



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

## **ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Παρακολούθηση παραγωγής και  
διαφοροποίηση δειγμάτων  
ζυμωμένων ποτών μέσω FT-IR**

**Όνοματεπώνυμο  
Αρμάου Κωνσταντίνα  
(ΑΜ:141139)  
Ντίνη Μαρία (ΑΜ:141084)**

**Επιβλέπων/-ουσα  
Όνοματεπώνυμο:**

Μπασαλέκου Μαριάνθη



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

## **BACHELOR THESIS**

**Production monitoring and  
discrimination of fermented  
beverages with the use of FT-IR**

**Student name and surname  
Konstantina Armaou (141139)  
Ntini Maria (141084)**

**Supervisor**

**Name and Surname:** Basalekou Marianthi

ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ –2023



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

## **ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο:

**«Παρακολούθηση παραγωγής και διαφοροποίηση  
ζυμωμένων ποτών μέσω FT-IR»**

και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

|   |  |
|---|--|
| <b>Ψηφιακή Υπογραφή<br/>Επιβλέποντα Καθηγητή<br/>(1<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b> |  |
| <b>Ψηφιακή Υπογραφή<br/>Καθηγητή<br/>(2<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>             |  |
| <b>Ψηφιακή Υπογραφή<br/>Καθηγητή<br/>(3<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>             |  |

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογράφουσες Αρμάου Κωνσταντίνα του Νικολάου και Ντίνη Μαρία του Κώστα, με αριθμό μητρώου 141139 & 141084 φοιτητριών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου & 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».

*Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι ..... και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή\**

Ο/Η Δηλών/ούσα

A.K



(Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή)

### Ψηφιακή Υπογραφή

\* Σε εξαιρετικές περιπτώσεις και μετά από αιτιολόγηση και έγκριση του επιβλέποντα, προβλέπεται χρονικός περιορισμός πρόσβασης (*embargo*) 6-12 μήνες. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να υπογράψει ψηφιακά ο/η επιβλέπων/ούσα καθηγητής/τρια, για να γνωστοποιεί ότι είναι ενημερωμένος/η και συναινεί. Οι λόγοι χρονικού αποκλεισμού πρόσβασης περιγράφονται αναλυτικά στις πολιτικές του I.A. ([σελ. 6](#)):

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκαν δεκατρία δείγματα ζυμωμένων ποτών του εμπορίου με τη χρήση υπέρυθρης φασματοσκοπίας FT-IR, συγκεκριμένα στο μέσο υπέρυθρο MIR. Τα δείγματα που αναλύθηκαν ήταν μύρα, κομπούχα και μηλίτης. Η παρακολούθηση των σταδίων παραγωγής τους, η σύστασή τους και οι αναλύσεις τους περιγράφονται, θεωρητικά. Για να παρατηρήσουμε και να διαφοροποιήσουμε τα δείγματα, έγινε η λήψη φασμάτων από το ειδικό φασματοφωτόμετρο (IRAffinity-1S), όπου παρατηρήθηκαν απορροφήσεις που αποδίδονται σε δονήσεις τάσεως διαφόρων ομάδων. Η λήψη των φασμάτων έγινε για κάθε δείγμα ξεχωριστά και μέσω του προγράμματος OMNIC, δημιουργήθηκε ένα μέσο φάσμα (average), δηλαδή ένα καινούργιο φάσμα που παρουσιάζει το μέσο όρο των φασμάτων με κοινά χαρακτηριστικά. Τα φάσματα συγκρίθηκαν, αλλά δεν υπήρχαν αρκετές διαφοροποιήσεις. Γι' αυτό δημιουργήθηκε ένα άλλο φάσμα, το φάσμα διακύμανσης (variance), δηλαδή ένα καινούργιο φάσμα που γίνεται η σύγκριση μεταξύ διαφορετικών φασμάτων. Σε αυτό το στάδιο, έγινε η παρακολούθηση και προστέθηκε και δείγμα κρασιού για μεγαλύτερη διακύμανση στην κορυφή της αλκοόλης. Τα φάσματα μελετήθηκαν και συμπεράναμε ότι υπήρξαν μικρές διαφορές στις κορυφές της αλκοόλης και του CO<sub>2</sub>. Οι περισσότερες κορυφές παρατηρήθηκαν στην περιοχή απορροφήσεων του δακτυλικού αποτυπώματος. Ωστόσο, καταλήξαμε στο ότι ένα τόσο περίπλοκο μίγμα όπως η μύρα, ο μηλίτης και η κομπούχα είναι δύσκολο να αποδοθεί σε μια συγκεκριμένη μοριακή δόνηση στο δακτυλικό αποτύπωμα. Η μέθοδος FTIR είναι κατάλληλη για την ταυτοποίηση κορυφών, ωστόσο για τα δείγματά μας θα χρειαστεί μεγαλύτερη διερεύνηση και συνδυασμός αναλύσεων.

**Λέξεις κλειδιά:** Ζύμωση, Μύρα, Κομπούχα, Μηλίτης, FTIR

## ABSTRACT

In the present study, 13 samples of commercial fermented beverages were examined,

using infrared spectroscopy FT-IR, specifically in the mid-infrared (MIR). The samples were analyzed, were beer, kombucha and cider. The monitoring of their production stages, the composition and their analyses are described theoretically. To observe and differentiate the samples, spectra were taken from the special spectrophotometer (IRAffinity-1S), where absorptions were observed, attributed to trend vibrations of varials groups spectra were taken for each sample separately and through the OMNIC programme an average spectrum was created, that is a new one, which presents the average of the spectra with common features. Spectra were compared, but there weren't enough differences. For that reason, another spectrum was created, the range of variation(variance), that is a new spectrum, where different spectra compared. At this stage the follow up was a sample of wine added for greater variation. The spectra were, studied and we concluded that there were slight differences in alcohol peaks and CO<sub>2</sub>, most of which(peaks) were observed in the absorption area of the fingerprint. However, we concluded that such a complex mixture, as beer, cider and kombucha it is difficult to attribute to a specific molecular vibration in the fingerprint. The method FTIR is suitable for peak identification. However, for our samples, more investigation and combination of analyzes will be needed.

**Keywords:** Fermentation, Beer, Kombucha, Cider, FTIR

## Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την επιβλέπουσα καθηγήτρια της παρούσας μελέτης κα Μπασαλέκου Μαριάνθη για τη βοήθεια που μας προσέφερε για να υλοποιήσουμε την εργασία,για την εμπιστοσύνη της και την τεράστια υπομονή της.

# Πίνακας περιεχομένων

|  |           |
|--|-----------|
| Περίληψη .....   | i         |
| Abstract .....   | i         |
| Ευχαριστίες .....  | iii       |
| Κατάλογος Πινάκων .....                                      | v         |
| Κατάλογος Εικόνων .....                                      | vi        |
| <b>1. Εισαγωγή και Σκοπός Εργασίας .....</b>                 | <b>1</b>  |
| <b>2. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση .....</b>                     | <b>2</b>  |
| <b>2.1 Μπύρα .....</b>                                       | <b>2</b>  |
| 2.1.1 Ιστορική Αναδρομή .....                                | 2         |
| 2.1.2 Πρώτες Ύλες .....                                      | 3         |
| 2.1.3 Η σύσταση της μπύρας .....                             | 5         |
| 2.1.4 Κατηγορίες μπύρας .....                                | 8         |
| 2.1.5 Στάδια παραγωγής .....                                 | 9         |
| 2.1.6 Βασικές αναλύσεις .....                                | 11        |
| <b>2.2 Κομπούχα .....</b>                                    | <b>12</b> |
| 2.2.1 Ιστορική Αναδρομή .....                                | 12        |
| 2.2.2 Η σύσταση της κομπούχας .....                          | 13        |
| 2.2.3 Κατηγορίες κομπούχας .....                             | 13        |
| 2.2.4 Παραγωγική διαδικασία .....                            | 15        |
| <b>2.3 Μηλίτης .....</b>                                     | <b>21</b> |
| 2.3.1 Ιστορική Αναδρομή .....                                | 21        |
| 2.3.2 Η σύσταση του μήλου .....                              | 24        |
| 2.3.3 Ποικιλίες και κατηγορίες μήλων .....                   | 24        |
| 2.3.4 Η σύσταση του μηλίτη .....                             | 25        |
| 2.3.5 Κατηγορίες μηλίτη .....                                | 26        |
| 2.3.6 Στάδια παραγωγής .....                                 | 29        |
| 2.3.7 Βασικές αναλύσεις .....                                | 38        |
| <b>2.4 FTIR φασματοσκοπία .....</b>                          | <b>40</b> |
| 2.4.1 Εφαρμογές στη βιομηχανία ποτών και τροφίμων .....      | 41        |
| 2.4.2 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα .....                  | 42        |
| 2.4.3 Προϋποθέσεις για τη φασματοσκοπία FTIR .....           | 43        |
| <b>Πείραμα</b>   |           |
| <b>3. Υλικά και Μέθοδοι .....</b>                            | <b>46</b> |
| <b>3.1 Δείγματα .....</b>                                    | <b>46</b> |
| <b>3.2 Μεθοδολογία .....</b>                                 | <b>47</b> |
| <b>4. Αποτελέσματα FTIR .....</b>                            | <b>49</b> |
| <b>4.1 Απεικόνιση φασμάτων FTIR .....</b>                    | <b>49</b> |
| 4.1.1 Απεικόνιση φασμάτων μπύρας .....                       | 49        |
| 4.1.2 Απεικόνιση φασμάτων κομπούχας .....                    | 54        |
| 4.1.3 Απεικόνιση φασμάτων μηλίτη .....                       | 58        |
| <b>4.2 Μελέτη των αποτελεσμάτων .....</b>                    | <b>63</b> |
| 4.2.1 CO <sub>2</sub> .....                                  | 63        |
| 4.2.2 Μελέτη των αποτελεσμάτων των δειγμάτων μπύρας .....    | 63        |
| 4.2.3 Μελέτη των αποτελεσμάτων των δειγμάτων κομπούχας ..... | 65        |
| 4.2.4 Μελέτη των αποτελεσμάτων των δειγμάτων μηλίτη .....    | 65        |
| <b>Συμπεράσματα .....</b>                                    | <b>67</b> |
| <b>Βιβλιογραφία .....</b>                                    | <b>69</b> |



## Κατάλογος Πινάκων

|  |    |
|--|----|
| <b>Πίνακας 2.1.1:</b> Ποιοτικά χαρακτηριστικά και βασικές λειτουργίες των τύπων βύνης που χρησιμοποιούνται στην ζυθοποιία..... | 10 |
| <b>Πίνακας 2.2.1:</b> Χημική σύσταση κομπούχας .....   | 14 |
| <b>Πίνακας 2.3.1:</b> Europe: Fastest Growing Cider Markets .....  | 24 |
| <b>Πίνακας 2.3.2:</b> Απαιτούμενη προσθήκη SO <sub>2</sub> στο χυμό μήλου ανάλογα το pH .....                                  | 32 |
| <b>Πίνακας 2.3.3:</b> Σύγκριση βασικών αναλύσεων για χυμό μήλου και γλεύκους .....   | 39 |
| <b>Πίνακας 3.1.1:</b> Δείγματα και τα χαρακτηριστικά τους .....  | 46 |

## Κατάλογος Εικόνων

|   |    |
|---|----|
| <b>Εικόνα 2.1.1</b> Πρώτες ύλες μύρας .....   | 3  |
| <b>Εικόνα 2.1.2</b> Σχηματική σύνοψη των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των διαφόρων ενώσεων που ενδιαφέρουν την μύρα και τα συστατικά της..... | 5  |
| <b>Εικόνα 2.1.3</b> Παραγωγική διαδικασία μύρας .....   | 9  |
| <b>Εικόνα 2.2.1</b> Στάδια παραγωγής κομπούχας .....  | 19 |
| <b>Εικόνα 2.3.1</b> Χημική σύσταση μηλίτη .....   | 26 |
| <b>Εικόνα 2.3.2</b> Διάγραμμα παραγωγής μηλίτη στη Γαλλία .....   | 29 |
| <b>Εικόνα 2.3.3</b> Μηλίτες με άλλα φρούτα .....  | 35 |
| <b>Εικόνα 2.4.1</b> IR-Spectroscopy- Αρχή, Όργανα, Εφαρμογή.....  | 41 |
| <b>Εικόνα 3.2.1</b> Μηχάνημα IRAffinity-1S .....  | 48 |
| <b>Εικόνα 4.1.1</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος μύρας.....  | 49 |
| <b>Εικόνα 4.1.2</b> Μεγέθυνση μέσου φάσματος μύρας στο δακτυλικό αποτύπωμα.....   | 50 |
| <b>Εικόνα 4.1.3</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της μύρας BudLager.....   | 51 |
| <b>Εικόνα 4.1.4</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της μύρας HofbrLager.....   | 51 |
| <b>Εικόνα 4.1.5</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της μύρας Purq.....   | 52 |
| <b>Εικόνα 4.1.6</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της μύρας Tuch.....   | 52 |
| <b>Εικόνα 4.1.7</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της μύρας Weiz.....   | 53 |
| <b>Εικόνα 4.1.8</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της μύρας FullLp.....   | 53 |
| <b>Εικόνα 4.1.9</b> Απεικόνιση φάσματος διακύμανσης των δειγμάτων μύρας.....  | 54 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.1</b> Απεικόνιση φάσματος κομπούχας.....  | 54 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.2</b> Μεγέθυνση μέσου φάσματος δειγμάτων κομπούχας στο δακτυλικό αποτύπωμα...   | 55 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.3</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της κομπούχας Komburhu.....   | 55 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.4</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της κομπούχας Komburpin.....  | 56 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.5</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της κομπούχας Kombuhop.....   | 56 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.6</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος της κομπούχας Kombucof.....   | 57 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.7</b> Απεικόνιση φάσματος διακύμανσης των δειγμάτων κομπούχας.....  | 57 |
| <b>Εικόνα 4.1.2.8</b> Φάσμα διακύμανσης μύρας-κομπούχας με λυκίσκο.....   | 58 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.1</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος μηλίτη.....   | 58 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.2</b> Μεγέθυνση μέσου φάσματος δειγμάτων μηλίτη στο δακτυλικό αποτύπωμα.....  | 59 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.3</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος του μηλίτη Rpass.....   | 60 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.4</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος του μηλίτη Rrasb.....   | 60 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.5</b> Απεικόνιση μέσου φάσματος του μηλίτη Rstr.....  | 61 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.6</b> Απεικόνιση φάσματος διακύμανσης των δειγμάτων μηλίτη.....   | 61 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.7</b> Φάσμα διακύμανσης μύρας και μηλίτη.....   | 62 |
| <b>Εικόνα 4.1.3.8</b> Φάσμα διακύμανσης μηλίτη-κομπούχα.....  | 62 |



## Συντμήσεις, ακρωνύμια, σύμβολα και ορισμοί

|                      |   |
|----------------------|---|
| FTIR                 | Fourier transform infrared spectroscopy |
| MIR                  | Mid-infrared spectroscopy               |
| n. a                 | Not Available                           |
| <i>S. Cerevisiae</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i>         |

# 1.Εισαγωγή και Σκοπός της Εργασίας

Η ζύμωση αποτελεί μέθοδο επεξεργασίας και παραγωγής νέων προϊόντων, τα οποία είναι γνωστά ως ζυμωμένα προϊόντα. Τα ζυμωμένα ποτά χρονολογούνται από τη Νεολιθική εποχή 10000BC-2200BC. Στη σημερινή εποχή υπάρχει μια ραγδαία ανάπτυξη, παγκοσμίως και συνεχίζουν να αποτελούν σημαντικό τμήμα της διατροφής του ανθρώπου. Τα ζυμωμένα ποτά διαχωρίζονται στα αλκοολούχα και μη αλκοολούχα ποτά. Οι ζύμες είναι αυτές που μετατρέπουν τα σάκχαρα σε αλκοόλη, CO<sub>2</sub> και άλλα δευτερογενή προϊόντα, όσο αναφορά την αλκοολική ζύμωση. Οι ζύμες κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τη ζυμωτική τους ικανότητα. Εκτός, της αλκοολικής ζύμωσης, στα ζυμωμένα ποτά συναντάμε και τη μηλογαλακτική ζύμωση. Η οποία πραγματοποιείται μετά την αλκοολική ζύμωση και με τη δράση βακτηρίων μετατρέπεται το μηλικό οξύ σε γαλακτικό οξύ. Σύμφωνα με έρευνες, οι καταναλωτές στις μέρες μας έχουν δείξει μεγάλο ενδιαφέρον ως προς τη μπίρα. Στην Ελλάδα η κατανάλωση και η παραγωγή έχουν αυξηθεί από το 2015. Ωστόσο δεν μπορούμε να πούμε το ίδιο για το μηλίτη και την κομπούχα. Καθώς η παραγωγή του μηλίτη απαγορευόταν μέχρι το 2017. Ενώ η κομπούχα είναι ένα πιο οικιακό ζυμωμένο ποτό. Η μπίρα, ο μηλίτης και η κομπούχα έχουν μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον, αλλά δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες για τη διαφοροποίηση τους. Αυτή, μπορεί να μελετηθεί με τη χρήση υπέρυθρης φασματοσκοπίας FT-IR, η οποία είναι μία μέθοδος ανάλυσης ταυτοποίησης, ανίχνευσης και ελέγχου. Στο πείραμα θα μελετηθεί σε ευρύ φάσμα η διαφοροποίηση των προϊόντων. Η συγκεκριμένη μελέτη έχει σκοπό να διερευνήσει την καταλληλότητα της μεθόδου FTIR ως προς τη διαφοροποίηση ζυμωμένων ποτών.

