



Σχολή Επιστημών Τροφίμων

Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών



---

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:**

Χρήση Βοτάνων στη ζυθοποίηση. Εφαρμογή με αιθέριο έλαιο τριαντάφυλλου σε τρεις πειραματικές συνθήκες

**THESIS:**

Brewing with herbs: Application with Rose extract in three experimental brews

---



Θεοδώρα Μαντασά, φοιτήτρια τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών

Theodora Mantasa, student of the Department of  
Wine, Vine and Beverage Sciences

**ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR**

Ελισάβετ Κουσίση, Επίκουρη καθηγήτρια

Elisabeth Koussissi, Assistant Professor

ΑΙΓΑΛΕΩ/EGALEO 2021



Σχολή Επιστημών Τροφίμων

Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ**

Ελισάβετ Κουσίση: Επίκουρη καθηγήτρια

Φωτεινή Δρόσου: Ακαδημαϊκή Υπότροφος

Παναγιώτης Ταταρίδης: Επίκουρος καθηγητής



Faculty of Food Sciences

Wine, Vine and Beverage Sciences Department

**THESIS:**

Brewing with herbs: Application with Rose extract in three  
experimental brews

Theodora Mantasa

**SUPERVISOR**

Elisabeth Koussissi

EGALEO 2021

## Ευχαριστίες:

Η αποπεράτωση της παρούσας εργασίας και ειδικότερα στο διάστημα αυτό της πανδημίας του κορωνοϊού με τις όποιες δυσκολίες αυτό συνεπάγεται, δεν θα ήταν δυνατή χωρίς τη συμβολή ορισμένων ανθρώπων οι οποίοι παρέχοντας λύσεις, υποστήριξη και συμβουλές κατέστησαν την ιδέα υλοποιήσιμη.

Ειδικές ευχαριστίες λοιπόν πρέπει στην Επίκουρη καθηγήτρια Ελισάβετ Κουσίση για την επιστημονική της κατάρτιση, το καθοδηγητικό και συμβουλευτικό του χαρακτήρα της καθώς και την υπομονή της καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας της οποίας ήταν και εισηγήτρια.

Στους κ. Σοφοκλή και Γεώργιο Παναγιώτου, τόσο για την παραχώρηση μέρους των εγκαταστάσεων της μικροζυθοποιίας Septem και υλικών που απαιτήθηκαν για την υλοποίηση του πειράματος όσο και για την κατάθεση της εμπειρίας και των γνώσεων τους στην παρούσα εργασία. Φυσικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και το προσωπικό της μικροζυθοποιίας το οποίο με το οικογενειακό του κλίμα, την καλή του διάθεση και προπαντός την υπομονή του κατέστησαν πρόσφορο το έδαφος για την τεχνική υποστήριξη και δημιουργία των ζύθων που αποτελούν τον πυρήνα αυτής της πτυχιακής.

Στην κα. Φωτεινή Δρόσου για την στήριξη και καθοδήγησή της στο κομμάτι της χρωματογραφικής ανάλυσης και επεξεργασίας των δεδομένων, καθώς και στην υποψήφια διδάκτορα, Ελιάννα Τσάπου για την βοήθειά της στην σωστή συλλογή των δεδομένων αυτών.

Στις φοιτήτριες του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Επιστήμη Οίνου και Ζύθου» με κατεύθυνση τον Ζύθο, οι οποίες συμμετείχαν στην οργανοληπτική δοκιμή συνεισφέροντας στην έμπρακτη κατανόηση των προϊόντων που παρήχθησαν.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου οι οποίοι έπαιξαν βασικότατο ρόλο στην εκπαίδευση και εξέλιξή μου κατά τη φοίτησή μου και φυσικά, την οικογένειά μου και τα οικεία μου πρόσωπα, που μου έχουν σταθεί όλα αυτά τα χρόνια της πορείας μου και που με την υπομονή και την αγάπη τους, ενδυνάμωσαν και στήριξαν την προσπάθειά μου για την επίτευξη του καλύτερου δυνατού αποτελέσματος.

## Δήλωση Συγγραφέα Πτυχιακής Εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Θεοδώρα Μαντασά του Χρήστου, με αριθμό μητρώου 718151049 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

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

Η Δηλούσα



Θεοδώρα Μαντασά

## Περίληψη

Ενώ η χρήση βοτάνων-εκτός του λυκίσκου- στην ζυθοποίηση είναι μια παλιά πρακτική με διαφορετικές ιστορικές αναφορές, μόνο σχετικά πρόσφατα και στο πλαίσιο της τάσης των “craft” ζύθων έχουν αρχίσει να πειραματίζονται κάποιοι παραγωγοί με την χρήση αυτών για την παραγωγή νέων καινοτόμων προϊόντων ζύθου. Στην παρούσα εργασία θελήσαμε να μελετήσουμε, την επίδραση που έχει η προσθήκη του αιθέριου ελαίου από τριαντάφυλλο του γένους *Rosa damascena* στην ζυθοποίηση όταν αυτό προστίθεται σε διαφορετικά στάδια της παραγωγικής διαδικασίας. Πιο συγκεκριμένα δημιουργήσαμε τρεις πειραματικές συνθήκες: 1) Συνθήκη μάρτυρα με ζυθοποίηση χωρίς προσθήκη ελαίου αλλά μόνο λυκίσκου, 2) Συνθήκη με προσθήκη αιθέριου ελαίου μετά τις πρώτες επτά μέρες της αλκοολικής ζύμωσης και σε συνδυασμό με τον λυκίσκο, 3) Συνθήκη στην οποία προστέθηκε η ίδια ποσότητα αιθέριου ελαίου μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης -και σε συνδυασμό με την ίδια πάντα ποσότητα λυκίσκου. Έγινε παρακολούθηση της πορείας των ζυμώσεων και σύγκριση των τελικών προϊόντων βάση: 1) του αρωματικού προφίλ των ζύθων με ανάλυση των πτητικών τους συστατικών σε αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας, 2) του γενικού οργανοληπτικού τους προφίλ με μια μικρή ομάδα δοκιμαστών.

Τα αποτελέσματα δείξαν σημαντική στατιστική διαφοροποίηση των τελικών προϊόντων από τις τρεις συνθήκες, για τα παρακάτω οχτώ (8) πτητικά συστατικά: Εξανοϊκός Αιθυλεστέρας, (R)-Κιτρονελλόλη, Κιτρονελλόλη, Φαινυλο-ακετυλικό οξύ, γ-οκταλακτόνη, καπρολεϊκό οξύ, 3,4,5-τριμέθοξυ-φαινόλη, και νοναδεκάνιο.

Όσον αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ζύθων, η συνθήκη στην οποία προσθέσαμε το αιθέριο έλαιο μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, έδωσε ζύθους με αρκετά έντονο το άρωμα του τριαντάφυλλου και-μετά από ένα διάστημα ωρίμανσης τεσσάρων μηνών-με σχετικά μειωμένη πικρή γεύση. Αντιθέτως όταν το αιθέριο έλαιο προστέθηκε στις πρώτες μέρες της αλκοολικής ζύμωσης, το τελικό προϊόν είχε μια πιο διακριτική ανθική οσμή, όπου το τριαντάφυλλο ήταν διακριτό οριακά και τα αρώματα στην μύτη και το στόμα πιο πολύπλοκα.

## Abstract

Even though the use of herbs and spices-besides hops- has been employed in brewing throughout history, it has only been revisited recently by brewers, and predominantly by the so called “craft” brewers.

In this study we wanted to test the use of rose extract- from the *Rosa Damascena* rose variety- in brewing. Specifically, we wanted to study the effect of a rose extract addition at different stages of the brewing process. Therefore, we brewed three experimental conditions, all containing hops as well, for the purpose of having the same bitterness. In the first condition there was no addition of any rose extract, thus that condition served as the reference. In the second condition the rose extract was added while the wort was fermenting and specifically on day seven of the fermentation. Last, we added the rose extract to the third condition after the fermentation of the wort was completed.

We followed the fermentations of the different conditions and evaluated the final products through: a) quantification of the volatiles of the final beers through GC-MS and b) sensory analyses of the final products with a small group of experienced tasters.

Results indicated that the beers of the three conditions differed significantly in their aromatic profile for the following eight volatiles: Ethyl Hexanoate, R-Citronellol, Citronellol, Phenyl acetic acid, 9-Decenoic acid,  $\gamma$ -octalactone, 3,4,5-trimethoxyphenol, and Nonadecane.

Regarding the sensory analyses, the condition in which the rose extract was added after the fermentation was complete, demonstrated the strongest rose character, both in terms of aroma in the nose and mouth. On the other hand, the condition in which the rose extract was added during fermentation appeared to be also clearly floral but with a more discreet smell, demonstrating overall more complexity in its aromas.

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες: .....	4
Δήλωση Συγγραφέα Πτυχιακής Εργασίας .....	5
Περίληψη.....	6
Abstract .....	7
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ:</b> .....	11
1.1.: Άνθρωπος και ζύθος: Ιστορική Αναδρομή. ....	11
1.2.: Τα βότανα και η χρήση τους στα ποτά. ....	14
1.3.: Αιθέρια έλαια: Τρόποι χρήσης και παραγωγής τους,.....	17
1.4.: Τριαντάφυλλα και <i>Rosa damascena</i> . ....	18
1.5.: Ζύθος και τριαντάφυλλο. ....	21
<b>2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:</b> .....	24
<b>3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:</b> .....	25
3.1.: Πρώτες Ύλες. ....	25
3.2.: Εξοπλισμός. ....	26
3.3.: Ζυθοποίηση.....	28
3.3.1.: Βρασμός. ....	31
3.3.2.: Ζυμώσεις. ....	36
3.3.3.: Προσθήκη αιθέριου ελαίου. ....	39
3.3.4.: Ωρίμανση.....	40
3.4.: Μετρήσεις/Ποιοτικός έλεγχος στα τελικά προϊόντα. ....	40
3.5.: Εμφιάλωση.....	41
3.6.: Οργανοληπτική αξιολόγηση προϊόντος. ....	41
3.7.: Αέριος Χρωματογράφος-Φασματογράφος Μάζας.....	42
3.7.1.: Προετοιμασία του δείγματος και ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC/MS).....	42
3.7.2.: Συνθήκες Χρωματογραφικής Ανάλυσης. ....	45
3.7.3 Επεξεργασία αποτελεσμάτων Χρωματογραφικής ανάλυσης (GC-MS) .....	45
<b>4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ:</b> .....	46
4.1.: Η παραγωγή των ζύθων. ....	46
4.2.: Παρακολούθηση των ζυμώσεων. ....	47
4.2.1 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε γλεύκη εν ζύμωση.: ....	47
4.2.2 Πυκνότητα, πραγματικό εκχύλισμα και Αλκοόλη .....	47
4.3.: Σύντομη οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων μετά από 2 μήνες ωρίμανσης.	52



4.4.: Αποτελέσματα αναλύσεων στα τελικά προϊόντα .....	52
4.5.: Οργανοληπτική αξιολόγηση.....	53
4.6.: Αποτελέσματα αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας GC/MS.....	56
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	64
Βιβλιογραφία .....	66
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ: .....	69

### Κατάλογος Εικόνων.

Εικόνα 1 Puns 'n' Roses από την Moon Dog Brewery στην Αυστραλία, μια IPA ζυμωμένη με ροδόνερο .....	21
Εικόνα 2 Hops N' Roses της Captain Lawrence Brewing Company από τη Νέα Υόρκη ωριμασμένη με κυνόροδο σε δρύινα βαρέλια, με χρήση ενός άγριου στελέχους του μύκητα <i>Brettanomyces</i> .....	22
Εικόνα 3 Ramblin Rose από την District Brew Yards στο Σικάγο, μια IPA Rose Australian Ale. ....	22
Εικόνα 4 ROSE HIP GOLD από την Portland Brewing Company στην πολιτεία Όρεγκον της Αμερικής, μία Belgian style ale .....	23
Εικόνα 5 Oak and Orchard Rose από την Epic Brewing Company των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής με χρήση κυνόροδου, ιβίσκου και φράουλας .....	23
Εικόνα 6 Αιθέριο έλαιο <i>Rosa damascena</i> . ....	25
Εικόνα 7 Βύνη Wheat Malt της εταιρίας WEYERMANN .....	25
Εικόνα 8 Βύνη Maris Otter της εταιρίας CRISP. ....	26
Εικόνα 9 Μηχανικός μύλος σπασίματος της βύνης. ....	26
Εικόνα 10 Πιλοτικό σύστημα ζυθοποίησης. ....	27
Εικόνα 11 Δεξαμενές ζύμωσης 60 λίτρων	Εικόνα 12 Δεξαμενή ζύμωσης 20 λίτρων.....
.....	27
Εικόνα 13 Συσκευή αναλύσεων Anton Paar. ....	27
Εικόνα 14 Εισαγωγή της βύνης στον κάδο του μύλου.....	32
Εικόνα 15 Κεντρικό mass tank όπου έγινε η ομογενοποίηση της σπασμένης βύνης με το νερό. ....	32
Εικόνα 16 Εισαγωγή του μείγματος νερού και σιτηρών στο πιλοτικό lauter.....	33
Εικόνα 17 Κεντρικό ζυθοβραστήριο της εταιρίας – Whirlpool.....	34
Εικόνα 18 Απομάκρυνση των υπολειμμάτων από το κεντρικό lauter του ζυθοποιείου.....	34
Εικόνα 19 Κώνος του λυκίσκου New Zealand WAIMEA.....	35
Εικόνα 20 Ανάδευση δείγματος σε μαγνητική πλάκα. ....	37
Εικόνα 21 Τοποθέτηση δειγμάτων προς φυγοκέντρωση.....	37
Εικόνα 22 Ανάλυση δείγματος και καταγραφή των αποτελεσμάτων σε πίνακες. ....	38
Εικόνα 23 Εμφάνιση αποτελεσμάτων μετά το πέρας της ανάλυσης. ....	38
Εικόνα 24 Συλλογή δειγμάτων.	Εικόνα 25 Αποθήκευση δειγμάτων. ....
.....	38
Εικόνα 26 Συγκριτική μελέτη δειγμάτων.	Εικόνα 27 Παρακολούθηση αρωματικής εξέλιξης.....
.....	39

Εικόνα 28 Εξέταση της χρωματικής εξέλιξης των ζύθων. ....	40
Εικόνα 29 Οργανικοί διαλύτες. ....	43
Εικόνα 30 Ανάδευση δείγματος. ....	43
Εικόνα 31 Διαχωριστικές χράνες. ....	44
Εικόνα 32 Θεικό νάτριο. Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	44
Εικόνα 33 Οι τρεις παραχθέντες ζύθοι.....	46
Εικόνα 34 Εξέταση χρωματικής οξείδωσης στους τρεις ζύθους.....	53

### **Κατάλογος Σχημάτων**

Σχήμα. Πειραματική πορεία 1.....	29
Σχήμα. Πειραματική πορεία 2.....	30

Σχήμα 1 Εξέλιξη της πυκνότητας κατά την διάρκεια των 23 πρώτων ημερών της αλκοολικής ζύμωσης.....	48
Σχήμα 2 Εξέλιξη της πυκνότητας μέχρι την ημερομηνία εμφιάλωσης.....	48
Σχήμα 3 Εξέλιξη real extract κατά την διάρκεια των 23 πρώτων ημερών της αλκοολικής ζύμωσης.....	50
Σχήμα 4 Εξέλιξη real extract μέχρι την ημερομηνία εμφιάλωσης.....	50
Σχήμα 5 Εξέλιξη αλκοόλης κατά την διάρκεια των 23 πρώτων ημερών της αλκοολικής ζύμωσης.....	51
Σχήμα 6 Εξέλιξη αλκοόλης μέχρι την ημερομηνία εμφιάλωσης .....	51

### **Κατάλογος Πινάκων.**

Πίνακας 1 Φόρμα οργανοληπτικής αξιολόγησης. ....	42
Πίνακας 5 Μετρήσεις τελικού προϊόντος. ....	52
Πίνακας 6 Αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης. ....	54
Πίνακας 7 Τελικές πτητικές ενώσεις. ....	57
Πίνακας 8 Αποτελέσματα ANOVA.....	59
Πίνακας 2 Μετρήσεις πυκνότητας. ....	69
Πίνακας 3 Μετρήσεις real extract/ πραγματικού εκχυλίσματος.....	70
Πίνακας 4 Μετρήσεις αλκοόλης .....	70

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ:

### 1.1.: Άνθρωπος και ζύθος: Ιστορική Αναδρομή.

Ο ζύθος αποτελεί ένα προϊόν το οποίο είναι αποτέλεσμα τριών βιοχημικών διεργασιών. Αρχικά ο σχηματισμός των ενζύμων στο εσωτερικό του καρπού, έπειτα η διάσπαση του αμύλου του καρπού προς σάκχαρα από τα ένζυμα αυτά και τέλος η ζύμωση των σακχάρων αυτών προς CO<sub>2</sub> και αλκοόλη. Η μύρα συμπορεύεται με τον άνθρωπο εδώ και χιλιάδες χρόνια αλλά στους αρχαίους πολιτισμούς, όπου και είχε πρωτοεμφανιστεί σε μια πολύ πρώιμη μορφή της, τα στάδια αυτά ήταν φυσικά άγνωστα. Οι πρώτες αναφορές του ζύθου εντοπίζονται στη Μεσοποταμία (Kunze, W., 2004) και συγκεκριμένα στην αρχαία πόλη της Βαβυλώνας περίπου 8000 χρόνια πριν. Η παραγωγή και κατανάλωσή της συνδέθηκε με θρησκευτικές τελετές όπως συνέβη στον αρχαίο πολιτισμό της Αιγύπτου, αποτέλεσε το ποτό των κατώτερων κοινωνικών τάξεων στον ελληνικό και ρωμαϊκό πολιτισμό ενώ ήταν αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινότητας των Δανών και Αγγλοσαξόνων καθώς αποτελούσε το ποτό των ηρώων. (Bamforth, C.W., 2003).

Ο ζύθος ήταν ένα από τα ποτά που ξεδιψούσαν τους ανθρώπους μαζί με το κρασί αφού είχε παρατηρηθεί από πολύ νωρίς πως ήταν ακίνδυνη προς κατανάλωση, καθώς το νερό με τις διαδικασίες της ζύμωσης απαλλασσόταν από παθογόνους μικροοργανισμούς. Η μύρα άκμασε στις γερμανικές φυλές, στους Σκύθες, έναν αρχαίο νομαδικό λαό των Ευρασιατικών στεπών, τους Κέλτες κλπ. Η ζύμωση και παραγωγή της μύρας αποτελούσε γυναικεία αρμοδιότητα μέχρι την ίδρυση των πρώτων Χριστιανικών Ιερών Μονών όπου αποτέλεσε εμπορεύσιμο προϊόν προς επιβίωσή των μοναχών και φυσικά εμπλουτίστηκε και εξελίχθηκε (Kunze, W., 2004).

Πολλές από τις ευρωπαϊκές μύρες παράγονταν με τη προσθήκη διαφόρων μειγμάτων βοτάνων και μπαχαρικών. Ένα χαρακτηριστικό μείγμα αποτελεί αυτό του κοριάνδρου *Coriandrum sativum*, του κύμινου *Cuminum cyminum*, ψευδομυρικής *Myrica gale* και στρυχνίνης *Strychnos nux vomica*. Τα μείγματα αυτά ονομάζονταν gruit. Με αυτόν τον τρόπο αρωματιζόνταν και φυσικά διατηρούνταν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. (Bamforth, C.W., 2003).

Ο λυκίσκος ορίζεται πια ως μέσο αρωματισμού για χρήση στη ζυθοποίηση το 822μ.Χ. στη βόρεια Γαλλία. (Moshier, M. & Trantham K., 2017) Μέχρι εκείνη την περίοδο αλλά ακόμη και κατά τη διάρκεια αυτής, λόγω φτωχών σοδειών λυκίσκου και οικονομικών κριτηρίων η παραγωγή της μπίρας στράφηκε σε εναλλακτικές και πιο φθηνές πρώτες ύλες τόσο ως προς τα βότανα που χρησιμοποιούνταν αντί του λυκίσκου όσο και ως προς τα δημητριακά δηλαδή τις πηγές του αμύλου. Σύντομα όμως έγιναν γνωστές κάποιες ανεπιθύμητες επιπτώσεις από τη χρήση αυτών των υλικών και έτσι λόγω επικινδυνότητας των πρώτων υλών καθιερώθηκε με τον νόμο της καθαρότητας η χρήση μόνο λυκίσκου, βύνης και νερού (15<sup>ος</sup> αιώνας) (Kunze, W., 2004).

Με την πάροδο των ετών και αργότερα κατά την βιομηχανική επανάσταση πολλές σημαντικές ανακαλύψεις έκαναν την εμφάνισή τους ανατρέποντας και εξελίσσοντας τον τρόπο παραγωγής και κατανάλωσης της μπίρας. Κάποια παραδείγματα ανακαλύψεων υψίστης σημασίας είναι τα εξής:

- 1762: ο Michael Combrune χρησιμοποίησε πρώτη φορά θερμομότρο στη ζυθοποίηση.
- 1765: οι ατμομηχανές από τον James Watt
- 1784: το πρώτο σακχαρόμετρο από τον John Richardson
- 1823: η πρώτη βύνη με ονομασία ποικιλίας από τον Chevalier
- 1860: η κατανόηση του Pasteur περί της φυσικής αλλοίωσης των τροφίμων από μικροοργανισμούς
- 1876: τα τεχνητά συστήματα ψύξης από το Von Linde πράγμα που ανέδειξε το στυλ ζύθων τύπου lager ενώ η συντήρηση αυτή επέτρεψε στη μπίρα να ταξιδέψει σε ακόμα μακρύτερες αποστάσεις.
- 1885-1891: κλείσιμο φιαλών με crown cork στη Βαλτιμόρη από τον William Painter
- 1899-1905: οι κυλινδροκωνικές δεξαμενές με τις πατέντες του Nathan οδήγησαν σε παραγωγές μεγάλων ποσοτήτων.
- 1904: το πρώτο πρόγραμμα καλλιέργειας λυκίσκου με τη συμβολή του Howard στην Wye Valley στο Ηνωμένο Βασίλειο.
- 1934: έκαναν την εμφάνισή τους τα πρώτα τενεκεδάκια συσκευασίας μπίρας από την American Can Company.

Φτάνοντας στο σήμερα η γνώση πάνω στους μηχανισμούς πραγματοποίησης της ζύμωσης και η τεχνολογία επιτρέπει τον βασικό διαχωρισμό των ζύθων σε δύο κατηγορίες. Σε αυτές με χρήση αφροζυμών, όπως αποκαλούνται οι ζυμομύκητες που χρησιμοποιούνται, και σε αυτές με χρήση βυθοζυμών. Συνοπτικά, η ζύμωση μιας μπίρας με χρήση αφροζυμών απαιτεί υψηλή θερμοκρασία 15-25 °C ο τύπος της μπίρας που παράγεται με αυτό τον τρόπο καλείται Ale.

