



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

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών στην  
Επιστήμη Οίνου και Ζύθου  
Κατεύθυνση: Ζύθος**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

**Ο Ζύθος με χαμηλό ή χωρίς αλκοόλ**

**του Φώτη Μαλεζίδη**

Παρουσιάστηκε για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απονομή του  
Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών στο Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου & Ποτών  
του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

**Επιβλέπων: Ταταρίδης Παναγιώτης**

**Αθήνα, 2021**



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA  
SCHOOL OF FOOD SCIENCES  
DEPARTMENT OF WINE, VINE & BEVERAGE  
SCIENCES**

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

**Option: Beer**

**Master Thesis**

**Beer with low or no alcohol**

**By**

**Fotis Malezidis**

Presented for the partial fulfillment of the obligations for the award of the  
Master's Degree in the Department of Wine, Vine and Beverage Sciences  
of the University of West Attica

**Supervisor: Dr. Tataridis Panagiotis**

**Athens, 2021**

## Διασαφήσεις

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (masterthesis) με τίτλο «Ο ζύθος με χαμηλό ή χωρίς αλκοόλ» που παρουσιάστηκε από τον ΦΩΤΗ ΜΑΛΕΖΙΔΗ και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 1<sup>ου</sup> Μέλους Επιτροπής  
(Name and Signature of 1<sup>st</sup> Commission Member):**

Δρ. Ταταρίδης Παναγιώτης.....

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 2<sup>ου</sup> Μέλους Επιτροπής  
(Name and Signature of 2<sup>nd</sup> Commission Member):**

Δρ. Σεχάντε Αντνάν.....

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 3<sup>ου</sup> Μέλους Επιτροπής  
(Name and Signature of 3<sup>rd</sup> Commission Member):**

Δρ. Κεχαγιά Δέσποινα.....

Με την υποβολή αυτής της διατριβής, δηλώνω ότι το σύνολο των εργασιών που περιέχονται σε αυτή είναι το δικό μου, πρωτότυπο έργο, ότι εγώ είμαι ο μοναδικός δημιουργός τους (εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά), ότι η αναπαραγωγή και η δημοσίευσή της από το Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής δεν θα παραβιάζει οποιαδήποτε δικαιώματα τρίτων και ότι δεν έχω υποβάλει στο παρελθόν το σύνολο ή μέρος αυτής για την απόκτηση οποιουδήποτε τίτλου.

By submitting this thesis, I declare that the entirety of the work contained therein is my own, original work, that I am the sole author thereof (save to the extent explicitly otherwise stated), that reproduction and publication thereof by University of West Attica will not infringe any third party rights and that I have not previously in its entirety or in part submitted it for obtaining any qualification.

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή Υποψηφίου: Φώτη Μαλεζίδη**



Πνευματική ιδιοκτησία © 2021 Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής  
Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται  
Copyright © 2021 University of West Attica  
All rights reserved

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την περάτωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα Καθηγητή μου, κ. Παναγιώτη Ταταρίδη για την πολύτιμη υποστήριξή του, για όλες τις παραγωγικές υποδείξεις και συμβουλές του, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω καθώς για την προθυμία και για τις γνώσεις που αποκόμισα καθ' όλη την διάρκεια της φοίτησής μου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τους συμφοιτητές μου και φίλους μου Σπυριδούλα Σουπιώνη, Άκη Σιδερά και Μάριο Κάστανο.

Ιδιαίτερα, θερμές ευχαριστίες θέλω να δώσω στην Εριάννα Δεσινιώτη και την Κατερίνα Σιώνη, οι οποίες με βοήθησαν σημαντικά στη μετάφραση της ξενόγλωσσης βιβλιογραφίας.

## ΑΦΙΕΡΩΣΗ

*Η παρούσα διπλωματική εργασία είναι  
εξαιρετικά αφιερωμένη στη κόρη μου Μαρία,  
που ήρθε στο κόσμο πριν δύο χρόνια και  
έδωσε νόημα στη ζωή μου.*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πρώτη μη αλκοολούχα μπίρα έκανε την εμφάνισή της στις Ηνωμένες Πολιτείες το 1919, λόγω της ποτοαπαγόρευσης. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, το αλκοόλ ήταν εκτός νόμου από τη χώρα. Η κυβέρνηση αποφάσισε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό οινοπνεύματος που θα μπορούσε να έχει το ποτό είναι 0,5% αλκοόλ κατ' όγκο (ABV). Ακόμα και σήμερα, αυτό εξακολουθεί και παραμένει ως όριο για μη αλκοολούχα ποτά σε πολλές χώρες.

Είναι ενδιαφέρον ότι στους καταναλωτές άρεσε αυτή η μπίρα χωρίς οινόπνευμα. Όταν η απαγόρευση τελείωσε πάνω από μια δεκαετία αργότερα, αυτή η επιλογή παρέμεινε στην αγορά. Πολλά αμερικανικά brands δημιούργησαν λεπτές, ελαφριές μπίρες λόγω αυτής της προτιμήσεως των καταναλωτών.

Η διαδικασία παρασκευής ζύθου με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη είναι αρκετά παρόμοια με της αλκοολούχου. Οι ζύθοι με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη φτιάχνονται με φυσικές η βιολογικές μεθόδους.

Στην παρούσα μελέτη θα παρουσιαστούν οι διαδικασίες παρασκευής ζύθου με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη με βιολογικές μεθόδους, σε μικροζυθοποιίες, χωρίς να απαιτείται πρόσθετη επένδυση σε εξοπλισμό. Τα τελευταία χρόνια, οι ζυθοποιοί έχουν γίνει πιο δημιουργικοί στον τρόπο με τον οποίο αφαιρούν το οινόπνευμα. Το μόνο πρόβλημα είναι μειωμένη γεύση.

Την τελευταία δεκαετία, ο ζύθος με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, γνώρισε μια ανανεωμένη δημοτικότητα στην Ευρώπη, το Ηνωμένο Βασίλειο και τον Καναδά χώρες οι οποίες καταναλώνουν τεράστιες ποσότητες ζύθου. Η νέα τάση στόχος είναι να δημιουργηθεί ένας ζύθος, με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, που να διαθέτει την ίδια γεύση με την κλασσική μπίρα. Οι καταναλωτές θα είναι πλέον σε θέση να απολαύσουν αρκετούς ζύθους με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη που μοιάζουν, έχουν γεύσεις και μυρίζουν σαν το αγαπημένο τους ποτό.

Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τον ζύθο με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, θα αποτελέσει το βασικό κίνητρο των ζυθοποιών να δημιουργήσουν εξαιρετικές μπίρες με βιολογικές μεθόδους.

**Λέξεις κλειδιά:** Μπίρα, μικροζυθοποιία, ζύθος χαμηλής ή χωρίς αλκοόλη, αφαίρεση αλκοόλης, Περιορισμένη ζύμωση.

# ABSTRACT

## Beer with low or no alcohol

Fotis Malezidis

Department of Wine, Vine & Beverage Sciences,  
University of West Attica, 2021

The first non-alcoholic beer appeared in the United States in 1919, due to the ban. During this period, alcohol was outlawed by the country. The government had decided that the highest percentage of alcohol that the drink could have is 0.5% alcohol by volume (ABV). Even today, this is still the limit for non-alcoholic beverages in many countries.

It is very interesting that consumers liked this non-alcoholic beer. When the ban ended more than a decade later, this option remained on the market. Many American brands have created thin, light beers because of this consumer preference.

The process of making beer with low or no alcohol is quite similar to that of the alcoholic. Low or non-alcoholic beers are made by natural or biological methods.

In the present study the processes of brewing beer with low or no alcohol will be presented with biological methods for microbreweries without the need for additional investment in equipment. In recent years, brewers have become more creative in the way they remove alcohol. The only problem is reduced taste.

Over the past decade, low or non-alcoholic beer has gained renewed popularity in Europe, the United Kingdom and Canada, countries that consume huge amounts of beer. The new trend goal is to create a beer with low or no alcohol, which has the same taste as the classic beer. Consumers will be able to enjoy several low- or alcohol-free beers that look, taste and smell like their favorite beverage.

The ever-increasing interest in low or non-alcoholic beer will be the main motivation of brewers to create excellent beers with biological methods.

**Key words:** Beer, microbrewery, Low-alcohol beer, Alcohol-free beer, Dealcoholization, Limited fermentation.

# Βιβλιογραφικό CV

Φώτης Μαλεζίδης

Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών  
«Επιστήμη Οίνου και Ζύθου», κατεύθυνση: Ζύθος

**Τίτλος:** Τεχνολόγος Μηχανολόγος

**Επιστημονικό Πεδίο:** Μηχανολόγος Μηχανικός

**Βιογραφικά Στοιχεία:**

1987: Γενικός Εφαρμοστής στην εταιρεία SPC ΕΠΕ – Μηχανολογικές Κατασκευές

1988: Μηχανικός αυτοκινήτων στην εταιρεία BMW Βουδούρης ΕΠΕ

1989 έως σήμερα: Ελεγκτής Μηχανικός στην ΥΔΟΜ (Πολεοδομία) Ελληνικού-Αργυρούπολης

2016: Εταίρος σε Ιδιωτική Κεφαλαιουχική Εταιρεία ΑΣΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΖΥΘΟΠΟΙΪΑ ΙΚΕ με δ.τ. URBAN MICROBREWERY

**Προσωπικά Στοιχεία:** Έγγαμος με ένα (1) παιδί. Εκπαίδευση: Πτυχίο Τεχνολόγων Μηχανολόγων Μηχανικών της Σχολής ΑΣΤΕΜ του ΚΑΤΕΕ Πατρών (1985).

Εκπλήρωσε τις απαιτήσεις για το Μεταπτυχιακό Τίτλο Σπουδών Επιστήμη Οίνου & Ζύθου με κατεύθυνση: Ζύθος στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου & Ποτών, Ιούλιος 2021.

**ΕΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΟΣ:** Παναγιώτης Ταταρίδης



## Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	i
Βιβλιογραφικό CV .....	iii
Περιεχόμενα .....	iv
Κατάλογος Πινάκων .....	vi
Κατάλογος Εικόνων .....	vii
Κατάλογος Διαγραμμάτων.....	vii
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	1
1.1 ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΠΥΡΑΣ.....	2
1.1.1 Βυνοποίηση.....	2
1.1.1.1 Παραλαβή του κριθαριού .....	3
1.1.1.2 Διαβροχή.....	3
1.1.1.3 Βλάστηση .....	3
1.1.1.4 Ξήρανση .....	3
1.2 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΠΥΡΑΣ.....	11
1.2.1 Το νερό στο ζυθοποιείο .....	11
1.2.2 Λυκίσκος.....	12
1.2.3 Ζύμες.....	12
1.3 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΟΙ ΜΠΥΡΑΣ ΜΕ ΧΑΜΗΛΟ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ ΑΠΟ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΧΩΡΕΣ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΗΣ.....	14
2. Η ΜΠΥΡΑ ΜΕ ΧΑΜΗΛΟ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ ΣΤΗΝ ΑΓΟΡΑ .....	19
2.1.1 Ανάπτυξη της Αγοράς της μπύρας Craft - μικροζυθοποιία .....	26
2.2 Εμπορικές Μπύρες με Χαμηλό ή Χωρίς Αλκοόλ στην Αγορά.....	29
2.3 Ποιά η Συστασή τους (Θέματα Υγιεινής Διατροφής) .....	31
2.3.1 Βιταμίνες και μεταλλικά στοιχεία.....	32
2.3.2 Πρωτεΐνες και αμινοξέα.....	32
2.3.3 Φαινολικές ενώσεις .....	33
2.3.4 Άλλες ενώσεις .....	35
3. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΠΥΡΑΣ ΜΕ ΧΑΜΗΛΟ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ .....	36
4. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΖΥΘΟΥ ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ ή ΜΕ ΛΙΓΟ ΑΛΚΟΟΛ ΜΕ ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ .....	40
4.1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΠΥΡΑΣ ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ .....	40
4.1.1 Παραγωγή μπύρας χωρίς αλκοόλη με μεθόδους αφαίρεσης αιθανόλης.....	41
4.2 ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ.....	41
4.2.1 Μονάδα ανακαθαρισμού / απόσταξης υπό κενό (Vacuum rectification plant) .....	43
4.2.2 Εξατμιστές λεπτής μεμβράνης.....	44

4.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ.....	45
4.3.1 Διαπίδυση .....	45
4.3.2 Αντίστροφη ώσμωση .....	47
5. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΖΥΘΟΥ ΜΕ ΧΑΜΗΛΗ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛΗ (ΧΩΡΙΣ ΑΦΑΙΡΕΣΗ) .....	50
5.1 ΑΡΑΙΩΜΕΝΟ ΓΛΕΥΚΟΣ .....	50
5.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΛΤΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	50
5.3 Επιλεγμένες Ζύμες .....	61
5.3.1 Μπύρες με λίγο ή χωρίς αλκοόλ, από ζύμες <i>Non-Saccharomyces</i> .....	66
5.4 ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΖΥΜΩΝ .....	83
5.5 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΖΥΜΩΣΗΣ .....	84
5.5.1 Μέθοδος ζύμωσης περιορισμένου αλκοόλ.....	84
5.5.2 Διεργασία ψυχρής επαφής (Cold Contact Process ).....	86
5.5.3 Μείωση των ζυμώσιμων κλασμάτων σε μη ζυμώσιμα κλάσματα .....	92
5.5.4 Θέρμανση του εμβολιασμένου ζυθογλεύκου .....	92
5.5.5 Πίεση κατά τη ζύμωση .....	92
5.6 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ .....	93
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	101
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	105

## Κατάλογος Πινάκων

A/A	Τίτλοι πινάκων	Σελίδες
Πίνακας 1:	Μπύρες με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη (ratebeer)	29
Πίνακας 2:	Επιλεγμένες ιδιότητες της αρχικής μπίρας εισόδου και μπίρες χωρίς αλκοόλη που λαμβάνονται με διόρθωση κενού και μετά από επεξεργασία με ανακατεύθυνση αρώματος και ανάμειξη με 6% krausen	43
Πίνακας 3:	Επιλεγμένες ιδιότητες της αρχικής μπίρας εισαγωγής και μπίρες χωρίς αλκοόλ που λαμβάνονται με διάλυση και αντίστοιχη όσμωση	50
Πίνακας 4:	Παραλλαγές για πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας	54
Πίνακας 5:	Παραλλαγές της διαδικασίας πολτοποίησης έγχυσης	55
Πίνακας 6:	Συγκέντρωση γλυκόζης, φρουκτόζης και μαλτόζης στο εργαστηριακό γλεύκος που λαμβάνεται με πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας	56
Πίνακας 7:	Παράμετροι της εργαστηριακής μπίρας μετά από επτά μέρες ζύμωσης εργαστηριακού ζυθογλεύκου που λαμβάνεται με πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας	58
Πίνακας 8:	Συγκεντρώσεις γλυκόζης, φρουκτόζης και μαλτόζης σε εργαστηριακό γλεύκος που λαμβάνεται με μια διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης	61
Πίνακας 9:	Παράμετροι της εργαστηριακής μπίρας που ελήφθησαν μετά από επτά ημέρες ζύμωσης ενός εργαστηριακού γλεύκου που ελήφθη με μια διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης	61
Πίνακας 10:	Η επίδραση του τύπου ζύμης και της οξίνισης του γλεύκου στη σύνθεση μπίρας χωρίς αλκοόλ	64
Πίνακας 11:	Τα στελέχη <i>Saccharomycodes ludwigii</i> σε υποστρώματα γλεύκου	69
Πίνακας 12:	Η επίδραση του τύπου ζύμης και της θερμοκρασίας ζύμωσης στη σύνθεση μπίρας χωρίς αλκοόλ	85
Πίνακας 13:	Συγκεντρώσεις ζύμωσης ζάχαρης (g/100 g) στο γλεύκος και σε μπίρα χωρίς αλκοόλη που παράγεται από ακινητοποιημένη μαγιά / CCP	86
Πίνακας 14:	Συγκεντρώσεις ζύμωσης ζάχαρης (g/100 g) στο γλεύκος και σε μη αλκοολούχα μπίρα που παράγεται από ακινητοποιημένη μαγιά / CCP	93
Πίνακας 15:	Μπύρες χωρίς αλκοόλ που λαμβάνονται με διαφορετικές τεχνολογίες παραγωγής	104

## Κατάλογος Εικόνων

<b>A/A</b>	<b>Τίτλοι εικόνων</b>	<b>Σελίδες</b>
Εικόνα 1:	Διαδικασία βύνης και παρασκευής	10
Εικόνα 2:	Διαδικασία παρασκευής ζύμωσης και ζύμωση φιαλών	13
Εικόνα 3:	Μέση βαθμολογία μύρας με διαφορετικές τιμές ABV (αλκοόλ κατ'όγκο)	36
Εικόνα 4:	Το σχήμα των πιο κοινών μεθόδων παραγωγής μύρας χωρίς αλκοόλη	41
Εικόνα 5:	Διάγραμμα ροής της αφαίρεσης αλκοόλ μύρας με διαπίδυση	46
Εικόνα 6:	Εμπορική συσκευασία SafBrew LA-01	62
Εικόνα 7:	Ζύμη <i>non-Saccharomyces</i> από την εταιρεία Chr. Hansen με το προϊόν NEER	76
Εικόνα 8:	Scanning-electron micrograph of yeast cells immobilized on a carrier particle. Bar represents 10 $\mu\text{m}$ . In the yeast immobilized system, the yeast forms a colony on the carrier material. The growth rate in the bioreactor depends on the temperature.	90
Εικόνα 9:	Σύστημα αποστειρωτικής διήθησης	93
Εικόνα 10:	Τα φίλτρα PREPOR NG του Parker Bioscience Filtration	98
Εικόνα 11:	Συνοπτική σύγκριση flash παστερίωσης έναντι αποστειρωτικής διήθησης	100

## Κατάλογος Διαγραμμάτων

<b>A/A</b>	<b>Τίτλοι εικόνων</b>	<b>Σελίδες</b>
Διάγραμμα 1:	Πληροφορίες για την αγορά ζύθων χωρίς αλκοόλη	20
Διάγραμμα 2:	Μερίδιο αγοράς μύρας με λίγη ή χωρίς αλκοόλη, Δυτ. Ευρώπη	20
Διάγραμμα 3:	Μέθοδος ελέγχου πολτοποίησης	53
Διάγραμμα 4:	Πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας	53
Διάγραμμα 5:	Πολτοποίηση με τη μέθοδο της έγχυσης	54
Διάγραμμα 6:	Εκχύλισμα γλεύκους πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας	55
Διάγραμμα 7:	Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων με πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας	56
Διάγραμμα 8:	Σύγκριση τάσεων για το σχηματισμό σακχάρων σε σταθερή θερμοκρασία	56
Διάγραμμα 9:	Εκχύλισμα γλεύκους με πολτοποίηση έγχυσης	58
Διάγραμμα 10:	Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων	58
Διάγραμμα 11:	Σύγκριση τάσεων αναγωγικών-ζυμώσιμων σακχάρων	58

## Συντμήσεις, ακρωνύμια, σύμβολα και ορισμοί

SCC	Στήλη περιστρεφόμενων κώνων - Spinning cone column
RO	Αντίστροφη ώσμωση (Reversed Osmoses)
CCP	Διεργασία ψυχρής επαφής (Cold Contact Process)
BSG	Brewer's spent grain (βυνουπολείμματα)
KGD	2-κετογλουταρική αφυδρογονάση (2 ketoglutarate dehydrogenase)
FUM	Φουμαράση – fumarase
TCA	Κύκλος τρικαρβοξυλικού οξέος
MFC	Μικροβιολογικές κυψέλες καυσίμου (microbial fuel cells)
% (v/v) of alcohol	Συγκέντρωση αλκοόλης κατ'όγκο-Alcohol concentration % by volume
°C	Βαθμοί Κελσίου-Celsius degree
°P	Βαθμοί Πλάτο-Plato degree
ADH	Αλκοολική αφυδρογονάση-Alcohol dehydrogenase
Ca	Ασβέστιο-Calcium
CO <sub>2</sub>	Διοξείδιο του άνθρακα-Carbon dioxide
DMS	Διμεθυλοσουλφίδιο-Dimethyl sulfide
EBC	Ευρωπαϊκή Σύμβαση Ζυθοποιίας-European Brewing Convention
EBU	Ευρωπαϊκή Μονάδα Πικρότητας-European Bitterness Unit
EU	Ευρωπαϊκή Ένωση-European Union
g	Γραμμάριο-Gram
h	Ωρα-Hour
HG	Υψηλή πυκνότητα-High gravity
hPa	hectopascal
HPLC chromatography	Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης-High-performance liquid chromatography
ml	Χιλιοστόλιτρο-Milliliter
n.d.	Δεν είναι ανιχνεύσιμο-Not detectable
N <sub>2</sub>	Άζωτο-Nitrogen
NAD	δινουκλεοτίδιο νικοτιναμδικής αδενίνης -Nicotinamide adenine dinucleotide
NADP	φωσφορικό δινουκλεοτίδιο νικοτιναμδικής αδενίνης adenine dinucleotide phosphate
ppb	Μέρη ανά δισεκατομμύριο-Parts per billion
ppm	Μέρη ανά εκατομμύριο -Parts per million
<i>S. ludwigii</i>	<i>Saccharomyces ludwigii</i>
SHG	Εξαιρετικά υψηλή πυκνότητα-Super high gravity
wt%	Ποσοστό κατά βάρος-Percent in weight

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η μύρα είναι ένα ποτό που παρασκευάζεται κυρίως από βύνη, λυκίσκο, νερό και μαγιά και αποτελεί ένα από τα πιο δημοφιλή ποτά παγκοσμίως (Catarino, 2006). Η δημοτικότητα της οφείλεται τόσο στα ευχάριστα αισθητικά χαρακτηριστικά της, όσο και στα ευνοϊκά διατροφικά και ωφέλιμα για την υγεία χαρακτηριστικά της. Επίσης στην επιλογή της μύρας συμβάλει και το χαμηλό κόστος της, σε σχέση με άλλους τύπους αλκοολούχων ποτών σε Ευρώπη και Αμερική.

Η παρασκευή της ξεκινά από την αρχαιότητα, με την εμφάνιση εγγράφων που αποδεικνύουν ότι στην αρχαία Βαβυλωνία παρασκεύαζαν ζύθο από το 6000 π.Χ. (Kunze, 2004). Σύμφωνα με καθιερωμένα έγγραφα, πολλοί τύποι μύρας και ποτών τύπου μύρας από διαφορετικούς κόκκους δημητριακών παρασκευάστηκαν βιομηχανικά σε αρχαίες χώρες, όπως η Αίγυπτος, η Κίνα, και η Ινδία (Kunze, 2004).

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες στην παρασκευή ζύθου, που επηρεάζει το τελικό προϊόν είναι το νερό, καθώς αποτελεί το μεγαλύτερο σε ποσοστό συστατικό και χρησιμοποιείται για ζυθοποίηση, αραιώσεις, φιλτράρισμα, θέρμανση, παραγωγή ατμού, ανάκτηση ενέργειας, καθαρισμούς, καθώς και σε πολλά άλλα στάδια ψύξης και συσκευασίας (Kunze, 2004).

Αρχικά το διαθέσιμο νερό κάθε περιοχής επηρέασε τη δημιουργία των διαφορετικών στυλ μύρας, τα οποία αναπτύχθηκαν σε κάθε περιοχή. Η ανάπτυξη των μεγάλων ζυθοποιείων, συνδέεται στενά με τις εξελίξεις στην επεξεργασία νερού, καθώς η ποιότητα του διαφέρει, ακόμα και στην ίδια περιοχή.

Η σύσταση του νερού ζυθοποίησης επηρεάζει τη γεύση του τελικού προϊόντος, τα ιόντα του επηρεάζουν το pH και κατ' επέκταση τις ενζυμικές και μη αντιδράσεις και συνεπώς την εκχυλισματική απόδοση, αλλά και τη γεύση και τον χαρακτήρα του παραγόμενου προϊόντος. Τα ζυθοποιεία, τόσο στο παρελθόν, όσο και σήμερα κατασκευάζονται σε σημεία που υπάρχει πρόσβαση σε νερό (Eslinger, 2007).

Για να επιτευχθεί συγκεκριμένη γεύση στη μύρα, σε περιοχές που το νερό δεν είναι κατάλληλο για την παραγωγή συγκεκριμένου τύπου ζύθου, γίνεται επεξεργασία του νερού για να αλλάξει η σύστασή του σε ιόντα και το pH του και να γίνει κατάλληλο για το συγκεκριμένο στυλ. Για παράδειγμα, το σκληρό νερό του Μονάχου, του Λονδίνου και του Δουβλίνου, γέννησε το στυλ της σκούρας μύρας, όπως Porter, Stout, Dunkel,

εξισορροπώντας την υψηλή περιεκτικότητα σε όξινα ανθρακικά ιόντα του νερού με τη σκούρα βύνη (Eslinger, 2007).

Τα τελευταία χρόνια παρατηρήθηκε μια τάση, κυρίως στις μεγάλες πολυεθνικές εταιρείες μπίρας, αλλά και σε μικρότερες να παράγουν μπίρες με λίγο ή καθόλου αλκοόλ. Η τάση αυτή βρήκε ανταπόκριση από ένα μέρος του καταναλωτικού κοινού, είτε για λόγους θρησκείας, είτε για λόγους οδήγησης, είτε ακόμα και για λόγους συνήθειας, καθώς σε ορισμένες χώρες όπως η Ελλάδα, μέρος του πληθυσμού κατατάσσει τη μπίρα στα αναψυκτικά και όχι στα ποτά. Η τάση αυτή αυξάνεται ολοένα και περισσότερο και παρατηρούνται συνεχώς εμφανίσεις νέων ετικετών μπίρας χωρίς αλκοόλ.

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματεύεται την παραγωγή μπίρας με λίγο ή χωρίς αλκοόλ και τους τρόπους με τους οποίους ένα μικροζυθοποιείο μπορεί να παρασκευάσει ένα τέτοιο προϊόν. Οι τρόποι παρασκευής ποικίλλουν, αλλά τα βασικά στάδια είναι παρόμοια.

## 1.1 ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΠΥΡΑΣ

### 1.1.1 Βυνοποίηση

Το κριθάρι, από όλα τα δημητριακά είναι το σιτηρό με τις καλύτερες τεχνολογικές ιδιότητες για την βυνοποίηση και ζυθοποίηση. Τα πλεονεκτήματα του είναι η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, το υψηλό ποσοστό υδατανθράκων, η χαμηλή συγκέντρωση λιπιδίων, η εύκολη και ελεγχόμενη βλάστηση του και η ποσότητα των ενζύμων που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της, η οποία είναι ευνοϊκή σε σχέση με τις ενζυμικές μετατροπές των ουσιών της βύνης που ακολουθούν. Τα λέπυρα του, τα οποία παραμένουν και μετά τη βυνοποίηση, χρησιμεύουν ως βοηθητική στοιβάδα διαύγασης του βυνογλεύκου. Για τη μείωση του κόστους παραγωγής, ως πηγή αμύλου χρησιμοποιούνται και άλλα αβυνοποίητα δημητριακά όπως ρύζι, αραβόσιτος, βρώμη, καλαμπόκι και σίκαλη. Τα στάδια της διαδικασίας βυνοποίησης είναι τα εξής (Kunze, 2004).(Εικόνα 1).

#### ***1.1.1.1 Παραλαβή του κριθαριού***

Κατά την παραλαβή γίνεται έλεγχος των προδιαγραφών καταλληλότητας του κριθαριού για βυνοποίηση. Περιλαμβάνονται μακροσκοπική εξέταση, χημικοτεχνικές αναλύσεις, ζύγιση, προκαθορισμός, αποθήκευση, καθαρισμός, ταξινόμηση κατά μέγεθος.

#### ***1.1.1.2 Διαβροχή***

Στο αποθηκευμένο κριθάρι, τα ένζυμα είναι πολύ λίγα, έχουν πολύ μειωμένη ενεργητικότητα, ή είναι ανενεργά. Η διαβροχή είναι η διαδικασία κατά την οποία, το εσωτερικό του κόκκου απορροφά νερό. Έτσι ενεργοποιείται το έμβριο και ξεκινά η παραγωγή ενζύμων και ξεκινά η διαδικασία της βλάστησης. Για να σχηματιστούν μεγάλες ποσότητες ενζύμων κατά τη βλάστηση και να γίνουν οι μετατροπές των αποθησαυριστικών ουσιών του σπόρου σε διάστημα λίγων ημερών (συνήθως 2-5 ημέρες), είναι απαραίτητη μία υγρασία 42-48% που προσδίδεται στη διαβροχή. Ο σπόρος πρέπει να τροφοδοτηθεί συγχρόνως με οξυγόνο για να αποφευχθεί ο αναερόβιος μεταβολισμός του, που οδηγεί σε παραγωγή αλκοόλης και θάνατο του εμβρύου (Kunze, 2004).

#### ***1.1.1.3 Βλάστηση***

Σκοπός του φυτού κατά τη βλάστηση είναι η ανάπτυξη του ριζιδίου και του βλαστιδίου με κατανάλωση των αποθησαυριστικών ουσιών του σπόρου. Σκοπός του βυνοποιού, κατά τη βλάστηση είναι η ενεργοποίηση και ο σχηματισμός ενζύμων (αμυλάσες, πρωτεάσες, γλυκανάσες, πεντοζανάσες, φωσφατάσες) με τη μικρότερη δυνατή απώλεια σε αποθησαυριστικές ουσίες του σπόρου. Απαραίτητη προϋπόθεση γι' αυτό είναι οι συνθήκες αερόβιου μεταβολισμού του σπόρου (Eslinger, 2007).

#### ***1.1.1.4 Ξήρανση***

Η βύνη που λαμβάνεται με την εκβλάστηση, υποβάλλεται σε ξήρανση ώστε να επιτευχθεί η διακοπή της κατανάλωσης των αποθησαυριστικών ουσιών και αδρανοποίηση των ενζύμων με απομάκρυνση της υγρασίας, χωρίς να προκληθεί καταστροφή των ενζύμων αυτών. Έτσι επιτυγχάνεται η σταθεροποίηση των χημικών και βιολογικών μεταβολών, οι οποίες έλαβαν χώρα κατά τη διαδικασία της βλάστησης και σχηματίζοντας χαρακτηριστικά αρώματα και χρωστικές ουσίες που προσδίδουν ιδιαίτερη γεύση, άρωμα και χρώμα στη μύρα που θα παραχθεί. Στο τελικό στάδιο της βυνοποίησης γίνεται κοσκίνισμα της ξηρής βύνης και απομακρύνονται άλλα ανεπιθύμητα συστατικά, όπως τα ριζίδια. Η μορφή του κριθαριού που έχει μερικώς βλαστήσει, είναι πλούσια σε ένζυμα και έχει ξηραθεί, ονομάζεται βύνη (Kunze, 2004).



### 1.1.2 Άλεση της βύνης

της πολτοποίησης. Μεγάλης σημασίας είναι ο βαθμός άλεσης, στην οποία υποβάλλεται η βύνη. Λεπτή άλεση συνεπάγεται περισσότερο αλεύρι και μικρά κομμάτια άλεσης, γεγονός το οποίο αυξάνει την εκχυλισματική απόδοση, αλλά δυσκολεύει τη διήθηση. Αυτό δίνει στο νερό ζυθοποίησης και στα ένζυμα γρηγορότερη και καλύτερη πρόσβαση στο άμυλο, το οποίο συνεπάγεται πιο γρήγορη μετατροπή, μεγαλύτερη ανάκτηση εκχυλίσματος (καλύτερο conversion efficiency) και μεγαλύτερη ικανότητα ζύμωσης του βυνογλεύκου. Εξαιτίας αυτού, οι ζυθοποιοί γενικά προτιμούν η βύνη να αλέθεται όσο πιο λεπτή επιτρέπει το σύστημα ζυθοποίησης τους (δοχεία διήθησης lauter). Κάποια εμπορικά ζυθοποιεία χρησιμοποιούν κονιορτοποιημένο grist αλλά πρέπει να χρησιμοποιήσουν φιλτρόπρεςσες (mash filters) αντί για lauter tuns, μιας και η κονιορτοποίηση του grist καταστρέφει και τα λέπυρα που είναι απαραίτητα ως στοιβάδα φιλτραρίσματος στα lauter tuns. Ενώ φαίνεται μια αύξηση στην ανάκτηση εκχυλίσματος στη λεπτή άλεση σε πειραματικές πολτοποιήσεις, δεν αποδεικνύεται επίδραση στην ικανότητα ζύμωσης (Kunze, 2004).

Μετά τη διαδικασία της βυνοποίησης, ακολουθεί η άλεση της βύνης για την αύξηση της επιφάνειας του αμύλου και την ευκολότερη δράση των ενζύμων. Ο τρόπος που παράγεται η αλεσμένη βύνη (grist) μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στην επίδοση

### 1.1.3 Πολτοποίηση

Αυτό το στάδιο είναι θεμελιώδες στην παραγωγική διαδικασία της μπύρας, καθώς η σύσταση του βυνογλεύκου προσδιορίζει και την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Η αλεσμένη βύνη αναμειγνύεται με ποσότητα ζεστού νερού (mashing). Μέσα σε αυτό το συνολικό μείγμα, γίνεται η εκχύλιση και διαλυτοποίηση του αμύλου και των υπόλοιπων διαλυτών συστατικών της βύνης. Αφού συντελεστεί και η σακχαροποίηση, το αλεσμένο μείγμα μεταφέρεται αλλού, όπου με ειδικούς μηχανισμούς διήθησης και έκπλυσης, διαχωρίζονται τα μη διαλυτά συστατικά από το επιθυμητό ζυθογλεύκος (Briggs, 2004).

Οι βασικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην πολτοποίηση είναι η αποικοδόμηση του αμύλου σε μικρές αλυσίδες, σε ζυμώσιμους και μη ζυμώσιμους υδατάνθρακες, των πρωτεϊνών σε αμινοξέα και η διάσπαση πεντοζανών και γλυκανίων. Οι ζυμώσιμοι αυτοί υδατάνθρακες θα μετατραπούν σε αλκοόλη και CO<sub>2</sub> κατά την διαδικασία της ζύμωσης σε μετέπειτα στάδιο. Οι μη ζυμώσιμοι θα συμβάλουν στο σώμα της μπύρας.

Η διαχείριση του θερμοκρασιακού προφίλ της διαδικασίας είναι ο βασικός μηχανισμός ελέγχου της έκτασης των τρεχόντων αντιδράσεων. Επηρεάζεται επίσης από το pH και

άλλες παραμέτρους, όπως την αναλογία νερού βύνης. Επιπλέον, οι υψηλές συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών, όπως τα β-γλυκάνια, στο προϊόν της πολτοποίησης, είναι γνωστό ότι προκαλούν προβλήματα στην ζυθοποίηση όπως χαμηλή εκχυλισματική απόδοση, κακή διαύγαση και διήθηση, θολώματα και δημιουργία γέλης (gel). Για αυτούς τους λόγους και επιθυμούμε την ελαχιστοποίηση τους στον προϊόν της πολτοποίησης (Briggs, 2004).

Συνεπώς ο βασικότερος σκοπός της διαδικασίας πολτοποίησης είναι να μεγιστοποιήσει την παραγωγή ζυμώσιμης ουσίας, μέσα σε λογικά πλαίσια. Εκτός όμως αυτών, και η συγκέντρωση των μη ζυμώσιμων υδατανθράκων, όπως οι δεξτρίνες, που παράγονται με την υδρόλυση του αμύλου στο προϊόν της πολτοποίησης, επηρεάζουν τον οργανοληπτικό χαρακτήρα της μύρας (Briggs, 2004).

Επομένως, είναι σημαντικό να διατηρούμε την συγκέντρωση αυτών των στοιχείων σε ικανοποιητικά επίπεδα ώστε να εξασφαλίζουμε την ποιότητα του τελικού προϊόντος, δηλ. της μύρας. Η σημαντικότερη αντίδραση στην διαδικασία πολτοποίησης είναι η ενζυμική υδρόλυση του ζελατινοποιημένου αμύλου καθώς αυτή καθορίζει την παραγόμενη ποσότητα των ζυμώσιμων υδατανθράκων και συνεπώς το ποσοστό της αλκοόλης στο τελικό προϊόν (Briggs, 2004).

### ***1.1.3.1 Σκοπός της Πολτοποίησης***

Η μετατροπή των αδιάλυτων ουσιών της αλεσμένης πρώτης ύλης σε διαλυτές (όλες οι ουσίες που διαλύονται στον πολτό, αναφέρονται ως εκχύλισμα).

**Διαλυτές ουσίες:** σάκχαρα, δεξτρίνες, ανόργανες ουσίες και κάποιες αζωτούχες ουσίες (αμινοξέα, πεπτίδια, μικρές πρωτεΐνες), άλλες ουσίες, π.χ. φαινολικά.

**Αδιάλυτες ουσίες:** μεγάλοι πολυσακχαρίτες (άμυλο, κυτταρίνη), μεγαλομοριακές πρωτεΐνες και κάποιες ουσίες που θα παραμείνουν στο τέλος ως βυνουπολείματα.

Η πλήρης μετατροπή του αμύλου σε ζυμώσιμα σάκχαρα και δεξτρίνες. Σημασία εκτός από την ποσότητα έχει και η ποιότητα του εκχυλίσματος (π.χ. ταννίνες στα λέπυρα, είδος σακχάρων, αζωτούχων ουσιών, κ.λπ.) (Kunze, 2004).

### ***1.1.3.2 Η διαδικασία πολτοποίησης***

Η μύρα παράγεται με ανάμιξη αλεσμένης βύνης κριθαριού με ζεστό νερό στο δοχείο πολτοποίησης (mash tun) για να πραγματοποιηθεί η πολτοποίηση. Εκτός από την βύνη κριθαριού μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα σιτηρά όπως αραβόσιτος, σόργο, ρύζι και κριθάρι, σιτάρι ή καθαρό άμυλο που μπορούν να προστεθούν στην πολτοποίηση. Αυτά είναι γνωστά ως adjuncts (πρόσθετα) (Kunze, 2004).

Μια κλασική διαδικασία πολτοποίησης αποτελείται από διάφορα θερμοκρασιακά στάδια, καθένα εκ των οποίων ευνοεί διαφορετικές ενζυμικές δράσεις.

Η χαμηλή θερμοκρασία των (45<sup>0</sup>C) είναι η βέλτιστη θερμοκρασία δράσης για τα ένζυμα αποικοδόμησης των τοιχωμάτων, τις β-γλυκανάσες. Οι πρωτεάσες δρουν καλύτερα στους 45-50<sup>0</sup>C, η β-αμυλάση στους 63<sup>0</sup>C και η α-αμυλάση στους 72<sup>0</sup>C. Το τελευταίο βήμα στην πολτοποίηση είναι η απενεργοποίηση των ενζύμων στους 76-78<sup>0</sup>C. Εάν τα β-γλυκάνια και οι πρωτεΐνες έχουν αποικοδομηθεί επαρκώς κατά την βυνοποίηση, απλή-μονή θερμοκρασιακή πολτοποίηση στους 63-72<sup>0</sup>C (συνήθως 63-68<sup>0</sup>C) δείχνει να είναι αρκετή, όπως στην περίπτωση των παραδοσιακών ζύθων ale (Kunze, 2004).

### ***1.1.3.3 Προγράμματα Πολτοποίησης***

Στα διάφορα συστήματα πολτοποίησης για την αποικοδόμηση των ουσιών της βύνης, ο Ζυθοποιός, έχει στη διάθεσή του, εκτός από τα βιοχημικά μέσα (ένζυμα) και φυσικά μέσα.

#### **Πρόγραμμα πολτοποίησης χωρίς βρασμό (infusion, single step & multi step).**

Η θερμοκρασία όλου του πολτού αυξάνεται σταδιακά και παραμένει για ορισμένο χρόνο στις βέλτιστες θερμοκρασίες δράσης των ενζύμων (Kunze, 2004).

**Πρόγραμμα πολτοποίησης με βρασμό (decoction)** για μέρος του πολτού, ο οποίος προστίθεται πάλι στο δοχείο πολτοποίησης. Υπάρχουν πολλά συστήματα με 1 βρασμό, με 2 βρασμούς, με 3 βρασμούς. Τα συστήματα με βρασμό, χρησιμοποιούνται για βύνες χωρίς πολλά ένζυμα, όταν επιζητείται μεγαλύτερη διαλυτοποίηση ουσιών και κυρίως για την πολτοποίηση πρόσθετων αβυνοποίητων σιτηρών. Απαιτούνται δυο δοχεία πολτοποίησης, σχηματίζονται περισσότερες χρωστικές ενώσεις, καταναλώνεται περισσότερη ενέργεια. Όταν χρησιμοποιείται μόνο ένα δοχείο πολτοποίησης, σχηματίζονται λιγότερες χρωστικές ουσίες (Kunze, 2004).

#### **Ειδικά συστήματα πολτοποίησης**

Σύστημα πολτοποίησης με υπερπήδηση του χρόνου παραμονής στους 62 °C (παραγωγή βυνογλεύκους με χαμηλό ζυμώσιμο εκχύλισμα, για μπύρες με χαμηλό αλκοολικό τίτλο). Σύστημα πολτοποίησης με μεγάλο χρόνο παραμονής στους 62 °C (παραγωγή βυνογλεύκους με υψηλό ζυμώσιμο εκχύλισμα, για μπύρες με υψηλό βαθμό ζύμωσης) (Kunze, 2004).

### 1.1.4 Βρασμός

Ο βρασμός του ζυθογλεύκου είναι ίσως το στάδιο της διαδικασίας παρασκευής που είναι λιγότερο κατανοητό όσον αφορά τις αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα. Υπάρχει γενική αποδοχή ότι τα κριτήρια που αναμένεται να πληρούνται πρέπει να περιλαμβάνουν απομάκρυνση πτητικών, ισομερισμό α-οξέων, μετουσίωση πρωτεϊνών και κροκίδωση, παστερίωση, απενεργοποίηση ενζύμων, σχηματισμό γεύσεων, αρωμάτων, χρώματος και συμπύκνωση με εξάτμιση. Συνήθως το ζυθογλεύκος βράζεται για 60-90 λεπτά με την προσθήκη λυκίσκου (Kunze, 2004).

Απαιτείται έντονος βρασμός με κοχλασμό. Η υπερθέρμανση θα πρέπει να αποφεύγεται καθώς θα επηρεάσει αρνητικά την κατακράτηση αφρού, θα «κάψει» και θα καραμελώσει τα σάκχαρα και θα οδηγήσει στο σχηματισμό συνήθως ανεπιθύμητων γεύσεων (Andrews, 2003; Kunze, 2004).

Οι κύριες λειτουργίες του βρασμού του γλεύκου μαζί με τις παραμέτρους που πιστεύεται ότι τις επηρεάζουν είναι οι εξής: δημιουργεί βιολογική σταθερότητα, παστερίωση - καταστροφή βλαστικών μορφών κυττάρων/ζυμών & βακτηρίων, κροκίδωση ενζύμων - οριστικοποίηση της επιθυμητής σύστασης ζυθογλεύκου. Με τον έντονο βρασμό πετυχαίνουμε, ανάδευση, ενσωμάτωση και διάλυτοποίηση πικρικών ουσιών λυκίσκου - χουμουλόνη (isohumulone, isocohumulone and isoadhumulone), α-πικρικά οξέα (κυρίως) και λουπουλόνη, β-πικρικά οξέα (μερικώς) και ισομερίωση των α-οξέων. Τα ίσο α-οξέα είναι 9 φορές πιο πικρά από τα β-οξέα. Έχουμε εξάτμιση άσχημων πτητικών οσμών, π.χ. μετατροπή S-methyl-methionine σε DMS ( $\text{CH}_3\text{-S-CH}_3$ ), για να φύγει από το δοχείο – απαιτείται έντονος βρασμός. Έχουμε κροκίδωση πρωτεϊνών - καταστροφή ενζύμων (έντονος βρασμός καλή δημιουργία trub). Προσδίδοντας θερμότητα έχουμε, με περίσσια  $\text{Ca}^{+2}$ -μείωση  $\text{H}_2\text{PO}_4 \gg \gg$  δημιουργία  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  μείωση pH, pH ~5,2 ισοηλεκτρικό σημείο – κροκίδωση πρωτεϊνών & σύμπλοκα με πολυφαινόλες (hot break), και αύξηση χρώματος (Kunze, 2004) (Βλέπε Εικόνα 1).

### 1.1.5 Απομάκρυνση θερμού ιζήματος (hot trub)

Αμέσως μετά το βρασμό του βυνογλεύκου, πρέπει να απομακρυνθούν τα κροκιδώματα του θερμού ιζήματος (hot break) για να μη μεταβληθεί η δομή. Αυτό γίνεται με την περιδύνηση (whirlpool) ή με φιλτρόπρεσσες. Το Whirlpool χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό του θερμού ιζήματος. Γίνεται σε ένα κυλινδρικό δοχείο, στο οποίο το

ζυθογλεύκος μετά το βρασμό εισέρχεται εφραπτομενικά. Έτσι δημιουργείται μια περιστροφική ροή, η οποία έχει ως αποτέλεσμα το θερμό ίζημα να συγκεντρώνεται στο κέντρο του πυθμένα του δοχείου σε μορφή κώνου. Ιδιαίτερη σημασία έχει η είσοδος του θολού ζυθογλεύκου εφραπτομενικά των τοιχωμάτων του δοχείου Whirlpool και με ταχύτητα <math>< 5\text{m/sec}</math> και όσο το δυνατόν χωρίς στροβιλισμό (όχι τυρβώδη, αλλά στρωτή ροή) για καλύτερο διαχωρισμό και για να μην καταστρέφεται η δομή των κροκιδωμάτων του ιζήματος από τις δυνάμεις διάτμησης. Ο χρόνος παραμονής του ζυθογλεύκου στο Whirlpool είναι περίπου 15-20 λεπτά. Όταν η ιζηματοποίηση έχει ολοκληρωθεί και το ίζημα έχει συγκεντρωθεί στο κέντρο υπό τη μορφή κώνου, αρχίζει η απομάκρυνση του διαυγούς ζυθογλεύκου από εξόδους που βρίσκονται στα πλάγια, πλησίον των πλευρικών τοιχωμάτων. Πρέπει να δοθεί μεγάλη προσοχή στην ταχύτητα απορροής, ώστε να μην καταρρεύσει (καταστραφεί) η κατασκευή του κώνου (Kunze, 2004).

### **1.1.6 Ψύξη – Απομάκρυνση ψυχρού ιζήματος (cold break)**

Μετά την απομάκρυνση του θερμού ιζήματος, το ζυθογλεύκος ψύχεται στη θερμοκρασία εμβολιασμού, και προστίθεται αέρας. Με την ψύξη, επιτυγχάνεται: η ρύθμιση της θερμοκρασίας ζύμωσης, ακολουθεί ο κορεσμός του ζυθογλεύκου με οξυγόνο και η και η ελεγχόμενη απομάκρυνση του ψυχρού ιζήματος (μέγεθος σωματιδίων 0,5-1,0 $\mu$ ). Σήμερα, η μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την αφαίρεση του ψυχρού θολώματος είναι η φυγοκέντριση ή η επίπλευση.

Κατά την επίπλευση τα μικρά σωματίδια του ιζήματος, έχουν την ιδιότητα να τοποθετούνται εύκολα επάνω σε φυσαλίδες αέρα κατά την πορεία τους μέσω του ζυθογλεύκου προς την επιφάνεια. Ο στόχος είναι: ολική απομάκρυνση του θερμού ιζήματος, μερική απομάκρυνση (50-65%) του ψυχρού ιζήματος, το οποίο συνεισφέρει στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της μύρας.

Εάν δεν απομακρυνθεί μερικώς το ψυχρό ίζημα, τα σωματίδιά του τοποθετούνται πάνω στα κύτταρα της ζύμης μειώνουν την επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης μέσω της οποίας διέρχονται οι μεταβολίτες. Το αποτέλεσμα είναι μείωση της ταχύτητας της ζύμωσης. Έτσι, με την ολική απομάκρυνση του θερμού ιζήματος και την μερική απομάκρυνση του ψυχρού ιζήματος, επιτυγχάνεται αφ' ενός ταχύτερη ζύμωση και ωρίμανση, αφ' ετέρου η μύρα “κρατάει” την ολοκληρότητα της γεύσης της.

Από την ψύξη και μετά πρέπει να επικρατούν ασηπτικές συνθήκες για την αποφυγή επιμολύνσεων (Eslinger, 2007) .

### **1.1.7 Ζύμωση**

Κύρια διεργασία κατά τη ζύμωση είναι η ανάπτυξη της ζύμης με κατανάλωση του ζυμώσιμου εκχυλίσματος και παραγωγή αιθυλικής αλκοόλης και CO<sub>2</sub>. Κατ' αυτήν τη διεργασία σχηματίζονται και τα δευτερεύοντα προϊόντα του μεταβολισμού της ζύμης τα οποία από μόνα τους, ή συνεργατικά επηρεάζουν σημαντικά το άρωμα, την γεύση και τα άλλα ποιοτικά κριτήρια του ζύθου, επιθυμητά και μη επιθυμητά, που έχουν μεγάλη επίδραση στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του ζύθου (Βλέπε Εικόνα 2). Τα κυριότερα δευτερεύοντα προϊόντα είναι οι εστέρες, ανώτερες αλκοόλες, αλδεΐδες, διακετύλιο, θειούχες ενώσεις. Οι αρωματικές ουσίες της βύνης και του λυκίσκου συμβάλουν επίσης κατά πολύ, στον αρωματικό χαρακτήρα (μπουκέτο) του ζύθου που θα παραχθεί (Smart, 2003).

Με τη διαδικασία της ζύμωσης επιτυγχάνουμε την σταθεροποίηση του ζύθου μέσω της μείωσης των αφομοιώσιμων σακχάρων, αζωτούχων ουσιών & άλλων θρεπτικών (για παρεμπόδιση επιμολύνσεων) (Smart, 2003).

### **1.1.8 Ωρίμανση (Πράσινη μύρα)**

Με το τέλος της διαδικασίας ζύμωσης ξεκινά η ωρίμανση. Αυτό γίνεται παρουσία ζυμών, για πλήρη ζύμωση του εναπομείναντος ζυμώσιμου εκχυλίσματος και φυσικός κορεσμός της μύρας με CO<sub>2</sub>. Έτσι επιτυγχάνεται σχηματισμός επιθυμητών αρωματικών ενώσεων και αποικοδόμηση μη επιθυμητών, αύξηση της γευστικής αρμονίας της μύρας, και φυσική σταθεροποίηση της μύρας.

Τα κύρια και δευτερεύοντα προϊόντα του μεταβολισμού της ζύμης κατά τη ζύμωση και την ωρίμανση, καθορίζουν σημαντικά τον οργανοληπτικό χαρακτήρα της μύρας (Βλέπε Εικόνα 2). Η ζύμωση, πρέπει να γίνει σε θερμοκρασίες ανάλογες με το είδος της μαγιάς. Όταν η ζύμωση και η ωρίμανση γίνονται σε σωστές θερμοκρασίες σχηματίζονται κατάλληλες ποσότητες προϊόντων μεταβολισμού με θετική επίδραση στον οργανοληπτικό χαρακτήρα της μύρας και την ολοκληρότητα της γεύσης. Αν και μέχρι σήμερα η ολοκληρότητα της γεύσης της μύρας δεν μπορεί να ελέγχει αναλυτικά, έχει αποδειχθεί ότι για την παρασκευή μύρας ιδιαίτερα υψηλών απαιτήσεων γεύσης, είναι πολύ σημαντικός ο έλεγχος και η διαχείριση της σωστής θερμοκρασίας της ζύμωσης και της ωρίμανσης του ζύθου. Οι μαγιές Lager χρησιμοποιούνται σε

θερμοκρασίες από 8°C έως 14°C. Οι μαγιές ale χρησιμοποιούνται σε υψηλότερες θερμοκρασίες συνήθως ανάμεσα σε 18°C και 22°C (Eslinger, 2007).

Επίσης, με την ψύξη επιτυγχάνουμε την διαύγαση της μύρας με καθίζηση των ζυμών (Kunze, 2004). Η διαύγαση (clarification) συνίσταται στην εξάλειψη, με τη χρήση βοηθητικών υλικών και διήθησης, των ανεπιθύμητων ενώσεων μύρας, όπως κολλοειδών πρωτεΐνης-πολυφαινόλης, προκειμένου να αυξηθεί η σταθερότητα της μύρας (Εικόνα 2). Αφού φιλτραριστεί, η μύρα συσκευάζεται, χρησιμοποιώντας διαφορετικά δοχεία συσκευασίας όπως φιάλες, κουτιά ή βαρέλια. Η βιολογική σταθεροποίηση αποτελείται από τη μικροβιοκρατή διήθηση και την παστερίωση της μύρας, η οποία στοχεύει στη μείωση της μικροβιακής παρουσίας στη μύρα (Kunze, 2004).

Οι βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή της μύρας είναι τέσσερις: νερό, μαγιά, λυκίσκος και βύνες δημητριακών.



Εικόνα 1: Διαδικασία βύνης και παρασκευής. Πρώτα βήματα προετοιμασίας και προετοιμασίας ζυθογλεύκους. (Callejo, *et al.*, 2017).