## 2.Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

### 2.1 Μπύρα

Η μπύρα είναι ένα από τα πιο ευρέως καταναλωτικά ποτά παγκοσμίως. Παράγεται από κριθάρι, νερό, λυκίσκο και ζύμες με μια σειρά εργασιών, με την πολτοποίηση και τη ζύμωση να είναι οι κύριες διαδικασίες παραγωγής. Το στάδιο της πολτοποίησης αποτελείται από την εκχύλιση των συστατικών των κόκκων βύνης, ενώ στη ζύμωση μετατρέπονται τα σάκχαρα σε αιθανόλη (Bamforth, 2003). Η βιβλιογραφία αναφέρει διάφορες μελέτες σχετικά με την παραγωγή μπύρας, εστιάζοντας κυρίως στη διαδικασία ζύμωσης. Ωστόσο, στο στάδιο πολτοποίησης συνίσταται προσοχή, καθώς καθορίζεται η σύνθεση του ζυθογλεύκου και επομένως επηρεάζει έντονα το στάδιο ζύμωσης και την ποιότητα της μπύρας.(Defermez et al., 2007; Lei et al.,2016).

#### 2.1.1 Ιστορική Αναδρομή

Η μπύρα είναι το αρχαιότερο ποτό του κόσμου, ξεκινώντας από τους Σουμέριους το 3000-2800 π.Χ., εγκατεστημένοι μόνιμα στη Μεσοποταμία, άρχισαν τις πρώτες καλλιέργειες δημητριακών. Οι Σουμέριοι ασχολήθηκαν με την καλλιέργεια, την συγκομιδή, την άλεση και τον βρασμό των δημητριακών. Φημολογείται ότι τα γλεύκη αλεσμένων δημητριακών με νερό, ξεχάστηκαν από απροσεξία και ζυμώθηκαν στον αέρα ελεύθερα, δημιουργώντας τις πρώτες μπύρες. Είναι, ωστόσο, πιθανό η μπύρα να ήταν γνωστή και σε προγενέστερους λαούς της Μεσοποταμίας, και ίσως παρασκευάστηκε για πρώτη φορά το 9500 π.Χ., όταν ξεκίνησε η καλλιέργεια δημητριακών. Άλλες αναφορές για την παρασκευή μπύρας ξεκινούν από την αρχαία Αίγυπτο και τη Μεσοποταμία, περίπου το 4000 π.Χ. Οι Βαβυλώνιοι, που διαδέχθηκαν τους Σουμέριους, φαίνεται πως επίσης παρασκεύαζαν μπύρα από διάφορα δημητριακά. Στους Αιγύπτιους, πρέπει να ήταν γνωστά περισσότερα από τέσσερα είδη μπύρας και πολλοί υποστηρίζουν πως ήταν το βασικό τους ποτό. Στους παλαιότερους χρόνους, η μπύρα των ανατολικών λαών παρασκευαζόταν σχεδόν με τον ίδιο τρόπο που παρασκευάζεται και σήμερα, δηλαδή από κριθάρι και σπανιότερα από άλλα δημητριακά. Η προσθήκη λυκίσκου, είναι σημαντική για τη βελτίωση της γεύσης αλλά και για τη συντήρηση της μπύρας, χρονολογείται περίπου το 1000 π.Χ. Η μπύρα ήταν περισσότερο ευπρόσδεκτη στους βορειότερους λαούς, όπως ήταν οι Σκύθες και οι Αρμένιοι, καθώς και στους Ίβηρες.

Οι Κέλτες και τα αρχαία γερμανικά φύλα γνώριζαν την μπύρα από τον 1<sup>ο</sup> π.Χ. αιώνα, αν και μάλλον αγνοούσαν τον λυκίσκο. Αντικαθιστούσαν τον λυκίσκο με μείγματα διαφόρων βοτάνων. Η χρήση του λυκίσκου ξεκίνησε στη Γερμανία, κατά τον Μεσαίωνα. Συγκεκριμένα, η πρώτη αναφορά στην καλλιέργεια λυκίσκου χρονολογείται το 768 μ.Χ. στη μονή Φράιζινγκ της Βαυαρίας.

Κατά το τέλος της 1ης χιλιετίας μ.Χ. άρχισε η παραγωγή της μπύρας να γίνεται και σε μοναστήρια. Ο λόγος που οι μοναχοί ασχολήθηκαν με αυτό το θέμα, ήταν επειδή ήθελαν ένα γευστικό, θρεπτικό ποτό να συνοδεύει τα γεύματά τους. Επίσης κατά τη

διάρκεια της νηστείας, η μύρα επιτρεπόταν και έτσι η παραγωγή της έφτασε σε υψηλά επίπεδα. Κατά συνέπεια, μετά από λίγο καιρό παρήγαγαν μεγαλύτερη ποσότητα από αυτή που χρειάζονταν για τις ανάγκες τους και τελικά άρχισαν το εμπόριό της.

Το 1516, ο Βαυαρός δούκας Γουλιέλμος Δ' εισήγαγε τον «Νόμο Αγνότητας» (γερμ. Reinheitsgebot), ίσως τον αρχαιότερο διατροφικό κανονισμό, που ισχύει και σήμερα. Σύμφωνα με αυτόν, στη γερμανική ζυθοποιία δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιείται άλλη πρώτη ύλη εκτός από κριθάρι, λυκίσκο και νερό. Στον παραπάνω νόμο δεν αναφερόταν καθόλου η μαγιά, καθώς δεν ήταν ακόμη γνωστή.

Με το πέρασμα των χρόνων, η διαδικασία της ζυθοποίησης βελτιώθηκε σημαντικά. Στα μέσα του 19ου αιώνα, καθοριστικό ρόλο στη βελτίωση αυτή, έπαιξε η ανακάλυψη, της ψύξης καθώς και της παστερίωσης. Οι τεχνικές αυτές επέτρεψαν την παραγωγή κάθε είδους μύρας, ανεξάρτητα από την εποχή του χρόνου. Η ζυθοποιία τελειοποιήθηκε στα τέλη του 19ου αιώνα, μετά τα πειράματα του E.C. Hansen γύρω από τους ζυμομύκητες.

Σήμερα η βιομηχανία ζύθου έχει μεγάλη ανάπτυξη περιλαμβάνοντας μερικές μεγάλες πολυεθνικές εταιρίες αλλά και χιλιάδες μικρούς παραγωγούς. Οι εξελίξεις στην παραγωγή πρώτων υλών, στη βυνοποίηση, στη ζυθοποίηση, στην ψύξη, στις μεταφορές, στο marketing και στο εμπόριο έχουν οδηγήσει στην διαμόρφωση μιας πολυεθνικής αγοράς, όπου ο καταναλωτής έχει εκατοντάδες επιλογές ανάμεσα σε διάφορους τύπους μύρας τοπικών, εγχωρίων και εισαγόμενων. (Ελληνική Ένωση Ζυθοποιών).

## 2.1.2 Πρώτες ύλες μύρας

Τέσσερα είναι τα βασικά συστατικά για την παρασκευή μύρας Κριθάρι, Νερό, Λυκίσκος και Ζύμες. Αναλυτικότερα:



Εικόνα 2.1.1 Πρώτες ύλες μύρας

### 1. Κριθάρι

Το πιο δημοφιλές δημητριακό είναι το κριθάρι. Η χρήση του έχει πολλά πλεονεκτήματα: έχει κατάλληλο επίπεδο πρωτεΐνης (8–12% ξηρό βάρος) και χαμηλά επίπεδα λιπιδίων, αναπτύσσει υψηλά επίπεδα αμυλολυτικών ενζύμων κατά τη βλάστηση και έχει φλοιό που βοηθά στον διαχωρισμό του αδιάλυτου υλικού από το απαιτούμενο ζυμώσιμο εκχύλισμα.

### 2. Νερό

Η μύρα αποτελείται από περίπου 94% νερό, επομένως το νερό είναι ένα απαραίτητο, αλλά συχνά παραμελημένο συστατικό για την παραγωγή μύρας (Comrie, 1967). Το νερό

έχει σημαντική επίδραση στα χημικά και αισθητήρια χαρακτηριστικά της μπίρας. Ωστόσο, το νερό πρέπει να πληροί ορισμένες παραμέτρους για να χρησιμοποιηθεί στην ζυθοποιία. Η συνολική σκληρότητα ορίζεται ως το άθροισμα όλων των ιόντων (ιόντα ασβεστίου, μαγνησίου και βαρίου) (Kadlec, 2002, Eßlinger, 2009). Διακρίνεται σε μόνιμη και παροδική σκληρότητα. Τα ιόντα για τη μόνιμη σκληρότητα είναι τα θειικά, νιτρικά και χλωριούχα και αυτά παραμένουν όταν το νερό βράζει (Briggs et al., 2004; Eßlinger, 2009). Η παροδική σκληρότητα προκαλείται κυρίως από τα διττανθρακικά άλατα ασβεστίου και μαγνησίου και εάν το νερό βράσει, το διττανθρακικό μετατρέπεται σε ανθρακικό, το οποίο καθιζάνει αφήνοντας το νερό διαυγές. (Kadlec, 2002, Briggs et al., 2004).

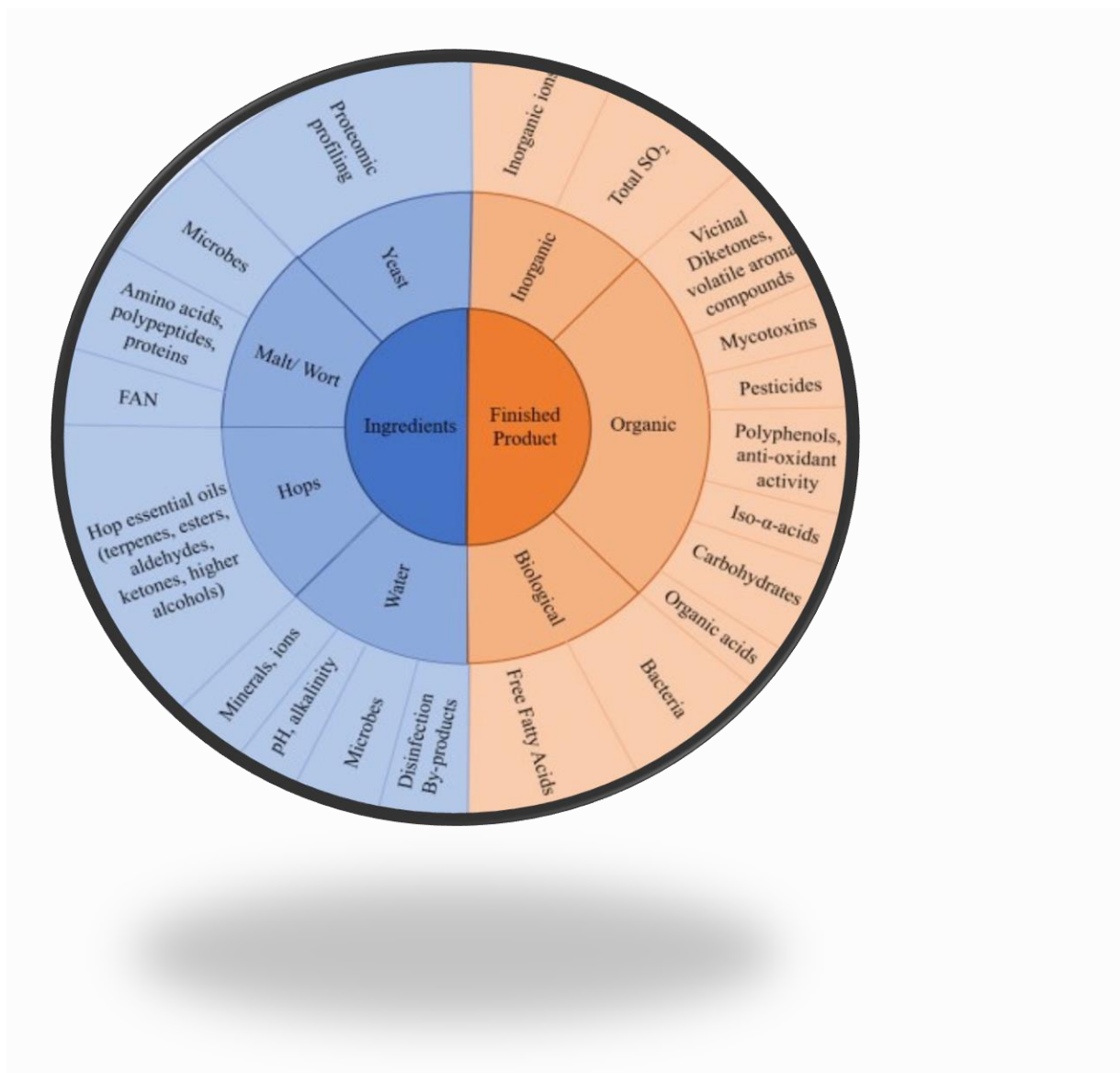
### **3. Λυκίσκος**

Ο λυκίσκος (*Humulus lupulus L.*) είναι ένα από τα κύρια συστατικά της μπίρας. Η χημική σύνθεση του λυκίσκου αποτελείται από ρητίνες, πολυφαινόλες, αιθέρια έλαια, διάφορες πρωτεΐνες, κυτταρίνη και νερό (Kobus-Cisowska et al., 2019). Η αξία του λυκίσκου αποδίδεται σε δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται κατά τις διαδικασίες παρασκευής μπίρας. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες μπορούν να χωριστούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: πικρά οξέα και τα παράγωγά τους, πολυφαινόλες και συστατικά αιθέριων ελαίων (Steenackers et al., 2015). Τα πικρά οξέα προέρχονται από ρητίνες, οι οποίες κατηγοριοποιούνται ως μαλακές ή σκληρές ανάλογα με τη διαλυτότητά τους στο εξάνιο (Knez Hm̃cič et al., 2019). Τα πικρά οξέα που προέρχονται από μαλακές ρητίνες χωρίζονται σε α- και β-οξέα. Τα α-οξέα, που ονομάζονται επίσης α-λουπουλικά οξέα ή χουμουλόνες, αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο μέρος των μαλακών ρητινών. τα δευτερεύοντα μέρη αποτελούνται από β-οξέα, που ονομάζονται επίσης β-λουπουλικά οξέα (λουπουλόνες) (Lamy et al., 2007). Τα πικρά οξέα παρουσιάζουν αντικαρκινικές επιδράσεις, αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και ευεργετικές επιδράσεις στον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων (Lin et al., 2019).

### **4. Ζύμες**

Οι ζύμες είναι ευκαρυωτικοί, μονοκύτταροι οργανισμοί που, σε βιοχημικό επίπεδο, μοιάζουν πολύ με όλα τα άλλα ευκαρυωτικά κύτταρα. Είναι το πιο σημαντικό κομμάτι της ζύμωσης. Οι ζύμες μετατρέπουν τα σάκχαρα σε αλκοόλη, διοξείδιο του άνθρακα και σε άλλα συστατικά που επηρεάζουν τη γεύση των ζυμωμένων ποτών και τροφίμων. (Yeast: the practical guide to beer fermentation by Chris White with Jamil Zainasheff).





Εικόνα 2.1.2 Σχηματική σύνοψη των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των διαφόρων ενώσεων που ενδιαφέρουν την μύρα και τα συστατικά της [H.E. Anderson et al. / *Analytica Chimica Acta* 1085 (2019) 1-20]

### 2.1.3 Η σύσταση της μύρας

Η μύρα είναι ένα πολύπλοκο μείγμα. Πάνω από 400 διαφορετικές ενώσεις έχουν χαρακτηριστεί στην μύρα η οποία, περιέχει μακρομόρια όπως πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα, υδατάνθρακες και λιπίδια. Μερικά από τα συστατικά της μύρας προέρχονται από τις πρώτες ύλες και επιβιώνουν αμετάβλητα στη διαδικασία παραγωγής. Άλλα είναι το αποτέλεσμα του χημικού και βιοχημικού μετασχηματισμού των πρώτων υλών κατά τη διάρκεια της βινοποίησης, της πολτοποιήσης, του βρασμού, της ζύμωσης και της προετοιμασίας. Μαζί όλα αυτά τα συστατικά συνθέτουν τον χαρακτήρα της μύρας, αλλά, γενικά, και διαφορετικές μύρες, οι οποίες περιέχουν διαφορετικές αναλογίες των ίδιων ενώσεων και όχι νέα συστατικά. (J.S. Hough, D.E Briggs, R. Stevens, T.W Young, 1981). Αναλυτικότερα:

#### i. Οργανικά οξέα

Τα οργανικά οξέα είναι τελικά προϊόντα τόσο της ζύμωσης όσο και της βακτηριακής ζύμωσης (Beer Analysis Applications Notebook,2016). Αυτά τα οξέα είναι κρίσιμα για το γευστικό προφίλ, αλλά λόγω της βακτηριακής ζύμωσης μπορεί να δημιουργήσουν μια ξινή γεύση, η οποία μπορεί να είναι σκόπιμη κατά την παρασκευή ξινής μπίρας ή ακούσια, λόγω αλλοίωσης. Η ταυτότητα και η ποσότητα των οργανικών οξέων που παράγονται κατά τη ζύμωση εξαρτάται από το στέλεχος ζύμης και το πρωτόκολλο παρασκευής που χρησιμοποιείται. Τα οργανικά οξέα επηρεάζουν το pH και τη γεύση της μπίρας (T.V. Pai, S.Y. Sawant, A.A. Ghatak, P.A. Chaturvedi, A.M. Gupte, N.S. Desai,2015;L. Montanari, G. Perretti, F. Natella, A. Guidi, P. Fantozzi,1999). Η παρουσία αυτών των οξέων μπορεί επίσης να βοηθήσει στην αύξηση της διάρκειας ζωής της μπίρας αναστέλλοντας την ανάπτυξη ορισμένων βακτηρίων που προκαλούν αλλοίωση όπως η Σαλμονέλα (A.J. Das, P. Khawas, T. Miyaji, S.C. Deka,2014). Η πικράδα της τελικής μπίρας προέρχεται από πρόδρομες ουσίες που υπάρχουν στον λυκίσκο, τα πιο βασικά από τα οποία είναι τα α-οξέα (χουμουλόνες) και τα β-οξέα (λουπουλόνες). Σύμφωνα με τον De Keukeleire, η πιο σημαντική χημική μετατροπή κατά τη διάρκεια του βρασμού του γλεύκος είναι ο θερμικός ισομερισμός των α-οξέων σε ισο-α-οξέα μέσω μιας συστολής δακτυλίου τύπου ακυλοΐνης. Τα ισο-α-οξέα προσδίδουν περίπου το 80% της πικρής γεύσης της μπίρας.