Η ζύμωση ζύθου με χρήση βυθοζυμών δουλεύει σε χαμηλές θερμοκρασίες 6-15 °C, και οι μύρες τέτοιου τύπου ανήκουν στην κατηγορία Lager η οποία πολλές φορές ταυτίζεται με τον όρο Pilsner, Pils.

Σαν κατηγορία συναντάμε και τις Draft μύρες. Με τον όρο αυτό γίνεται αναφορά σε μύρες οι οποίες βρίσκονται διαθέσιμες σε μεγάλες συσκευασίες όπως για παράδειγμα σε βαρέλι, χωρίς αυτό να ταυτίζεται με την δυνατότητα του συνολικού όγκου παραγωγής της επιχείρησης, αλλά και σε μύρες μη παστεριωμένες (Bamforth, C.W., 2003).

Τα τελευταία χρόνια γίνεται λόγος γύρω από τον όρο **craft** μύρες οι οποίες φαίνεται να έχουν αποκτήσει πολλούς ένθερμους καταναλωτές.

Μια μύρα για να χαρακτηριστεί Craft θα πρέπει αρχικά να προέρχεται από οποιοδήποτε μικρό, ανεξάρτητο ζυθοποιείο το οποίο χρησιμοποιεί παραδοσιακές μεθόδους ζυθοποίησης και έπειτα να προέρχεται επίσης από μικρές εγκαταστάσεις και σε μικρές ποσότητες. Σαν όρος ξεκίνησε να υφίσταται τη δεκαετία του 1960 (Jaeger<sup>a</sup> S.R., et al., 2020), όμως είναι γνωστό ότι από την εποχή των Σουμέριων αρωματιζόνταν οι μύρες με χρήση βοτάνων και μπαχαρικών όπως προαναφέρθηκε και πιο πάνω. Το γεγονός λοιπόν ότι αυτό γινόταν από ιδιώτες ζυθοποιούς, σε μικρές ποσότητες και με μηδαμινό έλεγχο για τα γνωστικά επίπεδα της εποχής, τις καθιστούσε μοναδικές και ήταν σχεδόν αδύνατο να παραχθεί ξανά η ίδια μύρα.

Μετά τη βιομηχανική επανάσταση η ζυθοποίηση έγινε πιο ελεγχόμενη και μαζικές πια παραγωγές έκαναν την εμφάνιση τους θέτοντας την αγορά της μύρας στα χέρια τεσσάρων ισχυρών εταιριών έως και το 2012 (Cardello<sup>a</sup> A.V., et al., 2016). Οι εταιρίες αυτές ήταν οι εξής: η AB InBev, η SABMiller, η Heineken και η Carlsberg (Howard H. P. 2013). Ωστόσο οι καταναλωτές ξεκίνησαν να αναζητούν νέες γεύσεις, τύπους και στυλ μύρας τις λεγόμενες craft από μικρές, αυτόνομες ζυθοποιείες (Cardello<sup>a</sup> A.V., et al., 2016).

Έτσι, λόγω της όλο και μεγαλύτερης επιθυμίας των καταναλωτών για τέτοια νέα στυλ ζύθων αναπτύχθηκε μια μεγάλη γκάμα craft μυρών (ales, lagers, IPAs, Stouts κλπ.) με ποικιλία στις ποιότητες των γεύσεων (φρουτώδεις, σοκολάτας, καφέ, βοτανικές κλπ.) και στον χαρακτήρα (με έντονο λυκίσκο, βυνώδεις, από βαρέλι κλπ.) (Jaeger<sup>a</sup> S.R. et al., 2020). Το γεγονός αυτό οδήγησε στην εύρεση και χρήση υλών που θα χαρίσουν τον επιθυμητό ιδιαίτερο χαρακτήρα στην craft μύρα.

Με αφορμή το μεγάλο αυτό ενδιαφέρον προς τις ιδιαίτερες craft μύρες και την τάση αυτή της αγοράς, η παρούσα έρευνα θα επικεντρωθεί στη χρήση φυτικών υλών και βοτάνων στη ζυθοποίηση προς απόκτηση ενός ιδιαίτερου χαρακτήρα στη μύρα και συγκεκριμένα του χαρακτήρα του τριαντάφυλλου.

## 1.2.: Τα βότανα και η χρήση τους στα ποτά.

Η ιστορική αναδρομή ως προς τη χρήση των βοτάνων από τον άνθρωπο ξεκινά αιώνες πίσω αφού είναι γνωστό πως εκτός από τις αρωματικές τους ιδιότητες διαθέτουν και πολλά πλεονεκτήματα όσον αφορά την ανθρώπινη υγεία. Βότανα με ιαματικές ιδιότητες καθώς και αρωματικά φυτά αποτελούν πρώτες ύλες εδώ και χρόνια για τη φαρμακευτική και την κοσμετολογία. Από μια άλλη οπτική, τα τελευταία χρόνια, τα φυτικά εκχυλίσματα βρίσκουν χρήσιμη εφαρμογή στην καλλιέργεια και συγκεκριμένα στον έλεγχο των παρασίτων. Η εφαρμογή αυτή βασίζεται στην ιδιότητα των φυτών μέσω χημικών ουσιών που παράγουν τα ίδια να ελέγχουν λειτουργίες άλλων φυτών που βρίσκονται στη γειτονιά τους.

Αρχικά οι φυτικές ύλες χρησιμοποιήθηκαν στη διατροφή του ανθρώπου (Vinatoru<sup>\*</sup>M., 2001) από αρχαιοτάτων χρόνων σε σάλτσες, λικέρ, σαλάτες, επιδόρπια αλλά και στην προετοιμασία ζεστών ποτών και ροφημάτων. Στη αρχαία Ρώμη διάφορα είδη τριαντάφυλλων χρησιμοποιούνταν για την παρασκευή πουρέ (purée) και ομελέτας. Στην Γαλλία κατά το Μεσαίωνα τα άνθη της καλέντουλας χρησιμοποιούνταν για ομελέτες, σαλάτες, συνοδευτικά τυριά. Στο Μεξικό άνθη ντάλιας χρησιμοποιούνταν για ξηρές σούπες (sopa seca) (Pires<sup>a</sup>T. C.S.P., et al., 2017).

Σύντομα ανακαλύφθηκαν και οι φαρμακευτικές τους ιδιότητες ενώ ήδη πολλά βότανα όπως η λεβάντα, ο ύσσωπος και το θυμάρι άρχισαν να καλλιεργούνται για τα αιθέρια έλαια τους και τις ιαματικές τους ιδιότητες. Υπάρχουν αναφορές σε παπύρους στην αρχαία Αίγυπτο για ιατρικές εφαρμογές του κοριάνδρου με καστορέλαια ενώ στην αρχαία κινεζική ιατρική βρέθηκαν χειρόγραφα που κατέγραφαν πάνω από 2.000 βότανα καθώς και πληροφορίες περί αυτών, οι οποίες αποτέλεσαν βάση για περαιτέρω έρευνα από τους πιο σύγχρονους επιστήμονες.

Στην αρχαία ελληνική και ρωμαϊκή αυτοκρατορία υπήρξε μια πιο εκτενής και βαθιά γνώση πάνω στη χρήση των ιαματικών βοτάνων (Vinatoru<sup>\*</sup>M., 2001) ενώ το άρωμα αποκαλούμενο ως “Queen of Hungary’s water”(Kurucz G., 1992) γνωστό ήδη από το 1380, ήταν το πρώτο αλκοολούχο εκχύλισμα από δεντρολίβανο το οποίο χρησιμοποιούνταν κατά κόρων στην Ευρώπη για 5 αιώνες. Τον 19<sup>ο</sup> αιώνα οι Γάλλοι προχώρησαν σε εκτενείς έρευνες και μελέτες πάνω στα βότανα και στα παράγωγα αυτών για να καλύψουν τη μεγάλη ζήτηση σε αρώματα ενώ παράλληλα στη Ρουμανία έγινε η εισαγωγή των ευεργετικών βοτάνων στη βιομηχανία με πρωτοπόρα την πόλη Cluj το 1904 (Vinatoru<sup>\*</sup>M., 2001). Μια μεγάλη ενότητα της εφαρμογής των βοτάνων είναι φυσικά αυτή της χρήσης τους από τη βιομηχανία ποτών. Πολλά βότανα τα οποία είναι πλούσια σε ορισμένες αρωματικές και φαινολικές ενώσεις και ιδιαίτερα τα αιθέρια έλαια αυτών χρησιμοποιούνται εδώ και χρόνια στην παρασκευή αλκοολούχων ποτών.

Αυτή η ενσωμάτωση των βοτάνων στην όποια μορφή τους μέσα στο εκάστοτε αλκοολούχο ποτό προσδίδει μια χαρακτηριστική νότα σε αυτό, που εμφανίζεται στη γεύση του, στο χρώμα και στο άρωμα του.

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο φαρμακευτικός οίνος ο οποίος χρησιμοποιείται εδώ και χρόνια για τις ιαματικές και ευεργετικές του ιδιότητες. Εμπορικά είδη αλκοολούχων ποτών με χρήση αρωματικών βοτάνων είναι η μπύρα, οι οίνοι ( φαρμακευτικοί οίνοι, βερμούτ ), και λικέρ (ήπια σε αλκοόλ: φρούτων, bitter. Ισχυρά σε αλκοόλ: μπράντυ, αρωματισμένα αποσταγμένα ποτά.) (Veljković V.B. and Stanković M.Z., 2003 ).

Στην περίπτωση της μπύρας ένα βότανο που χρησιμοποιήθηκε πριν ακόμη την εποχή του Χριστού είναι η μυρική *Myrica gale* μαζί φυσικά με τον λυκίσκο. Και άλλα βότανα χρησιμοποιούνταν συνδυαστικά με τον λυκίσκο ή και χωρίς αυτόν διότι φάνηκε να έχουν κάποιες ιδιότητες διατήρησης του προϊόντος και φυσικά κόστιζαν στους παραγωγούς λιγότερο απ'οτι κόστιζε ο λυκίσκος. Παρόλα αυτά λίγες μελέτες έχουν γίνει σήμερα ως προς τις ιδιότητες αυτές των εν λόγω βοτάνων (Hayward L., et al., 2019).

Τα βότανα συνήθως χρησιμοποιούνται αποξηραμένα παρά στη νωπή τους μορφή. Η χρονική περίοδος και η μέθοδος συγκομιδής τους διαφέρει σε κάθε περίπτωση ενώ πραγματοποιείται είτε χειρωνακτικά είτε με χρήση μηχανών. Εναέρια τμήματα κόβονται από το ύψος του εδάφους, φύλλα συλλέγονται και συνήθως ψιλοκόβονται πριν τη ξήρανση, άνθη αποκόπτονται ολόκληρα, καρποί παραμένουν για ορισμένο χρονικό διάστημα προκειμένου να ωριμάσουν περαιτέρω ή να αποξηραθούν. Οι σπόροι μπορούν εύκολα να απομακρυνθούν και να οδηγηθούν προς αποξήρανση ενώ ρίζες και άλλα μέρη πλένονται καλά και κόβονται σε μικρότερα μέρη. Τα βότανα τα οποία αποθηκεύονται φρέσκα μπορούν να διατηρηθούν για μικρό χρονικό διάστημα ενώ τυχόν αλλοιώσεις φαίνονται στο χρώμα, το άρωμα, την γεύση και τη γενικότερη εικόνα τους. Έτσι η ξήρανση αποτελεί λύση για περαιτέρω επεξεργασία των βοτάνων ενώ ταυτόχρονα μειώνεται και ο κίνδυνος αλλοιώσεων μικροβιακών ή μη.

Τα διάφορα αυτά μέρη του φυτού μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε καθαρά με αρωματικό σκοπό είτε και ως ζυμώσιμη ύλη και μέσο αρωματισμού. Η δυνατότητα ενός βοτάνου να ασκεί επιρροή στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ποτού εξαρτάται κυρίως από τη χημική του σύσταση και κατά συνέπεια από τις πτητικές και μη πτητικές ενώσεις του καθώς και το κατώφλι αντίληψης αυτών.

Οι μέθοδοι χρήσης των βοτάνων προς τον οργανοληπτικό εμπλουτισμό των ποτών είναι οι ακόλουθοι:

1. Εκχύλιση με απευθείας επαφή: Υλικό που θα τεθεί σε επαφή δηλαδή με τον υγρό/διαλύτη προς παραγωγή του ποτού. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η παραγωγή ορισμένων brandy με φρουτώδη χαρακτήρα ή bitters με πικρικές ύλες. Βότανα που χρησιμοποιούνται πλούσια σε αιθέριο έλαιο απαιτούν μεγάλη αλκοολοπεριεκτικότητα για την εκχύλιση αυτού στο υγρό π.χ. 70%νοι ενώ βότανα πλούσια σε φαινολικές; ενώσεις μπορούν να αποδώσουν και σε πιο χαμηλούς αλκοολικούς τίτλους π.χ. 50%νοι. Μετά το πέρασ του απαιτούμενου χρόνου παραμονής του φυτικού υλικού με το υγρό τότε εκείνο συμπιέζεται ώστε να απελευθερωθεί όλο το υγρό στοιχείο ενώ τα φυτικά μέρη απομακρύνονται από αυτό.
2. Προσθήκη εκχυλίσματος ή αιθέριου ελαίου του βοτάνου: Υλικό που θα αναμειχθεί με το απόσταγμα ή λοιπό ποτό με τη μορφή εκχυλίσματος κυρίως για παραγωγή λικέρ και αρωματισμένων ποτών (Veljković V.B. and Stanković M.Z., 2003).
3. Απόσταξη: Υλικό που θα υποβληθεί σε συναπόσταξη με κάποιο ουδέτερο οργανοληπτικά και υψηλής ποιότητας απεσταγμένο ποτό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα εδώ αποτελεί το gin εδώ το φυτικό υλικό κρατείται μέσα σε διάτρητο δίσκο ή σακούλα έτσι ώστε να είναι εύκολη η απομάκρυνση του.
4. Ζύμωση και απόσταξη: Πολλές φορές βότανα ή ύλες που διαθέτουν σάκχαρα τα οποία δύνανται να ζυμωθούν από τους ζυμομύκητες προς αιθανόλη χρησιμοποιούνται κατά τη ζύμωση. Στη συνέχεια πολλές φορές το μείγμα αυτό αποστάζεται και παραλαμβάνεται το ποτό (Veljković V.B. and Stanković M.Z., 2003).
5. Επαναπόσταξη ενός ποτού παρουσία των μέσων αρωματισμού είτε προσθέτοντας αυτά απευθείας στο δοχείο απόσταξης είτε τοποθετώντας αυτά σε σημείο από το οποίο περνούν οι υδρατμοί της απόσταξης και συμπαρασύρουν μαζί τους με ήπιο τρόπο όλα τα αρωματικά έλαια και συστατικά των αποξηραμένων ή μη βοτάνων που προορίζονται για τον εκάστοτε αρωματισμό (Christoph N. and Bauer-Christoph C., 2007).



### 1.3.: Αιθέρια έλαια: Τρόποι χρήσης και παραγωγής τους.

Εύχρηστη μορφή είναι και αυτή των αιθέριων ελαίων και άλλων εκχυλισμάτων. Η χρήση των βοτάνων με τη μορφή αιθέριου ελαίου απαιτεί προσοχή και σημασία σε ορισμένους παράγοντες όπως η σύνθεσή του, το χρώμα του και η αρωματική του ένταση καθώς παίζουν σημαντικό ρόλο, εκτός των άλλων, και στα οικονομικά κριτήρια παραγωγής του εκάστοτε ποτού.

Σε περίπτωση προσθήκης των βοτάνων ή των αιθέριων ελαίων κατά τη ζύμωση οι αρωματικοί πρόδρομοι που προέρχονται από αυτά πολλές φορές δρουν ως αναστολείς των ζυμομυκήτων με αποτέλεσμα να καθυστερεί η περάτωση της αλκοολικής ζύμωσης έως και κάποιες εβδομάδες. Βέβαια τα αιθέρια έλαια μπορούν να προστεθούν και απευθείας στο αλκοολούχο ποτό ενώ παράλληλα εξασφαλίζουν μια σιγουριά ως προς την ποιότητα των ποτών και λιγοστεύουν τους κινδύνους αλλοίωσης αυτού για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Σπάνια υπάρχει ομοιότητα μεταξύ των αιθέριων ελαίων και των βοτάνων από τα οποία προήλθαν. Αυτό συμβαίνει κυρίως λόγω των αλλαγών που υπέστησαν τα έλαια κατά τη διαδικασία διαχωρισμού και παραλαβής τους από την φυτική πρώτη ύλη(Veljković V.B. and Stanković M.Z., 2003).

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι με τις οποίες μπορούμε να εξάγουμε τα επιθυμητά έλαια από τις φυτικές πρώτες ύλες

Αρχικά η απόσταξη η οποία είτε μπορεί να γίνει απευθείας προς το εκάστοτε αιθέριο έλαιο, είτε με απόσταξη με υδρατμούς, είτε με απόσταξη με χρήση και νερού και ατμού. Στην περίπτωση αυτή η φυτική ύλη αναμιγνύεται ή και όχι με νερό το οποίο θερμαίνουμε ή το εμπλουτίζουμε με ατμό. Έπειτα οι υδρατμοί συλλέγονται σε σημείο όπου θα γίνει ο διαχωρισμός του νερού και του ελαίου. Το έλαιο για μεγαλύτερη καθαρότητα μπορεί να επαναποσταχθεί.

Ευρεία χρήση έχει και η μέθοδος της εκχύλισης η οποία μπορεί να διεξαχθεί με πολλές διαφορετικές τεχνικές. Παραδείγματα αποτελούν η εκχύλιση με χρήση διαλύτη, η διαβροχή με διαλυτικό μέσο και άλλα. Η βασική αρχή εδώ είναι η ανάκτηση των επιθυμητών ελαίων με χρήση ενός διαλύτη ο οποίος μπορεί χημικά να τα συμπαρασύρει και έπειτα να διαχωριστούν από αυτόν με χρήση άλλων μεθόδων διαχωρισμού(Vinatoru\* M., 2001).

Στον τομέα των τριαντάφυλλων που αφορούν την παρούσα έρευνα αξίζει να σημειωθεί πως εκτός από την μέθοδο της απόσταξης που θα αναλυθεί παρακάτω εκτενέστερα έχει εφαρμοστεί και η τεχνική της εκχύλισης με τον ακόλουθο τρόπο: τα άνθη αμέσως μετά την συλλογή τους ψύχονται με χρήση υγρού αζώτου και στη συνέχεια θρυμματίζονται δημιουργώντας μια πούδρα από το αρχικό υλικό στην

οποία και εφαρμόζονται οι οργανικοί διαλύτες (π.χ. Chloroform, ethyl acetate, hexane) (Rusanov K. E. et al., 2011)

Έπειτα η πιο συνηθισμένη μέθοδος για την παραγωγή φυσικών ελαίων είναι η συμπίεση εν ψυχρώ ενώ τα τελευταία χρόνια εφαρμόζονται από τις βιομηχανίες παραγωγής αιθέριων ελαίων και μη συμβατικές τεχνικές εκχύλισης όπως για παράδειγμα αυτή της υπερκρίσιμης εκχύλισης με χρήση CO<sub>2</sub> (SFE). Εδώ το αέριο διοξείδιο του άνθρακα οδηγείται στο κρίσιμο σημείο του και υγροποιείται συμπαρασύροντας και διαλυτοποιώντας ακόμη και τις πιο δυσδιάλυτες ενώσεις κατά την εφαρμογή του απευθείας σε στερεά υλικά. Προσφέρει πολύ καλές αποδόσεις και είναι εύκολος ο διαχωρισμός του μετά το πέρας της εκχύλισης καθώς μπορεί έπειτα να θερμανθεί και να περάσει στην αέρια του φάση αφήνοντας το αιθέριο έλαιο καθαρό από προσμίξεις.

Ένα άλλο παράδειγμα αποτελεί και η εκχύλιση με χρήση ενός υψηλής ταχύτητας ανακινητή ο οποίος βελτιώνει την απόδοση της εκχύλισης λόγω την έντονης κινητοποίησης των υλικών προκαλώντας έτσι την μεγαλύτερη επιφάνεια επαφής μεταξύ της φυτικής πρώτης ύλης και του διαλύτη (Vinatoru\* M., 2001).

#### 1.4.: Τριαντάφυλλα και *Rosa damascena*.

Το τριαντάφυλλο αποτελεί την πηγή αντλήσεως του αιθέριου ελαίου που θα χρησιμοποιηθεί στην παρούσα πειραματική εργασία για την παρασκευή ενός ιδιαίτερου τύπου μπίρας.

Ανά τους αιώνες το τριαντάφυλλο χρησιμοποιήθηκε από πολλούς πολιτισμούς ενώ αρκετά μέρη του φυτού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τις ευεργετικές τους ιδιότητες όπως αναφέρθηκε και παραπάνω στην ενότητα των βότανων.

Πιο συγκεκριμένα, τα πέταλα χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου όπως προαναφέρθηκε αλλά και στην επιστήμη της κοσμετολογίας και παραγωγής αιθέριων ελαίων για διάφορες χρήσεις. Περιέχουν σε γενικές γραμμές, αλκοόλες ενώ συναντώνται στερόλες, εστέρες, αλκάνια, αλκένια και κετόνες (Dunphy\* P.J., 2006). Ονομαστικά μπορεί και είναι χρήσιμο να γίνει αναφορά στις παρακάτω ενώσεις οι οποίες ανιχνεύονται σε αιθέρια έλαια και εκχυλίσματα του άνθους του τριαντάφυλλου, αυτές είναι: Nerol, Ethanol, Geraniol, Citronellol, 2-Phenylethanol, Heptadecane, Nonadecane, 9-Nonadecene, Tricosane, Heneicosane, Nonacosane, Pentacosane . (Rusanov K. E. et al., 2011)

Αντίστοιχα όσων αφορά το τριαντάφυλλο σημαντική χρήση βρίσκουν και οι καρποί του, οι οποίοι απομένουν μετά την ανθοφορία. Οι τελευταίοι έχουν αποτελέσει συστατικά σε τροφές, φαρμακευτικά παρασκευάσματα, σε ποτά με προβιοτικές ιδιότητες, σούπες, γιαούρτια. Το ενδιαφέρον μάλιστα τα τελευταία χρόνια αυξάνεται

προς αυτά διότι έχει βρεθεί πως έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε προβιοτικά συστατικά σε σχέση με άλλα φρούτα, ασκορβικό οξύ, φαινολικά συστατικά, καροτενοειδή και ευεργετικά για την υγεία λιπαρά οξέα (Andersson<sup>a,b,d,\*</sup> S.C., 2011).

Το γένος *Rosa* περιλαμβάνει πάνω από 100 είδη σε Ευρώπη, Ασία, Μέση Ανατολή και βόρεια Αμερική. Περίπου 25 είδη έχουν εντοπιστεί στην Τουρκία προσαρμοσμένα είτε στο επίπεδο της θάλασσας είτε σε ύψος 3000 μέτρων (KAZAZ<sup>1</sup> S. S., et al., 2009).