## 1.2 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΠΥΡΑΣ

### 1.2.1 Το νερό στο ζυθοποιείο

Είναι το μεγαλύτερο σε ποσοστό και ποσότητα συστατικό για την παραγωγή ζύθου. Χρησιμοποιείται για: την ζυθοποίηση, για αραιώσεις, για φιλτράρισμα, για την θέρμανση, την παραγωγή ατμού, για ανάκτηση ενέργειας, για καθαρισμούς, για άλλα στάδια επεξεργασίας, για την ψύξη (μόνο του ή με ψυκτικά υγρά-γλυκόλη), για την συσκευασία, κ.λπ. Αρχικά το διαθέσιμο νερό κάθε περιοχής επηρέασε τη δημιουργία των διαφορετικών στυλ μπίρας τα οποία αναπτύχθηκαν σε κάθε περιοχή. Η ανάπτυξη των μεγάλων ζυθοποιείων συνδέεται στενά με τις εξελίξεις στην επεξεργασία νερού, καθώς η ποιότητα του διαφέρει, ακόμα και στην ίδια περιοχή (Eslinger, 2007).

Ανάλογα με την προέλευση το νερό μπορεί να είναι:

- Δημοτικό νερό (όχι πάντα από σταθερή πηγή υδροληψίας)
- Γεώτρηση (υπόγειο)
- Πηγή (επιφανειακό)
- Βρόχινο
- Επεξεργασμένο νερό αποβλήτων

Απαιτήσεις Ποιότητας: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά, Διαβρωτική ικανότητα, Απαιτήσεις σύστασης για κάθε τύπο ζύθου, κ.ά.

**Επιφανειακό νερό.** Είναι συνήθως χαμηλό σε ιχνοστοιχεία, υψηλό σε οργανικές ενώσεις, απαιτείται φιλτράρισμα με ενεργό άνθρακα για αφαίρεση οσμών. Εύκολο στην προσθήκη/ρύθμιση σε ιχνοστοιχεία.

**Υπόγειο νερό.** Είναι συνήθως υψηλό σε διαλυμένα ιχνοστοιχεία και αλκαλικότητα, συνήθως χαμηλό σε οργανικές ενώσεις, ανάλογα με την συστασή του, μπορεί να απαιτεί επεξεργασία με ιοντοανταλλακτικές ρητίνες, αντίστροφη ώσμωση για τη μείωση της αλκαλικότητας. Η σύσταση νερού ζυθοποίησης επηρεάζει τη γεύση του τελικού προϊόντος, τα ιόντα του επηρεάζουν το pH και κατ' επέκταση τις ενζυμικές και μη αντιδράσεις και κατά συνέπεια την εκχυλισματική απόδοση, αλλά και τη γεύση και τον χαρακτήρα του παραγόμενου προϊόντος (Ταταρίδης 2018).



### 1.2.2 Λυκίσκος

*Humulus lupulus* (κοινός λυκίσκος) είναι ένα είδος ανθοφόρων φυτών της οικογένειας Cannabaceae, προέρχεται από την Ευρώπη, τη δυτική Ασία και τη Βόρεια Αμερική. Είναι δίοικο, πολυετές, ποώδες αναρριχητικό φυτό που βγάζει νέους βλαστούς νωρίς την άνοιξη και το φθινόπωρο έχει ήδη σχηματίσει σκληρό ρίζωμα (Briggs, 2004).

Ο λυκίσκος είναι ένα κύριο συστατικό ζύθων, και ως εκ τούτου καλλιεργείται ευρέως για χρήση από τη βιομηχανία ζυθοποιίας.

Προσδίδει στην μύρα πικρικές και αρωματικές ουσίες, έχει επίσης συντηρητικές ιδιότητες. Έτσι συμβάλει κύρια στη γευστική και αρωματική αρμονία, και στη βιολογική και γευστική σταθερότητά της μύρας. Χαρακτηρίζεται ως πράσινος χρυσός της ζυθοποίησης.

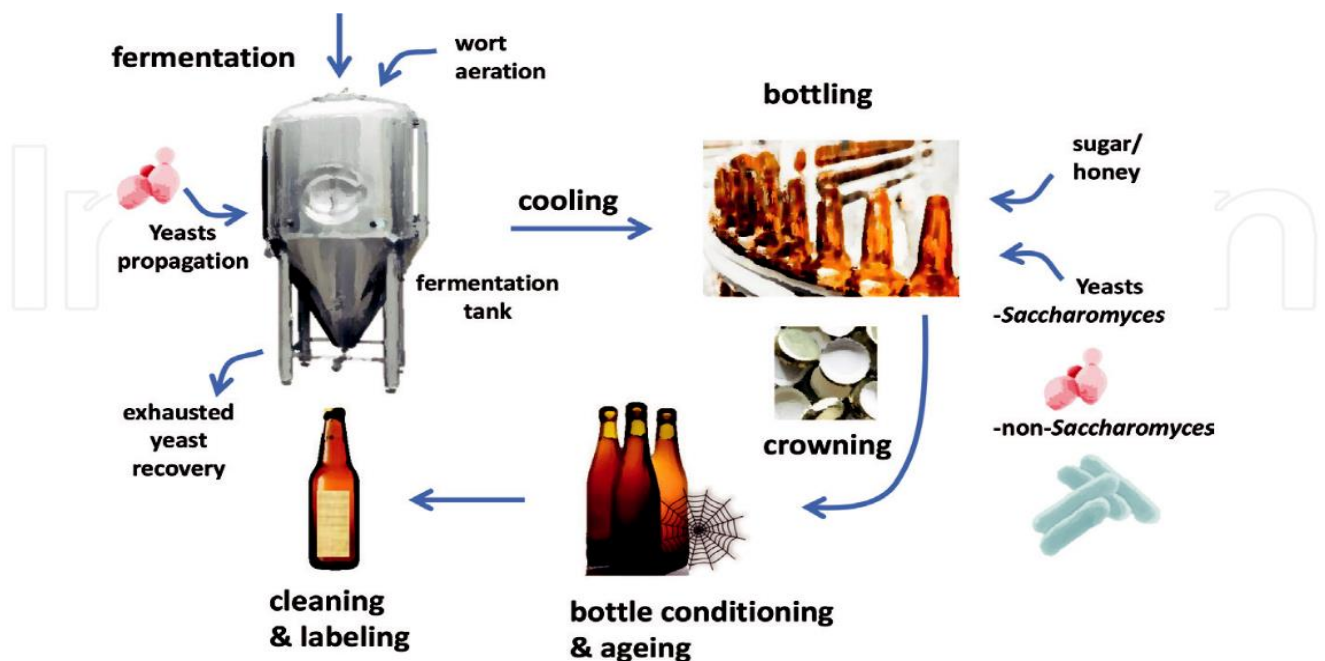
Υπάρχουν εκατοντάδες ποικιλίες λυκίσκου σε χρήση σε όλο τον κόσμο. Μερικές διαφοροποιούνται από τα αγρονομικά τους χαρακτηριστικά, μερικές από τη χρήση τους στη ζυθοποιία. Σε πολλές παλαιότερες ποικιλίες λόγω των αλλαγών στη ζυθοποιία και στις συνήθειες των καταναλωτών έχει μειωθεί η καλλιέργειά τους. Παλιές ποικιλίες με καλές επιδόσεις σε συγκεκριμένες περιοχές, δεν έχουν προσαρμοστεί καλά σε σύγχρονης μεγάλης κλίμακας, εκτεταμένη παραγωγή λυκίσκου. Με την πάροδο των ετών, έχουν αναπτυχθεί και νέες ποικιλίες, που παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στις ασθένειες και τα ζιζάνια, και έχουν επίσης υψηλότερη παραγωγή άλφα οξέων. Οι ποικιλίες του λυκίσκου συνήθως χωρίζονται σε πικρικές, αρωματικές, διπλής χρήσεις και ευγενείς (Briggs, 2004).

### 1.2.3 Ζύμες

Εκτός από μερικές ζύμες που χρησιμοποιούνται σε ειδικές μύρες, οι ζύμες που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή μύρας ανήκουν στο γένος *Saccharomyces*.

Οι ζύμες είναι μύκητες που είναι κυρίως μονοκυτταρικοί και αναπαράγονται βλαστικά. Επί του παρόντος αναγνωρίζονται 10 είδη *Saccharomyces*: *S. bayanus*, *S. castelli*, *S. cerevisiae*, *S. dairensis*, *S. exiguous*, *S. kluyveri*, *S. paradoxus*, *S. pastorianus*, *S. servazii* και *S. unisporus* (Eslinger, 2007). Δύο τύποι ζύμης *Saccharomyces* εμπλέκονται στη ζύμωση μύρας, ζύμες ζύμωσης αφρού (ή ale) *S. cerevisiae* και ζύμες ζύμωσης πυθμένα (ή lager) *S. pastorianus*. Και τα δύο είδη ζύμης ανήκουν στα στενά συγγενή είδη *Saccharomyces sensu stricto*.

Από την άποψη της ζυθοποιίας, υπάρχουν πολλές διαφορές μεταξύ ζύμης ale και ζύμης lager με σημαντικές συνέπειες για τη διαδικασία παρασκευής. Οι περισσότερες διαφορές μεταξύ αυτών των δύο τύπων ζύμης είναι στην ικανότητα ζύμωσης, στο ρυθμό χρήσης σακχάρου, στην ανοχή στη θερμοκρασία, στα χαρακτηριστικά κροκίδωσης και στο προφίλ των πτητικών (Eslinger, 2007). Οι αφροζύμες παράγουν μύρες που είναι πιο φρουτώδεις και με εστέρες, ενώ οι βυθοζύμες παρέχουν στις μύρες ένα καθαρότερο και μερικώς θειώδες άρωμα (Eslinger, 2007). Ένας τρίτος τύπος ζύμωσης είναι η αυθόρμητη ζύμωση, αυτή γίνεται με επιμόλυνση του γλεύκους από ζύμες και βακτήρια της ατμόσφαιρας. Κύρια διεργασία κατά τη ζύμωση είναι η ανάπτυξη της ζύμης με κατανάλωση του ζυμώσιμου εκχυλίσματος και παραγωγή αιθυλικής αλκοόλης και CO<sub>2</sub>. Κατ' αυτήν τη διεργασία σχηματίζονται και τα δευτερεύοντα προϊόντα του μεταβολισμού της ζύμης, επιθυμητά και μη επιθυμητά, που έχουν μεγάλη επίδραση στον οργανοληπτικό χαρακτήρα της μπίρας. (Eslinger, 2007).



Εικόνα 2: Διαδικασία παρασκευής: ζύμωση και ζύμωση φιαλών (Callejo, *et al.*, 2017).

### 1.3 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΟΙ ΜΠΥΡΑΣ ΜΕ ΧΑΜΗΛΟ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ ΑΠΟ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΧΩΡΕΣ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΗΣ

Οι πληροφορίες που διαθέτουμε έχουν αναζητηθεί από το το BrewUp (<https://brewup.eu/documents/beer>) που αποτελεί την πύλη γνώσης των ζυθοποιών της Ευρώπης, το κεντρικό σημείο σε ευρωπαϊκό επίπεδο όπου οι ζυθοποιοί μπορούν να βρουν πληροφορίες, συμβουλές, δεδομένα, οδηγίες σχετικά με τις τεχνολογίες παρασκευής, τεχνικές παρασκευής, μάρκετινγκ, εμπορικές προβλέψεις και επιχειρηματικές πληροφορίες. Το BrewUp έχει αναπτυχθεί για να εξυπηρετεί τους ευρωπαίους ζυθοποιούς και να τους παρέχει δεδομένα και πληροφορίες που θα τους βοηθήσουν να αναπτύξουν την επιχείρησή τους και να βελτιώσουν τις δεξιότητές τους στην παρασκευή μπίρας.

Η τελευταία επικαιροποίηση των στοιχείων έγινε το 2017 και ενδεχομένως να μην είναι πλήρως ενημερωμένα ή πλήρη. Η Γραμματεία του BrewUp προσπαθεί να τα ενημερώσει το συντομότερο δυνατόν. Το έγγραφο όπως παρουσιάζεται επί του παρόντος στο BrewUp είναι η πιο ενημερωμένη έκδοση των ζυθοποιών της Ευρώπης όπως αυτό διατίθεται στην ιστοσελίδα τη δεδομένη στιγμή.

#### **Αυστρία**

- Μπίρα χωρίς αλκοόλη  $\leq 0,5\%$  ABV
- Ελαφριά μπίρα  $\leq 3,7\%$  ABV

#### **Βέλγιο**

- Μπίρα χωρίς αλκοόλη  $\leq 0,5\%$  ABV και πυκνότητα  $\geq 2,2$  ° Plato
- Σύμφωνα με το Βασιλικό διάταγμα της 31ης Μαρτίου 1993 για την μπίρα /αλκοόλ
- Μπίρα με χαμηλή αλκοόλη  $> 0,5\%$  ABV και  $\leq 1,2\%$  ABV και πυκνότητα  $\geq 2,2$  ° Plato
- Μπίρα με χαμηλή αλκοόλη ελαφριά 30% μείωση ενέργειας / θερμιδική τιμή  
Τα ποτά που ονομάζονται μπίρα χωρίς αλκοόλη αποτελούνται από μπίρα βύνης, ο αλκοολικός τίτλος της οποίας έχει κατ'όγκο μειωθεί σε 0,5% vol ή λιγότερο.

## **Βουλγαρία**

- Χωρίς αλκοόλ μύρα / παρασκευή, ή μη αλκοολούχα μύρα
- Μύρα χωρίς αλκοόλη / μύρα σημαίνει μύρα με περιεκτικότητα σε αλκοόλ κάτω του 0,5% abv.

Δεν υπάρχει ρητός νομικός ορισμός. Σύμφωνα με τη νομοθεσία περί ειδικών φόρων κατανάλωσης, η κανονική "μύρα" είναι οποιοδήποτε προϊόν που υπάγεται στον κωδικό ΣΟ 2203 ή οποιοδήποτε προϊόν που είναι μείγμα μύρας και αναψυκτικών που υπάγεται στον κωδικό ΣΟ 2206, και στις δύο περιπτώσεις με πραγματικό αλκοολικό τίτλο κατ'όγκο άνω του 0,5% vol.

Σύμφωνα με τη νομοθεσία περί ειδικών φόρων κατανάλωσης, η αλκοολούχος "μύρα" είναι οποιοδήποτε προϊόν που υπάγεται στον κωδικό ΣΟ 2203 ή οποιοδήποτε προϊόν που είναι μείγμα μύρας και αναψυκτικών που υπάγεται στον κωδικό ΣΟ 2206, και στις δύο περιπτώσεις με πραγματικό αλκοολικό τίτλο κατ'όγκο άνω του 0,5% vol.

## **Κροατία**

- Δεν υπάρχει αναφορά σε κάποιο στοιχείο.

## **Τσεχία**

- Για τη συγκεκριμένη χώρα μύρα χωρίς αλκοόλη σημαίνει μύρα με περιεκτικότητα όχι περισσότερο από 0,5% κατ'όγκο αλκοόλης (Ανακοίνωση 335/1997 Sb.).
- Μύρα με χαμηλή αλκοόλη είναι η μύρα με περιεκτικότητα άνω του 0,5% και όχι περισσότερο από 1,2% κατ'όγκο (Ανακοίνωση 335/1997 Sb.).

## **Δανία**

- Μύρα χωρίς αλκοόλη ή Ελαφριά μύρα" ή "Αρκετά Ελαφριά μύρα Light" ή "Χωρίς Αλκοόλ Pilsner "
  - Με μέγιστο  $\leq 0,5\%$  ABV
  - Μύρα με χαμηλή αλκοόλη ή ελαφριά ή ελαφριά Pilsner από 0,6%-2,7% ABV
- Στην κατευθυντήρια γραμμή του Υπουργείου Τροφίμων αναφέρεται ότι η περιεκτικότητα σε αλκοόλ σε ποτά που συνήθως περιέχουν αλκοόλ, θα πρέπει να είναι σχεδόν μηδενική, εάν το προϊόν ισχυρίζεται ότι δεν περιέχει αλκοόλ. Συνιστάται η περιεκτικότητα σε αλκοόλ να μην υπερβαίνει το 0,5% vol. Επιπλέον, εάν ένα προϊόν ισχυρίζεται ότι είναι «χωρίς αλκοόλη», πρέπει να αναγράφεται στην ετικέτα πόση αλκοόλη περιέχει το προϊόν.

## **Εσθονία**

- Δεν υπάρχει αναφορά σε κάποιο στοιχείο.

### **Φινλανδία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ με μέγιστο  $\leq 0,5\%$  ABV
- Μπύρα χαμηλής αλκοόλης "ελαφριά" (mild) 0,5-2,8% ABV (υπάρχει διαφορετική φορολογία στην μπύρα με 0,5%-2,8% ABV)
- Ελαφριά Μπύρα (Light) αυτή που έχει 30% λιγότερη ενέργεια/θερμίδες.

### **Γαλλία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ  $\leq 1,2\%$  ABV μετά από διαδικασία αφαίρεσης αλκοόλης ή την έναρξη μιας διαδικασίας ζύμωσης  
Décret n ° 92-307 du 31 mars 1992 ορίζει ότι το "bière sans alcool" είναι το (νόμιμο) όνομα μιας μπύρας που πληροί αυτά τα κριτήρια.

### **Γερμανία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ με μέγιστο  $\leq 0,5\%$  ABV
- Ελαφριά Μπύρα 30% μείωση αλκοόλ και / ή 30% μείωση της ενέργειας.

### **Ελλάδα**

Ειδικός Ζύθος που δεν έχει αλκοόλη ή έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη

- Μπύρα με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ: η αρχική πυκνότητα (OG) πρέπει να είναι τουλάχιστον 2<sup>0</sup> Plato και με περιεκτικότητα σε αλκοόλ μέγιστο 1,5% κατ' όγκο (ABV)
- Μπύρα χωρίς αλκοόλη είναι με περιεκτικότητα σε αλκοόλη μικρότερη από 0,5% κατ' όγκο (ABV)

### **Ουγγαρία**

- Ένα ποτό που ονομάζεται "μη αλκοολούχα μπύρα", φτιαγμένο από μπύρα βύνης αλλά με αλκοόλ  $\leq 0,5\%$  κατ' όγκο "

### **Ιρλανδία**

Ο ορισμός της μπύρας είναι το ποτό που φτιάχνεται από βύνη και έχει πάνω από 0,5% vol ABV, και περιλαμβάνει οποιαδήποτε ποτό άνω του 0,5% vol που περιέχει μείγμα μπύρας με μη αλκοολούχο ποτό. Δεν υπάρχει νομικός ορισμός της μπύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ.

### **Ιταλία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ  $\leq 1,2\%$  ABV

### **Λουξεμβούργο**

- Χωρίς Αλκοόλ. Η ένδειξη "χωρίς αλκοόλ" είναι μέρος της ονομασίας όταν τα ποτά έχουν ελάχιστη πυκνότητα 2,2° Plato και περιεκτικότητα σε αλκοόλ το πολύ 0,5% ABV
- Ελαφρώς αλκοολούχα ή Χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλη. Όταν τα ποτά έχουν αρχική πυκνότητα τουλάχιστον 2,2° Plato και περιεκτικότητα σε αλκοόλη άνω του 0,5% - 1,2% ABV

### **Ολλανδία**

- Χωρίς αλκοόλ  $\leq 0,1\%$  ABV και εκχύλισμα του γλεύκους τουλάχιστον 4%
- Χαμηλό αλκοόλ 0,1% -  $\leq 1,2\%$  ABV και εκχύλισμα του γλεύκους τουλάχιστον 4%
- Ελαφριά 30% λιγότερη θερμιδική αξία

### **Νορβηγία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ  $\leq 0,7\%$  ABV
- Ελαφριά Μπύρα  $\leq 0,7\%$  ABV & 2,5% ABV

### **Πολωνία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ  $\leq 0,5\%$  ABV
- Χαμηλό αλκοόλ 0,5% -1.2% ABV
- Ελαφριά Μπύρα 1.2% - 4.0% ABV
- Δυνατή Μπύρα  $> 6.0\%$  ABV

### **Πορτογαλία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ  $\leq 0,5\%$  ABV
- Χαμηλής αλκοόλης  $\geq 0.5\%$  &  $\leq 1.2\%$  ABV

### **Σλοβακία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ  $< 0,5\%$  ABV
- Χαμηλής αλκοόλης  $\geq 0.5\%$  &  $\leq 1.2\%$  ABV
- Ελαφριά Μπύρα Μέγιστο 130 kJ / 100 ml

### **Σλοβενία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ Μέγιστο 0,5 vol %
- Ελαφριά Μπύρα Μέγιστο 0,3 vol % αλκοόλη

### **Ισπανία**

- Χωρίς αλκοόλ  $< 1\%$  ABV
- Χαμηλής αλκοόλης 1-3% ABV
- Ελαφριά Μπύρα 30% ABV μείωση ενέργειας

### **Σουηδία**

- Χωρίς αλκοόλ < 0,5% ABV
- Χαμηλό αλκοόλ >2,25% ABV
- Μεσαία κατηγορία αλκοόλ >2,25% & ≤ 3.5% ABV
- Ελαφριά Μπύρα ≤ 3.0% ABV
- Μπύρα με χαμηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες 7,5 g / L θερμίδες και ≤4,5% ABV 8-9 ° Plato

### **Ελβετία**

- Μπύρα χωρίς αλκοόλ ≤ 0,5% ABV

### **Τουρκία**

- Χωρίς αλκοόλ ≤0.5% ABV
- Χαμηλό αλκοόλ 0.5 – 2.8% ABV
- Υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ >6.5% ABV

### **Ηνωμένο Βασίλειο**

Δεν πρέπει να εφαρμόζεται σε αλκοολούχα ποτά από την οποία έχει γίνει αφαίρεση αλκοόλης.

Χωρίς αλκοόλη: α) το ποτό έχει αλκοολικό τίτλο κατ' όγκο ≤0,05% vol και β) το ποτό φέρει σήμανση ή ετικέτα, με ένδειξη του μέγιστου αλκοολικού τίτλου του σύμφωνα με τον κανονισμό, ή ότι δεν περιέχει καθόλου αλκοόλη.

Εφαρμόζεται σε αλκοολούχα ποτά που έχει αφαιρεθεί η αλκοόλη

Χωρίς αλκοόλη: Δεν πρέπει να εφαρμόζεται σε οποιοδήποτε ποτό, εκτός εάν: 1) το ποτό, ως αλκοολούχο ποτό από το οποίο ήταν το αλκοόλ εκχυλίζεται, έχει αλκοολικό τίτλο κατ' όγκο όχι περισσότερο από 0,5 ABV και το ποτό φέρει την ένδειξη ή την ετικέτα μια ένδειξη του μέγιστος αλκοολικός τίτλος (σε ένα των εντύπων που καθορίζονται) στον κανονισμό.

"Χαμηλή αλκοόλη" ή οποιοδήποτε άλλο άλλη λέξη ή περιγραφή που υπονοεί ότι το ποτό περιγράφεται είναι χαμηλή σε αλκοολικό βαθμό. Δεν εφαρμόζεται σε αλκοολούχα ποτά εκτός: 1)το ποτό έχει αλκοολικό τίτλο κατ' όγκο όχι περισσότερο από 1,2% και 2) το ποτό φέρει σήμανση ή ετικέτα με ένδειξη του μέγιστου αλκοολικού τίτλου (σε ένα από τα έντυπα που καθορίζονται) αμέσως πριν από τις λέξεις "όχι περισσότερο από").

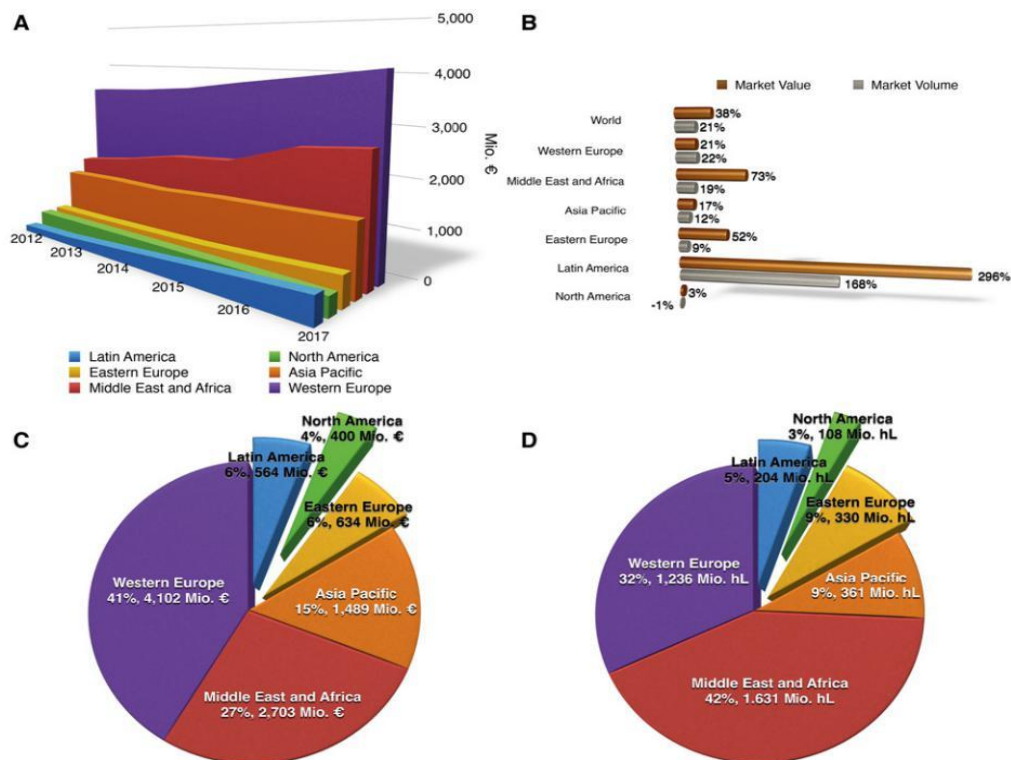
## **2. Η ΜΠΥΡΑ ΜΕ ΧΑΜΗΛΟ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ ΣΤΗΝ ΑΓΟΡΑ**

Η βελτιωμένη απόδοση του τομέα παραγωγής μπύρας με λίγο ή καθόλου αλκοόλ σε υπάρχουσες και αναδυόμενες αγορές μπορεί να αποδοθεί σε νέες πολιτικές, δημογραφικά στοιχεία, τάσεις τρόπου ζωής και βελτιωμένες μεθόδους παραγωγής. Η παγκόσμια αγορά μπύρας με λίγο ή καθόλου αλκοόλ, παρουσίασε συνολική αύξηση όγκου 20% από το 2011 έως το 2016 και προβλέπεται να αυξηθεί ακόμη 24% έως το 2021 (Euromonitor International, 2017). Ο τομέας της μπύρας χωρίς αλκοόλ ( $\leq 0,5\%$  vol.). Αυξήθηκε συνολικά κατά 21% από 31,9 σε 38,7 εκατομμύρια hl και σε συνολική τιμή (λιανική τιμή πώλησης) κατά 38% από 7,1 έως 9,9 δισεκατομμύρια ευρώ την πενταετία 2012 έως 2017 (Διάγραμμα 1). Οι περιοχές της Μέσης Ανατολής και της Αφρικής και της Δυτικής Ευρώπης αντιπροσωπεύουν τις μεγαλύτερες αγορές όσον αφορά τον όγκο και την αξία (Διάγραμμα 1). Ωστόσο, η μεγαλύτερη ανάπτυξη έχει παρατηρηθεί για την περιοχή της Λατινικής Αμερικής με αυξήσεις 168 και 296%, αντίστοιχα. (Euromonitor International, 2018). Όλες οι περιφερειακές αγορές παρουσίασαν ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια, εκτός από την αγορά της Βόρειας Αμερικής, η οποία παρουσίασε στασιμότητα και ακόμη και μείωση κατά 1% σε όγκο (Διάγραμμα 1).

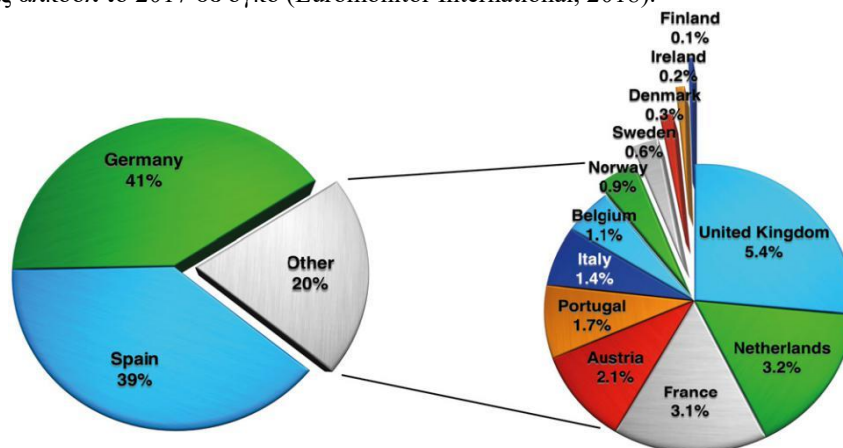
Η αγορά μπύρας χωρίς αλκοόλ της Δυτικής Ευρώπης ήταν με 41% η μεγαλύτερη περιφέρεια το 2017 όσον αφορά την αξία της αγοράς. Συγκεκριμένα, η γερμανική αγορά μπύρας με λίγο ή καθόλου αλκοόλ, είναι μια από τις μεγαλύτερες στον κόσμο. Το 2016, αντιπροσώπευε το 41% του συνολικού όγκου στην αγορά μπύρας με λίγο ή καθόλου αλκοόλ στην περιοχή της Δυτικής Ευρώπης (ακολουθούμενη από την Ισπανία με 38%), καταλαμβάνοντας το 14% της παγκόσμιας αγοράς μπύρας, με λίγο ή καθόλου αλκοόλ (Διάγραμμα 2). Σύμφωνα με τη γερμανική ένωση ζυθοποιών (DBB), η μπύρα χωρίς αλκοόλη, πήρε πάνω από το 6% του μεριδίου της συνολικής αγοράς μπύρας της χώρας το 2017, συμπεριλαμβανομένων περισσότερων από 400 διαφορετικών εμπορικών σημάτων μπύρας χωρίς αλκοόλη. (Deutscher Brauer-Bund, 2018) Σε μια μελέτη το 2013, η Mintel (Mintel, 2017) διαπίστωσε ότι το 50–65% των ευρωπαίων καταναλωτών θα έπιναν μπύρα με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ εάν η γεύση ήταν συγκρίσιμη με τη γεύση των τυπικών ζύθων. Ωστόσο, παρά τα προβλήματα στο άρωμα και στην γεύση, της μπύρας με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, φαίνεται πως είναι απόδεκτη σε μεγάλο βαθμό και να έχει αρκετά καλή φήμη γεύσης στη Γερμανία. Σε



αντίθεση με άλλες ευρωπαϊκές χώρες όπως η Γαλλία και η Ισπανία, όπου περίπου το 50% των καταναλωτών μπίρας αναμένουν ότι οι μπίρες με χαμηλή αλκοόλη δεν θα έχουν τόσο καλή γεύση όσο οι μπίρες, στη Γερμανία ο αριθμός αυτός είναι μόνο στο 28% (Mintel, 2016). Το 2017, περίπου το ένα τέταρτο (23%) των Γερμανών ενηλίκων ανέφεραν, ότι το βασικό κίνητρο για την κατανάλωση μπίρας χωρίς αλκοόλ, είναι η υγεία και καλή ψυχοσωματική κατάσταση (Mintel, 2018).



Διάγραμμα 1: Πληροφορίες για την αγορά μη αλκοολούχων μπυρών (NAB, 0,5% ABV). Α) Περιφερειακή ανάπτυξη στην αγοραία αξία (Έρευνα τιμής πώλησης RSP, σταθερές συναλλαγματικές ισοτιμίες 2017). Β) Ποσοστό αύξησης της αξίας της αγοράς και του μεγέθους της αγοράς κατά την πενταετή περίοδο από το 2012 έως το 2017. Γ) Περιφερειακό μερίδιο αγοράς μπίρας χωρίς αλκοόλ το 2017 σε αξία (RSP, σταθερές συναλλαγματικές ισοτιμίες του 2017). Δ) Περιφερειακό μερίδιο αγοράς μπίρας χωρίς αλκοόλ το 2017 σε όγκο (Euromonitor International, 2018).



Διάγραμμα 2: Μερίδιο αγοράς μπίρας με λίγο ή καθόλου αλκοόλ, σε όγκο μεμονωμένων χωρών στην περιοχή της Δυτικής Ευρώπης (Euromonitor International, 2017).

Η ανάπτυξη της μύρας χωρίς αλκοόλ, υπήρξε ιδιαίτερα έντονη στην περιοχή της Μέσης Ανατολής και της Βόρειας Αφρικής (MENA) τα τελευταία πέντε χρόνια. Αυτή η περιοχή αντιπροσωπεύει τώρα το 27% της συνολικής αγοραίας αξίας των μυρών χωρίς αλκοόλ. Σύμφωνα με το GNPD της Mintel (Global New Products Database), το 2016, κάθε τρίτη νέα μύρα που ξεκίνησε στην περιοχή ήταν χωρίς αλκοόλ (<0,5% ABV) (Mintel, 2016). Η μύρα χωρίς αλκοόλ, έχει μεγάλη δημοτικότητα στο MENA κυρίως για θρησκευτικούς λόγους, καθώς οι Μουσουλμάνοι απαγορεύεται να πίνουν αλκοόλ. Ωστόσο, εξέχοντες Σαουδάραβες και Αιγύπτιοι κληρικοί έχουν εκδώσει fatwas (αποφάσεις σχετικά με τα σημεία του ισλαμικού νόμου που έχουν δοθεί από αναγνωρισμένη αρχή) δηλώνοντας ότι επιτρέπεται στους Μουσουλμάνους να πίνουν μύρες με μηδενική αλκοόλη και η Σαουδική απόφαση θέτει σαν βασικό ζήτημα αν κάποιος μπορεί να μεθύσει με μια μεγάλη ποσότητα του ποτού, προκειμένου να επιτρέψει την κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλ. Αντιθέτως, στη Μαλαισία που κυριαρχείται από μουσουλμάνους, το Υπουργείο Ισλαμικής Ανάπτυξης της χώρας (Jakim), μέχρι στιγμής αρνήθηκε να χορηγήσει πιστοποιήσεις halal σε οποιαδήποτε μύρα χωρίς αλκοόλη, ακόμη και αν επιβεβαιωθεί ότι το προϊόν δεν περιέχει ίχνη αλκοόλ (Mintel, 2016). Με το 40% του πληθυσμού να είναι γεννημένοι μετά το 2000, είναι μια μεγάλη ομάδα στόχος στην περιοχή MENA (The Takeaway, 2018). Η μύρα, ακόμη και χωρίς αλκοόλη, είναι μια δήλωση ενός παγκοσμιοποιημένου τρόπου ζωής για τους γεννημένους μετά το 2000 στην περιοχή MENA, που αγκαλιάζει όλο και περισσότερο τις σύγχρονες αξίες. Προτιμούν τις δυτικές μάρκες και αλληλεπιδρούν όλο και περισσότερο με τα κοινωνικά μέσα και την αγγλική γλώσσα, όπως έδειξαν οι Αραβικές έρευνες νεολαίας από τα τελευταία χρόνια. (Bellut, 2019). Η κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλη επιτρέπει στους μουσουλμάνους που είναι γεννημένοι μετά το 2000 να μιμούνται τους δυτικούς τρόπους ζωής χωρίς να διακυβεύουν τις θρησκευτικές τους πεποιθήσεις. Ωστόσο, ορισμένες μάρκες ζύθων χωρίς αλκοόλη, τοποθετούνται ως αναψυκτικά ενηλίκων και όχι μύρες μηδενικής περιεκτικότητας για να μην προκληθούν πιο συντηρητικοί καταναλωτές και κυβερνήσεις. Ενώ το επίκεντρο της καινοτομίας για τις μύρες χωρίς αλκοόλη, στο παρελθόν επικεντρωνόταν όλο και περισσότερο σε παραλλαγές με γεύση φρούτων, ορισμένες μάρκες αξιοποιούν τώρα την δυνατότητα προσθήκης ουσιών, όπως πρόσθετα μέταλλα και βιταμίνες, προκειμένου να ικανοποιήσουν τις αυξανόμενες τάσεις υγείας, συνήθειες που μεταφέρονται από την Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική στην περιοχή MENA (Mintel, 2017).

Η Βόρεια Αμερική κατέχει μια ειδική θέση στην αγορά μύρας χωρίς αλκοόλ, επειδή (σε αντίθεση με όλες τις άλλες περιοχές) δεν παρουσίασε ανάπτυξη τα τελευταία πέντε χρόνια. Πράγματι, σχεδόν κάθε δευτερόλεπτο, μία νέα μύρα που κυκλοφόρησε στην αγορά των ΗΠΑ (88% συνολικός όγκος αγοράς της περιοχής της Βόρειας Αμερικής) το 2015 είχε υψηλό ABV 6,6% ή περισσότερο, σε σύγκριση με ένα μόνο στα 50 με χαμηλό ABV 0–3,5% (Mintel, 2015).

Ο λόγος για τον υψηλό αριθμό κατανάλωσης μύρας υψηλού ABV πιστεύεται ότι οφείλεται στην επιρροή της τάσης για μύρες μικροζυθοποιίας. Ένα υψηλό ABV είναι ένας τρόπος για τους μικροζυθοποιούς να απομακρύνουν τις μύρες τους από τις πιο ήπιες μύρες (Mainstream) lager και έχουν κυριαρχήσει στις κυκλοφορίες λιανικής την τελευταία δεκαετία, με τις μύρες τους να ωθούν τα όρια του παραδοσιακά αποδεκτού ABV (4–5%) στα νέα προϊόντα (Mintel, 2018).

Ωστόσο, τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από την Global Data έδειξαν ότι νέοι Αμερικανοί θεωρούν το αλκοόλ με πιο αρνητικό μάτι από τις παλαιότερες γενιές, με το 54% των Αμερικανών ηλικίας 25–34 ετών να δηλώνουν ότι προσπαθούν ενεργά να μειώσουν την κατανάλωση αλκοόλ σε σύγκριση με το 28% των Αμερικανών συνολικά και το 22% των παγκόσμιων καταναλωτών συνολικά (GlobalData, 2018). Σε συνδυασμό με το γεγονός ότι άρχισαν να εμφανίζονται μη αλκοολούχα ζυθοποιεία (δηλαδή, Nirvana Brewery, London, UK και WellBeing Brewing Company, Maryland Heights, Missouri, USA) και ότι πολλά άλλα ζυθοποιεία έχουν προσθέσει μύρες με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, στην λίστα των προϊόντων τους, αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι η ανάπτυξη της αγοράς για μύρες με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, στην Βόρεια Αμερική δεν έχει ακόμη έρθει (The Economist, 2018).

Ένας αυξανόμενος παράγοντας για την επιβολή μύρας χωρίς αλκοόλ, στην εστίαση και κατ' επέκταση στους ζυθοποιούς, είναι η εισαγωγή νέας κυβερνητικής νομοθεσίας. Περισσότερες χώρες εισάγουν αυστηρότερη νομοθεσία σχετικά με την οδήγηση υπό την επήρεια αλκοόλ ή την απαγόρευση πωλήσεων αλκοολούχων προϊόντων. Μετά το ψήφισμα νόμου για μηδενική ανοχή στην οδήγηση υπο την επίρεια αλκοόλ στην Κολομβία τον Δεκέμβριο του 2013, οι ζυθοποιοί αύξησαν τις παρουσιάσεις νέων μυρών χωρίς αλκοόλ. Αν και εξακολουθεί να είναι ένα μικρό τμήμα της συνολικής κατηγορίας, οι κυκλοφορίες μύρας χωρίς αλκοόλη αυξήθηκαν από το 6% των λανσαρίσματος μύρας της Κολομβίας το 2014 σε 16% το 2015 (Mintel, 2017). Ένα

άλλο παράδειγμα της επιρροής της νέας νομοθεσίας φαίνεται στην Ινδονησία, όπου η απαγόρευση των πωλήσεων μύρας σε ινδονησιακά μίνι μάρκετ το 2015 τόνωσε την αγορά μύρας χωρίς αλκοόλη. Η ινδονησιακή κυβέρνηση απαγόρευσε τις πωλήσεις αλκοολούχων ποτών με ABV μεταξύ 1-5% από μίνι μάρκετ, μικρά καταστήματα και περίπτερα (ένα κανάλι που στο παρελθόν αντιπροσώπευε περίπου το 60% όλων των πωλήσεων μύρας στην Ινδονησία) το οποίο οδήγησε στην κλιμάκωση της καινοτομίας NAB που σημαίνει ότι το ένα τρίτο όλων των νέων παρουσιάσεων μύρας που ξεκινά στην Ινδονησία το 2016 ήταν χωρίς αλκοόλ σε σύγκριση με μόλις 1 στις 25 το 2014 (Wall Street Journal, 2015).

## 2.1 Γιατί ενδιαφέρει την Αγορά

Η ποιότητα μιας μύρας μετριέται από ένα πολύπλοκο σύνολο οργανοληπτικών χαρακτηριστικών που περιλαμβάνουν εμφάνιση, άρωμα, γεύση και υφή καθώς είναι ένα απίστευτα ευέλικτο ποτό, που σερβίρεται σε διάφορες τοποθεσίες όπως κλαμπ, μπαρ και εστιατόρια. Λαμβάνοντας υπόψη αυτό το πλαίσιο, θα υπάρχει πάντα μεγάλη ζήτηση για μύρα, ιδίως από άντρες καταναλωτές. Ο κοινός στόχος για τη βελτίωση της δημόσιας υγείας χωρίς να χαλάσει την απόλαυση των καταναλωτών για ορισμένους τύπους μύρας είναι σημαντικό θέμα για τις ζυθοποιίες και τους λιανοπωλητές (Liguori *et al.*, 2015). Οι καταναλωτές γίνονται όλο και πιο ενημερωμένοι σε αυτό που αποτελεί τις κατάλληλες νότες γεύσης και τη «φρεσκάδα» της μύρας, επομένως υπάρχει μεγάλη πρόκληση να δοκιμάσουμε και να ανακαλύψουμε εκ νέου ορισμένους τύπους μύρας ή να βρούμε εντελώς νέες κατηγορίες μύρας. Οι μελλοντικές τάσεις της παραγωγής και των προϊόντων μύρας προβλέπονται καλύτερα βάσει προηγούμενων στατιστικών. Όπως μπορούμε να δούμε, σύμφωνα με την έκθεση στατιστικών στοιχείων για τις τάσεις της μύρας στην ευρωπαϊκή έκδοση 2019 (European beer trends, 2019), το 2018, οι τέσσερις κορυφαίοι παραγωγοί μύρας της Ευρώπης αποτελούνταν από τη Γερμανία, με συνολική παραγωγή μύρας 93.652 σε 1000 HL, ακολουθούμενη από την Πολωνία (42.603 1000 hL), το Ηνωμένο Βασίλειο (42.282 σε 1000 hL) και την Ισπανία (38.134 σε 1000 hL). Μια άλλη έκθεση, η συμβολή της μύρας στην Ευρωπαϊκή Οικονομία (The Contribution made by Beer to the European Economy, 2020), έδειξε ότι το 2018, περισσότερα από 32 εκατομμύρια εκατόλιτρα εξήχθησαν από χώρες της ΕΕ-28 εκτός ΕΕ, οι οποίες αντιπροσωπεύουν πάνω από το 8% της συνολικής παραγωγής. Αυτό αποτελείται από μεγάλες παγκόσμιες μάρκες, μύρες βιοτεχνίας και ειδικές μάρκες

κατασκευασμένες για εξαγωγή. Αναφέρθηκε επίσης ότι υπάρχει αυξημένη επένδυση στην καινοτομία, ειδικά για την παραγωγή νέων παρασκευασμάτων βιοτεχνίας, επεκτείνοντας τις γραμμές παραγωγής ώστε να συμπεριλάβει μηλίτη και να αναπτύξει νέες γεύσεις μύρας. Η ποικιλία αναζητάται σε όλες τις αγορές, επομένως, αν και η συμβατική παραγωγή μύρας εξακολουθεί να έχει ηγετική θέση, οι μύρες βιοτεχνίας, ακολουθούμενες από μπίρες ειδικές, μύρες χωρίς αλκοόλ και χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλ, είναι σίγουρα τόσο μοναδικές η μια προς την άλλη, και σίγουρα θα κερδίσουν αυξημένο ενδιαφέρον όσο ο χρόνος περνάει. Για παράδειγμα, η παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλ (συμπεριλαμβανομένων των ποτών βύνης) αυξήθηκε στη Γερμανία από 5,4% το 2012 σε 7,3% το 2018, ενώ στην Ολλανδία αυξήθηκε από 1,5% το 2012 σε 5,2% το 2018. Έχοντας αυτό υπόψη, εξακολουθεί να πιστεύεται ότι οι οικονομίες πεδίου μπορούν να υπερισχύσουν έναντι των οικονομιών κλίμακας, τουλάχιστον σε ότι αφορά την παραγωγή μύρας. Επιπλέον, υποτίθεται ότι η τυπική κατανάλωση μύρας ale και μύρας lager θα μειωθεί καθώς οι καταναλωτές επιλέγουν προοδευτικά να πίνουν «Καλύτερα, όχι περισσότερα», πειραματιζόμενοι με νέες γευστικές εμπειρίες (A Guide on How to Improve the Experience for Your Beer Shoppers, 2018).

Στα τέλη του εικοστού αιώνα, οι προσπάθειες των ζυθοποιείων να επεκτείνουν τις κατηγορίες ζύθων με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, οδήγησαν κυρίως στους ακόλουθους στόχους:

- (α) να επιτευχθεί αύξηση της συνολικής παραγωγής σχεδιάζοντας νέα προϊόντα σε χώρες με πολύ ανταγωνιστικές αγορές,
- (β) να παρέχουν στους καταναλωτές μύρας εναλλακτικά προϊόντα που μπορούν να καταναλωθούν πριν ή κατά τη διάρκεια των καθημερινών τους δραστηριοτήτων (οδήγηση μηχανοκίνητων οχημάτων ή χειριστών μηχανημάτων, εξάσκηση σπορ) ή υπό ορισμένες συνθήκες (εγκυμοσύνη, φάρμακα) ασυμβίβαστα με την κατανάλωση αλκοόλ,
- (γ) για είσοδο σε αγορές ποτών σε χώρες όπου η κατανάλωση αλκοόλ απαγορεύεται λόγω θρησκευτικών απαγορεύσεων.

Αν και οι πωλήσεις ζύθου με χαμηλή αλκοόλη δεν εκπλήρωσαν τις αρχικές αισιόδοξες προσδοκίες, σήμερα βλέπουμε ένα ταχέως αναπτυσσόμενο τμήμα της αγοράς ζύθου, παγκοσμίως (Branayik *et al.*, 2011).

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η αγορά ζύθων με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, σημείωσε συνολική αύξηση όγκου 20% μεταξύ 2011 και 2016 και προβλέπεται να αυξηθεί ακόμη 24% έως

το 2021. Η Μέση Ανατολή, η Αφρική και η Δυτική Ευρώπη είναι οι μεγαλύτερες αγορές όσον αφορά τον όγκο και την αξία (Bellut και Arendt, 2019). Συγκεκριμένα, η γερμανική αγορά ζύθου με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, είναι μια από τις μεγαλύτερες στον κόσμο.

Η αντίληψη ενός καταναλωτή για την ποιότητα της μύρας χωρίς αλκοόλ, βασίζεται συνήθως σε έναν πολύπλοκο συνδυασμό προσδοκιών, οι οποίες σχετίζονται με την επίδραση ορισμένων οργανοληπτικών ιδιοτήτων όπως το χρώμα, ο αφρός, η γεύση και το άρωμα, η αίσθηση στο στόμα και η επίγευση (da Costa *et al.*, 2018; Blanco *et al.*, 2016; Ghasemi-Varnamkhasi *et al.*, 2012). Ορισμένες από αυτές τις οργανοληπτικές αντιλήψεις είναι εκτός ελέγχου του ζυθοποιού, ωστόσο στην περίπτωση εκείνων που επηρεάζονται άμεσα από τις διαδικασίες παρασκευής και συσκευασίας, η γεύση της μύρας και ο έλεγχος αρώματος είναι οι πιο σημαντικές. Παράγοντες που πρέπει να ικανοποιούν τις απαιτήσεις των καταναλωτών περιλαμβάνουν την εμφάνιση και το προφίλ γεύσης κάθε τύπου μύρας. Η εμφάνιση μπορεί να επηρεαστεί από επιμολύνσεις που μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη θολερότητα την μύρα, που επηρεάζει την ποιότητα του προϊόντος. Άλλοι σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τις καταναλωτικές συνήθειες είναι ο βαθμός πικράδας, η περιεκτικότητα σε αλκοόλ, ο όγκος της συσκευασίας, ο σχεδιασμός και η ευκολία μεταφοράς και αποθήκευσης (Carvalho *et al.*, 2017). Για λόγους υγείας και ασφάλειας, ή για κοινωνικές συνθήκες, στην αγορά μύρας παρατηρείται σημαντική αύξηση της κατανάλωσης ζύθου χωρίς αλκοόλ, ειδικά επειδή δεν διαθέτει τα μειονεκτήματα που σχετίζονται με την υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Σε παγκόσμιο επίπεδο, η κατανάλωση αλκοόλ είναι ο τρίτος σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για την υγεία με επιβλαβείς συνέπειες και σοβαρές κοινωνικές επιπτώσεις (Salanta *et al.* 2016; Salanta *et al.* 2018). Έτσι, κατά την εξέταση των πιθανών οφελών για την υγεία από την κατανάλωση μύρας, θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στις νέες τεχνικές παρασκευής και στις ζύμες που θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην μείωση ή την ελαχιστοποίηση της περιεκτικότητας σε αλκοόλ, ενώ βελτιστοποιούν τη γεύση και τις πιθανές επιπτώσεις αυτών στην υγεία. Η ανάπτυξη ποτών που μπορούν να επηρεάσουν τους καταναλωτές σε πιο θετικά πρότυπα κατανάλωσης αλκοόλ είναι μια πρόκληση για όλους εκείνους που συμμετέχουν σε αυτόν τον κλάδο. Η ανάπτυξη νέων προϊόντων ζύθου μπορεί να αποφέρει πρόσθετα οφέλη (χρώμα, αντιοξειδωτικές ιδιότητες, διαφορετική γεύση και μυρωδιά), τα οποία θα μπορούσαν να προσελκύσουν νέους πελάτες, συμπεριλαμβανομένων όχι μόνο των υπάρχοντων καταναλωτών μύρας αλλά και των νέων που δεν πίνουν μύρα. Επιπλέον,

οι καταναλωτές είναι πρόθυμοι να ξοδέψουν περισσότερα χρήματα για την ειδική μύρα, η οποία συνήθως έχει λιγότερο αλκοολικό περιεχόμενο σε σύγκριση με άλλες μύρες και κρασιά. Οι καταναλωτές της μύρας χωρίς αλκοόλ, αναζητούν ένα προϊόν όσο το δυνατόν πιο κοντά στην κανονική μύρα, αλλά οι διαδικασίες αφαίρεσης αλκοόλης προσδίδουν σε αυτούς τους τύπους μύρας διαφορετική γεύση και συνολικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, κάτι που μερικές φορές αντικατοπτρίζεται στη μέτρια αποδοχή των καταναλωτών. Η μύρα με λίγο αλκοόλ, που παράγεται από περιορισμένη ζύμωση χαρακτηρίζεται συχνά από μία σημαντική ανεπιθύμητη, γλυκιά γεύση, που δεν είναι από τα συνήθη κοινά χαρακτηριστικά της μύρας. Ωστόσο, ο ελαφρύς διαχωρισμός από τις γεύσεις που μοιάζουν με μύρα προς μια φρουτώδη γεύση, μπορεί να αποδειχθεί ευεργετικός, όσον αφορά την αποδοχή των καταναλωτών (Bellut *et al.*, 2019).

