 3-Methyl-hexanoic acid, Phenylethyl Alcohol, Octanoic acid ,Octanoic acid, ethyl ester, Acetic acid, 2-phenylethyl ester, Benzene, Ethanone, Geraniol, Butylated Hydroxytoluene, 3-Decenoic acid, Tyrosol, 2(3H)-Furanone, Geranyl phenylacetate, Benzoic acid, Dodecanoic acid, Ferulic acid, Geranyl isovalerate, Isohumulone, Humulone, Butanedioic acid, diethyl ester, α-Terpineol, Citronellol και Estragole. Αρκετές από αυτές είναι χαρακτηριστικές ενώσεις του λυκίσκου ή πτητικές που δίνουν τα αρώματα που αναμέναμε από κάθε ποικιλία βάση βιβλιογραφίας.

Από την δεύτερη ανάλυση όπου εστιάσαμε αποκλειστικά στον παράγοντα της ποικιλίας του λυκίσκου, βρήκαμε ότι μόνο 6 ενώσεις επηρεάστηκαν από τον χρησιμοποιούμενο λυκίσκο κατά τον ίδιο τρόπο και στις δυο βρασιές. Αυτές ήταν οι: Isoamyl alcohol, 2-methyl Butanoic acid, , Isoamyl acetate, Phenylethyl Alcohol, 4-hydroxy Benzeneethanol- και Estragole. Αναλυτικότερα είδαμε ότι ο Chipook είχε σχεδόν τριπλάσια ποσότητα Isoamyl alcohol σε σχέση με τις άλλες δυο ποικιλίες άρα πιο έντονο τον alcoholic, pungent, ethereal, cognac χαρακτήρα σαν ποικιλία. Είχε επίσης πολύ μεγάλη συγκέντρωση Phenylethyl Alcohol που δίνει χαρακτηριστικά αρώματα τριαντάφυλλου και μελιού (bready, rose, honey). Αντίθετα η ποικιλία Mosaic έδωσε την υψηλότερη συγκέντρωση από τις τρεις σε Estragole στους ζύθους, με αρώματα licorice, phenolic, weedy, spice, celery.

Από την τρίτη ανάλυση όπου μελετήθηκε αποκλειστικά η παράμετρος της βρασιάς (batch), βρέθηκαν 11 ενώσεις που διαφοροποιήθηκαν στατιστικά μεταξύ των δειγμάτων των δυο διαφορετικών βρασιών με τον ίδιο τρόπο. Αυτές ήταν οι: Butanoic acid, 1-Propanol 3-ethoxy, Hexanoic acid ethyl ester, 2-Pentanone 4-hydroxy-4-methyl, Hexanoic acid, 2(3H)-Furanone, 5-butylidihydro, Geraniol, 3-Decenoic acid, Butanedioic acid diethyl ester, Citronellol, n-Hexadecanoic acid. Όλες οι παραπάνω ουσίες βρέθηκαν σε υψηλότερη συγκέντρωση στην δεύτερη βρασιά (Batch) της κάθε πειραματικής συνθήκης, γεγονός που μας υποδεικνύει ότι η χρονική διαφορά που είχαν τα δείγματα μεταξύ τους και η ωρίμανση του δευτέρου Batch επηρέασε κατά πολύ τα οργανοληπτικά των ζύθων. Στο πρώτο batch έγινε η μέτρηση στον χρωματογράφο στις 45 ημέρες περίπου μετά την δημιουργία της μύρας ενώ στο δεύτερο batch λόγω συνθήκων όπως αναφέρεται και πιο πάνω έγινε 5 μήνες αργότερα. Που σημαίνει ότι τα δυο πανομοιότυπα δείγματα είχαν πολύ μεγάλη διαφορά στον χρόνο ωρίμανσης τους, γεγονός που ενδεχομένως επηρέασε τα αρωματικά που ανιχνεύτηκαν και την συγκέντρωσή τους στις μύρες.