Το είδος *Rosa damascena* που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία είναι το σπουδαιότερο σε χρήση για την παρασκευή υψηλής αξίας αιθέριου ελαίου (Baydar<sup>a,\*</sup> N. G. and Baydar<sup>b</sup> H., 2013). Ανήκει στην οικογένεια *Rosaceae*, θεωρείται γενικά να είναι υβρίδιο και καλλιεργείται εδώ και αιώνες (Tsanaktsidis C. G<sup>a\*</sup>, et. al, 2012). Συναντάται σε Νότια Γαλλία, Νότια Ιταλία, Μαρόκο, Λιβύη, Τουρκία, Ουκρανία, Κριμαία, Καύκασο, Συρία, Ινδία, Κίνα, Βόρεια Κορέα (Büttner, 2001) και στον ελλαδικό χώρο κυρίως στην περιοχή της Κοζάνης (Tsanaktsidis C. G<sup>a\*</sup>, et. al, 2012).

Παρόλα αυτά υπάρχουν μόνο δύο περιοχές όπου οι συνθήκες ανάπτυξης και καλλιέργειας είναι ιδανικές, η Ισπάρτα στην Τουρκία και η Καζανλούκ κοιλάδα της Βουλγαρίας (Ercisli S., 2005),.

Πιο συγκεκριμένα η Ισπάρτα αποκαλείται και 'Rose Valley of Turkey' τίτλος που δικαιολογείται αν ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι αποτελεί περιοχή βιομηχανικής καλλιέργειας τριαντάφυλλου από το 1888. Ο αέρας, η υγρασία, οι συννεφίες, και η ηλιοφάνεια κατά την περίοδο της ανθοφορίας είναι ιδανικές για την ποιοτική απόδοση των φυτών. 10.000 οικογένειες που έχουν αφιερωθεί στην καλλιέργεια τριαντάφυλλων συλλέγουν χειρωνακτικά 10.000 τόνους ανθών ετησίως από μια περιοχή 2.500 ha ενώ υπάρχουν 16 βιομηχανίες επεξεργασίας και παραγωγής προϊόντων από αυτά (Erbas<sup>\*</sup> S. and Baydar H.,2016).

Η κοιλάδα των ρόδων της Βουλγαρίας από την άλλη έχει παράδοση στην καλλιέργεια τριαντάφυλλων πάνω από 300 χρόνια. Βρίσκεται στο κέντρο της χώρας και περιβάλλεται από δύο βουνά γεγονός που δημιουργεί ένα μοναδικό κλίμα το οποίο προσφέρει αφενός, χειμώνες όχι και τόσο κρύους και αφετέρου καλοκαίρια όχι υπερβολικά ζεστά σε σχέση πάντα με τις συνθήκες που επικρατούν στην υπόλοιπη χώρα. Η κοιλάδα αυτή έχει μήκος 90χλμ και πλάτος 10χλμ ενώ το μέσο υψόμετρο είναι στα 350μ. (Rusanov<sup>a,\*</sup> K. et. al., 2012). Η καλλιέργεια των ρόδων για την Βουλγαρία αποτελεί κινητήριο τροχό για την βιομηχανία, την οικονομία, το επιχειρείν και την απασχόληση ανθρωπίνου δυναμικού από πόλεις και χωριά κοντά στη περιοχή. Αξιοσημείωτο είναι ότι συνολικά η καλλιέργεια τριαντάφυλλων σε όλη τη χώρα απασχολεί πάνω από 65.000 εργαζόμενους κυρίως εποχιακούς.

Η ετήσια παραγωγή αιθέριου ελαίου στην Βουλγαρία φαίνεται να έχει ανοδική πορεία. Πιο συγκεκριμένα στις χρονολογίες 2001 έως 2008 η παραγωγή ελαίου από

1020 κιλά/έτος αυξήθηκε στα 1800 κιλά/έτος ενώ η τιμή του εν λόγω ελαίου για τις ίδιες χρονολογίες από 3.217 ευρώ/κιλό αυξήθηκε στα 4.600 ευρώ/κιλό (Kovacheva N. et. al., 2010)

Είναι ένας φυλλοβόλος θάμνος ενώ ένα ώριμο φυτό μπορεί να υπερβεί τα 2,5 μέτρα ύψος. Διαθέτει καλοσηματισμένους βλαστούς με πολλές διακλαδώσεις και πυκνά αγκάθια, 5 με 7 πολύπλοκα φύλλα, ροζ ή ροζ-κόκκινα άνθη με 30 πέταλα και το έντονο, χαρακτηριστικό της ποικιλίας του, άρωμα. Ακμάζει σε ημιορεινές περιοχές με αρκετές βροχοπτώσεις και καλή στράγγιση του εδάφους. Ανθίζει μία φορά το χρόνο, Μάιο με Ιούνιο, ενώ ένα ανεπτυγμένο φυτό από 4 έτη και άνω μπορεί να δώσει 500 με 600 άνθη κατά την ανθοφορία.

Το εν λόγω αιθέριο έλαιο από *Rosa damascena* καλείται και υγρός χρυσός (“fluid gold”) λόγω της υψηλής του αξίας και του κύριου ρόλου του στη βιομηχανία της αρωματοποιίας. Αξίζει μάλιστα να σημειωθεί ότι το ροδέλαιο είναι 3 φορές πιο ακριβό από τον χρυσό και απαιτούνται περίπου 4000kg ανθών για την παρασκευή 1kg ελαίου.

Για την διαδικασία παρασκευής του αιθέριου ελαίου κρίνεται αναγκαίο οι ώρες του τρυγητού να είναι οι πρώτες πρωινές ώρες, συνήθως 5:30 με 9:00, καθώς αυτή είναι η περίοδος με την υψηλότερη και καλύτερη συγκέντρωση ελαίου. Συλλέγονται όλα τα ανοιγμένα άνθη και σε λιγότερο από 1 ώρα θα πρέπει να έχουν μετακινηθεί στο χώρο που θα πραγματοποιηθεί η απόσταξη. Σε αυτό το σημείο τοποθετούνται τα ροδοπέταλα μαζί με νερό για βρασμό περίπου για 1 ώρα ενώ οι υδρατμοί που θα προκύψουν ψύχονται και υγροποιούνται. Το προϊόν που προκύπτει καλείται ροδόνηρο από το οποίο μόλις το 15% είναι το επιθυμητό αιθέριο έλαιο. Συνεπώς η διαδικασία διαχωρισμού συνεχίζεται με το ροδόνηρο να επαναποστάζεται προκειμένου να ανακτηθεί καθαρό και συμπυκνωμένο το αιθέριο έλαιο. Το τελικό προϊόν εμπεριέχει στη σύστασή του  $C_{10}H_{20}O$  (σιτρονελλόλη - citronellol),  $C_{10}H_{18}O$  (γερανιόλη - geraniol),  $C_{19}H_{40}$  (νοναδεκάνη - nonadecane) και  $C_{12}H_{16}O_2$  (αιθυλ-ευγενόλη – ethyl eugenol) (Tsanaktsidis C. G<sup>α\*</sup>, et. al, 2012).

Προϊόντα που προκύπτουν από το είδος *Rosa damascena* χρησιμοποιούνται για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες αφού αποδείχθηκε ότι ακόμη και ένα τσάι από τα πέταλα του άνθους έχει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση ακόμα και από το πράσινο τσάι ( Baydar<sup>α\*</sup> N. G. and Baydar<sup>β</sup> H., 2013). Επιπλέον οι πολυφαινόλες που έχουν εξαχθεί από παραπροϊόντα ροδοπέταλων δρουν ως χρωστικές και βελτιώνουν το χρώμα κατά τη διάρκεια συμπίεσης και συσκευασίας φρούτων (Shikov<sup>α,β</sup> V., et. al., 2012) ενώ και σε ποτά, με βάση κάποια φρούτα όπως η φράουλα, μειώνουν τη θερμική αποικοδόμηση των ανθοκυανών της βελτιώνοντας έτσι την σταθεροποίηση του χρώματος (Mollov<sup>α</sup> P. et. al., 2007).

Το αιθέριο έλαιο συγκεκριμένα από *Rosa damascena* έχει πολλές φαρμακευτικές επιδράσεις όπως η θεραπευτική ιδιότητα στην προεμμηνορροϊκή ευαισθησία του μαστού και μείωση της φλεγμονής ενώ αποτελεί φυσικό φάρμακο λόγω της βακτηριοστατικής και αντισπασμωδικής του δράσης. Χρησιμοποιείται στην αρωματοθεραπεία για θεραπεία καρδιακών ασθενειών και για χαλάρωση ενώ παράλληλα ευρεία χρήση έχει στην κοσμετολογία αλλά και στη ζαχαροπλαστική και αρτοποιία (Tsanaktsidis C. G<sup>α\*</sup>, et. al, 2012).

### 1.5.: Ζύθος και τριαντάφυλλο.

Μέσα στο κλίμα της εποχής που ζητά ιδιαίτερες μύρες και μοναδικούς συνδυασμούς δεν λείπουν οι πειραματισμοί με το τριαντάφυλλο στη ζυθοποίηση. Αν και δεν υπάρχουν συγκεκριμένες επιστημονικές μελέτες και αναφορές για τη χρήση τριαντάφυλλου στην παραγωγή μύρας δεν είναι λίγες οι εμπορικές ετικέτες πολλών μικροζυθοποιείων ανά τον κόσμο που επιχειρούν τον συνδυασμό αυτό στις craft μύρες τους. Κάποια χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι τα εξής:



Εικόνα 1 Puns 'n' Roses από την Moon Dog Brewery στην Αυστραλία, μια IPA ζυμωμένη με ροδόνερο

( <https://moondogbrewing.com.au/> )



Εικόνα 2 Hops N' Roses της Captain Lawrence Brewing Company από τη Νέα Υόρκη ωριμασμένη με κυνόροδο σε δρύινα βαρέλια, με χρήση ενός άγριου στελέχους του μύκητα *Brettanomyces*

(<https://www.captainlawrencebrewing.com/>)



Εικόνα 3 Ramblin Rose από την District Brew Yards στο Σικάγο, μια IPA Rose Australian Ale.

(<https://districtbrewyards.com/current-drafts/>)





Εικόνα 4 ROSE HIP GOLD από την Portland Brewing Company στην πολιτεία Όρεγκον της Αμερικής, μία Belgian style ale

. (<https://www.portlandbrewing.com/beer/>)



Εικόνα 5 Oak and Orchard Rose από την Epic Brewing Company των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής με χρήση κυνόροδου, ιβίσκου και φράουλας

. (<https://www.epicbrewing.com/the-beers/exponential-series/item/8873-oak-and-orchard>)

## 2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στο να ερευνήσει την συνύπαρξη ενός αιθέριου ελαίου με τη μύρα όταν αυτό προστίθεται σε αυτήν σε διαφορετικές φάσεις της παραγωγής της. Πιο συγκεκριμένα, θέλαμε να μελετήσουμε την επίδραση του αιθέριου ελαίου από το τριαντάφυλλο *Rosa damascena* τόσο στη διαδικασία ζύμωσης και ωρίμανσης της μύρας, όσο και στο αρωματικό προφίλ του τελικού προϊόντος όπως αυτό μετριέται με έναν αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC-MS), και αποτυπώνεται στον συνολικό τελικό του οργανοληπτικό χαρακτήρα.

Το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε για την πειραματική διεκπεραίωση της ιδέας χωρίστηκε σε τρεις συνθήκες. Η πρώτη συνθήκη περιλαμβάνει τη παρασκευή της μύρας χωρίς καμία προσθήκη αιθέριου ελαίου τριαντάφυλλου, γεγονός που την καθιστά μάρτυρα ως προς τις συγκρίσεις που γίνονται για τη διεξαγωγή των τελικών συμπερασμάτων. Η δεύτερη συνθήκη αποτελείται από το ίδιο ζυθογλεύκος στο οποίο το αιθέριο έλαιο προστέθηκε λίγες μέρες μετά την έναρξη της ζύμωσης ώστε αυτή να είναι στην εκθετική της φάση. Τέλος στην τρίτη συνθήκη το αιθέριο έλαιο προστέθηκε στο τέλος της ζύμωσης, κατά την αποζύμωση και ωρίμανση ώστε να ερευνηθεί η επίδραση του στη διάρκεια αυτής. Με αυτόν τον τρόπο και μετά το πέρας του σταδίου των πειραματικών ζυθοποιήσεων σκοπός ήταν να γίνει αποτύπωση των πτητικών-αρωματικών ενώσεων με την χρήση του αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας (GC-MS) στα τελικά προϊόντα της κάθε πειραματικής συνθήκης. Τέλος έλαβε χώρα και οργανοληπτική αξιολόγηση των τελικών προϊόντων, μέσω περιγραφικής ανάλυσης αυτών και κοιτάζοντας συνολικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους (όχι μόνο τον αρωματικό χαρακτήρα αυτών δηλαδή).



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:

Όλες οι διαδικασίες παραγωγής της μύρας πραγματοποιήθηκαν εξ ολοκλήρου στις εγκαταστάσεις της μικροζυθοποιίας Septem στην ευρύτερη περιοχή του Αυλωναρίου Ευβοίας.

#### 3.1.: Πρώτες Ύλες.

- Επιλέχθηκαν οι βύνες: Maris Otter της εταιρίας CRISP (<https://crispmalt.com/our-malts/>) (extract: 81,5% EBC & colour: 5.5-7.5 EBC) και Wheat malt της εταιρίας WEYERMANN (<https://www.weyermann.de/in/>) (extract: 80% & colour: 3.0-5.0 EBC).
- Το στέλεχος του ζυμομύκητα που επιλέχθηκε ήταν η US-05 (*Saccharomyces cerevisiae*) ale, ουδέτερη ζύμη με χαμηλή απόδοση σε εστέρες και μέτρια σε ανώτερες αλκοόλες ενώ είναι και +/- σε flocculation. ( <https://fermentis.com/en/> )
- Ο λυκίσκος που προστέθηκε ήταν της ποικιλίας: WAIMEA. Λυκίσκος διπλής χρήσης με α-οξέα (14,6%) και β-οξέα (6,42%) ( <https://nzhops.co.nz/products/waimea> )
- Το αιθέριο έλαιο που χρησιμοποιήθηκε διακινείται από την αυστριακή εταιρία STYX, προέρχεται από άνθη του είδους *Rosa damascena* και είναι βουλγαρικής προέλευσης. (<https://www.styx.at/en/home>)



Εικόνα 6 Αιθέριο έλαιο *Rosa damascena*.



Εικόνα 7 Βύνη Wheat Malt της εταιρίας WEYERMANN



Εικόνα 8 Βύνη Maris Otter της εταιρίας CRISP.

### 3.2.: Εξοπλισμός.

Χρησιμοποιήθηκαν 2 δεξαμενές περιεκτικότητας 60 λίτρων και ένα βαρέλι τύπου draft, ανοξείδωτο χωρητικότητας 20 λίτρων.

Για τις λοιπές διαδικασίες παραγωγής του βυνογλεύκου χρησιμοποιήθηκε ο μηχανικός μύλος για το επιθυμητό σπάσιμο της βύνης, η δεξαμενή πολτοποίησης (Mass tank) των κεντρικών εγκαταστάσεων του ζυθοποιείου καθώς και η δεξαμενή βρασμού (Whirlpool tank) αλλά και το πιλοτικό σύστημα γλυκοποίησης.



Εικόνα 9 Μηχανικός μύλος σπασίματος της βύνης.



Εικόνα 10 Πιλοτικό σύστημα ζυθοποίησης.



Εικόνα 11 Δεξαμενές ζύμωσης 60 λίτρων



Εικόνα 12 Δεξαμενή ζύμωσης 20 λίτρων.

Για την επιτυχή παρακολούθηση των ζυμώσεων χρησιμοποιήθηκε εργαστηριακός εξοπλισμός, πλάκες ανάδευσης, φυγόκεντρος, για την προετοιμασία των δειγμάτων και το σύστημα αναλύσεων της εταιρίας Anton Paar για την καταγραφή των δεδομένων. Η μικροπιπέτα που χρησιμοποιήθηκε για την προσθήκη του αιθέριου ελαίου ήταν η ISOLAB Micropipette.



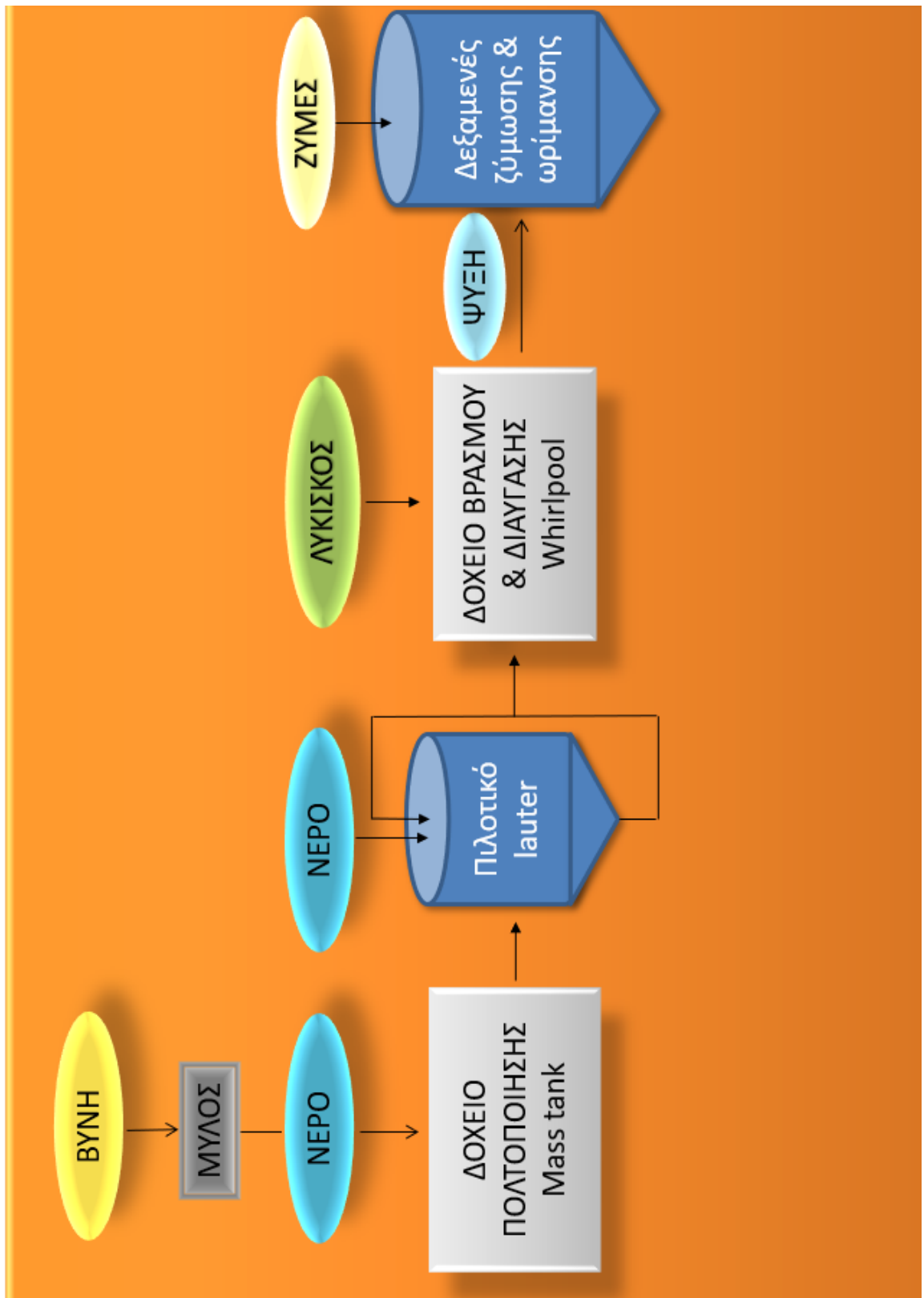
Εικόνα 13 Συσκευή αναλύσεων Anton Paar.

Τέλος για την εμφιάλωση χρησιμοποιήθηκε χειροκίνητο ισοβαρικό σύστημα εμφιάλωσης, φιάλες χωρητικότητας 500ml και πώματα τύπου crown για το κλείσιμο αυτών.

### 3.3.: Ζυθοποίηση.

Ο συνολικός πειραματικός σχεδιασμός για την παραγωγή των ζύθων φαίνεται στα σχήματα.

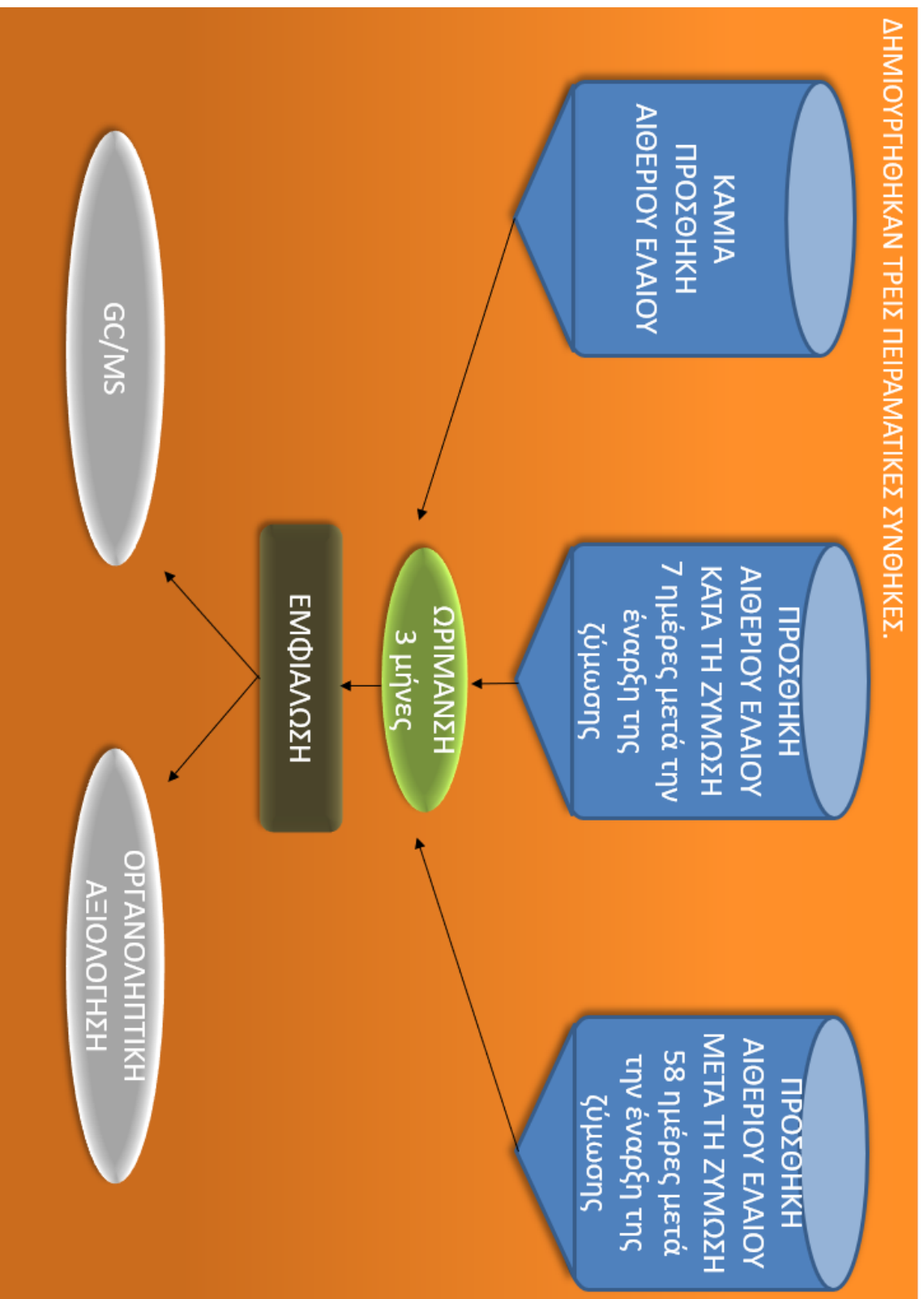
ΠΛΑΝΟ ΖΥΘΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΕ ΤΡΕΙΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΑΙΘ. ΕΛΑΙΟΥ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ.