### 2.1.1 Ανάπτυξη της Αγοράς της μύρας Craft - μικροζυθοποιία

Η παγκοσμιοποίηση διαδραματίζει αποφασιστικό ρόλο στην εξέλιξη της αγοράς μύρας craft (βιοτεχνίας), οπότε ο κόσμος γίνεται τόπος γρήγορης μεταφοράς γνώσεων και πληροφοριών. Ένα από τα αποτελέσματα της παγκοσμιοποίησης ήταν η προώθηση τοπικών παραδόσεων ή συγκεκριμένων τοπικών πόρων δημιουργώντας και προωθώντας ποτά όπως μύρες craft βιοτεχνίας, που είναι διαφορετικά, άτυπα και υψηλής ποιότητας προϊόντα (Wojtyra, 2020). Δεν υπάρχει κανένας αναγνωρισμένος ορισμός, ωστόσο, σύμφωνα με την Brewers Association, η μύρα craft ή βιοτεχνίας είναι μια μικρή και ανεξάρτητη ζυθοποιία. Το χαρακτηριστικό της μύρας βιοτεχνίας είναι η καινοτομία με την ανάπτυξη νέων τύπων μύρας. Στις ΗΠΑ, είναι ένα μικρό ζυθοποιείο, του οποίου η ετήσια παραγωγή δεν υπερβαίνει τα 24.000 hL και στην Ευρώπη η παραγωγή δεν υπερβαίνει τα 20.000 hL. Το αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για τις μύρες μικροζυθοποιίας ξεκίνησε τα τελευταία χρόνια μια τάση γνωστή ως «η επανάσταση της μύρας (craft) βιοτεχνίας», η οποία παρατηρήθηκε για πρώτη φορά στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, γύρω στο 1970 (Wojtyra και Grudzien, 2017). Στις ΗΠΑ, το 2018, οι πωλήσεις μύρας βιοτεχνίας αυξήθηκαν με ρυθμό 4% κατ' όγκο, ενώ στο Ηνωμένο Βασίλειο, η Ένωση Ανεξάρτητων Brewers Association ανέφερε αύξηση της παραγωγής μύρας βιοτεχνίας 0,8% μεταξύ των μελών της. Στην Ευρώπη, οι νέες και μικρές ζυθοποιίες βιοτεχνίας κάνουν την εμφάνισή τους σταθερά και με μεγάλες δυνατότητες, καθώς αναμένεται ετήσια αύξηση

περίπου 10% στα έσοδα των μικροβιομηχανιών έως το 2021. Ο ευρωπαϊκός χάρτης της μικροζυθοποιίας δίδεται ως παράδειγμα σε τρεις γεωγραφικά και πολιτισμικά συναφείς περιπτώσεις του Βελγίου και της Γερμανίας που και οι δύο έχουν μια πλούσια, αλλά ξεχωριστή ιστορία και κουλτούρα μπύρας, και τις Κάτω Χώρες, όπου οι ειδικές μπύρες είναι συγκριτικά ένα μάλλον καινούργιο αλλά παρ' όλα αυτά προϊόν ισχυρής επιρροής. Οι μπύρες craft βιοτεχνίας αυξάνουν συνεχώς το μικρό μερίδιο αγοράς τους, έναντι των προϊόντων μεγάλων πολυεθνικών εταιριών μπύρας. Αυτή η τάση επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως: ανάπτυξη κατά κεφαλήν εισοδήματος, διαθεσιμότητα εναλλακτικών λύσεων για την παραγωγή μπύρας υψηλής ποιότητας, αυξημένα προβλήματα υγείας και την εμφάνιση νέων κυβερνητικών κανονισμών (Callejo *et al.*, 2019).

Ωστόσο, η ανάπτυξη των αγορών craft βιοτεχνίας ήταν άνιση στο χρόνο και στο χώρο (Wojtyra, 2020). Λαμβάνοντας υπόψη τον αριθμό των νέων βιοτεχνιών, που διατίθενται στην αγορά κάθε χρόνο, είναι ενδιαφέρον να παρατηρήσουμε το φαινόμενο της «υπερδιαφοροποίησης». Η ιδιαιτερότητα των προϊόντων μικροζυθοποίησης, εκτιμάται πολύ από τους καταναλωτές και αυτό μειώνει τη σημασία των τιμών τους, τον κύριο παράγοντα για την επιλογή τροφίμων και ποτών (Clemons *et al.*, 2006). Σύμφωνα με τη μελέτη που διενεργήθηκε από τους (Pokrivcak *et al.*, 2019) η επιλογή των καταναλωτών για μπύρες μικροζυθοποιίας, δημιουργείται από την επιθυμία για περισσότερες γνώσεις, νέες εμπειρίες γεύσης και μια στάση απέναντι στην κυρίαρχη κατανάλωση μπύρας.

Οι καταναλωτές φαίνεται να προτιμούν τις μπύρες μικροζυθοποιίας, επειδή έχουν μια ποικιλία γεύσεων, όπως νότες από βύνη κριθάρι, κάστανο και μέλι, περισσότερο σώμα, που κάνουν τους καταναλωτές να θεωρούν ότι οι μπύρες βιοτεχνίας είναι υψηλότερης ποιότητας. Επιπλέον, η κατανάλωσή τους γίνεται, με ποιοτική προσέγγιση, βασισμένη στην εμπειρία και προκύπτει από την επιθυμία για ταυτότητα και διάκριση. Η κατανάλωση ζύθων μικροζυθοποιίας, θεωρείται από τους καταναλωτές ως μια εμπειρία που προσφέρει ευχαρίστηση, απόλαυση, αίσθηση ταυτότητας και ιδιοκτησίας, αυτοεκπλήρωση, κοινωνική αναγνώριση και βιωσιμότητα (da Costa *et al.*, 2018). Επίσης, η κατανάλωση τους θεωρείται ως ένδειξη κοινωνικής διάκρισης και δείχνει τη συγγένεια με μια ομάδα ενωμένη σε αυτήν την κατηγορία προϊόντων. Οι παραγωγοί τονίζουν την τυπική και διακριτική γεύση αυτών των προϊόντων, λόγω της προσθήκης φρούτων, βοτάνων και μπαχαρικών που μπορούν να μετατρέψουν την κανονική μπύρα σε ειδική μπύρα, μαζί με άλλα αρωματικά συστατικά και ζυμώσιμα υποστρώματα



(Salanta *et al.*, 2020). Πέρα από όλα τα συστατικά που αναφέρονται, ο λυκίσκος είναι αναμφίβολα η πιο χρησιμοποιούμενη και η κινητήρια δύναμη των περισσότερων ζυθοποιείων. Αυτό το συστατικό έχει κρίσιμη επίδραση στην ποιότητα της μύρας. Ο ρυθμός προσθήκης του λυκίσκου, αυξήθηκε από 4,1 g α-οξέων / hL (2010) σε 4,3 g α-οξέων/hL (2012) και αναμένεται να συνεχίσει να αυξάνεται λόγω του αναπτυσσόμενου κλάδου της βιοτεχνίας. Το dry-hopping είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται από τους ζυθοποιούς για να αυξήσει το άρωμα και τη γεύση του λυκίσκου της μύρας για αιώνες. Καθ' όλη τη διάρκεια του 21ου αιώνα, το dry-hopping έχει γίνει μια ολοένα και πιο δημοφιλής μέθοδος ανάμεσα στις μικροζυθοποιείες για να προσδώσουν έντονο άρωμα και γεύση λυκίσκου στην μύρα. Η διαδικασία dry-hopping που ανέφεραν οι Lafontaine και Shellhammer, το 2018 διήρκεσε για 24 ώρες στους 13,3–15°C με 200, 386, 800 και 1600 g λυκίσκου / hL μη επεξεργασμένης μύρας. Τόσο η ένταση του αρώματος όσο και το προφίλ της μύρας επηρεάστηκαν από τον αριθμό των λυκίσκων που προστέθηκαν. Τιμές dry-hopping υψηλότερες από 800 g/hL συνέβαλαν στο σχηματισμό αρωμάτων που σχετίζονται περισσότερο με βότανα ή τσάι παρα από τα εσπεριδοειδή και δεν συνιστώνται στη χρήση της πρώτης ύλης. Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν με το στατικό ρυθμό dry-hopping ξηρής μετάβασης 400-800 g/hL. Οι περισσότερες από τις ενώσεις που επηρεάζουν το άρωμα και την γεύση και μερικώς την πικράδα του ζύθου εξάγονται μέσω της διαδικασίας dry-hopping. Οι συγγραφείς, Lafontaine και Shellhammer, 2018, διευκρίνισαν τη σημασία του όγκου και της γεωμετρίας των δοχείων, καθώς και την αναλογία μύρας προς στερεά εντός του δοχείου και της ταχύτητας καθίζησης των σωματιδίων του λυκίσκου στην δεξαμενή. Σύμφωνα με τη μελέτη τους, η αναταραχή δεν συνιστάται επειδή μπορεί να μεταδώσει βοτανικές ή χορτώδεις νότες και να εκχυλίσει πολυφαινόλες, που είναι υπεύθυνες για τη στυπτικότητα της μύρας (Lafontaine και Shellhammer, 2018). Οι κύριες ενώσεις που επηρεάζουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των ζύθων βιοτεχνίας είναι οργανικά οξέα, σάκχαρα, πικρικά οξέα λυκίσκου, εστέρες, τερπενοειδή, πολυφαινόλες, καρβονύλικές και άλλες ενώσεις. Με δεδομένο αυτό, οι διεργασίες ζύμωσης είναι ζωτικής σημασίας για το αρωματικό προφίλ της προκύπτουσας μύρας (Humia *et al.*, 2019).

Η χρήση των αρωματικών συστατικών του λυκίσκου θα μπορούσε να βελτιώσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ζύθου με λίγο ή χωρίς αλκοόλ, κάτι το οποίο γίνεται σήμερα με την χρήση αρωματικών εκχυλισμάτων λυκίσκου και όχι με dry-

hopping, ώστε να αποφευχθεί σε αυτές τις μύρες με χαμηλό αλκοόλ το φαινόμενο του hop-creeper (επαναζύμωση, αλλαγή pH, κ.ά.).

## 2.2 Εμπορικές Μύρες με Χαμηλό ή Χωρίς Αλκοόλ στην Αγορά

Πίνακας 1: Μύρες με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, (ratebeer, 2021) # = αριθμός καταναλωτών που ψήφισαν

A/A	BRAND	#	ABV	SCORE
1	<a href="#">Nepomucen / Deer Bear FREE PAN DA</a>	21	0,5%	90
2	<a href="#">Maltgarden Free Sunset</a>	22	0,5%	88
3	<a href="#">Trzech Kumpli Unplugged - Bezalkoholowe IPA</a>	39	0,5%	87
4	<a href="#">Browar Grodzisk Bezalkoholowe Mango Ale</a>	53	0,5%	86
5	<a href="#">Funky Fluid Free Gelato Berries &amp; Cream</a>	14	0,5%	85
6	<a href="#">Funky Fluid Free Gelato Berries &amp; Cream</a>	15	-	72
7	<a href="#">Nepomucen / Nook Hopollo</a>	10	0,5%	66
8	<a href="#">Tiny Rebel Clwb Tropica NA</a>	24	0,5%	60
9	<a href="#">Raduga #2 The Game</a>	29	0,5%	55
10	<a href="#">Omnipollo Blåbärssoppa</a>	11	0,3%	53
11	<a href="#">BrewDog Elvis AF</a>	10	0,5%	53
12	<a href="#">Mikkeller Limbo Series: Riesling</a>	24	0,3%	49
13	<a href="#">Birbant HERO%</a>	11	0,5%	48
14	<a href="#">Coast Beer Co IPA</a>	12	-	48
15	<a href="#">Trzech Kumpli Unplugged - Bezalkoholowy Oatmeal Stout Nitro</a>	22	0,5%	48
16	<a href="#">BrewDog USA Ghost Walker</a>	10	0,5%	48
17	<a href="#">vandeStreek / Gweilo Fun House</a>	9	0,5%	46
18	<a href="#">Omnipollo Nyponsoppa</a>	15	0,3%	45
19	<a href="#">Mikkeller Limbo Series: Yuzu</a>	34	0,3%	44
20	<a href="#">Uiltje Superb-Owl</a>	16	0,2%	44
21	<a href="#">Lervig No Worries - Grapefruit</a>	30	0,5%	41
22	<a href="#">Moczybroda Run Forrest, RUn</a>	11	0,5%	40
23	<a href="#">Nøgne Ø Julefri</a>	15	-	37
24	<a href="#">Athletic Run Wild</a>	33	0,5%	36
25	<a href="#">Põhjala Virmalised 0</a>	50	0,5%	34
26	<a href="#">Põhjala Prenzlauer 0</a>	9	0,5%	32
27	<a href="#">Omnipollo Konx</a>	72	0,3%	31
28	<a href="#">Athletic All Out</a>	17	0,4%	30
29	<a href="#">Athletic Upside Dawn</a>	22	0,4%	27
30	<a href="#">Lucky Saint Unfiltered Lager</a>	29	0,5%	21
31	<a href="#">To Øl Under The Radar</a>	27	0,4%	20
32	<a href="#">To Øl Driving Home from X-mas</a>	11	0,3%	19
33	<a href="#">Frontaal Buddy</a>	10	0,5%	19
34	<a href="#">Lehe UJH Null</a>	10	0,3%	13
35	<a href="#">Bakalář Nealkoholický Za Studena Chmelový</a>	21	0,5%	11
36	<a href="#">Riegele Weisse Alkoholfrei</a>	34	-	7

37	<a href="#">Lobkowicz Premium Nealko</a>	53	0,5%	6
38	<a href="#">Clausthaler Extra Herb</a>	118	0,5%	5
39	<a href="#">Radegast Birell Polotmavý</a>	58	0,5%	5
40	<a href="#">Ferdinand Nealkoholické Pivo</a>	10	0,5%	4
41	<a href="#">Radegast Birell Světlý</a>	124	0,5%	3
42	<a href="#">Clausthaler Original (Premium)</a>	636	0,5%	2
43	<a href="#">Urpiner Nealko (Non-Alcoholic)</a>	38	0,5%	2
44	<a href="#">Rastinger Free</a>	38	0,5%	2
45	<a href="#">Valentins Hefeweissbier Alkoholfrei</a>	29	0,5%	2
46	<a href="#">Soproni Szűz Alkoholmentes Retired</a>	28	0,5%	2
47	<a href="#">Bertold Nealko</a>	15	0,5%	2
48	<a href="#">Drie Hoefijzers 3 Horses NA</a>	22	-	1
49	<a href="#">KONIX Moose. Just Moose</a>	4	0,5%	-
50	<a href="#">Harvey's Sussex Best Low Alcohol</a>	4	0,5%	-
51	<a href="#">Lucky Saint Unfiltered Lager</a>	29	0,5%	21
52	<a href="#">To Øl Under The Radar</a>	27	0,4%	20
53	<a href="#">To Øl Driving Home from X-mas</a>	11	0,3%	19
54	<a href="#">Frontaal Buddy</a>	10	0,5%	19
55	<a href="#">Lehe UJH Null</a>	10	0,3%	19
56	<a href="#">Bakalář Nealkoholický Za Studena Chmelený</a>	21	0,5%	13
57	<a href="#">Riegele Weisse Alkoholfrei</a>	34	-	11
58	<a href="#">Lobkowicz Premium Nealko</a>	53	0,5%	7
59	<a href="#">Clausthaler Extra Herb</a>	118	0,5%	6
60	<a href="#">Radegast Birell Polotmavý</a>	58	0,5%	5
61	<a href="#">Ferdinand Nealkoholické Pivo</a>	10	0,5%	4
62	<a href="#">Radegast Birell Světlý</a>	124	0,5%	3
63	<a href="#">Clausthaler Original (Premium)</a>	636	0,5%	2
64	<a href="#">Urpiner Nealko (Non-Alcoholic)</a>	38	0,5%	2
65	<a href="#">Rastinger Free</a>	38	0,5%	2
66	<a href="#">Valentins Hefeweissbier Alkoholfrei</a>	29	0,5%	2
67	<a href="#">Soproni Szűz Alkoholmentes Retired</a>	28	0,5%	2
68	<a href="#">Bertold Nealko</a>	15	0,5%	2
69	<a href="#">Drie Hoefijzers 3 Horses NA</a>	22	-	1
70	<a href="#">Harvey's Sussex Best Low Alcohol</a>	4	0,5%	-
71	<a href="#">Ferdinand Bezlepkové Pivo Nealkoholické Světlé</a>	7	0,5%	-
72	<a href="#">Wispe 0,5%</a>	3	0,5%	-
73	<a href="#">Estrella Galicia 0,0% NEGRA</a>	2	-	-
74	<a href="#">Estrella Galicia 0,0% TOSTADA</a>	2	-	-
75	<a href="#">Raduga #4 The Game</a>	4	0,5%	-
76	<a href="#">Wicklow Wolf Moonlight Non-Alcoholic Hoppy Ale</a>	4	0,5%	-
77	<a href="#">Lowlander 0.3% Tropical Ale</a>	1	0,3%	-
78	<a href="#">Rock City Sunset Razz</a>	1	0,5%	-
79	<a href="#">Brothers in Law Non-Alcoholic Pacific IPA</a>	2	0,3%	-
80	<a href="#">Pripps Radler 0,0%</a>	0	-	-

### 2.3 Ποιά η Συστασή τους (Θέματα Υγιεινής Διατροφής)

Η κατάχρηση οινοπνεύματος συζητείται δημόσια εδώ και πολλά χρόνια, καθώς ενέχει κινδύνους βίαιου εγκλήματος, τροχαίων ατυχημάτων, δημόσιων καταστροφών και βλαβών στην υγεία. Η αιθανόλη είναι ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα “ψυχαγωγικά φάρμακα” παγκοσμίως και συχνά καταναλώνεται ως συστατικό μπίρας. Όταν καταναλώνεται μπίρα, η αιθανόλη απορροφάται από τη γαστρεντερική οδό μέσω διάχυσης και διανέμεται γρήγορα στο αίμα πριν εισέλθει στους ιστούς. Η αιθανόλη μεταβολίζεται σε ακεταλδεΐδη κυρίως στο στομάχι και στο ήπαρ. Η ακεταλδεΐδη είναι πολύ τοξική και δεσμεύει τα κυτταρικά συστατικά που παράγουν επιβλαβή πρόσθετα ακεταλδεΐδης (Branyik *et al.*, 2011).

Ταυτόχρονα, υπάρχουν ενδείξεις ότι η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ δεν έχει μόνο καλύτερη μακροπρόθεσμη επίδραση στην υγεία από την υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, αλλά ακόμη και καλύτερη από την αποχή. Η μέτρια κατανάλωση μπίρας έχει αποδειχθεί, τουλάχιστον, εξίσου αποτελεσματική με την κατανάλωση κρασιού στη μείωση των κινδύνων στεφανιαίας νόσου, καρδιακής προσβολής, διαβήτη. Το χαμηλότερο ποσοστό κατανάλωσης αλκοόλ έχει επίσης συσχετιστεί με μειωμένο ετήσιο ποσοστό θνησιμότητας σε σύγκριση με εκείνο για πληθυσμούς μη κατανάλωσης αλκοόλ και βαριάς κατανάλωσης. (Sohrabvandi, 2010). Εκτός από το αλκοόλ, το οποίο είναι πιθανώς το πιο σημαντικό συστατικό της μπίρας που αντιμετωπίζει την αθηροσκλήρωση (Branyik 2011), αυτά τα θετικά αποτελέσματα μπορεί να αποδοθούν σε μια ολόκληρη σειρά άλλων ιδιοτήτων που βρίσκονται στην μπίρα, όπως η χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος ή χοληστερόλη, χαμηλή περιεκτικότητα σε ενέργεια και ελεύθερη ζάχαρη, υψηλές αντιοξειδωτικές ιδιότητες (π.χ. πολυφαινόλες, φλαβονοειδή), περιεκτικότητα σε μαγνήσιο και διαλυτές ίνες. Επιπλέον, η μπίρα παρέχει βασικές βιταμίνες και μέταλλα και συμβάλλει έτσι σε μια υγιεινή ισορροπημένη διατροφή (Bamforth, 2002). Οι μπίρες χωρίς αλκοόλ επίσης ισχυρίζονται ότι έχουν τα ευεργετικά αποτελέσματα των υγιεινών συστατικών της μπίρας με ταυτόχρονη επίδραση της χαμηλότερης κατανάλωσης ενέργειας και πλήρη απουσία αρνητικών επιπτώσεων στην κατανάλωση αλκοόλ. Σε χαμηλά επίπεδα κατανάλωσης, η αιθανόλη στην μπίρα έχει θετικές φαρμακευτικές ιδιότητες όπως καρδιοπροστατευτική δράση, μείωση του κινδύνου άνοιας, ιδιότητα κατά του στομαχικού έλκους, επίδραση μείωσης της έντασης (χαλάρωση), κάποιες ιδιότητες κατά της μόλυνσης και επίσης καλύτερη γνωστική λειτουργία στα γηρατεία, (Bamforth, 2002).

Από την άποψη της υγείας, οι μύρες με αλκοόλ μπορούν να θεωρηθούν ως η καλύτερη επιλογή όταν καταναλώνονται σε μέτρια ή χαμηλά επίπεδα. Τα πιο σημαντικά πλεονεκτήματα για την υγεία (θρεπτικά και φαρμακευτικά) της μύρας χωρίς αλκοόλ συζητούνται παρακάτω με βάση τα συστατικά της.

### **2.3.1. Βιταμίνες και μεταλλικά στοιχεία**

Σημαντικές ποσότητες αρκετών βιταμινών Β διατίθενται μέσω της μέτριας κατανάλωσης μύρας. Το προφίλ βιταμινών της μύρας εξαρτάται από τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μύρας και επίσης από τις συνθήκες επεξεργασίας. Μεταξύ των βιταμινών του συμπλέγματος Β, η θειαμίνη βρίσκεται σε σημαντικά χαμηλότερες ποσότητες. Η αιθανόλη έχει δείξει ανταγωνιστικό αποτέλεσμα με τη βιο-χρήση βιταμινών (Bamforth, 2002). Επομένως, οι μύρες χωρίς αλκοόλ μπορούν να προσφέρουν τη μεγαλύτερη ευκαιρία για βιο-χρήση βιταμινών στο σώμα. (Bamforth, 2002). Λόγω της μεγάλης συμβολής της μύρας στον εφοδιασμό με βιταμίνες του συμπλέγματος Β, η τακτική κατανάλωση μύρας μπορεί να αποτρέψει συναφείς ασθένειες με ανεπάρκεια βιταμινών όπως το beri beri και άλλες νευρολογικές ασθένειες (Bamforth, 2002). Η μύρα αναφέρεται συχνά ως σημαντική διατροφική πηγή σεληνίου. Η σχετικά υψηλή αναλογία καλίου προς νάτριο (συνήθως 4:1) στην μύρα είναι σύμφωνη με μια δίαιτα με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο η μύρα έχει σημαντικά μεγαλύτερη διουρητική δράση από αυτή του νερού. Η μύρα είναι επίσης σχετικά πλούσια σε μαγνήσιο και σε μικρότερο βαθμό σε φώσφορο. Αυτά παρέχουν επιπλέον in-vivo αντιοξειδωτική προστασία, καθώς αυτά τα στοιχεία αποτελούν μέρος της δραστηρικής θέσης στα ενδοκυτταρικά αντιοξειδωτικά ένζυμα, υπεροξειδίου της δισμουτάσης και υπεροξειδάση γλουταθειόνης (Fantozzi *et al.*, 1998).

### **2.3.2 Πρωτεΐνες και αμινοξέα**

Από τη διατροφική άποψη, η μύρα δεν θεωρείται πλούσια πηγή πρωτεϊνών. (Bamforth, 2002). Επίσης, από ποιοτική άποψη, η λυσίνη, η οποία είναι ένα σημαντικό βασικό αμινοξύ, είναι ένας περιοριστικός παράγοντας (υπάρχει σε πολύ χαμηλές ποσότητες σε πρωτεΐνες) (Belitz *et al.*, 1999). Έχει αναφερθεί ότι οι πρωτεΐνες της μύρας και τα αμινοξέα μπορεί να έχουν πολύ ευρύτερες βιολογικές λειτουργίες από τους βασικούς βιοσυνθετικούς ρόλους τους ως δομικά στοιχεία του ανθρώπινου

σώματος. Μεταξύ αυτών των λειτουργιών, μπορεί να αναφερθεί ο έλεγχος του επιπέδου χοληστερόλης στο πλάσμα και η μείωση του επιπέδου των λιπιδίων στο αίμα (Gorinstein *et al.*, 1998). Ένα τέτοιο χαρακτηριστικό συσχετίζεται αντιστρόφως με τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις, οι οποίες σχετίζονται με τις βιοδραστικές ιδιότητες των πρωτεϊνών και των απαραίτητων αμινοξέων που υπάρχουν στην μύρα (Gorinstein *et al.*, 1998; Gorinstein *et al.*, 1998). Έχει αναφερθεί ότι η συνολική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και τα επίπεδα της λευκοματίνης και άλλων πιο μελετημένων αμινοξέων είναι σημαντικά υψηλότερα στην μύρα από ό,τι στο κρασί (Gorinstein *et al.*, 2001). Έχει αναφερθεί ότι η μύρα θα μπορούσε να ρυθμίσει τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος. Αυτό το χαρακτηριστικό έχει αποδοθεί στα συστατικά της μύρας, ειδικά των βιολογικά ενεργών πρωτεϊνών και πεπτιδίων της (Autelitano *et al.*, 1984; Winkler *et al.*, 2006).

### 2.3.3 Φαινολικές ενώσεις

Περισσότερες από 35 φαινολικές ενώσεις έχουν εντοπιστεί στην μύρα (περίπου 80-90% από βύνη και 10-20% από λυκίσκο) (Gerhauser, 2005; Devreux, 1986; Bovin *et al.*, 1996). Έχει αποδειχθεί ότι τα φαινολικά οξέα από την μύρα απορροφώνται και μεταβολίζονται εκτενώς από το ανθρώπινο σώμα (Nardini *et al.*, 2006). Δομικά, οι φαινολικές ενώσεις στην μύρα κατηγοριοποιούνται ως απλές φαινόλες, παράγωγα βενζοϊκού και κινναμικού οξέος, κουμαρίνες, κατεχίνες, δι-, τρι- και ολιγομερείς προανθοκυανιδίνες, προπυλιωμένοι χαλκόνες και φλαβονοειδή ως οξέα άλφα και ισο-άλφα (Gerhauser, 2005). Ένας σημαντικός αριθμός φαινολικών μπορεί να δράσει ως αντιοξειδωτικά, με μηχανισμούς που περιλαμβάνουν ιδιότητες σάρωσης ελευθέρων ριζών και χηλικοποίηση ιόντων μετάλλων (metal-chelating properties) (Fantozzi *et al.*, 1998; Nardini *et al.*, 2006; Ghiselli *et al.*, 2000). Οι επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φαινολικών ενώσεων από τρόφιμα πλούσια σε φαινολικά και την πρόληψη πολλών ανθρώπινων ασθενειών που σχετίζονται με τα οξειδωτικά στρες, όπως αθηροσκλήρωση, ανάπτυξη καρκίνου και όγκου, διαβήτης, νευροεκφυλιστικές ασθένειες και γήρανση (Monrand *et al.*, 1998). Φλαβονοειδή, τα οποία αποτελούν μέρος φαινολικών ενώσεων, έχουν δείξει αντιφλεγμονώδη δράση (Monrand *et al.*, 1998; Yilmazer *et al.*, 2001). Η ξανθοχομόλη (ένα κύριο προπυλιωμένο φλαβονοειδές) και άλλα προπυλοφλαβονοειδή λυκίσκου έχουν βρεθεί ότι είναι χημειοπροστατευτικοί ή χημειοπροληπτικοί παράγοντες καρκίνου που δρουν

αναστέλλοντας τη μεταβολική ενεργοποίηση των προκαρκινογόνων (Stevens και Page, 2004), την πρόκληση ενζύμων καρκινογένεσης και την αναστολή ανάπτυξης όγκων μέσω αναστολής αγγειογένεσης φλεγμονωδών σημάτων σε πρώιμο στάδιο στους καρκίνους του αίματος (Lapcik *et al.*, 1998; Miranda *et al.*, 1999). Είναι επίσης γνωστό ότι αρκετές φαινολικές ενώσεις που προέρχονται από το λυκίσκο, ασκούν αντιδιαγονιδιακές επιδράσεις έναντι ετεροκυκλικών αμινών. Η αιθανόλη δεν έχει δείξει αντιμεταλλαξιογόνο δράση σε αυτές τις ετεροκυκλικές αμίνες (Yoshikawa *et al.*, 2002; Nozawa *et al.*, 2004). Η πλειοψηφία των πιο πρόσφατων μεγάλων μελετών με βάση τον πληθυσμό έχουν παρατηρήσει ότι η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ στο εύρος μιας έως τρεις φορές την ημέρα σχετίζεται με 30-40% χαμηλότερο ποσοστό στεφανιαίας νόσου σε σύγκριση με πληθυσμούς που δεν πίνουν. (Kaplan και Palmer, 2000) Αιθανόλη, βιολογικά ενεργές πρωτεΐνες και πεπτίδια και ορισμένες άλλες ενώσεις θεωρούνται ότι εμπλέκονται στην καρδιοπροστατευτική ιδιότητα της μύρας. Σε ορισμένες πηγές, ο βελτιωμένος μεταβολισμός των λιπιδίων που προκαλείται από μέτρια κατανάλωση μύρας έχει αποδοθεί κυρίως στις πολυφαινόλες της ξηρής του ύλης (Mosinger, 1994; Serafini *et al.*, 1998). Οι Gasowski *et al.* 2004 ανέφεραν ότι για να λάβουν το καλύτερο αποτέλεσμα όσον αφορά την βελτίωση των λιπιδίων στο πλάσμα, πρέπει να καταναλώνεται μύρα με το υψηλότερο αντιοξειδωτικό δυναμικό. Σε σύγκριση με άλλα αλκοολούχα ποτά, η μύρα μπορεί να είναι ιδιαίτερα πολύτιμη καθώς οι πηκτικές ουσίες που προέρχονται από λυκίσκο έχουν καταπραϊντικές και υπνωτικές ιδιότητες (Cooper, 1994). Η μύρα μπορεί επίσης να εξουδετερώσει την οστεοπόρωση (Miranda *et al.*, 1999; Nozawa *et al.*, 2004; Kondo, 2004). Έχει βρεθεί ότι η χουμουλόνη (ένα πικρό οξύ από τον λυκίσκο), απομονωμένη από τον λυκίσκο της μύρας, είναι ένας ισχυρός αναστολέας για την απορρόφηση των οστών (Tobe *et al.*, 1997). Τα φαινολικά οξέα της μύρας με σχετικά υψηλές αντιοξειδωτικές ικανότητες μπορεί να παρέχουν προστασία από ασθένειες που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες, όπως νευροεκφυλιστικές ασθένειες και ακόμη και τη νόσο του Alzheimer (Nardini *et al.*, 2006). Έχει αναφερθεί ότι η μέτρια κατανάλωση μύρας μειώνει τις αλλαγές εκφυλισμός της ωχράς κηλίδας στα μάτια (Obisean *et al.*, 1998). Ορισμένες φαινολικές ενώσεις του λυκίσκου (ειδικά η 8-πρενυλναρρινγκενίνη) φέρεται να εμφάνισαν οιστρογονικές ιδιότητες (Gerhauser, 2005; Stevens και Page, 2004). Έχει προταθεί, ότι η κατανάλωση ποτών πλούσιων σε 8-γερανυλναρρενίνη μπορεί να έχει θετική επίδραση στη θεραπεία των προ-εμμηνοπαυσιακών προβλημάτων (εξάψεις) ως καθώς και πρόληψη της οστεοπόρωσης σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση (Miranda *et al.*, 1999).

Έχει αποδειχθεί ότι η προνυλιωμένη χαλκόνη ξανθοχουμουλόνη και άλλα συστατικά λυκίσκου έχουν αντιυικές δράσεις κατά μιας σειράς ιών DNA και RNA (Buchwold *et al.*, 2004). Η ξανθοχουμουλόλη ήταν σε θέση να αναστέλλει τις κυτταροπαθητικές επιδράσεις που προκαλούνται από τον HIV-1 (Wang *et al.*, 2004).

#### 2.3.4 Άλλες ενώσεις

Είναι γνωστό ότι η γλυκίνη της βηταΐνης που υπάρχει στη μύρα ασκεί αντιμεταλλαξιογόνο δράση έναντι των ετεροκυκλικών αμινών (Kimura *et al.*, 1999). Τα κλάσματα μελανοειδίνης με σχετικά υψηλό μοριακό βάρος (10–200 kDa) εμφανίζουν επίσης ασθενώς επαγόμενη δραστηριότητα NADPH-κυτοχρώματος C αναγωγάσης και εξαρτώμενες από το μέγεθος γ-γλουταθειόνης S-τρανσφεράσες (GST) στην κυτταρική σειρά καρκίνου του κόκκου caco-2 (Faist *et al.*, 2002; Klatsky, 1999). Η επίδραση των μελανοειδών στον καρκίνο *in-vivo* απαιτεί περαιτέρω έρευνες. Η μύρα περιέχει 0,4-6,2 g/L από φυτικές ίνες (Gromes *et al.*, 2000). Το Βρετανικό Ίδρυμα Διατροφής στοχεύει στα 18 g ινών την ημέρα ως επιθυμητό επίπεδο για ενήλικες (Bamforth, 2002). Η κατανάλωση μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο κατά του καρκίνου του παχέος εντέρου. Διαπιστώθηκε επίσης ότι η κατανάλωση μύρας δεν βοηθά την ανάπτυξη, ή την δραστηριότητα επιβλαβών και παθογόνων εντερικών μικροοργανισμών (βακτήρια και όχι επιβλαβείς τύποι) (Bamforth, 2002). Η διέγερση της ανάπτυξης ή και της δραστηριότητας των βακτηρίων κοπράνων αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου μετατρέποντας τα από προκαρκινογόνα σε καρκινογόνα (Mortazavian και Sohrabvandi, 2006). Η β-ψευουριδίνη που διαχωρίστηκε από την μύρα βρέθηκε να είναι ισχυρό προστατευτικό έναντι της βλάβης που προκαλείται από την ακτινοβολία. Το πυριτικό οξύ που παρέχεται από την μύρα έχει οφέλη στην προώθηση της νεφρικής απέκκρισης αλουμινίου (Bellia *et al.*, 1996). Η ανοσοποιητική ιδιότητα της μύρας εμπλέκεται βαθιά στην αθηρογένεση (Libby *et al.*, 2002). Οι Mayer *et al.*, 2001 έχουν δείξει ότι η πρόσληψη φολικού οξέος από μύρα οδηγεί σε μείωση της περιεκτικότητας του αίματος σε ομοκυστεΐνη. Η υπερομοκυστεϊναιμία είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για αγγειακές παθήσεις (Bamforth, 2002). Αξίζει να σημειωθεί ότι η μύρα μπορεί να περιέχει ορισμένα συστατικά που προκαλούν δηλητηρίαση ή ακόμη και μεταλλαξιογόνα αποτελέσματα στο σώμα όταν η ημερήσια πρόσληψή τους υπερβαίνει τα όρια (ειδικά σε τακτική βάση), εκ των οποίων οι τοξικές αμίνες, οι μυκοτοξίνες, τα νιτρικά άλατα, το αλουμίνιο, η φορμαλδεΰδη και

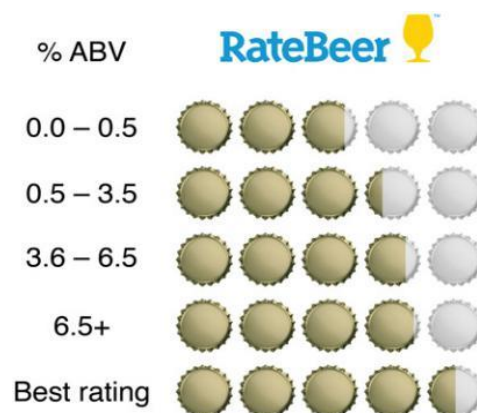


οι ριζικές μορφές οξυγόνου είναι οι πιο σημαντικές (Middlekauff, 1994; Halaz *et al.*, 1994; Hardwick, 1983; Liu και Nordberg, 1995; Loret *et al.*, 2005; Molto *et al.*, 2000; Zöllner *et al.*, 2000;).

### 3. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΠΥΡΑΣ ΜΕ ΧΑΜΗΛΟ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ

Η γεύση είναι ένας σημαντικός παράγοντας σε ότι έχει να κάνει με τις μπίρες με λίγο ή χωρίς αλκοόλ. Η προτίμηση για μπίρες τυπικής περιεκτικότητας σε αλκοόλ και μπίρες υψηλότερης περιεκτικότητας σε αλκοόλ, σε αντίθεση με τις μπίρες με λίγο ή χωρίς αλκοόλ, γίνεται φανερή όταν μελετήσει κανείς τον ιστότοπο με βαθμολογίες μπίρας [ratebeer.com](http://ratebeer.com) και τις βαθμολογίες με τις καλύτερες κατηγορίες μπίρας διαφορετικής περιεκτικότητας σε αιθανόλη (Εικόνα 3). Τα ελλείμματα γεύσης της μπίρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ έχουν ελεγχθεί από τους Blanco *et al.*, 2016. Στην μύρα με αλκοόλη, τα ελλείμματα γεύσης εκδηλώνονται κυρίως με πικρή και ξινή γεύση, ενώ στις μπίρες με λίγο ή χωρίς αλκοόλ που παράγονται από περιορισμένη ζύμωση χαρακτηρίζονται συχνά από μία ανεπιθύμητη βυνώδη και γλυκιά γεύση.

Εκτός από τα θέματα γεύσης, μπορεί να υπάρχουν προβλήματα μάρκετινγκ ή επισήμανσης. Πρέπει η γεύση της μπίρας χωρίς αλκοόλ, να μιμηθεί την αντίστοιχη αλκοολούχο ή να είναι ένα αυτόνομο ποτό; Αυτό το κεφάλαιο εξετάζει πρόσφατες μελέτες καταναλωτών που σχετίζονται με τη γεύση, τις προσδοκίες και τις προτιμήσεις και τα συναισθήματα των ζύθων με λίγο ή χωρίς αλκοόλη, καθώς και με θέματα επισήμανσης (labeling) και μάρκετινγκ.



**Εικόνα 3:** Μέση βαθμολογία μπίρας με διαφορετικές τιμές ABV (αλκοόλ κατ 'όγκο) στο [ratebeer.com](http://ratebeer.com). (βαθμολογίες  $n \geq 100$ ; μέση βαθμολογία με τις καλύτερες 10 μπίρες που αναφέρονται; κατηγορία για 0,0–3,5% ABV: «Χαμηλή (Low) αλκοόλη», κατηγορία για 3,6–6,5+% ABV: “Lagers”, κατηγορία για την καλύτερη βαθμολογία: “Όλα τα στυλ.”) (Bellut και Arendt, 2019).

Σε μια μελέτη που χρονολογείται από το 2014, οι Lachenmeier *et al.*, 2014 έδειξαν ότι οι καταναλωτές δεν μπορούν να διακρίνουν τον αλκοολικό τίτλο των αλκοολούχων ποτών, αλλά είναι ικανοί να κάνουν διάκριση μεταξύ μίας μύρας χωρίς αλκοόλ (0,5% ABV) και μίας μύρας τυπικής περιεκτικότητας σε αλκοόλ (5% ABV). Υπάρχει έλλειψη έρευνας σχετικά με τις ελάχιστες ανιχνεύσιμες διαφορές στον αλκοολικό τίτλο στις μύρες, αλλά για το λευκό κρασί, οι King και Heymann το 2014, διαπίστωσαν ότι οι καταναλωτές δεν μπόρεσαν να εντοπίσουν διαφορές στον αλκοολικό τίτλο, μικρότερες του 1% ABV.

Ο Missbach *et al.*, 2017 διερεύνησε τον κύκλο ζωής των μύρων με ποικίλα περιεχόμενα αλκοόλης για να μελετήσει τη χρονική κυριαρχία της γεύσης κατά την κατανάλωση με έναν εκπαιδευμένο και έμπειρο πάνελ. Τα χαρακτηριστικά από τα αποτελέσματα των δοκιμών ήταν: βρώμικο, φρουτώδες, πικρό, στυπτικό και κακό. Η μελέτη περιελάμβανε τρεις διαφορετικές μάρκες με συνηθισμένη μύρα lager (4,9–5,4% ABV), μύρα με λίγη αλκοόλη (3,0–3,5% ABV) και μύρα χωρίς αλκοόλ (<0,5% ABV). Η μελέτη διαπίστωσε ότι η ανεπιθύμητη αρωματική γεύση ήταν πιο έντονη στην μύρα χωρίς αλκοόλ, αλλά μόνο πριν από την κατάποση. Μετά την κατάποση, κυριαρχούσαν οι γεύσεις βύνης και η πικρία του λυκίσκου. Ως εκ τούτου, οι συγγραφείς συνέστησαν στους καταναλωτές να καταπιούν την μύρα χωρίς αλκοόλ γρηγορότερα και να επικεντρωθούν στα χαρακτηριστικά της γεύσης μετά την κατάποση, με τη γεύση και πικρία από τον λυκίσκο. Αυτά τα ευρήματα μπορεί επίσης να είναι ενδιαφέροντα για τους ζυθοποιούς (δηλαδή, να πειραματίζονται με λυκίσκο και βύνη) και τους εμπόρους (δηλαδή, με έμφαση στην κατανάλωση από το μπουκάλι αντί από το ποτήρι) (Bellut K. και Arendt E. 2019).

Σε μια μελέτη των Schmelzle *et al.*, 2013 πραγματοποιήθηκε μια οργανοληπτική περιγραφική ανάλυση σε δώδεκα μύρες χωρίς αλκοόλ (<0,5% ABV), πέντε εκ των οποίων παράχθηκαν με φυσικές μεθόδους αφαίρεσης αλκοόλης και επτά παράγονται με περιορισμένο σχηματισμό αιθανόλης και υβριδικές μεθόδους. Η εκπαιδευμένη ομάδα 21 δοκιμαστών εντόπισε 21 χαρακτηριστικά σχετικά με τη γεύση, τη μυρωδιά και το στόμα στις μύρες χωρίς αλκοόλ. Τα χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η ένταση σε ένα κύριο συστατικό, σε κάθε μία μύρα χωρίς αλκοόλ και η ανάλυση (PCA) διεξήχθη για να απεικονίσει τις αισθητικές ομοιότητες και διαφορές. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν έδειξαν ότι οι αποαλκοολομένες μύρες θεωρήθηκαν ότι έχουν ξινή και πικρή γεύση, βραστό άρωμα λάχανου και υφή επίστρωσης στο

στόμα. Οι μύρες χωρίς αλκοόλ, που παράγονται με περιορισμένη ζύμωση (και υβριδικές μεθόδους) θεωρούνται γλυκές, με άρωμα βύνης και μέλι ή με άρωμα λυκίσκου. Η ανάλυση των σακχάρων αποκάλυψε ότι οι μύρες χωρίς αλκοόλ, που παράγονται με περιορισμένη ζύμωση είχαν υπολειμματικές συγκεντρώσεις σακχάρου άνω των 24 g/L, ενώ οι μύρες που έχουν αποαλκοολωθεί είχαν συγκεντρώσεις σακχάρων μικρότερες ή ίσες με 9 g/L. Οι συγγραφείς έδειξαν ότι υπήρχε σαφής συσχέτιση μεταξύ της αντιληπτής γλυκιάς γεύσης και της ποσότητας των υπολειμματικών σακχάρων, ταξινομώντας τις μύρες χωρίς αλκοόλ, σε δύο ομάδες ανάλογα με τη γεύση και τις μεθόδους παραγωγής τους. Σε μια μελέτη αποδοχής, εννέα από τις δώδεκα μύρες επιλέχθηκαν για να αντιπροσωπεύσουν τις διάφορες οργανοληπτικές κατηγορίες και αξιολογήθηκαν σε μια δοκιμή με 116 καταναλωτές. Αποδείχθηκε ότι οι καταναλωτές προτιμούσαν γλυκές και ελαφρώς φρουτώδεις μύρες χωρίς αλκοόλ. Οι μυρωδιές από βύνη και μέλι, που βρέθηκαν σε ορισμένες μύρες χωρίς αλκοόλ που παράγονται από περιορισμένη ζύμωση, δεν ευνοήθηκαν ιδιαίτερα, ούτε οι πικρές και ξινές γεύσεις από μύρες χωρίς αλκοόλ που παράγονται με αφαίρεση αλκοόλης. Αν και οι περισσότεροι συμμετέχοντες δήλωσαν ότι η γεύση της μύρας χωρίς αλκοόλ δεν πρέπει να διαφέρει από την μύρα κανονικής ισχύος, η βαθμολογία αποδοχής τους δεν διέφερε σημαντικά από τους συμμετέχοντες που διαφωνούσαν με αυτήν τη δήλωση. Ως εκ τούτου, οι συγγραφείς θέτουν το ερώτημα αν οι μύρες χωρίς αλκοόλ, πρέπει να αναπτυχθούν σύμφωνα με τις μύρες κανονικής ισχύος ή πρέπει να θεωρηθούν ως ξεχωριστή κατηγορία προϊόντων, τονίζοντας ότι τα προτιμώμενα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (γλυκά και ελαφρώς φρουτώδη) υποεκπροσωπούνται μεταξύ των δοκιμασμένων μυρών χωρίς αλκοόλ (Schmelzle *et al.*, 2013).

Ο Silva *et al.*, 2016 διερεύνησε τις λειτουργικές και συναισθηματικές συσχετίσεις που είχαν 56 καταναλωτές με την κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλ, σε σύγκριση με την κανονική μύρα και το κρασί. Διαπιστώθηκε ότι η αντίληψη για την μύρα χωρίς αλκοόλ χαρακτηρίστηκε ως «κυρίως χρηστική», ενώ η μύρα και το κρασί ήταν επίσης πλούσια σε συναισθηματικό περιεχόμενο. Η μύρα χωρίς αλκοόλ θεωρήθηκε ως υποκατάστατο της μύρας και των αναψυκτικών και ως μια πιο υγιεινή εναλλακτική λύση. Μεταξύ των συναισθηματικών απαντήσεων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: «υπεύθυνοι» (θετικοί), «συνειδητοί και ασφαλείς» (ουδέτεροι) και «απογοητευμένοι» (αρνητικοί). Αναφέρθηκε ότι οι καταναλωτές μύρας χωρίς αλκοόλ, χωρίζονται σε δύο ομάδες όσον αφορά τα κίνητρά τους για κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλ. Σε μια

ομάδα, η γεύση ήταν το κύριο κίνητρο για κατανάλωση, η οποία είναι συγκρίσιμη με τα ευρήματα της Χρυσόχου 2014, σε μια μελέτη καταναλωτών μύρας με λιγότερο αλκοόλ από την Ισλανδία. Για την άλλη ομάδα, ο κύριος λόγος για την κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλ ήταν η αποφυγή αλκοόλ. Οι συγγραφείς δηλώνουν ότι ορισμένοι συμμετέχοντες περιέγραψαν τη μύρα χωρίς αλκοόλ ως ψεύτικο ποτό, συγκρίσιμο με τα πλαστικά λουλούδια, αντανακλώντας τις υψηλές απαιτήσεις της σύγκρισης της μύρας χωρίς αλκοόλ με την κανονική μύρα, το οποίο μπορεί να αφήσει τον καταναλωτή με ανεκπλήρωτες προσδοκίες. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι για να αποτρέψει ή να ελαχιστοποιήσει την απογοήτευση από τους καταναλωτές, η μύρα χωρίς αλκοόλ θα πρέπει να αντιμετωπίζεται από μόνο του (σαν ξεχωριστό) ποτό και ότι οι άμεσες εννοιολογικές συγκρίσεις με μύρα, ειδικά όσον αφορά τη γεύση, πρέπει να αποφεύγονται (Silva *et al.*, 2016).

Οι Jaeger *et al.*, 2017 ανέφεραν παρόμοια ευρήματα σε συναισθηματικές συσχετίσεις με την κατανάλωση ζύθων με λίγο ή χωρίς αλκοόλ. Οι συγγραφείς δοκίμασαν εννέα μύρες που διατίθενται στο εμπόριο με ABV μεταξύ 2,5 και 7,0% σε μια διαδικασία δοκιμής 128 καταναλωτών και κατέγραψαν (μεταξύ άλλων αξιολογήσεων) τις συναισθηματικές τους απαντήσεις. Η μύρα με τη χαμηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ (2,5% ABV) μεταξύ των εννέα μύρων της μελέτης, συσχετίστηκε περισσότερο με τις συναισθηματικές συσχετίσεις «ασφαλής ή άνετα» (secure / at ease) (13%). Αντίθετα, η μύρα με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ (7,0% ABV) είχε την πιο αδύναμη σχέση με αυτό το συναίσθημα (2%). Οι συγγραφείς έχουν την άποψη, ότι η περιεκτικότητα σε αλκοόλ στηρίζει αυτή τη διαφορά, και επιθυμούν να το ερευνήσουν περισσότερο, σε μελλοντική έρευνα, με μεγαλύτερη έμφαση στις μύρες με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ και χωρίς αλκοόλ (Jaeger *et al.*, 2017).

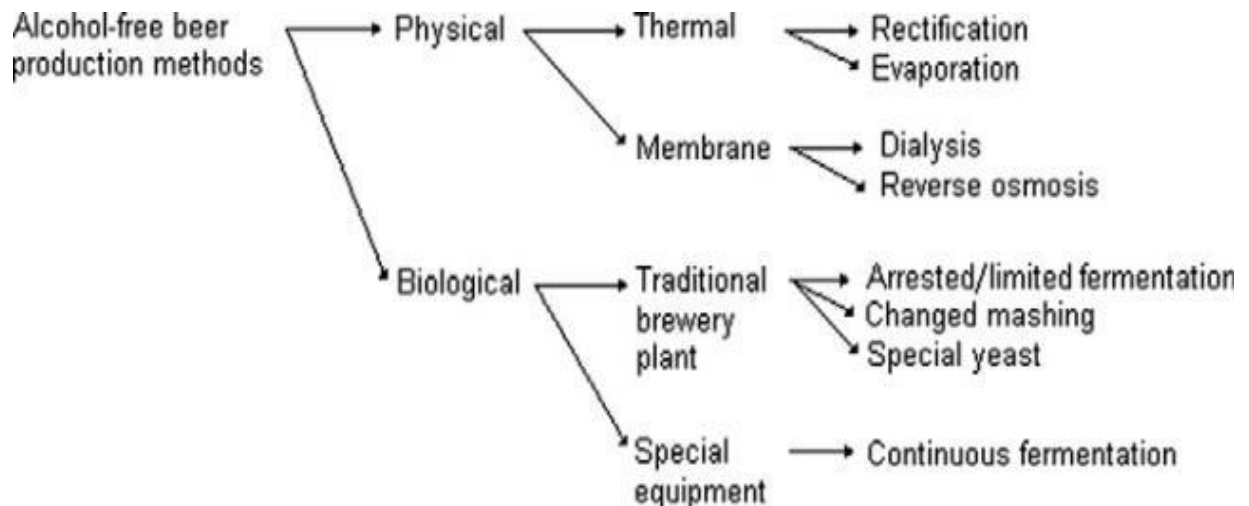
## **4. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΖΥΘΟΥ ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ ή ΜΕ ΛΙΓΟ ΑΛΚΟΟΛ ΜΕ ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ**

### **4.1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΠΥΡΑΣ ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ**

Οι στρατηγικές για την παραγωγή μπύρας με λίγο ή χωρίς αλκοόλ μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες ομάδες (φυσικές και βιολογικές διεργασίες), οι οποίες μπορούν να αναλυθούν περαιτέρω όπως φαίνεται εδώ (Εικόνα 4). Οι λεγόμενες φυσικές μέθοδοι βασίζονται στην απομάκρυνση του αλκοόλ από την κανονική μπύρα και απαιτούν σημαντικές επενδύσεις στον ειδικό εξοπλισμό για την απομάκρυνση του αλκοόλ. Μετά τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας αφαίρεσης, η οργανοληπτική ποιότητα των παραγόμενων ζύθων με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, είναι συνήθως καλή. Το επιπλέον πλεονέκτημά τους είναι ότι μπορούν να αφαιρέσουν την αιθανόλη από τις μπύρες σε χαμηλά επίπεδα. Οι πιο διαδεδομένες βιολογικές προσεγγίσεις βασίζονται στον περιορισμένο σχηματισμό αιθανόλης κατά τη διάρκεια της ζύμωσης της μπύρας. Συνήθως εκτελούνται με παραδοσιακό εξοπλισμό ζυθοποιίας και ως εκ τούτου δεν απαιτούν πρόσθετες επενδύσεις, αλλά τα προϊόντα τους χαρακτηρίζονται συχνά από ανεπιθύμητες βυνώδεις γεύσεις. Οι ζυμώσεις που χρησιμοποιούν ειδικές μαγιές, αυξάνουν το κόστος με την αγορά αυτών, την επιλογή ή την δημιουργία των στελεχών παραγωγής, καθώς και από την ανάγκη διαχωρισμού και πολλαπλασιασμού τους. Ωστόσο, κατάλληλοι προσαρμοσμένοι ή επιλεγμένοι μικροοργανισμοί μπορούν να συμβάλουν σημαντικά στη βελτίωση της οργανοληπτικής ποιότητας του προϊόντος. Υπάρχουν επίσης διεργασίες παραγωγής, (συνεχής ζύμωση με ακινητοποιημένη μαγιά) με περιορισμένο σχηματισμό αλκοόλης, οι οποίες απαιτούν ειδικό εξοπλισμό και υλικό (βιοαντιδραστήρας συνεχούς λειτουργίας, φορέας ακινητοποίησης κυττάρων). Σε αυτήν την περίπτωση, το υψηλότερο επενδυτικό κόστος πρέπει να δικαιολογείται από την υψηλότερη παραγωγικότητα των συνεχών διαδικασιών. Γενικά, ο σχηματισμός αιθανόλης, που είναι εγγενής στις βιολογικές μεθόδους, καθιστά αδύνατη την παραγωγή μπυρών με λίγο ή χωρίς αλκοόλ με περιεκτικότητα σε αλκοόλη σχεδόν στο μηδέν (Branyik *et al.*, 2011).