Αν συγκρίνουμε συνολικά όλες τις ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν σε κάθε ποικιλία βλέπουμε ότι οι ενώσεις με την συχνότερη εμφάνιση στην ποικιλία Citra οργανοληπτικά έχουν τους εξής χαρακτηρισμούς: citrus, tropical fruits, estery, sweet, grapefruit, lime, grass, melon, pear, floral and resinous. Αντίστοιχα για την ποικιλία Mosaic οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι χαρακτηρισμοί είναι: fruity, estery, pineapple, sweet, pear-apple, fatty, creamy, sour-fruity notes, rosey, lemon, woody, peach, blueberry, licorice, phenolic. Γενικά οι δυο ποικιλίες θα λέγαμε ότι μοιάζουν πολύ στα οργανοληπτικά που δίνουν με τον citra να έχει λίγο πιο τροπικό και κιτρικό χαρακτήρα ενώ ο Mosaic είναι πιο γλυκός στα αρώματα που δίνει. Τέλος για την ποικιλία Chinook οι πιο συχνοί χαρακτηρισμοί που πήραμε από τις ενώσεις που ταυτοποιήσαμε ήταν: banana, pine, spicy, fruity, alcoholic, estery,floral, sweet, pineapple, woody, rosey, bready, waxy και vegetable.

## Κεφάλαιο 6. Βιβλιογραφία

Anderson H.E., Santos I.C., Hildenbrand Z.L. Schug K.A. (2019). A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control. *Analytica Chimica Acta*, 1085.

Chadwick L. R., Pauli G. F. & Farnsworth N. R. (2006). The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. *Phytomedicine*. 13(1-2).

Dresel M., Praet T., Van Opstaele F., Holle A., Naudts D., Keukeleire D., Cooman L. and G. Aerts. (2015) Comparison of the Analytical Profiles of Volatiles in Single-Hopped Worts and Beers as a Function of the Hop Variety. *Brewing Science* vol.68.

Duarte L. M., Amorim T.L., Grazul R.M., Marcone A. (2020). Differentiation of aromatic, bittering and dual-purpose commercial hops from their terpenic profiles: An approach involving batch extraction, GC–MS and multivariate analysis. *Food Research International* 138 (2020) 109768.

Hieronimus S. For the Love of hops (2012). *The Practical Guide to Aroma, Bitterness and the Culture of Hops*. Brewers Publications.

Hop Growers of America Statistical report of 2020. Released January 2021 by Hop Growers of America Association.

Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R., Young, T.W., (1982). The chemistry of hop constituents. *Malting and Brewing Science*. Springer, Boston, pp. 422–455.

Inui T., Tsuchiya F., Ishimaru M., Oka K., Komura H, (2013). Different Beers with Different Hops. Relevant Compounds for Their Aroma Characteristics. Beer Development Department, Suntory Liquors Ltd., Research Center, Osaka, Japan. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 61, 4758–4764. American Chemical Society.

Παΐαυλά Δήμητρα

Karabin M., Hudcova T., Jelinek L. & Dostalek P. (2016). Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.

Kishimoto T., Wanikawa A., Kono K., Shibata K. (2006), Comparison of the odoractive compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties, *J. Agric. Food Chem.* 54.

Kuepper G. & Adam K.L. (2005) Hops: Organic Production. A Publication of ATTRA - National Sustainable Agriculture Information Service.

Lafontaine S.R. & Shellhammer T.H. (2018) Sensory Directed Mixture Study of Beers Dry-Hopped with Cascade, Centennial, and Chinook, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76:3, 199-208.

Ligor M., Stankevičius M., Wenda-Piesik A., Obelevičius K., Ragažinskienė O., Stanius Z., Maruška A. & Buszewski B. (2014). Comparative Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Evaluation of Hop (*Humulus lupulus* L.) Essential Oils and Extracts Obtained Using Different Sample Preparation Methods. *Food Analytical Methods*. 7, 1433–1442.

Machado J., Faria M.A., Ferreira I., (2019) HOPS: New perspectives for an old beer ingredient , Department of Chemical Sciences, Laboratory of Bromatology and Hydrology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal

Mudura E. & Coldea T. (2015). Hop-Derived Phenylflavonoids and Their Importance in Brewing Technology: A Review. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*.

Obstacle F.V., Rouck G., Clippeleer J., Aerts G., Cooman L. (2010). Analytical and Sensory Assessment of Hoppy Aroma and Bitterness of Conventionally Hopped and Advanced Hopped Pilsner Beers.