Σχήμα. Πειραματική πορεία 1

## ΠΛΑΝΟ ΖΥΘΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΕ ΤΡΕΙΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΑΙΘ.ΕΝΑΙΟΥ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΑΟΥ.

ΔΗΜΙΟΥΡΓΗΘΗΚΑΝ ΤΡΕΙΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ.



Σχήμα. Πειραματική πορεία 2

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το ζυθογλεύκος που αποτέλεσε το βασικό αντικείμενο της παρούσας έρευνας είναι μέρος από την κύρια βρασιά του ζυθοποιείου προς παραγωγή συγκεκριμένης ετικέτας ζύθου της εταιρίας.

Κατά συνέπεια και λόγω ορισμένων μηχανικών βλαβών έγιναν κάποιες μεταφορές του βυνογλεύκους σε διαφορετικά δοχεία από τα αναμενόμενα με σκοπό την ορθή αποπεράτωση της διαδικασίας παραγωγής του ζυθογλεύκους, δηλαδή μέχρι και τη διαδικασία του whirlpool.

Και τα τρία ζυθογλεύκη ζύμωσαν σε ξεχωριστούς περιέκτες. Οι δυο συνθήκες οι οποίες θα δέχονταν προσθήκη του αιθέριου ελαίου ζύμωσαν στις δυο ίδιες δεξαμενές χωρητικότητας 60 λίτρων η κάθε μια, ενώ η συνθήκη που θα αποτελούσε το τυφλό της εργασίας, λόγω έλλειψης διαθεσιμότητας χώρου, ζυμώθηκε σε ανοξείδωτο περιέκτη τύπου βαρελιού μπύρας (draft), χωρητικότητας 20 λίτρων.

Η θερμοκρασία μπορούσε να ελεγχθεί στους δύο 60λιτρους περιέκτες και η ζύμωση πραγματοποιήθηκε στους 18,5 °C ενώ στον 20λιτρο περιέκτη δεν ήταν δυνατός κάποιος έλεγχος, προσεγγιστικά και λόγω των διπλών τοιχωμάτων που διαθέτει δεν θεωρείται δυνατή η άνοδος της θερμοκρασίας άνω των 18 βαθμών κελσίου.

Τελικός στόχος ήταν η παραγωγή ενός ζύθου τύπου Pale Ale με αλκοόλη ~ 6-6,5 βαθμών % vol. και πικράδας περί των 40 IBU.

### 3.3.1.: Βρασμός.

Η διαδικασία παραγωγής του βυνογλεύκους και εν συνεχεία ζυθογλεύκους πραγματοποιήθηκε στις 24 Φεβρουαρίου 2020.

Για την κεντρική βρασιά της εταιρίας:

Επιλέχθηκαν 2 σακιά βύνης M. Otter (50kg) και 1 σακί βύνης Wheat Weyermann (25kg) και οδηγήθηκαν σταδιακά προς σπάσιμο στον μηχανικό μύλο ώστε να συμπαρασυρθούν μαζί με ελεγχόμενη ποσότητα ζεστού νερού στο Mass tank όπου πραγματοποιήθηκε η πολτοποίηση και άρα η δράση των ενζύμων πάνω στο άμυλο των κόκκων.





Εικόνα 14 Εισαγωγή της βύνης στον κάδο του μύλου.

Οι ποσότητες των σπασμένων σιτηρών περνούσαν στο κεντρικό Mass tank του ζυθοποιείου ανακατεύονταν για να ομογενοποιηθούν και περνούσαν απευθείας στο πιλοτικό Lauter.



Εικόνα 15 Κεντρικό mass tank όπου έγινε η ομογενοποίηση της σπασμένης βύνης με το νερό.



Πέρασαν 130 λίτρα στο πιλοτικό lauter tank με σκοπό να ακολουθηθεί εκεί ένα διαφορετικό πρόγραμμα πολτοποίησης για να παραχθεί μια πιο χαμηλόβαθμη μπίρα σε σχέση με το κεντρικό batch του ζυθοποιείου.



Εικόνα 16 Εισαγωγή του μείγματος νερού και σιτηρών στο πιλοτικό lauter.

Ο πολτός έμεινε στο πιλοτικό lauter 40 με 45 λεπτά στους 75 βαθμούς κελσίου, σε pH 5,33 και έπειτα ξεκίνησε η άντληση υγρού από το κάτω μέρος της δεξαμενής και επαναροή αυτού από το πάνω μέρος της δεξαμενής μέχρις ότου να παρουσιάζεται διαυγές το υγρό στο γυαλί παρατήρησης στο κάτω μέρος του δοχείου. Αυτό στην συνήθη πρακτική, σημαίνει πως έχει σχηματιστεί η φυσική στιβάδα διαχωρισμού του βυνογλεύκους αποτελούμενη από τα ίδια τα λέπυρα του κριθαριού. Όταν συνέβη αυτό τότε έκλεισαν οι βάνες επαναροής στο lauter και το βυνογλεύκος οδηγήθηκε στον άλλο περιέκτη του mass tank στον οποίο ήταν προγραμματισμένο να γίνει και ο βρασμός.

Στη συνέχεια το σύστημα ξεκίνησε να ξεπλένει με νερό από το πάνω μέρος του lauter και να στέλνει στο mass tank από το κάτω μέρος, με σκοπό να ανακτηθούν όσο το δυνατόν περισσότερα σάκχαρα γίνεται από τα συμπιεσμένα, σπασμένα τμήματα του κριθαριού.

Τελικά η όλη διαδικασία σταμάτησε όταν το βυνογλεύκος στο mass tank είχε περιεκτικότητα σε ζάχαρα που αντιστοιχούσαν τα 14,87 Plato. Τότε ξεκίνησε ο βρασμός στο mass tank για τουλάχιστον μια ώρα.

Λόγω μηχανικής δυσλειτουργίας του συστήματος θέρμανσης του πιλοτικού mass tank, το βυνογλεύκος οδηγήθηκε αναγκαστικά στη δεξαμενή whirlpool του ζυθοποιείου με σκοπό να πραγματοποιηθεί ο βρασμός εκεί μαζί με την υπόλοιπη ποσότητα του κεντρικού batch της εταιρίας.



Εικόνα 17 Κεντρικό ζυθοβραστήριο της εταιρίας – Whirlpool.

Τα υπολείμματα βυνών αποσύρθηκαν ενώ ο βρασμός στο μεγάλο whirlpool του ζυθοποιείου διήρκεσε περίπου 1 ώρα στο διάστημα της οποίας μετρήθηκε το Plato.



Εικόνα 18 Απομάκρυνση των υπολειμμάτων από το κεντρικό lauter του ζυθοποιείου.

Λόγω της αραίωσης με το υπόλοιπο βυνογλεύκος το Plato βρέθηκε 13,53 και στη τιμή 14,12 προστέθηκαν οι λυκίσκοι.

Η εν λόγω ποικιλία λυκίσκου που χρησιμοποιήθηκε απελευθερώθηκε στην αγορά μόλις το 2012 και έχει, όπως προαναφέρθηκε, διπλή χρήση στην ζυθοποίηση και για πικρικό χαρακτήρα αλλά και για αρωματικό εμπλουτισμό. Χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα α-οξέων, υψηλή περιεκτικότητα σε έλαιο, χαμηλά επίπεδα cohumulone και σημαντική επίδραση στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του παραχθέντος ζύθου. Ανήκει στην οικογένεια *Cannabaceae*, στο γένος *Humulus* και είδος *Lupulus* (<https://bsgcraftbrewing.com/nz-waimea>)



Εικόνα 19 Κώνος του λυκίσκου New Zealand WAIMEA.

Είναι σημαντικό να διευκρινιστεί ότι προστέθηκε σε χρονικές στιγμές που στόχευαν στην όσο το δυνατόν περισσότερη απόδοση πικρότητας στο ζυθογλεύκος και όχι και τόσο στην προσθήκη αρωματικής πολυπλοκότητας. Αυτό συνέβη με σκοπό να είναι όσο το δυνατόν πιο ουδέτερη η βάση για το πείραμα. Αυτό σημαίνει πως μετά την προσθήκη των λυκίσκων WAIMEA το ζυθογλεύκος το οποίο απαιτείτο, αντλήθηκε και οδηγήθηκε στους περιέκτες ζύμωσης ώστε να μην αναμειχθεί με άλλους λυκίσκους που θα έμπαιναν στο κρύωμα της κεντρικής βρασιάς για τον οργανοληπτικό του εμπλουτισμό. Ωστόσο η συγκεκριμένη ποικιλία είναι πλούσια σε έλαιο όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω οπότε επηρεάζει οργανοληπτικά τον ζύθο. Το γεγονός αυτό φέρνει το πείραμα λίγο πιο κοντά σε πραγματικές συνθήκες ζυθοποίησης.

Από την αρχή της προσθήκης και προς το τέλος του βρασμού οι προσθήκες του λυκίσκου έγιναν ως εξής:

WAIMEA (25 min πριν το τέλος του βρασμού): 120gr/HL

WAIMEA (6 min πριν το τέλος του βρασμού): 150 gr/HL

WAIMEA (2 min πριν το τέλος του βρασμού): 60 gr/HL

Τελικά στις δύο 60λιτρες δεξαμενές τοποθετήθηκαν περίπου 50 λίτρα ζυθογλεύκους ενώ στο μικρό δοχείο κάτι λιγότερο από 20 λίτρα.

Την επομένη, 25/2/20 πραγματοποιήθηκε ο εμβολιασμός με το επιλεγμένο στέλεχος που προαναφέρθηκε.

Μετά από καθημερινές μετρήσεις διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στο Plato και στην πυκνότητα των δεξαμενών γεγονός που αποδόθηκε σε πιθανή ύπαρξη ποσότητας νερού στο λάστιχο μεταφοράς του ζυθογλεύκους από το whirlpool στις δεξαμενές με αποτέλεσμα κάποια αραιώση στον περιέκτη που απογεμίστηκε πρώτος.

Λόγω αυτού 3 μέρες μετά τον εμβολιασμό το περιεχόμενο των 2 60λιτρων δεξαμενών μεταφέρθηκε στο ζυθοβραστήριο με σκοπό την καλύτερη ομογενοποίηση του και έπειτα επιστροφή των ποσοτήτων αυτών πάλι πίσω στις δεξαμενές.

### 3.3.2.: Ζυμώσεις.

#### ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ / ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ:

Αναφέρεται σε αυτό το σημείο πως το μικρό βαρέλι τοποθέτησης του μάρτυρα παρέμενε σφραγισμένο όσο το δυνατόν περισσότερο προς αποφυγή οξειδώσεων και επιμολύνσεων γεγονός που οδήγησε σε μια πενιχρή συλλογή δειγμάτων και αναλύσεων.

Οι δειγματοληψίες με σκοπό τη μέτρηση ορισμένων μεταβλητών πραγματοποιούνταν καθημερινά από τις 24 Φεβρουαρίου. Παράλληλα από τις 4 Μαρτίου ξεκίνησαν και οι συλλογές δειγμάτων σε αποστειρωμένα δοχεία, με σκοπό την δυναμική παρακολούθηση της εξέλιξης του αρώματος των συνθηκών του πειράματος, κατά τη ζύμωση, μέσω μελλοντικών μετρήσεων στον GC/MS. Παρόλα αυτά λόγω δυσκολιών που προέκυψαν εξαιτίας της πανδημίας του κορωνοϊού δεν ήταν πια δυνατή η περαιτέρω πειραματική και αναλυτική διαδικασία οπότε τα δείγματα αυτά παραμένουν κατεψυγμένα για πιθανή ανάλυσή τους στο μέλλον.

Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν ως εξής:

Γινόταν λήψη μικρής ποσότητας περίπου 60 ml σε ποτήρι ζέσεως από την εκάστοτε δεξαμενή. Στη συνέχεια ακολουθούσε έντονη ανάδευση αυτού σε μαγνητική πλάκα με σκοπό να φύγει το παραγόμενο CO<sub>2</sub> το οποίο αποτελεί εμπόδιο στη διεξαγωγή των μετρήσεων.



Εικόνα 20 Ανάδευση δείγματος σε μαγνητική πλάκα.

Έπειτα από 8 λεπτά περίπου έντονης ανάδευσης ( ανάλογα φυσικά πάντα με το στάδιο ζύμωσης που βρισκόταν το γλεύκος/ζύθος κάθε φορά) λαμβάνονταν 50 ml από το ποτηρι ζέσεως και τοποθετούνταν σε φιαλίδια με στεγανό βιδωτό πώμα με σκοπό να οδηγηθούν προς φυγοκέντριση.

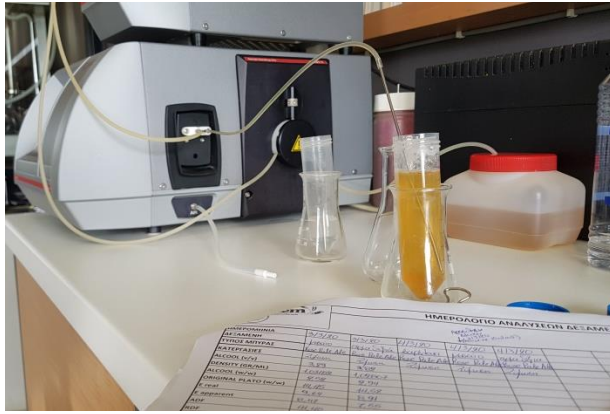


Εικόνα 21 Τοποθέτηση δειγμάτων προς φυγοκέντριση.

Η φυγοκέντριση εκτελείτο κάθε φορά στις 4.000 στροφές το λεπτό για 2 λεπτά.

Μετά το πέρας αυτών, το φυγοκεντρημένο δείγμα οδηγείτο στο μηχάνημα (Anton Paar) το οποίο και έδινε τις απαιτούμενες μετρήσεις για τον έλεγχο της πορείας της αλκοολικής ζύμωσης. Εν συνεχεία τα δεδομένα αυτά καταγράφονταν στους σχετικούς πίνακες.





Εικόνα 22 Ανάλυση δείγματος και καταγραφή των αποτελεσμάτων σε πίνακες.



Εικόνα 23 Εμφάνιση αποτελεσμάτων μετά το πέρας της ανάλυσης.

Οι συλλογές των δειγμάτων πραγματοποιούνται επίσης καθημερινά, όπως και αυτές των μετρήσεων, ως εξής:

Λαμβάνονται 200ml δείγματος από κάθε δεξαμενή, τοποθετούνται σε δυο αποστειρωμένα δοχεία των 100ml και καταψύχονται για περαιτέρω μελέτη αργότερα.



Εικόνα 24 Συλλογή δειγμάτων.



Εικόνα 25 Αποθήκευση δειγμάτων.

### 3.3.3.: Προσθήκη αιθέριου ελαίου.

Η προσθήκη του αιθέριου ελαίου δεν πραγματοποιήθηκε απευθείας μετά τον εμβολιασμό προκειμένου να μην χαθεί στην αρχή της ζύμωσης αλλά να μεταβολιστεί σε συνθήκες έντονης ζύμωσης ώστε να ενσωματωθεί στο προϊόν.

Λόγω της πολύ συμπυκνωμένης σύνθεσής του, το αιθέριο έλαιο ήταν εξαιρετικά δύσκολο στο χειρισμό του, αφού απαιτείτο να προηγηθεί θέρμανση αυτού σε σύστημα μπέν μαρί προκειμένου να μπορέσει να αντληθεί η οποιαδήποτε ποσότητα με χρήση μικροπιπέτας. Επιπλέον η απαιτούμενη ποσότητα για την προσθήκη του ελαίου στο βυνογλεύκος ήταν ακόμη πιο δύσκολο να αποφασιστεί και καθοριστικό ρόλο σε αυτό έπαιξε καθαρά η οργανοληπτική εξέταση και ο πειραματισμός.

Δοκιμάστηκε, ως προς τη δυνατότητα ομογενοποίησης του ελαίου και αρωματικής έντασης, η προετοιμασία ενός υδατικού διαλύματος 500ml με προσθήκη 100μl (ISOLAB Micropipette) αιθέριου ελαίου και 50ml αλκοολικού διαλύματος όμως το αποτέλεσμα δεν ήταν ικανοποιητικό. Η εκχύλιση των τερπενίων του ελαίου στην υδατική φάση δεν ήταν επιτυχής καθώς το έλαιο δεν διαλυόταν στο νερό όσο αργά και αν γινόταν η απογέμιση της ογκομετρικής φιάλης με ταυτόχρονη μαγνητική ανάδευση.

Τελικά η προσθήκη πραγματοποιήθηκε στις 03/03/20 με παρασκευή αλκοολούχου διαλύματος 10ml στο οποίο είχαν προστεθεί 200μl αιθέριου ελαίου. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα 200μl του ελαίου δεν κατάφεραν να διαλυθούν πλήρως σε αυτά τα 10 ml του αλκοολούχου διαλύματος παρά την μαγνητική ανάδευση που πραγματοποιήθηκε.

Η προσθήκη του ελαίου στην τρίτη συνθήκη, δηλαδή σε αυτή μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης, έγινε κατά τον ίδιο τρόπο στις 23/04/20, 30 ημέρες μετά την λήξη των ζυμώσεων.

Πραγματοποιούνταν οργανοληπτικές δοκιμές καθημερινά με σκοπό να παρακολουθείται τόσο η εξέλιξη της ζύμωσης όσο και η οργανοληπτική συμπεριφορά του ελαίου στο υπόστρωμα του εν ζυμώσει βυνογλεύκους.



Εικόνα 26 Συγκριτική μελέτη δειγμάτων.



Εικόνα 27 Παρακολούθηση αρωματικής εξέλιξης

#### 3.3.4.: Ωρίμανση.

Μετά το πέρας των ζυμώσεων, κατά την ωρίμανση, υλοποιήθηκε και η προσθήκη του αιθέριου ελαίου στην 3<sup>η</sup> συνθήκη. Η ωρίμανση της μύρας στους 60λιτρους περιέκτες πραγματοποιήθηκε στους 4,8 °C διότι λόγω του τύπου των δεξαμενών δεν ήταν εφικτή η περαιτέρω πτώση της θερμοκρασίας ενώ στον 20λιτρο περιέκτη η ψύξη δεν ήταν δυνατή, όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, γεγονός που οδήγησε σε συντήρησή του σε μη ελεγχόμενο θερμοκρασιακά περιβάλλον. Παρόλα αυτά, εκτιμάται ότι η συνθήκη αυτή (μάρτυρας), ωρίμασε σε μια μέση θερμοκρασία της τάξης των 15 με 25 °C. Η ωρίμανση των ζύθων στις δεξαμενές είχε συνολική διάρκεια 3 μηνών και 9 ημερών (101 ημέρες).

#### 3.4.: Μετρήσεις/Ποιοτικός έλεγχος στα τελικά προϊόντα.

Μετά το πέρας της ζύμωσης (24/03/20) και κατά την αποζύμωση/ωρίμανση οι μύρες διατηρήθηκαν σε χαμηλές θερμοκρασίες (4,8 βαθμούς κελσίου). Όλοι οι ζύθοι εξετάστηκαν οργανοληπτικά αλλά και ως προς την οξειδωτική τους φθορά μέσα σε όλο αυτό το διάστημα που μεσολάβησε.



Εικόνα 28 Εξέταση της χρωματικής εξέλιξης των ζύθων.

Στις 03/07/2020 έλαβαν χώρα και οι τελευταίες αναλύσεις πριν την εμφιάλωση των ζύθων καθώς και τελευταία οργανοληπτική δοκιμή.



### 3.5.: Εμφιάλωση.

Η εμφιάλωση πραγματοποιήθηκε στις 03/07/20 έτσι ώστε στις 06/07/20 να μεταφερθούν απευθείας στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής με σκοπό να ξεκινήσουν οι αναλύσεις των ζύθων στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Οίνου, Ζύθου και Ποτών υπό την καθοδήγηση της κ. Δρόσου, στον αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας του εργαστηρίου, όπως είχε προγραμματιστεί.

Εμφιαλώθηκαν σε πρώτη φάση 17 φιάλες από τη συνθήκη με την προσθήκη του ελαίου κατά τη ζύμωση, 13 φιάλες με τη συνθήκη στην οποία η προσθήκη έγινε μετά το πέρας της ζύμωσης και 10 φιάλες από το τυφλό δείγμα το οποίο αλλοιώθηκε τελικώς αφού δεν ήταν δυνατό να διατηρηθεί σωστά όλο αυτό το διάστημα που προηγήθηκε.

Η εμφιάλωση πραγματοποιήθηκε χειροκίνητα με χρήση ισοβαρικού συστήματος εμφιάλωσης ώστε να αποφευχθούν οι άμεσες αλλοιώσεις του προϊόντος. Χρησιμοποιήθηκε ειδικό γεμιστικό εξάρτημα με δυνατότητα εισαγωγής αδρανούς αερίου στη φιάλη ώστε να επιτευχθεί ίση πίεση μεταξύ της δεξαμενής και της φιάλης. Κατόπιν αυτού ήταν δυνατό το γέμισμα της φιάλης χωρίς οξειδώσεις και απώλειες CO<sub>2</sub>. Εδώ πρέπει να σημειωθεί, ότι οι μπίρες δεν δέχθηκαν κάποιο κολλαριστικό μέσο ή κάποιο είδος φιλτραρίσματος ούτε και υπέστησαν κάποια παστερίωση.

### 3.6.: Οργανοληπτική αξιολόγηση προϊόντος.

Οργανοληπτική αξιολόγηση του προϊόντος στο χώρο του πανεπιστημίου πραγματοποιήθηκε στις 07/07/2020 με τη συμμετοχή 6 ατόμων. Οι δοκιμαστές ήταν όλες γυναίκες ηλικίας 23-45 ετών φοιτήτριες του Τμήματος Επιστημών Οίνου Αμπέλου και Ποτών στο μεταπτυχιακό της μπύρας, αλλά και προσωπικό του πανεπιστημίου.