### 4.1.1 Παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλη με μεθόδους αφαίρεσης αιθανόλης

Οι τεχνολογίες που εφαρμόζονται για πλήρη ή μερική αφαίρεση αιθανόλης από κανονικές μύρες μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες με βάση την αρχή της διαδικασίας διαχωρισμού, όπως θερμικές και διεργασίες μεμβρανών (Εικόνα 4). Εκτός από τις βιομηχανικά εφαρμοζόμενες μεθόδους αφαίρεσης αλκοόλης από την μύρα (κενού και εξάτμιση, διήθηση και αντίστροφη όσμωση), έχουν μελετηθεί αρκετές άλλες μέθοδοι υπό εργαστηριακές συνθήκες όπως άλλες τεχνικές με μεμβράνες, (Matson, 1987; Etuk and Murray, 1990), εξάτμιση, (Magalhaes Mendes *et al.*, 2008), συγκέντρωση κατάψυξης (Von Hodenberg, 1991) προσρόφηση σε υδρόφοβους ζεόλιθους (Anglerot, 1994), και υπερκρίσιμη εκχύλιση CO<sub>2</sub>, (Mori, 2004) και άλλες.



Εικόνα 4: Το σχήμα των πιο κοινών μεθόδων παραγωγής μύρας χωρίς αλκοόλ (Branyik et al., 2011).

## 4.2 ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ

Οι πρώτες προσπάθειες για την αφαίρεση της αλκοόλης από την μύρα με εξάτμιση ή απόσταξη υπό ατμοσφαιρική πίεση, η οποία αποκάλυψε σημαντική θερμική βλάβη στη γεύση της μύρας, αντικαταστάθηκαν σύντομα με απόσταξη κενού (Zufall and Wackerbauer, 2000a). Εάν η πίεση μειωθεί, το αλκοόλ μπορεί να απομακρυνθεί σε πολύ χαμηλότερη θερμοκρασία. Όλες οι θερμικές διεργασίες για την παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλ εκτελούνται επομένως σε απόλυτη πίεση 4-20 kPa, με την οποία επιτυγχάνονται θερμοκρασίες εξάτμισης 30-60°C. Παρόλα αυτά, κατά τη διάρκεια των

θερμικών διεργασιών μπορεί να συμβεί μεγάλη απώλεια στη γεύσης και την φρεσκάδας της μύρας. Η αποτίμηση της ποιότητας του ζύθου με θερμική αφαίρεση της αλκοόλης εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία εξάτμισης και την περίοδο έκθεσης, η οποία εξαρτάται από την κατασκευή του θερμικού διαχωριστή. Η παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλ σε βιομηχανική κλίμακα έχει εφαρμοστεί χρησιμοποιώντας εγκαταστάσεις απόσταξης κενού (rectification) ή εξατμιστές κενού (μονούς ή πολλαπλών σταδίων) δύο κύριων κατασκευαστικών παραλλαγών, δηλαδή φυγοκεντρικών εξατμιστών και εξατμιστών πτώσης λεπτής μεμβράνης.

Πίνακας 2: Επιλεγμένες ιδιότητες της αρχικής μύρας εισόδου και μύρες χωρίς αλκοόλ που λαμβάνονται με διόρθωση κενού και μετά από επεξεργασία με ανακατεύθυνση αρώματος και ανάμειξη με 6% krausenna.

Sample	Original 1/ Original 2	Dealcoholized 1 <sup>a</sup> / Dealcoholized 2 <sup>b</sup>	Dealcoholized 1 <sup>a</sup> + aroma	Dealcoholized 1 <sup>c</sup> + 6% Krausena
Original gravity (wt%)	11.59/na	5.16/na	4.98	5.22
Ethanol (% ABV)	4.99/5.3	0.48/0.03	0.51	0.54
Color (EBC)	8.4/na	9.5/na	8.7	9.5
pH	4.75/na	4.71/na	4.78	4.69
Bitterness (EBC)	24.9/na	25.5/na	27.5	29.3
1-Propanol (mg/l)	6.7/23.4	0.8/nd	1.0	1.3
2-Methylpropanol (mg/l)	11.2/24.3	nd/nd	0.7	1.7
2-Methy-1butanol (mg/l)	15.2/22.4	nd/0.1	4.3	2.8
3-Methy-1butanol (mg/l)	52.8/64.1	nd/0.3	3.0	10
2-Phenylethanol (mg/l)	18.6/35.9	22.4/35.1	20.0	23.0
Furfuryl alcohol (mg/l)	0.07/3.2	nd/2.8	0.01	0.02
Ethyl acetate (mg/l)	16.9/23.1	nd/nd	3.3	5.2
Isoamyl acetate (mg/l)	1.9/2.8	nd/nd	0.5	0.5
2-Phenyl ethyl acetate (mg/l)	0.4/na	0.03/na	-	0.34
Total HAA (mg/l)	104.7/173.3	23.2/38.3	29.0	38.82
Total EAA (mg/l)	19.6/25.9	0.04/nd	3.83	6.13

Τα δεδομένα δεν είναι διαθέσιμα; nd, μη ανιχνεύσιμο. <sup>a</sup> Αφαίρεση αλκοόλης από 1 to 0.48% ABV. <sup>b</sup> Αφαίρεση αλκοόλης από 2 to 0.03% ABV. <sup>c</sup> Αφαίρεση αλκοόλης ποαλκοολισμός από 1 to 0.1% ABV (Narziss *et al.*, 1993).

#### 4.2.1 Μονάδα ανακαθαρισμού / απόσταξης υπό κενό (Vacuum rectification plant)

Αυτή η διαδικασία αποτελείται από τα εξής βήματα: προθέρμανση της φιλτραρισμένης αλκοολούχου μύρας σε εναλλάκτη πλακών, απαέρωση μύρας (απώλεια φρεσκάδας) και ταυτόχρονη απελευθέρωση πτητικών ενώσεων σε απαερωτήρα κενού, αφαίρεση αλκοόλης σε στήλη κενού (συνήθως μια στήλη διόρθωσης συσκευασμένης κλίνης), ανάκτηση των συστατικών του αρώματος από το CO<sub>2</sub> με ψεκάσμο με μύρα χωρίς αλκοόλη ή νερό και ανακατεύθυνση του σε μύρα χωρίς αλκοόλη (Regan, 1990; Narziss *et al.*, 1993). Στη στήλη διόρθωσης το ρευστό ρέει αντίθετα σε θερμοκρασία μεταξύ 42 και 46°C. Στην αντίθετη ροή, το προϊόν έρχεται σε επαφή με αυξανόμενους ατμούς, που παράγονται από μύρα χωρίς αλκοόλη σε έναν εξατμιστή, ο οποίος επιφέρει τον επιλεκτικό διαχωρισμό αλκοόλης από το προϊόν. Στη συνέχεια, το προϊόν χωρίς αλκοόλη (λιγότερο από 0,05% ABV είναι εφικτό) ψύχεται. Η παραγωγική ικανότητα αυτών των συστημάτων παρέχεται συνήθως στο εύρος 4–200 hl μύρας χωρίς αλκοόλη ανά ώρα. Η μέθοδος αυτή απαιτεί και μια μονάδα ανάκτησης αρώματος, όπου τα συστατικά αρώματος ανακτώνται και η ανακατεύθυνσή τους στην μύρα μπορεί να γίνει υπό πίεση (Koerner, 1996). Οι ατμοί πλούσιοι σε αλκοόλη μπορούν να συγκεντρωθούν σε 75% ABV σε ένα τμήμα διόρθωσης και να διατεθούν στην αγορά (Narziss *et al.*, 1993; Branyik *et al.*, 2011). Χωρίς συμπίκνωση, το αλκοολικό παραπροϊόν που παράγεται έχει περίπου 8-9% ABV. Αυτό το υποπροϊόν μπορεί να πωληθεί για την παραγωγή ξιδιού (Regan, 1990). Η ανάκτηση των αρωματικών πτητικών ουσιών από το CO<sub>2</sub> που απελευθερώθηκε κατά τη διάρκεια της απαέρωσης και η προσθήκη τους στην αποαλκοολομένη μύρα, επέστρεψε περίπου το 6% και το 20% των αρχικά παρόντων ανώτερων αλκοολών και εστέρων (Εικόνα 5), αντίστοιχα (Narziss *et al.*, 1993). Το θερμικό στρές που επιδεικνύει το σύστημα αφαίρεσης αλκοόλης, θεωρήθηκε αμελητέο. Δεν παρατηρήθηκε αύξηση της υδροξυμεθυλοφουρφουράλης ή της φουρφουράλης σε μύρες χωρίς αλκοόλη (Kern, 1994). Η περιεκτικότητα λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας μειώθηκε κατά τη διάρκεια της αφαίρεσης αλκοόλης κατά 20-40% σε σύγκριση με την αρχική μύρα, με εξαίρεση τη μη φιλτραρισμένη μύρα χωρίς αλκοόλη, όπου η θερμόλυση των κυττάρων ευθύνεται για την αυξημένη περιεκτικότητα σε δεκανοϊκό οξύ (Narziss *et al.*, 1993).



#### 4.2.2 Εξατμιστές λεπτής μεμβράνης

Προκειμένου να μειωθεί η απομάκρυνση της αιθανόλης, η μύρα ρέει μέσω αυτών των συσκευών κενού ως λεπτή μεμβράνη με μεγάλη επιφάνεια σε εξαιρετικά σύντομο χρόνο παραμονής, με αποτέλεσμα βελτιωμένη ποιότητα προϊόντος. Υπάρχουν εξατμιστές λεπτής μεμβράνης, οι οποίοι παράγουν λεπτό υγρό φιλμ με μηχανικό τρόπο (περιστροφική κίνηση), η λειτουργία αυτού του συστήματος μοιάζει με εκείνη μιας φυγόκεντρου πλάκας. Ο φυγόκεντρικός εξατμιστήρας λειτουργεί υπό κενό σε χαμηλές θερμοκρασίες (35-60<sup>0</sup>C) και χρησιμοποιεί ατμό ως μέσο θέρμανσης. Οι εξατμιστές Centritherm έχουν σχεδιαστεί με 1-12 κοίλους κώνους, οι οποίοι αντιστοιχούν στην ικανότητα παραγωγής ζύθου χωρίς αλκοόλη από 0,5 έως 100 hl/h, αντίστοιχα. Ο φυγόκεντρικός εξατμιστήρας έχει ελάχιστη θερμική επίδραση και εύκολη λειτουργία, ενώ η διείσδυση οξυγόνου μέσω των στεγανοποιητικών των κινούμενων μερών θεωρείται πιθανός κίνδυνος (Zufall και Wackerbauer, 2000a).

Υπάρχει επίσης και ο εξατμιστής μεμβράνης, που δεν περιέχει κινούμενα μέρη και το υγρό φιλμ δημιουργείται από την κίνηση που προκαλείται από τη βαρύτητα προς τα κάτω της μύρας στην εσωτερική επιφάνεια των σωλήνων θέρμανσης. Το σύστημα δεν είναι μόνο φθηνότερο στην κατασκευή, αλλά και πιο εύκολο να καθαριστεί και ουσιαστικά δεν υπάρχει κίνδυνος μεταφοράς οξυγόνου στα διάφορα στεγανοποιητικά κινούμενα μέρη. Συνολικά, το κόστος απόκτησης και λειτουργίας της εξάτμισης λεπτής μεμβράνης θεωρείται το χαμηλότερο από όλα τα συστήματα θερμικής αφαίρεσης αλκοόλης. Περαιτέρω εξοικονόμηση ενέργειας μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας ένα σχεδιασμό πολλαπλών σταδίων εξατμιστήρων μεμβράνης, καθώς οι ατμοί που περιέχουν αλκοόλη από τον πρώτο εξατμιστή μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ατμός θέρμανσης στον δεύτερο, ενώ οι ατμοί από τον δεύτερο μπορούν να θερμάνουν τον τρίτο εξατμιστή. Κάποιο μειονέκτημα αυτής της διάταξης πολλαπλών σταδίων είναι η ανάγκη λειτουργίας του πρώτου σταδίου σε σχετικά υψηλή θερμοκρασία (60<sup>0</sup>C), έτσι ώστε η θερμοκρασία των ατμών στο τελικό στάδιο να είναι αρκετά υψηλή για την απομάκρυνση της αλκοόλης (35-40<sup>0</sup>C) (Hochberg, 1986).

## 4.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

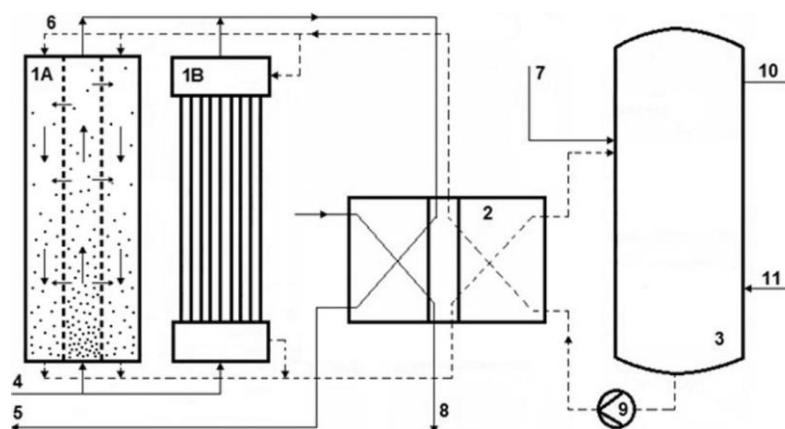
Αυτές οι μέθοδοι απομάκρυνσης αλκοόλης βασίζονται στον ημιδιαπερατό χαρακτήρα των μεμβρανών, οι οποίες διαχωρίζουν μόνο μικρά μόρια όπως η αιθανόλη και το νερό από την μύρα στο διαπερατό υγρό. Δύο τύποι διεργασιών μεμβράνης που χρησιμοποιούνται για την αλκοόλη μύρας μπορούν να διακριθούν σε βιομηχανική κλίμακα: διαπίδυση και αντίστροφη όσμωση. Διαφέρουν ως προς τις εφαρμοζόμενες πιέσεις και θερμοκρασίες, τα υλικά μεμβράνης και τις δομές τους. Είναι γνωστό ότι όλες οι διεργασίες μεμβράνης έχουν μικρότερη θερμική επίδραση στην μύρα, μπορούν να λειτουργούν αυτόματα και με ευέλικτο τρόπο, αλλά ταυτόχρονα απαιτούν σημαντικό κεφαλαιακό και λειτουργικό κόστος. Η οικονομική σκοπιμότητα των διεργασιών μεμβράνης για την παραγωγή ποτών με ποσοστό αλκοόλης χαμηλότερο από 0,45 vol.% αμφισβητήθηκε από ορισμένους συγγραφείς, (Pilipovik και Riverol, 2005) ενώ άλλοι δήλωσαν ότι η ενεργειακή απαίτηση ενός συστήματος μεμβράνης για αφαίρεση αλκοόλης (αντίστροφη όσμωση) θα ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη ενός συμβατικού συστήματος απόσταξης (Mehta, 1982). Οι διαδικασίες μεμβράνης προτάθηκαν επίσης ως μέρος ενός συστήματος αφαίρεσης αλκοόλης για τη συνεχή παραγωγή ποτών χωρίς αλκοόλη (Gresch, 1991).

### 4.3.1 Διαπίδυση

Η κινητήρια δύναμη της μεταφοράς μάζας κατά μήκος της ημιδιαπερατής μεμβράνης διάλυσης είναι η βαθμίδα συγκέντρωσης των ενώσεων μεταξύ μύρας και προϊόντων διαπίδυσης. Η ημιπερατή μεμβράνη δρα ως μοριακό κόσκινο διαπερατό μόνο σε ορισμένα μόρια, ανάλογα με το μέγεθος των πόρων και τις επιφανειακές ιδιότητες της μεμβράνης. Όταν η αφαίρεση της αλκοόλης με διαπίδυση πραγματοποιείται σε νερό, όλα τα συστατικά μύρας τείνουν να μετακινούνται από την περιοχή της υψηλής συγκέντρωσης (μύρα) στην περιοχή της χαμηλής συγκέντρωσης (νερό), ενώ λίγο νερό θα διαχέεται από το προϊόν διαπίδυσης στην μύρα. Ο κυρίαρχος μηχανισμός μεταφοράς μάζας κατά τη διαπίδυση είναι η μοριακή διάχυση. Όταν εφαρμόζεται η διαφορά διαμεμβρανικής πίεσης (συνήθως 10-60 kPa), προκειμένου να καταστείλει τη διάχυση του νερού στην μύρα, η διαδικασία ονομάζεται συχνά διαδιήθηση και

πραγματοποιούνται μεταφορές διάχυσης όσο και μεταφορές μάζας (Leskosek και Mitrovic, 1994; Petkovska *et al.*, 1997).

Η διαδικασία της διαπίδυσης εκτελείται συνήθως στους 1-6<sup>0</sup>C, εξαλείφοντας το θερμικό φορτίο του προϊόντος. Οι μεμβράνες διαπίδυσης αποτελούνται είτε από παράγωγα κυτταρίνης ή από διάφορα συνθετικά υλικά (π.χ. πολυσουλφόνη, πολυαιθεροσουλφόνη) και γενικά διατάσσονται σε δέσμες κοίλων ινών (hollow fibers), γνωστών ως δομοστοιχείων. Σε κοίλες ίνες η μύρα περνά κατά μήκος μιας μεμβράνης διαπίδυσης, ενώ ταυτόχρονα ένα υγρό διαπίδυσης χωρίς αλκοόλη ρέει αντίθετα από την άλλη πλευρά της μεμβράνης (Εικόνα 5). Η αρχή της ροής αντίθετου ρεύματος εγγυάται μια υψηλή κλίση συγκέντρωσης μεταξύ του προϊόντος διαπίδυσης και της μύρας όσον αφορά την περιεκτικότητα σε αλκοόλη, έτσι ώστε να μπορεί να επιτευχθεί η βέλτιστη διάχυση. Για να λειτουργήσει μια μονάδα διήθησης, είναι απαραίτητο να ασκηθεί πίεση τόσο στην πλευρά της μύρας όσο και στην διαπίδυση, διαφορετικά η διαπίδυση μπορεί να διαταραχθεί με την απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα. Η εφαρμοζόμενη πίεση πρέπει να είναι τουλάχιστον ίση με την πίεση κορεσμού του CO<sub>2</sub> στην μύρα σε μια δεδομένη θερμοκρασία. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί περαιτέρω η απώλεια CO<sub>2</sub> συνιστάται η προσθήκη μιας μικρής ποσότητας διοξειδίου του άνθρακα στο νερό διαπίδυσης. Αυτό θα εξαλείψει επίσης τον κίνδυνο μεταφοράς οξυγόνου από το προϊόν διαπίδυσης στην μύρα. Πρέπει επίσης να δοθεί προσοχή στο περιεχόμενο των ανόργανων αλάτων (νάτριο, ασβέστιο, νιτρικά άλατα), τα οποία μπορούν να συγκεντρωθούν στο νερό, κατά τη διάρκεια της διόρθωσης και στη συνέχεια να περάσουν στην μύρα (Moonen and Niefind, 1982; Attenborough, 1988; Donhauser *et al.*, 1991).



Εικόνα 5: Διάγραμμα ροής της αφαίρεσης αλκοόλ μύρας με διαπίδυση: (1A) αρχή της διαπίδυσης με κοίλες ίνες, (1B) σχηματική αναπαράσταση της τριοξειδούς μεμβράνης, (2) εναλλάκτης θερμότητας, (3) στήλη αφαίρεσης, (4) αρχική μύρα, (5) μύρα με αλκοόλη, (6) προϊόν διαπίδυσης, (7) διορθωμένο νερό ζυθοποίησης, (8) γλυκόλη, (9) αντλία διηθήματος, (10) αλκοολικό συμπύκνωμα, (11) απομάκρυνση ατμού.

Παρά τη βελτιστοποίηση των μεμβρανών και των παραμέτρων διεργασίας, δεν μπορεί να επιτευχθεί επιλεκτική απομάκρυνση της αιθανόλης. Άλλα συστατικά μύρας, όπως ανώτερες αλκοόλες και εστέρες, απομακρύνονται επομένως σχεδόν εντελώς από την μύρα με διαπίδυση (Πίνακας 3). Οι απώλειες πτητικών ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους μπορούν να αποφευχθούν προσθέτοντάς τις σε δύλισμα μειώνοντας έτσι τη διάχυσή τους από την μύρα. Η έκταση και ο ρυθμός αφαίρεσης αλκοόλης, καθώς και η απώλεια πτητικών, μπορεί να ρυθμιστεί κυρίως από την αναλογία των ποσοστών ροής του προϊόντος διαπίδυσης και της μύρας, η οποία μπορεί να ποικίλει σε μεγάλο εύρος από 0,4:1 έως 6,5:1. Αυξάνοντας την αναλογία ροής διαπίδυσης προς μύρα, γίνεται πιο έντονη η απομάκρυνση αλκοόλης και πτητικών από την μύρα. Ωστόσο, αυτός ο λόγος επηρεάζει όχι μόνο το ρυθμό απομάκρυνσης αλκοόλης από την μύρα, αλλά και το ενεργειακό κόστος για τη διόρθωση του προϊόντος διαπίδυσης (Donhauser *et al.*, 1991; Leskosek *et al.*, 1995; Zufall και Wackerbauer, 2000b).

### 4.3.2 Αντίστροφη ώσμωση

Στη διαδικασία αντίστροφης ώσμωσης (RO-Reversed Osmosis), η μύρα ρέει εφαπτομενικά στην επιφάνεια της μεμβράνης και η αιθανόλη (και το νερό) διαπερνά την μεμβράνη επιλεκτικά όταν η διαμεμβρανική πίεση υπερβαίνει ουσιαστικά την ωσμωτική πίεση της μύρας. Αναμένεται ότι άλλα μεγάλα μόρια, όπως άρωμα και αρωματικές ενώσεις, θα παραμείνουν ως επί το πλείστον στην πλευρά συγκράτησης της μεμβράνης (Catarino *et al.*, 2006). Η αντίστροφη ώσμωση πραγματοποιείται συνήθως σε διαμεμβρανικές πιέσεις που κυμαίνονται από 2 έως 8 MPa που παράγονται από αντλίες πίεσης (π.χ. αντλία εμβόλου) και σε θερμοκρασίες κάτω των 15°C που επιτυγχάνονται, με έναν εναλλάκτη πλακών (Catarino *et al.*, 2007; Von Hodenberg, 1991). Οι μεμβράνες που χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση αλκοόλης από μύρα με αντίστροφη ώσμωση είναι συνήθως ασύμμετρης δομής, με το ενεργό στρώμα από οξική κυτταρίνη, πολυαμίδιο ή πολυϊμίδιο σε δομές υποστήριξης πολυεστέρα, πολυσουλφόνης ή υαλοβάμβακα.

Στην πράξη, η αντίστροφη ώσμωση πραγματοποιείται με τη λεγόμενη λειτουργία διαδιήθησης. Η πρώτη φάση είναι η συγκέντρωση της αρχικής μύρας αφαιρώντας τα διηθήματα και όχι αντικαθιστώντας την με απιονισμένο νερό. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης αλκοόλης και έτσι αυξάνεται και η ροή της διαλυμένης ουσίας σε

όλη τη μεμβράνη. Στη συνέχεια, κατά τη διάρκεια της φάσης διαδιήθησης, το διήθημα που αφαιρείται από την μύρα αντικαθίσταται ποσοτικά από απιονισμένο νερό. Αυτό συνεχίζεται έως ότου επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση αλκοόλ στην μύρα. Μετά την επίτευξη της στοχευόμενης περιεκτικότητας σε αλκοόλη, το κατακράτημα συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό στον αρχικό όγκο της μύρας και η περιεκτικότητα σε αλκοόλη μειώνεται περαιτέρω με αυτήν την εργασία. Το νερό αραιώσεως που εφαρμόζεται στην αντίστροφη ώσμωση πρέπει να είναι αποστειρωμένο, πλήρως απιονισμένο (αγωγιμότητα <50 IS) και απαερωμένο (περιεχόμενο οξυγόνο <0,1 ppm). Η ενανθράκωση του προϊόντος είναι απαραίτητη μετά την αντίστροφη ώσμωση (Von Hodenberg, 1991).

Πολύ λίγα δεδομένα είναι διαθέσιμα για τη σύνθεση των μυρών χωρίς αλκοόλ, που παράγονται από την αντίστροφη ώσμωση. Ωστόσο, αυτές αναφέρουν σημαντικές απώλειες πτητικών (70-80% υψηλότερων αλκοολών, 80-90% εστέρων) κατά τη διάρκεια της διαδικασίας (Πίνακας 3), η οποία μπορεί να αποδοθεί στην ατελή επιλεκτικότητα των μεμβρανών (Kavanagh *et al.*, 1991; Stein, 1993).

Πίνακας 3. Επιλεγμένες ιδιότητες της αρχικής μύρας εισαγωγής και μύρες χωρίς αλκοόλ που λαμβάνονται με διαπίδυση και αντίστροφη ώσμωση (Branyik *et al.*, 2011)

a. Αφαίρεση αλκοόλης με διαπίδυση, b. Αφαίρεση αλκοόλης με αντίστροφη ώσμωση

Sample	Original	Dealcoholized <sup>a</sup>	Original	Dealcoholized <sup>b</sup>
Original gravity (wt.%)	11.16	4.53	10.83	2.48
Ethanol (% ABV)	4.80	0.47	4.92	0.40
Color (EBC)	7.25	7.5	–	–
pH	4.55	4.68	–	–
Bitterness (EBC)	30.7	29.7	24.6	12.3
1-Propanol (mg/l)	9.4	0.5	12.0	2.0
2-Methylpropanol (mg/l)	7.0	0.3	17.0	5.1
2-Methyl-1-butanol (mg/l)	9.9	0.4	4.3	2.8
3-Methyl-1-butanol (mg/l)	43.6	1.5	3.0	10
Isoamyl alcohol (mg/l)	–	–	79.0	17.0
Phenyl ethyl alcohol (mg/l)	–	–	40.0	3.7
Total HA (mg/l)	69.9	2.7	148.0	27.9
Ethyl acetate (mg/l)	12.1	<0.1	15.0	1.8
Isoamyl acetate (mg/l)	2.2	<0.1	1.5	0.16
2-Phenyl ethyl acetate (mg/l)	<0.1	<0.1	0.63	0.04
Total ES (mg/l)	14.3	<0.1	17.6	2.0
Iso-valeric acid (mg/l)	1.22	0.49	0.76	0.18
Caproic acid (mg/l)	1.88	1.02	2.0	0.22
Caprylic acid (mg/l)	4.61	2.55	3.6	0.35
Capric acid (mg/l)	0.35	0.21	0.95	0.11
Total FA (mg/l)	8.82	4.27	7.9	0.9

Πρόσφατα, αρκετές μεμβράνες οξικής κυτταρίνης και πολυαμιδίου έχουν δοκιμαστεί στο εργαστήριο σε διαφορετικές συνθήκες λειτουργίας (διαμεμβρανική πίεση 2-4 MPa, 5-20°C και διαφορετικοί ρυθμοί ροής τροφοδοσίας). Διαπιστώθηκε ότι υψηλότερες διαμεμβρανικές πιέσεις είχαν ως αποτέλεσμα υψηλότερη ροή διηθήματος, υψηλότερη απόρριψη αιθανόλης και ανώτερων αλκοολών, αλλά χαμηλότερη απόρριψη εστέρων. Οι χαμηλότερες θερμοκρασίες οδήγησαν σε χαμηλότερη ροή διηθήματος αλλά σε υψηλότερη απόρριψη αρωματικών ενώσεων (Catarino *et al.*, 2007).

#### **4.4 ΚΟΣΤΟΣ ΕΠΕΝΔΥΣΗΣ ΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΕ ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Η διαθέσιμη βιβλιογραφία είναι φτωχή σε συγκρίσεις διεργασιών και στον αντίκτυπό τους στην ποιότητα του προϊόντος, αλλά η σύγκριση των οικονομικών πτυχών των διαδικασιών που παράγουν μύρες με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, είναι ακόμη πιο περιορισμένη. Παρ' όλα αυτά, είναι σαφές ότι η διαδικασία ζύμωσης που έχει σταματήσει ή περιοριστεί μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν κοινό εξοπλισμό ζυθοποιίας, ενώ απαιτείται μικρότερος χρόνος παραγωγής και λιγότερες πρώτες ύλες. Επομένως, το κόστος παραγωγής για μύρες με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, είναι το ίδιο ή χαμηλότερο, από ό, τι για την κανονική μύρα, αν εξαιρέσει κανείς το κόστος μικροβιακής σταθεροποίησης-παστερίωσης. Αντίθετα, οι διαδικασίες αφαίρεσης αλκοόλης απαιτούν επιπλέον εξοπλισμό, σχετικά βοηθητικά προγράμματα και χώρο, πράγμα που σημαίνει ότι οι πρόσθετες επενδύσεις και τα λειτουργικά έξοδα υπερβαίνουν το κόστος παραγωγής της κανονικής μύρας που πρέπει να αφαιρεθεί το αλκοόλ. Το πλεονέκτημα των διαδικασιών διαχωρισμού αλκοόλ είναι η ευελιξία τους (εκκίνηση εντός ωρών, υψηλή παραγωγικότητα) και η δυνατότητα παραγωγής μύρας σχεδόν μηδενικού αλκοόλ, κάτι που δύσκολα επιτυγχάνεται με ζυμωτικές διεργασίες, δεδομένης της φύσης τους.

Επιπλέον κέρδος μπορεί να δημιουργηθεί επίσης από το διαχωρισμένο αλκοόλ, το οποίο λαμβάνεται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Το αραιωμένο διάλυμα αλκοόλης μπορεί να συμπυκνωθεί περαιτέρω σε εμπορεύσιμο περιεχόμενο, που χρησιμοποιείται στη διαδικασία παρασκευής ως νερό ανάμειξης ή πωλείται για οξίνιση για την παραγωγή ξιδιού (Regan, 1990; Stein, 1993). Δεν υπάρχει αξιόπιστη και ολοκληρωμένη οικονομική σύγκριση διαφόρων μεθόδων παραγωγής μύρας χωρίς αλκοόλ ή με λίγο

αλκοόλ και επομένως είναι αδύνατο να καθοριστεί η καλύτερη διαδικασία. Επιπλέον, η επιλογή της καταλληλότερης διαδικασίας επηρεάζεται περαιτέρω από τη διαθέσιμη παραγωγική ικανότητα, τις αναμενόμενες πωλήσεις και τη στρατηγική μάρκετινγκ του προϊόντος και ως εκ τούτου απαιτεί έναν λεπτομερή ισολογισμό που να αντικατοπτρίζει την υπάρχουσα τεχνολογία και τις ιδιαιτερότητες της τοπικής αγοράς (Branyik *et al.*, 2011).

## **5. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΖΥΘΟΥ ΜΕ ΧΑΜΗΛΗ ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛΗ (ΧΩΡΙΣ ΑΦΑΙΡΕΣΗ)**

### **5.1 ΑΡΑΙΩΜΕΝΟ ΓΛΕΥΚΟΣ**

Μία μέθοδος παραγωγής ζύθου με λίγο ή χωρίς αλκοόλ είναι με αραιωμένο γλεύκος. Με την παρασκευή ενός γλεύκους 2<sup>0</sup>P (FG 1008) με συνήθεις μεθόδους και μετά με αραιώση αυτού με νερό χωρίς οξυγόνο, μέχρι να πάρουμε αλκοόλη <0,5% κατ'όγκο. Ένας ζύθος με 2<sup>0</sup>P παράγει κανονικά περίπου 0,8% αλκοόλ κατ'όγκο και με το συνδυασμό και άλλων τεχνικών μπορεί να δώσει λιγότερη αλκοόλη. Στη συνέχεια, ο ζύθος με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη φιλτράρεται, ενανθρακώνεται, σταθεροποιείται και παστεριώνεται. Η νομοθεσία στην Ελλάδα επιτρέπει την παρασκευή ενός γλεύκους  $\geq 2^0\text{P}$  για την εσωτερική αγορά.

Ο ζύθος που παράγεται δεν έχει ζωντάνια, έχει αδύναμο σώμα, χαμηλό αρωματικό προφίλ και έλλειψη ευχάριστου φρουτώδους (εστερικού) αρώματος που απαντάται στις κανονικές μπύρες. Για την βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αυτού του ζύθου μπορούμε να προσθέσουμε αρωματικά εκχυλίσματα λυκίσκου.

### **5.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΛΤΟΠΟΙΗΣΗΣ**

Η πολτοποίηση αποτελείται από πολύπλοκες φυσικές, χημικές και βιοχημικές (ενζυματικές) διαδικασίες, ο κύριος σκοπός των οποίων είναι να αποικοδομήσει πλήρως το άμυλο σε ζυμώσιμα σάκχαρα και διαλυτές δεξτρίνες. Ο τύπος των σακχάρων που σχηματίζεται εξαρτάται από τις πραγματικές ενζυμικές δραστηριότητες. Η β-αμυλάση (βέλτιστη θερμοκρασία 62-65<sup>0</sup>C) παράγει το ζυμώσιμο σάκχαρο μαλτόζης, ενώ η α-αμυλάση (βέλτιστη θερμοκρασία 72-75<sup>0</sup>C) παράγει στην αρχή της

δράσης της μη ζυμώσιμα σάκχαρα τις δεξτρίνες (dextrins) και σε παρατεταμένη δράση ζυμώσιμα σάκχαρα (Kunze, 2004). Το τελικό περιεχόμενο των ζυμώσιμων σακχάρων στο ζυθογλεύκος καθορίζει στη συνέχεια το επίπεδο αλκοόλης στην μύρα. Επομένως, αλλάζοντας τη διαδικασία πολτοποίησης, είναι δυνατό να διαμορφωθεί το προφίλ των σακχάρων του γλεύκους με τρόπο που η ζυμωσιμότητά τους είναι περιορισμένη και οδηγεί σε χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Μια χαμηλή περιεκτικότητα σε ζυμώσιμα σάκχαρα στο ζυθογλεύκος μπορεί να επιτευχθεί με διαφορετικές στρατηγικές ως εξής:

**A) Απενεργοποίηση της σακχαροποίησης β-αμυλάσης** με πολτοποίηση υψηλής θερμοκρασίας (75-80°C). Υπό αυτές τις συνθήκες, η β-αμυλάση απενεργοποιείται ταχέως αλλά παραμένει αρκετή α-αμυλάση για την αποδόμηση του αμύλου. Αυτή η διαδικασία οδηγεί περίπου σε 85% εκχύλισμα βύνης και ζυθογλεύκους που μπορεί να υποστεί ζύμωση στο 25%. Η τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη επηρεάζεται επίσης από την αρχική πυκνότητα του γλεύκους, την εξασθένηση που επιτυγχάνεται κατά τη ζύμωση και την τελική αραίωση. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η γεύση αυτών των μυρών είναι πολύ καλή, ωστόσο, έχουν αναφερθεί και ορισμένα προβλήματα με τις ανεπιθύμητες γεύσεις του γλεύκους. Οι ανησυχίες σχετικά με την κολλοειδή σταθερότητα του προϊόντος είναι επίσης σημαντικές (Muller, 1990, 1991, 2000).

**B) Εκχύλιση βύνης κρύου νερού.**

Βασίζεται στην εξαγωγή των μέγιστων ενώσεων γεύσης και αρωμάτων από την βύνη χωρίς όμως αύξηση της πυκνότητας του γλεύκους.

Η βύνη εκχυλίζεται με νερό σε θερμοκρασίες ανεπαρκείς (<60°C) για ζελατινοποίηση αμύλου και επακόλουθη ενζυμική υδρόλυση. Το ληφθέν ζυθογλεύκος περιέχει μερικά ζυμώσιμα σάκχαρα, τα οποία προκύπτουν από την διαδικασία της βυνοποίησης. Στην πράξη, θα μπορούσαν να αναμένονται δυσκολίες με την διαδικασία της διήθησης του ζυθογλεύκους (lautering), ενώ τα βυνοϋπολείμματα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε μία τυπική πολτοποίηση (Muller, 1990).

**Γ) Επαναπολτοποίηση (Re-mashing) των χρησιμοποιημένων βυνοϋπολείμματων**

για να παραχθεί ένα δεύτερο εκχύλισμα με πολύ λίγα ζυμώσιμα σάκχαρα. Είναι γνωστές δύο τροποποιήσεις της αρχικής μεθόδου: (i) με θερμή εξώθηση (extrusion cooking) των χρησιμοποιημένων βυνοϋπολείμματων πριν από τη δεύτερη εκχύλιση και (ii) όξινη υδρόλυση των βυνοϋπολείμματων για απόδοση ενός δευτερεύοντος γλεύκους με σημαντική περιεκτικότητα σε πεντόζες που είναι μη ζυμώσιμα σάκχαρα. Το κύριο πλεονέκτημα αυτών των μεθόδων είναι ότι δύο μύρες μπορούν να παραχθούν από μία δόση βύνης. Είναι προφανές ότι όταν κάποιος χρησιμοποιεί αυτή τη μέθοδο, θα



υπάρχουν κάποιες δυσκολίες τόσο με τη γεύση όσο και με το σχηματισμό χρώματος, καθώς επίσης και ένα αυξημένο κόστος επένδυσης σε εξοπλισμό (Muller, 1990; Zurcher και Gruss, 1991).

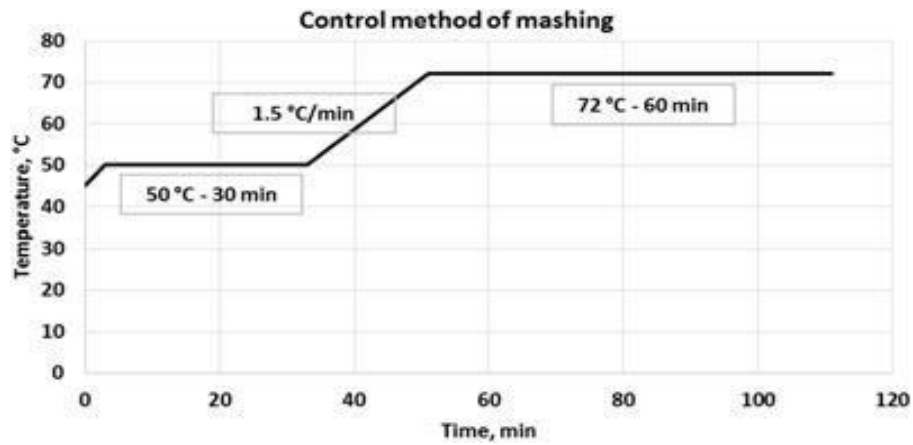
**Δ) Επιλεγμένες ποικιλίες κριθαριού.** Έχουν αναφερθεί ποικιλίες κριθαριού με ευρείες παραλλαγές της θερμοσταθερότητας της β-αμυλάσης καθώς και ποικιλιών με ανεπάρκεια β-αμυλάσης (Kihara *et al.*, 1998; Kihara *et al.*, 1999). Αν και, μπορεί να υποθεθεί ότι τόσο η θερμοθεραπεία όσο και η έλλειψη β-αμυλάσης ή μόνο η έλλειψη β-αμυλάσης σε ειδικές ποικιλίες κριθαριού θα μπορούσαν να είναι επωφελείς για την επίτευξη γλεύκους χαμηλού ζυμώσιμου εκχυλίσματος, δεν έχουν βρεθεί μέχρι στιγμής πληροφορίες για έρευνα ή βιομηχανική εφαρμογή αυτών των κριθαριών.

Ως αποτέλεσμα αυτών των αλλαγών, μπορεί να επιτευχθεί γλεύκος με σχετικά υψηλή απόδοση εκχυλίσματος, αλλά μόνο περίπου το 25% αυτού του εκχυλίσματος αποτελείται από ζυμώσιμα σάκχαρα. Οι αναφερόμενες μέθοδοι για την αλλαγή του περιεχομένου των ζυμώσιμων σακχάρων έχουν βρει εφαρμογή σε τρία διπλώματα ευρεσιτεχνίας για την παραγωγή μύρας χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλη και μύρας χωρίς αλκοόλη στις ΗΠΑ (Branyik *et al.*, 2011).

Από μόνες τους, οι μέθοδοι που βασίζονται αποκλειστικά στην τροποποιημένη πολτοποίηση (mashing) είναι σπάνια επιτυχημένες για την παραγωγή ζύθων με λίγη ή χωρίς αλκοόλη, και αυτές πρέπει να συνδυαστούν με περαιτέρω μέτρα, όπως έντονο βρασμό του ζυθογλεύκους (μείωση του επιπέδου των αλδευδών), οξίνιση ζυθογλεύκους, περιορισμένη ζύμωση, ρύθμιση χρώματος και πικρίας, κ.α.

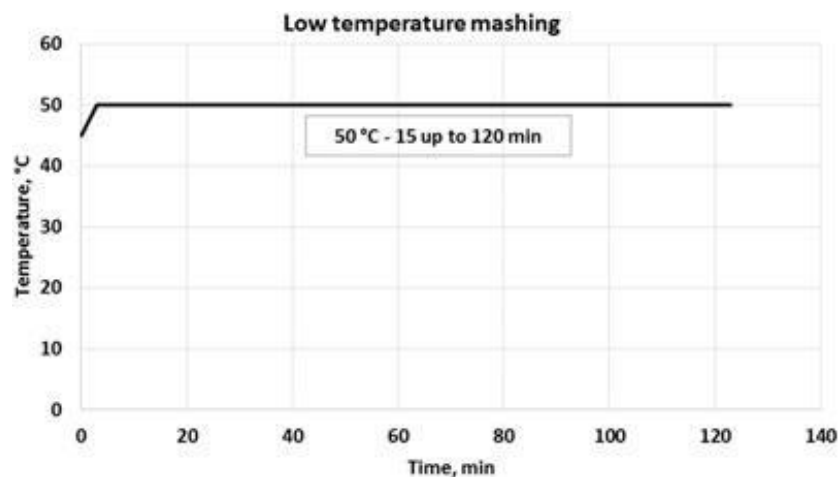
Δύο μέθοδοι πολτοποίησης σε συνδυασμό με χαμηλή θερμοκρασία ζύμωσης, δοκιμάστηκαν σε εργαστηριακές δοκιμές από τους Ivanov *et al.*, 2016 και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν μ'ένα ζυθογλεύκος ελέγχου. Σε όλα τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε μία βιομηχανική βύνη του εμπορίου, χονδροαλεσμένη. Η αλκοολική ζύμωση του ζυθογλεύκους πραγματοποιήθηκε με στέλεχος αφοζύμης *Saccharomyces cerevisiae* S-33 της Fermentis (France), το οποίο ενυδατώθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η πολτοποίηση έγινε σε μια εργαστηριακή συσκευή με έλεγχο της λειτουργίας του χρόνου και της θερμοκρασίας.

Πολτοποίηση ελέγχου. Πολτοποίηση για 30 λεπτά στους 50°C, και 60 λεπτά στους 72°C και ρυθμό θέρμανσης 1,5°C / λεπτό, προκειμένου να βελτιωθεί η δράση της α-αμυλάσης. Η διαδικασία φαίνεται στο Διάγραμμα 3.



Διάγραμμα 3: Μέθοδος ελέγχου πολτοποίησης (Ivanov *et al.*, 2016).

α) Μέθοδος πολτοποίησης χαμηλής θερμοκρασίας. Πολτοποίηση στους 50°C, Διάγραμμα 4



Διάγραμμα 4: Πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας (Ivanov *et al.*, 2016).

Η βύνη αναμίχθηκε με νερό στους 45°C. Μετά την ανάμιξη η θερμοκρασία ανήλθε στους 50°C με ρυθμό αύξησης 1,5°C / λεπτό. Τα δείγματα πολτοποιήθηκαν από 15 λεπτά - 120 λεπτά όπως στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Παραλλαγές για πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας (Ivanov *et al.*, 2016).

Variant	Temperature, °C	Time, min
7	50	15
8		30
9		45
10		60
10		90
12		120

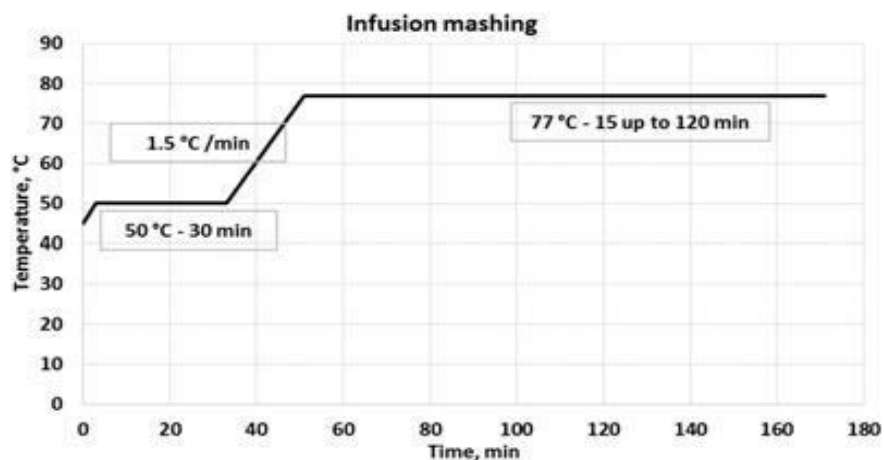
Στην συνέχεια ψύχθηκαν στους 20°C και εμβολιάστηκαν με εναιώρημα μαγιάς, σε συγκέντρωση 10<sup>9</sup>cfu/cm<sup>3</sup> κυττάρων μαγιάς. Η ζύμωση διεξήχθη σε θερμοκρασία 5°C για 7 ημέρες.

β) Μέθοδος πολτοποίησης με έγχυση (infusion).

Η βύνη αναμίχθηκε με νερό στους 45°C. Το πρωτόκολλο θερμοκρασίας περιλάμβανε δύο παύσεις σε θερμοκρασίες 50°C και 77°C. Η θερμοκρασία του δείγματος αφέθηκε να ανέλθει στους 50°C και σταμάτησε για 30 λεπτά. Μετά από αυτό η θερμοκρασία αυξήθηκε με ρυθμό 1,5°C/min και τα δείγματα έφτασαν σε θερμοκρασία 77°C, όπου έμειναν από 15 έως 120 λεπτά όπως φαίνεται στον Πίνακα 5 και στο Διάγραμμα 5.

Πίνακας 5. Παραλλαγές της διαδικασίας πολτοποίησης έγχυσης (Ivanov *et al.*, 2016).

Variant	Temperature,°C	Time,min	Temperature,°C	Time,min
7	50	30	77	15
8				30
9				45
10				60
10				90
12				120

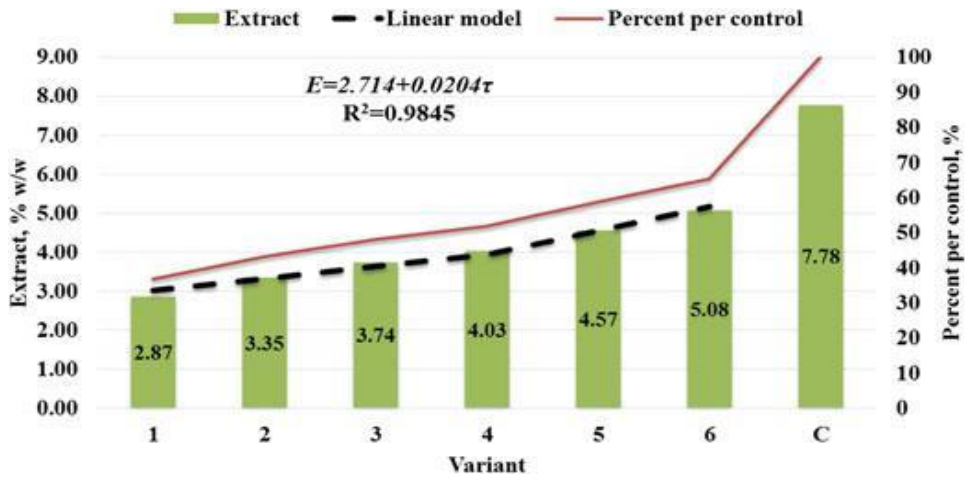


Διάγραμμα 5: Πολτοποίηση με την μέθοδο της έγχυσης (Infusion) (Ivanov *et al.*, 2016).

Μετά το τέλος της καθορισμένης χρονικής περιόδου, τα δείγματα απομακρύνθηκαν από τη συσκευή πολτοποίησης, ψύχθηκαν στους 20°C. Το γλεύκος εμβολιάστηκε με εναιώρημα μαγιάς σε συγκέντρωση 10<sup>9</sup> cfu/cm<sup>3</sup>. Η ζύμωση διεξήχθη σε θερμοκρασία 5°C για 7 ημέρες.

Τα αποτελέσματα της πολτοποίησης χαμηλής θερμοκρασίας (α) που πραγματοποιήθηκε σε σταθερή θερμοκρασία 50°C για διάρκεια 15-120 λεπτά σύμφωνα με το σχήμα του

πειράματος, φαίνονται στο Διάγραμμα 6. Η αύξηση της διάρκειας πολτοποίησης οδήγησε σε μια γραμμική αύξηση στο εκχύλισμα (Πίνακας 6).

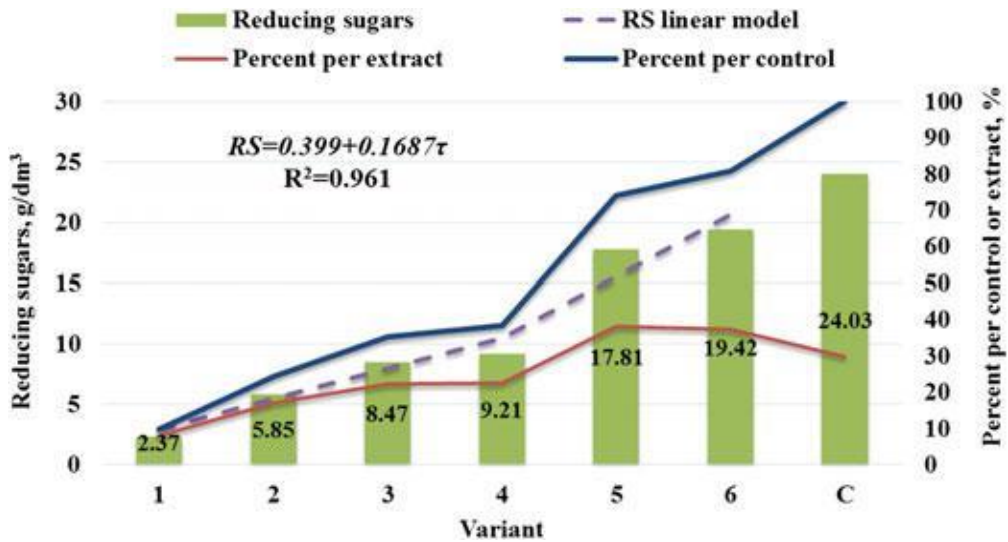


Διάγραμμα 6: Εκχύλισμα γλεύκος στο εργαστηριακό γλεύκος που λαμβάνεται χρησιμοποιώντας μια διαδικασία πολτοποίησης χαμηλής θερμοκρασίας σε σταθερή θερμοκρασία 50 ° C.\* E, εκχύλισμα; τ, χρόνος, min (Ivanov *et al.*, 2016).

Αυτό αναμενόταν αφού το μεγαλύτερο μέρος του εκχυλίσματος σχηματίστηκε στις υψηλότερες θερμοκρασίες πολτοποίησης. Ο πολτός που λαμβάνεται με διάρκεια πολτοποίησης 60 και 90 λεπτών μπορεί να θεωρηθεί κατάλληλος για την παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Τα αποτελέσματα για τους εξεταζόμενους υδατάνθρακες φαίνονται στα Διάγραμμα 7 και στον Πίνακα 6. Το περιεχόμενο των αναγώντων σακχάρων επίσης αυξήθηκε γραμμικά με την αύξηση της διάρκειας πολτοποίησης και κυμαινόταν από 2,4 έως 20 g/dm<sup>3</sup>. Αυτή η συγκέντρωση περιελάμβανε μεταξύ 8 και 37% της συνολικής ποσότητας του εκχυλίσματος. Το περιεχόμενο των αναγώντων σακχάρων στα δείγματα κυμαινόταν μεταξύ 9 και 80% σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου Διάγραμμα 7.

Πίνακας 6: Συγκέντρωση γλυκόζης, φρουκτόζης και μαλτόζης στο εργαστηριακό γλεύκος που λαμβάνεται με πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας (Ivanov *et al.*, 2016).