## ii. Υδατάνθρακες

Η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες στο γλεύκος και την μπίρα είναι σημαντική στη σύγχρονη ζυθοποιία, ειδικά για την ανάπτυξη νέων γεύσεων και την επιλογή πρώτων υλών. Η σύνθεση της μπίρας είναι περίπου 3,3-4,4% υδατάνθρακες, οι οποίοι περιλαμβάνουν 75-80% δεξτρίνες, 20-30% μονοσακχαρίτες και ολιγοσακχαρίτες και 5-8% πεντοζάνες, καθιστώντας τους υδατάνθρακες το κύριο μη πτητικό συστατικό της μπίρας (Sonia Cortacero-Ramirez, Miguel Herna´inz-Bermu´dez de Castro, Antonio Segura-Carretero, Carmen Cruces-Blanco, Alberto Ferna´ndez-Gutie´rrez,2003; Giuseppe Arfelli, Elisa Sartini,2014). Αρκετοί σακχαρίτες παραμένουν στην μπίρα μετά τη ζύμωση, συμπεριλαμβανομένων μονοσακχαριτών (κυρίως D-γλυκόζη, D-φρουκτόζη, D-ριβόζη, L-αραβινόζη, D-ξυλόζη και D-γαλακτόζη) που συμβάλλουν στη γλυκύτητα του προϊόντος και περιλαμβάνουν περίπου το 10% των υδατανθράκων του γλεύκος. Οι κύριοι δισακχαρίτες είναι η μαλτόζη και η σακχαρόζη, ενώ ορισμένοι κύριοι τρισακχαρίτες είναι η μαλτοτριόζη, η ισο-μαλτόζη και η ραφινόζη, που έχει αποδειχθεί ότι έχουν πολλά οφέλη για την υγεία, όπως η πρόληψη των καρδιακών παθήσεων (Sonia Cortacero-Ramirez, Miguel Herna´inz-Bermu´dez de Castro, Antonio Segura-Carretero, Carmen Cruces-Blanco, Alberto Ferna´ndez-Gutie´rrez,2003; A.J Das, P. Khawas, T. Miyaji, S.C. Deka, 2014).

## iii. Πτητικές ενώσεις

Η ζύμωση οδηγεί στην παραγωγή αιθανόλης και μιας σειράς παραπροϊόντων, συμπεριλαμβανομένων άλλων αλκοολών, καρβονυλικών ενώσεων, εστέρων, αλδεΐδων και οξέων (G. Dragone, S.I. Mussatto, J.M. Oliveira, J.A. Teixeira,2009). Αυτές οι ενώσεις βοηθούν στη δημιουργία του αρωματικού προφίλ και στη γεύση της μπίρας, επομένως η κατανόηση της φύσης και της συγκέντρωσης των πτητικών ουσιών μπορεί να είναι αρκετά σημαντική για την επιλογή πρώτων υλών και στελεχών ζύμης, καθώς και για τον ποιοτικό έλεγχο (G.A. da Silva, F. Augusto, R.J. Poppi,2008).

#### **iv. Κετόνες- Δικετόνες**

Οι δικετόνες είναι μόρια με δύο ομάδες κετόνης σε "διπλανά" άτομα άνθρακα. Τα πιο κοινά που βρίσκονται στην μύρα είναι η 2,3-βουτανοδιόνη (ονομάζεται επίσης διακετύλιο) και η 2,3-πεντανοδιόνη, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τις δυσάρεστες γεύσεις (Beer Analysis Applications Notebook,2016;J.M. Leça, A.C. Periera, A.C.Vieira, M.S. Reis, J.C. Marques,2015). Αν και οι δικετόνες παράγονται κατά τη ζύμωση, δεν σχηματίζονται απευθείας από τη μαγιά. Κατά τη σύνθεση της βαλίνης και της ισολευκίνης, οι πρόδρομες ενώσεις α-ακετολακτάση και α-ακετουδροξυβουτυράση απεκκρίνονται από τα κύτταρα του ζυμομύκητα και υφίστανται οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση για να σχηματίσουν διακετύλιο και πεντανοδιόνη, αντίστοιχα. (J.M. Leça, A.C. Periera, A.C. Vieira, M.S. Reis, J.C. Marques,2015). Οι χαρακτηριστικές γεύσεις του διακετυλίου περιλαμβάνουν το βούτυρο, την καραμέλα ή την καραμέλα βουτύρου, ενώ η πεντανοδιόνη παράγει νότες μελιού στην μύρα (J.S. Nickel;2011).

#### **v. Πολυφαινόλες**

Οι πολυφαινόλες είναι μια κατηγορία εύκολα οξειδώσιμων ενώσεων, ικανών να αποτρέψουν την οξείδωση άλλων μορίων, που σημαίνει ότι εμφανίζουν αντιοξειδωτικό σώμα. Επιπλέον, οι πολυφαινόλες μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα, το χρώμα, τη γεύση και τη διάρκεια ζωής της μύρας (T.V. Pai, S.Y. Sawant, A.A. Ghatak, P.A. Chaturvedi, A.M. Gupte, N.S. Desai,2015). Οι περισσότερες πολυφαινόλες προέρχονται από τη βύνη (περίπου το 70%) ενώ το υπόλοιπο 30% προέρχεται από τον λυκίσκο, η ακριβής ποσότητα εξαρτάται από την ποικιλία του λυκίσκου και το σημείο στο οποίο προστίθενται (C. Gerhauser, H. Becker,2009,;O. Oladokun, A. Tarrega, S. James, K. Smart, J. Hort, D. Cook,2016;A. Piazzon, M. Forte, M. Nardini,2010). Τα φαινολικά συστατικά της μύρας καλύπτουν μια μεγάλη δομική ποικιλία που ανήκουν στις κατηγορίες των απλών φαινολών, των παραγώγων του βενζοϊκού και του κινναμικού οξέος, των κουμαρινών, των κατεχινών και των φλαβονοειδών. Μερικά κοινά φαινολικά συστατικά της μύρας περιλαμβάνουν φλαβαν-3-όλες και τα συμπυκνωμένα προϊόντα τους, τις προανθοκυανιδίνες (C. Gerhauser, H. Becker,2009), και έχει αποδειχθεί ότι καθορίζουν τη σταθερότητα (D. De Keukeleire,2000). Αυτή η σταθερότητα αναφέρεται στην τάση της μύρας να παράγει θολώματα μέσω της συμπλοκοποίησης πολυφαινολών και πρωτεϊνών, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό ίζημάτων (Beer Analysis Applications Notebook,2016).

#### **vi. Αμινοξέα, πολυπεπτίδια, πρωτεΐνες**

Μέρος της θρεπτικής αξίας και της σταθερότητας της μύρας προέρχεται από πρωτεΐνες και αμινοξέα, πράγμα που σημαίνει ότι ο χαρακτηρισμός των πρωτεϊνών κατά τα διάφορα στάδια της ζυθοποίησης μπορεί να είναι χρήσιμος στον ποιοτικό έλεγχο (S. Cortacero-Ramírez, M. Hernainz-Bermúdez de Castro, A. Segura-Carretero, C. Cruces-Blanco, A. Fernandez-Guti errez,2003; A.J. Das, P. Khawas, T. Miyaji, S.C. Deka,2014). Η πρωτεΐνη της μύρας προέρχεται από το βυνοποιημένο κριθάρι, το οποίο περιέχει περίπου 10-12% πρωτεΐνη. Το ένα τρίτο αυτής της πρωτεΐνης εξάγεται κατά τη διάρκεια της πολτοποιήσης και πολλές από τις μεγάλες πρωτεΐνες αφαιρούνται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βρασμού, αφήνοντας τη μύρα με 0,2-0,6 g/100 mL πρωτεΐνης, κυρίως με τη μορφή πεπτιδίων και

πολυπεπτιδίων. Οι ακριβείς ποσότητες εξαρτώνται από την παρασκευή και τον τύπο της μπύρας. Τα περισσότερα από τα ελεύθερα αμινοξέα που υπάρχουν στο γλεύκος προσλαμβάνονται από τη μαγιά κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Ωστόσο, η προλίνη δεν μπορεί να αφομοιωθεί από τη μαγιά και παραμένει στη μπύρα σε υψηλή συγκέντρωση. Τα υπολείμματα προλίνης βοηθούν στην παραγωγή αρωματικών ενώσεων κατά την παρασκευή, και με αυτόν τον τρόπο μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα (J S. Gorinstein, M. Zemser, F. Vargas-Albores, J.-L. Ochoa, O. Paredes-Lopez, Ch Scheler, J. Salnikow, O. Martin-Belloso, S. Trakhtenberg, 1999).

### **vii. Ανόργανα συστατικά**

Οι ανόργανες ενώσεις που βρίσκονται στην μπύρα είναι κατιόντα μετάλλων, ιχνοστοιχεία και ανιόντα, τα οποία επηρεάζουν τη διαύγεια και την αλμυρή γεύση του ποτού. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να προέρχονται από διάφορα μέρη, όπως από τις πρώτες ύλες (συνήθως από βύνη), την επεξεργασία και τη συσκευασία του τελικού προϊόντος της μπύρας. Τα χλωριούχα και τα θειικά είναι τα ιόντα που παρουσιάζουν υψηλότερο ενδιαφέρον, ως προς τη γεύση. Μερικά άλλα ιόντα που βρίσκονται συνήθως περιλαμβάνουν νιτρικά, φωσφορικά, σίδηρο, χαλκό, ψευδάργυρο, μαγγάνιο, νικέλιο. Το διοξείδιο του θείου (SO<sub>2</sub>) στην μπύρα προέρχεται από το μεταβολισμό της ζύμης. Το SO<sub>2</sub> συμβάλλει στην αύξηση της σταθερότητας της γεύσης αντιδρώντας με ενώσεις καρβονυλίου (συνήθως αλδεΐδες). Το SO<sub>2</sub> δρα επίσης ως αντιοξειδωτικός και αντιμικροβιακός παράγοντας σε υψηλές συγκεντρώσεις.

### **viii. Αλκοόλες**

Εκτός από την αιθανόλη, οι ανώτερες αλκοόλες (γνωστές ως fusel oils) είναι οι κύριες αλκοόλες που προσδίδουν αισθητικές ιδιότητες στην μπύρα, συμπεριλαμβανομένης της ν-προπανόλης, της ισοβουτανόλης, της ενεργού αμυλικής αλκοόλης, της ισοαμυλικής αλκοόλης και της 2-φαινυλαιθυλικής αλκοόλης (Angelino, 1991).

## **2.1.4 Κατηγορίες μπύρας**

Η γεύση και το άρωμα οποιασδήποτε μπύρας καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από το στέλεχος της μαγιάς που χρησιμοποιείται μαζί με τη σύσταση του γλεύκους. Επιπλέον, οι ιδιότητες της ζύμης όπως η κροκίδωση, η ικανότητα ζύμωσης, η οσμωτική πίεση, η ανοχή σε αιθανόλη και οι απαιτήσεις σε οξυγόνο έχουν κρίσιμο αντίκτυπο στην απόδοση της ζύμωσης. (Stewart, 2016). Με τον γενετικό χειρισμό των ζυμομυκήτων, έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμα ποικιλιακά στελέχη, τα οποία, μαζί με τροποποιήσεις στη διαδικασία παρασκευής έχουν οδηγήσει σε διαφορετικούς τύπους μπύρας. Αυτές οι μπύρες που εμφανίζονται πιο συχνά ταξινομούνται ως εξής:

***Lager***: Μπύρες παρασκευασμένες με ζύμες που καθιζάνουν στον πάτο της δεξαμενής και καταλήγουν σε μια διαυγή μπύρα. Αυτές, ονομάζονται βυθοζύμες και η ζύμωση γίνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες 5-7°C. Παράδειγμα βυθοζύμης είναι ο *Saccharomyces carlsbergensis*.

***Pilsner***: Μια ανοιχτόχρωμη μπύρα lager που παρασκευάστηκε αρχικά στην πόλη

Pilsen. Το νερό που χρησιμοποιείται για αυτό το στυλ μύρας τείνει να είναι πιο σκληρό, με υψηλότερη περιεκτικότητα σε ασβέστιο και μαγνήσιο από το νερό που χρησιμοποιείται για τη Lager.

Ale: Μύρες που παρασκευάζονται με ζύμες που επιπλέουν στην κορυφή των δεξαμενών, με αποτέλεσμα μια πιο θολή μύρα. Αυτές, ονομάζονται αφροζύμες και η ζύμωση γίνεται σε υψηλές θερμοκρασίες 15-20°C. Επίσης, τείνουν να έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ από τις Lager. Παράδειγμα αφροζύμης είναι ο *Saccharomyces cerevisiae*.

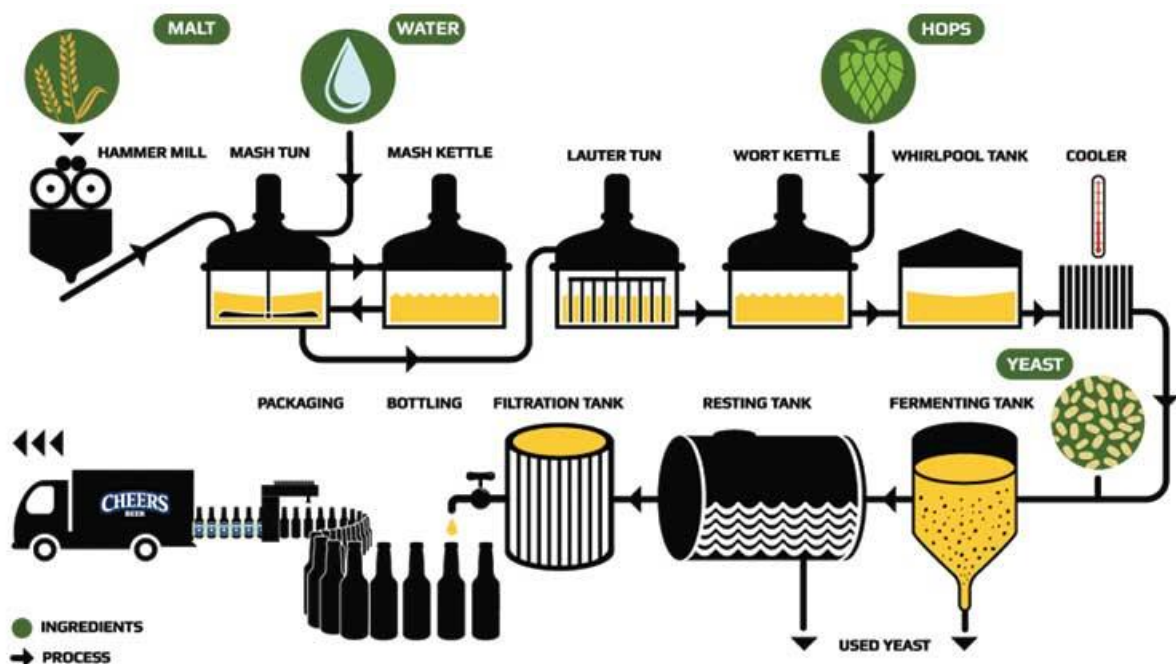
Porter: Μια πολύ σκουρόχρωμη μύρα. Το σκούρο χρώμα και η ιδιαίτερη γεύση προέρχονται από το ψήσιμο της βύνης πριν την παρασκευή της. Αυτό συνήθως έχει ως αποτέλεσμα μια πιο δυνατή γεύση και υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ.

Stout: Μια αρκετά σκουρόχρωμη, σχεδόν μαύρη μύρα. Το σκούρο χρώμα και η γεύση του καβουρδισμένου προέρχονται από το κριθάρι και/ή την καβουρδισμένη βύνη (Wong, 2003).