Τα δείγματα που παρουσιάστηκαν ήταν το τυφλό, Συνθήκη 1, η Συνθήκη 2 με προσθήκη αιθέριου ελαίου κατά τη ζύμωση και τέλος η 3<sup>η</sup> Συνθήκη με την προσθήκη του ελαίου μετά το τέλος της ζύμωσης. Τα δείγματα δοκιμάστηκαν σε θερμοκρασία 7-8 °C ενώ οι δοκιμαστές δεν ήταν πληροφορημένοι σχετικά με τις συνθήκες του πειράματος.

Χρησιμοποιήθηκαν ποτήρια τύπου ISO, η διαδικασία έλαβε χώρα στο εργαστήριο οργανοληπτικού ελέγχου του τμήματος και η φόρμα του φυλλαδίου δοκιμής που χρησιμοποιήθηκε φαίνεται στον πίνακα 1 .

**Πίνακας 1 Φόρμα οργανοληπτικής αξιολόγησης.**

<b>ΕΜΦΑΝΙΣΗ</b>
Χρώμα (απόχρωση)
Ένταση Χρώματος (0 - 5)
Διαύγεια (μικρή-μεσαία-μεγάλη)
<b>ΜΥΤΗ</b>
Αρώματα Περιγραφή
Αρώματα Ένταση (0 - 5)
<b>ΣΤΟΜΑ</b>
Πικρό (0 - 5)
Γλυκό (0 - 5)
Ξινό (0 - 5)
Αρώματα Στόματος Ένταση (0 - 5)
Αρώματα Στόματος Περιγραφή
<b>ΕΠΙΓΕΥΣΗ</b>
Περιγραφή
Ένταση (0 - 5)
Διάρκεια (0 - 5)
<b>ΒΑΘΜΟΣ ΑΡΕΣΚΕΙΑΣ (0 - 10)</b>

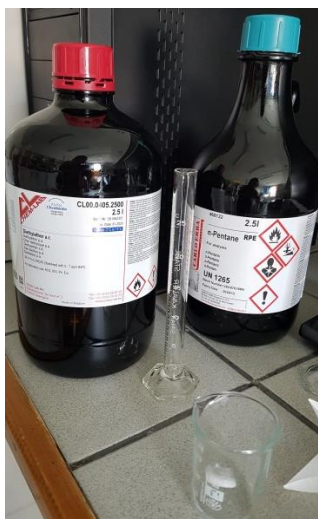
### 3.7.: Αέριος Χρωματογράφος-Φασματογράφος Μάζας

3.7.1.: Προετοιμασία του δείγματος και ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC/MS).

Η διαδικασία για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκε δύο φορές για την μεγαλύτερη ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Εξετάστηκαν τρία δείγματα άρα οι τρεις συνθήκες του πειράματος με τη διπλή εξέταση του κάθε δείγματος έδωσαν συνολικά έξι δείγματα προς ανάλυση.

Το πρωτόκολλο ξεκίνησε με τη διήθηση των δειγμάτων. Τα δείγματα ανά ζεύγη, δυο δείγματα τη φορά ώστε να είναι διαχειρίσιμα, διηθήθηκαν 2 φορές σε ηθμό ώστε να επιτευχθεί και η απομάκρυνση του CO<sub>2</sub> .

Εν συνεχεία σε δύο ποτήρια ζέσεως τοποθετήθηκαν 25ml πεντανίου, 25 ml διαιθυλαιθέρα, που αποτελούσαν τους οργανικούς διαλύτες για την εκχύλιση, και 50 ml από τους διηθημένους ζύθους έτσι ώστε στα δύο ποτήρια ζέσεως να υπάρχουν τα δυο δείγματα της μιας συνθήκης. Τα δείγματα αυτά έμειναν για ανάδευση σε μαγνητική πλάκα για δέκα λεπτά και έπειτα μοιράστηκαν σε δύο falcon φιαλίδια.



Εικόνα 29 Οργανικοί διαλύτες.



Εικόνα 30 Ανάδευση δείγματος.

Τελικώς τα τέσσερα (4) falcon οδηγήθηκαν προς φυγοκέντριση.

Μετά τη φυγοκέντριση παρατηρήθηκε η δημιουργία διφασικού διαλύματος με την υδατική φάση να βρίσκεται στο πάνω μέρος και την οργανική στο κάτω μέρος του falcon. Αντλήθηκε η υδατική φάση, κίτρινου χρώματος, και τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως για περαιτέρω επεξεργασία. Η οργανική φάση, λευκού χρωματισμού τοποθετήθηκε σε κάποιο δοχείο συλλογής. Συνεπώς οι υδατικές φάσεις από τα 4 falcon φιαλίδια είχαν τοποθετηθεί σε 2 ποτήρια ζέσεως στα οποία προστέθηκαν εκ νέου 25ml πεντανίου και 25ml διαιθυλαιθέρα και οδηγήθηκαν προς ανάδευση για 10 λεπτά. Έπειτα οι ποσότητες μοιράστηκαν ξανά σε falcon και φυγοκεντρήθηκαν. Με αυτόν τον τρόπο επετεύχθη μια δεύτερη εκχύλιση και η όσο το δυνατόν αποτελεσματικότερη συγκέντρωση όλης της οργανικής φάσης από την υδατική. Ακολούθησε ξανά διαχωρισμός των φάσεων και πλέον η υδατική φάση απορρίφθηκε.

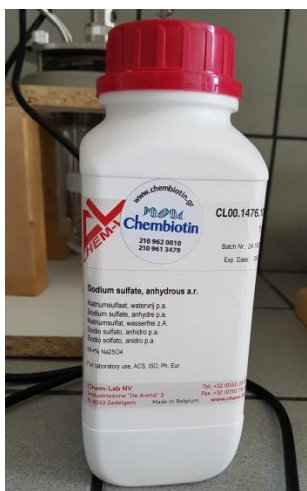
Τα δύο δοχεία συλλογής της οργανικής φάσης οδηγήθηκαν προς διαχωρισμό ώστε να απορριφθεί τελείως η όποια υγρασία περιείχαν. Τοποθετήθηκαν αργά σε δύο διαχωριστικές χοάνες, αφού πρώτα είχε προστεθεί σε αυτές μικρή ποσότητα νερού, με προσοχή ώστε να αποφευχθεί η πρόσμιξη τους με το στρώμα των πρωτεϊνών που είχε δημιουργηθεί στο κάτω μέρος των δοχείων συλλογής.

Οι χοάνες αναστρέφονταν, αναδεύονταν έντονα και εκτονώνονταν συχνά ανοίγοντας το κάτω μέρος της στρόφιγγας. Όταν έπαψε να ακούγεται ο χαρακτηριστικός ήχος της εκτόνωσης οι χοάνες τοποθετήθηκαν σε ηρεμία στο στατώ και έπειτα ξεκίνησε η διαδικασία διαχωρισμού με τις υδατικές φάσεις να απορρίπτονται και τις οργανικές φάσεις να συλλέγονται σε δύο στεγνά, χωρίς υγρασία, μικρά ποτήρια ζέσεως.



Εικόνα 31 Διαχωριστικές χοάνες.

Οι οργανικές φάσεις οδηγήθηκαν σε δυο μαγνητικές πλάκες προκειμένου να αναδευτούν με προσθήκη θειικού νατρίου,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και να απομακρυνθεί έτσι όλη η υγρασία που είχε απομείνει από τους διαχωρισμούς που προηγήθηκαν.



Εικόνα 32 Θειικό νάτριο.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$

Τα δείγματα στη συνέχεια διηθήθηκαν, τοποθετήθηκαν σε 2 απιοειδείς χοάνες, από τις οποίες είχε ληφθεί το απόβαρο, και προστέθηκαν ακόμη 10 ml από τον εσωτερικό δείκτη, 3-οκτανόλη σε κάθε μία από αυτές. Τέλος οι δύο απιοειδείς οδηγήθηκαν προς απόσταξη σε υδατόλουτρο με χρήση στήλης βιγκρέ. Κατά την απόσταξη εξατμίστηκαν όλοι οι διαλύτες που είχαν χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό της οργανικής φάσης του ζύθου και απέμεινε περίπου 1ml στο οποίο και σταμάτησε η απόσταξη ώστε να εισαχθεί το δείγμα αυτό στο μηχάνημα του αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας (GC-MS). Ο αέριος χρωματογράφος χρειαζόταν 95 λεπτά για την πλήρη επεξεργασία του κάθε δείγματος.

Το παραπάνω πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε άλλες δύο φορές ώστε να καλυφθούν και οι τρεις συνθήκες του πειράματος και να έχουν τέλος αναλυθεί έξι δείγματα, δυο για κάθε συνθήκη.

### 3.7.2.: Συνθήκες Χρωματογραφικής Ανάλυσης.

Χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος Agilent 6890 (Agilent Technologies, USA) σε συνδυασμό με ανιχνευτή φασματοσκοπίας μάζης Agilent 5975C VLMSD (Agilent Technologies, USA) λειτουργίας EI (Electron Impact). Η Agilent HP-5MS τριχοειδής στήλη πυριτίου 30m μήκος x 0.32mm i.d. x 0.25μm πάχος φιλμ χρησιμοποιήθηκε για τις αναλύσεις όλων των δειγμάτων.

Έγινε ένεση 1.0μL του εκχυλίσματος σε split mode 100:1. Η θερμοκρασία του θερμοθαλάμου όπου έγινε η ένεση ρυθμίστηκε στους 180°C. Το ήλιο χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο με ρυθμό ροής 1.0 mL/min. Η ανάλυση διεξάχθηκε σύμφωνα με το παρακάτω θερμοκρασιακό πρόγραμμα:

Παραμονή στους 50°C για 2.5 min, αυξήθηκε στους 180 °C με ρυθμό 2.5 °C/min και από τους 180°C στους 230°C με ρυθμό 2 °C/min και αυξήθηκε στους 250 °C με ρυθμό 6 °C/min. Παρέμεινε στους 250°C για 5 min και τέλος αυξήθηκε στους 270 °C με 5 °C/min και παρέμεινε για 2 λεπτά στους 270 °C.

Η θερμοκρασία του θαλάμου μεταφοράς ρυθμίστηκε στους 280 °C. Η φασματοσκοπία μάζης λειτούργησε στην ρύθμιση ιονισμού (EI) με τάση ιονισμού 70 eV σε εύρος μάζας 40-550 amu και σε θερμοκρασία 270 °C.

### 3.7.3 Επεξεργασία αποτελεσμάτων Χρωματογραφικής ανάλυσης (GC-MS)

Τα χρωματογραφήματα μελετήθηκαν, εντοπίστηκαν όλες οι χημικές ενώσεις οι οποίες και καταγράφηκαν. Τα φάσματα μάζας αναλύθηκαν και οι επιθυμητές ενώσεις ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τη βιβλιοθήκη δεδομένων φασματοφωτομετρικών μαζών (NIST 2000). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Excel για τις ταξινομήσεις και μετατροπές των αρχικών στοιχείων στις περιεκτικότητες των ενώσεων αυτών για κάθε δείγμα. Τα δεδομένα που προέκυψαν από το κάθε χρωματογράφημα συλλέχθηκαν και ταξινομήθηκαν για περαιτέρω μελέτη. Τέλος, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα IBM SPSS Statistics 25 για την εκτέλεση ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) προκειμένου να εντοπιστούν οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών για κάθε ένωση, ώστε να δοθεί και η τελική ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ:

### 4.1.: Η παραγωγή των ζύθων.

Προέκυψαν τρεις ζύθοι διαφορετικοί μεταξύ τους, ο κάθε ένας με διαφορετικό χαρακτήρα.



Εικόνα 33 Οι τρεις παραχθέντες ζύθοι.

Ο ζύθος της συνθήκης 1, το επονομαζόμενο τυφλό, καθώς δεν προστέθηκε σε αυτό αιθέριο έλαιο τριαντάφυλλου, παρουσιάστηκε τελικώς οξειδωμένο χρωματικά, αρωματικά και γευστικά καθώς αλλοιώθηκε λόγω της μη ελεγχόμενης διατήρησής του δημιουργώντας έτσι έναν χαρακτήρα οργανικού διαλύτη με οξύ διαπεραστικό άρωμα.

Η 2<sup>η</sup> συνθήκη, αυτή δηλαδή στην οποία το έλαιο προστέθηκε όσο το γλεύκος βρισκόταν εν ζυμώσει, έδωσε ένα προϊόν ισορροπημένο με αισθητή την παρουσία του ελαίου τόσο αρωματικά όσο και γευστικά.

Η 3<sup>η</sup> συνθήκη, στην οποία το έλαιο προστέθηκε μετά το τέλος της ζύμωσης έδωσε μια μπύρα με έντονο αρωματικά το στοιχείο του τριαντάφυλλου το οποίο καλύπτει άλλες φρουτώδεις, τροπικές νότες συνυφασμένο με μια ήπια πικράδα. Γευστικά παρουσιάστηκε εξίσου έντονο με αρώματα στόματος που αποκάλυπταν ξεκάθαρα την εξωγενή προσθήκη κάποιου ενισχυτικού αρωματικού μέσου

## 4.2.: Παρακολούθηση των ζυμώσεων.

### 4.2.1 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε γλεύκη εν ζύμωση.:

Στη δεξαμενή της 2<sup>ης</sup> συνθήκης, δηλαδή σε αυτή που έγινε η προσθήκη του αιθέριου ελαίου όσο το γλεύκος βρισκόταν εν ζυμώσει, οι νότες τριαντάφυλλου παρατηρήθηκαν μετά το πέρας 3 ημερών από τη προσθήκη. Αρχικά παρουσιάζονταν αχνά στη μύτη και στο στόμα ενώ την 4<sup>η</sup> ημέρα παρακολούθησης ήταν πιο έντονη η παρουσία τους ειδικότερα στο στόμα όπου και έμεναν και στην επίγευση. Την 7<sup>η</sup> ημέρα παρατηρήθηκε έντονη οσμή τριαντάφυλλου και στη μύτη, που ως εκείνη τη στιγμή ήταν ήπια. Παρόλα αυτά εξακολούθησε να υπερισχύει στο άρωμα στόματος. Εν συνεχεία το αιθέριο έλαιο παρουσιαζόταν όλο και πιο ισχυρό στη μύτη καλύπτοντας τη βοτανικότητα του λυκίσκου ενώ στο στόμα παρουσιαζόταν “δεμένο” με την πικράδα αυτού.

Οι διαφορές μεταξύ του ζύθου της 2<sup>ης</sup> συνθήκης και της απλής μύρας, αυτής της 3<sup>ης</sup> συνθήκης για παράδειγμα πριν την προσθήκη του ελαίου φυσικά, είχαν να κάνουν με τον χαρακτήρα τους. Πιο συγκεκριμένα στη μύτη, η περίπτωση της 2<sup>ης</sup> συνθήκης παρουσίαζε έναν ζύθο ανθικό με νότες τριαντάφυλλου που θύμιζε έντονα ανθόμελο. Η 3<sup>η</sup> συνθήκη, εκλαμβάνομενη ως μάρτυρας σε εκείνη τη φάση της ζύμωσης, χαρακτηρίστηκε ως μια μύρα η οποία εξέφραζε τη φρεσκάδα του λυκίσκου και τις τροπικές του νότες. Όσον αφορά τη δοκιμή στο στόμα η 2<sup>η</sup> συνθήκη που εξετάστηκε κρατούσε αισθητό το τριαντάφυλλο το οποίο ενσωματωνόταν και στην πικράδα του λυκίσκου όμως δεν διατηρούσε τη φρεσκάδα και σπιρτάδα που διέκρινε την απλή μύρα της 3<sup>ης</sup> συνθήκης.

Ο ζύθος ο οποίος ζύμωνε στον 20λιτρο περιέκτη, όπως προαναφέρθηκε δεν δοκιμαζόταν συχνά για την αποφυγή επιμολύνσεων. Αρχικά ήταν διακριτά τα γλυκά αρώματα ζύμωσης από βερίκοκο και ροδάκινο ενώ στον φρουτώδη χαρακτήρα του εμφανιζόταν και μια ελαφριά πικράδα. Κατά την εξέλιξη της πορείας της ζύμωσης η μύτη πλούτιζε με αρώματα κίτρου και περγαμόντου ενώ στο στόμα υποχωρούσε σταδιακά ο φρουτώδης και γλυκός χαρακτήρας εντείνοντας την πικράδα του λυκίσκου. Παρόλα αυτά από την 5<sup>η</sup> μέρα παρατήρησης παρουσιάστηκαν συμπτώματα οξείδωσης του χρώματος.

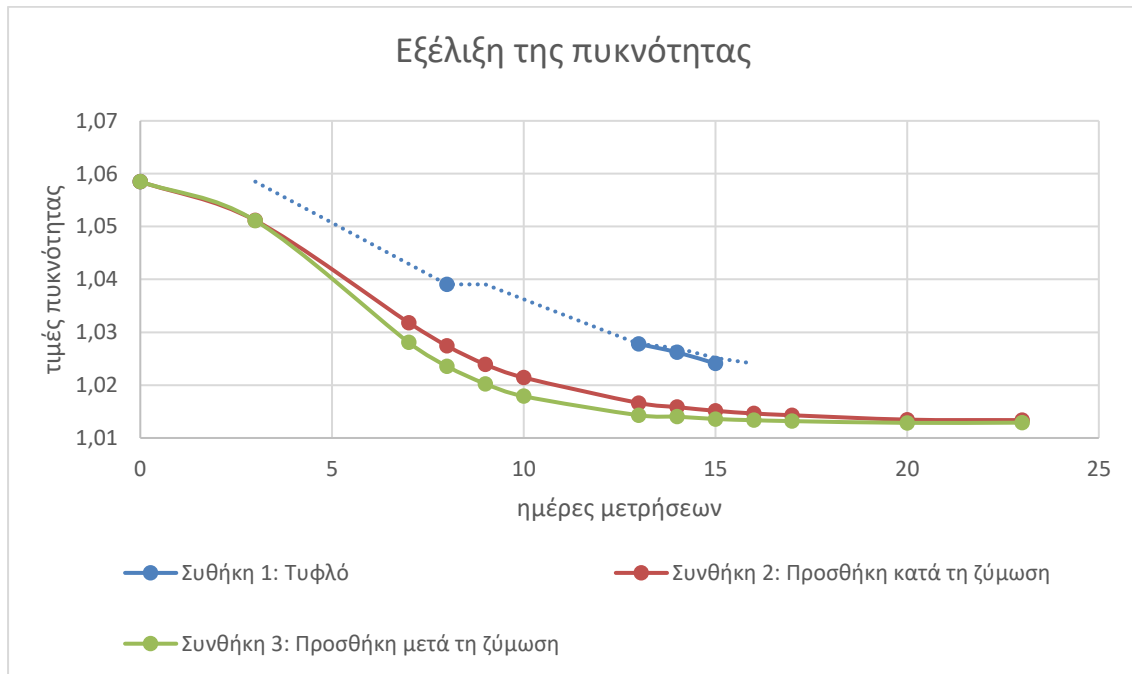
### 4.2.2 Πυκνότητα, πραγματικό εκχύλισμα και Αλκοόλη

Όπως προαναφέρθηκε κατά τη διάρκεια των ζυμώσεων λαμβάνονταν καθημερινές μετρήσεις από τα εν ζυμώσει γλεύκη τα οποία παρουσιάζονται αναλυτικά στους πίνακες 2, 3, και 4 στην ενότητα των Παραρτημάτων. Από τα νούμερα αυτά προέκυψαν και οι καμπύλες που φανερώνουν την πορεία των ζυμώσεων γραφικά.

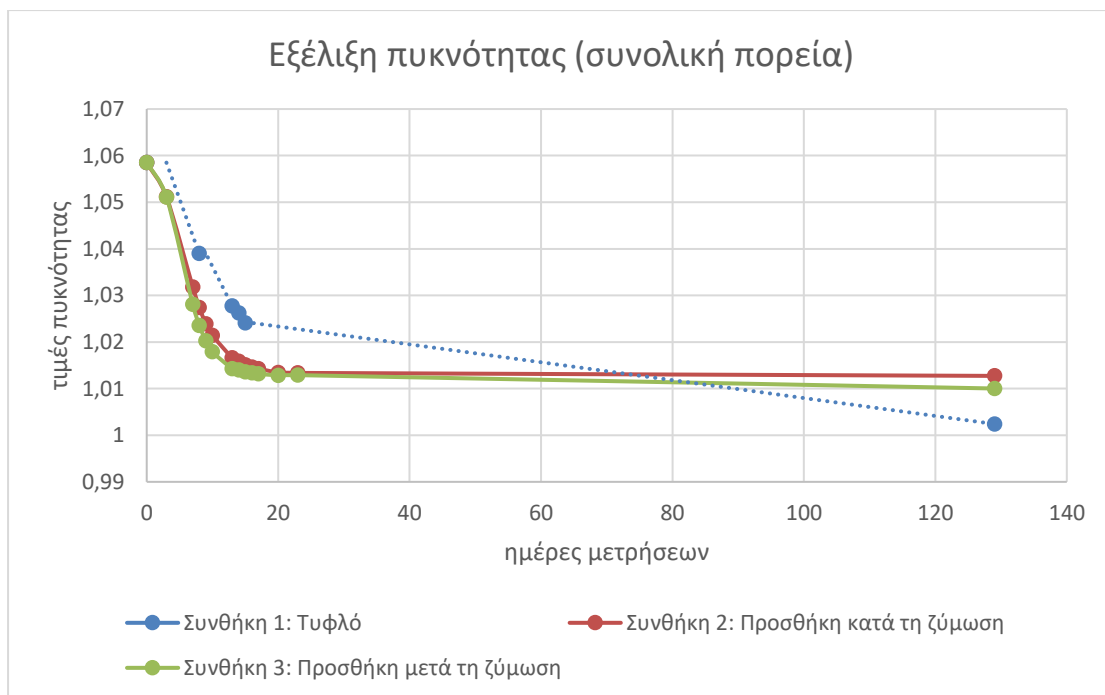


## ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ.:

Σχήμα 1 Εξέλιξη της πυκνότητας κατά την διάρκεια των 23 πρώτων ημερών της αλκοολικής ζύμωσης



Σχήμα 2 Εξέλιξη της πυκνότητας μέχρι την ημερομηνία εμφιάλωσης



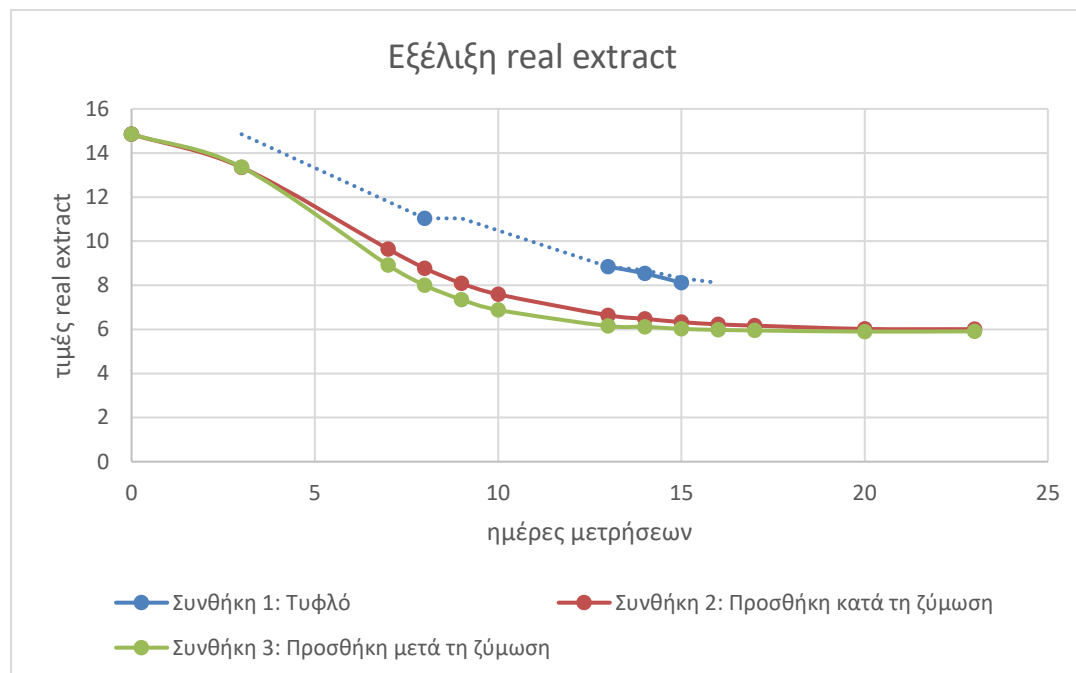
Μετά από μελέτη των διαγραμμάτων παρατηρήθηκε πως οι ζυμώσεις της συνθήκης 2 και 3 δεν παρουσίαζαν πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ τους. Λαμβάνοντας υπόψη και τις τιμές του πίνακα 2 η συνθήκη 2 φάνηκε να μην αποζύμωσε τόσο όσο η συνθήκη 3 η οποία κατέβηκε σε πιο χαμηλά επίπεδα πυκνότητας. Σε αυτό ίσως να έπαιξε ρόλο και η προσθήκη του αιθέριου ελαίου η οποία, όπως προαναφέρθηκε και στην ενότητα 1.3, πολλές φορές καθυστερεί και δυσκολεύει την αποπεράτωση των ζυμώσεων στις οποίες προστίθενται (Veljković V.B. and Stanković M.Z., 2003).