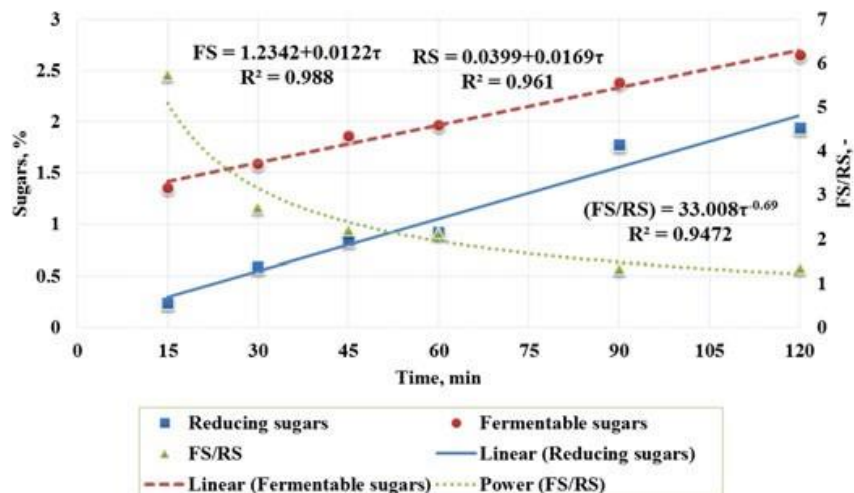
Parameter	Διάρκεια πολτοποίησης σε ,min						
	15	30	45	60	90	120	
Variant	1	2	3	4	5	6	C
Wort extract, %	2.87	3.35	3.74	4.03	4.57	5.08	7.79
Glucose, %	0.48	0.54	0.62	0.69	0.85	0.93	0.53
Fructose, %	0.1	0.1	0.13	0.12	0.13	0.14	0.06
Maltose, %	0.78	0.95	1.11	1.16	1.4	1.58	3.33
Fermentable sugars, %	1.36	1.59	1.86	1.97	2.38	2.65	3.92
Percentage of the fermentable sugars in the extract	47.40	47.49	49.77	48.89	52.08	52.19	50.32
Εξίσωση καμπύλης αναφοράς συγκέντρωσης σακχάρων FS (fermentable sugars) = 1.2342 + 0.0122τ R <sup>2</sup> = 0.988 τ = time of mashing—							



Διάγραμμα 7: Συγκέντρωση των αναγωγικών σακχάρων στο εργαστηριακό μούστο που λαμβάνεται με μια διαδικασία πολτοποίησης χαμηλής θερμοκρασίας σε σταθερή θερμοκρασία 50 ° C / φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός. \* RS, ανάγωγα σάκχαρα. τ, χρόνος, min (Ivanov *et al.*, 2016).

Η αύξηση της διάρκειας πολτοποίησης στους 50°C οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης του FS και του RS στο γλεύκος, αλλά οι ρυθμοί και των δύο διαδικασιών ήταν διαφορετικοί (Διάγραμμα 8). Τα δεδομένα έδειξαν ότι, μετά από 60-70 λεπτά, η αυξανόμενη ενζυμική επεξεργασία του αμύλου οδήγησε κυρίως στο σχηματισμό ζυμώσιμων σακχάρων, καθώς ο λόγος του FS/RS τείνει στο 1.

Επομένως, ήταν απαραίτητο η διάρκεια του πολτοποίησης στους 50°C να περιορίζεται σε όχι περισσότερο από 60 λεπτά, δηλαδή η παύση δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 30 λεπτά, διότι διαφορετικά η συγκέντρωση της αιθανόλης (θεωρητικά υπολογισμένη) θα ήταν μεγαλύτερη από 1,2% v/v.



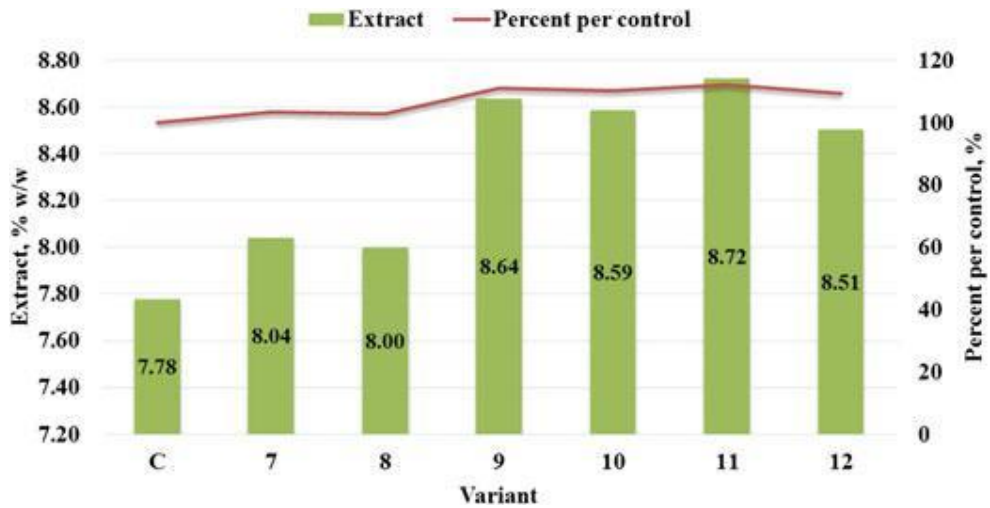
Διάγραμμα 8: Σύγκριση των τάσεων για το σχηματισμό αναγώντων σακχάρων (RS) και ζυμώσιμων σακχάρων (FS) κατά τη διάρκεια πολτοποίησης σε σταθερή θερμοκρασία 50°C (Ivanov *et al.*, 2016).

Πίνακας 7: Παράμετροι της εργαστηριακής μύρας μετά από επτά ημέρες ζύμωσης εργαστηριακού ζυθογλεύκου που λαμβάνεται με πολτοποίηση χαμηλής θερμοκρασίας (Ivanov *et al.*, 2016).

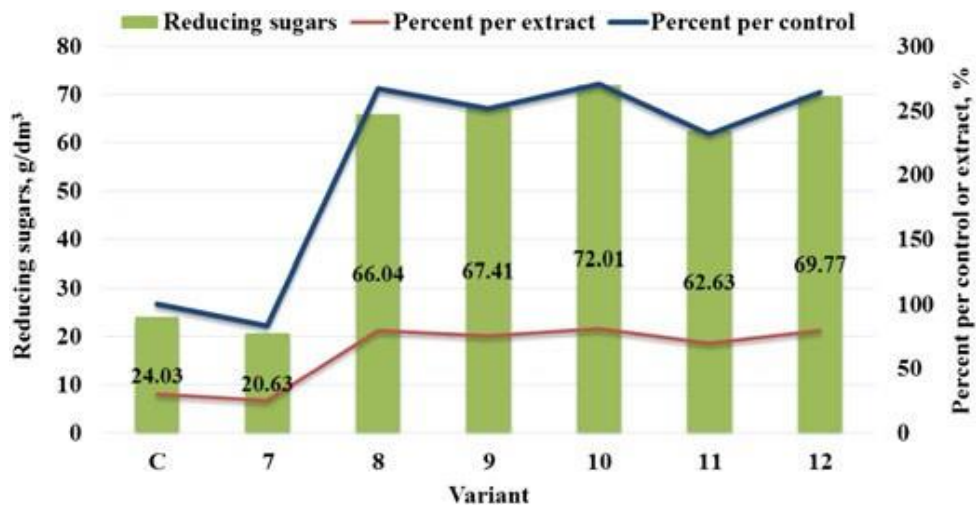
Parameter	Διάρκεια πολτοποίησης σε ,min						
	15	30	45	60	90	120	control
Variant	1	2	3	4	5	6	C
Wort extract, %	-	3.35	3.74	4.03	4.57	5.08	7.79
Apparent extract of the laboratory beer, %	-	2.50	-	2.15	-	3.28	6.38
Realextractofthebeer, %		2.68		2.52		3.60	6.63
Alcohol, %w/w	-	0.40	-	0.81	-	0.71	0.59
Real attenuation degree, %		20		37.50		29.10	14.90

Τα δεδομένα αλκοολικής ζύμωσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 7. Ο πραγματικός βαθμός εξασθένησης κυμαινόταν από 20 έως 40%, ο οποίος έδειξε ότι, στον επιλεγμένο τρόπο ζύμωσης, το *S. cerevisiae* S-33 θα μπορούσε να ζυμώσει μεταξύ 25 και 80% των ζυμώσιμων σακχάρων στο γλεύκος. Ο συνδυασμός χαμηλής ποσότητας εμβολίου και της χαμηλής θερμοκρασία ζύμωσης οδήγησε στην παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Η μύρα διακρίθηκε από τον ρυθμό ζύμωσης ως προς το άρωμα και το αδύναμο σώμα λόγω του χαμηλού εκχυλίσματος (low wort extract).

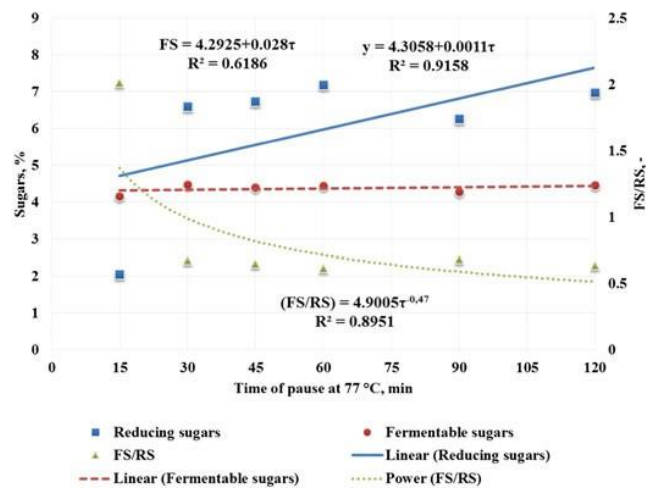
Τα αποτελέσματα της πολτοποίησης με την (β) μέθοδο πολτοποίησης με έγχυση, έδειξαν ότι η αύξηση της διάρκειας πολτοποίησης >30 λεπτών στους 50° C δεν ήταν επιθυμητή. Προκάλεσε αύξηση του ζυμώσιμου εκχυλίσματος, το οποίο οδήγησε σε αύξηση της περιεκτικότητας σε αλκοόλη της εργαστηριακής μύρας. Επιπλέον, ο σχηματισμός του εκχυλίσματος του γλεύκου πρέπει να πραγματοποιηθεί στους 77°C (δεύτερο βήμα της διαδικασίας πολτοποίησης), και κατά τη διαδικασία της επίτευξης αυτής της θερμοκρασίας, η πολτοποίηση θα περάσει μέσω της βέλτιστης θερμοκρασίας της β-αμυλάσης, η οποία θα δημιουργούσε περισσότερα ζυμώσιμα σάκχαρα. Τα δεδομένα της διαδικασίας φαίνονται στα Διαγράμματα 9 - 11 και στους Πίνακες 9 και 10. Η εισαγωγή μιας δεύτερης παύσης οδήγησε σε σημαντική αύξηση του εργαστηριακού εκχυλίσματος του γλεύκου, το οποίο κυμαινόταν στο 8-9% w/w. Το εκχύλισμα τείνει να αυξάνεται με την αύξηση της διάρκειας παύσης στους 77°C. Δεν υπήρχε πλέον γραμμική ανοδική τάση στο ποσό του εκχυλίσματος. Η παρουσία παύσης στους 77°C βελτίωσε σημαντικά το εκχύλισμα του γλεύκου σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου. Το εκχύλισμα αυξήθηκε μεταξύ 2 και 12% σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου (Διάγραμμα 9).



Διάγραμμα 9: Εκχύλισμα γλεύκος με μια διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης (Ivanov *et al.*, 2016).



Διάγραμμα 10: Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων στο εργαστηριακό γλεύκος που λαμβάνεται με μια διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης / φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός (Ivanov *et al.*, 2016).



Διάγραμμα 11: Σύγκριση των τάσεων για τον σχηματισμό αναγόντων σακχάρων και ζυμώσιμων σακχάρων με μια διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης (Ivanov *et al.*, 2016).

Πίνακας 8: Συγκεντρώσεις γλυκόζης, φρουκτόζης και μαλτόζης σε εργαστηριακό γλεύκος που λαμβάνεται με μια διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης (Ivanov *et al.*, 2016).

Parameter	Διάρκεια παύσης στους 77 ° C,min						
	15	30	45	60	90	120	control
Variant	7	8	9	10	11	12	C
Wort extract, %	8,04	8,00	8,64	8,59	8,72	8,51	7.79
Glucose, %	0,53	0,68	0,62	0,62	0,59	0,52	0,53
Fructose, %	0,06	0,10	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06
Maltose, %	0,33	3,38	3,79	3,71	3,79	3,70	3,33
Fermentable sugars, %	3,92	4,16	4,48	4,40	4,45	4,28	3,92
Percentage of the fermentable sugars in the extract	51,73	56,00	50,95	51,83	49,07	52,44	50,32

Πίνακας 9: Παράμετροι της εργαστηριακής μύρας που ελήφθησαν μετά από επτά ημέρες ζύμωσης ενός εργαστηριακού γλεύκους που ελήφθη με μια διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης (Ivanov *et al.*, 2016).

Parameter	Διάρκεια πολτοποίησης σε ,min						
	15	30	45	60	90	120	control
Variant	7	8	9	10	11	12	C
Wort extract, %	8,04	8,00	8,67	8,59	8,72	8,51	7.79
Apparent extract of the laboratory beer, %		7,35		7,75		7,75	6.38
Real extract of the beer, %		7,51		7,95		7,95	6.63
Alcohol, %w/w	-	0.35	-	0.44	-	0.44	0.59
Real attenuation degree, %		6,13		7,45		6,60	14.90

Η παύση στους 77°C οδήγησε σε σημαντική, σχεδόν τριπλή αύξηση της συγκέντρωσης αναγώντων σακχάρων σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου. Αυτό ήταν αποτέλεσμα της υδρόλυσης αμύλου που σχηματίζει σημαντικές ποσότητες δεξτρινών, οι οποίες είναι ανάγοντα σάκχαρα. Εξαίρεση ήταν ο πολτός που λήφθηκε με παύση 15 λεπτών, όπου η συγκέντρωση αναγώντων σακχάρων ήταν περίπου 20 g/dm<sup>3</sup>. Αυτό ήταν όπως αναμενόταν, καθώς τα 15 λεπτά δεν θα ήταν αρκετά για την κατάλληλη υδρόλυση του αμύλου. Στους άλλους πολτούς, η συγκέντρωση κυμαινόταν από 60 έως 75 g/dm<sup>3</sup>, το οποίο περιελάμβανε μεταξύ 70 και 80% του συνολικού εκχυλίσματος του δείγματος. Για την πρώτη παραλλαγή (Variant 7), αυτή η ποσότητα ήταν 20% και 80% του συνολικού εκχυλίσματος του δείγματος. Τα ζυμώσιμα σάκχαρα στο εργαστηριακό γλεύκος κυμαίνονταν μεταξύ 4 και 4,5%, το οποίο αντιπροσώπευε περίπου το 50% του εκχυλίσματος γλεύκους. Και πάλι, η κύρια ποσότητα αναγώντων σακχάρων ήταν η ποσότητα μαλτόζης, ακολουθούμενη από γλυκόζη. Η φρουκτόζη ήταν παρούσα σε ελάχιστη συγκέντρωση. Σε αντίθεση με τα ανάγοντα σάκχαρα, η αύξηση των συγκεντρώσεων των ζυμώσιμων σακχάρων σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου ήταν



εντός 10-12%, υποδηλώνοντας ότι δεν θα επιτευχθεί σημαντική συσσώρευση αιθανόλης στην μύρα από το συγκεκριμένο εκχύλισμα. Η αυξημένη θερμοκρασία πολτοποίησης οδήγησε σε αυξημένη ποσότητα εκχυλίσματος και καλύτερη ισορροπία γεύσης της μύρας (Πίνακας 8).

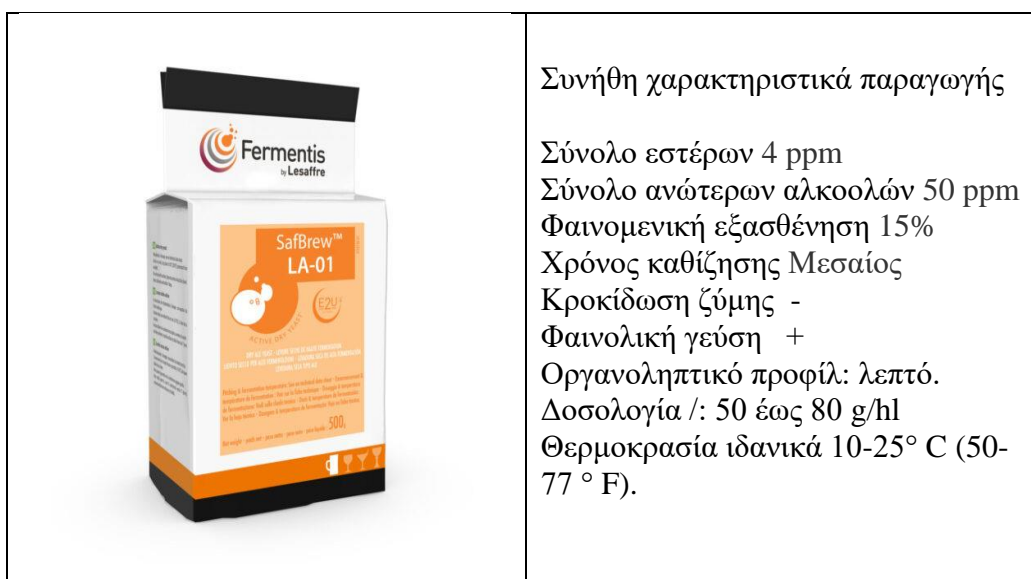
Η αλκοολική ζύμωση διεξήχθη με το γλεύκος που λήφθηκε με την διαδικασία πολτοποίησης έγχυσης και αυτά τα δεδομένα παρουσιάζονται στον Πίνακα 9. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι, παρόλο που υπήρξε αύξηση της ποσότητας των ζυμώσιμων σακχάρων, ο βαθμός ζύμωσης δεν υπερέβη το 10%. Ο λόγος για αυτό ήταν η σημαντική ποσότητα μη ζυμώσιμου εκχυλίσματος καθώς και οι επιλεγμένες συνθήκες ζύμωσης. Η αύξηση της ποσότητας των ζυμωθέντων σακχάρων θα μπορούσε να επιτευχθεί αυξάνοντας τη θερμοκρασία της ζύμωσης. Αυτό θα οδηγούσε σε αύξηση της ποσότητας αιθανόλης. Η αργή εκκίνηση ήταν χαρακτηριστική όλων των διαδικασιών ζύμωσης που διεξήχθησαν στην μελέτη (με το συνδυασμό χαμηλού ζυμώσιμου εκχυλίσματος, χαμηλής θερμοκρασίας και στελέχους αφοζύμωσης). Η ενεργή ζύμωση ξεκίνησε περίπου 48 ώρες μετά τον εμβολιασμό του γλεύκους και προχώρησε για περίπου 5-7 ημέρες. Η ζύμωση χαμηλής θερμοκρασίας περιόρισε τη σύνθεση αλκοόλης από το στέλεχος αφοζύμωσης, αλλά δεν επηρέασε τον δευτερογενή μεταβολισμό. Διαπιστώθηκε ότι η προκύπτουσα μύρα εργαστηρίου συσσωρεύει κανονικές ποσότητες εστέρων μύρας και ανώτερων αλκοολών. Λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας ζύμωσης, η σύνθεση συζυγών δικετονών και αλδεϋδης ήταν περιορισμένη και οι σχηματισμένες ποσότητες μειώθηκαν μέχρι το τέλος της ζύμωσης σε τιμές εντός αποδεκτών ορίων. Το συμπέρασμα από αυτό το πείραμα (Ivanov *et al.*, 2016) είναι ότι η μύρα που παρήχθη στους 50°C/30 λεπτά ή 77°C/60 λεπτά, με ρυθμό θέρμανσης 1,5°C/min, θερμοκρασία ζύμωσης 7°C και ένα εμβόλιο 10<sup>9</sup> cfu/cm<sup>3</sup> είχε περιεκτικότητα σε αλκοόλη άνω έως 1,5% v/v. Οι παρατηρήσεις, από το πείραμα, στην αλλαγή του εκχυλίσματος και το περιεχόμενο των διαφόρων ποσοτήτων σακχάρων δείχνουν ότι η εφαρμογή των βιολογικών μεθόδων για την παραγωγή μύρας χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλη και χωρίς αλκοόλ έχει ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι των φυσικών μεθόδων, ειδικά επειδή είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ο υπάρχον εξοπλισμός και να γίνουν αλλαγές μόνο στις μεθόδους πολτοποίησης και ζύμωσης. (Ivanov *et al.* 2016).

### 5.3 Επιλεγμένες Ζύμες

Αυτή η προσέγγιση στην παραγωγή μπίρας χωρίς αλκοόλ, σχετίζεται με τη χρήση ειδικής ζύμης που εκτελεί μια περιορισμένη διαδικασία ζύμωσης. Η ανομοιότητα αυτών των «ειδικών» ζυμών σε σύγκριση με την παραδοσιακή μαγιά παρασκευής έγκειται κυρίως στην τάση τους να παράγουν χαμηλότερες ποσότητες αιθανόλης ή καθόλου αιθανόλη. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με στρατηγικές όπως η επιλογή ενός στελέχους κατάλληλου μικροβιακού γένους με συγκεκριμένες ιδιότητες ή σκόπιμη τροποποίηση της ζύμης με τυχαία μετάλλαξη ή με γενετική τροποποίηση.

Η πιο συνηθισμένη προσέγγιση βασίζεται στο γεγονός ότι το κύριο ζυμώσιμο σάκχαρο όλων των ζυθογλευκών που παράγονται μόνο από βύνες (all malt worts) είναι η μαλτόζη (περίπου 75%) και ορισμένα στελέχη του γένους *Saccharomyces* (π.χ. ορισμένα που χρησιμοποιούνται στη ζύμωση κρασιού) δεν μπορούν να ζυμώσουν αυτό το σάκχαρο. Έτσι, η μπίρα που προκύπτει από τη μετατροπή γλυκόζης, φρουκτόζης και σακχαρόζης, θα περιέχει λιγότερο από <0,5% αιθανόλη.(Muler, 1993) Εκτός από την εφαρμογή ενός ειδικού στελέχους ζύμης, αυτή η μέθοδος παραγωγής μπίρας χωρίς αλκοόλη, είναι ίδια με την παραγωγή τυπικής μπίρας. Ωστόσο, λόγω περιορισμένης δραστηριότητας ζύμης και υψηλής περιεκτικότητας σε υπολείμματα εκχυλίσματος, αυτή η διαδικασία παρασκευής είναι ευάλωτη σε μικροβιακή μόλυνση. Επομένως απαιτούνται υψηλά πρότυπα καθαριότητας και μικροβιολογικού ελέγχου (Muler, 1990) και είναι απαραίτητη η παστερίωση.

Μία ειδική μαγιά *Saccharomyces* που προσφέρεται από την FERMENTIS (Lessafre), είναι η μαγιά SafBrew LA-01 (<https://fermentis.com/en/product/safbrew-la-01/> 26-07-2021), είναι *Saccharomyces cerevisiae* var. *chevalieri* που έχει επιλεγεί ειδικά για την παραγωγή χαμηλών ή και μη αλκοολούχων ποτών (<0,5ABV). Αυτή η μαγιά δεν αφομοιώνει τη μαλτόζη και τη μαλτροτρόζη, αλλά αφομοιώνει τα απλά σάκχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη) και χαρακτηρίζεται από ένα λεπτό προφίλ αρώματος. Είναι ζύμη με μέτρια καθίζηση, δεν σχηματίζει συσσωματώσεις, αλλά μια σκόνη θολότητας όταν επαναιωρείται στην μπίρα. Η συσκευασία αναφέρει τα παρακάτω: Συστατικά: Ζύμη (*Saccharomyces cerevisiae* var. *chevalieri*),γαλακτωματοποιητής E491.



Εικόνα 6: Εμπορική Συσκευασία SafBrew LA-01

Πίνακας 10: Η επίδραση του τύπου ζύμης και της οξίνισης του γλεύκους στη σύνθεση μπίρας χωρίς αλκοόλ (Πηγή: Branyik *et al.*, 2011)

Fermentation yeast	Bottom	<i>S. ludwigii</i>	<i>S. ludwigii</i> + acidification
Temperature (LC)	0	20	20
Original gravity (wt.%)	11.5	11.5	11.5
Ethanol (wt.%)	0.3	0.68*	0.68*
Real extract (wt.%)	10.7	10.34	10.34
Attenuation (wt.%)	9	13	13
Fermentation time (h)	48	120	120
pH	5.15	4.98	4.18
Bitter substances (EBC)	28.0	27.2	22.2
Total diacetyl (mg/l)	0.04	0.14	0.13
Total HAA (mg/l)	3.0	31.8	30.3
Total EAA (mg/l)	0.79	1.88	2.31
Reduction of aldehydes (%)	81.0	56.8	32.6

\* Περιεκτικότητα σε αιθανόλη υψηλότερη από το νόμιμο όριο για AFB.

Μία άλλη εφεύρεση προτείνει το πέρασμα αέρα με κορεσμένο ατμό μέσω μπίρας με αλκοόλη σε μια στήλη με κόσκινο στο κάτω μέρος, για την απορρόφηση της αλκοόλης

(Dziondziak και Seiffert, 1995). Η εμπλεκόμενη απώλεια αισθητικά δραστικών ενώσεων με εκρόφηση προτάθηκε να αντισταθμιστεί είτε με προσθήκη ζυμωμένου γλεύκους είτε με χρήση του είδους *Saccharomyces rouxii* ικανό να καταναλώνει αιθανόλη υπό αερόβιες συνθήκες και ταυτόχρονα να παράγει δραστικές ουσίες γεύσης (Dziondziak, 1989a). Ωστόσο, ο συγγραφέας δεν προτείνει πώς να αντιμετωπίσει την πιθανή αρνητική επίδραση του οξυγόνου, στη γεύση και την κολλοειδή σταθερότητα της παραγόμενης μπύρας χωρίς αλκοόλη.

Έχει προταθεί επίσης μέθοδος για την παραγωγή ενός σαν μπύρα ποτού χωρίς αλκοόλ, που έχει υποστεί ζύμωση, χρησιμοποιώντας αργή διαδικασία ζύμωσης από μύκητες από το γένος *Monascus*. Σύμφωνα με τους συγγραφείς το τελικό προϊόν μοιάζει με μπύρα, έχει μια δροσιστική γεύση, λαμπερό κόκκινο χρώμα, χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ και έχει υψηλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα (Lin *et al.*, 2005). Ωστόσο, είναι αμφισβητήσιμο εάν αυτό το ποτό μπορεί να θεωρηθεί μπύρα.

Σε συνδυασμό με την αυξανόμενη κατανάλωση μπυρών χωρίς αλκοόλ, αυξάνεται η ανάγκη για μαγιά που θα ταιριάζει στις ειδικές απαιτήσεις της παραγωγής τους. Τυχαία μεταλλαξογένεση με υπεριώδη ακτινοβολία (η πιο βολική για εφαρμογές σε τρόφιμα) ακολουθούμενη από επιλογή κατάλληλων μεταλλαγμένων στελεχών έχει εφαρμοστεί για απομόνωση μη ανασυνδυασμένων στελεχών ζύμης με ελαττώματα στον κύκλο κιτρικού οξέος. Οι πιο αποδεκτές μπύρες χωρίς αλκοόλ ελήφθησαν μετά τη ζύμωση με μεταλλαγμένα στελέχη *Saccharomyces cerevisiae* που δεν είχαν δραστικότητα 2-κετογλουτάρικής αφυδρογονάσης (2-ketoglutarate dehydrogenase-KGD) και φουμαράσης (fumarase - FUM). Αυτά τα στελέχη μελετήθηκαν σε παρτίδες και συνεχείς ζυμώσεις, τόσο με ακινητοποιημένες όσο και με ελεύθερες ζύμες. Σε όλες τις ζυμώσεις που μελετήθηκαν, οι μπύρες χωρίς αλκοόλη, που παράγονται από αυτά τα δύο στελέχη χαρακτηρίστηκαν από χαμηλή περιεκτικότητα σε αιθανόλη (έως 0,21% κ.β.) και ανώτερες αλκοόλες (έως 1,38 g/L). Η παραγωγή συνολικών ανώτερων αλκοολών (45–75 mg/L) και εστέρων (18–36 mg/L) ήταν κάπως χαμηλότερη και υψηλότερη, αντίστοιχα, σε σύγκριση με μια μπύρα αναφοράς (με αλκοόλη). Τα παραγόμενα οργανικά οξέα, ειδικά το γαλακτικό οξύ, είχαν ισχυρή προστατευτική επίδραση στη μικροβιακή σταθερότητα του τελικού προϊόντος και έτσι θα μπορούσε να παραλειφθεί η συνήθης προσθήκη γαλακτικού οξέος (Narvátíl *et al.*, 2002). Οι παράμετροι που παρουσιάζονται πληρούν τα κριτήρια για τις μπύρες χωρίς αλκοόλη. Ωστόσο, αυτά τα αποτελέσματα ελήφθησαν με απλοειδή ή διπλοειδή εργαστηριακά στελέχη. Δεδομένου ότι η ζύμη παρασκευής, η οποία διαθέτει βιομηχανικά σημαντικές και σταθερές

ιδιότητες (ρυθμός ζύμωσης, σχηματισμός γεύσης, κροκίδωση) είναι αλλοπλοειδής, καθιστά την προσέγγιση της τυχαίας μεταλλαξογένεσης λιγότερο αποτελεσματική, ιδίως με τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης DNA της μαγιάς (Petin *et al.*, 2001; Brendel *et al.*, 2003; Aylon και Kuriec, 2004).

Τα στελέχη ζύμης με εκ προθέσεως διαγραφή γονιδίων στον κύκλο κιτρικού οξέος έχουν μελετηθεί πρώτα σχετικά με το σάκε από τους Magarifuchi *et al.*, 1995, Yano *et al.*, 2003 και αργότερα με την παραγωγή μπυρών χωρίς αλκοόλ από τους Selecky *et al.*, 2008. Οι καλύτερες μπύρες χωρίς αλκοόλη που παρασκευάστηκαν με τυχαία μεταλλαγμένες ζύμες, ελήφθησαν με στελέχη *ΔKGD1*, *ΔKGD2* και *ΔFUM1*. Επομένως, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι η σύνθεση των μπυρών χωρίς αλκοόλ, που παράγονται από ζύμη με διαγραφή γονιδίου (Selecky *et al.*, 2008) ήταν κοντά σε εκείνες που παράγονται με τυχαία μετάλλαξη (Narvátil *et al.*, 2002). Δεδομένου ότι οι διαγραφές γονιδίων πραγματοποιήθηκαν μόνο σε διπλοειδή στελέχη, η παρασκευή ενός υβριδίου μεταξύ βιομηχανικής ζύμης και εργαστηριακού στελέχους, φέρει όλες τις γενετικές ιδιότητες που είναι υπεύθυνες για όλες τις βιομηχανικά σημαντικές ιδιότητες (σχηματισμός αρώματος και γεύσης, κροκίδωση), και ταυτόχρονα, θα ήταν ευεργετικό να είναι ανεπαρκής στα γονίδια του ενζύμου κύκλου κιτρικού οξέος.

Ένα άλλο παράδειγμα της στρατηγικής διαγραφής γονιδίων είναι η χρήση μη αναστρέψιμης αλκοόλικης αφυδρογονάσης (ADH) μεταλλαγμένου *S. cerevisiae* για την παραγωγή ζύθου χωρίς αλκοόλη με περιεκτικότητα σε γλυκερόλη 0,3-2,0% vol., η οποία αναφέρεται ότι βελτιώνει το σώμα της μπύρας. Η υπερβολική συσσώρευση ακεταλδεϋδης, ένα υποπροϊόν ζύμωσης τοξικό για τη μαγιά, από αυτήν την ανασυνδυασμένη μαγιά αποτρέπεται με καθημερινή χρήση αερίου με CO<sub>2</sub> (30 m<sup>3</sup>/hl/h) για 30 λεπτά στη δεξαμενή ζύμωσης. Η επίδραση του αερίου στο περιεχόμενο πτητικών μπύρας (ανώτερες αλκοόλες, εστέρες) δεν συζητείται στο δίπλωμα ευρεσιτεχνίας (Dziondziak, 1989b). Η ευεργετική επίδραση της έλλειψης δραστηριότητας ADH καταδείχθηκε στο απλοειδές *S. cerevisiae* που δείχνει διπλό φαινότυπο: χαμηλή παραγωγή αιθανόλης και αυξημένη μείωση της αλδεϋδης του γλεύκους (Evellin *et al.*, 1999). Ωστόσο, δεν έχει δημοσιευτεί η εξάλειψη κάθε τύπου ADH σε πολυπλοειδή μαγιά ζυθοποιίας.

Αντίθετα με τη στρατηγική διαγραφής γονιδίων, η υπερέκφραση του γονιδίου αφυδρογονάσης 3-φωσφορικής γλυκερόλης (glycerol-3-phosphate dehydrogenase) πραγματοποιήθηκε σε βιομηχανική ζυθοποίηση ζύμης lager (*Saccharomyces*

*pastorianus*) για τη μείωση της περιεκτικότητας της αιθανόλη στην μύρα. Τα αποτελέσματα δεν ήταν πλήρως ικανοποιητικά αφού αυτός ο μετασχηματισμός οδήγησε σε 5,6 φορές αυξημένη παραγωγή γλυκερόλης και η παραγωγή αιθανόλης μειώθηκε μόνο κατά 18% σε σύγκριση με τον άγριο τύπο. Αν και μπορούσαν να παρατηρηθούν μόνο μικρές αλλαγές στη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών, εστέρων και λιπαρών οξέων, οι συγκεντρώσεις αρκετών άλλων παραπροϊόντων, ιδιαίτερα ακετοΐνης, διακετυλίου και ακεταλδεϋδης, αυξήθηκαν σημαντικά (Nevoigt *et al.*, 2002).

Παρά τη διαμάχη και την έλλειψη αποφασιστικής ανακάλυψης, το δυναμικό της γενετικής μηχανικής είναι τεράστιο, καθιστώντας δυνατή τη μελλοντική κατασκευή στελεχών ειδικά για την παραγωγή ζύθων χωρίς αλκοόλη. Ωστόσο, όσο εξακολουθούν να υπάρχουν νομικά εμπόδια και ιδιαίτερα η αρνητική στάση των καταναλωτών έναντι της χρήσης γενετικά τροποποιημένης ζύμης, οι ζυθοποιίες δεν θα διακινδυνεύσουν τη βιομηχανική τους εφαρμογή.

#### **Διαφορετικές προσεγγίσεις**

Εκτός από τη χρήση ζυμομυκήτων *non-Saccharomyces*, άλλες προσεγγίσεις περιλαμβάνουν τη χρήση μεταλλαγμένων ζυμομυκήτων (Strejc *et al.*, 2013) ή περισσότερες επεμβατικές μεθόδους όπως γονιδιακές νοκ-άουτ (Navratil *et al.*, 2002; Selecky *et al.*, 2008). Οι Strejc *et al.*, 2013 διερεύνησαν την απόδοση δύο αυθόρμητων μεταλλαγμένων *S. pastorianus* ανθεκτικών σε 5,5,5-τριφθορο-DL-λευκίνη. Η αντίσταση στην 5,5,5-τριφθορο-DL-λευκίνη σχετίζεται με υπερπαραγωγή των δραστικών δευτερευόντων μεταβολιτών της ισοαμυλικής αλκοόλης και του οξικού ισοαμυλεστέρα. Αυξημένα επίπεδα εστέρων και ανώτερων αλκοολών παρατηρήθηκαν πράγματι στις μύρες χωρίς αλκοόλη (αραιωμένες σε 0,5% ABV) που παρήχθησαν με τα μεταλλαγμένα στελέχη. Η οργανοληπτική ανάλυση επιβεβαίωσε μια φρουτώδη γεύση (μπανάνα) σε σύγκριση με τη μύρα χωρίς αλκοόλη, που παράγεται με το γονικό στέλεχος. Οι Navratil *et al.*, 2002 και οι Selecky *et al.*, 2008 διερεύνησαν τη χρήση στελεχών *S. cerevisiae* με ανεπάρκεια σε δραστηριότητες ενζύμου κύκλου τρικαρβοξυλικού οξέος (TCA). Τα στελέχη με ανεπάρκειες ενζύμου παρήγαγαν λιγότερη αιθανόλη και οι τελικές μύρες είχαν σημαντικά υψηλότερες ποσότητες υπολειμμάτων σακχάρων. Ορισμένα δείγματα, που έχουν υποστεί ζύμωση με στελέχη με έλλειψη ενζύμου, έδειξαν αυξημένα επίπεδα οργανικών οξέων (πάνω από πέντε φορές υψηλότερα) (Navratil *et al.*, 2002).

### 5.3.1 Μπύρες με λίγο ή χωρίς αλκοόλ, από ζύμες *Non-Saccharomyces*

Σε αντίθεση με τις άλλες βιολογικές μεθόδους, η έρευνα για τη χρήση ειδικών ζυμών έχει αποκτήσει δυναμική τα τελευταία χρόνια. Η εφαρμογή των λεγόμενων μη συμβατικών ζυμομυκήτων ή μη-σακχαρομυκήτων (*non-Saccharomyces*) με περιορισμένες ικανότητες ζύμωσης σακχάρων γλεύκους για την παραγωγή μπύρας χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλη και μη αλκοολούχου μπύρας σε ζύμωση μιας καλλιέργειας δεν είναι μια νέα προσέγγιση.

Ωστόσο, η χρήση ζυμομυκήτων *non-Saccharomyces* για σκοπούς παρασκευής μπύρας χωρίς αλκοόλ, εκτός από το *S. ludwigii* μπορεί ενδεχομένως να παρουσιάσει ένα εντελώς νέο σύνολο διαφορετικών γεύσεων. Στην οινοποίηση, οι μη-σακχαρομυκήτες εφαρμόζονται ήδη ως μέσο για τη βελτίωση της πολυπλοκότητας του αρώματος του κρασιού. (Padilla *et al.*, 2016; Gschaedler, 2017) Η αλλαγή της καλλιέργειας ζύμης είναι επίσης μια από τις ευκολότερες τροποποιήσεις για την παραγωγή των ζυθοποιείων, καθώς δεν απαιτεί επενδύσεις σε πρόσθετο εξοπλισμό, γεγονός που την καθιστά προσβάσιμη για ζυθοποιείες όλων των μεγεθών. Τα είδη που έχουν διερευνηθεί σε ένα υπόστρωμα μούστου περιλαμβάνουν: *Candida shehatae*, *Candida zemplinina*, *Cyberlindnera mrakii* (πρώην *Williopsis saturnus var. Mrakii*), *Cyberlindnera fabianii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Hanseniaspora valbyensis*, *Hanseniaspora kia*, *saviakia*, *raviawia bailii*, *Zygosaccharomyces kombuchaensis* και *Zygosaccharomyces rouxii*, κ.α., τα οποία συζητούνται σε αυτήν την ανασκόπηση. Μερικά από τα είδη ζύμης που συζητούνται σε αυτό το άρθρο έχουν επίσης γίνει αντικείμενο ανασκόπησης και από άλλους συγγραφείς Michel *et al.*, 2016, όπου συζήτησαν τις ζύμες *non-Saccharomyces* ως καθαρές καλλιέργειες εκκίνησης για ζύμωση μπύρας με έμφαση στην παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών. Οι Carpece *et al.*, 2018 παρουσίασαν τη μεγάλη ποικιλία διαθέσιμων συμβατικών και μη συμβατικών ζυμών για ζυθοποίηση, με έμφαση στις νέες βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις για τη στόχευση των χαρακτηριστικών της μπύρας και την παραγωγή διαφορετικών ή εντελώς νέων στυλ μπύρας.

Πίνακας 11: Τα στελέχη *Saccharomyces ludwigii* σε υποστρώματα γλεύκους. (Bellut και Arendt, 2019)

Saccharomyces	Wort	Scale	Ethanol	Fermentation	Secondary	Sensory	Reference
<i>ludwigii</i>	gravity		content	conditions	metabolites		
				Time (d) /			(Bellut και Arendt 2019)
				Temperature ( C) /	ΣEsters		
				Pitching rate	(mg/L)/ ΣHigher		
Strain designation	P	L	% ABV	( 10 <sup>6</sup> cells/mL)	alcohols (mg/L)		
6 DPVPG <sup>a</sup> strains	12.0	0.05	0.51–1.36	10/20/NA	1.21–14.92 / 43.31–76.62	NA	
WSL 17 (¼TUM SL 17 <sup>b</sup> )	12.0	25	1.23–1.32	10/23/0.4	9.3–14.9 / 42.2–43.4	Cereal, malty	
NA	8.1	2	0.47	NA/12/NA	1.88 / 39.10	Weak aroma, sweet	
#303 <sup>c</sup>	12.2	2000	<0.5	NA/18/15	7.95 / 8.70	NA	
DSM 3447 <sup>d</sup>	6.5	0.2	1.7	10/7 / NA	NA	NA	
			2.7	7 / 12 / NA			
TUM SL 17 <sup>b</sup>	12.8	ca. 2	0.99–1.16	6 / 15&20 / 8	NA	NA	
	7.0		0.50–0.62		0.75 / 22.94		
TUM SL 17 <sup>b</sup>	6.6	1.5	0.50	3 / 25 / 8	0.80 / 21.05	Worty, honey, bread-like, sweet	
NA	11.5	NA	0.68	5 / 20 / NA	1.88 / 31.80	Worty taste, diacetyl	
DSM 3447 <sup>e</sup>	6.0	NA	0.15–1.2	2 / 4 / 10 (periodic aeration)	NA	Low acceptance, lactic	
				2 / 24 / 40 (anaerobic)		acid sourness; sweet and	
						immature flavor	
NA	7.0 E	0.5	0.3	5 / 20 / 1	NA	NA	

NA, not available; E, wort from malt extract; NC, not comparable.<sup>a</sup>China Industrial Culture Collection; <sup>b</sup>National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms, Hungary; <sup>c</sup>isolated from fermented masau fruit [89]; <sup>d</sup>National Collection of Yeast Cultures, Norwich, UK; <sup>e</sup>plus addition of glucose; <sup>f</sup>isolated from kombucha; <sup>g</sup>Industrial Yeast Collection, DBVPG (University of Perugia, Italy); <sup>h</sup>National Measurement Institute, South Melbourne, Australia; <sup>i</sup>Yeast Collection of the Department of Life and Environmental Sciences (DiSVA), Polytechnic University of Marche, Italy; <sup>j</sup>isolated from wine; <sup>k</sup>Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany; <sup>l</sup>immobilized on brewer's spent grain (BSG); <sup>m</sup>secondary fermentation after *S. cerevisiae* (48 h).



Μια ανασκόπηση από τον Varela, 2016 κάλυψε τον αντίκτυπο των ζυμομυκήτων *non-Saccharomyces* στην πτητική σύνθεση και το οργανοληπτικό προφίλ της μπύρας, του κρασιού, των οινοπνευματωδών ποτών και άλλων ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση. Gibson *et al.*, 2017. τόνισε «τις σύγχρονες προσεγγίσεις στο σχεδιασμό και την ανάπτυξη ζύμης» όπως ο υβριδισμός. Η προσέγγιση της χρήσης ζυμομυκήτων *non-Saccharomyces* για την παραγωγή μπύρας με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το υπόστρωμα και τη σύνθεση του σακχάρου. Αυτή η εργασία περιορίζεται σε εφαρμογές όπου τα αποτελέσματα ήταν μπύρες με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, λόγω της περιορισμένης ικανότητας των ζυμών να ζυμώνουν σάκχαρα ζυθογλεύκους, με έμφαση στις μπύρες που παράγονται κάτω από 0,5% και 1,2% ABV.

### *Saccharomyces ludwigii*

Το πιο επιτυχημένο γένος, άλλο από το *Saccharomyces*, που χρησιμοποιείται για τη βιομηχανική παραγωγή μπύρας χωρίς αλκοόλη είναι το *Saccharomyces ludwigii*. Μια σύνοψη των μελετών που διεξήχθησαν με το *Saccharomyces ludwigii* για την παραγωγή μπύρας με λίγο ή χωρίς αλκοόλ, παρουσιάζεται στον Πίνακα 11. Η ελεγχόμενη ζύμωση μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω αυτής της ζύμης χάρη στην ανικανότητά της να ζυμώνει μαλτόζη και μαλτοτριόζη, τα κυρίαρχα ζυμώσιμα σάκχαρα όλων των ζυθογλεύκων που παράγονται μόνο από βύνες. Αν και σύμφωνα με ορισμένους συγγραφείς, η μπύρα που έχει υποστεί ζύμωση από τον *S. ludwigii* τείνει να είναι γλυκιά λόγω της υψηλής υπολειμματικής περιεκτικότητάς της σε μαλτόζη και μαλτοτριόζη, η σχετική γλυκύτητα αυτών των σακχάρων είναι σημαντικά χαμηλότερη από αυτήν της σακχαρόζης και της γλυκόζης (Branyik *et al.*, 2011). Η ζύμωση με *S. ludwigii* χαρακτηρίζεται από αργή εξασθένηση ακόμη και σε 20°C, πράγμα που σημαίνει ότι η διαδικασία δεν απαιτεί τόσο συνεχή παρακολούθηση. Μια σύγκριση της παραδοσιακής ζύμης lager, με *S. ludwigii* με ή χωρίς οξίνιση γλεύκους έδειξε σημαντικά υψηλότερο σχηματισμό οργανοληπτικά ενεργών υποπροϊόντων ανώτερες αλκοόλες και εστέρες) με την ειδική μαγιά. Αυτά τα πτητικά, μαζί με την οξίνιση του γλεύκους, βρέθηκε να καλύπτουν την τυπική ανεπιθύμητη γεύση γλεύκους (worty flavor) των ζύθων χωρίς αλκοόλη και να συμβάλλουν θετικά στην πληρότητα και την ευχάριστη ζωντάνια των ζύθων χωρίς αλκοόλη. Ωστόσο, παρά την υψηλή περιεκτικότητα σε πτητικές ουσίες, υπήρχε μια υπολειπόμενη ελαφριά αρωματική αίσθηση γλεύκους, η οποία μπορεί να αποδοθεί σε χαμηλότερη μείωση της αλδεϋδης

από τον *S. ludwigii*. Οι ζύθοι χωρίς αλκοόλη που παρήχθησαν με το *S. ludwigii* περιείχαν διακετύλιο ελαφρώς πάνω από το κατώφλι αντίληψης, το οποίο έγινε αντιληπτό κατά τη δοκιμή (Branyik *et al.*, 2011).

Το *Saccharomycodes ludwigii* έχει διερευνηθεί διεξοδικά στο παρελθόν και έχει εφαρμοστεί ως παράδειγμα ενός εμπορικού στελέχους εκκίνησης μύρας χωρίς αλκοόλ, σε σύγκριση με άλλα στελέχη *non-Saccharomyces* που χρησιμοποιούνται σε πιο πρόσφατες μελέτες. Το είδος ζύμης, που αναφέρεται σε δίπλωμα ευρεσιτεχνίας των Glaubitz και Haehn το 1929, χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ και υψηλή συγκέντρωση υπολειμματικής μη ζυμωμένης μαλτόζης. Αυτό συζητήθηκε ξανά σε ένα δίπλωμα ευρεσιτεχνίας του 1990 από τους Huige *et al.*, 1989.

Οι Narziß *et al.*, 1992, διερεύνησε τη χρήση του *S. ludwigii* για ζυθοποίηση μύρας χωρίς αλκοόλη (<0,5% ABV) σε σύγκριση με χρήση ακινητοποιημένης ζύμης ζυθοποιίας που ζύμωσε ένα γλεύκος 11,5<sup>0</sup>P. Το στέλεχος παρήγαγε 0,68% ABV αιθανόλη και οι συγγραφείς πρότειναν τη χρήση γλεύκους πυκνότητας 7,5<sup>0</sup>P για να παραμείνουν κάτω από 0,5% ABV. Σε σύγκριση οι μύρες χωρίς αλκοόλ, που παρήχθησαν με ένα στέλεχος ζύμης ζυθοποιίας μέσω της ακινητοποιημένης ζύμωσης, η μύρα που ζυμώθηκε με *S. Ludwigi*, περιείχε υψηλότερες συγκεντρώσεις εστέρων και ανώτερων αλκοολών. Επίσης, η παραγωγή διακετυλίου αυξήθηκε και αναγνωρίστηκε από μια ομάδα οργανοληπτικής δοκιμής. Οι συγγραφείς σημείωσαν μια θετική επίδραση της βιολογικής οξίνισης του μούστου κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, οδηγώντας σε μια ελαφρά καταστολή της αρωματικής βυνώδους γεύσης και της off – flavor αρωματικής ουσίας διακετυλίου, αλλά όλες οι μύρες χωρίς αλκοόλ, επικρίθηκαν από την ομάδα για την εκτός ορίων βυνώδη γεύση τους (worty taste).

Οι Liu *et al.*, 2011 (Bellut και Arendt, 2019) ζύμωσε ένα ζυθογλεύκος wort 8,1<sup>0</sup>P με *S. ludwigii* στο 12<sup>0</sup>C. Η αιθανόλη έφτασε το 0,47% ABV με τη χαμηλή παραγωγή εστέρων (1,9 mg/L) και ανώτερες αλκοόλες (39 mg/L). Η μύρα χωρίς αλκοόλ, αναφέρθηκε ότι παρουσιάζει ασθενές άρωμα και γλυκιά γεύση.

Σε μια πιο θεμελιώδη προσέγγιση, οι Sohrabvandi *et al.*, 2010 διερεύνησε το στέλεχος *S. ludwigii* DSM 3447 για την απόδοσή του σε συνθετικά μέσα που περιέχουν διαφορετικά ζυμώσιμα σάκχαρα. Αναφέρθηκε ότι η ταχύτερη ανάπτυξη σημειώθηκε παρουσία φρουκτόζης, ακολουθούμενη από γλυκόζη και σακχαρόζη. Στα μέσα που περιέχουν μαλτόζη ως το μοναδικό ζυμώσιμο σάκχαρο, δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη. Οι Mohammadi *et al.*, 2011 διερεύνησε το ίδιο στέλεχος *S. ludwigii* DSM 3447

ακινήτοποιημένο σε βνουπολείματα (brewer's spent grain-BSG) και διαπίστωσε ότι το ακινήτοποιημένο στέλεχος μπόρεσε να καταναλώσει μαλτόζη, πιθανώς λόγω μειωμένων τιμών ενδοκυτταρικού pH και αυξημένης ενζυματικής δραστηριότητας. Αναφέρθηκε ότι το στέλεχος παράγαγε 1,7% ABV αιθανόλη (7°C) και 2,7% ABV αιθανόλη (12°C) σε 6,5<sup>0</sup>P γλεύκος. Οι Mortazavian *et al.*, 2014 ζύμωσε ένα γλεύκος 6<sup>0</sup>P για 48 ώρες σε διαφορετικές θερμοκρασίες (4, 12 και 24<sup>0</sup> C) και με δύο διαφορετικούς εμβολιασμούς (10<sup>6</sup> και 4\*10<sup>6</sup> κύτταρα / mL) του ίδιου στελέχους *S. ludwigii* DSM 3447, υπό αναερόβιες συνθήκες, ή με περιοδικό αερισμό (κάθε 12 ώρες). Τα επίπεδα αιθανόλης κυμαίνονταν από 0,15 έως 1,20% ABV και οι μπόρες αναφέρθηκαν ότι είχαν χαμηλό ποσοστό αποδοχής κατά τη διάρκεια της οργανοληπτικής αξιολόγησης. Αυτό οφειλόταν σε γλυκές και ανώριμες γεύσεις στα δείγματα που ζυμώθηκαν στις ψυχρότερες θερμοκρασίες (4 και 12<sup>0</sup> C) και γαλακτικές ξινές γεύσεις για το δείγμα που ζυμώθηκε στους 24<sup>0</sup> C.

Οι Meier-Dornberg και Hutzler, 2014 χρησιμοποίησαν το στέλεχος *S. ludwigii* TUM SL 17 για ζύμωση γλεύκους 12,8<sup>0</sup>P και 7<sup>0</sup>P στους 15<sup>0</sup>C ή 20<sup>0</sup>C για την παραγωγή μύρας σίτου χωρίς αλκοόλη. Οι συγκεντρώσεις αιθανόλης κυμαίνονταν μεταξύ 1,00-1,16% ABV (12,8<sup>0</sup>P) και 0,50–0,62% ABV (7<sup>0</sup>P). Η μύρα σίτου χωρίς αλκοόλ (7<sup>0</sup>P, 15<sup>0</sup>C, 0,5% v/v) εμφάνισε αυξημένες συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών σε σύγκριση με τον μέσο όρο 20 εμπορικών μπυρών σίτου χωρίς αλκοόλη. Ωστόσο, οι τυπικές ενώσεις αρώματος μύρας σίτου οξικού αιθυλεστέρα, οξικού ισοαμυλεστέρα και 4-βινυλογουαιακόλης λείπουν.

Οι De Francesco *et al.*, 2015 εξέτασαν έξι στελέχη *S. ludwigii*, απομονωμένα ως επί το πλείστον από γλεύκος σταφυλιών, για την εφαρμογή τους στην παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Διεξήχθησαν ζυμώσεις μικρής κλίμακας (50 ml) 12<sup>0</sup>P γλεύκους στους 20<sup>0</sup>C υπό αερόβιες συνθήκες. Οι συγκεντρώσεις αιθανόλης κυμαίνονταν από 0,51 έως 1,36% ABV, ενώ οι συγκεντρώσεις εστέρων κυμαίνονταν από 1–15 mg/L και ανώτερες αλκοόλες από 43-77 mg/L. Οι τιμές διακετυλίου αναφέρθηκαν ότι ήταν κάτω από το όριο των 0,1 mg/L (Olaniran *et al.*, 2017), και συνήχθη το συμπέρασμα ότι το στέλεχος με τη χαμηλότερη παραγωγή αιθανόλης θα μπορούσε να είναι μια πιθανή μαγιά για την παραγωγή μύρας με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη.