## 2.1.5 Στάδια Παραγωγής

Η ζυθοποίηση είναι μια βιοτεχνολογική διεργασία που αποτελείται από τρία στάδια:

A) Το προζυμωτικό B) Το κυρίως ζυμωτικό και Γ) Το μεταζυμωτικό (Τεχνολογίες βύνης & ζύθου)



Εικόνα 2.1.3 Παραγωγική διαδικασία μύρας (<https://microbenotes.com/beer-production>)

Αναλυτικότερα η παραγωγή μύρας αποτελείται από δέκα στάδια που είναι τα εξής:

### 1. Άλεση

Η βύνη ή άλλα βυνοποιημένα δημητριακά φτάνουν στο ζυθοποιείο, οπότε η πρώτη διαδικασία είναι η άλεση βύνης, η οποία πραγματοποιείται για να μειωθεί το μέγεθος των σωματιδίων, διευκολύνοντας έτσι την εκχύλιση και τον μετασχηματισμό των επιθυμητών ενώσεων. Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει τον διαχωρισμό του ενδοσπερμίου από το φλοιό και τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων για να δώσει χοντρά λέπυρα ή λεπτά λέπυρα. Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο σύστημα άλεσης είναι ο κυλινδρόμυλος, που αποτελείται γενικά από τρία ζεύγη κυλίνδρων. Το τελικό προϊόν της διαδικασίας άλεσης μπορεί να ταξινομηθεί ως εξής:

1. Φλοιοί: Είναι τα μεγαλύτερα σωματίδια και αποτελούνται από το εξωτερικό του κόκκου του κριθαριού. Συνεισφέρουν ελάχιστα στο γλεύκος.
2. Παχιά σωματίδια: Αντιπροσωπεύουν το 20-25% κατά βάρος της αλεσμένης βύνης και αποδίδουν το 10-12% του διαλυτού εκχυλίσματος.
3. Λεπτά σωματίδια ή αλεύρι: Αντιπροσωπεύουν το 50-60% κατά βάρος της αλεσμένης βύνης και αποδίδουν το 89-90% του τελικού εκχυλίσματος.

Το σύστημα άλεσης πρέπει να ρυθμιστεί ώστε να βελτιώνεται η παραγωγή λεπτών σωματιδίων. Η επόμενη διαδικασία είναι η πολτοποίηση, κατά την οποία λαμβάνεται το υγρό εκχύλισμα. (M. Ortega-Heras, M.L González-Sanjosè, 2003)

Πίνακας 2.1.1 Ποιοτικά χαρακτηριστικά και βασικές λειτουργίες των τύπων βύνης που χρησιμοποιούνται στην ζυθοποιία

| <b>Malt type</b>       | <b>Type of beer</b>                          | <b>Fine extract (%)</b> | <b>Protein (%)</b> |
|------------------------|--|-------------------------|--------------------|
| <b>Pale lager malt</b> | <b>Lager</b>                                 | <b>81</b>               | <b>10,5</b>        |
| <b>Pale ale malt</b>   | <b>Ale</b>                                   | <b>82</b>               | <b>10,0</b>        |
| <b>Vienna malt</b>     | <b>Lager, Bock, Various</b>                  | <b>81</b>               | <b>11,0</b>        |
| <b>Munich malt</b>     | <b>Dark Lager, Various</b>                   | <b>79</b>               | <b>11,8</b>        |
| <b>Crystal malt</b>    | <b>Ales, light, alcohol-reduced, Various</b> | <b>75</b>               | <b>12,0</b>        |
| <b>Crapills</b>        | <b>Lagers, light, alcohol-reduced</b>        | <b>78</b>               | <b>12,0</b>        |
| <b>Amber malt</b>      | <b>Ales, Stouts</b>                          | <b>75</b>               | <b>n. a</b>        |
| <b>Chocolate malt</b>  | <b>Ales, Stouts</b>                          | <b>75</b>               | <b>n. a</b>        |
| <b>Black malt</b>      | <b>Stouts</b>                                | <b>73</b>               | <b>n. a</b>        |
| <b>Acidic malt</b>     | <b>Lagers, Wheat</b>                         | <b>73</b>               | <b>10,5</b>        |
| <b>Wheat malt</b>      | <b>Wheat, Various</b>                        | <b>85</b>               | <b>13,3</b>        |
| <b>Diastatic malt</b>  | <b>High adjunct lagers, grain distilling</b> | <b>76</b>               | <b>10,9</b>        |

Briggs (1998), Narziss (1999) and Anonymous (2001)

## 2. Πολτοποίηση

Μόλις η βύνη αλεσθεί, αναμειγνύεται με νερό για να σχηματιστεί «πολτός». Ο πολτός θερμαίνεται υπό ελεγχόμενες συνθήκες και στη συνέχεια πραγματοποιούνται σημαντικοί μετασχηματισμοί των συστατικών της βύνης με τη δράση ενδογενών ενζύμων. Τα ένζυμα λειτουργούν καλύτερα υπό τις ακόλουθες συνθήκες: άφθονο νερό, σωματίδια υψηλής επιφάνειας (επιτρέποντας καλύτερη πρόσβαση στα υποστρώματά τους, π.χ. άμυλο, πρωτεΐνες, λιπίδια κ.λπ.) και βέλτιστες θερμοκρασίες. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι κατά τη διάρκεια της πολτοποίησης, είναι πολύ σημαντικό να ελέγχεται η διαθεσιμότητα οξυγόνου, καθώς ορισμένα από τα ένζυμα, που θα μπορούσαν να ενεργοποιηθούν κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου εξαρτώνται από το οξυγόνο. Επιπλέον, η παρουσία οξυγόνου καθορίζει την ανάπτυξη μη ενζυματικής οξειδωσης, η οποία μπορεί να είναι πολύ σημαντική για το σχηματισμό ανεπιθύμητων προϊόντων όπως οι αλδεΐδες που σχηματίζονται από ακόρεστα λιπαρά οξέα ή το σχηματισμό καφέ χρωστικών. Η πολτοποίηση πραγματοποιείται συνήθως σε μία δεξαμενή, διαρκεί 4 και 6 ώρες και συχνά πραγματοποιείται σύμφωνα με ένα συγκεκριμένο προφίλ θερμοκρασίας, καθώς κάθε τύπος ενζύμου έχει τη βέλτιστη θερμοκρασία λειτουργίας του:

1. 35–50° C: Κυριαρχεί η δράση πρωτεασών και φωσφατάσης. Οι πρωτεΐνες υδρολύονται και απελευθερώνονται αμινοξέα και άλλες ενώσεις αζώτου.
2. 50–65° C: Κυριαρχεί η δράση των β-αμυλασών, που μετατρέπουν το άμυλο σε μαλτόζη και δεξτρίνες.
3. 65–75° C: Η δραστηριότητα της α-αμυλάσης είναι κυρίαρχη. Η υδρόλυση του αμύλου συνεχίζεται και η σακχαροποίησή του ολοκληρώνεται.
4. > 75° C: Όλα τα ένζυμα του μείγματος καθίστανται ανενεργά.

Τα εξωγενή ένζυμα μπορούν να προστεθούν διαδοχικά σε κάθε στάδιο ή στην αρχή ως ένα σύνθετο μείγμα που συνήθως περιέχει πρωτεάσες και αμυλάσες.

## 3. Διήθηση-Διαύγαση:

Σε αυτή τη φάση, το αδιάλυτο μέρος του μείγματος, διαχωρίζεται από το υγρό μέρος. Η διήθηση πραγματοποιείται συνήθως με χρήση lauter tun ή με φίλτρο πολτοποίησης. Το lauter tun είναι ένα δοχείο με επίπεδο, διάτρητο πυθμένα. Υπάρχει ένας ειδικός τύπος lauter tun, το strainmaster, που έχει διαφορετικό πάτο με τρυπητούς τριγωνικούς σωλήνες αντί για διάτρητο πάτο. Με αυτόν τον τρόπο, η περιοχή φιλτραρίσματος είναι μεγαλύτερη και η απορροή είναι ταχύτερη. Η ποιότητα του γλεύκους είναι επίσης καλή, αλλά το φίλτρο διατηρεί μεγάλη ποσότητα υγρού. Διάφορα κοίλα πλαίσια και πλάκες, χωρισμένα με πανιά, σχηματίζουν το



φίλτρο πολτοποίησης ή το φίλτρο πρέσας. Συνήθως, το φιλτράρισμα πραγματοποιείται σε υψηλή θερμοκρασία προκειμένου να βελτιωθεί η διαδικασία διήθησης και να μειωθεί η διάρκεια. Οι ζυθοποιοί και οι σχετικές εμπορικές βιομηχανίες έχουν αφιερώσει πολύ χρόνο στην έρευνα πώς να αναπτύξουν γρήγορα συστήματα φιλτραρίσματος που δεν οδηγούν σε απώλειες του γλεύκους. Μερικά από τα πρώτα συστήματα που μελετήθηκαν ήταν τα συστήματα πολτοποίησης υψηλής πίεσης, αλλά το φίλτρο σε αυτούς τους τύπους συστημάτων είχε αρκετές ελλείψεις και δεν πληρούσε τις απαιτήσεις. Αργότερα, αναπτύχθηκε το φίλτρο μεμβράνης. Είναι ένα αυτόματο σύστημα εξοπλισμένο με πλάκες πολυπροπυλενίου και φίλτρο, και περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια: πλήρωση, διήθηση, προσυμπίεση, σπάσιμο, συμπίεση και αφαίρεση εξαντλημένων κόκκων. Τα πλεονεκτήματα αυτού του φίλτρου περιλαμβάνουν: παραγωγή διαυγούς ζυθογλεύκους με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα, μειωμένο όγκο υγρού σπαραγμού, παραγωγή ξηραντηρίου, μειωμένη πρόσληψη O<sub>2</sub>, μηδενική ακτινοβολία θερμότητας και λύματα, υψηλή απόδοση (12 παρασκευές την ημέρα), απλοποιημένη τεχνολογία άλεσης, εύκαμπτο φορτίο (70–110% κανονική χωρητικότητα) και ευελιξία όσον αφορά τις πρώτες ύλες και τις διαδικασίες πολτοποίησης. Το τελικό προϊόν αυτού του σταδίου είναι ένα «καθαρό» υγρό εκχύλισμα που ονομάζεται «γλυκό γλεύκος».

#### **4.Βρασμός**

Ο βρασμός του γλεύκους πραγματοποιείται για διαφορετικούς λόγους, οι οποίοι μπορούν να συνοψιστούν ως προς τα κύρια και τα δευτερεύοντα αποτελέσματα που είναι πολύ σημαντικά για το τελικό χαρακτηριστικό της τελικής μύρας, όπως σταθεροποίηση, βελτίωση της γεύσης, τροποποίηση χρώματος κ.λπ.

Τα κύρια αποτελέσματα είναι: να καταστούν τα ένζυμα ανενεργά, αφού το άμυλο, οι πρωτεΐνες και άλλα συστατικά έχουν μετασχηματιστεί (υδρολυθεί), και η αποστείρωση του γλεύκους. Μερικές από τις πιο σημαντικές δευτερεύουσες επιπτώσεις είναι:

Πήξη των υπόλοιπων πρωτεϊνών (hot break), η οποία είναι πολύ σημαντική για την πρόληψη της θολότητας στην μύρα

Καθίζηση φωσφορικού ασβεστίου, που προκαλεί πτώση του pH.

Η εκχύλιση και ο μετασχηματισμός σημαντικών ενώσεων στο βρασμό πραγματοποιείται παρουσία λυκίσκου. Επομένως, κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, οι χουμουλόνες και οι λουπουλόνες εκχυλίζονται και στη συνέχεια, μετά από θερμική επεξεργασία, ισομερίζονται για να δώσουν την τυπική πικρή γεύση της μύρας. Επιπλέον, τα ισοοξέα που σχηματίζονται βοηθούν στη σταθεροποίηση του αφρού.



Αφαίρεση πτητικών προϊόντων (π.χ. ανεπιθύμητων γευστικών ενώσεων όπως θεικές ενώσεις) και μερικών από τα αιθέρια έλαια που εξάγονται από τον λυκίσκο.

Μερική καραμελοποίηση των σακχάρων του γλεύκους και σχηματισμός προϊόντων αντιδράσεων Maillard, μπορούν να βελτιώσουν τη γεύση και ελαφρώς αλλάζουν το χρώμα.

Μερικά από αυτά τα προϊόντα (π.χ. μελανοειδίνες) προκαλούν αλλαγές στην επιφανειακή τάση και επίσης βοηθούν στη σταθεροποίηση του αφρού.

Εξάτμιση νερού και συμπύκνωση γλεύκους.

Ο βρασμός γίνεται παραδοσιακά σε δοχεία, όπου ο λυκίσκος προστίθεται ως άνθη λυκίσκου, σφαιρίδια ή ακόμα και εκχυλίσματα λυκίσκου. Στην παρασκευή «ale», ο λυκίσκος προστίθεται συνήθως στα αρχικά στάδια του βρασμού, καθώς ο σχηματισμός αφρού μπορεί να ελεγχθεί κατά τη διάρκεια της διαδικασίας.

Στην παραγωγή «lager», ο λυκίσκος προστίθεται συνήθως σε διαφορετικούς χρόνους κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βρασμού. Διαφορετικοί τύποι δοχείων χρησιμοποιούνται στη διαδικασία βρασμού του γλεύκους. Οι πιο συνηθισμένοι τύποι είναι οι εξής :

Παραδοσιακά δοχεία βρασμού

Δοχεία ανοιχτού τύπου, στα οποία η διαδικασία λαμβάνει χώρα σε ατμοσφαιρική πίεση. Παραδοσιακά, τα δοχεία βρασμού ήταν κατασκευασμένα από χαλκό και είχαν εξωτερική πηγή θερμότητας. Τα σύγχρονα δοχεία έχουν εσωτερική πηγή θερμότητας και είναι κατασκευασμένα από ανοξείδωτο χάλυβα, ο οποίος είναι αγωγός χαμηλής θερμότητας, ελαχιστοποιώντας έτσι την απώλεια θερμότητας. Ωστόσο, ορισμένοι συγγραφείς ισχυρίζονται ότι το παραδοσιακό χάλκινο σκεύος φαίνεται να προσδίδει μια ιδιαίτερη γεύση που χαρακτηρίζει το γλεύκος. Στα παραδοσιακά συστήματα, η διαδικασία βρασμού διαρκεί από 1 έως 2 ώρες. Προκειμένου να μειωθούν οι ενεργειακές ανάγκες για αυτή τη διαδικασία, έχουν αναπτυχθεί αρκετά συστήματα θερμότητας. Η χρήση ενός εξωτερικού εναλλάκτη θερμότητας, απαιτεί μικρότερο χρόνο βρασμού, επειδή, σε αυτό το σύστημα, το γλεύκος κυκλοφορεί μέσω του εναλλάκτη θερμότητας και φτάνει σε υψηλότερες θερμοκρασίες (106–110 C). Άλλα συστήματα έχουν επικεντρωθεί στην ανακύκλωση του ατμού που σχηματίζεται. Ως εξωτερικά συστήματα βρασμού έχουν χρησιμοποιηθεί μηχανικά συστήματα συμπίεσης ατμών.

Συστήματα συνεχών υψηλών θερμοκρασιών

Εστιάζοντας στη μείωση της ενέργειας, αυτά τα συστήματα αποτελούνται από πολλούς διαδοχικούς εναλλάκτες θερμότητας, στους οποίους η θερμοκρασία του γλεύκους αυξάνεται στους 140° C και διατηρείται για 3-5 λεπτά. Η πίεση στη συνέχεια μειώνεται χρησιμοποιώντας δύο δοχεία διαστολής και οι ατμοί τελικά ανακυκλώνονται για να θερμανθεί ο εναλλάκτης θερμότητας. Με αυτόν τον τρόπο,

μειώνεται ο χρόνος της διαδικασίας παρασκευής και καταναλώνεται λιγότερη ενέργεια, επομένως το τελικό κόστος μπορεί να μειωθεί σημαντικά. Ορισμένοι συγγραφείς έχουν υποδείξει ότι υπάρχουν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των αισθητηριακών χαρακτηριστικών των γλευκών που παράγονται και με τις δύο μεθόδους.

Το τελικό προϊόν από το στάδιο βρασμού πρέπει να φιλτράρεται πριν από τη ζύμωση προκειμένου να εξαλειφθούν όλα τα ιζήματα που σχηματίζονται κατά το βρασμό

## **5. Whirlpool**

Το πρώτο σημείο που πρέπει να σημειωθεί είναι ότι μετά τη διαδικασία βρασμού, όλες οι εργασίες πρέπει να εκτελούνται υπό αποστειρωμένες συνθήκες, προκειμένου να αποφευχθεί τυχόν μόλυνση του γλεύκους. Τα θερμά ιζήματα, μαζί με τα άνθη λυκίσκου, πρέπει να αφαιρεθούν. Όταν χρησιμοποιούνται pellet ή εκχυλίσματα λυκίσκου, το γλεύκος συνήθως διαυγάζεται με την προσθήκη ενός μέσου διαύγασης, όπως μπεντονίτης ή, ακόμη καλύτερα, γέλη πυριτίου, πριν αντληθεί στα συστήματα διήθησης. Οι τύποι εξοπλισμού που χρησιμοποιούνται σε αυτή τη διαδικασία φιλτραρίσματος περιλαμβάνουν τον λεγόμενο ανεμόμυλο, Whirlpool, φυγόκεντρο ή δεξαμενή θερμής καθίζησης. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες τροποποιήσεις στα συστήματα φίλτρων, με κύριο στόχο τη βελτίωση της διαδικασίας φιλτραρίσματος με τη μείωση του χρόνου λειτουργίας και την αύξηση της καθαρότητας του λυκίσκου. Μετά το ζεστό φιλτράρισμα, το καθαρό γλεύκος πρέπει να κρυώσει για να μειωθεί η θερμοκρασία και να επιτραπεί η προσθήκη μαγιάς και πρέπει να αεριστεί για να προωθήσει την ανάπτυξη της μαγιάς, έτσι ώστε το γλεύκος να είναι στην καλύτερη κατάσταση για το επόμενο βήμα : τη ζύμωση.