Όσον αφορά τη συνθήκη 1 δεν υπήρχαν πολλές μετρήσεις ώστε να διεξαχθούν ορθά συμπεράσματα ωστόσο η ζύμωση εδώ ήταν πιο πίσω σε σχέση με τις άλλες δυο, γεγονός που φάνηκε από τις τιμές του πίνακα 1, όμως ήταν η συνθήκη η οποία αποζύμωσε περισσότερο από όλες πράγμα προφανές λόγω της τελικής της πυκνότητάς που ήταν σε πολύ πιο χαμηλά επίπεδα σε σχέση με τις άλλες δυο συνθήκες. Στην συγκεκριμένη περίπτωση της συνθήκης 1 μπορούν να ληφθούν υπόψη τρεις παράμετροι προκειμένου να δικαιολογηθεί η σημαντική αυτή διαφορά στην τελική πυκνότητα.:

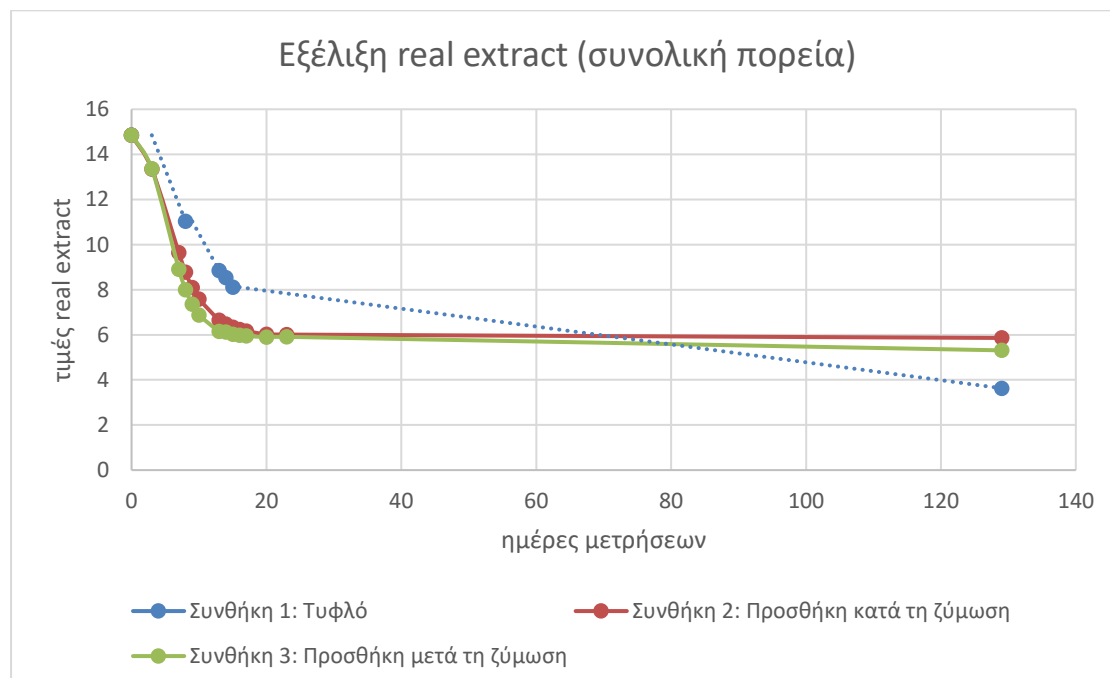
1. Ο μη επαρκής έλεγχος της θερμοκρασίας, αφού δεν ήταν δυνατή η ψύξη στη συγκεκριμένη συνθήκη, με συνέπεια η ζύμωση να διεξαχθεί σε γενικά υψηλότερες θερμοκρασίες από ότι στις άλλες δυο δεξαμενές/ συνθήκες και έτσι να αποζυμώσει πλήρως και γρηγορότερα.
2. Επιπλέον στη συνθήκη αυτή δεν προστέθηκε σε κανένα στάδιο της αιθέριο έλαιο συνεπώς σύμφωνα με την παραπάνω θεωρία δεν υπήρχε κανένα εμπόδιο στη ολοκλήρωση της ζύμωσης.
3. Αν και δεν μπορεί να αποδειχθεί στην παρούσα έρευνα, ενδέχεται να υπήρξε και κάποια μικροβιακή αλλοίωση η οποία να οδήγησε σε κατανάλωση σακχάρων προς ορισμένα παραπροϊόντα και τελικώς στη μειωμένη αυτή τιμή της πυκνότητας.

## REAL EXTRACT.:

Σχήμα 3 Εξέλιξη real extract κατά την διάρκεια των 23 πρώτων ημερών της αλκοολικής ζύμωσης



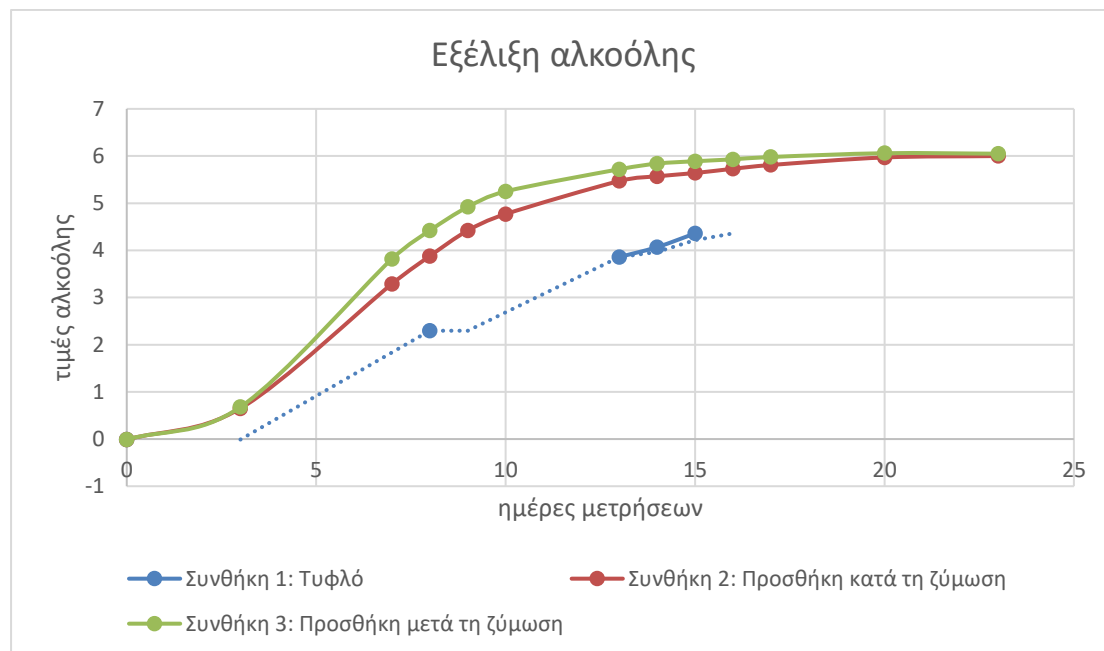
Σχήμα 4 Εξέλιξη real extract μέχρι την ημερομηνία εμφιάλωσης



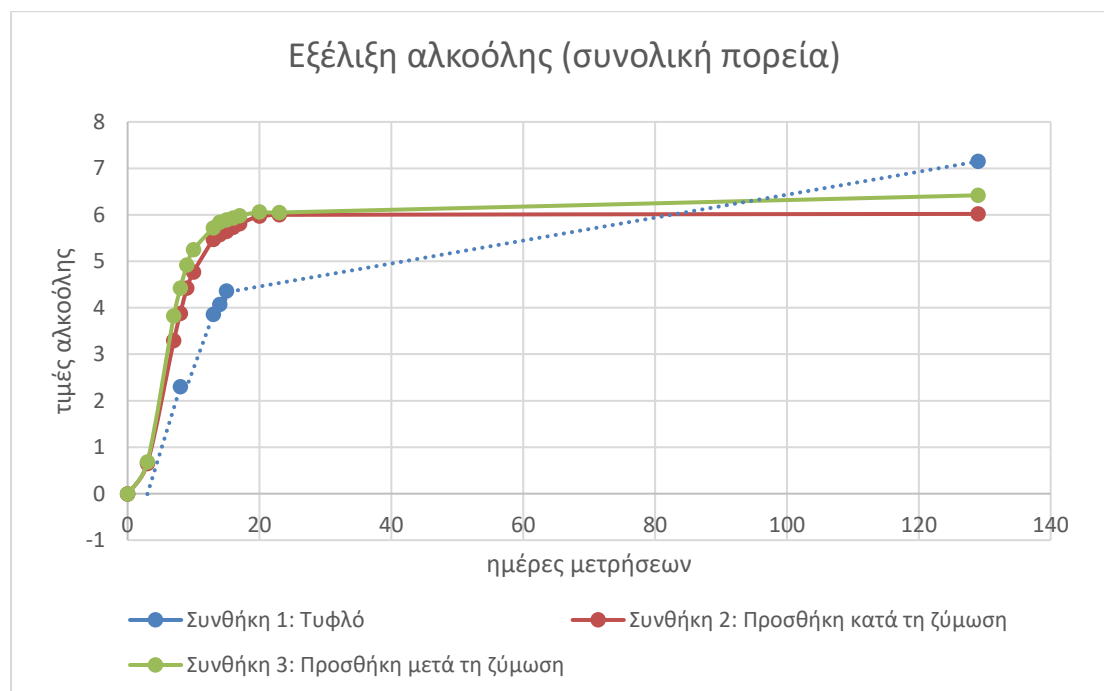
Με γνώμονα τις τιμές του πίνακα 3 και την παρατήρηση των καμπύλων διαπιστώθηκε στην ουσία η πτώση του πραγματικού εκχυλίσματος η οποία ήταν φυσικό επακόλουθο και από την πτώση της πυκνότητας που σχολιάστηκε παραπάνω.

## ΑΛΚΟΟΛΗ.

Σχήμα 5 Εξέλιξη αλκοόλης κατά την διάρκεια των 23 πρώτων ημερών της αλκοολικής ζύμωσης



Σχήμα 6 Εξέλιξη αλκοόλης μέχρι την ημερομηνία εμφιάλωσης



Μετά από παρατήρηση του πίνακα 4 και των γραφημάτων ήταν φανερό η κοινή σχετικά εξέλιξη που παρουσίασε η συνθήκη 2 με την συνθήκη 3 ως προς την παραγωγή αλκοόλης, με τη διαφορά ότι η 3<sup>η</sup> συνθήκη είχε ανέβει 0,4 μονάδες πιο πάνω. Η αλκοόλη της 1<sup>ης</sup> συνθήκης κατέληξε σε ένα αρκετά υψηλό νούμερο το οποίο ξέφυγε πολύ σε σχέση με τις άλλες 2 συνθήκες και ειδικά με την 2<sup>η</sup>.

Τα σχόλια τα οποία αφορούσαν την πυκνότητα και κατά συνέπεια και το πραγματικό εκχύλισμα, είχαν ως άμεσο επακόλουθο την εξέλιξη αυτή της αλκοόλης, η οποία ήταν και λογική αν σκεφτεί κανείς την πορεία μιας ζύμωσης. Η πυκνότητα μειώθηκε αφού το υπόστρωμα που καταναλώθηκε από τους ζυμομύκητες, δηλαδή τα σάκχαρα, μετατράπηκαν σε αλκοόλη η οποία όντας ελαφρύτερη δεν μπορούσε πια να μετρηθεί από τα πυκνόμετρα (λόγω της φύσης του οργάνου, του τρόπου κατασκευής και βαθμονόμησής του) επομένως η ένδειξη στο πυκνόμετρο ήταν μικρότερη.

#### 4.3.: Σύντομη οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων μετά από 2 μήνες ωρίμανσης.

Στο διάστημα της ωρίμανσης των ζύθων και συγκεκριμένα 2 Ιουνίου πραγματοποιήθηκε μια οργανοληπτική επισκόπηση των ζύθων η οποία φανέρωσε τα ακόλουθα.

Η 2<sup>η</sup> συνθήκη κατά την οποία η προσθήκη του ελαίου έγινε κατά τη ζύμωση παρουσιάστηκε μαλακωμένη ως προς την πικράδα της ενώ οι νότες του τριαντάφυλλου είχαν αφομοιωθεί προσδίδοντας μια ισορροπία.

Η 3<sup>η</sup> συνθήκη μετά την προσθήκη του ελαίου σε σχετικώς αποζυμωμένο υπόστρωμα, χαρακτηριζόταν από ένα έντονο άρωμα τριαντάφυλλου τόσο στη μύτη όσο και στο στόμα. Παράλληλα παρουσιάστηκε εξαιρετικά έντονη , πικράδα η οποία ξεπερνούσε σε ένταση ακόμη και ζύθους που είχαν υποστεί την κατεργασία του dry hopping

Η 1<sup>η</sup> συνθήκη, το τυφλό της ερευνητικής εργασίας, φάνηκε επιθετικό σε μύτη και στόμα εξ αιτίας των χημικών ενώσεων που παρέπεμπαν αρωματικά σε οργανικούς πτητικούς διαλύτες και συγκεκριμένα σε οξικό αιθυλεστέρα (ethyl acetate). Η αλλοίωση που τελικώς υπέστη η μπύρα την κατέστησε διαπεραστική στην οσμή ενώ ήταν ξινή στη γεύση της.

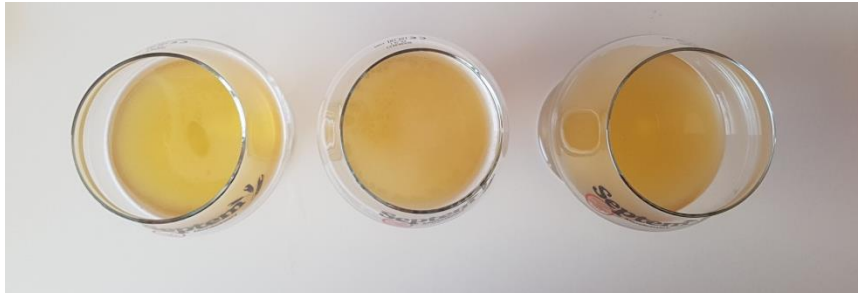
#### 4.4.: Αποτελέσματα αναλύσεων στα τελικά προϊόντα.

Όπως προαναφέρθηκε έγιναν τόσο χημικές όσο και οργανοληπτικές αναλύσεις στα τελικά προϊόντα.

Πίνακας 2 Μετρήσεις τελικού προϊόντος.

Μετρήσεις ακριβώς πριν την εμφιάλωση			
	Τυφλό	Προσθήκη κατά τη ζύμωση	Προσθήκη μετά τη ζύμωση
<b>Πυκνότητα</b>	1,00241	1,01274	1,01003
<b>Real extract</b>	3,63	5,86	5,31
<b>Αλκοόλη</b>	7,15	6,02	6,42

Όσων αφορά την χρωματική εξέλιξη και οι τρεις συνθήκες παρουσίασαν οξειδωση. Μεταξύ 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> συνθήκης πιο οξειδωμένα χρωματικά εμφανιζόταν η 3<sup>η</sup> συνθήκη ενώ το τυφλό, δηλαδή η 1<sup>η</sup> συνθήκη, ήταν η πιο οξειδωμένη τόσο γευστικά όσο και χρωματικά.



Εικόνα 34 Εξέταση χρωματικής οξείδωσης στους τρεις ζύθους.

#### 4.5.: Οργανοληπτική αξιολόγηση.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής αξιολόγησης που πραγματοποιήθηκε στον χώρο του Πανεπιστημίου.

	ΣΥΝΘΗΚΗ 1	ΣΥΝΘΗΚΗ 2	ΣΥΝΘΗΚΗ 3
<b>ΕΜΦΑΝΙΣΗ</b>			
Χρώμα (απόχρωση)	Καστανοκίτρινο(1), Σκούρο χυρσοφί(1), Κίτρινο(2), Χυρσοφί(1), Χυρσοκίτρινο(1), Κίτρινο σκούρο(1).	Χυρσοφί(3), Κίτρινο(3), Καστανόξανθο(1), Χυρσοκίτρινο(1)	Χυρσοφί σκούρο(1), Χυρσοκίτρινο(2), Κίτρινο σκούρο(2), Κίτρινο ανοιχτό(1)
Ενταση (0 - 5)	3,8	3,5	3,3
Διαύγεια (μικρή-μεσαία-μεγάλη)	Μικρή(4), Μεσαία(2)	Μικρή(3), Μεσαία(3)	Μικρή(2), Μεσαία(4)
<b>ΜΥΤΗ</b>			
Αρώματα Περιγραφή	Εθίγ(1), Αρώματα παλαιώσης(1), Αετών(2), Υπερώριμο μήλο(1), Διαλύτης(1), Χορτώδες(1), Μέλι(2), Γλυκό τριαντάφυλλο(1), Οινόπνευμα(2), Εστέρες/Βερνίκι νωγών(2), Μπαχαρικά(1), Πικάντικο(1)	Λυκίσκος(3), Χορτώδες(2), Τριαντάφυλλο(2), Άηθη(2), Εσπεριδοειδή(2), Μέλι(2), Κίτρο(1), Πεύκο(1), Οινόπνευμα(1), Σανταλόξυλο(1), Καμμένο ξύλο(1)	Τριαντάφυλλο(4), Λουκούμι τριαντάφυλλο(1), Ανθόμελο(1), Γλυκά φρούτα/αρώματα(2), Ροδόνηρο(1), Πεύκο(1), Γλυκάνισο(1), Μέλι(1), Ανανάς(1), Τροπικά φρούτα(1), Κόκκινα φρούτα(1)
Αρώματα Ενταση (0 - 5)	4,5	2,9	3,5
<b>ΣΤΟΜΑ</b>			
Πικρό (0 - 5)	2,8	3,4	3,2
Γλυκό (0 - 5)	2,3	1,6	2,2
Ξινό (0 - 5)	1,3	1,1	1,3
Αρώματα Στόματος Ενταση (0 - 5)	4,2	3,1	3,5
Αρώματα Στόματος Περιγραφή	Αετών(2), Εθίγ(1), Χημικό(1), Αρώματα ξύλου(1), Πικραμύγδαλο(1), Διόσταγμα(1), Βύνη(1), Οινόπνευμα(1), Τανίνες(1), Διόξηση κρυσταλλική(1), Φάρμακο(1), Μέλι(1), Αιθικό(1), Διαλύτης(1), Μεταλλικός χαρακτήρας(1), Χορτώδες(1)	Μέλι(2), Λυκίσκος(2), Πράσινο(1), Φρουτώδες(1), Τριαντάφυλλο(1), Άηθη(1), Βύνη(2), Εσπεριδοειδή(1), Βοτανικό(1), Πεύκο(1), Χορτώδες(1)	Τριαντάφυλλο(5), Τσένταρ(1), Ανανάς(1), Γλυκό του κουταλιού(2), Λουκούμι(1), Ανθόνερο(1), Κανέλλα(1), Πικάντικο(1), Βοτανικό(1), Αιθικό(1), Μέλι(1)
<b>ΕΠΙΓΕΥΣΗ</b>			
Περιγραφή	Γλυκά(1), Οινόπνευμα(1), Φάρμακο(2), Πικράδα(1), Κάψιμο αλκοόλης(1), Χημική(1), Βύνη(1), Λυκίσκος(1)	Πικρό(3), Βύνη(2), Δημητριακά(1), Χορτώδες(2), Γλυκό(1), Άηθη(1), Ανθόνερο(1), Τριαντάφυλλο(1), Κίτρο(1)	Αιθικό(1), Τριαντάφυλλο(3), Βύνη(1), Γλυκό(1), Μάγνη(1), Πικρό(2) Λουκούμι τριαντάφυλλο(1), Ξηρό(1)
Ενταση (0 - 5)	2,8	3,4	2,9
Διάρκεια (0 - 5)	3	3,7	3,4
<b>ΒΑΘΜΟΣ ΑΠΕΥΚΕΙΑΣ (0 - 9)</b>	1	6,8	5,8



Όσον αφορά τη συνθήκη 1 (τυφλό) χαρακτηρίστηκε από τους δοκιμαστές ως ένας ζύθος με σκούρες νότες στο χρυσοκίτρινο χρώμα του, διέθετε τη μεγαλύτερη ένταση χρώματος και τη μικρότερη διαύγεια από τα τρία δείγματα. Τα αρώματα μύτης είχαν την μεγαλύτερη ένταση από όλα τα δείγματα ενώ θύμιζαν διαλύτη ασετόν, Ethyl acetate. Στο στόμα παρουσιάστηκε η λιγότερο πικρή και η περισσότερο γλυκιά και ξινή όσο και η 3<sup>η</sup> συνθήκη. Χαρακτηρίστηκε από αρώματα στόματος όπως ασετόν, φαρμακευτικές, χημικές αλλά και κάποιες γλυκιές νότες ενώ διέθετε τη μεγαλύτερη ένταση αρωμάτων στόματος από τις άλλες συνθήκες. Η επίγευση της ήταν γλυκόπικρη, χημική, φαρμακευτική με τη μικρότερη ένταση, τη μικρότερη διάρκεια ενώ στο σύνολο είχε τον μικρότερο βαθμό αρεσκείας.