Δεδομένου ότι το *S. ludwigii* εφαρμόζεται ήδη στην εμπορική παρασκευή μύρας χωρίς αλκοόλη, (Michel και Meier-Dornberg, 2016; Saerens και Swiegers, 2014) χρησιμοποιήθηκε πρόσφατα από διαφορετικούς συγγραφείς ως στέλεχος ελέγχου για να

συγκρίνει την απόδοση διαφορετικών *non-Saccharomyces* ζυμομυκήτων.(Saerens and Swiegers, 2014; Bellut *et al.*, 2018). Οι Saerens and Swiegers, 2014 βρήκαν τον *S. ludwigii* κατώτερο από ένα στέλεχος *Pichia kluyveri* σε ζυμώσεις εργαστηριακής κλίμακας που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλη. Το στέλεχος *S. ludwigii* που χρησιμοποιήθηκε αναφέρθηκε ότι παρήγαγε παρόμοιες ποσότητες ανώτερων αλκοολών, χαμηλότερων συγκεντρώσεων εστέρα και υψηλών συγκεντρώσεων δεκανοϊκού οξέος, οι οποίες θα μπορούσαν ενδεχομένως να οδηγήσουν σε μια ταγγισμένη, ελλατωματική, αίσθηση τυριού στην μύρα. Η συγκέντρωση αιθανόλης ήταν 0,3% ABV με εκχύλισμα βύνης 7<sup>0</sup>P μετά από ζύμωση 5 ημερών στους 20<sup>0</sup>C.

Οι De Francesco *et al.*, 2018 συνέκρινε το στέλεχος *S. Ludwigii TUMSL 17* (εναλλακτική ονομασία *WSL 17*) με ένα στέλεχος ζύμης *Mrakia gelida* κατά τη ζύμωση ενός γλεύκος 12<sup>0</sup>P. Μετά από 10 ημέρες ζύμωσης στους 23<sup>0</sup>C, το στέλεχος *S. ludwigii* παρήγαγε 1,23% ABV αιθανόλη και με την επαναζύμωση στην φιάλη, (με προσθήκη 5gr/L γλυκόζης) η αιθανόλη αυξήθηκε σε 1,32% ABV. Οι τιμές των εστέρων κυμαίνονταν από 9-15 mg/L με υψηλότερα επίπεδα αλκοόλης περίπου 43 mg/L. Οι μύρες που παράγονται με *S. Ludwigii*, περιγράφονται πως έχουν γεύσεις δημητριακών και βύνης.

Το ίδιο στέλεχος *S. Ludwigii TUMSL 17* χρησιμοποιήθηκε από τους Bellut *et al.*, 2018 σε σύγκριση πέντε διαφορετικών στελεχών *non-Saccharomyces*. Το στέλεχος *S. ludwigii* παρήγαγε 0,5% ABV αλκοόλη με γλεύκος 6,6<sup>0</sup>P μετά από ζύμωση τριών ημερών στους 25<sup>0</sup>C. Η παραγωγή εστέρων αναφέρθηκε ότι ήταν χαμηλή (0,8 mg/L), καθώς και χαμηλότερη παραγωγή ανώτερων αλκοολών (21 mg/L ), και η παραγωγή διακετυλίου που ήταν κάτω από το κατώφλι αντίληψης. Κατά τη διάρκεια μιας γευσιγνωσίας, η μύρα χωρίς αλκοόλη, περιγράφηκε ως επιδεικνύοντας μια γλυκιά γεύση και γεύσεις που μοιάζουν με ψωμί.

Κατά τη διάρκεια ενός συνδυασμού φυσικών και βιολογικών μεθόδων, οι Jiang *et al.*, 2017 χρησιμοποίησαν ένα στέλεχος *S. ludwigii* για τη ζύμωση γλεύκος 12,2<sup>0</sup>P που παράγεται με βύνη κριθαριού και σίτου, ακολουθούμενη από απόσταξη κενού για την απομάκρυνση της αιθανόλης. Χρησιμοποιήθηκε ανάμειξη με μικρές ποσότητες κανονικής μύρας για την ανάπτυξη μύρας με φυσιολογικό άρωμα. Η μύρα παρήχθη σε κλίμακα 2000 L, με θερμοκρασία ζύμωσης 18<sup>0</sup>C, και εμβόλιο 15\*10<sup>6</sup> κύτταρα / mL. Μετά από απόσταξη σε κενό, επαναδιάλυση και προσθήκη 9% ABV κανονικής μύρας με 4,5% ABV αιθανόλη, η τελική συγκέντρωση αιθανόλης ήταν <0,5% ABV και η

συγκέντρωση των αρωματικών ουσιών αναφέρθηκε ότι ήταν παρόμοια με μια εμπορική μύρα χωρίς αλκοόλ.

### ***Candida spp.***

Οι Estela-Escalante *et al.*, 2016 διερεύνησε την εφαρμογή ενός στελέχους *Candida zemplinina* (Y.01670), απομονωμένου από υπερώριμα σταφύλια, για την παραγωγή μύρας. Οι δοκιμές ζύμωσης πραγματοποιήθηκαν σε εργαστηριακή κλίμακα 350 mL στους 18°C για 8 ημέρες σε διαφορετικά εκχυλίσματα γλεύκους, με και χωρίς πρόσθετα (γλεύκος βύνης, γλεύκος βύνης συν σιρόπι γλυκόζης, γλεύκος βύνης συν σιρόπι γλυκόζης και εκχύλισμα ζύμης και γλεύκος βύνης συν χυμός μήλου). Όλα τα γλεύκη ρυθμίστηκαν σε συγκέντρωση εκχυλίσματος 12<sup>0</sup>P και pH 4,8. Όταν χρησιμοποιήθηκε μόνο γλεύκος βύνης, το στέλεχος *C. zemplinina* παρήγαγε μόνο 1,5% ABV αιθανόλη, λόγω της αδυναμίας της ζύμης να καταναλώνει μαλτόζη. Η προσθήκη σιροπιού γλυκόζης στο γλεύκος οδήγησε σε τελική συγκέντρωση αιθανόλης 1,7% ABV. Πρόσθετη συμπλήρωση με εκχύλισμα ζύμης οδήγησε σε αυξημένο αριθμό βιώσιμων κυττάρων αλλά δεν επηρέασε σημαντικά την τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη. Όταν χρησιμοποιήθηκε χυμός μήλου ως συμπλήρωμα, η παραγωγή αιθανόλης αυξήθηκε σε συσχετισμό με τη μείωση της κατανάλωσης σακχάρων και οι τελικές μύρες είχαν περιεκτικότητα σε αιθανόλη περίπου 4,1% ABV. Δυστυχώς, δεν πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική μελέτη. Σε μία δεύτερη μελέτη, με το ίδιο στέλεχος, από τους Estela-Escalante *et al.*, 2017, διερευνήθηκε η χρήση προσθήκης πρόσθετων (adjuncts). Υπό τις ίδιες συνθήκες ζύμωσης (350 mL, 18°C, 8 ημέρες), τα υποστρώματα που έχουν υποστεί ζύμωση ήταν εκχύλισμα βύνης 12<sup>0</sup>P, εκχύλισμα βύνης συν σιρόπι γλυκόζης (1: 1; 6<sup>0</sup>P γλεύκος με 6<sup>0</sup>P σιρόπι γλυκόζης DE45), εκχύλισμα βύνης συν χυμό σταφυλιού (1:1) και εκχύλισμα βύνης συν σιρόπι φρουκτόζης (High Fructose Corn Sirup-HFCS) (1:1). Σε καθαρό βυνογλεύκος, η μαγιά παρήγαγε 1,67% ABV αιθανόλη. Όταν προστέθηκε σιρόπι γλυκόζης, η τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη ήταν ασήμαντα υψηλότερη με 1,85% ABV, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας δι- και ολιγοσακ-χαριτών στο σιρόπι γλυκόζης που η ζύμη δεν μπόρεσε να ζυμώσει. Η προσθήκη σιροπιού φρουκτόζης ή χυμού μήλου, όπου και οι δύο έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε μονοσακχαρίτες, είχε ως αποτέλεσμα τελικές συγκεντρώσεις αιθανόλης 4,69% ABV και 4,46% ABV, αντίστοιχα. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το στέλεχος *C. zemplinina* Y.01670 θα μπορούσε να είναι κατάλληλο για την παραγωγή μίας ποικιλίας μύρας κατά την παρασκευή με πρόσθετα (προσθήκη μονοσακχαριτών). Αντίθετα, το γλεύκος

χωρίς τη χρήση πρόσθετων οδηγεί σε μύρα με χαμηλό αλκοολικό βαθμό. Δεν πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική μελέτη.

Σε δίπλωμα ευρεσιτεχνίας των Li *et al.*, 2011 χρησιμοποιήθηκε ένα στέλεχος *Candida shehatae* (*Scheffersomyces shehatae* comb. Nov.) Για την παραγωγή μιας μύρας χωρίς αλκοόλη από βυνογλεύκος. Σε ζυμώσεις εργαστηριακής κλίμακας 300 mL, χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος *Candida shehatae* CICC 1766 για τη ζύμωση γλεύκους 9<sup>0</sup>P στους 14<sup>0</sup>C με εμβόλιο 3% περίπου. Η τελική μύρα είχε περιεκτικότητα σε αιθανόλη 0,47% ABV και συγκέντρωση διακετυλίου κάτω από 0,05 mg/L. Η μύρα χωρίς αλκοόλ, αναφέρθηκε ότι περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε εστέρες και δεν είχε τη γλυκιά και βυνώδη γεύση (worty off-taste) τυπική πολλών ζύθων χωρίς αλκοόλη, που παράγονται από περιορισμένη ζύμωση. Μια δοκιμή των 200 L οδήγησε σε τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη 0,37% ABV, συγκέντρωση διακετυλίου κάτω από 0,05 mg/L και αναφερόμενη παρόμοια γεύση με την κανονική μύρα.

### ***Cyberlindnera spp.***

Οι ζυμομύκητες *Cyberlindnera* έχουν προηγουμένως αναφερθεί ότι παράγουν υψηλές συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, ιδίως ισοαμυλικού, αιθυλικού και οξικής 2-φαινυλαιθανόλης. (Yilmaztekin *et al.*, 2008; Inoue *et al.*, 1994) Κατά τη διάρκεια μελέτης των Van Rijswijk *et al.*, 2017 σχετικά με την «απόδοση μη συμβατικών ζυμών σε συν-καλλιέργεια με ζύμη ζυθοποιίας για καθοδήγηση παραγωγής αιθανόλης και αρώματος» 49 απομονωμένες άγριες ζύμες που ανήκουν στο είδος *S. cerevisiae* (16 απομονώσεις), *Cyberlindnera fabianii* (9 απομονώσεις) και *Pichia kudriavzevii* (24 προϊόντα απομόνωσης), υποβλήθηκαν σε διαλογή σε γλεύκος 12<sup>0</sup>P εκχυλίσματος βύνης (barley wort extract) σε εργαστηριακή κλίμακα 100 κ.εκ. Μετά από επώαση 7 ημερών στους 20<sup>0</sup>C, αναλύθηκαν συγκεντρώσεις αιθανόλης και πτητικών οργανικών ενώσεων. Λόγω της συνολικής πρόσληψης γλυκόζης από ζύμες, αλλά μόνο περιορισμένης κατανάλωσης μαλτόζης και μη χρήσης μαλτροτρόζης, τα επίπεδα αιθανόλης των γλευκών που ζυμώθηκαν με *C. fabianii* έφτασαν μόνο το 0,6% ABV. Η σχετική αφθονία πτητικών εστέρων προς πτητικές αλκοόλες βρέθηκε να έχει κατά προσέγγιση αναλογία 40:60 (εστέρες: αλκοόλες) σε αντίθεση με αναλογία 15:85 για τα στελέχη *S. cerevisiae*. Το είδος *Cyberlindnera mrakii* (πρώην *Williopsis saturnus* var. *Mrakii*) NCYC 500 διερευνήθηκε από τους Liu και Quek., 2016 να αξιολογήσει τις δυνατότητές του να παράγει φρουτώδη μύρα. Παρασκευάστηκε εκχύλισμα ζυθογλεύκους, βύνη κριθαριού και γλυκόζη και προστέθηκε λυκίσκος κατά τη διάρκεια του βρασμού. Το

τελικό γλεύκος είχε περιεκτικότητα σε εκχύλισμα 13,8<sup>0</sup>P και περιείχε περίπου 2,3% (β / ο) γλυκόζη (μέσω της προσθήκης γλυκόζης), 0,3% (β / ο) φρουκτόζη, 0,3% (β / ο) σακχαρόζη και 5% (β / ο) μαλτόζη. Η ζύμωση πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακή κλίμακα 400 mL στους 21<sup>0</sup>C για 14 ημέρες. Η τελική μύρα είχε περιεκτικότητα σε αιθανόλη 1,7% ABV λόγω της αδυναμίας των ζυμών να καταναλώσουν σημαντικές ποσότητες σακχάρων, εκτός από τη γλυκόζη. Αντίθετα, η ζύμη των ζυθοποιίας *S. cerevisiae* (SafaleUS-05) ζύμωσε το γλεύκος σε τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη 6,9% ABV, εξαντλώντας όλα τα σάκχαρα. Οι συγκεντρώσεις αιθυλικού και οξικού ισοαμυλεστέρα που ανιχνεύθηκαν στην μύρα που έχει υποστεί ζύμωση με *C. mrakii* ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες που εντοπίστηκαν στην μύρα που έχει υποστεί ζύμωση με ζύμη ζυθοποιίας, παρά τις περιορισμένες δυνατότητες ζύμωσης. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα οξικού ισοαμυλεστέρα σε μύρες που έχουν υποστεί ζύμωση με *C. mrakii* ήταν περίπου 20 φορές υψηλότερα από αυτά που ζυμώθηκαν με Safale US-05. Έτσι, οι συγγραφείς πρότειναν ότι η χρήση του *Cyberlindnera spp.* Η ζύμωση του γλεύκους θα μπορούσε να οδηγήσει σε μια μύρα με ένα ξεχωριστό φρουτώδες άρωμα μπανάνας. Ωστόσο, οι συγγραφείς εξέφρασαν την ανησυχία ότι η υψηλότερη παραγωγή οξικού αιθυλεστέρα από το στελέχος NCYC 500 θα οδηγούσε σε μια γεύση που μοιάζει με διαλύτη στην μύρα. Συνήχθη το συμπέρασμα ότι η υψηλή παραγωγή εστέρων σε συνδυασμό με τη χαμηλή ικανότητα ζύμωσης του στελέχους θα μπορούσε να κάνει το *C. mrakii* κατάλληλο για την παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη.

### ***Pichia spp.***

Σε μια μελέτη των Saerens και Swiegers, 2014, δύο στελέχη *Pichia kluyveri* (PK-KR1, PK-KR2) ερευνήθηκαν για να παράγουν μύρα χωρίς αλκοόλ, στην κλίμακα 1000 L. Το ζυθογλεύκος 8,3<sup>0</sup>P (62% βύνη κριθαριού, 38% βύνη σιταριού) εμβολιάστηκε με 5\*10<sup>6</sup> κύτταρα/mL, και χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα λυκίσκου για πικρία. Η ζύμωση πραγματοποιήθηκε στους 20<sup>0</sup>C για τρεις εβδομάδες. Η μύρα που παρήχθη με PK-KR1 έφτασε σε συγκέντρωση αλκοόλης 0,1% ABV, ενώ η μύρα που παρήχθη με PK-KR2 είχε ποσοστό αλκοόλης 0,2% ABV. Μια μύρα με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη που παράγεται με PK-KR1 και περιείχε 0,7% ABV μέχρι το τέλος της ζύμωσης παρήχθη επίσης με το ίδιο γλεύκος σε κλίμακα 1500 L, όχι μόνο με εκχύλισμα λυκίσκου αλλά και με την προσθήκη διαφορετικού λυκίσκου κατά τη διάρκεια του βρασμού και της ζύμωσης. Αναφέρθηκε ότι μέχρι το τέλος της ζύμωσης, όλη η γλυκόζη

του γλεύκους είχε καταναλωθεί. Οι εστέρες και οι ανώτερες αλκοόλες αναλύθηκαν και συγκρίθηκαν με τρεις εμπορικές μύρες (Carlsberg Pilsner, Heineken Lager, Stella Premium Lager) που περιείχαν αλκοόλ κατ' όγκο μεταξύ 4,6-5,2% ABV και τρεις εμπορικές μύρες χωρίς αλκοόλ, με 0,0% ABV. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι εμπορικές μύρες χωρίς αλκοόλη, ήταν αζύμωτες μύρες χωρίς αλκοόλη, (ούτε μύρες που αφαιρέθηκε η αλκοόλη, από μύρες πλήρους σύστασης (full-strength), ούτε μύρες χωρίς αλκοόλη, που παράγονται με περιορισμένη ζύμωση (Bellut και Arendt, 2019). Σε σύγκριση με τις εμπορικές μύρες, οι μύρες χωρίς αλκοόλ, που παρήχθησαν με το *P. kluyveri* είχαν παρόμοια επίπεδα των αρωματικών ενώσεων ισοαμυλικής αλκοόλης, εξανοϊκού αιθυλεστέρα και οκτανοϊκού αιθυλεστέρα. Ο οξικός ισοαμυλεστέρας απουσίαζε από τις εμπορικές μύρες χωρίς αλκοόλ, αλλά υπήρχε στις μύρες χωρίς αλκοόλ που παρήχθησαν με στελέχη ζύμης *PK-KR1* και *PK-KR2* σε διπλάσια ή μεγαλύτερη ποσότητα από ότι στις εμπορικές μύρες, παρά την περιορισμένη ζύμωση. Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι το αρωματικό προφίλ των εστέρων και των ανώτερων αλκοολών είναι πιο κοντά σε αυτό των εμπορικών μυρών με 4,6-5,2% αλκοόλη ABV από το προφίλ αρώματος οποιασδήποτε από τις εμπορικές μύρες χωρίς αλκοόλ που μετρήθηκαν. Η εκτίμηση της γεύσης από μια ομάδα δοκιμαστών, ζυθοποιών και καταναλωτών μύρας, αποκάλυψε μια γεύση πολύ κοντά στην γεύση της μύρας, χωρίς αλκοόλ, από τον *P. kluyveri* και μια προτίμηση έναντι των εμπορικών μυρών χωρίς αλκοόλ. Η παραγωγή διακετυλίου από τον *P. kluyveri* *PK-KR1* μελετήθηκε σε μια εργαστηριακή δοκιμή παρασκευής σε σύγκριση με μια μύρα που παρήχθη με ένα στέλεχος ζύμης ζυθοποιίας *S. cerevisiae*. Διαπιστώθηκε ότι το *P. kluyveri* παρήγαγε πολύ λιγότερο διακετύλιο σε σύγκριση με το στέλεχος ζύμης των ζυθοποιίας *S. cerevisiae*. Η μύρα με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ *P. kluyveri* αποδείχθηκε ότι έχει παρόμοιο αρωματικό προφίλ με εκείνη του *P. kluyveri* χωρίς αλκοόλ. Ως εκ τούτου, οι Saerens και Swiegers, 2014, πρότειναν ότι ο *P. kluyveri* είναι μια μαγιά που είναι ιδανική για παραγωγή μύρας με λίγο ή χωρίς αλκοόλ. Σε μια άμεση σύγκριση με ένα *S. ludwigii*, σε ζύμωση εργαστηριακής κλίμακας 1,6 λίτρων σε γλεύκος 7<sup>0</sup>P από εκχύλισμα βύνης Pilsner, συνήχθη το συμπέρασμα ότι το *P. kluyveri* ταιριάζει καλύτερα για την παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλ, λόγω χαμηλότερης παραγωγής αλκοόλ (0,1% ως σε αντίθεση με 0,3% v/v), υψηλότερη παραγωγή επιθυμητών εστέρων (ειδικά οξικού ισοαμυλεστέρα και οξικής φαινυλαιθανόλης) και χαμηλότερη παραγωγή ανεπιθύμητων οξέων (ιδίως οκτανοϊκού οξέος και δεκανοϊκού οξέος) (Saerens και Swiegers, 2014).



Στην προαναφερθείσα μελέτη των van Rijswijck *et al.*, 2017, τα 24 στελέχη *Pichia kudriavzevii*, που ελέγχθηκαν σε γλεύκος 12<sup>0</sup>P (από εκχύλισμα βύνης), παρουσίασαν τελικές συγκεντρώσεις αιθανόλης 0,5-0,8% ABV, λόγω της πολύ περιορισμένης κατανάλωσης μαλτόζης.


Η σχετική αφθονία πτητικών εστέρων προς πτητικές αλκοόλες ήταν 50:50 (εστέρες: αλκοόλες), ελαφρώς περισσότεροι εστέρες από ό, τι με το *C. fabianii* (40:60).

### **Ζύμες *non-Saccharomyces Pichia* της αγοράς**

Μία λύση για την παραγωγή μύρας με λίγο ή χωρίς αλκοόλ με ζύμη *non-Saccharomyces* δίνει η εταιρεία Chr. Hansen (Εικόνα 7) με το προϊόν NEER<sup>®</sup> (*Pichia spp.*). Τα παρακάτω είναι από την ιστοσελίδα της εταιρείας: <https://www.chr-hansen.com/en>.

Το ειδικά απομονωμένο και επιλεγμένο στέλεχος που χρησιμοποιείται στο NEER<sup>®</sup> μετατρέπει τους μονοσακχαρίτες σε συγκεκριμένες και επιθυμητές αρωματικές ενώσεις, βοηθώντας να παραχθεί ζύθος χωρίς το αλκοόλ. Η κατεψυγμένη ειδική μαγιά χρησιμοποιεί μια μέθοδο άμεσου εμβολιασμού που εξαλείφει την ανάγκη πολλαπλασιασμού για ευκολία χρήσης.

Αυτή η διαδικασία μειώνει επίσης την πολυπλοκότητα του προγραμματισμού και τον χρόνο εκτός της διαδικασίας παραγωγής, μειώνοντας τον κίνδυνο και αυξάνοντας την παραγωγικότητα. Το αποτέλεσμα είναι κάτι περισσότερο από ένα υποκατάστατο μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ και με χαμηλές θερμίδες. Είναι ένα δροσιστικό ποτό γεμάτο γεύση που μπορεί να το καταναλωθεί σε πολλές περιπτώσεις.

 <p>CHR HANSEN Improving food &amp; health</p>	<p>Χαρακτηριστικά ζύμωσης</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Βελτιωμένες γεύσεις φρούτων: περισσότεροι εστέρες και θειόλες</li><li>• Μέση παραγωγή πολυσακχαριτών</li><li>• Χαμηλή παραγωγή αιθανόλης</li></ul>
---	--

Εικόνα 7: Ζύμη *non-Saccharomyces* από την εταιρεία Chr. Hansen με το προϊόν NEER<sup>®</sup>

Άμεσος εμβολιασμός σημαίνει ότι το NEER<sup>®</sup> είναι πάντα έτοιμο όταν το χρειάζεστε και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή ποτών με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ ή χωρίς αλκοόλ (<https://www.chr-hansen.com/en> 26-07-2021).

### *Torulaspora delbrueckii*

Οι Michel *et al.* 2016 διερεύνησαν δέκα στελέχη *T. delbrueckii* για την εφαρμογή τους στην παρασκευή. Από συνολικά 10 στελέχη, 9 στελέχη εμφάνισαν χαμηλή ικανότητα παραγωγής αλκοόλ λόγω της αδυναμίας τους να χρησιμοποιούν μαλτόζη. Σε δοκιμές ζύμωσης 2 L σε 12<sup>0</sup>P γλεύκος (από εκχύλισμα βύνης κριθαριού) στους 27<sup>0</sup>C, οι τελικές μύρες παρουσίασαν περιεκτικότητα σε αιθανόλη 0,83-0,94% ABV. Επιπλέον, τα στελέχη ερευνήθηκαν για φαινολική παραγωγή (off-flavor) εκτός γεύσης (POF) και ευαισθησία στις ενώσεις λυκίσκου, συγκεκριμένα στη συγκέντρωση ισο-οξέος. Κανένα από τα ερευνηθέντα στελέχη ζύμης δεν έδειξε θετική συμπεριφορά POF. Η παρουσία 90 mg/L ισο-α-οξέων στο γλεύκος οδήγησε σε μια ελαφρώς μεγαλύτερη φάση υστέρησης και χαμηλότερη κλίση για τη λογαριθμική φάση σε σύγκριση με ένα γλεύκος χωρίς λυκίσκο. Οι συγκεντρώσεις διακετυλίου ήταν μεταξύ 0,1 και 0,3 mg/L. Η συγκέντρωση δευτερογενών μεταβολιτών ήταν χαμηλή. Η οργανοληπτική ανάλυση με εκπαιδευμένο πάνελ αποκάλυψε ότι οι μύρες έχουν χαρακτήρα μελιού και αχλαδιού και δύο από αυτά είχαν έναν επιπλέον χαρακτήρα εσπεριδοειδών.

Οι Canónico *et al.* 2016, 2017 διερεύνησαν τη χρήση στελεχών *T. delbrueckii* σε ζυμώσεις μικτής καλλιέργειας με ζύμη ζυθοποιίας *S. cerevisiae* για βιομετατροπή αρωμάτων και μείωση της περιεκτικότητας σε αλκοόλη. Σε προεπιλογή 28 στελεχών *T. delbrueckii*, 20 δεν παρουσίασαν κατανάλωση μαλτόζης. Ένα θετικό στέλεχος στην μαλτόζη επιλέχθηκε για περαιτέρω διερεύνηση σε ζυμώσεις μικτής καλλιέργειας. Ωστόσο, οι ζυμώσεις μονής καλλιέργειας διεξήχθησαν επίσης σε 12,7<sup>0</sup>P και 12,3<sup>0</sup>P σε ζυθογλεύκη βύνης κριθαριού, αντίστοιχα. Σε ζυμώσεις απλής καλλιέργειας, επιτεύχθηκαν περιεκτικότητες αιθανόλης μόνο 2,66 και 2,62% ABV λόγω μερικής, παρά ολικής, χρήσης μαλτόζης. Παρά το γεγονός ότι το στέλεχος μπόρεσε να καταναλώσει μαλτόζη, η πραγματική εξασθένηση ήταν κακή μόνο στο 37%. Οι συγκεντρώσεις εστέρων και ανώτερων αλκοολών στις τελικές μύρες ήταν χαμηλότερες σε σύγκριση με τις μύρες που παρασκευάστηκαν με τη μαγιά των ζυθοποιίας. Σύμφωνα με τους Michel *et al.*, 2016 οι μύρες που παρασκευάστηκαν με μονή καλλιέργεια *T. delbrueckii* χαρακτηρίστηκαν ως φρουτώδης και με αίσθηση κιτρικού σε οργανοληπτικές δοκιμές. Επιπλέον, οι Canónico *et al.*, 2017 ανέφεραν ότι οι μύρες ήταν γεμάτες σώμα. Οι Tataridis *et al.*, 2016, ζύμωσαν ένα ζυθογλεύκος (12,2<sup>0</sup>P, pH 5,3) σε κλίμακα 100 L στους 20<sup>0</sup>C. Χρησιμοποιήθηκαν δύο στελέχη *T. delbrueckii*, καθώς επίσης και ένα στέλεχος ale αναφοράς (*S. cerevisiae*). Ενώ το *S.*

*cerevisiae* έφτασε σε τελική φαινομενική εξασθένηση του 79%, ένα στέλεχος *T. delbrueckii* έδειξε 63% φαινομενική εξασθένηση, ενώ το άλλο έφτασε μόνο το 36% φαινομενική εξασθένηση. Η ζύμωση με το στέλεχος με τη χαμηλή εξασθένηση αναφέρθηκε ότι προχωρούσε πολύ αργά και η τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη ήταν μόνο 2,34% ABV. Η συγκέντρωση εστέρων ήταν επίσης χαμηλότερη, αλλά οι συγγραφείς δήλωσαν ότι η μύρα είχε εξίσου ευχάριστη, αλλά ελαφρώς λιγότερο έντονη γεύση. Ομάδα δώδεκα κριτών που έκριναν τις μύρες και περιέγραψαν τις μύρες που ζυμώθηκαν με το *T. delbrueckii*, σύμφωνα με τα ευρήματα των Canonico *et al.*, 2016, 2017 ως εξαιρετικά εσπεριδοειδής και φρουτώδης καθώς και γεμάτα σώμα. Σε μια ανασκόπηση των Bellut *et al.*, 2018 αρκετές προελεγμένες ζύμες *non-Saccharomyces* συγκρίθηκαν στην παρασκευή μύρας χωρίς αλκοόλ, με ένα εμπορικό στέλεχος μύρας χωρίς αλκοόλ, (*S. ludwigii*) και ένα στέλεχος ζυθοποιίας *S. cerevisiae*. Η μελέτη περιελάμβανε ένα στέλεχος *T. delbrueckii*. Κατά τον χαρακτηρισμό των ζυμομυκήτων, βρέθηκε ότι το στέλεχος *T. delbrueckii* μπόρεσε να ζυμώσει από τα σάκχαρα του γλεύκους μόνο τη γλυκόζη, τη φρουκτόζη και τη σακχαρόζη (όχι μαλτόζη ή μαλτοτριόζη). Σύμφωνα με τους Michel *et al.*, 2016, το στέλεχος *T. delbrueckii* βρέθηκε κατάλληλο για εφαρμογή σε ζύθο. Δεν ανέπτυξε καμία γεύση POF (φαινολικού χαρακτήρα-phenolic off flavor) και μπόρεσε να αναπτυχθεί σε πολύ λυκίσκο, που περιέχει έως και 100 mg/L ισο-οξέων. Διεξήχθη μια δοκιμή ζύμωσης σε ένα δοχείο, 1,5 L βύνης κριθαριού 6,6<sup>0</sup>P, στους 25<sup>0</sup>C με ρυθμό προώθησης 8\*10<sup>6</sup> κύτταρα / mL. Η μύρα χωρίς αλκοόλ, έφτασε σε τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη 0,50% ABV. Αναφέρθηκε ότι το στέλεχος κατανάλωσε μόνο μικρές ποσότητες ελεύθερου αμινο αζώτου (FAN) και αμινοξέων (AA). Τα επίπεδα εστέρων ήταν πολύ χαμηλά στα 0,8 mg/L και η συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών αναφέρθηκε ότι ήταν χαμηλή στα 18 mg/L. Τα επίπεδα διακετυλίου αναφέρθηκαν ότι ήταν κάτω από το όριο των 0,1 mg/L . (Olaniran *et al.*, 2017) Σε αντίθεση με τα ευρήματα άλλων μελετών (Michel *et al.*, 2016; Canonico *et al.*, 2017), η μύρα χωρίς αλκοόλ, που παράγεται με τον *T. delbrueckii* παρουσίασε ελαφρά φρουτώδη χαρακτήρα και περιγράφηκε ως «wort-like» και «bread-like». Ωστόσο, ένα έμπειρο ειδικό πάνελ γευσιγνωσίας δεν μπόρεσε να διακρίνει την μύρα χωρίς αλκοόλ, που παράγεται με τον *T. delbrueckii* από την μύρα χωρίς αλκοόλ που παράγεται με το εμπορικό στέλεχος για μύρα χωρίς αλκοόλ, *S. ludwigii* TUM SL 17.

*Zygosaccharomyces spp.*

Οι Sohrabvandi *et al.*, 2009 διερεύνησαν τη διαδοχική εφαρμογή δύο στελεχών *Z. rouxii* (DSM 2531, DSM 2535) μετά από πρωτογενή ζύμωση με *S. cerevisiae*. Μετά από 48 ώρες, ζύμωσης με εμβόλιο ζύμης *S. cerevisiae* στους 12 και 24°C, αντίστοιχα, τα κύτταρα ζυμομύκητα απενεργοποιήθηκαν θερμικά (85°C, 15 λεπτά) και το γλεύκος εμβολιάστηκε με *Z. rouxii*. Στη συνέχεια ζυμώθηκε για άλλες 48 ώρες στους 12 και 24°C, αντίστοιχα, με περιοδικό αερισμό ενώ παρακολούθησαν τη μείωση του pH, τη πυκνότητα του γλεύκους και την περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Στο τέλος της ζύμωσης, προσδιορίστηκαν η ακεταλδεΐδη, το διακετύλιο και η 2,3-πεντανδιόνη. Τα επίπεδα αιθανόλης στις νεαρές μπύρες μετά από 96 ώρες ζύμωσης με *S. cerevisiae* απλής καλλιέργειας έφτασαν το 2,75% (12°C) και το 1,91% ABV (24°C). Αντιστρόφως, ο εμβολιασμός με *Z. rouxii* μετά από 48 ώρες οδήγησε σε σημαντική μείωση της αιθανόλης μεταξύ 0,78-1,29% ABV, με τις μπύρες που προέκυψαν να εμφανίζουν επίπεδα αλκοόλης μεταξύ 0,36-0,40% ABV. Οι συγγραφείς εξήγησαν τη μείωση της αιθανόλης ως εξής. Κατά τη διάρκεια της πρωτογενούς ζύμωσης, το *S. cerevisiae* κατανάλωσε τους μονοσακχαρίτες του γλεύκους (γλυκόζη και φρουκτόζη), καθιστώντας τους μη διαθέσιμους για το *Z. rouxii*, το οποίο δεν είναι σε θέση να καταναλώνει μαλτόζη, το πιο άφθονο σάκχαρο στο γλεύκος. Μαζί με τον περιοδικό αερισμό και την ικανότητα των ζυμών να καταναλώνουν αιθανόλη υπό αερόβιες συνθήκες, αυτό οδήγησε σε μείωση της περιεκτικότητας σε αιθανόλη. Μια οργανοληπτική αξιολόγηση με εκπαιδευμένους δοκιμαστές, έδειξε υψηλότερη αποδοχή για τις ζυμώσεις με *Z. rouxii* στους 24°C, πιθανώς λόγω της χαμηλότερης περιεκτικότητας σε ακεταλδεΐδη στην τελική μπύρα, λόγω θερμοκρασίας ζύμωσης πάνω από το σημείο βρασμού της ακεταλδεΐδης (20,2°C). Ωστόσο, η γενική αποδοχή ήταν επίσης σημαντικά υψηλότερη για τις ζυμώσεις μονής καλλιέργειας *S. cerevisiae* σε σύγκριση με τις ζυμώσεις μικτού στελέχους, λόγω των εκτεταμένων ζυμώσεων μαζί με μια πιο εκτεταμένη παραγωγή αρώματος.

Οι Mohammadi *et al.*, 2011 μελέτησαν την παραγωγή αιθανόλης του στελέχους *Z. rouxii* DSM 2531 μετά την ακινητοποίησή του σε βνουπολείματα (spent grain) ζυθοποιίας. Σε αντίθεση με τη μελέτη των Sohrabvandi *et al.*, 2009, αυτό το στέλεχος παρουσίασε ισχυρή χρήση μαλτόζης, ζύμωση του 6,5<sup>0</sup>P γλεύκους βύνης κριθαριού που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη, σε τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη 2,0% ABV μετά από 9 ημέρες στους 7°C και 3,3% ABV μετά από 7 ημέρες στους 12°C. Οι συγγραφείς δήλωσαν ότι τα δεδομένα έδειξαν ότι η ακινητοποίηση επηρέασε τη μεταβολική

δραστηριότητα του στελέχους ζύμης, επιτρέποντάς της να καταναλώνει μαλτόζη, η οποία οδήγησε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης από ό, τι σε άλλες μελέτες που αναφέρθηκαν, όπου τα στελέχη *Z. rouxii* δεν μπόρεσαν να καταναλώσουν μαλτόζη (Sohrabvandi *et al.*, 2009, 2010)

Οι Mortazavian *et al.*, 2014 διερεύνησαν δύο στελέχη *Z. rouxii* (DSM 70531, DSM 70535) για την παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος 6<sup>0</sup>P . Τα γλεύκη ζυμώθηκαν για 48 ώρες στους 4, 12 και 24<sup>0</sup>C με εμβολιασμούς 10<sup>7</sup> και 4\*10<sup>7</sup> κύτταρα / mL, υπό αναερόβιες συνθήκες και περιοδικό αερισμό (κάθε 12 ώρες). Οι τιμές αιθανόλης κυμαίνονταν από 0,04% (4<sup>0</sup>C, 10<sup>7</sup> κύτταρα / mL, περιοδικός αερισμός) έως 0,40% (24<sup>0</sup>C, 4\*10<sup>7</sup> κύτταρα / mL, αναερόβια). Κατά τη διάρκεια της οργανοληπτικής αξιολόγησης, οι ζύθοι με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη έδειξαν χαμηλή αποδοχή.

Οι De Francesco *et al.*, 2015 διερεύνησαν πέντε στελέχη *Z. rouxii* για την καταλληλότητά τους να παράγουν μύρες με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ (<1,2% ABV) από 12<sup>0</sup>P γλεύκος βύνης κριθαριού. Διεξήχθησαν μικρές δοκιμές ζύμωσης στην κλίμακα των 50 mL, στους 20<sup>0</sup>C υπό αερόβιες συνθήκες. Μόνο ένα στέλεχος παρήγαγε χαμηλή αλκοόλη σε 0,93% ABV για την τελική μύρα. Τα άλλα στελέχη παρήγαγαν μεταξύ 1,46% και 3,32% ABV. Τα διαφορετικά περιεχόμενα αιθανόλης εξηγούνται από τη μερική αδυναμία των ζυμών να ζυμώσουν τη μαλτόζη. Το στέλεχος χαμηλής αλκοόλης παρουσίασε σχετικά υψηλή παραγωγή εστέρων στα 34 mg/L και παραγωγή ανώτερων αλκοολών στα 92 mg/L. Το στέλεχος χαμηλής αλκοόλης παρουσίασε την υψηλότερη παραγωγή διακετυλίου μεταξύ των στελεχών που μελετήθηκαν στα 0,85 mg/L διακετυλίου. Ωστόσο, όλα τα στελέχη εμφάνισαν επίπεδα διακετυλίου πάνω από το κατώφλι αντίληψης 0,1 mg/L. Δυστυχώς, δεν πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική ανάλυση.

Δύο μελέτες *Zygosaccharomyces* (*Z. bailii* και *Z. kombuchaensis*) συμπεριλήφθηκαν επίσης στη μελέτη των Bellut *et al.*, 2018. Τα στελέχη ζύμωσαν ένα 6,6<sup>0</sup>P γλεύκος έως τις τελικές συγκεντρώσεις αιθανόλης 0,42 και 0,48% ABV αντίστοιχα, μετά από ζύμωση 4 ημερών στους 25<sup>0</sup>C. Παρόμοια με το στέλεχος *T. delbrueckii*, τα στελέχη δεν έδειξαν σημάδια ευαισθησίας στο λυκίσκο ή παραγωγή POF. Η παραγωγή εστέρων ήταν και πάλι πολύ χαμηλή στα 1 mg/L και η παραγωγή ανώτερων αλκοολών στα 23 και 22 mg/L, αντίστοιχα. Οι τιμές διακετυλίου των δειγμάτων που έχουν υποστεί ζύμωση με *Z. kombuchaensis* ήταν στα 0,15 mg/L, πάνω από το κατώφλι αντίληψης, αντικατοπτρίζοντας έτσι το περιγραφικό μέρος της αίσθησης όπου αναφέρεται ένας χαρακτήρας διακετυλίου για το δείγμα *Z. Kombuchaensis*, μαζί με τις ιδιότητες του

βυνώδους και σαν μέλι χαρακτήρα, ενώ το *Z. bailii* περιγράφηκε ως γλυκό, μέλι, χορτώδες, φρουτώδες και λευκό σαν κρασί. Και πάλι, το οργανοληπτικό πάνελ δεν μπόρεσε να διακρίνει τις μύρες χωρίς αλκοόλ, από στελέχη *Zygosaccharomyces* από τις μύρες χωρίς αλκοόλ, που παράγονται με το εμπορικό στέλεχος για μύρες χωρίς αλκοόλ, (*S. ludwigii*). Η μύρα χωρίς αλκοόλ, που παρήχθη με το *Z. bailii* θεωρήθηκε λιγότερο γλυκιά σε σύγκριση με τις άλλες τις μύρες χωρίς αλκοόλ, που δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης, αλλά χωρίς στατιστική σημασία (Bellut *et al.*, 2018).

### **Άλλα είδη *non-Saccharomyces***

Δύο από τα στελέχη *Hanseniaspora*, *Hanseniaspora valbyensis* και *H. vineae*, συμπεριλήφθηκαν στη ανασκόπηση των Bellut *et al.* 2018. Κατά τον χαρακτηρισμό των ζυμών, (Bellut *et al.*, 2018) βρέθηκε ότι τα *Hanseniaspora spp.* μπόρεσαν να ζυμώσουν μόνο τη γλυκόζη και τη φρουκτόζη των σακχάρων του γλεύκους (χωρίς χρήση σακχαρόζης, μαλτόζης ή μαλτροτριόζης), και πάλι δεν έδειξαν σημάδια ευαισθησίας σε συγκεντρώσεις ισο-α-οξέων έως 100 mg/L και επίσης κανένα σημάδι παραγωγής POF. Στη δοκιμή ζύμωσης 1,5 L, με ζυθογλεύκος 6,6 °P στους 25°C και ρυθμό προώθησης  $8 \times 10^6$  κύτταρα/mL, η μύρα χωρίς αλκοόλ, έφτασε στο τελικό περιεχόμενο αιθανόλης 0,35 και 0,34% ABV, αντίστοιχα. Όπως και με τα στελέχη *T. delbrueckii* και *Zygosaccharomyces*, αναφέρθηκε ότι αυτά τα στελέχη κατανάλωναν μόνο μικρές ποσότητες FAN και αμινοξέων. Τα επίπεδα των εστέρων ήταν χαμηλά σε συγκέντρωση 0,9 mg/L και 6,0 mg/L, αντίστοιχα. Τα επίπεδα ανώτερων αλκοολών αναφέρθηκαν επίσης χαμηλά στα 20–23 mg/L. Και πάλι, στην οργανοληπτική ανάλυση με την ειδική ομάδα δοκιμαστών, η μύρα χωρίς αλκοόλ, που παρήχθη με την *Hanseniaspora spp.* δεν μπορούσε να διακριθεί από την μύρα χωρίς αλκοόλ, που παράγεται με το στέλεχος *S. ludwigii* που χρησιμοποιείται στο εμπόριο. Ωστόσο, περιγράφηκε ένας ουσιαστικός βυνώδης χαρακτήρας για όλες τις μύρες χωρίς αλκοόλ. Το *H. valbyensis* παρήγαγε 0,2 mg/L διακετύλιο, πάνω από την τιμή κατωφλίου των 0,1 mg/L (Olaniran *et al.*, 2017), αντικατοπτρίζοντας το περιγραφικό μέρος της δοκιμής όπου το στέλεχος *H. valbyensis* περιγράφηκε να έχει χαρακτήρα διακετυλίου, ενώ στον *H. vineae* δόθηκαν τα χαρακτηριστικά του «μαύρου τσαγιού» και της «καραμέλας».

Οι De Francesco *et al.*, 2018 διερεύνησαν τη χρήση της ψυχροφιλικής μαγιάς, *M. gelida*, για την παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Το είδος είχε προηγουμένως αναφερθεί σε σχέση με την παρασκευή από τους Thomas-Hall *et al.*,

2010, οι οποίοι ανέφεραν τη χρήση ενός στελέχους *Mrakia*, απομονωμένου από έδαφος στην Ανταρκτική, για την παρασκευή μιας μπίρας χρησιμοποιώντας ένα kit παρασκευής σπιτικής μπίρας. Οι De Francesco *et al.*, 2018 χρησιμοποίησαν το στέλεχος *M. gelida* για τη ζύμωση γλεύκους βύνης κριθαριού 12<sup>0</sup>P στους 10<sup>0</sup>C. Η ζύμωση σταμάτησε μετά από 22 ημέρες, με τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη 1,16% ABV. Το στέλεχος αποδείχθηκε ότι μεταβολίζει τη φρουκτόζη, τη γλυκόζη και τη σακχαρόζη, αλλά μόνο μικρές ποσότητες μαλτόζης, εξ' ου και η χαμηλή παραγωγή αλκοόλ.

Η επαναζύμωση σε φιάλες (bottle-conditioning) για 15 ημέρες στους 10<sup>0</sup>C, μετά την προσθήκη 5 g/L γλυκόζης, οδήγησε σε τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη 1,40% ABV. Οι επιδόσεις ζύμωσης και οι μπίρες χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλη συγκρίθηκαν με το εμπορικό στέλεχος ζύμης *S. ludwigii* WSL 17. Οι μπίρες που ζυμώθηκαν και επαναζυμώθηκαν με *S. ludwigii* έφθασαν στο τελικό περιεχόμενο αιθανόλης 1,23 και 1,32% ABV, αντίστοιχα, δείχνοντας παρόμοιο μοτίβο κατανάλωσης των σακχάρων. Η παραγωγή διακετυλίου ήταν χαμηλή στα 5-8 mg/L. Το άθροισμα των ανώτερων αλκοολών ήταν χαμηλότερο για τα δείγματα που είχαν υποστεί ζύμωση *M. gelida* στα περίπου 26 mg/L, σε σύγκριση με περίπου 43 mg/L για τα δείγματα που ζυμώθηκαν με *S. ludwigii*. Αν και η περιεκτικότητα σε εστέρες της μπίρας που παράγεται με *M. gelida* ήταν χαμηλότερη από την αντίστοιχη του *S. ludwigii* (3,5 έναντι 15 mg/L), οι μπίρες που παράγονται με το *M. gelida* εκτιμήθηκαν ότι είναι σημαντικά φρουτώδεις, κατά τη διάρκεια οργανοληπτικής ανάλυσης. Οι ειδικοί ανέφεραν το βερίκοκο, το σταφύλι και το λίτσι, στις περιγραφές της φρουτώδους μπίρας, ενώ μόνο το βερίκοκο αναφέρθηκε στο δείγμα *S. ludwigii*. Οι συγγραφείς ανέφεραν μια χαμηλή αξιολόγηση της γλυκύτητας (2,8-3,0 σε κλίμακα 9) παρά τον χαμηλό βαθμό ζύμωσης (18-22%), λόγω και της υψηλής ποσότητα υπολειμματικού εκχυλίσματος (9,3-9,8<sup>0</sup>P). Τα δείγματα που έχουν υποστεί ζύμωση με *M. Gelida*, βαθμολογήθηκαν με υψηλότερη τιμή για το σώμα, σε 5,5 σε σύγκριση με 2,0 για το δείγμα *S. ludwigii*. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο *M. gelida* ήταν καλός υποψήφιος για ζυθοποίηση (De Fransesco *et al.*, 2018). Όσον αφορά την ασφάλεια της μαγιάς, οι συγγραφείς αναφέρουν την αδυναμία της ζύμης να αναπτυχθεί σε θερμοκρασία ανθρώπινου σώματος και ότι δεν παρατηρήθηκαν ανωμαλίες σε αρουραίους που τρέφονταν με μπίρα που παρήχθη χρησιμοποιώντας στέλεχη *Mrakia* (De Fransesco *et al.*, 2018; Thomas-Hall *et al.*, 2010).

Πίνακας 12.: Η επίδραση του τύπου ζύμης και της θερμοκρασίας ζύμωσης στη σύνθεση μύρας χωρίς αλκοόλ (Πηγή: Narziss et al., 1992).

Fermentation yeast	Bottom	Bottom	Bottom	Bottom	Top	Top
Temperature (°C)	0	4	8	12	8	12
Original gravity (wt.%)	11.4	7.5	7.5	7.5	7.4	7.4
Ethanol (wt.%)	0.27	0.37	0.37	0.42	0.32	0.27
Real extract (wt.%)	10.64	6.79	6.79	6.52	6.87	6.94
Attenuation (wt.%)	8	12	12	16	9	8
Fermentation time (h)	48	24	7/24*	7/24*	24	7/24*
pH	5.01	4.87	4.92	4.89	4.87	4.89
Bitterness (EBC)	25.4	17.5	17.7	17.4	17.7	17.8
DMS (lg/l)	30	22	30	32	35	45
Total diacetyl (mg/l)	0.06	0.09	0.08	0.14	0.51	0.35
Total HAA (mg/l)	2.2	6.8	6.7	8.6	15.8	14.2
Total EAA (mg/l)	0.55	0.69	0.60	0.84	0.90	0.90
Reduction of aldehydes (%)	85.8	77.6	80.2	83.0	88.2	77.5

\* Μετά από 7 ώρες στην αρχική θερμοκρασία, το γλεύκος ψύχθηκε στους 0°C μέχρι να ολοκληρωθούν οι 24 ώρες

## 5.4 ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΖΥΜΩΝ

Η χρήση ακινητοποιημένων ζυμών είναι μια άλλη τεχνολογία για την παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλ, αποφεύγοντας το σχηματισμό αιθανόλης. Αυτή η διαδικασία συνίσταται στη χρήση ζυμομυκήτων που συνδέονται με ένα υλικό φορέα, όπως DEAE-κυτταρίνη, αλγινικό ασβέστιο, πηκτικό ασβέστιο ή συντηγμένο γυαλί, (Muller, 2019) ή υποπροϊόντα της ζυθοποιίας και της γεωργίας όπως αναλωμένοι κόκκοι ή καλαμπόκι. Το υλικό φορέα και η μαγιά τοποθετούνται σε έναν αντιδραστήρα, όπου ρέει το ζυθογλεύκος. Η παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλη με περιορισμένη ζύμωση πραγματοποιείται βέλτιστα σε έναν αντιδραστήρα συσκευασμένης κλίνης. Η μύρα μπορεί να προκύψει από αυτήν τη ζύμωση ουσιαστικά καθαρή και χωρίς ζύμη. Η ακινητοποίηση ζυμών προκαλεί υψηλότερη βιομάζα ανά μονάδα του αντιδραστήρα σε όγκο, συνδυάζει μικρούς χρόνους επαφής μεταξύ ζύμης και ζυθογλεύκους, με τη μείωση των αρωματικών ουσιών σε συγκεντρώσεις κάτω από τις κατώφλι αντίληψης. Κατά τη χρήση βιοαντιδραστήρων υπάρχει ο σχηματισμός των αρωματικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν την μύρα, με καλή απόδοση, αλλά η διαδικασία είναι δύσκολο να ελεγχθεί, π.χ. ως προς τη θερμοκρασία και το ρυθμός ροής του ζυθογλεύκους (χρόνος



παραμονής) που επηρεάζει το βαθμό ζύμωσης και ως εκ τούτου την περιεκτικότητα σε αλκοόλη της μύρας, στην έξοδο του βιοαντιδραστήρα. Ο εξοπλισμός έχει υψηλό κόστος και κίνδυνο μικροβιολογικής μόλυνσης, απαιτώντας μεγαλύτερη προσοχή στη διήθηση, τη σταθεροποίηση και παστερίωση της παραγόμενης μύρας (Eßlinger, 2009). Ο σχηματισμός αιθανόλης είναι περιορισμένος, αλλά οι ζυμομύκητες εξακολουθούν να παράγουν ενώσεις γέυσης μύρας, μειώνοντας τις αλδεΐδες του γλεύκους στις ομόλογες αλκοόλες (Lommi *et al.*, 1997). Η διαδικασία μπορεί να γίνει είτε σε παρτίδες (batch) είτε με συνεχή ζύμωση (Sohrabvandi *et al.*, 2020).

Υπάρχουν διάφορα μοντέλα εξοπλισμού για ζύμωση με ακινητοποιημένη μαγιά, όπως βιοαντιδραστήρες δεξαμενής ανάδευσης, βιοαντιδραστήρες πύργου με ροή αέρα ή με ροή μεταξύ αέρα και προϊόντος.

Ένα νέο σκέλος των βιοαντιδραστήρων στην παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη θα μπορούσε να είναι η χρήση μικροβιολογικών κυψελών καυσίμου (microbial fuel cells-MFC) στη ζύμωση με την ταυτόχρονη παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας στη διαδικασία (Muller, 2019).