Παϊαυλά Δήμητρα

Oladokun O., James S., Cowley T., Dehrmann F., Smart K., Hort J., Cook D. (2017) Perceived bitterness character of beer in relation to hop variety and the impact of hop aroma. *Food Chemistry* 230 (2017) 215–224.

Olsovska J., Bostikova V., Dusek M., Jandovska V., Bogdanova K., Cermak P., Bostik P., Mikyska A. & Kolar M. (2016). *Humulus lupulus* L. (hops) – A valuable source of compounds with bioactive effects for future therapies.

Olsovska J., Cermak P., Mikyska A., Dusek M., Kadleckova Z. (2017). Strong antimicrobial activity of xanthohumol and other derivatives from hops (*Humulus lupulus* L.) on gut anaerobic bacteria. *APMIS*. Published by John Wiley & sons.

Probasco G., Perrault J., Varnum S., Hysert D. (2017) Mosaic (HBC 369): A New Flavor Hop Variety. American Society of Brewing Chemists, Inc.

Rettberg N., Biendl M. & Garbe L.A. (2018) Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools—A Review, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76:1, 1-20, DOI: 10.1080/03610470.2017.1402574

Stewart G., Russell I., Anstruther A. (2018). *Handbook of Brewing*, 3rd edition. CRC Press, Taylor & Francis Group

Salanta L., Tofană M., Socaci S., Mudura E., Pop C., Pop A. (2015) Evaluation and Comparison of Aroma Volatile Compounds in Hop Varieties Grown in Romania. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(6), 11049-11056

Shapouri R. & Rahnema M., (2011). Evaluation of antimicrobial effect of hops extracts on intramacrophages *Brucella abortus* and *B. melitensis*. *Jundishapur Journal of Microbiology*.

Viejo C.G., Fuentes S., Torrico D., Godbole A., Dunshea F.R. (2019) Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. *Food Chemistry* 293 (2019) 479–485.

## Ιστοσελίδες/Websites & links

Hop Cultivar Descriptions (USDA-ARS) <http://www.ars.usda.gov/pandp/docs.htm?docid=14772>

Hops: Organic Production (ATTRA, 2005) <https://attra.ncat.org/attra-pub/summaries/summary.php?pub=87>

Kaiser C. & Ernst M. (revised 2012). Hops, Cooperative Extension Service University of Kentucky College of Agriculture, Food and Environment, Center for Crop Diversification Crop Profile <http://www.uky.edu/Ag/CCD/intro.html>

Swersey, C. A. Craft brewing and hop supply. USA Hops, 2015 Convention. [www.usahops.org/userfiles/image/1422472749\\_HGA2015-Swersery.pdf](http://www.usahops.org/userfiles/image/1422472749_HGA2015-Swersery.pdf), 2015

Watson, B. Craft brewing and hop usage. USA Hops, 2015 Convention. [www.usahops.org/userfiles/image/1422493631Bart%20Watson%202015%20Hop%20Convention.pdf](http://www.usahops.org/userfiles/image/1422493631Bart%20Watson%202015%20Hop%20Convention.pdf), 2015.

<https://learn.kegerator.com/citra-hops/>

<https://fifthseasongardening.com/citra-a-brief-history-of-an-exceptional-hop>

<http://www.hopslist.com/hops/dual-purpose-hops/citra/>

[https://shop.yakimachief.com/media/wysiwyg/Yakima\\_Chief\\_Hops\\_Varieties.pdf](https://shop.yakimachief.com/media/wysiwyg/Yakima_Chief_Hops_Varieties.pdf)

<https://beermaverick.com/the-complete-history-of-the-citra-hop/>

<https://bsgcraftbrewing.com/mosaic-hop>

<https://brooklynbrewshop.com/blogs/themash/hop-of-the-month-mosaic>

<https://learn.kegerator.com/mosaic-hops/>

<https://learn.kegerator.com/chinook-hops>

<https://brooklynbrewshop.com/blogs/themash/hop-profile-chinook>

<https://brulosophy.com/2018/09/13/the-hop-chronicles-california-chinook-2018/>