## **6. Ψύξη**

Για την ψύξη και τον αερισμό που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μύρας. Χρησιμοποιείται ψύξη με πλάκες ή σωληνωτούς εναλλάκτες θερμότητας: Ο ψυκτικός παράγοντας που χρησιμοποιείται είναι συνήθως κρύο νερό ή αλκοόλη ή άλμη. Ο αέρας εισάγεται, με τη μορφή αποστειρωμένου αέρα ή οξυγόνου, συνήθως μεταξύ των δύο τμημάτων του εναλλάκτη θερμότητας, όταν το γλεύκος εισέρχεται στο τελικό στάδιο ψύξης. Η πτώση της θερμοκρασίας οδηγεί στο σχηματισμό νέων ιζημάτων, τα οποία εξαλείφονται με καθίζηση, αν και ορισμένες ζυθοποιίες το κάνουν αυτό με διήθηση ή φυγοκέντρηση του γλεύκους ή ακόμη και με διαχωρισμό επίπλευσης, ο οποίος είναι πιο αποτελεσματικός από την καθίζηση όταν το μέγεθος των σωματιδίων είναι πολύ μικρό. Επιπλέον, μελέτες που πραγματοποιήθηκαν το 2000, έδειξαν ότι οι τεχνικές επίπλευσης ελαχιστοποιούν τις απώλειες γλεύκους. Η διασταυρούμενη ροή, η μικροδιήθηση και η υπερδιήθηση έχουν επίσης περιγραφεί

ως ενδιαφέρουσες τεχνικές με τις οποίες εξαλείφονται τα ιζήματα ψυχρής διάσπασης του γλεύκους. Ο αερισμός συνήθως ελέγχεται από συγκεκριμένους μηχανισμούς που βασίζονται στην ταυτόχρονη ροή υγρού και αερίου και στο χρόνο παραμονής του υγρού στη μονάδα επεξεργασίας. Το τελικό προϊόν είναι ένα καθαρό, κρύο και αεριζόμενο γλεύκος, έτοιμο να μετατραπεί σε μύρα μετά τη ζύμωσή του με τη δράση επιλεγμένης μαγιάς.

## 7. Ζύμωση

Η ζύμωση της μύρας μπορεί να πραγματοποιηθεί τόσο σε υψηλές όσο και σε χαμηλές θερμοκρασίες. Όπως αναφέραμε παραπάνω, η Lager, παράγεται με τη χρήση βυθοζύμης όπως *Saccharomyces pastorianus*. Αυτή η διαδικασία ζύμωσης λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασίες μεταξύ 4 και 13 °C για 4–12 εβδομάδες (Eliodorio et al., 2019). Ενώ, οι μύρες Ale συνήθως ζυμώνονται σε υψηλότερες θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 16 έως 24 °C κατά τη διάρκεια 7-10 ημερών από το στέλεχος ζύμης *S. cerevisiae* (de Vries et al., 2017· Monerawela and Bond, 2018). Κατά τη ζύμωση του γλεύκους, οι ζυμομύκητες μπορούν να μετατρέψουν τη ζάχαρη σε αιθανόλη, CO<sub>2</sub> και πολλές άλλες ενώσεις, όπως οργανικά οξέα, οξικό αιθυλεστέρα, γλυκερόλη, διακετύλιο και 4-βινυλογουαϊακόλη που μπορούν να παρέχουν συγκεκριμένες οργανοληπτικές ιδιότητες στο τελικό προϊόν (Nikulic et al., 2020a· Vanbeneden et al., 2008). Η διαδικασία της ζύμωσης πρέπει να παρακολουθείται καθ' όλη τη διάρκεια. Υπάρχουν τρεις πτυχές για την παρακολούθηση της διαδικασίας της ζύμωσης. Πρώτον, το ποσοστό των ζυμώσεων ελέγχεται με την εφαρμογή ψύξης και επομένως είναι απαραίτητη η παρακολούθηση της θερμοκρασίας. Δεύτερον, η διαδικασία της ζύμωσης μετράται, συνήθως από περιοδική ή συνεχή μέτρηση του ειδικού βάρους του γλεύκους ή μιας σχετικής παραμέτρου. Τρίτον, στις ζυμώσεις lager μπορεί να είναι απαραίτητο να οριστεί το τελικό σημείο κατά τη μέτρηση της συγκέντρωσης των δικετονών. Στη ζύμωση, κύριος παράγοντας είναι η ζύμη. Ο ρυθμός εμβολιασμού επηρεάζει τόσο τον ρυθμό ζύμωσης όσο και την ανάπτυξη της ζύμης. Αναμενόμενα, εντός ορισμένων ορίων, υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του ρυθμού εμβολιασμού της ζύμης και του ρυθμού ζύμωσης. Σε χαμηλές τιμές, υπάρχει επίσης θετική συσχέτιση μεταξύ του ρυθμού εμβολιασμού και της ανάπτυξης νέας ζύμης κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Ωστόσο, σε υψηλότερο ρυθμό εμβολιασμού, η ανάπτυξη της νέας ζύμης φτάνει στο μέγιστο και στη συνέχεια μειώνεται. Το πρότυπο ανάπτυξης ζυμομύκητα μπορεί να εξηγηθεί με βάση την αναλογία της αρχικής συγκέντρωσης κυττάρων ζυμομύκητα και τη συγκέντρωση των διαθέσιμων θρεπτικών συστατικών. Στις περισσότερες μικροβιακές καλλιέργειες, ο αριθμός των κυττάρων στο εμβόλιο είναι μικρότερος σε

σύγκριση με την τελική κυτταρική συγκέντρωση, όταν η ανάπτυξη περιορίζεται από την εξάντληση της θρεπτικής ουσίας.

## **8.Ωρίμανση**

Το τελικό ζυμωμένο προϊόν μεταφέρεται σε δεξαμενές αποθήκευσης ή παγωμένα κελάρια και διατηρείται εκεί μεταξύ 0 και 3°C για μερικές ημέρες έως πολλές εβδομάδες. Αδιάλυτα φωσφορικά άλατα, ρητίνες και κύτταρα ζυμομύκητα που είχαν πήξει από την μύρα καθιζάνουν στον πυθμένα κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (Nelson and Young, 1986). Για να αποφευχθεί η δημιουργία θολότητας όταν η τελική μύρα εκτεθεί στο κρύο αργότερα, χρησιμοποιείται συχνά η χρήση κολλαρίσματος. Οι ασταθείς πρωτεΐνες της μύρας ευθύνονται κυρίως για αυτή τη θολότητα. Προκειμένου να αποφευχθούν οξειδωτικές αλλαγές στη μύρα που επηρεάζουν τη γεύση, συνήθως προστίθενται αντιοξειδωτικά κατά την ωρίμανση σε ψυχρή αποθήκευση. Το ασκορβικό οξύ και το διοξείδιο του θείου (θειώδη) χρησιμοποιούνται συχνά για την πραγματοποίηση αυτής της δραστηριότητας (Harrison and Nummer, 2000).

## **9.Σταθεροποίηση**

Η πιο τυπική μέθοδος σταθεροποίησης είναι η προσθήκη διοξειδίου του άνθρακα που μπορεί να οδηγήσει σε ένα τελικό επίπεδο διαλυμένου διοξειδίου του άνθρακα περίπου 0,5 τοις εκατό στην μύρα. Αυτό το διοξείδιο του άνθρακα βοηθά στο σχηματισμό και τη διατήρηση του αφρού καθώς και στη διατήρηση της μύρας αντικαθιστώντας το διαλυμένο οξυγόνο, το οποίο είναι επιβλαβές για τη σταθερότητα της μύρας. Περίπου το 15% του ενεργού ζωμού ζύμωσης και των κυττάρων από τα πρώιμα στάδια της ζύμωσης προστίθενται στην μύρα που παλαιώνεται σε ψυχρή αποθήκευση ως μέρος της διαδικασίας Krausening.. Προκειμένου να επιτευχθεί ένα τελικό επίπεδο παρόμοιο με αυτό για την έγχυση διοξειδίου του άνθρακα, η περίσσεια διοξειδίου του άνθρακα που εξελίχθηκε κατά τη διάρκεια αυτού του χρόνου εξαερώνεται. Μετά τη χρήση της ζάχαρης, η μύρα περνά από πρόσθετη ωρίμανση ψυχρής αποθήκευσης για μερικές εβδομάδες, προκειμένου να τελειώσει η διαύγεια της μύρας (Lewis and Young, 2001).

## **10.Συσκευασία**

Μετά την ωρίμανση, η μύρα περνά για άλλη μια φορά μέσα από σωλήνες ψύξης και ένα φίλτρο πριν μπει σε μπουκάλια, κουτιά και βαρέλια. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν φίλτρα μεμβράνης για την αφαίρεση μικροβίων από την μύρα. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν οι οξειδωτικές αλλαγές στο προϊόν, ο αέρας απαγορεύεται αυστηρά κατά τη συσκευασία. Επιπλέον, αυτό μπορεί να επιτευχθεί

χρησιμοποιώντας οξειδάση γλυκόζης ως ισχυρός σταθεροποιητής για την απομάκρυνση του οξυγόνου από την κορυφή της εμφιαλωμένης μύρας προκειμένου να διατηρηθεί το χρώμα, η γεύση, η γεύση και να αυξηθεί η διάρκεια ζωής (Dubey et al., 2017). Επιπλέον, η εμφιαλωμένη μύρα υποβάλλεται σε έλεγχο για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει θολότητα. Η μύρα υποβαθμίζεται με την πάροδο του χρόνου, ειδικά όσον αφορά τη γεύση και τις αισθητικές αλλαγές. Αυτή η φθορά προκαλείται από την έκθεση στο ηλιακό φως, τη θερμαινόμενη αποθήκευση και την εσωτερική οξείδωση που προκαλείται από το παρατεταμένο οξυγόνο. Η θολότητα είναι το πιο αισθητό και ευδιάκριτο είδος φθοράς, και προκαλείται από το αδιάλυτο άμυλο, τα σύμπλοκα πρωτεΐνης-ταννίνης, τις ασταθείς πρωτεΐνες και τις ρητίνες. Η θολότητα μπορεί επίσης να προκληθεί από μικροοργανισμούς όπως βακτήρια και ζυμομύκητες (Bamforth, 2000; Mahalik, 2014). Εκτός από αυτές τις τεχνολογίες επεξεργασίας, στις μέρες μας, βιώσιμες και αναδύμενες τεχνολογίες όπως η επεξεργασία υψηλής πίεσης, η ωμική θέρμανση, τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία, ο υπέρηχος και η θερμοηχητική επεξεργασία χρησιμοποιούνται ευρέως στην επεξεργασία μύρας. Ο ρόλος αυτών των προηγμένων τεχνολογιών επεξεργασίας σε πολλά βασικά στάδια της βιομηχανίας ζυθοποιίας έχει πρόσφατα καλυφθεί εκτενώς (Carvalho et al., 2023)

## **2.1.6 Βασικές Αναλύσεις**

### **1. Προσδιορισμός pH μύρας**

Το pH εξαρτάται από τη συγκέντρωση και το είδος των οξέων. Χρήση pH/σύστημα αναφοράς ηλεκτροδίου με ποτενσιόμετρο. Αρχικά, γίνεται έλεγχος με στάνταρ πρότυπο ρυθμιστικό διάλυμα οξέος φθαλικού καλίου.

### **2. Προσδιορισμός Ολικής Οξύτητας**

A) Με τη χρήση δείκτη  
250ml H<sub>2</sub>O βράζουν για 2 λεπτά. Με πιπέτα προστίθενται 25ml δείγματος μύρας απαρωμένη και φιλτραρισμένη. Θερμαίνετε για 60 δευτερόλεπτα. Αναδεύετε και κρυώνετε. Προσθήκη 0,5ml φαινολοφθαλεΐνης. Ογκομετρείτε με 0,1N NaOH μέχρι την εμφάνιση ροζ χρώματος.

B) Με χρήση ποτενσιόμετρου  
Χρήση pH /σύστημα αναφοράς με ηλεκτρόδιο.

### **3. Προσδιορισμός Αλκοόλης**

Για τον προσδιορισμό της αλκοόλης 250ml μύρας, απαρωμένη φέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 500ml. Εκπλένεται με αποσταγμένο νερό που προστίθενται στην υπό απόσταξη μύρα. Το απόσταγμα συλλέγεται στην ίδια ογκομετρική φιάλη μέχρι να συλλέξουμε το 85% του αρχικού όγκου. Συμπλήρωση του αρχικού όγκου

με αποσταγμένο νερό και ψύξη σε θερμοκρασία 15-20° C. Προσδιορισμός αλκοολικών βαθμών από κατάλληλο πίνακα για 20° C που περιέχεται σε 100ml αποστάγματος.

#### 4. Προσδιορισμός Αρχικής Πυκνότητας μύρας

A) Με απόσταξη

Η αρχική πυκνότητα της μύρας ή Balling δίνεται από τη σχέση

$$B(\text{Balling}) = (2,0665 \times A + n/100 + 1,0665 \times A) \times 100$$

Η σχέση αυτή ισχύει για μύρα με βυθοζύμες όπου

A=gr αλκοόλης/100gr μύρας

n= gr υπολείμματος/100gr μύρας

$$B(\text{Balling}) = (2,1457 \times A + n/100 + 1,1457 \times A) \times 100$$

Η σχέση αυτή ισχύει για μύρα με αφροζύμες

B) Με τη χρήση διαθλασίμετρου (Brix)

Χρησιμοποιείται μόνο για την παρακολούθηση της παραγωγικής διαδικασίας.

Μέτρηση της περιεκτικότητας σε σακχαρόζη(%w/w)

Γ) Με μέτρηση της ταχύτητας του ήχου που διαδίδεται μέσω του δείγματος.

Υπολογίζεται το περιεχόμενο σε εκχύλισμα και σε αιθανόλη, μέσω ειδικών σχέσεων που προέκυψαν από αποστάξεις διαφορετικών τύπων μύρας.

Δ) Με μέτρηση της ταλάντωσης σωλήνα σχήματος U όπου βρίσκεται το δείγμα  
Προσδιορίζεται ο βαθμός ζύμωσης της μύρας

$$Z = (B - n/B) \times 100$$

Ανοιχτόχρωμες 66-88%

Σκουρόχρωμες 60%

#### 5. Μέτρηση CO<sub>2</sub>

Για τον προσδιορισμό του CO<sub>2</sub> υπάρχουν δύο μέθοδοι

A) Μανομετρικά (μέθοδος Gray) όπου:

$$\% \text{CO}_2 = [P - (\text{ml αέρα/ml κενού φιάλης} \times 14,7)] \times 0,0096$$

B) Ογκομετρικά (μέθοδος De Clerck) όπου:

1β. παίρνουμε 10ml παγωμένου δείγματος με CO<sub>2</sub> σε 25ml NaOH 0,1N και ογκομετρούμε με

0,1 N HCl μέχρι το pH=8,3 (δείκτης φαινολοφθαλεΐνης). Έστω α ml η κατανάλωση του

HCl 0,1 N.

2β. παίρνουμε 10ml χωρίς CO<sub>2</sub> και ογκομετρούμε με 0,1 N NaOH μέχρι το

pH=8,3. Έστω βml  
η κατανάλωση NaOH 0,1 N.

$$\% \text{CO}_2 = [25 - (\alpha + \beta)] * 0,0044 * 10$$

## 2.2 Κομπούχα

Η κομπούχα είναι παγκοσμίως γνωστή ως προβιοτικό ρόφημα καθώς περιέχει ζωντανούς μικροοργανισμούς στη σύνθεσή της (Chakravorty et al., 2019). Αυτό το ρόφημα παράγεται μέσω της ζύμωσης ζαχαρούχου τσαγιού με εμβόλιο SCOBY (συμβιωτική κοινότητα βακτηρίων και μαγιάς). Παραδοσιακά, παρασκευάζεται με μαύρο τσάι, το οποίο προσδίδει υγιεινές ιδιότητες στους καταναλωτές λόγω των κυριότερων ενώσεων που βρίσκονται σε αυτό το είδος τσαγιού όπως αλκαλοειδή (καφεΐνη, θεοβρωμίνη και θεοφυλλίνη) και πολυφαινόλες (κατεχίνες, θεαφλαβίνες και θεαρουμπιγίνες) (Chakravorty et al., 2019· Silva Júnior et al., 2021). Τα προϊόντα της κομπούχας που περιέχουν 0,5% ή περισσότερο αλκοόλ κατ' όγκο (abv) σε οποιοδήποτε σημείο της παραγωγικής διαδικασίας ταξινομούνται επί του παρόντος ως μπύρα, με βάση το TTB Kombucha Guidance στην Αμερική. Στην Ελλάδα δεν έχει θεσπιστεί νομοθεσία σχετικά με την κομπούχα είτε ως προβιοτικό είτε ως ποτό.