Πίνακας 13: Συγκεντρώσεις ζυμώσιμης ζάχαρης (g / 100 g) στο γλεύκος και σε μύρα χωρίς αλκοόλη, που παράγεται από ακινητοποιημένη μαγιά / CCP (πηγή Van Iersel *et al.*, 1995)

Sugars	In-flowing wort		Out-flowing wort		Change in concentration
Glucose	0.58	0.01	0.61	0.02	0.03
Fructose	0.10	0.10	0.25	0.01	0.15
Sucrose	0.40	0.02	0.16	0.01	0.24
Maltose	5.05	0.10	5.00	0.10	0.05
Maltotriose	0.92	0.03	0.92	0.02	0.00

## 5.5 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΖΥΜΩΣΗΣ

### 5.5.1 Μέθοδος ζύμωσης περιορισμένου αλκοόλ

Η παραγωγή μύρας με λίγη ή χωρίς αλκοόλη με χρήση περιορισμένης ή οριακής ή ατελούς ζύμωσης είναι ενδιαφέρουσα. Η περιορισμένη ζύμωση είναι μια μέθοδος κατά την οποία η παραγωγή αλκοόλ κατά τη διαδικασία παραγωγής μειώνεται στα πρώτα στάδια της ζύμωσης. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με τη χρήση ζύμης που μπορεί να ζυμώσει μερικώς μόνο το ζυθογλεύκος ή με καταστολή ή διακοπή της ζύμωσης (Dziondziak, 1989). Η μεθοδολογία περιορισμένης ζύμωσης συνίσταται στη χρήση ζυμομυκήτων υπό συνθήκες στις οποίες δεν είναι φυσιολογικά ικανές να παράγουν

αλκοολική ζύμωση, αλλά μπορούν να εκκρίνουν μεταβολίτες που βοηθούν να προσδώσουν γεύση μύρας στο διάλυμα (Caluwaerts, 1995). Το κύριο πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου σε σύγκριση με άλλες μεθόδους που περιγράφηκαν προηγουμένως είναι ότι αποφεύγεται το στάδιο της αφαίρεσης αλκοόλης και οι σχετικές δυσκολίες. Επίσης, οι προκύπτουσες μύρες είναι συνήθως οργανοληπτικώς πιο αποδεκτές από αυτές που λαμβάνονται με διαδικασίες αφαίρεσης αλκοόλης, ειδικά από άποψη γεύσης. Ωστόσο, αυτή η διαδικασία δεν είναι απολύτως ικανοποιητική από την οργανοληπτική άποψη, καθώς τα ποτά που λαμβάνονται είναι αρκετά διαφορετικά από μια κανονική μύρα και έχουν λίγο πολύ τη γεύση «τεχνητά αρωματισμένης μύρας» (Caluwaerts, 1995). Η περιορισμένη επεξεργασία ζύμωσης μπορεί να ταξινομηθεί σε δύο υποκατηγορίες, συγκεκριμένα, σε παρτίδες (batch) και σε συνεχείς ακινητοποιημένες διαδικασίες. Στη διαδικασία τύπου παρτίδας, τα κύτταρα του ζυμομύκητα βρίσκονται σε αιωρούμενη κατάσταση στο γλεύκος κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Σε αυτήν τη διαδικασία, είναι δύσκολο να διατηρηθούν οι παράμετροι της διαδικασίας όπως η θερμοκρασία και η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου ακριβώς στις επιθυμητές τιμές (σε ισορροπία). Ακόμη και μια μικρή απόκλιση από τις επιθυμητές τιμές μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό αλκοόλης σε υψηλότερο επίπεδο από το επιτρεπόμενο επίπεδο (π.χ. 0,05%) στο τελικό προϊόν (Lommi *et al.*, 1997). Στην παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλη, μία μέθοδος που επίσης εφαρμόζεται είναι η ακινητοποίηση κυττάρων ζυμών (Lommi *et al.*, 1997; Van-Iersel *et al.*, 1995). Ακινητοποίηση κυττάρων ζύμης σε μια επιφάνεια φορέα (όπως κόκκους με βάση την κυτταρίνη ή υδροκολλοειδή σφαιρίδια) έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τον κυτταρικό μεταβολισμό (μείωση του ρυθμού ανάπτυξης και αύξηση της περιεκτικότητας των οξέων στο μέσο) (Masschelein *et al.*, 1994; Shindo *et al.*, 1994). Η τεχνική ακινητοποίησης με το σύστημα μικροπορώδους πυροσυσσωματωμένου γυαλιού έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλ. Αυτή η μέθοδος παρέχει τα πλεονεκτήματα της υψηλής δυνατότητας ελέγχου, της ευελιξίας, και υψηλή συγκέντρωση βιομάζας και επιτρέπει μικρούς χρόνους επαφής σε σύγκριση με τη μέθοδο παρτίδας (Masschelein *et al.*, 1994; Norton *et al.*, 1994; Pilkington *et al.*, 1998; Van-Iersel *et al.*, 2000). Ως εναλλακτική διαδικασία σε αυτήν την πρακτική, πρώτον, η μύρα με ορισμένη ποσότητα αλκοόλ παράγεται σε σύντομο χρονικό διάστημα. Στη συνέχεια, μετά από 2-4 ώρες ωρίμανσης της γεύσης, η αραίωση της μύρας πραγματοποιείται με ψυχρό ανθρακούχο νερό για να επιτευχθεί η επιθυμητή περιεκτικότητα σε αλκοόλ (π.χ., κάτω από 0,5% ή ακόμη και 0,05%, ο/ο) (Van-Iersel *et*

*al.*, 2000). Lommi *et al.*, 1997 εφηύρε μια αποτελεσματική βιομηχανική μέθοδο στην οποία η επεξεργασία ζύμης πραγματοποιείται σε χαμηλή θερμοκρασία με συνεχή διαδικασία μέσω ενός αντιδραστήρα στήλης που περιέχει ακινητοποιημένη μαγιά συνδεδεμένη στην επιφάνεια ενός πορώδους φορέα. Αυτό παρέχει μέγιστη επιφάνεια για την ακινητοποίηση των κυττάρων ζύμης. Ο φορέας αποτελείται από μια συνεχή πορώδη μήτρα (μικροΐνες) ή δικτυωτά πορώδη σωματίδια (μικροσωματίδια). Οι αντιδραστήρες στήλης προτιμώνται να έχουν λόγο ύψους προς διάμετρο τουλάχιστον περίπου 1,25, με τη θερμοκρασία επεξεργασίας ζύμης να κυμαίνεται μεταξύ 0,5 και 3°C. Η περιεκτικότητα σε αλκοόλη εξαρτάται όχι μόνο από τη θερμοκρασία, αλλά και από τον ρυθμό με τον οποίο ο μύκητας διέρχεται μέσω του αντιδραστήρα και επίσης από τον αριθμό των κυττάρων ζύμης (Lommi *et al.*, 1997).

### **5.5.2 Διεργασία ψυχρής επαφής (Cold Contact Process )**

Το 1983, ο Schur, 1983 πρότεινε μια διεργασία παραμονής των ζυμών σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες «Cold Contact Process-CCP» που συνδυάζει μεγάλο χρόνο ζύμωσης με χαμηλή θερμοκρασία περιορίζοντας έτσι τη ζύμωση. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, οι υψηλές θερμοκρασίες (15–20°C) συνδυάζονται μερικές φορές με μικρούς χρόνους ζύμωσης (0,5-8 ώρες). Ωστόσο, χρησιμοποιούνται κυρίως χαμηλές θερμοκρασίες (0–5°C), συχνά σε συνδυασμό με μεγαλύτερους χρόνους ζύμωσης (έως 24 ώρες) (Huige *et al.*, 1990). Υπό αυτές τις συνθήκες δεν παράγεται αιθανόλη, αλλά η ζύμη εμφανίζει μέτριο μεταβολισμό, όπως η παραγωγή εστέρων και ανώτερων αλκοολών (fusel alcohol) ή μείωσης καρβονυλικών ενώσεων. Κατά τη διάρκεια του «CCP», οι μύρες χωρίς αλκοόλ παράγονται ξεκινώντας από ένα φυσιολογικό γλεύκος που ψύχεται στους 0-1°C πριν από τον εμβολιασμό. Στις περισσότερες περιπτώσεις, χρησιμοποιείται υψηλή συγκέντρωση κυττάρων ζύμης ( $10^8$  κύτταρα/ml), έτσι ένα παχύρρευστο εναιώρημα ζύμης αναμιγνύεται με γλεύκος υψηλής πυκνότητας (HG wort). Ένα μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι ο πολτός ζύμης που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό μπορεί να έχει σχετικά υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης (6,5% v/v) (Schur and Sauer, 1990). Ο πρωτογενής μεταβολισμός είναι αργός υπό αυτές τις συνθήκες, αν και μπορούν να πραγματοποιηθούν πολλές βιοχημικές αντιδράσεις. Οι καρβονυλικές ενώσεις, που υποπτεύονται ότι προσδίδουν το άρωμα γλεύκους (worty flavor), μειώνονται εν μέρει, ενώ συντίθενται μερικοί εστέρες. Το pH δεν είναι τόσο χαμηλό όσο συνήθως, οπότε το γλεύκος πρέπει να οξυνιστεί είτε

χημικά είτε από ακινητοποιημένα γαλακτικά βακτήρια (Perpete and Collin, 1999). Η «CCP» εφαρμόζεται επί του παρόντος με δύο τρόπους:

### **1. Ελεύθερη μαγιά**

Στη «CCP» με ελεύθερη μαγιά, γλεύκος με χαμηλή συγκέντρωση ζυμώσιμων σακχάρων απαερώνεται (stripping) σε χαμηλή θερμοκρασία και υπό πίεση με CO<sub>2</sub> ή N<sub>2</sub> για την απομάκρυνση των ενώσεων θείου που δεν εξατμίστηκαν κατά το βρασμό του γλεύκους. Γενικά, οι ζύμες τις εξαλείφουν κατά τη διάρκεια της κανονικής ζύμωσης, αλλά στη CCP ο μεταβολισμός των ζύμων είναι περιορισμένος. Η χρήση CO<sub>2</sub> αντί του N<sub>2</sub> είναι προτιμότερη επειδή το CO<sub>2</sub> υπάρχει στην τελική μπύρα σε συγκέντρωση 5-6 g / L. Το CO<sub>2</sub> αποτρέπει την αυθόρμητη ζύμωση. Αυτή η τεχνική χαρακτηρίζεται από χρόνο επαφής 50-100 ώρες και απαέρωση με CO<sub>2</sub> σε θερμοκρασία 0°C. Η απαέρωση βελτιώνει την επαφή της ζύμης με το γλεύκος λόγω των μετακινήσεων. Χρησιμοποιώντας μια διαδικασία με γλεύκος πολύ υψηλής πυκνότητας (Super high gravity – SHG), με αυτή τη μέθοδος παράγει μπύρα με λιγότερο από 0,1% αλκοόλ κατ'όγκο. Είναι μια οικονομική μέθοδος αλλά απαιτεί σημαντικό αναλυτικό έλεγχο, καθώς η παραγωγή ζύμης και αλκοόλ πρέπει να ελέγχεται κάθε 8 ώρες.

### **2. Ακινητοποιημένη μαγιά**

CCP με ακινητοποιημένη μαγιά. Η CCP εφαρμόζεται σε γλεύκη χαμηλής πυκνότητας σε ακινητοποιημένους αντιδραστήρες ζύμης. Η ζύμωση με ακινητοποιημένες ζύμες είναι μια απλή λειτουργία, αλλά είναι δύσκολο να ελεγχθεί κατά την παραγωγή μπύρας χωρίς αλκοόλ. Η χρήση ακινητοποιημένης ζύμης παρουσιάζει επί του παρόντος μεγάλο ενδιαφέρον για τους ζυθοποιούς. Η ζύμωση διαρκεί πολύ μικρό χρονικό διάστημα, αλλά η μαγιά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ένας αποφασιστικός παράγοντας είναι η ακινητοποίηση της μαγιάς σε ένα μακροπορώδες υλικό/φορέα (Kunze, 2004). Γενικά, μπορούν να διακριθούν τέσσερις κατηγορίες τεχνικής ακινητοποίησης, βάσει του φυσικού μηχανισμού εντοπισμού κυττάρων και της φύσης των μηχανισμών υποστήριξης (Karel *et al.*, 1985; Verbelen *et al.*, 2006):

1. *Προσαρμογή σε μια επιφάνεια*: Τα κύτταρα ζύμης αφήνονται να προσκολληθούν σε ένα στερεό υπόστρωμα. Χρησιμοποιούνται πολλά διαφορετικά υλικά φορέα. Η κυτταρική σύνδεση στον φορέα μπορεί να προκληθεί χρησιμοποιώντας συνδετικούς παράγοντες (όπως μεταλλικά οξείδια, γλουταραλδεΐδη ή αμιλοσιλάνια).

2. *Παγίδευση σε πορώδη μήτρα*: Υπάρχουν δύο μέθοδοι παγίδευσης. Στο πρώτο, τα κύτταρα αφήνονται να διαχέονται σε μια προ-σχηματισμένη πορώδη μήτρα. Αφού αρχίσουν να αναπτύσσονται τα κύτταρα, η κινητικότητά τους παρεμποδίζεται από την παρουσία άλλων κυττάρων και από τη μήτρα και παγιδεύονται (Baron and Willaert, 2004). Στη δεύτερη, η πορώδης μήτρα συντίθεται *in situ* γύρω από τα κύτταρα. Χρησιμοποιούνται φυσικά και συνθετικά πολυμερή υδροπηκτώματα (υδροτζέλ) όπως Ca-αλγινικό (Ca-alginate), k-καρραγενάνη (*k*-carrageenan), άγαρ, πολυουρεθάνη, πολυστυρένιο και πολυβινυλική αλκοόλη. Μπορεί να εφαρμοστεί και διπλή ακινητοποίηση για τον περιορισμό των ελεύθερων κυττάρων.

3. *Περιορισμός πίσω από ένα φράγμα*: Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε χρησιμοποιώντας φίλτρα μικροπορώδους μεμβράνης, είτε εγκλωβίζοντας κύτταρα σε μικροκάψουλες. Αυτός ο τύπος ακινητοποίησης είναι πιο κατάλληλος (όπως και η διπλή ακινητοποίηση) όταν απαιτείται προϊόν χωρίς κύτταρα ή όταν προϊόντα υψηλού μοριακού βάρους πρέπει να διαχωριστούν από τα λύματα.

4. *Αυτοσυσσωμάτωση*: Η κροκίδωση ζύμης είναι μια αναστρέψιμη, ασεξουαλική και εξαρτώμενη από ασβέστιο διαδικασία στην οποία τα κύτταρα προσκολλώνται για να σχηματίσουν συσσωματώματα που αποτελούνται από χιλιάδες κύτταρα (Bony *et al.*, 1997). Λόγω του μακροσκοπικού μεγέθους και της μάζας τους, τα κύτταρα ζυμομύκητα απομακρύνονται γρήγορα από το μέσο ζύμωσης, έτσι τα κύτταρα ακινητοποιούνται φυσικά. Η χρήση ζύμης κροκίδωσης είναι απλή και φθηνή, αλλά εξαρτάται και από το στέλεχος.

Οι φορείς ακινητοποίησης πρέπει να είναι αδρανείς, φθινοί, σταθεροί, επαναχρησιμοποιήσιμοι και συνήθως μη τοξικοί και να υποστηρίζουν υψηλή συγκέντρωση κυττάρων ζύμης. Κατά την παρασκευή, οι φορείς είναι συνήθως αλγινικό ασβέστιο, σφαιρίδια καρραγενάνης για παγίδευση γέλης, κυτταρίνη DEAE ως αδρανές στήριγμα και πυροσυσσωματωμένο γυαλί για παγίδευση σε έναν προσχηματισμένο φορέα. Αναφέρονται άλλες τεχνικές, όπως ομοιοπολική σύνδεση και συσσωμάτωση κυττάρων, αλλά δεν εφαρμόζονται. Η προσκόλληση κυττάρων ζύμης σε κατάλληλα υλικά φορέα επιτρέπει μια ελεγχόμενη χρήση του ενζυμικού δυναμικού της ζύμης, ειδικά κατά τη διάρκεια των εκθετικών και στατικών φάσεων της ζύμωσης, και κατά συνέπεια του σχηματισμού και της απομάκρυνσης των υποπροϊόντων ζύμωσης. Επί του παρόντος, μόνο η ωρίμανση μύρας και η παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλη πραγματοποιούνται σε αντιδραστήρες ακινητοποιημένης ζύμης σε εμπορική κλίμακα. Ο κύριος στόχος κατά τη ζύμωση της μύρας χωρίς αλκοόλ είναι η μείωση των

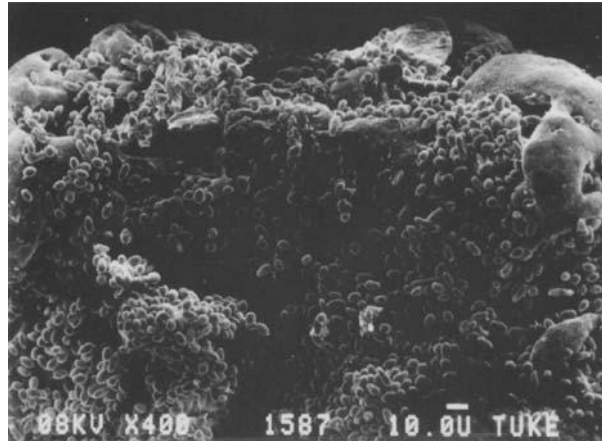
καρβονυλικών ενώσεων από την μαγιά, χωρίς το σχηματισμό αλκοόλ. Παραδοσιακά, η μύρα χωρίς αλκοόλ έχει παραχθεί με τη διακοπή της ζύμωσης. Διατηρώντας τη ζύμη σε βέλτιστη σταθερή κατάσταση σε χαμηλή θερμοκρασία, η οποία οδηγεί σε μια πιο ολοκληρωμένη μείωση των καρβονυλικών ενώσεων του γλεύκους με ελάχιστο σχηματισμό αλκοόλ (Verbelen *et al.*, 2006). Στη συνεχή παραγωγή μη αλκοολούχου μύρας με ακινητοποιημένη μαγιά σε χαμηλή θερμοκρασία, τρεις πτυχές είναι σημαντικές:

1. Ο φορέας Cultor, ένα κοκκώδες υλικό με βάση την DEAE-κυτταρίνη, χρησιμοποιείται σε έναν αντιδραστήρα συσκευασμένης κλίνης, (packed bed reactor) ο οποίος λειτουργεί υπό ροή προς τα κάτω. Τα κύτταρα ζύμης συνδέονται με την τραχιά επιφάνεια σε μια μονή στιβάδα και τα κύτταρα δεν υπόκεινται σε λιμοκτονία από περιορισμό υποστρώματος. Συσκευάζοντας τα σωματίδια φορέα σε έναν αντιδραστήρα κλίνης, και λειτουργώντας κάτω προς τα κάτω, επιτυγχάνεται ένα ευέλικτο και εύκολα ελεγχόμενο σύστημα

2. Χρησιμοποιείται χαμηλή θερμοκρασία (2–4°C). Η ανάπτυξη ζύμης, η οποία θα μπορούσε να φράξει τον αντιδραστήρα μετά από μεγάλες περιόδους παραγωγής, καταστέλλεται και ο μεταβολισμός είναι περιορισμένος. Ωστόσο, η μετατροπή υποστρώματος και ο σχηματισμός προϊόντος εξακολουθούν να επαρκούν. Λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας, η βιωσιμότητα παραμένει υψηλή για μεγάλα χρονικά διαστήματα.

3. Διατηρούνται αναερόβιες συνθήκες, οι οποίες καταστέλλουν την ανάπτυξη της ζύμης και εμποδίζουν την οξείδωση των λιπιδίων του γλεύκους που δίνουν ελλατωματικό χαρακτήρα καρβονυλικών ενώσεων.

Οι συνδυασμένοι παράγοντες πίεσης καταστέλλουν έτσι την ανάπτυξη ζύμης και το μεταβολισμό του σακχάρου και μειώνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης επιμολυντικών ουσιών στον αντιδραστήρα. Σε αυτό το σύστημα, η μαγιά εργάζεται για να σχηματίσει αποικία στο υλικό του φορέα. Ο ρυθμός ανάπτυξης του βιοαντιδραστήρα εξαρτάται από τη θερμοκρασία (Εικ.8). Ο *S. cerevisiae* αναπτύχθηκε σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, με ρυθμούς ανάπτυξης 0,007 και 0,022 h<sup>-1</sup> στους 2°C και 4°C, αντίστοιχα, σε δύο παρτίδες.



Εικόνα 8: Scanning-electron micrograph of yeast cells immobilized on a carrier particle. Bar represents  $10 \mu\text{m}^{-1}$ . In the yeast immobilized system, the yeast forms a colony on the carrier material. The growth rate in the bioreactor depends on the temperature. *Source: Van Iersel et al. (1995).*

Σε έναν βιοαντιδραστήρα, οι Van Iersel *et al.* (1995) υπολόγισαν ρυθμό ανάπτυξης  $0,012 \text{ h}^{-1}$ , σε συμφωνία με τους ρυθμούς που καθορίστηκαν στις προαναφερθέντες καλλιέργειες παρτίδων. Η θερμοκρασία και η τετραγωνική ρίζα (square root) του ρυθμού ανάπτυξης σχετίζονται γραμμικά. Στον αντιδραστήρα, συνδυασμένοι παράγοντες που επιδρούν στα κύτταρα, όπως χαμηλή θερμοκρασία ( $2\text{--}4^\circ\text{C}$ ) και αναερόβιες συνθήκες, περιορίζουν τον μεταβολισμό των κυττάρων. Η ανάπτυξη σε χαμηλές θερμοκρασίες απαιτεί αλλαγές στη φυσιολογία των κυττάρων. Η αναστολή των διαδικασιών μεταφοράς μπορεί να είναι υπεύθυνη για την απουσία ανάπτυξης. Τα κύτταρα ζύμης μεταβολίζουν τη γλυκόζη και μειώνουν πολλά συστατικά του γλεύκους σε αλκοόλες και εστέρες. Ξεκινώντας από ένα γλεύκος  $12^\circ\text{P}$  που περιείχε περίπου  $7,05 \text{ g}/100 \text{ g}$  ζυμώσιμο εκχύλισμα και λειτουργεί σε θερμοκρασία  $3^\circ\text{C}$  με ρυθμό ροής  $1 \text{ m}^3/\text{h}$ , ελήφθη μια μη αλκοολούχα μπίρα με περίπου την ίδια ποσότητα σακχάρων και συγκέντρωση αιθανόλης μικρότερη από  $0,1\%$  (v/v) (Πίνακας 14).

Ο *S. cerevisiae* καταναλώνει τη γλυκόζη περισσότερο από τα άλλα σάκχαρα. Αυτή η μαγιά χρησιμοποιεί ινβερτάση για να υδρολύσει τη σακχαρόζη σε ένα μείγμα γλυκόζης και φρουκτόζης. Λόγω της παρουσίας της γλυκόζης, παρεμποδίζονται τα συστήματα μεταφοράς μαλτόζης και μαλτροτριόζης, έτσι αυτά τα σάκχαρα δεν μεταβολίζονται. Σε χαμηλή θερμοκρασία, η ρύθμιση του μεταβολισμού σακχάρων φαίνεται ότι επικεντρώνεται γύρω από τη γλυκόζη που μεταβολίζεται κατά προτίμηση. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης με ακινητοποιημένη μαγιά σε χαμηλή θερμοκρασία υπό αναερόβιες συνθήκες, τα κύτταρα ζυμομύκητα μειώνουν τις ουσίες με άρωμα γλεύκους και παράγουν ουσίες με γεύση μπίρας. Οι κύριες off flavor αρωματικές ουσίες του

γλεύκοις δίδονται από αλδεΐδες, όπως 2- και 3- μεθυλβουτανάλη, εξανάλη και επτανάλη που ανάγονται στις αντίστοιχες αλκοόλες. Επιπλέον, οι αλδεΐδες, που σχηματίζονται ως ενδιάμεσα στον κυτταρικό μεταβολισμό, ανάγονται σε ανώτερες αλκοόλες (π.χ. 1-προπανόλη, ισοβουτανόλη και ισοαμυλική αλκοόλη). Οι αλδεΐδες μειώνονται με αλκοολική αφυδρογονάση (ADH). Αρκετές ADH υπάρχουν στη ζύμη, οι περισσότερες από τις οποίες εξαρτώνται από το συνένζυμο δινουκλεοτίδιο αδερίνης νικοτιναμίδιου (NAD). Το *ADH1* είναι το κύριο ζυμωτικό ένζυμο και η λειτουργία του είναι απαραίτητη υπό αναερόβια κατάσταση. Το *ADH2* καταστέλλεται από την γλυκόζη, αλλά όταν τα κύτταρα αναπτύσσονται σε αιθανόλη, είναι το κύριο ένζυμο που οξειδώνει την αιθανόλη σε ακεταλδεΐδη. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, αυτό το ένζυμο χρησιμοποιεί πρωτίστως NADPH. Επιπλέον, η ειδική δραστηριότητα φωσφορικού NAD (NADP) αυξήθηκε ελαφρά κατά τη διάρκεια της παραγωγή μύρας χωρίς αλκοόλ. Συνολικά, η ειδική δραστηριότητα NADP ήταν 3-5 φορές υψηλότερη στα ακινητοποιημένα κύτταρα σε σύγκριση με τα εναιωρημένα κύτταρα υπό αναερόβιες συνθήκες (Van Iersel *et al.*, 2000). Το ζυθοποιείο Bavaria (Ολλανδία) χρησιμοποιεί έναν αδρανοποιημένο βιοαντιδραστήρα ζύμης ακινητοποιημένης κλίνης με ικανότητα παραγωγής 150.000 hl μύρας χωρίς αλκοόλ ετησίως (Van Dieren, 1995), και σύμφωνα με πληροφορίες της εταιρείας, ο βιοαντιδραστήρας λειτουργεί για μήνες χωρίς προβλήματα χωρίς να σχηματίζεται βιομάζα. Περαιτέρω πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου θεωρούνται (Montanari *et al.*, 2009):

- η καλύτερη χρήση πρώτων υλών; παραγωγή μύρας
- καμία απώλεια;
- κανένα περιβαλλοντικό πρόβλημα;
- πολύ γρήγορη φάση εκκίνησης.

Πίνακας 14: Συγκεντρώσεις ζυμώσιμης ζάχαρης (g / 100 g) στο γλεύκος και σε μη αλκοολούχα μύρα, που παράγεται από ακινητοποιημένη μαγιά / CCP (πηγή Van Iersel *et al.*, 1995).

<i>Sugars</i>	<i>In-flowing wort</i>		<i>Out-flowing wort</i>		<i>Change in concentration</i>
Glucose	0.58	0.01	0.61	0.02	0.03
Fructose	0.10	0.10	0.25	0.01	0.15
Sucrose	0.40	0.02	0.16	0.01	0.24
Maltose	5.05	0.10	5.00	0.10	0.05
Maltotriose	0.92	0.03	0.92	0.02	0.00



### **5.5.3 Μείωση των ζυμώσιμων κλασμάτων σε μη ζυμώσιμα κλάσματα**

Μία μέθοδος για την παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη είναι να μειωθεί ο λόγος του «ζυμώσιμου εκχυλίσματος προς το μη ζυμώσιμο εκχυλίσμα» στο ζυθογλεύκος, με τρόπο που η ζύμωση να περιορίζεται σε τέτοιο επίπεδο ώστε να παράγει μόνο την επιθυμητή ποσότητα αλκοόλης. (Zurcher και Gruss, 1991) Η ενσωμάτωση συμπληρωματικών κόκκων δημητριακών όπως ο αραβόσιτος ή το ρύζι με τη βύνη κριθαριού είναι μια προσέγγιση για τη μείωση αυτής της αναλογίας. Ο συντελεστής του «ζυμώσιμου εκχυλίσματος προς το μη ζυμώσιμο εκχύλισμα» αντιπροσωπεύει το ζυμώσιμο τμήμα υδατανθράκων του γλεύκους. Όταν αυτή η τιμή είναι χαμηλή, η αλκοολική ζύμωση περιορίζεται στην ποσότητα σακχάρου που υπάρχει στο γλεύκος. Επομένως, η συγκέντρωση σακχάρου στην σύνθεση του αρχικού βυνογλεύκους, πρέπει να προσαρμόζεται κατά τρόπο ώστε να μην παραμένει σημαντικό υπόλειμμα σακχάρου μετά την περιορισμένη περίοδο ζύμωσης. Η παρουσία επιπλέον αζύμων σακχάρων στο ζυθογλεύκος, δίνει μια δυσάρεστη γλυκύτητα στην μύρα, και επιπλέον αυξάνει τον κίνδυνο μικροβιακής μόλυνσης (Middlekauff, 1994).

### **5.5.4 Θέρμανση του εμβολιασμένου ζυθογλεύκους**

Η επαρκής θέρμανση του εμβολιασμένου ζυθογλεύκους, στο στάδιο που έχουν παραχθεί χαμηλές ποσότητες αλκοόλης, μαζί με το επιθυμητό αρωματικό προφίλ στη μύρα, θα οδηγήσει στην απενεργοποίηση των κυττάρων ζύμης και ως αποτέλεσμα την αναστολή της αλκοολικής ζύμωσης. (Huige *et.al.*, 1990). Ωστόσο, αυτή η διαδικασία δεν χρησιμοποιείται συνήθως λόγω πιθανών ανεπιθύμητων αλλαγών στην μύρα.

### **5.5.5 Πίεση κατά τη ζύμωση**

Στα αρχικά στάδια της ζύμωσης, όταν παράγονται οι επιθυμητές ποσότητες αλκοόλης και αρωματικών ενώσεων, η υδροστατική πίεση του ζυθογλεύκους (σε πιέσεις περίπου 300-500 MPa) (Barbosa-Canoyonas και Pothakamury, 1997) θα μπορούσε να αυξηθεί έως την έκταση που η ανάπτυξη των κυττάρων περιορίζεται ή σταμάτα. Η συμπίεση μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας ουδέτερα αέρια όπως διοξείδιο του άνθρακα. Για τη βελτίωση της απόδοσης, αυτή η διαδικασία πρέπει να εκτελείται σε χαμηλές θερμοκρασίες. (Michaels *et.al.*, 1998).

## 5.6 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η παραγωγή craft βιοτεχνικής μύρας, χωρίς αλκοόλ ή μύρας χαμηλού αλκοολικού βαθμού, με βιολογικές μεθόδους, είναι ευάλωτη σε μικροβιακές μολύνσεις (Muller *et al.*, 1990). Αυτό συμβαίνει λόγω περιορισμένης δραστηριότητας των ζυμών, στον μεταβολισμό των σακχάρων του ζυθογλεύκου και της υψηλής περιεκτικότητας στην μύρα υπολειμματικού εκχειλίσματος (αζύμωτα σάκχαρα).

Η μικροβιακή σταθεροποίηση της μύρας είναι ζωτικής σημασίας για τη διάρκεια ζωής της και καθώς οι μύρες εξάγονται σε όλο τον κόσμο. Ένα από τα βασικά ζητήματα κατά την επιλογή μιας μεθόδου σταθεροποίησης για τις εργασίες μιας ζυθοποιίας είναι πώς θα μπορούσε να επηρεαστεί το προφίλ γεύσης του τελικού προϊόντος. Δεν έχει νόημα ένα τελικό προϊόν μύρας να έχει παρατεταμένη διάρκεια ζωής, εάν το άρωμα και η γεύση του τελικού προϊόντος διακυβεύονται σε μεγάλο βαθμό με τη μέθοδο σταθεροποίησης.

Και με τη συνεχιζόμενη ανάπτυξη από την αγορά μύρας βιοτεχνίας (craft) (καθοδηγούμενη από καταναλωτές που δίνουν μεγαλύτερη έμφαση στην ποιότητα και όχι στην ποσότητα) οι ζυθοποιοί πρέπει να έχουν την εμπιστοσύνη ότι η δυνητικά βραβευμένη νέα μύρα τους, στην οποία έχουν επενδύσει τόσο πολύ χρόνο και γνωρίζουν πώς είναι, εξακολουθεί να έχει τον παράγοντα “wow” όταν καταναλώνεται στις παμπ, στα φεστιβάλ ale και στα ράφια των σούπερ μάρκετ.



Εικόνα 9: Σύστημα αποστειρωτικής διήθησης (Parker BEVPOR BR, 2021)

Ενώ οι περισσότερες τεχνικές σταθεροποίησης θα επηρεάσουν τα χαρακτηριστικά με κάποιο τρόπο, η σωστή επιλογή διαδικασίας και υλικών μπορεί να βοηθήσει στην προστασία των μοναδικών χαρακτηριστικών μιας μύρας. Η παστερίωση υπήρξε εδώ και πολύ καιρό μια μέθοδος σταθεροποίησης της διάρκειας ζωής της μύρας, ωστόσο, νεότερες τεχνικές όπως η αποστειρωμένη διήθηση μπορούν να βελτιώσουν σημαντικά τη συνολική ποιότητα της τελικής μύρας, αλλά δεν μπορούν να εξασφαλίσουν την πλήρη απουσία κυττάρων και την σταθερότητα, ειδικά σε αυτές τις μύρες με αυξημένη συγκέντρωση ζυμώσιμων σακχάρων.

Ενώ η κλασική παστερίωση χρησιμοποιούσε τη θέρμανση, π.χ. στους 60°C για 15 λεπτά, (ανάλογα με τις προδιαγραφές του προϊόντος), η παστερίωση φλας διεξάγεται π.χ. στους 72°C για 30 δευτερόλεπτα με τα ίδια σχεδόν αποτελέσματα (15 PU). Η παστερίωση σήραγγας επιτρέπει επίσης η διαδικασία να γίνει σε μικρότερο χρόνο από την κλασική, αν και στους 70°C και παραμένοντας σε υψηλές θερμοκρασίες για περισσότερο χρόνο από την φλας, εξασφαλίζοντας όμως καλύτερη προστασία μιας και γίνεται στο εμφιαλωμένο προϊόν και άρα χωρίς κίνδυνο επιμόλυνσης στη γραμμή εμφιάλωσης, όπως η φλας. Τα παραπάνω είναι μια εξέλιξη σε μια προσπάθεια προστασίας της μύρας από υπερβολική παστερίωση και διατήρησης των σύνθετων μοριακών ενώσεων που αποτελούν τα μοναδικά χαρακτηριστικά της μύρας.

Ακόμη και με την εξέλιξη της παστερίωσης, εξακολουθεί να υπάρχει ο κίνδυνος υποβάθμισης των μοναδικών χαρακτηριστικών της μύρας (ανεξάρτητα από το πόσο ακριβής είναι ο έλεγχος της διαδικασίας) αν και η επίδραση της παστερίωσης στην ποιότητα σε σχέση με την αύξηση του χρόνου διατήρησης της μύρας είναι ευρέως αποδεκτή. Η τελική σταθεροποίηση της μύρας με μικροδιήθηση έχει κοινώς αναγνωριστεί ως μια πιο ήπια μέθοδος σταθεροποίησης, δημιουργώντας μια καθαρότερη, πιο φρέσκια, πιο φυσική γεύση σε σύγκριση με την παστερίωση. (Parker BEVPOR BR, 2021), αλλά δεν εξασφαλίζει πλήρως το προϊόν από μικροβιολογικής απόψης. Σε μια πρόσφατη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από ένα μεγάλο ζυθοποιείο στο Ηνωμένο Βασίλειο, οι επιδράσεις στη γεύση της παστερίωσης φλας συγκρίθηκαν με την ψυχρή σταθεροποίηση με φίλτρα του Parker BEVPOR BR. Σε αυτήν τη μελέτη, η ίδια παρτίδα μύρας κανονικής σύστασης σε αλκοόλη χωρίστηκε, όπου μερικές στάλθηκαν για εμφιάλωση μέσω παστερίωσης φλας και μερικές στάλθηκαν για εμφιάλωση μέσω ψυχρής σταθεροποίησης. Η εμφιαλωμένη μύρα στη συνέχεια συγκρίθηκε σε δοκιμές τριγωνικής δοκιμή γεύσης, όπου η αποστειρωμένη

φιλτραρισμένη μύρα αναγνωρίστηκε ότι είχε την πιο ελκυστική γεύση και μεγαλύτερη διάρκεια ζωής.

### **Απώλειες μύρας**

Οι απώλειες της μύρας σε ένα craft ζυθοποιείο είναι πάντα σημαντικές είτε πρόκειται για κανονικό ζύθο, είτε ζύθο χωρίς αλκοόλη. Εκτός από την καταστροφή του προφίλ γεύσης, η παστερίωση flash μπορεί επίσης να συμβάλει σε σημαντικές απώλειες στον τελικό όγκο μύρας. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παστερίωσης, εάν εμφανιστούν αλλαγές στη θερμότητα, την πίεση ή τον ρυθμό ροής, η μύρα συνήθως απορρίπτεται για αποστράγγιση έως ότου επιλυθεί το πρόβλημα. Εάν προκύψουν αυτά τα προβλήματα, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι μια τεράστια απώλεια προϊόντος. Αυτό είναι πρόβλημα για ένα μικροζυθοποιείο. Η αποστειρωτική διήθηση δεν εξαρτάται από τέτοιους περιορισμούς, επομένως δεν πάσχει από την ίδια σπατάλη. Από την άλλη πλευρά η κακή εφαρμογή της, όπως συμβαίνει συνήθως σε μικροζυθοποιεία (κακή απολάσπωση ζύθου και παρουσία σωματιδίων) οδηγεί συχνά σε βούλωμα των φίλτρων και τη διακοπή του φιλτραρίσματος, με αποτέλεσμα την σημαντική αύξηση της φύρας, του χρόνου επεξεργασίας με κίνδυνο επιμόλυνσης, και του κόστους αλλαγής των φίλτρων/μεμβρανών.

### **Αποστειρωτική διήθηση**

Αποστειρωτική διήθηση είναι μια μορφή φιλτραρίσματος αρκετά λεπτή για την απομάκρυνση των οργανισμών αλλοίωσης. Για την μύρα, η «αποστειρωτική διήθηση» θεωρείται ότι μειώνει τους οργανισμούς αλλοίωσης ζύμης και μύρας σε εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα, έτσι ώστε το συσκευασμένο προϊόν να διαρκεί για την προβλεπόμενη διάρκεια ζωής του, το οποίο μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την επωνυμία, την περιοχή ή την αγορά. Η αποστειρωμένη διήθηση δεν υπόσχεται όμως την πλήρη απουσία μικροοργανισμών και γενικά περιγράφει τη μείωση των οργανισμών χωρίς τη θερμική επεξεργασία της μύρας όπως χρησιμοποιείται στη σήραγγα ή στην παστερίωση φλας. Μια τυπική τιμή εργαστηριακής διασφάλισης ποιότητας για αποστειρωμένη μύρα θα είναι μικρότερη από 1 κύταρο ανά 100 ml μύρας (1 cell per 100 ml of beer).

Η αποστειρωτική διήθηση μπορεί να επιτευχθεί με διαφορετικούς τρόπους. Μπορεί να πραγματοποιηθεί σε διαδοχικές διηθήσεις βάθους χρησιμοποιώντας φίλτρα kieselguhr, με φιλτράρισμα βάθους μέσω μιας μόνο διέλευσης σε ένα επόμενο φίλτρο φύλλων ή με απόλυτη διήθηση σε ένα φίλτρο φυσιγγίου/μεμβράνης, για την απομάκρυνση

ζυμομυκήτων και άλλων οργανισμών αλλοίωσης. Κανονικά, οποιαδήποτε βαθμολογία πόρων σε φίλτρο με 0,45 μm ή λιγότερο θα αποδώσει αποστειρωμένη μύρα.

Οι υποστηρικτές της αποστειρωτικής διήθησης ισχυρίζονται ότι διατηρεί τα μοναδικά και επιθυμητά χαρακτηριστικά της πιο αποτελεσματικά από ότι η μύρα που σταθεροποιείται μέσω παστερίωσης flash, (η διαδικασία της παστερίωσης έχει υψηλότερο κόστος λόγω του αυξημένου κόστους εξοπλισμού και λειτουργίας). Άλλοι ζυθοποιοί, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που παρασκευάζουν πιο γευστικές μύρες, πιστεύουν ότι η αποστειρωτική διήθηση μπορεί να αφαιρέσει το σώμα, το άρωμα και το χρώμα από την μύρα και επομένως θέλουν να προσεγγίσουν προσεκτικά αυτές τις τεχνολογίες. Ανεξάρτητα των παραπάνω, η αποστειρωτική διήθηση δεν μπορεί να θεωρηθεί ως αντικατάσταση των κακών πρακτικών παρασκευής και λειτουργεί μόνο ως το τελευταίο βήμα σε μια καλά οργανωμένη διαδικασία παρασκευής με προσοχή στη σωστή καθαριότητα και σωστή συντήρηση. [European Brewery Convention. “Cold sterilisation.” In Manual of good practice, beer filtration, stabilisation, and sterilisation, 117–44. Nürnberg, Germany: Fabi and Reichardt Druck, 1999. A.Fratianni]. Η επιτυχία της υποβοηθάτε από τους παράγοντες που εμποδίζουν την ανάπτυξη κυττάρων μικροοργανισμών στη μύρα (υψηλή αλκοόλη, χαμηλό pH, υψηλή συγκέντρωση ουσιών του λυκίσκου, έλειψη σακχάρων και θρεπτικών ουσιών, παρουσία αντιμικροβιακών ουσιών, κλπ).

Στην περίπτωση μύρας με χαμηλό ή χωρίς αλκοόλ, η οποία περιέχει αζύμωτα σάκχαρα, η αποστειρωτική διήθηση δεν μπορεί να εγγυηθεί την πλήρη απουσία μικροοργανισμών στο συσκευασμένο προϊόν και κατά συνέπεια τη μικροβιακή σταθερότητα του προϊόντος, ειδικά όταν αυτό διατηρείται σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος και όχι σε ψυγείο (με διατήρηση ψυκτικής αλυσίδας).

Για τους υποστηρικτές της αποστειρωτικής διήθησης τα βασικά οφέλη έναντι της παστερίωσης είναι:

### **1. Προστατεύει τα μοναδικά χαρακτηριστικά της μύρας**

Η διαδικασία παστερίωσης είναι μια πολύ πιο σκληρή τεχνική από την αποστειρωτική διήθηση, η οποία έχει πιο ήπια επίδραση στην μύρα.

### **2. Προστατεύει τη μοναδική γεύση της μύρας καθ 'όλη τη διάρκεια ζωής της**

Η αποστειρωτική διήθηση αυξάνει τη διάρκεια ζωής ενός προϊόντος, ενώ η παστερίωση, ακόμη και για μικρές περιόδους, μπορεί να οδηγήσει σε μείωση

αρώματος/γευσης. Αν και η ύπαρξη κυττάρων στη φιάλη μπορεί να οδηγήσει σε ολέθρια αποτελέσματα (επανζύμωση, θολερότητα, πίεση, ανάβλυση ή και έκρηξη).

### **3. Μπορεί να ελεγχθεί εύκολα ακεραιότητα για να επαληθευτεί η απόδοση**

Λόγω της σχετικής απλότητας των συστημάτων ψυχρής σταθεροποίησης σε σύγκριση με τον εξοπλισμό παστερίωσης, η απόδοση της αποστειρωτικής διήθησης μπορεί ευκολότερα να παρακολουθείται. Αλλά δεν μπορεί να ελεγχθεί εύκολα και άμεσα το εναπομείναν μικροβιακό φορτίο.

### **4. Η συγκράτηση αφρού βελτιώνεται (ανάλογα με το τύπο)**

Τα φίλτρα τελευταίας τεχνολογίας, που χρησιμοποιούνται στην αποστειρωτική διήθηση ελαχιστοποιούν την προσρόφιση των επιθυμητών συστατικών και βοηθούν στην προστασία της κατακράτησης αφρού μπύρας.

### **5. Χαμηλότερες απώλειες μπύρας**

Οι διαφορές στη φάση ανάμιξης σημαίνουν ότι οι απώλειες μπύρας κατά τη χρήση αποστειρωτικής διήθησης μπορεί να είναι σημαντικά χαμηλότερες από την παστερίωση flash. Αυτό οφείλεται κυρίως στις απώλειες που προκαλούνται κατά την απόρριψη της μπύρας μετά το κλείσιμο ενός συστήματος παστερίωσης εάν εμφανιστούν ανωμαλίες στην πίεση, τη θερμοκρασία ή τον ρυθμό ροής.

Όμως παρόμοια προβλήματα μπορεί να προκύψουν στη διήθηση από το βούλωμα των φίλτρων αν η μπύρα δεν είναι διαυγής πριν την αποστειρωτική διήθηση.



Εικόνα 10: Τα φίλτρα PREPOR NG του Parker Bioscience Filtration έχουν αναπτυχθεί ειδικά για την αφαίρεση ζυμομυκήτων και σωματιδίων, όπως βοηθητικά φίλτρα και συστατικά θολότητας. Το ανώτερο επίπεδο συγκράτησης διασφαλίζει ότι παρέχεται μια σταθερή ποιότητα της παρασκευής και παρέχει μεγαλύτερο επίπεδο προστασίας του φίλτρου μεμβράνης κατά τη διάρκεια της ψυχρής σταθεροποίησης, Parker BEVPOR BR, 2021).

## **6. Το κόστος ενεργειακής απόδοσης μειώνεται σημαντικά**

Η αποστειρωτική διήθηση δεν απαιτεί τις τεράστιες ποσότητες ενέργειας που απαιτούνται για τη λειτουργία των πλακών εναλλακτών θερμότητας που χρησιμοποιούνται στην παστερίωση και δεν απαιτεί δεξαμενή αποθήκευσης, με αποτέλεσμα λιγότερη κατανάλωση νερού από εκείνη που παρατηρείται συνήθως στη διαδικασία παστερίωσης. Έχει όμως αυξημένη κατανάλωση σε αναλώσιμα (φίλτρα).

## **7. Αποτελεσματική έναντι ανθεκτικών στη θερμότητα σταδίων, όπως σπορίων και κύστεων**

Η αποστειρωτική διήθηση λειτουργεί εξίσου καλά στην απομάκρυνση της μικροβιακής ανάπτυξης όπως η παστερίωση και δημιουργεί λιγότερα από τα μειονεκτήματα. Μόνο όμως εφόσον η διάμετρος των πόρων (absolut) είναι αρκετά μικρότερη των σπορίων και τηρούνται οι προδιαγραφές πίεσης. Ενδεχομένως απαιτούνται φίλτρα πόρων 0,22μm, τα οποία δυσκολεύουν το φιλτράρισμα και ταλεπωρούν τη μπύρα, ενώ αυξάνουν σημαντικά και τον χρόνο διήθησης (μικρότερη παροχή).

## **8. Απλότητα των καθημερινών λειτουργιών**

Η αποστειρωτική διήθηση απαιτεί λιγότερα μέρη, καθιστώντας ευκολότερη τη λειτουργία. Τα φίλτρα μπορούν συχνά να αναγεννηθούν επιτόπου, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη διάρκεια ζωής.

## **9. Χαμηλότερες αρχικές δαπάνες έναντι υλικού παστερίωσης flash**

Ο μηχανολογικός εξοπλισμός παστερίωσης είναι μεγάλος και ακριβός σε σύγκριση με το χαμηλότερο αρχικό κόστος για μια αποστειρωμένη ρύθμιση φιλτραρίσματος.



PRODUCT QUALITY		PRODUCT QUALITY	
 <b>TASTE</b> Heat process 'cooks' beer often damaging flavour.		 <b>TASTE</b> Ambient process preserves taste.	✓
 <b>SHELF-LIFE</b> Process often decreases shelf-life.		 <b>SHELF-LIFE</b> Process removes microbial hazards and extends shelf-life.	✓
CAPEX		CAPEX	
 <b>INITIAL PURCHASE</b> High capital investment required.		 <b>INITIAL PURCHASE</b> Lower capital investment required.	✓
 <b>BUFFER TANK</b> Required.		 <b>BUFFER TANK</b> Not required.	✓
OPEX		OPEX	
 <b>WATER</b> Uses more water for heating processes.		 <b>WATER</b> Reduced water usage.	✓
 <b>ENERGY</b> Uses more energy for heating processes.		 <b>ENERGY</b> Reduced energy usage.	✓
 <b>TIME</b> System problems halt production		 <b>TIME</b> Integrated system minimises downtime.	✓
 <b>EASE OF USE</b> Multiple parts makes it more difficult to maintain.		 <b>EASE OF USE</b> Easy to use and maintain due to automation.	✓
 <b>BEER LOSSES</b> Significantly higher losses due to mixing phase.		 <b>BEER LOSSES</b> Low beer losses due to mixing phase.	✓

Εικόνα 11: Συνοπτική σύγκριση flash παστερίωσης έναντι αποστειρωτικής διήθησης (Parker BEVPOR BR, 2021).

### Πως προστατεύετε η ποιότητα της μύρας με το χαμηλότερο κόστος

Η συνεχώς εξελισσόμενη βιομηχανία ζυθοποιίας διέρχεται μια συναρπαστική περίοδο αλλαγής. Με τις καθιερωμένες αγορές που στηρίζονται από την επανάσταση της βιοτεχνίας, το μέλλον της ζυθοποιίας φαίνεται όλο και πιο αισιόδοξο. Ωστόσο, καθώς αυτές οι θετικές τάσεις οδηγούν σε ευκαιρίες για τους ζυθοποιούς, η συνεπής παραγωγή μύρας ποιότητας αποτελεί πλέον απόλυτη απαίτηση για να παραμείνει βιώσιμη.

Η μόνη μεγαλύτερη απειλή για την ποιότητα της μύρας είναι η μικροβιακή μόλυνση που μπορεί να οδηγήσει σε εκτός γεύσης μύρα μόλις συσκευαστεί. Παρά το ότι περιέχει λίγο οξυγόνο, αλκοόλ και λυκίσκο, ορισμένα βακτηριακά είδη αγαπούν την μύρα όπως και οι σύγχρονοι, εξελιγμένοι πότες μύρας και μπορούν γρήγορα να προκαλέσουν οσμές αν δεν ελέγχονται σωστά.

### Έλεγχος μικροβιακής μόλυνσης στην μύρα

Παραδοσιακά, οι ζυθοποιοί βιοτεχνίας βασίστηκαν στην καλή υγιεινή για τον έλεγχο της μικροβιακής μόλυνσης, ωστόσο, για τους ζυθοποιούς που επιθυμούν να επεκτείνουν τις δραστηριότητές τους και να καθιερώσουν τις μάρκες τους εκτός της άμεσης γεωγραφικής αγοράς, τότε η εξάρτηση από την καλή υγιεινή από μόνη της είναι

επικίνδυνη και δεν ανταποκρίνεται στις προσδοκίες που έχουν οι συνεργάτες διανομής και λιανικής.

Εάν η μύρα πρέπει να παραμείνει σταθερή για περισσότερες από μερικές ημέρες μόλις συσκευαστεί, οι μικροβιακές απειλές πρέπει να κατανοηθούν και να εξαλειφθούν πλήρως. Για να παράγει σταθερά ποιοτική συσκευασμένη μύρα, με σταθερό προφίλ γεύσης και μεγάλη διάρκεια ζωής, οι ζυθοποιοί πρέπει να λειτουργούν σύμφωνα με ένα ελεγχόμενο σύστημα ελέγχου ποιότητας βάσει των αρχών του HACCP. Ως εκ τούτου, οι ζυθοποιοί πρέπει να αποδείξουν ότι έχουν μια διαδικασία ελέγχου μικροβιακής σταθερότητας - συνήθως παστερίωσης ή αποστειρωτική διήθησης.

### **Βελτιστοποίηση μικροβιακής σταθεροποίησης**

Παρά τα παραπάνω, επειδή όπως προαναφέρθηκε η αποστειρωτική διήθηση δεν μπορεί να εξασφαλίσει την πλήρη απουσία κυττάρων από τη μύρα, δεν αποτελεί μια εύκολη λύση για την περίπτωση των ζύθων με λίγο ή χωρίς αλκοόλ, ειδικά στην περίπτωση που έχουν υπολειμματικά σάκχαρα (λόγω της πιθανότητας ανάπτυξης κυττάρων και ζύμωσης στη φιάλη, με κίνδυνο παραγωγής CO<sub>2</sub> και ακόμα και έκρηξης της συσκευασίας). Στην περίπτωση τέτοιων ζύθων για την ασφαλή τους αποθήκευση, διακίνηση και παραμονή στο ράφι, ειδικά σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος, προτείνεται η παστερίωση και ειδικότερα η παστερίωση μετά την εμφιάλωση θεωρείται η καταλληλότερη για τη μέγιστη προστασία.

## **6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Τα τελευταία χρόνια, έχει παρατηρηθεί, η αυξανόμενη κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλ ή μύρας με λίγο αλκοόλ. Με αποτέλεσμα να αυξηθεί το μερίδιο αγοράς για αυτά τα είδη μύρας. Αυτό οφείλεται κυρίως στις ανησυχίες των καταναλωτών για λόγους υγείας, όπως για παράδειγμα η παχυσαρκία αλλά και άλλα ζητήματα που σχετίζονται με την υψηλή κατανάλωση αλκοόλ, ή για λόγους ασφάλειας, στο χώρο εργασίας ή στους δρόμους και σε όλο και πιο αυστηρούς κανονισμούς σχετικούς με την οδήγηση οχημάτων, και κατανάλωσης αλκοόλ, σε εργοστάσια και καταστήματα που επιβάλλονται από τους νόμους περί προστασίας της εργασίας, καθώς και η επίγνωση των προβλημάτων που μπορεί να προκαλέσει το αλκοόλ σχετικά με την συμπεριφορά ατόμων και ακόμα και τις αστικές ευθύνες. Είναι επίσης το γεγονός ότι η κατανάλωση αλκοόλ απαγορεύεται στις ισλαμικές χώρες. Οι μύρες χωρίς αλκοόλ επίσης συνιστώνται για συγκεκριμένες ομάδες ανθρώπων, όπως έγκυες γυναίκες,

επαγγελματίες αθλητές, άτομα με καρδιαγγειακές και ηπατικές παθήσεις και άτομα σε φαρμακευτική αγωγή, κ.ά. Οι καταναλωτές σε τέτοιες συνθήκες είναι πρόθυμοι να έχουν μια μύρα από οργανοληπτική άποψη, όσο το δυνατόν πιο κοντά στους συμβατικούς τύπους. Ένας στόχος που είναι πολύ δύσκολο να επιτευχθεί, επειδή η οργανοληπτική ποιότητα της μύρας χωρίς αλκοόλ διαφέρει ουσιαστικά από μια κανονική μύρα με κανονική περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Αυτή η σημαντική διαφορά προκαλείται από τη χαμηλή περιεκτικότητα σε αιθανόλη, η οποία, μαζί με το νερό, αντιπροσωπεύει τον φορέα γεύσης της μύρας. Ταυτόχρονα, η συνολική ποσότητα δραστικών ενώσεων αρώματος/γεύσης στις μύρες χωρίς αλκοόλ, είναι επίσης χαμηλότερη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες αλκοολούχες, καθώς πάσχουν από τεχνητή και ανώριμη γεύση, καθώς και από ελλωτάματα στον αφρό και το σώμα. ακατάλληλη κεφαλή σώματος και αφρού.