Η συνθήκη 2 (προσθήκη κατά τη ζύμωση) διέθετε πιο ανοιχτό χρωματισμό, χρυσοκίτρινο με τη μεσαία ένταση σε σχέση με τα άλλα δυο και μικρή προς μεσαία διαύγεια. Στη μύτη διέθετε αρώματα λυκίσκου, βοτανικά, μελιού και τριαντάφυλλο. Το τριαντάφυλλο εδώ δεν ήταν εύκολα αντιληπτό από τους δοκιμαστές όμως όλοι αναγνώρισαν το έντονο ανθικό στοιχείο. Χαρακτηρίστηκε ως η μικρότερη σε ένταση αρωμάτων μύτης ενώ στο στόμα ως ο ζύθος με τη μεγαλύτερη πικράδα, τη μικρότερη γλυκύτητα, το λιγότερο όξινο χαρακτήρα και τη μικρότερη ένταση αρωμάτων στόματος. Τα αρώματα στόματος θύμισαν μέλι, βύνη, λυκίσκο, άνθη και φρούτα στους δοκιμαστές ενώ η επίγευση χαρακτηρίστηκε πικρή, βυνώδης, χορτώδης με νότες τριαντάφυλλο. Η επίγευση της συνθήκης 2 είχε τη μεγαλύτερη ένταση, τη μεγαλύτερη διάρκεια ενώ σαν ζύθος διέθετε τον μεγαλύτερο βαθμό αρεσκείας.

Τέλος η συνθήκη 3 χαρακτηρίστηκε με σκούρες νότες κίτρινου/χρυσοκίτρινου χρώματος, είχε τη μικρότερη ένταση χρώματος και τη μεσαία διαύγεια σε σχέση με τα άλλα δυο. Στη μύτη θύμισε ξεκάθαρα τριαντάφυλλο στους δοκιμαστές και γλυκά φρούτα με τη μεσαία ένταση αρώματος μύτης. Όσον αφορά το στόμα διέθετε μεσαία πικράδα, μικρότερη από αυτή της συνθήκης 2, μεσαία γλυκύτητα και ξινό χαρακτήρα ίδιο με αυτόν της συνθήκης 1. Η ένταση του αρώματος στόματος ήταν μεσαία σε κατάταξη και εξέφρασε έντονο τριαντάφυλλο, μέλι, γλυκό του κουταλιού και γενικά ανθικό χαρακτήρα. Η επίγευση έβγαλε τριαντάφυλλο, ανθικό, γλυκό χαρακτήρα με μια πικράδα σε χαμηλότερα επίπεδα από αυτή της συνθήκης 2. Είχε τέλος μεσαία ένταση και διάρκεια και τελικά το μεσαίο βαθμό προτίμησης από τις τρεις συνθήκες.

Συμπερασματικά ήταν προφανές και από τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής αξιολόγησης ότι υπήρξε μεγάλη διαφορά στον πικρικό χαρακτήρα της συνθήκης 3 από την πρώτη δοκιμή της στις εγκαταστάσεις της Septem μέχρι τη τελευταία αυτή αξιολόγηση από τους δοκιμαστές. Ενώ, όπως προαναφέρθηκε, η μύρα της 3<sup>ης</sup> συνθήκης παρουσιαζόταν με έναν πολύ έντονο πικρό χαρακτήρα, στο τελικό στάδιο της εμφιάλωσης και φυσικά στο στάδιο της οργανοληπτικής αξιολόγησης αυτή πικράδα είχε υποχωρήσει σε πολύ μεγάλο βαθμό.

Σε αυτό πιθανόν να συνέβαλε και η ωρίμανση των ζύθων που έλαβε χώρα μέσα στο διάστημα που μεσολάβησε καθώς είναι γνωστό ότι γενικά η πικράδα ελαττώνεται με την ωρίμανση-παλαίωση των ζύθων (Vanderhaegen B. et. al., 2006) χωρίς φυσικά να γνωρίζουμε την επίδραση που μπορεί να έχει και το τριαντάφυλλο στην παραπάνω γεύση (του πικρού).

#### 4.6: Αποτελέσματα αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας GC/MS.

Μετά την αναλυτική διαδικασία στον αέριο χρωματογράφο έγιναν γνωστές οι χημικές ενώσεις οι οποίες ανιχνεύθηκαν σε κάθε δείγμα. Υπενθυμίζεται εδώ πως κάθε συνθήκη έδωσε 2 δείγματα προς ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο.

- Στην συνθήκη 1 (τυφλό) ταυτοποιήθηκαν στην 1<sup>η</sup> επανάληψη 41 και στην 2<sup>η</sup> επανάληψη 34 ενώσεις.
- Στην συνθήκη 2 (προσθήκη κατά τη ζύμωση) στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ταυτοποιήθηκαν 70 ενώσεις ενώ στην 2<sup>η</sup> 33.
- Τέλος στην συνθήκη 3 (προσθήκη μετά τη ζύμωση) στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ταυτοποιήθηκαν 58 ενώσεις και στην 2<sup>η</sup> 53.

Στη συνέχεια ακολούθησε τροποποίηση των αποτελεσμάτων καθώς κάποιες χημικές ενώσεις απορρίφθηκαν λόγω :

1. Πολύ μικρής συγκέντρωσης.
2. Παρουσίας τους στη μία μόνο επανάληψη της μιας συνθήκης, και καθόλου στις άλλες συνθήκες.
3. Ξεκάθαρης προέλευσής τους από τα υλικά και τις συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν.

Στον πίνακα 7 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι τελικές πτητικές ενώσεις οι οποίες προέκυψαν μετά από τις παραπάνω τροποποιήσεις.

Πίνακας 4 Τελικές πτητικές ενώσεις.

No.	Ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν	Συγκέντρωση ένωσης (mg/l)		
		Τυφλό	Προσθήκη κατά τη ζύμωση	Προσθήκη μετά τη ζύμωση
1	1-Butanol, 3-methyl-	2,7565	1,444	2,019
2	1-Butanol, 2-methyl-, (S)-	0,6125	0,5025	0,609
3	Butanoic acid, 3-methyl-	0,043	0	0,0845
4	2-Furanmethanol	0,034	0,028	0,0245
5	Butanoic acid, 2-methyl-	0,016	0,0065	0,03
6	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,0415	0,042	0,082
7	Butanoic acid, ethyl ester	0	0,046	0,092
8	Butanoic acid	0	0,025	0,0065
9	3,6-Dimethyl-4-octanone	0	0	0,0265
10	Hexanoic acid, ethyl ester	0,0975	0,087	0,036
11	Hexanoic acid	0,816	0,657	0,8365
12	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	0,0265	0,0425	0,061
13	2-Pentenoic acid, 2-methyl-	0	0,011	0,012
14	Phenylethyl Alcohol	6,01	6,621	4,7535
15	Octanoic acid, ethyl ester	0,3505	0,3885	0,4035
16	Octanoic acid	1,59	2,075	1,8915
17	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)-	0	0,034	0
18	Citronellol	0	0	0,1005
19	Benzeneacetic acid	0	0,0705	0
20	Cyclopropanecarboxylic acid, 2-phenylethyl ester	0,033	0,0825	0
21	2-Methoxy-4-vinylphenol	0,188	0,1975	0
22	2-Methoxy-4-vinylphenol	0,027	0,0365	0,0925
23	2(3H)-Furanone, 5-butylidihydro-/ $\gamma$ -Octalactone	0	0,017	0
24	9-Decenoic acid	0,0565	0,0395	0,2295
25	n-Decanoic acid	0,4375	0,433	0,423
26	Decanoic acid, ethyl ester	0,092	0,013	0,0225
27	1,4-Benzenediol, 2-methoxy-	0	0,026	0
28	Benzeneethanol, 4-hydroxy-	0,063	0,121	0,071
29	Butylated Hydroxytoluene	0,8165	0,806	0,48
30	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,079	0	0,1555
31	2(3H)-Benzoxazolone	0,4205	0,44	0,4045
32	Dodecanoic acid	0,0055	0,0155	0,0075
33	Nonadecane	0,042	0,249	0,124
34	Phenol, 3,4,5-trimethoxy-	0	0	0,0045
35	Dehydro-cohumulinic acid	2,6135	0,787	0,0565
36	Tryptophol	0,184	0,1795	0,0565
37	1-Nonene, 4,6,8-trimethyl-	0,049	0	0,0225
38	6-Methoxy-2-benzoxazolinone	0,12	0,0415	0,1575

39	D-Alanine, N-(2,4,5-trifluoro-3-methoxybenzoyl)-, propyl ester	0,0215	0	0,032
40	Phthalic acid, 2-ethylbutyl isobutyl ester	0,0225	0,023	0,048
41	Phthalic acid, hex-3-yl isobutyl ester	0	0,0475	0,029
42	Sulfurous acid, hexyl pentadecyl ester	0,0125	0,0195	0,117
43	6H-Cyclobuta[jk]phenanthrene	0,0155	0	0,0465
44	Hexadecanoic acid, methyl ester	0,383	0,0225	0
45	Phthalic acid, butyl hex-3-yl ester	0,0785	0,075	0,165
46	Sulfurous acid, dodecyl hexyl ester	0	0	0,041
47	n-Hexadecanoic acid	0,0995	0,0105	0
48	Oxalic acid, allyl dodecyl ester	0	0	0,0325
49	Decane, 2,3,5,8-tetramethyl-	0	0	0,046
50	Oxalic acid, allyl octadecyl ester	0	0	0,0195
51	Hexadecanoic acid, 3-[[trimethylsilyl]oxy]propyl ester	0	0,019	0
52	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	0	0,119	0,038

Κατόπιν, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση της διακύμανσης (Analysis of Variance, ANOVA) μεταξύ των συνθηκών του πειράματος, βάση των συγκεντρώσεων τους στις παραπάνω ενώσεις (Πίνακας 7 ).

Η παραπάνω ανάλυση έδειξε ότι υπήρχε στατιστική διαφορά μεταξύ των πειραματικών συνθηκών για 9 ενώσεις.

Οι ενώσεις αυτές ήταν οι παρακάτω και φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα 8.

- Ethyl Hexanoate,
- 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-(R)- (R-Citronellol)
- Citronellol,
- Benzeneacetic acid (Phenylacetic acid)
- 2(3H)-Furanone, 5-butyldihydro- (γ-Octalactone),
- Phenol, 3,4,5-trimethoxy(Antiarol)
- 9-Decenoic acid (Caproic acid)
- Butylated Hydroxytoluene,
- Nonadecane

Πίνακας 5 Αποτελέσματα ANOVA.

Χημικές Ενώσεις ΜΕ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΑ < ή = με 0,05	Στατιστική Διαφοροποίηση μεταξύ των συνθηκών	Συγκέντρωση ουσίας (mg/l)			Οργανοληπτική περιγραφή
		TYΦΛΟ	ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΚΑΤΑ ΤΗ ΖΥΜΩΣΗ	ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΜΕΤΑ ΤΗ ΖΥΜΩΣΗ	
	P. Value				
ΕΝΩΣΕΙΣ					
Ethyl Hexanoate	0,05	0,097	0,087	0,036	Ανανάς ή γλυκάνισος
6-Octen-1-ol , 3,7-dimethyl- (R)- ((R)-citronellol)	0	0	0,034	0	Φύλλο τριανταφυλλιάς/ελαιώδες πέταλο τριαντάφυλλου, σιτρονελέαιο
Citronellol	0,036	0	0	0,1	Ανθικό/τριαντάφυλλο/γλυκό
Benzeneacetic acid (Phenylacetic acid )	0,025	0	0,07	0	Ανθόμελο/τριαντάφυλλο/αγιόκλημα
2(3H)-Furanone, 5- butyldihydro- (γ- Octalactone)	0	0	0,017	0	Καρύδα/κρεμώδες
Phenol, 3,4,5-trimethoxy (Antiarol)	0,041	0	0	0,005	Δεν παρουσιάζει κάποια οσμή
ΕΝΩΣΕΙΣ ΜΕ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΑ 0,05 < P < 0, 1					
9-Decenoic acid (caproic acid)	0,092	0,057	0,039	0,229	Κηρώδες πράσινο/λιπαρό σαπούνι/τυρί
Butylated Hydroxytoluene	0,052	0,816	0,806	0,48	Ήπια καμφορά
Nonadecane	0,096	0,042	0,249	0,124	ήπιο (bland) δεν παρουσιάζει οσμή

Βάση του πίνακα 8 προκύπτουν τα ακόλουθα:

#### Ethyl Hexanoate:

Με μια πρώτη ματιά διαπιστώθηκε ότι η ένωση Ethyl Hexanoate είχε ανιχνευθεί σε όλες τις συνθήκες. Συνεπώς δεν αποτέλεσε ένωση αποκλειστικά προερχόμενη από το τριαντάφυλλο. Εξάλλου, ο συγκεκριμένος εστέρας, είναι ένας από τους πιο κοινούς εστέρες που απαντάται σε ένα πολύ μεγάλο εύρος ζύθων. Ωστόσο λαμβάνοντας υπόψη και τα στατιστικά αποτελέσματα της ανάλυσης της διακύμανσης, η ένωση αυτή διαπιστώθηκε να έχει στατιστική διαφορά μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 (P=0,005) και μεταξύ συνθήκης 3 και 1 (P=0,005). Η μεγαλύτερη συγκέντρωση βρέθηκε στο τυφλό με 0,097 mg/l επομένως σίγουρα δεν όφειλε την παρουσία της στο τριαντάφυλλο πόσο μάλλον όταν η συνθήκη 3 με την προσθήκη του ελαίου μετά τη ζύμωση είχε τη μικρότερη συγκέντρωση, μόλις 0,036 mg/l. Η συνθήκη 2 είχε συγκέντρωση 0,087mg/l.

Η ένωση αυτή είναι γνωστή για τον χαρακτήρα ανανά ή γλυκάνισου. Ωστόσο στον ζύθο εάν η συγκέντρωση της ανιχνευθεί να βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα

κατατάσσεται στα off flavours, όπως και πολλοί άλλοι εστέρες, και αποτελεί δείγμα ότι πιθανότατα υπήρξε κάποιο πρόβλημα στη διαδικασία της ζύμωσης προσδίδοντας έναν χαρακτήρα μήλου στον ζύθο (G. C. da Silva\* et. al., 2015). Πιο συγκεκριμένα εάν η συγκέντρωση του ethyl hexanoate υπερβεί τα 0,23mg/l προκύπτει αυτή η χαρακτηριστική γεύση του εστέρα και θεωρείται ότι είναι επακόλουθο κάποιας αλλοίωσης των ζυμομυκήτων. Τα όρια στα οποία η ένωση αυτή είναι ευεργετική για το μπουκέτο αρωμάτων του ζύθου είναι 0,12 έως 0,21mg/l. Αναφέρεται ότι η μείωση της συγκέντρωσής της επιτυγχάνεται με ρύθμιση των συνθηκών της ζύμωσης (S. Sakuma et. al. 1991).

Στην παρούσα περίπτωση το γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις του ethyl hexanoate ήταν πολύ χαμηλότερες από το ελάχιστο όριο των 0,12mg/l δεν μπόρεσε σίγουρα να οδηγήσει σε συμπεράσματα αλλοίωσης, δυσμενών συνθηκών ζύμωσης ή ακόμα και δυσάρεστης οσμής οπότε ενδεχομένως να αποτέλεσε απλά μία ένωση η οποία συνέβαλε στο συνολικό μπουκέτο αρωμάτων της κάθε μπύρας, κάπου περισσότερο ( τυφλό-0,097mg/l ) και κάπου λιγότερο (συνθήκη 3-0,036mg/l) με παράγοντες που να οφείλονταν στις συνθήκες ζύμωσης κάθε ζύθου.

Λαμβάνοντας υπόψη και τον οργανοληπτικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε στον χώρο του πανεπιστημίου στην συνθήκη 1 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση ethyl hexanoate ανιχνεύθηκε κάποιος χαρακτήρας υπερώριμου μήλου ενώ στη συνθήκη 3 με την μικρότερη συγκέντρωση αναφέρθηκε μία νότα γλυκάνισου και ανανά στα αρώματα μύτης. Βέβαια οι χαρακτηρισμοί αυτοί δεν ήταν το κύριο στοιχείο των συγκεκριμένων ζύθων καθώς δεν ταυτιζόνταν όλοι οι δοκιμαστές με αυτούς.

#### **(R)-Citronellol:**

Η ένωση αυτή παρουσίασε στατιστική διαφορά μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 ( $P=0,000$ ) και μεταξύ των συνθηκών 2 και 1 ( $P=0,000$ ). Είναι φανερό πως υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των συνθηκών αφού η συγκεκριμένη ένωση ανιχνεύθηκε μόνο στη συνθήκη 2 δηλαδή στην προσθήκη κατά τη ζύμωση. Αυτό αποτυπώνεται και από τους χαρακτηρισμούς των δοκιμαστών οι οποίοι ανίχνευσαν την ανθική/χορτώδη αίσθηση του ζύθου της 2<sup>ης</sup> συνθήκης καθώς και το στοιχείο του πράσινου και του τριαντάφυλλου. Συνολικά η συνθήκη 2 χαρακτηρίστηκε ως η πιο ανθική/πράσινη παρουσιάζοντας έτσι το τριαντάφυλλο σε μια πιο πρώιμη εκδοχή του και όχι τόσο την γλυκιά αίσθηση που επικρατούσε για παράδειγμα στην συνθήκη 3.

#### **Citronellol:**

Η Citronellol με στατιστική διαφορά  $P=0,023$  μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 και στατιστική διαφορά  $P=0,023$  μεταξύ των συνθηκών 3 και 1 ανιχνεύθηκε μόνο στη συνθήκη 3 δηλαδή αυτή της προσθήκης μετά τη ζύμωση με μια συγκέντρωση που

άγγιζε τα 0,1 mg/l. . Η Citronellol είναι ένωση γνωστή για την παρουσία της στο αιθέριο έλαιο του τριαντάφυλλου όπως έχει αναφερθεί και σε άλλες έρευνες όπως σε αυτές των [Tsanaktsidis C. G<sup>a\\*</sup>, et. al, 2012](#) και [Rusanov K. E. et al., 2011](#) ωστόσο είναι μία ένωση η οποία μπορεί να εμφανιστεί και στον ζύθο προσδίδοντας τον χαρακτήρα του κίτρου, του ανθικού και του τριαντάφυλλου. Μάλιστα ανήκει στην κατηγορία των ενώσεων εκείνων που έχουν την ιδιότητα να χαρίζουν σώμα και πυκνότητα στην μύρα ([Kishimoto T. 2019](#)). Από τον πίνακα 6 ήταν ξεκάθαρο ότι σχεδόν όλοι οι δοκιμαστές ανίχνευσαν τον γλυκό χαρακτήρα του ζύθου της συνθήκης 3 με πολύ ευδιάκριτο το τριαντάφυλλο στην γλυκιά του εκδοχή και κυρίως ως λουκούμι τριαντάφυλλο και ως γλυκό του κουταλιού τριαντάφυλλο. Οι χαρακτηρισμοί αυτοί δεν υπήρχαν στις άλλες δύο συνθήκες ενώ ήταν η μόνη συνθήκη στην οποία όλοι οι δοκιμαστές αντιλήφθηκαν την παρουσία του τριαντάφυλλου.

#### **Phenylacetic acid:**

Αποτελεί ένωση που εντοπίστηκε μόνο στην συνθήκη 2, στην προσθήκη κατά τη ζύμωση, με συγκέντρωση 0,07mg/l. Εμφάνισε στατιστική διαφορά μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 (P=0,016) και μεταξύ της συνθήκης 2 και 1 (P=0,016). Παρόλο που εμφανίστηκε μόνο στη συνθήκη 2 υπάρχουν αναφορές που ανιχνεύουν το Phenylacetic acid σε lager ζύθους ([J.A. Rodrigues<sup>a,\\*</sup> et. al., 2011](#)) ενώ παράλληλα αποτελεί και συστατικό του αιθέριου ελαίου από *Rosa damascena* ([Osama M. et al.,2020](#)) οπότε η διαπίστωση της ακριβής προέλευσής του είναι μάλλον δύσκολη με τα δεδομένα της παρούσας εργασίας. Πιθανώς η προέλευσή του να συνδέεται με την αλληλεπίδραση του ελαίου με τον μεταβολισμό των ζυμομυκήτων. Ο χαρακτήρας που προσδίδει το Phenylacetic acid, του ανθόμελου/τριαντάφυλλου και αγκοκλήματος (ανθικού) ήταν αισθητά στη συνθήκη 2 κυρίως ως μέλι, άνθη και τριαντάφυλλο.

#### **γ-Octalactone:**

Ένωση με επίσης μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των συνθηκών με στατιστική διαφορά μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 (P=0,000) και μεταξύ των 2 και 1 (P=0,000). Εντοπίστηκε μόνο στην συνθήκη 2, στην προσθήκη του αιθέριου ελαίου κατά τη ζύμωση με μια συγκέντρωση στα 0,017mg/l. Η γ-Octalactone είναι μια από τις ενώσεις που ενισχύουν το σώμα και την πυκνότητα της μύρας μαζί με την citronellol, και το Caproic acid, προσδίδοντας μια νότα καρύδας και γλυκύτητας ([Kishimoto T. 2019](#)) ενώ επίσης είναι γνωστό ότι συναντάται σε αρκετά αλκοολούχα ποτά όπως στο κρασί και το ουίσκι. Παρόλα αυτά η οργανοληπτική αξιολόγηση δεν εντόπισε τον χαρακτήρα της γ- Octalactone στην συνθήκη 2 ώστε να την διαφοροποιήσει από τις άλλες δύο, ωστόσο οι ουσίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και έτσι η συνολική τους εικόνα είναι πολυδιάστατη και πολύπλοκη οργανοληπτικά.



**Antiarol:**

Εμφάνισε στατιστική διαφορά  $P=0,026$  μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 και  $P=0,026$  μεταξύ των συνθηκών 3 και 1. Η ένωση αυτή παρουσιάστηκε μόνο στη συνθήκη 3, κατά την προσθήκη δηλαδή του ελαίου μετά το πέρας της ζύμωσης με περιεκτικότητα  $0,005\text{mg/l}$ . Η antiarol δεν είχε κάποια οσμή ώστε να επιφέρει οργανοληπτική διαφοροποίηση της συνθήκης 3 με τις υπόλοιπες ωστόσο πιθανώς να αποτελεί προϊόν κάποιας χημικής ή βιοχημικής αντίδρασης που έλαβε χώρα κατά την προσθήκη του αιθέριου ελαίου στην φάση της ωρίμανσης του ζύθου.