### 2.2.1 Ιστορική Αναδρομή

Αν και η λέξη "kombucha" φαίνεται φωνητικά να είναι γερμανικής καταγωγής, υπάρχουν αβεβαιότητες σχετικά με αυτό το ομώνυμο προϊόν. Μια ετυμολογική θεωρία αναφέρει ότι το όνομα «Kombucha» μεταφράζεται σε «φύκι-τσάι» ή «kombu-cha» στα ιαπωνικά (Crum et al., 2016). Το ρόφημα Kombucha έχει διάφορα ονόματα, γι' αυτό το λόγο εξακολουθεί να υπάρχει αβεβαιότητα ως προς το πότε και πού προήλθε το ρόφημα αυτό (Kapp et al., 2019). Η κομπούχα υπάρχει από τη δυναστεία Tsin που χρονολογείται από το 220π.Χ (Greenwalt et al., 2000). Από γεωγραφική άποψη, η κομπούχα πιθανότατα εξαπλώθηκε αρχικά από την Κίνα στην Κορέα και τελικά θα έφτανε στην Ιαπωνία μέσω διαφόρων εμπορικών οδών. Γύρω στο 415 μ.Χ., ένας Κορεάτης γιατρός ονόματι Δρ. Kombu κλήθηκε να θεραπεύσει τον αυτοκράτορα Iynko της Ιαπωνίας από μια πεπτική διαταραχή. Αρκετοί Ιάπωνες εκείνη την εποχή θεώρησαν ότι το τσάι έχει μυστικιστικές θεραπευτικές ιδιότητες. Ο Δρ. Kombu χρησιμοποίησε την καλλιέργεια της κομπούχας μαζί με άλλες πρώιμες ιατρικές βοτανικές θεραπείες για τη θεραπεία των συμπτωμάτων του Αυτοκράτορα. Ο συνδυασμός των βοτάνων και της κομπούχας απέφερε μεγάλη επιτυχία που θα μπορούσε να προσφέρει μια εναλλακτική εξήγηση για το ομώνυμο ποτό (Crum et al., 2016). Αυτή η λαογραφία ενισχύει τη διάχυτη συσχέτιση των θεραπευτικών δυνάμεων με την κομπούχα που εξακολουθεί να υπάρχει στον 21ο αιώνα, αν και

τέτοια αποτελέσματα δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί μέσω ιατρικής έρευνας (Karr et al., 2019). Καθώς οι εμπορικοί δρόμοι άρχισαν να επεκτείνονται πέρα από εκείνους της περιοχής, η κομπούχα πήρε τελικά το δρόμο προς τη Ρωσία. Παρόμοια με άλλες χώρες όπως Ιαπωνία και Κίνα, η κομπούχα καταναλώθηκε ως θεραπεία για μεταβολικές ασθένειες, αιμορροΐδες και ρευματισμούς. Το ιστορικό της χρήσης της κομπούχα στη Ρωσία προέρχεται κυρίως από Ρώσους γιατρούς που το αναφέρουν για ιατρικές χρήσεις (Greenwalt et al., 2000). Για παράδειγμα, μετά τον Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο, περιοχές της Ρωσίας που οι κάτοικοι έπιναν κομπούχα, είχαν χαμηλότερο περιστατικό διάγνωσης καρκίνου σε σύγκριση με τις περιοχές της Ρωσίας που δεν έπιναν, παρά τις βιομηχανικές δοκιμαστικές τοξίνες και τη ρύπανση που προκλήθηκαν από τον πόλεμο. Ο θρύλος των θεραπευτικών ιδιοτήτων της κομπούχα εξαπλώθηκε γρήγορα σε διάφορες περιοχές σε όλο τον κόσμο, κατά τη διάρκεια του Πρώτου και Δευτέρου Παγκοσμίου Πολέμου (Karr et al., 2019). Οι Ευρωπαίοι, σήμερα πίνουν κομπούχα για τις αποτοξινωτικές της επιδράσεις στο αίμα και στο πεπτικό σύστημα (Greenwalt et al., 2000)

## 2.2.2 Η σύσταση της κομπούχας

Η χημική σύσταση της κομπούχας ποικίλλει τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά. Εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως ο χρόνος ζύμωσης, τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται στο αρχικό τσάι και οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στο εμβόλιο. Ωστόσο, ορισμένα συστατικά, όπως οργανικά οξέα, βιταμίνες, πολυφαινόλες και αμινοξέα, είναι αποδεδειγμένα παρόντα στην πλειοψηφία τους (Fu et al., 2014). Οι Villarreal-Soto et al. (2018) απαρίθμησαν τα κύρια συστατικά και ορισμένους βασικούς μεταβολίτες που υπάρχουν στη κομπούχα, σύμφωνα με την αρχική ποσότητα ζάχαρης που χρησιμοποιήθηκε και τον χρόνο ζύμωσης. Μεταξύ των οργανικών οξέων που υπάρχουν, τα πιο σημαντικά που παράγονται κατά τη ζύμωση είναι το οξικό, το γλυκουρονικό, το γλυκονικό, το γαλακτικό, το μηλικό, το κιτρικό, το τρυγικό, το φολικό, το μηλονικό, το οξαλικό, το πυροσταφυλικό και το χουμικό (Jayabalan et al., 2014). Το οξικό οξύ είναι η χημική ένωση που είναι υπεύθυνη για το όξινο άρωμα και τη γεύση του ξιδιού στη κομπούχα. Η συγκέντρωσή του τείνει να αυξάνεται στο ποτό, φτάνοντας τα 11 g/L μετά από 30 ημέρες ζύμωσης και σταδιακά μειώνεται μέχρι να τελειώσει στα 8 g/L μετά από 60 ημέρες ζύμωσης. Αυτή η μείωση οφείλεται στο ότι τα βακτήρια χρησιμοποιούν οξικό οξύ ως πηγή άνθρακα όταν τα αποθέματα σακχάρου και αιθανόλης έχουν ήδη εξαντληθεί (Leal et al., 2018). Το γαλακτικό οξύ είναι περισσότερο παρόν στα παρασκευάσματα πράσινου τσαγιού από άλλα τσάϊ, όπως το μαύρο τσάι. Οι μικροοργανισμοί παράγουν γλυκουρονικό οξύ από την οξείδωση της γλυκόζης κατά τη διάρκεια της ζύμωσης της κομπούχας. Αυτό το οξύ είναι το πιο σημαντικό αποτοξινωτικό στο ανθρώπινο σώμα, καθώς δρα δεσμεύοντας τις τοξικές ενώσεις που υπάρχουν στο συκώτι, επιτρέποντας σε αυτές τις ουσίες να απεκκρίνονται πιο αποτελεσματικά από τα νεφρά και να είναι ο πρόδρομος στη βιοσύνθεση της



βιταμίνης C (Nguyen et al., 2015). Όσον αφορά τις πολυφαινόλες, οι πιο συχνά απαντώμενες στη κομπούχα είναι η επικατεχίνη, η επιγαλλοκατεχίνη, η επικατεχίνη του γαλλικού εστέρα και η επιγαλλοκατεχίνη του γαλλικού εστέρα (Manach et al., 2004; Valenzuela, 2004). Αυτές είναι δραστικές ενώσεις με περισσότερες από μία δομικές μονάδες φαινόλης ανά μόριο, που αντιπροσωπεύουν τη μεγαλύτερη ομάδα φυτοχημικών και τα πιο άφθονα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στη διατροφή (Leal et al., 2018). Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πολυφαινολών είναι υπεύθυνες για πολλές από τις ευεργετικές επιδράσεις της κομπούχας, όπως η πρόληψη του καρκίνου, η αυξημένη ανοσία, η ανακούφιση από τη φλεγμονή και η αρθρίτιδα (Jayabalan et al., 2008, 2014). Οι Leal et al. (2018), αναφέρουν επίσης την παρουσία αιθανόλης, διοξειδίου του άνθρακα, αμινοξέων, αμινών, πουρινών, χρωστικών, λιπιδίων, πρωτεϊνών, βιταμινών B1, B2, B6, B12 και C και πολυφαινόλες από το τσάι, ορισμένα μέταλλα (μαγγάνιο, σίδηρος, νικέλιο, χαλκός, ψευδάργυρος, μόλυβδος, κοβάλτιο, χρώμιο και κάδμιο) και ανιόντα (φθόριο, χλωρίδιο, βρωμίδιο, ιωδιούχο, νιτρικό, φωσφορικό και θειικό)

*Πίνακας 2.2.1 Χημική σύσταση κομπούχας (Villarreal-Soto et al.,)*

**TABLE 1** General chemical composition of Kombucha (Villarreal-Soto et al., 2018)

|                    | Compound  | Average composition             | Initial sucrose | Fermentation time (days) | References               |
|--------------------|---|---------------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| Organic acids      | Acetic acid   | 5.6 g/L                         | 70 g/L          | 15                       | Blanc(1996)              |
|                    | Acetic acid   | 8.36 g/L                        | 100 g/L         | 18                       | Jayabalan et al. (2007)  |
|                    | Acetic acid   | 11 g/L                          | 100 g/L         | 30                       | Chen and Liu (2000)      |
|                    | Gluconic acid   | 39 g/L                          | 100 g/L         | 60                       | Chen and Liu (2000)      |
|                    | Glucuronic acid   | 0.0160 g/L                      | 70 g/L          | 21                       | Lončar et al. (2006)     |
|                    | Lactic acid   | 0.18 g/L                        | 100 g/L         | 18                       | Jayabalan et al. (2007)  |
| Vitamins           | Vitamin B <sub>1</sub>  | 0.74 mg/L                       | 70 g/L          | 15                       | Bauer-Petrovska and      |
|                    | Vitamin B <sub>2</sub>  | 8 mg/100 mL                     | 70 g/L          | 10                       | Petrushevska-Tozi (2000) |
|                    | Vitamin B <sub>6</sub>  | 0.52 mg/L                       | 70 g/L          | 15                       | Malbaša et al. (2011)    |
|                    | Vitamin B <sub>12</sub>   | 0.84 mg/L                       | 70 g/L          | 15                       | Bauer-Petrovska and      |
|                    | Vitamin C   | 25 mg/L                         | 70 g/L          | 10                       | Petrushevska-Tozi (2000) |
| General composites | Ethanol   | 5.5 g/L                         | 100 g/L         | 20                       | Bauer-Petrovska and      |
|                    | Proteins  | 3 mg/mL                         | 100 g/L         | 12                       | Petrushevska-Tozi (2000) |
|                    | Tea polyphenols   | 7.8 mM (gallic acid equivalent) | 100 g/L         | 15                       | Malbaša et al. (2011)    |
| Minerals           | Cu, Fe, Mn, Ni, Zn  | 0.1 to 0.4 µg/mL                | 70 g/L          | 15                       | Chen and Liu (2000)      |
| Anions             | F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> | 0.04 to 3.20 mg/g               | 100 g/L         | 7                        | Jayabalan et al. (2007)  |
|                    |   |                                 |                 |                          | Chu and Chen (2006)      |
|                    |   |                                 |                 |                          | Bauer-Petrovska and      |
|                    |   |                                 |                 |                          | Petrushevska-Tozi (2000) |
|                    |   |                                 |                 |                          | Kumar and Joshi (2016)   |

### 2.2.3 Κατηγορίες κομπούχας

***Jun Kombucha:*** Μια παραδοσιακή κομπούχα, στην οποία μόνο το μέλι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γλυκαντικό.

***Honey Kombucha:*** Μια παραδοσιακή κομπούχα, στην οποία μόνο το παστεριωμένο μέλι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γλυκαντικό.

***Κομπούχα με βότανα:*** Μια παραδοσιακή κομπούχα, με τη διαφορά ότι τουλάχιστον το 20% της φυτικής ύλης αποτελείται από βότανα.

***Κομπούχα με καφέ:*** Μια παραδοσιακή κομπούχα, με τη διαφορά ότι τουλάχιστον το 20% της φυτικής ύλης αποτελείται από καφέ.

***Yerba Mate Kombucha και Yaupon Kombucha:*** Μια παραδοσιακή κομπούχα, με τη διαφορά ότι τουλάχιστον το 20% του φυτικού υλικού αποτελείται από yerba mate ή yaupon.

***Hard Kombucha:*** Κομπούχα με υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ από την παραδοσιακή κομπούχα χρησιμοποιώντας μη γηγενείς ζύμες ή σε συνδυασμό με ποτά που περιέχουν υψηλότερη ποσότητα αλκοόλης όπως μύρα, μηλίτης, κρασί, οινοπνευματώδη κ.λπ. Αυτά τα προϊόντα περιέχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ άνω του 4% ABV και υπόκεινται σε τοπικούς ειδικούς φόρους

κατανάλωσης.

*Crafted Hard Kombucha*: Προστίθεται επιπλέον μη εγγενής μαγιά σε μεταγενέστερη φάση με αποτέλεσμα υψηλότερη από την πιθανή περιεκτικότητα σε αλκοόλ.

*Spiked Hard Kombucha*: Κομπούχα στην οποία προστίθεται αλκοόλη για να δώσει υψηλότερο αλκοολούχο ποτό. Θα μπορούσε επίσης να ονομαστεί "Κοκτέιλ Kombucha".

## 2.2.4 Παραγωγική διαδικασία

Το παραδοσιακό ποτό παρασκευάζεται από ζύμωση, αρχικά, από ζαχαρούχο μαύρο τσάι (*Camellia sinensis*). Ωστόσο, και άλλα είδη τσάι μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την προετοιμασία του ποτού. (Rodrigues et al., 2018). Η ζύμωση του τσαγιού είναι το προϊόν μιας συμβιωτικής αποικίας βακτηρίων και ζυμομυκήτων εγκατεστημένων σε φιλμ κυτταρίνης. Αυτό το φιλμ κυτταρίνης ονομάζεται SCOBY (Συμβιωτική αποικία βακτηρίων και ζυμομυκήτων). Ωστόσο, είναι επίσης γνωστό ως μύκητας του τσαγιού ή "μητρική κομπούχα" (De Filippis et al., 2018; Chakravorty et al., 2016; Santos, 2016). Ενώ οι οσμόφιλες ζύμες ζυμώνουν τη ζάχαρη στο τσάι και παράγουν αιθανόλη, τα βακτήρια οξειδώνουν το αλκοόλ και παράγουν οξικό οξύ (Teoh et al., 2004). Εκτός από το οξικό οξύ σχηματίζονται και άλλα οργανικά οξέα, όπως π.χ γλυκονικό, γαλακτικό, μηλικό, κιτρικό και τρυγικό, που έχουν αντιβακτηριακή δράση και αποτρέπουν τη μόλυνση της κομπούχας από παθογόνα βακτήρια (Neffe-Skocinska et al., 2017; Leal et al., 2018).

### Διαδικασία Ζύμωσης

Η κομπούχα είναι ένα ποτό που έχει υποστεί ζύμωση και είναι δημοφιλή μεταξύ των παραδοσιακά ζυμωμένων τροφίμων (Villarreal-Soto et al., 2018). Οι συνταγές της κομπούχα μπορεί να διαφέρουν πολύ από την ποσότητα και τον τύπο του τσαγιού που χρησιμοποιείται, έως την ποσότητα ζάχαρης που προστίθεται, την καλλιέργεια εκκίνησης, τον χρόνο και τη θερμοκρασία ζύμωσης κ.λπ. (Dufresne et al., 2000; Greenwalt et al., 2000; Jayabalan, et al., 2014; Kim et al., 2020). Παρασκευάζεται με ζύμωση ζαχαρούχου τσαγιού με SCOBY (Jayabalan, et al., 2014). Η διαδικασία για την παραγωγή της κομπούχα είναι αρκετά απλή. Πρώτα, το τσάι πρέπει να παρασκευαστεί με διήθηση του τσαγιού ή των φύλλων για ένα προκαθορισμένο χρονικό διάστημα (~5–10 λεπτά). Στη συνέχεια προστίθεται ζάχαρη στο ζεστό διάλυμα τσαγιού, έτσι ώστε η ζάχαρη να διαλυθεί εντελώς. Προστίθενται περίπου 50–150 g/L (5–15% w/v) ζάχαρης (Dufresne et al., 2000; Greenwalt et al., 2000; Jayabalan, et al., 2014; Kim et al., 2020). Μόλις το μείγμα τσαγιού/ζάχαρης κρυώσει τελείως σε θερμοκρασία δωματίου, το SCOBY μπορεί να προστεθεί. Το SCOBY μαζί με 100 – 200 mL μιας ήδη ζυμωμένης παρτίδας κομπούχα ή ξιδιού προστίθεται για τον εμβολιασμό της νέας παρτίδας (Dufresne et al., 2000; Greenwalt et al., 2000). Η προσθήκη της ήδη ζυμωμένης κομπούχας ή ξιδιού θα προκαλέσει πτώση του αρχικού pH του διαλύματος τσαγιού

αναστέλλοντας την ανάπτυξη αλλοιώσεων και παθογόνων μικροοργανισμών (Jayabalan et al. 2014). Στη συνέχεια, το μείγμα κομπούχα καλύπτεται με ένα πανί ή μια καθαρή πετσέτα για να αποφευχθεί η μόλυνση και αφήνεται να ζυμωθεί σε θερμοκρασία δωματίου (18–30°C) για 7–10 ημέρες (Greenwalt et al., 2000; Jayabalan et al., 2014 Martínez Leal et al., 2018).

## **Παράγοντες που επηρεάζουν τη ζύμωση**

Διάφοροι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία ζύμωσης όπως: pH, θερμοκρασία, η ποσότητα οξυγόνου στην αρχή της διαδικασίας ζύμωσης, διαλυμένο CO<sub>2</sub>, ρυθμός διάτμησης στον ζυμωτήρα και η συγκέντρωση του υποστρώματος ζύμωσης (Marsh, Hill, et. al., 2014).