Η μύρα ασκεί διάφορες επιπτώσεις στο ανθρώπινο σώμα λόγω των συστατικών της. Από την μια, η κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλ, δεν παρέχει τις υγιεινές επιπτώσεις της πρόσληψης αλκοόλ (σε χαμηλές ποσότητες), όπως συμβαίνει με τις μύρες που είναι φυσιολογικές ή με λίγο αλκοόλ. Από την άλλη πλευρά, δεν προκαλεί τις δυσμενείς επιπτώσεις της υψηλής πρόσληψης αλκοόλ από αδιάκριτη κατανάλωση μύρας που περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Οι μύρες με λίγο αλκοόλ όταν καταναλώνονται σε μέτρια επίπεδα, μπορεί να είναι μια καλή εναλλακτική λύση για τις κανονικές αλκοολούχες μύρες από την άποψη της υγείας.

Για τους λόγους αυτούς, οι μύρες χωρίς αλκοόλ και με λίγο αλκοόλ, έχουν προσελκύσει κοινωνικά, τεχνολογικά και οικονομικά συμφέροντα. Έχουν προταθεί και εφαρμοστεί διάφορες μέθοδοι για την παραγωγή αυτών των τύπων μύρας, που οι οργανοληπτικές ιδιότητες τους, μοιάζουν όλο και περισσότερο με τα αλκοολούχα ισοδύναμά τους.

Τα τελευταία χρόνια, αναπτύχθηκαν βιολογικές και φυσικές μέθοδοι για την παραγωγή μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ ή χωρίς αλκοόλ. Οι κύριες βιολογικές διεργασίες περιλαμβάνουν: (1) χρήση ειδικών ζυμών, (2) ακινητοποιημένη ζύμωση, (3) C.C.P. (4) τεχνικές πολτοποίησης.

Οι φυσικές διεργασίες περιλαμβάνουν θερμικές και διεργασίες και χρήση μεμβρανών όπως: (1) εξάτμιση λεπτής στιβάδας (thin-layer evaporation), (2) εξάτμιση φιλμ καταιονισμού υπό κενό (falling film vacuum—evaporation), (3) συνεχούς ανακαθαρισμού/απόσταξης κενού (continuous vacuum rectification), (4) αντίστροφη όσμωση (reverse osmosis) και (5) διαπίδυση (dialysis).

Οι λιγότερο χρησιμοποιούμενες διεργασίες περιλαμβάνουν την διεξάτμιση (per vaporation), τη συμπύκνωση με κατάψυξη, τις διαδικασίες εκχύλισης, όπως η εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες και η εκχύλιση με διοξείδιο του άνθρακα, καθώς και η προσρόφηση σε ειδικά τζελ πυριτίου (kieselgels) ή σε ειδικές προσροφητικές ρητίνες. Εναλλακτικές τεχνικές για την παραγωγή μύρας με μειωμένη περιεκτικότητα σε αιθανόλη περιλαμβάνουν τη χρήση γενετικά τροποποιημένου στελέχους ζύμης που σχηματίζει λιγότερη αιθανόλη κατά την διαδικασία πλήρους ζύμωσης.

Τεχνολογικά, είναι δυνατή η παραγωγή μύρας με λιγότερο από 0,05% (v/v) αλκοόλ. Η συγκέντρωση αλκοόλης της μύρας που λαμβάνεται από τις διάφορες μεθόδους αναφέρεται στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15: Μύρες χωρίς αλκοόλ που λαμβάνονται με διαφορετικές τεχνολογίες παραγωγής (Montanari *et al.*, 2009)

<i>Brewing method</i>	<i>% (v/v) alcohol</i>	<i>References</i>
Arrested fermentation	0.3–1.0	Zasio (1996)
and dilution		
Cold contact	0.36–0.64	Perpete and Collin
		(1999)
Special yeasts	0.48	Narziss <i>et al.</i> (1992)
( <i>S. Ludwigii</i> )		
Continuous vacuum	0.1	Firmenschrift (2004)
rectification		
Falling film vacuum	0.4	Zufall and
evaporation		Wackerbauer (2000a)
Reverse osmosis	0.4	Zufall and
		Wackerbauer (2000b)
Dialysis	0.4	Zufall and
		Wackerbauer (2000b)

Οι τάσεις που παρατηρούνται στην αλλαγή του εκχυλίσματος και το περιεχόμενο των διαφόρων ποσοτήτων σακχάρων δείχνουν ότι η εφαρμογή των βιολογικών μεθόδων για την παραγωγή μύρας χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλ και χωρίς αλκοόλ έχει ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι των φυσικών μεθόδων, ειδικά επειδή είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ο υπάρχων εξοπλισμός και να γίνουν αλλαγές μόνο στις μεθόδους πολτοποίησης και ζύμωσης.

Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι, ειδικά στην περίπτωση ζύθων με περιεκτικότητα σε αλκοόλη χαμηλότερη του 0,5% vol το αρωματικό προφίλ είναι ιδιαίτερα υποβαθμισμένο και ως εκ τούτου, γίνεται συνήθως χρήση πρόσθετων αρωματικών εκχυλισμάτων λυκίσκου (αιθέρια έλαια) για τη βελτίωση του αρώματος.

Σε κάθε περίπτωση όπως προκύπτει από όλα τα παραπάνω στοιχεία, η κατηγορία των ζύθων με χαμηλή ή χωρίς αλκοόλη, αν και μικρό ποσοστό του συνόλου, είναι μια αναπτυσσόμενη κατηγορία η οποία προσφέρει δυνατότητες διαφοροποίησης της προσφοράς των ζυθοποιείων, καλύπτοντας ανάγκες των καταναλωτών, και θα αποτελέσει ενδεχομένως ένα μοχλό περαιτέρω ανάπτυξης τόσο για τις μεγάλες ζυθοποιείες, όσο και για τα μικροζυθοποιεία, εφόσον μπορέσουν να διαχειριστούν τα τεχνικά προβλήματα που σχετίζονται με τη βελτίωση της γεύσης και του αρώματος των προϊόντων αυτών.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Άρθρα σε επιστημονικά περιοδικά

- Marston's Beer Company. (2018). A Guide on How to Improve the Experience for Your Beer Shoppers; Marston's Off Trade Beer Report 2018. *Marston's Beer Company: Wolverhampton, UK.*
- Anglerot, D., (1994). *Process of making alcohol-free beer and beer aroma concentrates.* US Patent 5308,631.
- Attenborough, W.M., (1988). *Evaluation of processes for the production of low- and non-alcohol beer.* Ferment 1 (2), 40–44.
- Autelitano, D.J.; Howarth, A.E.; Pihl, E. (1984). *Promoting effect of beer and ethanol on anti-tumour cytotoxicity: unaffected growth of a transplantable rat tumour.* Aus. J. Exp. Biol. Med. Sci. 62, 507–514.
- Aylon, Y., Kupiec, M., (2004). *DSB repair: the yeast paradigm.* DNA Repair 3 (8–9), 797–815.
- Bamforth, C.W., (2002). In A brief history of beer, *26<sup>th</sup> Convention Institute Brewing Asia Pacific Section.*
- Bamforth, C.W., (2002). *Nutritional aspects of beer, a review.* Nutrition Research 22 (1/2), 227–237.
- Barbosa-Canoyovas, G.V.; Pothakamury, U.R., (1997). *High Hydrostatic pressure food processing.* In *Nonthermal preservation of food*; Marcel Dekker, New York, pp. 9–48.
- Belitz, H.D.; Grosch, W. (1999). *Amino acids, peptides, protein.* In *Food Chemistry*; Springer: Berlin, Germany; 8–88.
- Bellia, J.P.; Brichall, J.D.; Roberts, N.B. (1996). *The role of silicic acid in the renal excretion of aluminium.* Am. Clin. Lab. Sci. 26, 227–233.
- Bellut K., Arendt E. Chance and Challenge (2019): *Non-Saccharomyces Yeasts in Nonalcoholic and Low Alcohol Beer Brewing – A Review.* Journal of the American Society of Brewing Chemists, 77:2, 77-91, DOI: 10.1080/03610470.2019.1569452
- Bellut, K., Michel M., Zarnkow M., Hutzler M., Jacob F., De Schutter D. P., Daenen, L., Lynch, K. M., Zannini E., Arendt K., (2018). *Application of Non-*

- Saccharomyces* Yeasts Isolated from Kombucha in the Production of Alcohol-Free Beer. *Fermentation*, 4, DOI: [10.3390/fermentation4030066](https://doi.org/10.3390/fermentation4030066).
- Blanco, C. A.; Andres-Iglesias, C.; Montero, O. (2016). Low-alcohol Beers: *Flavor Compounds, Defects, and Improvement Strategies*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56, 1379–1388. DOI: [10.1080/10408398.2012.733979](https://doi.org/10.1080/10408398.2012.733979).
- Bony, M., Thines-Sempoux, D., Barre, P. and Blondin, B. (1997). *J. Bacteriol.* 179, 4929–4936.
- Bovin, P.; Clamagirand, V.; Maillard, M.N.; Berset, C.; Malanda, M. (1996). *Role of endogenous polyphenols on oxidation reactions in brewing process*, *European Brewery Convention*, Berlin, Germany.
- Branyik T., Silva D., Baszczyński M., Lehnert R., Almeida e Silva J. *A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production* 2011. 493–506. DOI: [10.1016/j.jfoodeng.2011.09.020](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.020)
- Von Hodenberg G.W., 1991, Production of alcohol free beers using reverse osmosis, *Brauwelt International*, 2, 145–149. *Brauwelt International* 2, 145–149. (in Russo et al., 2013)
- Brendel, M., Bonatto, D., Strauss, M., Revers, L.F., Pungartnik, C., Saffi, J., Henriques, J.A.P., (2003). *Role of PSO genes in repair of DNA damage of Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*, *Reviews in Mutation Research* 544 (2–3), 179–193.
- Buchwold, V.E.; Wilson, R.J.; Nalca, A.; Buckwold, V.E.; Wilson, R.J.; Nalca, A.; Beer, B.B.; Voss, T.G.; Turpin, J.A.; Buckheit, RW3rd.; Wei, J.; Wenzel-Mathers, M.; Walton, E.M.; Smith, R.J.; Pallansch, M.; Ward, P.; Wells, J.; Chuvala, L.; Sloane, S.; Paulman, R.; Russell, J.; Hartman, T.; Ptak, R. (2004). *Antiviral activity of hop constituents against a series of DNA and RNA viruses*. *Antiviral Res* 61, 57–62.
- Callejo M. J., González C., Morata A., (2017). *Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Bottle Fermentation of Aged Beers*. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68793>.
- Callejo, M.J.; Tesfaye, W.; González, M.C.; Morata, A. (2019). Craft beers: Current situation and future trends. In *New Advances on Fermentation Processes*; Martínez-Espinosa, R.M., Ed.; IntechOpen: London, UK, 2019; pp. 1–18.
- Caluwaerts, H.J.J. (1995). *Process for the manufacture of an alcohol-free beer having the organoleptic properties of a lager type pale beer*. U.S. Patent 5,384,135.

- Canonico, L.; Agarbati, A.; Comitini, F.; Ciani, M. (2016). *Torulaspora delbrueckii* in the Brewing Process: A New Approach to Enhance Bioflavour and to Reduce Ethanol Content. *Food Microbiol.* 56, 45–51. DOI: [10.1016/j.fm.2015.12.005](https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.12.005).
- Canonico, L.; Comitini, F.; Ciani, M., (2017). *Torulaspora delbrueckii* Contribution in Mixed Brewing Fermentations with Different *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Int. J. Food Microbiol.* 259, 7–13. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.017](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.017).
- Capece, A.; Romaniello, R.; Siesto, G.; Romano, P., (2018). *Conventional and Non-Conventional Yeasts in Beer Production*. *Fermentation* 4, DOI: [10.3390/fermentation4020038](https://doi.org/10.3390/fermentation4020038).
- Carvalho, F.R.; Moors, P.; Wagemans, J.; Spence, C., (2017). *The influence of color on the consumer's experience of beer*. *Front. Psychol.* 8, 1–9.
- Catarino M., Mendes A., Madeira L.M., Ferreira A., (2006). *Beer dealcoholization by reverse osmosis*. *Desalination* 200, (1–3), 397–399
- Catarino M., Mendes, A., Madeira L.M., Ferreira A., (2007). *Alcohol removal from beer by reverse osmosis*. *Separation Science and Technology* 42, 3011–3027.
- Chrysochou, P. Drink to Get Drunk or Stay Healthy? Exploring Consumers' Perceptions, motives and Preferences for Light Beer. *Food Qual. Prefer* 2014, 31, 156–163. DOI: [10.1016/j.foodqual.2013.08.006](https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.08.006).
- Clemons, E.K.; Gao, G.; Hitt, L.M., (2006). *When online reviews meet hyperdifferentiation: A study of the craft beer industry*. *J. Manag. Inf. Syst*, 23, 149–171. [[CrossRef](#)]
- Cooper, T.J., (1994). *In Medical considerations of moderate alcohol consumption, 23<sup>rd</sup> Convention Institute Brewing*, Australia.
- da Costa Jardim, C.; de Souza, D.; Cristina Kasper Machado, I.; Massochin Nunes Pinto, L.; de Souza Ramos, R.; Garavaglia, J., (2018). Sensory profile, consumer preference and chemical composition of craft beers from Brazil. *Beverages* 4, 106.
- De Francesco, G.; Sannino, C.; Sileoni, V.; Marconi, O.; Filippucci, S.; Tasselli, G.; Turchetti, B. *Mrakia* (2018). *gelida* in Brewing Process: An Innovative Production of Low Alcohol Beer Using a Psychrophilic Yeast Strain. *Food Microbiol.* 76, 354–362. DOI: [10.1016/j.fm.2018.06.018](https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.06.018).
- De Francesco, G.; Turchetti, B.; Sileoni, V.; Marconi, O.; Perretti, G., (2015). Screening of New Strains of *Saccharomyces ludwigii* and *Zygosaccharomyces rouxii* to Produce Low-alcohol Beer. *Inst. Brew.* 121, 113–121. DOI: [10.1002/jib.185](https://doi.org/10.1002/jib.185)



- Deutscher Brauer-Bund e.V. (2018). Alkoholfreies Bier. <http://www.bra-uer-bund.de/aktuell/alkoholfreies-bier.html> (accessed Oct 16).
- Devreux, A., (1986). II valore alimentare della birra. *Birra e Malto* 29, 4–21.
- Donhauser, S., Glas, K., Mueller, O., (1991). *Behavior of beer components during the manufacture of alcohol-reduced products by dialysis*. *Brauwelt International* 2, 139–144.
- Dziondziak, K., (1989). *Method for the production of alcohol-free beer*. U.S. Patent, 4,882,177.
- Dziondziak, K., (1989a). *Method for the production of alcohol-free beer*. US Patent 4882,177.
- Dziondziak, K., (1989b.) *Method for the production of low alcohol or alcohol-free beer*. US Patent 4814,188.
- Dziondziak, K., Seiffert, T., (1995). *Process for the continuous production of alcohol-free beer*. In: *Proceedings of the European Brewing Convention Congress*, Brussels, Belgium.
- Estela-Escalante, W. D.; Moscosa-Santillan, M.; Gonzalez-Ramirez, J. E.; Rosales-Mendoza, S., (2017). Evaluation of the Potential Production of ethanol by *Candida zemplinina* Yeast with Regard to Beer Fermentation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 75, 130–135. DOI: [10.1094/ASBCJ-2017-2532-01](https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2017-2532-01).
- Estela-Escalante, W. D.; Rosales-Mendoza, S.; Moscosa-Santillan, M.; Gonzalez-Ramirez, J. E., (2016). *Evaluation of the Fermentative Potential of Candida zemplinina* Yeasts for Craft Beer Fermentation. *J. Inst. Brew.* 122, 530–535. DOI: [10.1002/jib.354](https://doi.org/10.1002/jib.354).
- Etuk, B.R., Murray, K.R., (1990). *Mechanism for the removal of alcohol from beer by emulsion liquid membranes*. In: *IChemE, Symposium Series*, vol. 119, pp. 279–298.
- Euromonitor International. Non Alcoholic Beer - Market Sizes - Historical - Total Volume/Total Value RSP. (2018). Euromonitor Passport database. <https://go.euromonitor.com/passport.html>. (Retrieved Jul 23).
- Euromonitor International. Non/Low Alcohol Beer - Market Sizes - Historical/Forecast - Total Volume. (2017). Retrieved from Euromonitor Passport database. <https://go.euromonitor.com/passport.html> (Retrieved Jun 15).
- European beer trends. (2019). In *European Beer Trends Statistics Reports*; The Brewers of Europe: Bruxelles, Belgium.

- European Brewery Convention. (1999). "Cold sterilisation." *In Manual of good practice, beer filtration, stabilisation, and sterilisation*, 117–44. Nürnberg, Germany: Fabi and Reichardt Druck, Fratianni A.
- Evellin, F., Perpète, P., Collin, S., (1999). *Yeast ADHI disruption: a way to promote carbonyl compounds reduction in alcohol-free beer production*. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 57 (3), 109–113.
- Faist, V.; Lindenmeier, M.; Geisler, C.; Erbersdobler, H.F.; Hofmann, T., (2002). *Influence of molecular weight fractions isolated from roasted malt*. *J. Agri. Food Chem.* 50, 602–606.
- Fantozzi, P.; Montanari, L.; Mancini, F.; Gasbarini, A.; Addolorato, G.; Simoncini, M.; Nardini, M.; Ghiselli, A.; Scaccini, C. (1998) *In vitro antioxidant capacity from wort to beer*. *Lebensm-Wiss. U. Technol.* 31, 221–227.
- Gasowski, B.; Leontowicz, M.; Leontowicz, H.; Katrich, E.; Lojek, A.; Ciz, M.; Trakhtenberg, S.; Gorinstein, S., (2004). *The influence of beer with different antioxidant potential on plasma lipids, plasma antioxidant capacity, and bile excretion o rats fed cholesterol-containing and cholesterol-free diets*. *J. Nutr. Biochem.* 15, 527–533.
- Gerhauser, C., (2005). *Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents*. *Eur. J. Cancer*, 41, 1941–1954.
- Ghasemi-Varnamkhasi, M.; Mohtasebi, S.S.; Rodriguez-Mendez, M.L.; Lozano, J.; Razavi, S.H.; Ahmadi, H.; Apetrei, C., (2012). *Classification of non-alcoholic beer based on aftertaste sensory evaluation by chemometric tools*. *Expert Syst. Appl.* 39, 4315–4327.
- Ghiselli, A.; Natella, F.; Guidi, A.; Montanari, L.; Fantozzi, P.; Scaccini, C., (2000). *Beer increases plasma antioxidant capacity in humans*. *J. Nutr. Biochem.* 11, 76–80.
- Gibson, B.; Geertman, J.-M, A.; Hittinger, C. T.; Krogerus, K.; Libkind, D.; Louis, E. J.; Magalhães, F.; Sampaio, J. P., (2017). *New Yeasts - new Brews: modern Approaches to Brewing Yeast Design and Development*. *FEMS Yeast res.* 1–32. DOI: [10.1093/femsyr/fox038](https://doi.org/10.1093/femsyr/fox038).
- Glaubitz, M.; Haehn, H., (1929). *Beer manufacture*. U.S. Patent 1,898,047, June 10.
- GlobalData. (2018). *Brewer Interest in the Ultra-light Beer Concept Could Have Global Implications, says GlobalData*. *Brewer Distiller Int.* 14, 8.

- Gorinstein, S.; Caspi, A.; Pawelzik, E., (2001). *Proteins of beer affect lipid levels in rats*. *Nutr. Res.* 21, 1159–1169.
- Gorinstein, S.; Zemser, M.; Weisz, M.; Halevy, S.H.; Martin-Belloso, O.; Trakhtenberg, S., (1998). *The influence of alcohol-containing and alcohol-free beverages on lipid levels and lipid peroxides in serum of rats*. *J. Nutr. Biochem.* 9, 682–686.
- Gorinstein, S.; Zemser, M.; Weisz, M.; Haruenkit, R.; Trakhtenberg, S., (1998). *The influence of dry matter of different alcoholic beverages on lipids, proteins and antioxidant activity in serum of rats*. *J. Nutr. Biochem.* 9, 131–135.
- Gresch, W., (1991). *Process for the production of dealcoholized beverages, as well as a unit and device for performing the process*. US Patent 5014,612.
- Gromes, R.; Zeuch, M.; Piendl, A., (2000). *Further investigations into the dietary fiber content of beers*. *Brau Int.* 18, 24–28.
- Gschaedler, A., (2017). *Contribution of Non-conventional Yeasts in Alcoholic Beverages*. *Curr. Opin. Food*, 13, 73–77. DOI: [10.1016/j.cofs.2017.02.004](https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.02.004).
- Halaz, A.; Barath, L.; Simon-Sarkadi, S.; Holzapfel, W., (1994). *Biogenic amines and their production by microorganisms in food*. *Trends Food Sci. Technol.* 5, 42–48.
- Hardwick, W.A., (1983), Packaging materials and beer quality. In *Beer packaging: A manual for the brewing and beverage industry*; Broderick, H.M.; Ed.; Madison: New York, 124–152
- Hochberg, U., (1986). *Beer dealcoholization by evaporation* (written in German). *Brauindustrie* 71 (8), pp. 480-2, 484-5.
- Huige, N. J.; Gilbert, W.; Falls, M.; Alan, R., (1989). *Process for preparing a nonalcoholic (less the 0.5 volume percent alcohol) malt beverage*, U.S. Patent 4,970,082, October 27.
- Huige, N.J.; Sanchez, G.W.; Leidig, A.R., (1990). *Process for preparing a nonalcoholic (less the 0.5 volume percent alcohol) malt beverage*. U.S. Patent, 4,970,082.
- Humia, B.V.; Santos, K.S.; Barbosa, A.M.; Sawata, M.; da Mendonça, M.C.; Padilha, F.F., (2019). *Beer molecules and its sensory and biological properties: A review*. *Molecules*, 24, 1568.
- Inoue, Y.; Fukuda, K.; Wakai, Y.; Sudsai, T.; Kimura, A., (1994). Ester Formation by Yeast *Hansenula mrakii* IFO 0895: *Contribution of Esterase for Iso-Amyl Acetate Production in Sake Brewing*. *LWT - Food Sci. Technol.* 27, 189–193. DOI: [10.1006/fstl.1994.1037](https://doi.org/10.1006/fstl.1994.1037).

- Ivanov, K., Petelkov, I., Shopska, V., Denkova, R., Gochev, V., and Kostov, G. (2016) Investigation of mashing regimes for low-alcohol beer production. *J. Inst. Brew.*, 122: 508– 516. doi: 10.1002/jib.351.
- Jaeger, S. R.; Cardello, A. V.; Chheang, S. L.; Beresford, M. K.; Hedderley, D. I.; Pineau, B., (2017). *Holistic and Consumer-centric Assessment of Beer: A Multi-measurement Approach*. *Food Res. Int.* 99, 287–297. DOI: [10.1016/j.foodres.2017.05.004](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.004).
- Jiang, Z.; Yang, B.; Liu, X.; Zhang, S.; Shan, J.; Liu, J.; Wang, X., (2017). *A Novel Approach for the Production of a Non-alcohol Beer ( 0.5% abv) by a Combination of Limited Fermentation and Vacuum Distillation*. *J. Inst. Brew.* 123, 533–536. DOI: [10.1002/jib.465](https://doi.org/10.1002/jib.465).
- Kaplan, N.M.; Palmer, B.F., (2000). *Nutritional and health benefits of beer*. *Am. J. Med. Sci.* 320, 320–326.
- Karel, S.F., Libicki, S.B. and Robertson, C.R.,(1985). *Chem.Eng. Sci.* 40, 1321–1354.
- Kavanagh, T.E., Clarke, B.J., Gee, P.S., Miles, M., Nicholson, B.N., (1991). *Volatile flavor compounds in low alcohol beers*. *Technical Quarterly – Master Brewers Association of the Americas* 28 (3), 111–118.
- Kern, M., (1994). *Alcohol removal from beer using continuous vacuum refinement* (written in Spanish). *Alimentacion Equipos y Tecnologia* 13 (5), 37–41.
- Kihara, M., Kaneko, T., Ito, K., (1998). *Genetic variation of b-amylase thermostability among varieties of barley, Hordeum vulgare, and relation to malting quality*. *Plant Breeding* 117 (5), 425–428.
- Kihara, M., Kaneko, T., Ito, K., Ajda, Y., Takeda, K., (1999). *Geographical variation of b-amylase thermostability among varieties of barley (Hordeum vulgare) and b-amylase deficiency*. *Plant Breeding* 118 (5), 453–455.
- Kimura, S.; Hayatsu, H.; Arimoto-Kobayashi, S., (1999). *Glycine betaine in beer as an antimutagenic substance against 2-chloro-4-methylthiobutanoic acid, the sanma-fish mutagen*. *Mutant Res.* 439, 267–276.
- King, E. S.; Heymann, H., (2014). *The Effect of Reduced Alcohol on the Sensory Profiles and Consumer Preferences of White Wine*. *J. Sens. Stud.* 29, 33–42. DOI: [10.1111/joss.12079](https://doi.org/10.1111/joss.12079).
- Klatsky, A.L., (1999). *Moderate drinking, and reduced risk of heart disease*. *Alcohol Res. Health* 23, 15–23.

- Koerner, R., (1996). *Returning aroma compounds removed during thermal dealcoholization of beverages* (written in Spanish). European Patent 0 713 911 A2.
- Kondo, K., (2004). Beer and health: *preventive effects of beer components on lifestyle-related disease*. *Biofactors* 22, 303–310.
- Lachenmeier, D. W.; Kanteres, F.; Rehm, J., (2014). *Alcoholic Beverage Strength Discrimination by Taste May Have an Upper Threshold*. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 38, 2460–2467. DOI: [10.1111/acer.12511](https://doi.org/10.1111/acer.12511).
- Lafontaine S.R., Shellhammer T.H., (2018). *Impact of static dry-hopping rate on the sensory and analytical profiles of beer*. *J. Inst. Brew.*, 124, 434–442.
- Lapcik, O.; Hill, M.; Hample, R.; Wahala, K.; Adlercreutz, H., (1998). *Identification of isoflavonoids in beer*. *Steroids* 63, 14–20.
- Leskosek, I., Mitrovic, M., Nedovic, V., (1995). *Factors influencing alcohol and extract separation in beer dialysis*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 11 (5), 512–514.
- Leskosek, I.J., Mitrovic, M., (1994). *Optimization of beer dialysis with cuprophane membranes*. *Journal of the Institute of Brewing* 100 (4), 287–292.
- Li, H.; Liu, Y.; Zhang, W., (2011). *Method for manufacturing alcohol-free beer through candida shehatae*. Chinese Patent 102220198 B, May 13.
- Libby, P.; Ridker, P.M.; Maseri, A., (2002). *Inflammation and atherosclerosis*. *Circulation*, 105, 1135–1143.
- Liguori, L.; De Francesco, G.; Russo, P.; Albanese, D.; Perretti, G.; Di Matteo, M., (2015). *Quality improvement of low alcohol craft beer produced by evaporative pertraction*. *Chem. Eng. Trans.* 43, 13–18.
- Lin, T.F., Chen, Y.L., Wang, T.H., (2005). *Method for producing beer-like and alcohol-free fermented beverage*. UK Patent Application GB 2414486 A.
- Liu, Y.; Li, H.; Du, J., (2011). *Non-alcoholic Beer Production by Saccharomyces Ludwigii*. *CNKI Food Sci.* 32, 186–190.
- Liu, J.X.; Nordberg, G.F., (1995). *Nephrotoxicities of aluminium and/or cadmium-metallothionein in rat-creatinine excretion and metabolism of selected essential metals*. *Pharmacol Toxicol.* 77, 155–160.
- Liu, S. Q.; Quek, (2016). A. Y. H. *Evaluation of Beer Fermentation with a Novel Yeast Williopsis saturnus*. *Food Technol. Biotechnol.* 54, 403–412. DOI: 10.17113/ft.

- Lommi, H., Swinkels, W., Van Dieren B., (1997). *Process for the production of non-alcoholic or low alcohol malt beverage*. U.S. Patent, 5,612,072.
- Loret, S.; Deloyer, P.; Dandrifosse, G., (2005). *Levels of biogenic amines as a measure of the quality of the beer fermentation process: Data from Belgian samples*. Food Chem. 89, 519–525.
- Magalhaes Mendes, A.M., Palma Madeira, L.M., Dias Catarino, M., (2008). *Process for enriching the aroma profile of a dealcoholized beverage*. PCT International Patent Application WO, 099325 A2.
- Magarifuchi, T., Goto, K., Iimura, Y., Tadenuma, M., Tamura, G., (1995). *Effect of yeast fumarase gene (FUM1) disruption on production of malic, fumaric and succinic acids in sake mash*. Journal of Fermentation and Bioengineering 80 (4), 355–361.
- Masschelein, C.A; Ryder, D.S.; Simon, J.P., (1994). *Immobilized cell technology in beer production*. Crit. Rev. Biotechnol. 14, 155–177.
- Matson, S.L., (1987). *Production of low-ethanol beverages by membrane extraction*. PCT International Patent Application WO 87/02380.
- Mayer, O.; Simon, J.; Roslova, H., (2001). *A population study of beer consumption on folate, and homocysteine concentrations*. Eur. J. Clinic Nutr. 55, 605–609
- Mehta, G.D., (1982). *Comparison of membrane processes with distillation for alcohol/water separation*. Journal of Membrane Science 12, 1–26.
- Meier-Dornberg, T.; Hutzler, M., (2014). Alcohol-Free Wheat Beer with Maltose Negative Yeast Strain *Saccharomyces ludwigii*. 3rd Young Sci. Symp. Poster no. P.3.5 <https://www.research-gate.net/publi>. DOI: [10.13140/RG.2.2.26169.36968](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26169.36968).
- Michaels, A.S.; Canning, R.P.; Hogan, P., (1998). *Methods for dealcoholization employing perstraction*. U.S. Patent, 5,817,359.
- Michel, M.; Kopecka, J.; Meier-Dornberg, T.; Zarnkow, M.; Jacob, F.; Hutzler, M., (2016). *Screening for New Brewing Yeasts in the non- Saccharomyces Sector with Torulaspora delbrueckii as Model*. Yeast 33, 129–144. DOI: [10.1002/yea.3146](https://doi.org/10.1002/yea.3146).
- Michel, M.; Meier-Dornberg, T.; Jacob, F.; Methner, F. J.; Wagner, R. S.; Hutzler, M., (2016). *Review: Pure non-Saccharomyces Starter Cultures for Beer Fermentation with a Focus on Secondary Metabolites and Practical Applications*. J. Inst. Brew. 122, 569–587. DOI: [10.1002/jib.381](https://doi.org/10.1002/jib.381).

- Middlekauff, J.E., (1994). Microbiological aspects. In *Handbook of Brewing*; Hardwick, W.A.; Ed.; Marcel Dekker: New York, 1994; 37–52.
- Mintel Blog., (2018). *Is America Ready for Lower Alcohol Beer?* <http://www.mintel.com/blog/drink-market-news/is-america-ready-for-lower-alcohol-beer> (accessed Oct 16).
- Mintel., (2017). *Beer - Companies & Market - May 2016*. Mintel Reports database. <http://academic.mintel.com> (Retrieved Jun 14).
- Mintel., (2017). *Beer - Product Innovation - December 2015*. Mintel Reports database. <http://academic.mintel.com> (Retrieved Jun 14).
- Mintel., (2017). *Beer - Product Innovation - June 2016*. Mintel Reports database. <http://academic.mintel.com>. (Retrieved Jun 14).
- Mintel., (2017). *Beer - Product Innovation - September 2016*. Mintel Reports database. <http://academic.mintel.com> (Retrieved Jun 19).
- Mintel., (2017). *Non Alcoholic Beer - Category Insights*. Mintel Reports database. <http://academic.mintel.com> (Retrieved Jun 14).
- Mintel., (2018). *Non-Alcoholic Beer Stays on Growth Path in Germany*. Mintel Reports database. <http://academic.mintel.com> (Retrieved Jun 13).
- Miranda, C.L.; Stevens, J.F.; Helmrih, A.; Henderson, M.C.; Rodriguez, R.J.; Yang, Y.H.; Deinzer, M.L.; Barnes, D.W.; Buhler, D.R., (1999). *Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines*. *Food Chem. Toxicol.* 37, 271–285
- Missbach, B.; Majchrzak, D.; Sulzner, R.; Wansink, B.; Reichel, M.; Koenig, J., (2017). *Exploring the Flavor Life Cycle of Beers with Varying Alcohol Content*. *Food Sci. Nutr.* 5, 889–895. DOI: [10.1002/fsn3.472](https://doi.org/10.1002/fsn3.472).
- Mohammadi, A.; Razavi, S. H.; Mousavi, S. M.; Rezaei, K., (2011). *A Comparison between Sugar Consumption and Ethanol Production in Wort by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii* and *Saccharomyces rouxii* on Brewer's Spent Grain*. *Braz. J. Microbiol.* 2011, 42, 605–615. DOI: [10.1590/S1517-83822011000200025](https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200025).
- Molto, G.; Samar, M.M.; Resnik, S.; Martinez, E.J.; Pacin, A., (2000). *Occurrence of trichothecenes in Argentinean beer: a preliminary exposure assessment*. *Food Add. Contam.* 179, 809–813.

- Monrand, C.; Crespy, V.; Manach, C.; Besson, C.; Demigne, C.; Remesy, C., (1998). *Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties*. *Am. J. Physiol.* 275, R212–R219.
- Montanari, L., Marconi, O., Mayer H., Fantozzi P., (2009). *Production of Alcohol-Free Beer*. In *Beer in Health and Disease Prevention*. Preedy, V. R., Ed.; Academic Press, Cambridge, USA, 61–75.
- Moonen, H., Niefind, H.J., (1982). *Alcohol reduction in beer by means of dialysis*. *Desalination* 41 (3), 327–335
- Mori, A., (2004). *Method for lowering alcohol content of ready-made beer (written in Japanese)*. Japanese Patent JP 2004215551.
- Mortazavian, A. M.; Razavi, S. H.; Mousavi, S. M.; Malganji, S.; Sohrabvandi, S., (2014). *The Effect of Saccharomyces Strain and Fermentation Conditions on Quality Parameters of Non-alcoholic Beer*. *J. Paramed. Sci* 5, 21–26.
- Mortazavian, A.M.; Sohrabvandi, S., (2006). In *Probiotics and food probiotic products; based on dairy probiotic products*; Eta Publication: Tehran, Iran, pp. 20–147.
- Mosinger, B., (1994). *Polyphenolics but not alcohol in beer and wine protect serum low-density lipoprotein against atherogenic modification*. *Cor Vasa* 4, 171–174.
- Muller C., Neves L. E., Gomes L., Guimaraes M., Ghesti G., (2019). *Processes for alcohol-free beer production: A review*. *Food Sci. Technol* 40 (2), p.. 273-281. <https://doi.org/10.1590/fst.32318>
- Muller M., Bellut K., Tippmann J., Becker T., (2017). *Physical Methods for Dealcoholization of Beverage Matrices and Their Impact on Quality Attributes*. *ChemBioEng Rev.* 4, 310–326. DOI: 10.1002/cben.201700010.
- Muller, R., (1990). *The production of low-alcohol and alcohol-free beers by limited fermentations*. *Ferment* 3 (4), 224–230.
- Muller, R., (1993). *Flavour in low-alcohol beers*. *Chemistry Review* 3 (1), 2–7.
- Muller, R., (2000). *A mathematical model of the formation of fermentable sugars from starch hydrolysis during high-temperature mashing*. *Enzyme and Microbial Technology* 27, 337–344.
- Muller, R.E., (1991). *The effects of mashing temperature and mash thickness on wort carbohydrate composition*. *Journal of the Institute of Brewing* 97, 85–92.
- Muller, R.E., Barrett, J., Baxter, E.D., (1991). *Enhancement of flavor in beers with reduced alcohol contents*. In: *Proceedings of the European Brewing Convention Congress*, Lisbon, Portugal.



- Nardini, M.; Natella, F.; Scaccini, C.; Ghiselli, A., (2006). *Phenolic acids from beer are absorbed and extensively metabolized in humans*. J. Nutr. Biochem. 17, 14–22.
- Narvátil, M., Dömény, Z., Šturdík, E., Šmogrovic̣ová, D., Gemeiner, P., (2002). *Production of non-alcoholic beer using free and immobilized cells of Saccharomyces cerevisiae deficient in the tricarboxylic acid cycle*. Biotechnology and Applied Biochemistry 35 (2), 133–140.
- Narziss, L., Back W., Stich S., (1993). *Alcohol removal from beer by countercurrent distillation in combination with rectification (written in German)*. Brauwelt 133 (38), 1806–1820.
- Narziß, L.; Miedaner, H.; Kern, E.; Leibhard, M., (1992). *Technology and Composition of Non-alcoholic beers - Processes Using Arrested Fermentation*. Brauwelt Int. IV, 396–410.
- Navratil M., Domeny Z., Sturdik E., Smogrovicova D., Gemeiner P., (2002). *Production of non-alcoholic beer using free and immobilized cells of Saccharomyces cerevisiae deficient in the tricarboxylic acid cycle*. Biotechnol Appl Biochem. 2002 Apr;35(2):133-40. doi: 10.1042/ba20010057
- Nevoigt, E., Pilger, R., Mast-Gerlach, E., Schmidt, U., Freihammer, S., Eschenbrenner, M., Garbe, L., Stahl, U., (2002). *Genetic engineering of brewing yeast to reduce the content of ethanol in beer*. FEMS Yeast Research 2 (2), 225–232.
- Norton, S.; D'Amore, T., (1994). *Physiological effects of yeast cell immobilization-applications for brewing*. Enz. Microbial Technol. 16, 365–375.
- Nozawa, H.; Tazumi, K.; Sato, K.; Yoshida, A.; Takata, J.; Arimoto-Kobayashi, S.; Kondo, K., (2004). *Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon*. Mutant Res. 559, 177–187.
- Obisean, T.O.; Hirsch, R.; Kosoko, O.; Carlson, L.; Parrott, M., (1998). *Moderate wine consumption is associated with decreased odds of developing age-related macular degeneration in NHANES-I*. J. Am. Geriat. Soc. 46, 1–7.
- Olaniran, A. O.; Hiralal, L.; Mokoena, M. P.; Pillay, B., (2017). *Flavour-active Volatile Compounds in Beer: production, regulation and Control*. J. Inst. Brew. 123, 13–23. DOI: [10.1002/jib.389](https://doi.org/10.1002/jib.389).
- Padilla, B.; Gil, J. V.; Manzanares, P., (2016). *Past and Future of non-Saccharomyces Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving*

- Wine Aroma Complexity*. *Front. Microbiol.* 7, 1–20. DOI: [10.3389/fmicb.2016.00411](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00411).
- Perpete, P. and Collin, S. (1999). *Cerevisia* 1, 27–33. Perpete, P. and Collin, S. (2000). *Food Chem.* 70, 457–462. Pilipovic, M.V. and Riverol, C. (2005). *J. Food Eng.* 69, 437–462.
- Petin, V.G., Kim, J.K., Rassokhina, A.V., Zhurakovskaya, G.P., (2001). *Mitotic recombination and inactivation in Saccharomyces cerevisiae induced by UV-radiation (254 nm) and hyperthermia depend on UV fluence rate*. *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 478 (1-2), 169–176.
- Petkovska, M., Leskosek, I., Nedovic, V., (1997). *Analysis of mass transfer in beer diafiltration with cellulose-based and polysulfone membranes*. *Food and Bioproducts Processing* 75, 247–252.
- Pilipovic, M.V., Riverol, C., (2005). *Assessing dealcoholization systems based on reverse osmosis*. *Journal of Food Engineering* 69, 437–441.
- Pilkington, P.H.; Margaritis, A.; (1998). Mensour, N.A.; Russell, I. *Fundamentals of immobilized yeast cells for continuous beer fermentation: a review*. *J. Inst. Brew.* 104, 19–31.
- Pokrivcak, J.; Supeková, S.C.; Lancaric, D.; Savov, R.; Tóth, M.; Vasina, R., (2019). *Development of beer industry and craft beer expansion*. *J. Food Nutr. Res.* 58, 63–74.
- Regan, J., (1990). *Production of alcohol-free and low alcohol beers by vacuum distillation and dialysis*. *Ferment* 3 (4), 235–237.
- Saerens S., Swiegers J. H., (2014). *Production of low-alcohol or alco-hol-free beer with Pichia kluyveri yeast strains*. European Patent 2 964 742, March 7.
- Salanță L.C., Tofana M., Mudura E., Pop C.R., Pop A., Coldea T.E., (2016). *The alcoholic beverage consumption preference of university students: A preliminary Romanian case study*. *Bull. Uasvm Food Sci. Technol.*, 73, 33–39. 2016
- Salanță, L.C.; Tofana, M.; Pop, C.R.; Pop, A.; Coldea, T.E.; Mihai, M., (2018). *Risk Factors associated with alcohol consumption among Romanian university students- Preliminary research*. *Bull. UASVM Food Sci. Technol.* 75, 86–89.
- Salanță L.C., Coldea T.E., Ignat M. V., Pop C. R., Tofana M., Mudura E., Borsa A., Pasqualone A., Zhao H., (2020). *Non-Alcoholic and Craft Beer Production and*

- Challenges. "Non-Alcoholic and Craft Beer Production and Challenges" Processes 8, no. 11: 1382. <https://doi.org/10.3390/pr8111382>*
- Schmelzle, A.; Lindemann, B.; Methner, F.-J., (2013). *Sensory Descriptive Analysis and Consumer Acceptance of Non-alcoholic Beer*. *Brewing Sci.* 66, 144–153.
- Schur, F., (1983). *Proceedings of the 19th European Brewery Convention Congress*, IRL Press, Oxford, UK, pp. 353–360.
- Schur, F. and Sauer, P., (1990). US Patent 4971807.
- Selecky, R., Šmogrovicová, D., Sulo, P., (2008). *Beer with reduced ethanol content produced using Saccharomyces cerevisiae yeasts deficient in various tricarboxylic acid cycle enzymes*. *Journal of the Institute of Brewing* 114 (2), 97–101. DOI:[10.1002/j.2050-0416.2008.tb00312.x](https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00312.x).
- Serafini, M.; Maiani, G., (1998). *Ferro-LuzziA. Alcohol free red wine enhances plasma antioxidant capacity in human*. *J. Nutr.* 1998, 128, 1003–1007.
- Shindo, S.; Sahara, H.; Koshino, S., (1994). *Suppression of acetolactate formation in brewing with immobilized yeast*. *J. Inst. Brew.* 100, 69–72.
- Silva, A. P.; Jager, G.; van Bommel, R.; van Zyl, H.; Voss, H. P.; Hogg, T.; Pintado, M.; de Graaf, C., (2016). *Functional or Emotional? How Dutch and Portuguese Conceptualise Beer, wine and Non-alcoholic Beer Consumption*. *Food Qual. Prefer* 49, 54–65. DOI: [10.1016/j.foodqual.2015.11.007](https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.11.007).
- Sohrabvandi S, Mousavi S.M., Razavi S.H., Mortazavian A.M., Rezaei K., (2010). *Alcohol-free Beer: Methods of Production, Sensorial Defects, and Healthful Effects*. *Food Reviews International*, 26:4, 335-352, DOI: 10.1080/87559129.2010.496022
- Sohrabvandi, S.; Razavi, S. H.; Mousavi, S. M.; Mortazavian, A.; Rezaei, K., (2009). *Application of Saccharomyces rouxii for the Production of Non-alcoholic Beer*. *Food Sci. Biotechnol.* 18, 1132–1137. DOI: [10.1080/10942910902818145](https://doi.org/10.1080/10942910902818145).
- Sohrabvandi, S.; Razavi, S. H.; Mousavi, S. M.; Mortazavian, M., (2010). *Characteristics of Different Brewer's Yeast Strains Used for Non-alcoholic Beverage Fermentation in Media Containing Different Fermentable Sugars*. *Iran. J. Biotechnol.* 8, 178–185.
- Stein, W., (1993). *Dealcoholization of beer*. *Technical Quarterly – Master Brewers Association of the Americas* 30 (2), 54–57.
- Stevens, J.F.; Page, J.E., (2004). *Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health*. *Phytochemistry* 65, 1317–1330.

- Strejc, J.; Sirist'ova, L.; Karabin, M.; Almeida e Silva, J. B.; Branyik, T., (2013). *Production of Alcohol-free Beer with Elevated Amounts of Flavouring Compounds Using Lager Yeast Mutants*. J. Inst. Brew. 119, 149–155. DOI: [10.1002/jib.72](https://doi.org/10.1002/jib.72).
- Tataridis P., Drosou F., Kanellis A., Kechagia D., Logothetis S., Chatzilazarou A., (2016). *Differentiating Beer Aroma, Flavor and Alcohol Content through the Use of Torulaspora delbrueckii*. *Young Scientists Symposium for Brewing, Malting and Distilling*, Chico, USA, Sep 12.
- The Contribution made by Beer to the European Economy; (2020). The brewers of Europe: Bruxelles, Belgium.
- The Takeaway. *Millennials Are on the Rise in the Middle East - and Bring Their Own Agenda*. (2018). <https://www.pri.org/stories/2014-07-02/millennials-are-rise-middle-east-and-bring-their-own-agenda>.
- Thomas-Hall, S. R.; Turchetti, B.; Buzzini, P.; Branda, E.; Boekhout, T.; Theelen, B.; Watson, K., (2010). *Cold-adapted Yeasts from Antarctica and the Italian Alps- description of Three Novel Species: Mrakia robertii sp. nov., Mrakia blollopis sp. nov. and Mrakiella niccombsii sp. nov.* Extremophiles 14, 47–59. DOI: [10.1007/s00792-009-0286-7](https://doi.org/10.1007/s00792-009-0286-7).
- Tobe, H.; Muraki, Y.; Kitamura, K.; Komiyama, O.; Sato, Y.; Sugioka, T.; Maruyama, H.B.; Matsuda, E.; Nagai, M., (1997) *Bone resorption inhibitors from hop extract*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 61, 158–159.
- Van Iersel, M.F.M., Brouwer-Post, E., Rombouts, F.M. and Abee, T., (2000). *Enzyme Microb. Technol.* 26, 602–607.
- Van Iersel, M.F.M., Meersman, E., Swinkels, W., Abee, T. and Rombouts, F.M., (1995). *J. Ind. Microbiol.* 14, 495–501.
- Van Rijswijck, I. M. H.; Wolkers-Rooijackers, J. C. M.; Abee, T.; Smid, E. J. , (2017). *Performance of Non-conventional Yeasts in co-culture with Brewers' Yeast for Steering Ethanol and Aroma Production*. Microb. Biotechnol. 10, 1591–1602. DOI: [10.1111/1751-7915.12717](https://doi.org/10.1111/1751-7915.12717).
- Van-Iersel, M.F.M.; Brouwer-Poste, F.M.; Abee, T., (2000). *Influence of yeast immobilization on fermentation and aldehyde reduction during the production of alcohol-free beer*. Enz. Microbial Technol. 6, 602–607.

- Van-Iersel, M.F.M.; Meersman, E.; Swinkels, W.; Abee, T.; Rombouts, F.M., (1995). *Continuous production of non-alcohol beer by immobilized yeast at low temperature*. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 14, 495–501.
- Varela, C., (2016). *The Impact of non-Saccharomyces Yeasts in the Production of Alcoholic Beverages*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100, 9861–9874. DOI: [10.1007/s00253-016-7941-6](https://doi.org/10.1007/s00253-016-7941-6).
- Verbelen, P.J., de Schutter, D.P., Delvaux, F., Verstrepen, K.J. and Delvaux, F.R., (2006). *Biotechnol. Lett.* 28, 1515–1525.
- Von Hodenberg, G.W., (1991). *Production of alcoholfree beers using reverse osmosis*. Brauwelt International 2, 145–149.
- Wang, Q.; Ding, Z.H.; Liu, J.K.; Zheng, Y.T, (2004). *Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agents purified from hops Humulus lupulus*. Antiviral Res. 64, 189–194.
- Winkler, C.; Wirleitner, B.; Schroecksnadel, K.; Schennach, H.; Fuchs, D., (2006). *Beer Down-regulates activated peripheral blood mononuclear cells in vitro*. Int. Immunol. 6, 390–395
- Wojtyra, B., (2020). *How and why did craft breweries ‘revolutionise’ the beer market? The case of Poland*. Morav. Geogr. Rep. 28, 81–97.
- Wojtyra, B., Grudzien Ł., (2017). *Development of the beer industry in Poland in the period of “the craft beer revolution” (2011–2016)*. Stud. Ind. Geogr. Comm. Pol. Geogr. Soc. 31, 52–67.
- Yano, S., Asano, T., Kurose, N., Hiramatsu, J., Shimoi, H., Ito, K., (2003). *Characterization of an  $\alpha$ -ketoglutarate-resistant sake yeast mutant with high organic acid productivity*. Journal of Bioscience and Bioengineering 96 (4), 332–336.
- Yilmazer, M.; Stevens, J.F.; Buhler, D.R., (2001). *In vitro glucuronidation of xanthohumol, a flavonoid in hop and beer, by rat and human liver microsomes*. FEBS Letters 491, 252–256.
- Yilmaztekin, M.; Erten, H.; Cabaroglu, T., (2008). *Production of Isoamyl Acetate from Sugar Beet Molasses by Williopsis saturnus Var. saturnus*. J. Inst. Brew. 114, 34–38. DOI:[10.1016/j.foodchem.2008.05.079](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.079).
- Yoshikawa, T.; Kimura, S.; Hatano, T.; Okamoto, K.; Hayatsu, H.; arimoto-Kobayashi, S., (2002). *Pseudouridine, an antimutagenic substance in beer towards N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)*. Food Chem. Toxicol. 40, 1165–1170.

- Zöllner, P.; Berner, D.; Jodlbauer, J.; Lindner, W., (2000). *Determination of zearalenone and its metabolites and  $\beta$ -zearalenol in beer samples by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry*. J. Chromatogr. B 738, 233–241.
- Zufall, C., Wackerbauer, K., (2000a). *Process engineering parameters for the dealcoholization of beer by means of falling film evaporation and its influence on beer quality* (written in German). Monatsschrift fuer Brauwissenschaft 53 (7/8), 124–137.
- Zufall, C., Wackerbauer, K., (2000b). *The dealcoholization of beer by dialysis – influencing beer quality by process engineering* (written in German). Monatsschrift fuer Brauwissenschaft 53 (9/10), 164–179.
- Zurcher, Ch., Gruss, R., (1991). *Method of making alcohol-free or nearly alcohol-free beer*. US Patent 5077,061.
- Ταταρίδης Π., (2018). Επίδραση του Νερού στη ζυθοποίηση. *Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής*.

## **Βιβλία**

- Briggs, D. E., Brookes, P. A., Stevens, R., & Boulton, C.A., (2004). *Brewing: science and practice*. (1-587) Cambridge: Woodhead.
- Eßlinger H.M., (2007). *Fermentation, maturation and storage*. In H. M. Eßlinger (Ed.), *Handbook of brewing: processes, technology, markets* (147-224). Weinheim: Wiley VCH.
- Kunze W., (2004). *Technology Brewing and Malting*. 3<sup>rd</sup> International Edition, (19-795) VLB Berlin.
- Smart K., (2003). *Brewing Yeast Fermentation Performance*. 2<sup>nd</sup> Edition, (46-300) Blackwell Science Ltd.
- Stewart G.G., (2017). *Brewing and distilling yeasts*. (1-406) Springer International Publishing AG.

## **Ιστοσελίδες**

<http://blog.parker.com/sterile-filtration-of-beer-the-impact-on-quantity-and-quality>

(τελευταία επίσκεψη 21-07-2021)

<https://www.ratebeer.com/tag/non-alcoholic/> (τελευταία επίσκεψη 21-07-2021)

<http://blog.parker.com/sterile-filtration-of-beer-the-impact-on-quantity-and-quality>

(downloaded 21-07-2021)

<https://www.ratebeer.com/tag/non-alcoholic/> (τελευταία επίσκεψη 21-07-2021)

The Economist. Going Out Need No Longer Be a Headache for Teetotallers.

<https://www.economist.com/business/2018/02/15/going-out-need-no-longer-be-a-headache-for-teetotallers> (τελευταία επίσκεψη 21-07-2021).

Wall Street Journal. Beer Sales Canned at Indonesian Minimarts. April 16, 2015.

<https://www.wsj.com/articles/beer-sales-canned-at-indonesian-minimarts-1429180768>

(τελευταία επίσκεψη 21-07-2021).