**Caproic acid:**

Η ένωση αυτή προσδιορίστηκε και στους τρεις ζύθους με διαφοροποιήσεις που αποτυπώνονται με στατιστική διαφορά της τάξης του  $P=0,054$  μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 και  $P=0,067$  μεταξύ των συνθηκών 3 και 1. Μεγαλύτερη συγκέντρωση της ένωσης αυτής υπήρχε στην συνθήκη 3, στην προσθήκη του ελαίου μετά τη ζύμωση,  $0,229\text{mg/l}$  έπειτα ακολουθούσε το τυφλό με συγκέντρωση  $0,057\text{mg/l}$  και τέλος ακολουθούσε η συνθήκη 2 με συγκέντρωση που άγγιζε τα  $0,039\text{mg/l}$ . Το Caproic acid (δεκανοϊκό οξύ), όπως προαναφέρθηκε ενισχύει την παχιά αίσθηση στο στόμα προσδίδοντας μερικές φορές έναν γλυκύ ταγγισμένο χαρακτήρα (Kishimoto T. 2019). Γενικά το παραπάνω οργανικό οξύ αποτελεί μια κοινή ένωση στον ζύθο αφού είναι ένα από τα δευτερογενή προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης αλλά έχει βρεθεί και σε γλεύκη ζύθων (Bravi, E. et al. 2014). Παρόλα αυτά, η συγκέντρωση της συγκεκριμένης ουσίας στην 3<sup>η</sup> συνθήκη (με την προσθήκη του ελαίου μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης), είναι όχι μόνο στατιστικώς διαφοροποιημένη σε σχέση με τις άλλες δύο συνθήκες, αλλά και τέσσερις φορές υψηλότερη σε σχέση με το τυφλό, ενώ σε σχέση με την 2<sup>η</sup> συνθήκη παρουσιάζεται σχεδόν έξι φορές ανεβασμένη. Το παραπάνω είναι πολύ πιθανόν να οφείλεται στην προσθήκη του αιθέριου ελαίου. Εξάλλου, αν και δεν είχαμε απόλυτη συμφωνία των δοκιμαστών κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση του δείγματος για την συνθήκη 3 ως προς αυτόν τον χαρακτήρα, ένας δοκιμαστής εντόπισε κάποια νότα τυριού (cheddar) στο δείγμα αυτής της συνθήκης

**Butylated hydroxytoluene:**

Με στατιστικές διαφορές  $P=0,035$  μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 και  $P=0,032$  μεταξύ των συνθηκών 3 και 1 η ένωση Butylated hydroxytoluene εμπεριέχεται σε όλες τις συνθήκες με ισχυρότερη την παρουσία του στο τυφλό,  $0,816\text{mg/l}$ , έπειτα την συνθήκη 2 να ακολουθεί με μικρή διαφορά,  $0,806\text{mg/l}$  και τέλος στη συνθήκη 3, την προσθήκη μετά τη ζύμωση βρέθηκε σε συγκέντρωση  $0,48\text{mg/l}$ .

Η ένωση Butylated hydroxytoluene αποτελεί ένα συνθετικό αντιοξειδωτικό η παρουσία του οποίου δεν δικαιολογείται ούτε από την διαδικασία της ζυθοποίησης ούτε από την προσθήκη του αιθέριου ελαίου τριαντάφυλλου.

Η παρουσία της ένωσης αυτής στην παρούσα εργασία έχει να κάνει με τους οργανικούς διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την προετοιμασία των δειγμάτων προκειμένου αυτά να εισαχθούν στον αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας. Αποτελεί ουσιαστικά ένα μέσο παρατήρησης του βαθμού εκχύλισης και συμπύκνωσης των προς ανάλυση δειγμάτων.

#### **Nonadecane:**

Η Nonadecane εντοπίστηκε επίσης σε όλες τις συνθήκες με διαφοροποίηση  $P=0,045$  μεταξύ συνθήκης 2 και τυφλού. Οι συγκεντρώσεις της αγγίζουν τα  $0,249\text{mg/l}$  στην συνθήκη 2 της προσθήκης του ελαίου κατά τη ζύμωση με αποτέλεσμα να την καθιστούν την συνθήκη με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε Nonadecane. Στη συνέχεια ακολουθεί η συνθήκη 3 με  $0,124\text{mg/l}$  και τέλος το τυφλό με μόλις  $0,042\text{mg/l}$ . Η Nonadecane είναι γνωστό συστατικό του αιθέριου ελαίου του τριαντάφυλλου όπως έχει αναφερθεί και σε άλλες έρευνες όπως σε αυτές των [Tsanaktsidis C. G<sup>α\\*</sup>, et. al, 2012](#) και [Rusanov K. E. et al., 2011](#). Η ένωση αυτή δεν διαθέτει κάποια οσμή όμως αποτελεί κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου που χρησιμοποιήθηκε. Η σύγκριση μεταξύ των συνθηκών 2 και 3 οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πιθανώς οι μεταβολικές διεργασίες της ζύμωσης οι οποίες λάμβαναν χώρα την στιγμή της προσθήκης του ελαίου στην συνθήκη 2 οδήγησαν σε αύξηση της περιεκτικότητας της nonadecane στο τελικό προϊόν.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.

Ολοκληρώνοντας την ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος αξίζει να γίνει αναφορά και συζήτηση στα ευρήματα της παρούσας εργασίας που είχαν να κάνουν ουσιαστικά με το ποια επιρροή θα μπορούσε να ασκήσει η προσθήκη του αιθέριου ελαίου τριαντάφυλλου σε έναν ζύθο, όταν αυτό προστίθεται σε διαφορετικές φάσεις της παραγωγής του.

Αρχικά παρατηρήθηκε μια διαφοροποίηση στην ζυμωτική ικανότητα αφού η συνθήκη 2, στην οποία το αιθέριο έλαιο προστέθηκε κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ήταν και η συνθήκη που αποζύμωσε ελαφρώς λιγότερο. Φαίνεται λοιπόν πως υπήρχε πράγματι μια -μικρή- επιρροή στην ικανότητα των ζυμομυκήτων να ολοκληρώνουν τη ζύμωση.

Εν συνεχεία παρατηρήθηκε σημαντική αυξομείωση στον πικρικό χαρακτήρα της συνθήκης 3 στην οποία το αιθέριο έλαιο προστέθηκε μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης. Η πικράδα παρουσιάστηκε πολύ ισχυρή στην αρχή ενώ κάποιους μήνες μετά υποχώρησε σε αρκετά μεγάλο βαθμό. Ακόμα και αν ληφθεί υπόψιν η γνωστή αποικοδόμηση και φυσική ελάττωση της πικρικής δυναμικότητας που οφείλεται στον λυκίσκο με το πέρασμα του χρόνου, η πτώση της πικράδας στη συνθήκη 3 δεν βρίσκει κάποια παρόμοια σε μέγεθος ελάττωση στις άλλες δύο συνθήκες. Θα ήταν χρήσιμο λοιπόν να ακολουθούσε περαιτέρω έρευνα πάνω στο κομμάτι της επίδρασης του αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* στις χημικές ενώσεις οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον πικρικό χαρακτήρα του ζύθου. Αυτό ενδεχομένως να βοηθούσε στην καλύτερη κατανόηση της ενσωμάτωσης ακόμη και του λυκίσκου, που χρησιμοποιείται ευρέως στην ζυθοποίηση, καθώς πιθανών να υπάρχουν κοινά στοιχεία τόσο στον μηχανισμό μεταβολισμού των αιθέριων ελαίων από τις ζύμες, όσο και στην σταθερότητά τους μέσα στο προϊόν.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά από την ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) στις συγκεντρώσεις των πτητικών συστατικών που ποσοτικοποιήθηκαν μέσω του GC-MS, μεταξύ των τριών συνθηκών, σημαντική ήταν η διαπίστωση πως στο ίδιο υπόστρωμα (ζύθος συνθήκης 2 και ζύθος συνθήκης 3) και με ακριβώς τις ίδιες συνθήκες ζύμωσης το αιθέριο έλαιο όταν προστέθηκε κατά τη διαδικασία της ζύμωσης έδωσε (R)-Citronellol ενώ όταν προστέθηκε μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης έδωσε Citronellol. Το αποτέλεσμα ήταν να αλλάξει ο χαρακτήρας του τελικού προϊόντος. Ο ζύθος της συνθήκης 2 παρουσιάστηκε πιο «άγουρος» με περισσότερες πράσινες νότες και τριαντάφυλλο ενώ στον ζύθο της συνθήκης 3 επικράτησε τελικά ο γλυκός χαρακτήρας με το τριαντάφυλλο να είναι ακόμη πιο αισθητό. Θα άξιζε να μελετηθεί η μεταβολική διεργασία που πραγματοποιήθηκε από τους ζυμομύκητες και έδωσε αυτά τα προϊόντα. Με βάση την

παραπάνω παρατήρηση, αντίστοιχα και η ένωση Nonadecane, γνωστό συστατικό του αιθέριου ελαίου του τριαντάφυλλου *Rosa damascena*, έδειξε να διπλασιάζει την συγκέντρωσή της στη συνθήκη 2 όπου το αιθέριο έλαιο προστέθηκε κατά τη ζύμωση (0,249 στη συνθήκη 2 έναντι 0,124 mg/l στην συνθήκη 3).

Ένας ακόμη λόγος για τον οποίο θα ήταν χρήσιμη η περαιτέρω μελέτη της επίδρασης που ασκήθηκε στον μεταβολισμό των ζυμών από το αιθέριο έλαιο που χρησιμοποιήθηκε, είναι και η δημιουργία ορισμένων ενώσεων οι οποίες εμφανίστηκαν μόνο στην συνθήκη 2 κατά την οποία δηλαδή το έλαιο πιθανά και να μεταβολίστηκε από τους ζυμομύκητες. Οι ενώσεις αυτές συγκεκριμένα είναι το Phenylacetic acid και η  $\gamma$ -Octalactone οι οποίες εμφανίστηκαν μόνο στη συνθήκη 2 και είναι γνωστές για την θετική τους συνεισφορά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των αλκοολούχων ποτών.

Όσον αφορά την ένωση Caproic acid , η οποία συναντάται γενικά στους ζύθους, φαίνεται ότι ήταν ιδιαίτερα αυξημένη όταν προσθέσαμε το έλαιο του τριαντάφυλλου μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης, αφού η συγκέντρωση του συγκεκριμένου οξέος, τετραπλασιάστηκε σε σχέση με το τυφλό του πειράματος.

Οι στατιστικές διαφορές στις παραπάνω πτητικές ενώσεις μεταξύ των συνθηκών, αντικατοπτρίστηκαν και στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των δειγμάτων όπως αυτός μετρήθηκε στο πανεπιστήμιο: Γενικά ενώ και οι δύο συνθήκες στις οποίες προστέθηκε το αιθέριο έλαιο είχαν ευχάριστη οσμή, το συνολικό οργανοληπτικό τους προφίλ ήταν εντελώς διαφορετικό.

Η συνθήκη στην οποία το αιθέριο έλαιο προστέθηκε κατά την διάρκεια της ζύμωσης δεν είχε μεγάλη αρωματική ένταση. Το ανθικό άρωμα ήταν παρόν και ευδιάκριτο αλλά όχι πολύ έντονο. Γενικά το συνολικό άρωμα σε μύτη και στόμα ήταν αρκετά πολύπλοκο σε αυτήν την συνθήκη.

Αντιθέτως όταν η προσθήκη του ελαίου έγινε μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, το αποτέλεσμα ήταν ένας ζύθος με ένα έντονο και ξεκάθαρο άρωμα τριαντάφυλλου/ γλυκού τριαντάφυλλου αλλά πιο «μονοδιάστατος» οργανοληπτικά.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί πως εάν η συνθήκη 1 που αποτέλεσε και το τυφλό, τον μάρτυρα της έρευνας, δεν είχε αλλοιωθεί και διαφοροποιηθεί τόσο σε σχέση με τις άλλες δύο συνθήκες, τα ευρήματα θα ήταν πιο σίγουρα και πιο αξιόπιστα, επομένως θα ήταν χρήσιμο να υπήρχε κάποια επανάληψη του πειράματος εάν και οι συνθήκες το επέτρεπαν.

## Βιβλιογραφία

- Andersson<sup>a,b,d,\*</sup>, S. C., Rumpunen<sup>b</sup>, K., Johansson<sup>c</sup>, E., & Olsson<sup>a</sup>, M. E. (2011). Carotenoid content and composition in rose hips (*Rosa* spp.) during ripening, determination of suitable maturity markers and implications for health promoting food products. *Food Chemistry*, 689-696.
- Bamforth, C. (2003). Beers: History and Types. In B. Caballero, L. Trugo, & P. M. Finglas, *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 418-422). San Diego: Academic Press.
- Baydar<sup>2</sup>, H., Kazaz<sup>1</sup>, S., & Erbas<sup>2</sup>, S. (2009). Variations in chemical compositions of *Rosa damascena* Mill. and *Rosa canina* L. fruits. *Czech J. Food Sci.*, 178-184.
- Baydar<sup>a,\*</sup>, N. G., & Baydar<sup>b</sup>, H. (2013). Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. *Industrial Crops and Products.*, 375-380.
- Bravi, E., Benedetti, P., Marconi, O., & Perretti, G. (2014). Determination of free fatty acids in beer wort. *Food Chemistry*, 374-378.
- BSG CraftBrewing. (χ.χ.). *BSG CraftBrewing*. Ανάκτηση από [bsgcraftbrewing.com: https://bsgcraftbrewing.com/nz-waimea](https://bsgcraftbrewing.com/nz-waimea)
- Cardello<sup>a</sup>, A. V., Pineau<sup>a</sup>, B., Paisley<sup>b</sup>, A. G., Roigar<sup>b</sup>, C. M., Chheang<sup>b</sup>, S. L., Guo, L. F., . . . Jaeger, S. R. (2016). Cognitive and emotional differentiators for beer: An exploratory study focusing on "uniqueness". *Food Quality Preference*, 23-38.
- Chen, E. C.-H., & Ho, C.-T. (1981). Identification of 9-Decenoic Acid in Beer and Yeasts. *Journal of The American Society of Brewing Chemists.*, 70-71.
- Christoph, N., & Bauer-Christoph, C. (2007). Flavour of Spirit Drinks: Raw Materials, Fermentation, Distillation, and Ageing. In R. G. Berger, *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. (pp. 232-235). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- da Silva, G. C., da Silva<sup>\*</sup>, A. A., da Silva, L. S., de O. Godoy, R. L., Nogueira, L. C., Quitério, S. L., & Raices, R. S. (2015). Method development by GC-ECD and HS-SPME-GC-MS for beer volatile analysis. *Food Chemistry*, 71-77.
- Dumphy, P. J. (2006). Location and biosynthesis of monoterpenyl fatty acyl esters in Rose petals. *Phytochemistry*.
- Erbaş<sup>\*</sup>, S., & Baydar, H. (2016). Variation in Scent Compounds of Oil-Bearing Rose (*Rosa Damascena* Mill.) Produced by Headspace Solid Phase Microextraction, Hydrodistillation and Solvent Extraction. *records of natural products*, 555-565.
- Ercisli, S. (2005). Rose (*Rosa* spp.) germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 787-795.

- György, K. (1992). *Guide to Documents and Manuscripts in Great Britain Relating to the Kingdom of Hungary from the Earliest Times to 1800*. London and New York: Mansell.
- Hayward, L., Wedel, A., & McSweeney, M. B. (2019). Acceptability of beer produced with dandelion, nettle and sage. *International Journal of Gastronomy and Food Science*.
- Howard, P. H. (2013). Too big to ale? Globalization and Consolidation in the Beer Industry. 2.
- Jaeger<sup>a</sup>, S. R., Worch<sup>b</sup>, T., Phelps<sup>a</sup>, T., Jin<sup>3</sup>, D., & Cardello<sup>c</sup>, A. V. (2020). Preference segments among declared craft beer drinkers: Perceptual attitudinal and behavioral responses underlying craft-style vs traditional-style flavor preferences. *Food Quality and Preference*.
- Kishimoto, T. (2019). Chapter 5: The Components Contributing to the Thickness of beer aroma. In T. Nishimura, & M. Kuroda, *Koku in Food Science and Physiology. Recent Research on a Key Concept in Palatability*. (pp. 64-77). Singapore: Spriger.
- Kovacheva, N., Rusanov, K., & Atanassov, I. (2010). Industrial Cultivation of Oil Bearing Rose and Rose Oil Production in Bulgaria During 21st Century, Directions and Challenges. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 1793-1798.
- Kunze, W. (2004). *Technology Brewing and Malting*. Berlin: VLB.
- Mollov<sup>a</sup>, P., Mihalev<sup>a,\*</sup>, K., Shikov<sup>a</sup>, V., Yoncheva<sup>b</sup>, N., & Karagyozev<sup>a</sup>, V. (2007). Colour stability improvement of strawberry beverage by fortification with polyphenolic copigments naturally occurring in rose petals. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 318-321.
- Mosher, M., & Trantham, K. (2017). *Brewing Science: A Multidisciplinary Approach*. Springer.
- OSAMA, M., IKRAM, R., & SARFARAZ, S. (2020). EVALUATION OF CYTO-TOXIC POTENTIAL OF AQUA DISTILLATE OF ROSA DAMASCENA MILL USING BRINE SHRIMP LETHALITY ASSAY. *Pakistan Journal of Pharmacology*, 9-12.
- Pires<sup>a</sup>, T. C., Dias<sup>a</sup>, M. I., Barros<sup>a,b</sup>, L., & Ferreira<sup>a</sup>, I. C. (2017). Nutritional and chemical characterization of edible petals and corresponding infusions: Valorizations as new food ingredients. *Food Chemistry*, 337-343.
- Rodrigues<sup>a,\*</sup>, J. A., Barros<sup>b</sup>, A. S., Carvalho<sup>c</sup>, B., Brandão<sup>c</sup>, T., Gil<sup>a</sup>, A. M., & Silva Ferreira<sup>d</sup>, A. C. (2011). Evaluation of beer deterioration by gas chromatography-mass spectrometry/multivariate analysis: A rapid tool for assessing beer composition. *Journal of Chromatography A*, 990-996.
- Rusanov, K. E., Kovacheva, N. M., & Atanassov, I. I. (2014). Comparative GC/MS Analysis of Rose Flower and Distilled Oil Volatiles of The Oil Bearing Rose Rosa Damascena. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2210-2216.

- Rusanov<sup>a\*</sup>, K., Kovacheva<sup>b</sup>, N., Rusanova<sup>a</sup>, M., & Atanassov<sup>a</sup>, I. (2012). Low variability of flower volatiles of *Rosa damascena* Mill. plants from rose plantations along the Rose Valley, Bulgaria. *Industrial Crops and Products*, 6-10.
- Sakuma, S., Hayashi, S., & Kobayashi, K. (1991). Analytical Methods for Beer Flavour Control. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 1-3.
- Shikov, V., Kammerer, D. R., Mihalev, K., Mollov, P., & Carle, R. (2012). Antioxidant capacity and colour stability of texture-improved canned strawberries as affected by the addition of rose (*Rosa damascena* Mill.) petal extracts. *Food Research International*, 552-556.
- Tsanaktsidis, C. G<sup>a\*</sup>, Tamoutsidis, E<sup>b</sup>, Kasapidis, G<sup>c</sup>, Itziou, A<sup>d</sup>, & Ntina, E<sup>a</sup>. (2012). Preliminary Results on Attributes of Distillation Products of the Rose *Rosa damascena* as a Dynamic and Friendly to the Environment Rural Crop. *APCBEE Procedia*, 66-73.
- Vanderhaegen<sup>\*</sup>, B., Neven, H., Verachtert, H., & Derdelinckx, G. (2006). The Chemistry of beer aging - a critical review. *Food Chemistry*, 357-381.
- Veljković, V. B., & Stanković, M. Z. (2003). Herbs used in alcoholic drinks. In B. Caballero, L. C. Trugo, & M. Finglas, *Encyclopedia of Food Science and Nutrition* (pp. 3098-3107). Academic Press.
- Vinatoru<sup>\*</sup>, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 303-313.

## Πηγές εικόνων.

Εικόνα 1.: <https://twitter.com/tsububar/status/671865503959277569>

Εικόνα 2.: <https://www.captainlawrencebrewing.com/hops-roses/>

Εικόνα 3.: <https://untappd.com/b/around-the-bend-beer-company-ramblin-rose/3220084>

Εικόνα 4.: <https://portland.thedrinknation.com/articles/read/9976-Portland-Brewing-Relaunches-With-Rose-Hip-Gold>

Εικόνα 5.: <https://beerandbrewing.com/review/oak-and-orchard-rose/>

Εικόνα 19.: <https://bsgcraftbrewing.com/nz-waimea>

Το υπόλοιπο φωτογραφικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε αποτελεί μέρος προσωπικού αρχείου.



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ:

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται οι πίνακες με τα δεδομένα που προέκυψαν από τις δειγματοληψίες κατά τη διάρκεια των ζυμώσεων των τριών συνθηκών του πειράματος.

ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ.:

Πίνακας 6 Μετρήσεις πυκνότητας.

Πυκνότητα (gr/mL)	Τυφλό	Προσθήκη κατά τη ζύμωση	Προσθήκη μετά τη ζύμωση
0	1,0585	1,0585	1,0585
3		1,05115	1,05112
7		1,03182	1,02807
8	1,03904	1,02741	1,02356
9		1,02392	1,02025
10		1,02143	1,01790
13	1,02777	1,01662	1,01430
14	1,02621	1,01584	1,01403
15	1,02408	1,01514	1,01359
16		1,01463	1,01336
17		1,01430	1,01319
20		1,01347	1,01286
23		1,01338	1,01290
129	1,00241	1,01274	1,01003

REAL EXTRACT.:

Πίνακας 7 Μετρήσεις real extract/ πραγματικού εκχυλίσματος.

real extract Plato			
ημέρες μετρήσεων	Τυφλό	Προσθήκη κατά τη ζύμωση	Προσθήκη μετά τη ζύμωση
0	14,85	14,85	14,85
3		13,35	13,36
7		9,64	8,91
8	11,04	8,77	8,00
9		8,09	7,35
10		7,59	6,88
13	8,84	6,64	6,15
14	8,54	6,48	6,12
15	8,11	6,33	6,02
16		6,23	5,98
17		6,17	5,95
20		6,02	5,90
23		6,01	5,91
129	3,63	5,86	5,31

ΑΛΚΟΟΛΗ.:

Πίνακας 8 Μετρήσεις αλκοόλης

αλκοόλη %v/v			
ημέρες μετρήσεων	Τυφλό	Προσθήκη κατά τη ζύμωση	Προσθήκη μετά τη ζύμωση
0	-0,01	-0,01	-0,01
3		0,65	0,68
7		3,29	3,82
8	2,3	3,88	4,42
9		4,42	4,92
10		4,77	5,25
13	3,86	5,47	5,72
14	4,07	5,57	5,84
15	4,36	5,64	5,89
16		5,73	5,93
17		5,81	5,98
20		5,97	6,06
23		6	6,05
129	7,15	6,02	6,42