### *1. Υπόστρωμα*

Η παραδοσιακή κομπούχα παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας μαύρο, πράσινο ή oolong τσάι ως βάση (Watawana et al., 2015). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η κομπούχα μπορεί να γίνει με άλλα υποστρώματα όπως εκχυλίσματα από αγκινάρα Ιερουσαλήμ, κρασί, γάλα, χυμό φρούτων και αφεψήματα φυτών (Jayabalan et al., 2014). Το ίδιο το τσάι πρέπει να γλυκάνει, συνήθως με σακχαρόζη για να χρησιμεύσει ως υπόστρωμα ζύμωσης για τη μαγιά. Η ζύμη θα υδρολύσει τη σακχαρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη χρησιμοποιώντας το ένζυμο ινβερτάση, που βρίσκεται στο περίπλασμα του κυττάρου ζύμης (Gaggia et al., 2019). Η γλυκόζη και η φρουκτόζη θα ζυμωθούν από τη μαγιά σε αιθανόλη, διοξείδιο του άνθρακα και γλυκερόλη (Liu et al., 1996). Τα βακτήρια οξικού οξέος θα μετατρέψουν στη συνέχεια την αιθανόλη σε οξικό οξύ (Gaggia et al., 2019; Liu et al., 1996). Η παραγωγή οξικού οξέος από τα βακτήρια του οξικού θα διεγείρουν τη μαγιά να παράγει περισσότερη αιθανόλη (Liu et al., 1996).

### *2. Χρόνος ζύμωσης*

Ο χρόνος ζύμωσης μπορεί να κυμαίνεται από 7-60 ημέρες, ωστόσο ο μέσος χρόνος ζύμωσης είναι 15 ημέρες. Η πραγματική έκταση της δραστηριότητας εξαρτάται από την καλλιέργεια εκκίνησης και τη διάρκεια της ζύμωσης, η οποία θα επηρεάσει τους τύπους των μεταβολιτών που παράγονται (Chu et al., 2006). Αν και αυξάνοντας τον χρόνο ζύμωσης της kombucha θα έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών, η παράταση του χρόνου ζύμωσης δεν συνιστάται λόγω των δυνητικά επιβλαβών επιπέδων οργανικών οξέων για άμεση κατανάλωση (Greenwalt et al., 2000).

### *3. Θερμοκρασία*

Όπως συμβαίνει με όλες τις ζυμώσεις, η διατήρηση της βέλτιστης θερμοκρασίας ζύμωσης απαιτείται για την επίτευξη της ιδανικής συγκέντρωσης μικροβίων για τη διαδικασία ζύμωσης και την ενζυματική δραστηριότητα με αποτέλεσμα το καλύτερο δυνατό προϊόν (Hur, et al., 2014). Η θερμοκρασία είναι εξαιρετικά σημαντική και το υπόστρωμα ζύμωσης θα πρέπει να είναι τουλάχιστον στους 20°C για να μπορέσει να

ξεκινήσει με επιτυχία η ζύμωση (Watawana et al., 2015). Οι ιδανικές θερμοκρασίες ζύμωσης για την κομπούχα κυμαίνονται από 22°C - 30°C (Vitas et al., 2013) Lončar et al. (2006).

#### 4. pH.

Το pH είναι γνωστό ότι επηρεάζει τον ρυθμό ανάπτυξης των μικροβίων που ζυμώνουν και προκαλεί δομικές αλλαγές στα φυτοχημικά που βρίσκονται στη κομπούχα, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν την αντιοξειδωτική δράση (Hur et al., 2014). Το συνολικό pH του ροφήματος δεν πρέπει να πέσει κάτω από 3. Ωστόσο, εάν το pH πέσει σε χαμηλότερο επίπεδο, γίνεται πολύ όξινο για να το απολαύσει κανείς (Lončar et al., 2006). Υποτίθεται ότι διακόπτεται η διαδικασία ζύμωσης όταν η οξύτητα έχει φτάσει σε μια βέλτιστη συγκέντρωση 4 έως 5 g/L. Ωστόσο, ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη ιδανικών επιπέδων οξύτητας μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με την καλλιέργεια εκκίνησης που χρησιμοποιείται και τις παραμέτρους ζύμωσης (Villarreal-Soto et al., 2018). Το pH στο τελικό προϊόν πρέπει να είναι 4,2.

#### 5. Υγιεινή

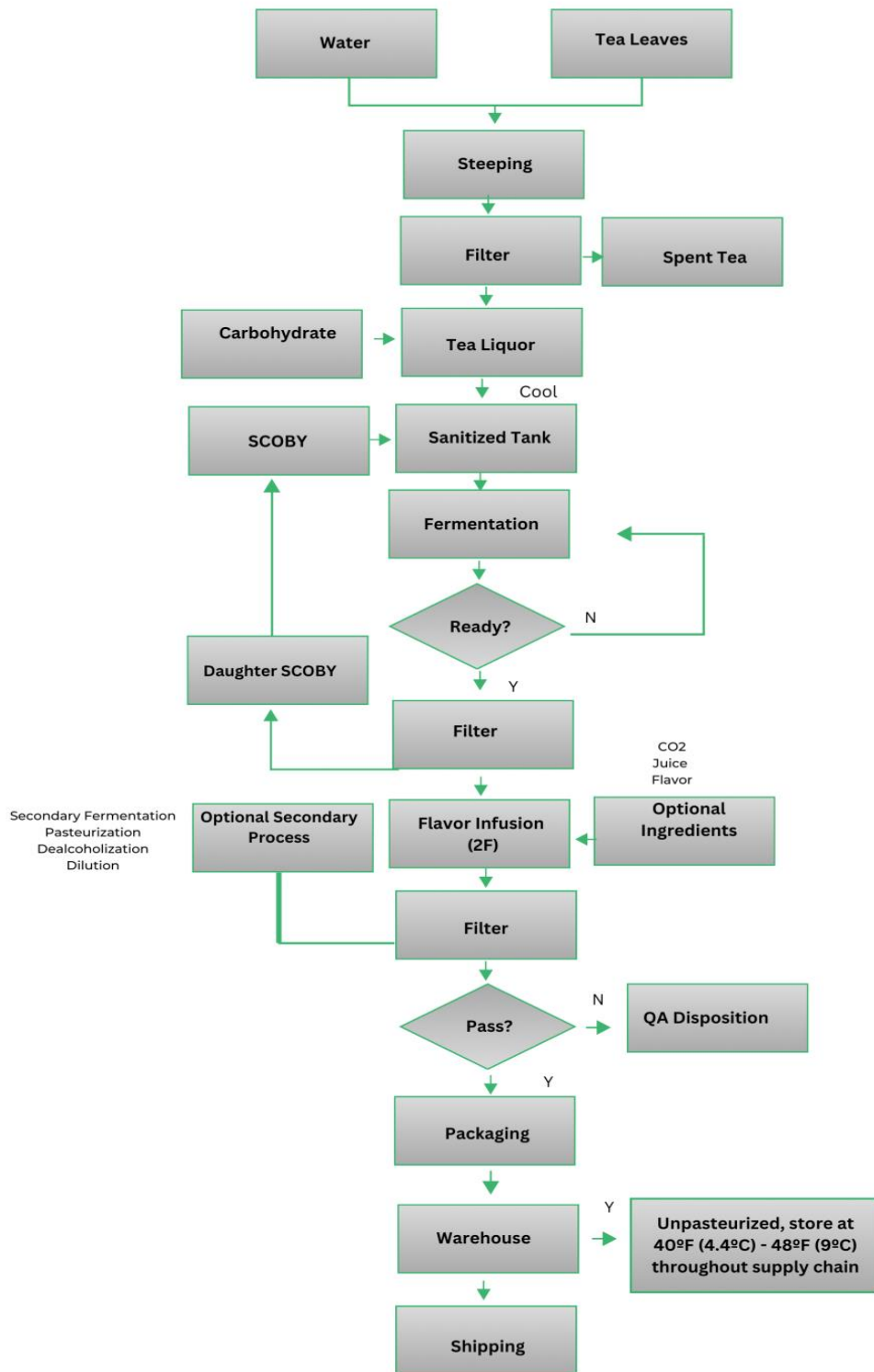
Όπως και με την παραγωγή όλων των προϊόντων διατροφής, η υγιεινή είναι εξαιρετικά σημαντική μαζί με τα αποστειρωμένα/απολυμένα σκεύη και τον καθαρό χώρο εργασίας (Martínez Leal et al., 2018). Η κομπούχα ζυμώνεται γενικά σε γυάλινο δοχείο τροφίμων ή ανοξείδωτο χάλυβα για λόγους υγιεινής. (Martínez Leal et al., 2018). Όπως με κάθε ζύμωση, ο έλεγχος της παραγωγής οργανικών οξέων είναι σημαντικός ιδιαίτερα όταν πρόκειται για κομπούχα. Άλλα μέτρα ασφάλειας τροφίμων, όπως η παστερίωση, η ψύξη και η χρήση συντηρητικών όπως το βενζοϊκό νάτριο και το βενζοϊκό κάλιο, χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία για τον έλεγχο και την αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών που παραμένουν στη κομπούχα μετά τη διαδικασία ζύμωσης. Ο λόγος για αυτά τα μέτρα είναι να αποτραπεί τυχόν εναπομείνασα ζύμη και βακτήρια από την υπερπαραγωγή αλκοόλ και διοξειδίου του άνθρακα μετά τη διαδικασία συσκευασίας (Watawana et al., 2015).

#### 6. Νερό

Συχνά ένα βασικό συστατικό σε μια σειρά προϊόντων, είναι το νερό και συχνά παραβλέπεται (Franks, Lawrence, Abbaspourrad, & Dando, 2019). Η σύνθεση του νερού είναι μια από τις πιο σημαντικές παραμέτρους και για τη ζυθοποιία (Cetó, Gutiérrez-Capitán, Calvo, & del Valle, 2013). Το νερό θα επηρεάσει τη γεύση της κομπούχας και τη γενική υγεία του SCOBY. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας αριθμός διαφορετικών πηγών νερού για την παρασκευή της κομπούχας, ωστόσο η μεγάλη απαίτηση είναι να είναι απαλλαγμένη από ρύπους που θα μπορούσαν να έχουν αρνητικό αντίκτυπο στη συνολική υγεία του SCOBY (Crum et al., 2016). Ανάλογα με την πηγή και την τοποθεσία, τη μεταλλική και οργανική σύσταση του νερού μπορεί να ποικίλλει μαζί με τη σκληρότητα (εξαρτάται από το ασβέστιο και το μαγνήσιο) και την περιεκτικότητα (Tran et al., 2020). Νερά με αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις σε μέταλλα, μπορεί να έχουν αρνητικό αντίκτυπο στο γευστικό προφίλ της κομπούχας, αλλά αναστέλλουν τη μαγιά και τα βακτήρια που σχετίζονται

με την ανάπτυξη γεύσης (Crum et al., 2016; Curran et al., 1989; Palmer, 2013) .

Λυχνίες UV μπορούν να τοποθετηθούν μπροστά από σύστημα φιλτραρίσματος άνθρακα ως τρόπος απολύμανσης του νερού, αποτρέποντας τη μόλυνση των φίλτρων άνθρακα και διασπώντας τα οργανικά (χλωραμίνη) μειώνοντας την απορρόφηση και τη μόλυνση του φίλτρου (Palmer, 2013).



Εικόνα 2.2.1 Στάδια παραγωγής κομπούχας (<https://kombuchabrewers.org/kombucha-code-of-practice/>)

### Δεύτερη ζύμωση (γεύση και ενανθράκωση)

Μετά τη ζύμωση, είναι απαραίτητο να διαχωριστεί το SCOBY και η κομπούχα που λαμβάνεται. Το υπόλοιπο SCOBY από αυτή τη διαδικασία μπορεί να αποθηκευτεί στο ψυγείο, μαζί με έναν όγκο 20% που έχει ήδη υποστεί ζύμωση, για μελλοντική

επαναχρησιμοποίηση.

Από αυτό το στάδιο, η κομπούχα μπορεί να ακολουθήσει διαφορετικούς δρόμους:

- Εμφιάλωση και συντήρηση στο ψυγείο.
- Εμφιάλωση που περιέχει περισσότερο ζαχαρούχο τσάι (αναλογία 1:1) και διατήρηση της θερμοκρασίας δωματίου για νέα ζύμωση και σχηματισμός αερίου.
- Αρωματίζοντας την κομπούχα με χυμό φρούτων, καφέ, νερό καρύδας ή άλλες εγχύσεις και διατήρηση της θερμοκρασίας δωματίου για περαιτέρω ζύμωση και σχηματισμός αερίου.

Η δεύτερη ζύμωση (αρωματικό στάδιο) στοχεύει στην αύξηση της χαρακτηριστικής γεύσης του σχηματισμού τσαγιού και αερίου.

Εν συνεχεία, στην κομπούχα δεν υπάρχουν συγκεκριμένες αναλύσεις, ωστόσο έχει ενδιαφέρον ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών κατά τη ζύμωση.

### **Μεταβολισμός μικροοργανισμών κατά τη ζύμωση κομπούχα**

Ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών κατά τη ζύμωση της κομπούχα είναι πολύπλοκος. Δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως λόγω μεγάλου αριθμού μικροοργανισμών. Αν και τα βακτήρια και οι ζυμομύκητες, όπως ο *Saccharomyces cerevisiae*, έχουν ήδη καθορισμένους ρόλους στη ζύμωση, ωστόσο η λειτουργία και οι αλληλεπιδράσεις πολλών μικροοργανισμών στη ζύμωση της κομπούχας είναι ακόμα άγνωστες (Villarreal-Soto et al., 2018). Είναι ήδη γνωστό ότι, στην αρχή της διαδικασίας, οι ζύμες υδρολύουν τη σακχαρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη μέσω ινβερτάσης και παράγουν αιθανόλη μέσω γλυκόλυσης, μερικές από τις οποίες, όπως αυτές του γένους *Saccharomyces*, προτιμούν τη γλυκόζη, ενώ συγκεκριμένες ζύμες του γένους *Zygosaccharomyces* προτιμούν τη φρουκτόζη (Jayabalan et al., 2014). Από την άλλη πλευρά, τα βακτήρια οξικού οξέος χρησιμοποιούν γλυκόζη για την παραγωγή γλυκονικού οξέος και αιθανόλη για την παραγωγή οξικού οξέος (Jayabalan et al., 2014). Η παρουσία αυτού του οξέος διεγείρει τους ζυμομύκητες να παράγουν αιθανόλη, η οποία στη συνέχεια χρησιμοποιείται από τα οξικά βακτήρια για να αναπτυχθούν και να παράγουν περισσότερο οξικό οξύ (Santos, 2016). Με τη σειρά του, ως στελέχη του γένους *Acetobacter*, παράγεται οξικό οξύ από αιθανόλη. Αυτή η διαδικασία πραγματοποιείται από τα ένζυμα αφυδρογονάση, τα οποία εισέρχονται στον κύκλο του Krebs παράγοντας νερό και διοξείδιο του άνθρακα (Teyssier and Hamdouche, 2016). Το γένος *Gluconobacter* δεν είναι ικανό να οξειδώσει τον οξικό κύκλο του Krebs, καθώς δεν διαθέτει τα απαραίτητα ένζυμα για τη διαδικασία οξείδωσης, οδηγώντας σε αύξηση των προϊόντων, όπως το γλυκονικό (Leal et al., 2018). Αρχικά, ένας πληθυσμός βακτηρίων συνθέτει κυτταρίνη και αυξάνεται λόγω της κατανάλωσης διαλυμένου οξυγόνου στη διεπιφάνεια αέρα/μέσου, επιτρέποντας μόνο τα βακτήρια στο φιλμ κυτταρίνης. Καθώς η ζύμωση προχωρά, το φιλμ γίνεται παχύτερο λόγω περισσότερων στρωμάτων στην επιφάνεια, σχηματίζοντας μια δομή που αιωρείται στο υγρό. Η



σύνθεση της κυτταρίνης τελειώνει όταν το φιλμ γίνει αρκετά πυκνό σε σημείο να βυθιστεί στο υγρό. Έτσι, οι μικροοργανισμοί παγιδεύονται στο SCOBY και τα οξικά βακτήρια παραμένουν ανενεργά λόγω ανεπαρκούς παροχής οξυγόνου (Villarreal-Soto et al., 2018). Από την άλλη πλευρά, η παρουσία του SCOBY μειώνει την παροχή οξυγόνου στις ζύμες. Στεγάζονται στο κάτω μέρος του φιλμ, συνεχίζοντας έτσι την αναερόβια ζύμωση, δημιουργώντας αιθανόλη και φρουτώδεις αρωματικές ενώσεις που έχουν μεγάλη σημασία για την ανάπτυξη του αρώματος της κομπούχα.

## 2.3 Μηλίτης

Ο μηλίτης είναι αλκοολούχο ποτό που προκύπτει από τη ζύμωση του χυμού μήλου. Αρχικά επεξεργάστηκε σε πολλές χώρες της Ευρώπης (Γαλλία, Ιρλανδία, Μεγάλη Βρετανία, Πολωνία, Λετονία και Ισπανία), τώρα παράγεται επίσης στην Αργεντινή, την Αυστραλία και τη Νότια Αφρική. Τα κύρια χημικά συστατικά είναι το νερό, η ζάχαρη (κυρίως φρουκτόζη), τα οργανικά οξέα, η αιθανόλη και οι πολυφαινόλες (Lea & Drilleau, 2003). Ο χυμός μήλου ή ο μηλίτης έχει σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, λίπη, ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) και βιταμίνη A.(britannica) Επίσης, ο μηλίτης έχει πολλά αισθητηριακά χαρακτηριστικά, όπως χρώμα, θολότητα, οσμή, οξύτητα, στυφότητα, γλυκύτητα, ενανθράκωση και αφρό που μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των παραγωγών και ιδιαίτερα των χωρών (Santoset al., 2016). Η European Cider and Fruit Wine Association (AICV) ορίζει τον μηλίτη ως αλκοολούχο ποτό, με %abv, μεταξύ 1,2% και 8,5% abv, που λαμβάνονται με πλήρη ή μερική ζύμωση του χυμού φρέσκων μήλων ή ανασυσταμένου συμπυκνωμένου χυμού μήλου, με ή χωρίς προσθήκη σακχάρων ή/και νερού. Σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας εισάγονται πρόσθετα συστατικά.

### 2.3.1 Ιστορική Αναδρομή

Η ζύμωση του χυμού των μήλων για την παραγωγή ενός αλκοολούχου ποτού πιστεύεται ότι έχει εφαρμοστεί για πάνω από 2000 χρόνια. Υπάρχουν καταγραφές που ο μηλίτης θεωρείται ως κοινό ποτό από την εποχή της ρωμαϊκής εισβολής στην Αγγλία το 55π.Χ. Φημολογείται ότι, τον 11<sup>ο</sup> και τον 12<sup>ο</sup> αιώνα στην Ευρώπη, ο μηλίτης ήταν το πιο δημοφιλές ποτό, ακόμα και από την μύρα. Παράγεται σε όλες τις εύκρατες περιοχές όπου ευδοκιμούν οι μηλιές. Παραδείγματα τέτοιων περιοχών είναι η Αυστρία, το Βέλγιο, η Αγγλία, η Γαλλία, η Γερμανία, η βόρεια παραθαλάσσια περιοχή της Ισπανίας, η Ελβετία και πιο πρόσφατα η Αργεντινή, η Αυστραλία, η Φινλανδία, η Νέα Ζηλανδία, η Νότια Αφρική, η Σουηδία και οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής.(Jarvis B,1996)

Υπάρχουν αρκετές αναφορές, για το μηλίτη σε γραπτά από το Μεσαίωνα. Από τον 17<sup>ο</sup> αιώνα και μετά, ο μηλίτης υμνήθηκε σε πολυάριθμα ποιήματα και άλλα λογοτεχνικά έργα ως βοήθημα για την καλή διάθεση. Πριν από τον 20<sup>ο</sup> αιώνα, ο

μηλίτης ήταν ένα δημοφιλές αγροτικό ποτό, φθηνότερο από την μύρα και συχνά πιο ισχυρό [περίπου 7% αλκοόλη κατ'όγκο(abv)]. Κάθε αγρότης έφτιαχνε το δικό του μηλίτη αρχικά για δική τους κατανάλωση και έπειτα για κατανάλωση των εργατών του, της οικογένειάς του και των καλεσμένων του. Τα περισσότερα αγροκτήματα στη Δυτική Αγγλία και στη Δυτική Χώρα είχαν το δικό τους πιεστήριο ή χρησιμοποιούσαν ένα πιεστήριο όπου μεταφερόταν με άλογο από φάρμα σε φάρμα. Κατά τη διάρκεια του 19<sup>ου</sup> αιώνα, στην Αγγλία ξεκίνησε η εμπορική παραγωγή μηλίτη (παραδείγματα όπως H.Weston & Sons of Much Marcle, 1880; H.P Whimble in Devon, 1894), αν και μερικές φάρμες παρήγαγαν μηλίτη εμπορικά ήδη από το 1727 (παραδείγματα όπως Symonds Cider & English Wine Co Ltd, Stoke Lacey, UK). Η παραγωγή μηλίτη στην Αγγλία υπολογίστηκε σε 250x10<sup>6</sup> L το 1900. Μέχρι το 1920 το επίπεδο παραγωγής μηλίτη είχε μειωθεί σημαντικά. Το 1976 η παραγωγή είχε ανασταλεί λόγω της επιβολής ειδικού φόρου κατανάλωσης. Αντιθέτως το 1999, ο μηλίτης εμφανίστηκε στο προσκήνιο ξανά με τη συνεχόμενη αύξησή του. Έως το Σεπτέμβριο του 1999 πωλήθηκαν σχεδόν 500x10<sup>6</sup> L στο Ηνωμένο Βασίλειο από μέλη της Εθνικής Ένωσης Παραγωγών Μηλίτη. (Jarvis B, 2014; 1996; Lea A.G.H, 1995).

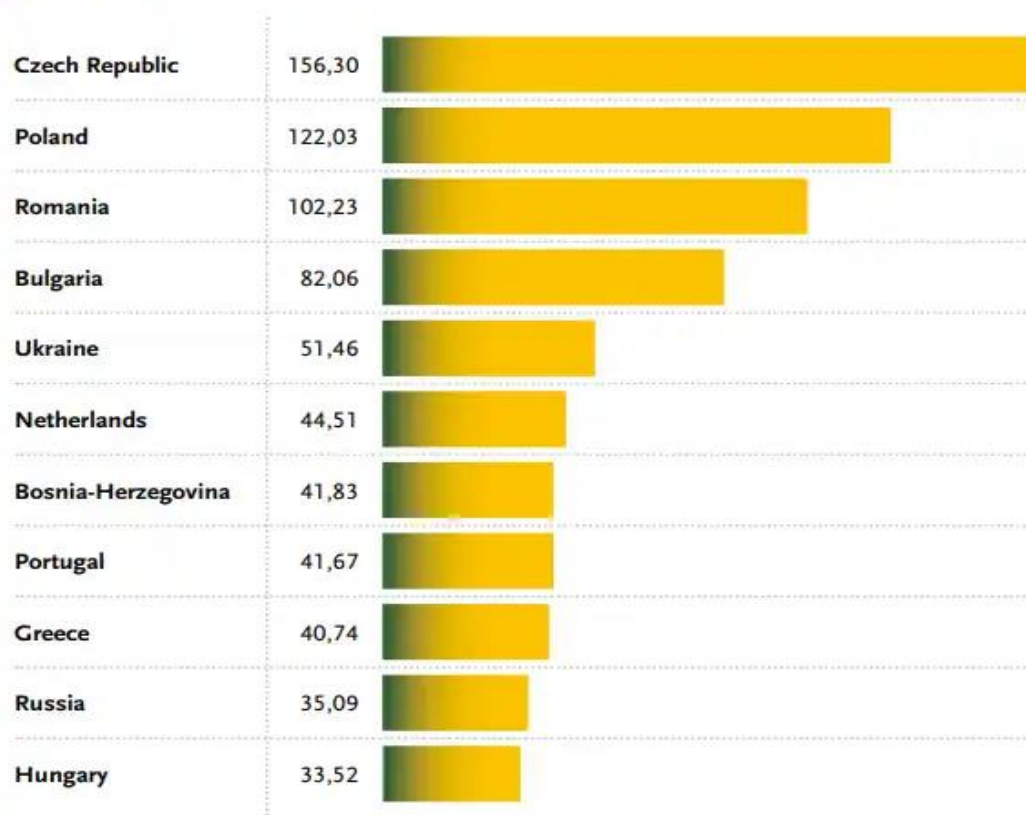
Το Ηνωμένο Βασίλειο κατείχε το μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής μηλίτη, ωστόσο υπάρχουν ιστορικές αναφορές και για άλλες περιοχές κυρίως στην Ευρώπη. Αναλυτικότερα στην Ισπανία και κυρίως στην περιοχή των Βάσκων, ο μηλίτης ήταν το δημοφιλέστερο ποτό των ψαράδων και των ναυτικών από τον Μεσαίωνα μέχρι και τον 17<sup>ο</sup> αιώνα. Ωστόσο κατά τον 17<sup>ο</sup> αιώνα, εισήγαγαν στη βασική διατροφή τους το καλαμπόκι και η σημασία των μήλων και του μηλίτη μειώθηκε. Το ξέσπασμα του Εμφυλίου πολέμου οδήγησε στην πείνα και στην παρακμή των οπωρώνων των μήλων και στην επακόλουθη εγκατάλειψη παραγωγής μηλίτη. Τη δεκαετία του '80, ο μηλίτης γνωρίζει και πάλι πρόοδο τόσο στην παραγωγή όσο και στην κατανάλωση, μέσα από δημοσιεύσεις μελετών για την παραγωγή του και από την επιδότηση των οπωρώνων μήλων. (basquewine.eus). Ο αστουριανός μηλίτης περιλαμβάνεται ως ΠΟΠ στο μητρώο της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (EC 2154/2005) (Anna Picinelli Lobo, María José Antón-Díaz, Juan José Mangas Alonso, Belén Suárez Valles). Σύμφωνα με τον ιστορικό Louis Du Bois, η κατανάλωση μηλίτη στη Γαλλία χρονολογείται από τα τέλη του 6<sup>ου</sup> αιώνα ή της αρχές του 7<sup>ου</sup> αιώνα. Περίπου το 1066μΧ ο Γουλιέλμος ο Κατακτητής, Δούκας της Νορμανδίας, κατακτά την Αγγλία και συμβάλλει στην ανάπτυξη της παρασκευής μηλίτη στη Μεγάλη Βρετανία. Νωρίτερα του 20<sup>ου</sup> αιώνα ο μηλίτης είναι το δεύτερο καταναλωτικό ποτό στη Γαλλία, ακριβώς πίσω από το κρασί. Ωστόσο, η καταστροφή πολλών μηλιών κατά τη διάρκεια του Β' Παγκοσμίου Πολέμου οδηγεί σε σημαντική μείωση της γαλλικής παραγωγής μηλίτη. Από τη δεκαετία του 2000 οι Γάλλοι πίνουν το μηλίτη όσο και τη σαμπάνια. Από το 2018, όλες οι ονομασίες προστατεύονται επίσης από προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ) σε ευρωπαϊκό επίπεδο. (idac-aoc.fr; lachouettecider). Μία ακόμη σημαντική περιοχή για την παραγωγή μηλίτη είναι η Ιρλανδία όπου φαίνεται ότι η ακμή της παραγωγής μηλίτη ήταν κατά τον 18ο αιώνα και τις πρώτες δεκαετίες του 19ου αιώνα. Στα μέσα της δεκαετίας του 1940, μετά από δύο παγκόσμιους πολέμους και τον εμφύλιο πόλεμο, η παραγωγή μηλίτη

βρισκόταν σε παρακμή. Τον 21<sup>ο</sup> αιώνα βλέπουμε μια αναβίωση της βιομηχανίας μηλίτη στην Ιρλανδία, υπάρχουν τουλάχιστον 10 παραγωγοί που προσφέρουν πάνω από 20 διαφορετικούς μηλίτες.(ciderireland). Τέλος η ιστορία του μηλίτη στη Γερμανία φτάνει πίσω στους σκοτεινούς αιώνες, στην εποχή του Καρλομάγνου. Ωστόσο, η σύγχρονη παράδοση μηλίτη της Γερμανίας απογειώθηκε τον 19ο αιώνα, όταν ενισχύθηκε από την καταστροφική μάστιγα της φυλλοξήρας που προκάλεσε τον όλεθρο στους αμπελώνες σε ολόκληρη την ήπειρο.(cidercraftmag)

Μέχρι πρόσφατα, η γεωγραφική κατανομή της κατανάλωσης μηλίτη στην Ευρωπαϊκή Ένωση ήταν μονοπώλιο. Καθώς, μερικές χώρες με σταθερή παράδοση στην παραγωγή μηλίτη συμπεριλαμβανομένων του Ηνωμένου Βασιλείου, της Ιρλανδίας, της Γαλλίας, της Ισπανίας, της Γερμανίας( συμπεριλαμβανομένων των κρασιών από φρούτα), της Φινλανδίας και των χωρών της Βαλτικής αποτελούσαν το 93% της συνολικής ευρωπαϊκής αγοράς. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια, η παραγωγή του μηλίτη αυξάνεται με πολύ γρήγορους ρυθμούς σε χώρες όπως η Ρουμανία, η Πολωνία, η Τσεχία και η Ολλανδία.(Study on Council Directive 92/83/EEC). Όσο αναφορά την Ελλάδα, η παραγωγή του μηλίτη απαγορευόταν, σύμφωνα με το νόμο 2963/1922 άρθρο 3, παράγραφος 2 “Εντός της Ελλάδας ο παραγόμενος ζύθος επιτρέπεται να παρασκευαστεί αποκλειστικά από βύνη και λυκίσκο”(ΑΑΔΕ, 134 Α’ 1922, νόμος 2963/1922). Ο νόμος καταργήθηκε το 2017, επιτρέποντας σήμερα την παραγωγή και κατανάλωση του μηλίτη.

Πίνακας 2.3.1: Europe: Fastest Growing Cider Markets

5yr CAGR (%) 2011 - 2016



(<https://aicv.org/files/attachments/54/CiderTrends2017.pdf>)

### 2.3.2 Η σύσταση μήλου

Το μήλο παρέχει υψηλή πηγή υδατανθράκων, βιταμινών και βιοδραστικών ενώσεων, όπως για παράδειγμα φυτοστερόλες, β-καροτένιο και φαινολικές ενώσεις (Feng et al., 2021; Wu et al., 2020).

Τα σάκχαρα που περιέχονται είναι η σακχαρόζη, η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η σορβιτόλη με επικρατέστερο τη φρουκτόζη. (B. Jarvis 2003). Το L-μηλικό οξύ είναι το κύριο οργανικό οξύ στα μήλα (Belitz, Grosch & Shieberle, 2009). Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα κύρια φυτοχημικά στοιχεία στα μήλα ανήκουν στην ομάδα των πολυφαινολών που περιλαμβάνουν φλαβονό-3-όλες, φλαβονόλες, διυδροχαλκόνες, ανθοκυανιδίνες και μικρότερη αναλογία φαινολικών οξέων (Imeh & Khokhar, 2002, Tsao et al., 2003). Οι φλαβονό-3-όλες αντιπροσωπεύουν την πιο άφθονη κατηγορία πολυφαινολών στον φλοιό των μήλων, πλησιάζοντας το 30-90% της συνολικής παρούσας πολυφαινολών (Tsao et al., 2003; Jakobek et al., 2013). Μέσα σε αυτές τις ενώσεις ομαδοποιούνται η (+)-κατεχίνη και η (-)-επικατεχίνη στις μονομερείς, ολιγομερείς και πολυμερείς μορφές τους. Τα ολιγομερή και τα πολυμερή ονομάζονται προανθοκυανιδίνες, οι οποίες περιλαμβάνουν τόσο τις προκυανιδίνες όσο και τις προδελφινιδίνες (Hellström et al., 2007).

### 2.3.3 Ποικιλίες & κατηγορίες μήλων

Οι ποικιλίες μηλιάς, που υπάρχουν σήμερα σε όλο τον κόσμο, είναι πολλές. Λίγες όμως παρουσιάζουν εμπορικό ενδιαφέρον. Στην Ελλάδα, έχουν διαδοθεί ποικιλίες με

τα εξής χαρακτηριστικά :

1. Παρουσιάζουν προσαρμοστικότητα στις περιβαλλοντικές συνθήκες του κάθε τόπου

2.Ταιριάζουν στην ανθοφορία τους

3.Έχουν μεγάλη ζήτηση στην αγορά εσωτερικού και εξωτερικού

Οι ποικιλίες που καλλιεργούνται σήμερα στην Ελλάδα είναι οι ακόλουθες.

Ποικιλίες της ομάδας Delicious με ποσοστό περίπου 63,6% και κυρίως οι Staking Delicious, Double Red Delicious, Richared Delicious, Starkrimson & Delicious Πιλαφά. Αρκετά διαδεδομένη είναι η ποικιλία Golden Delicious, η οποία θεωρείται η καλύτερη ποικιλία μήλων και προτιμάται ιδιαίτερα στις αγορές της Ευρώπης. Σε μικρότερο ποσοστό είναι διαδεδομένες οι ποικιλίες : Φυρίκι, Jonathan, Black Ben Davis, Mutsu, Granny Smith, Wellspur Delicious & Golden Auvil spur. (Δενδρώδεις Καλλιέργειες, Ευάγγελος Μ. Σφακιωτάκης).

Για να βοηθηθούν οι παραγωγοί μηλίτη και να αποκτήσουν τα βέλτιστα αποτελέσματα και τις αναλογίες οξύτητας, πολυφαινολικών ουσιών και αλκοόλης ή υπολειπόμενης γλυκύτητας στα προϊόντα τους, αναπτύχθηκε ένα ποσοτικό σύστημα ταξινόμησης μήλων στον ερευνητικό σταθμό μηλίτη Long Ashton στο Ηνωμένο Βασίλειο στις αρχές του 1900. Κάθε μήλο μπορεί να ταξινομηθεί σε μία από τις τέσσερις κατηγορίες με βάση αυτά τα κριτήρια:

1. Γλυκά (<0,2% πολυφαινολικά w/v)

2. Γλυκά-πικρά (>0,2% πολυφαινολικά w/v και <0,45% μηλικό οξύ w/v)

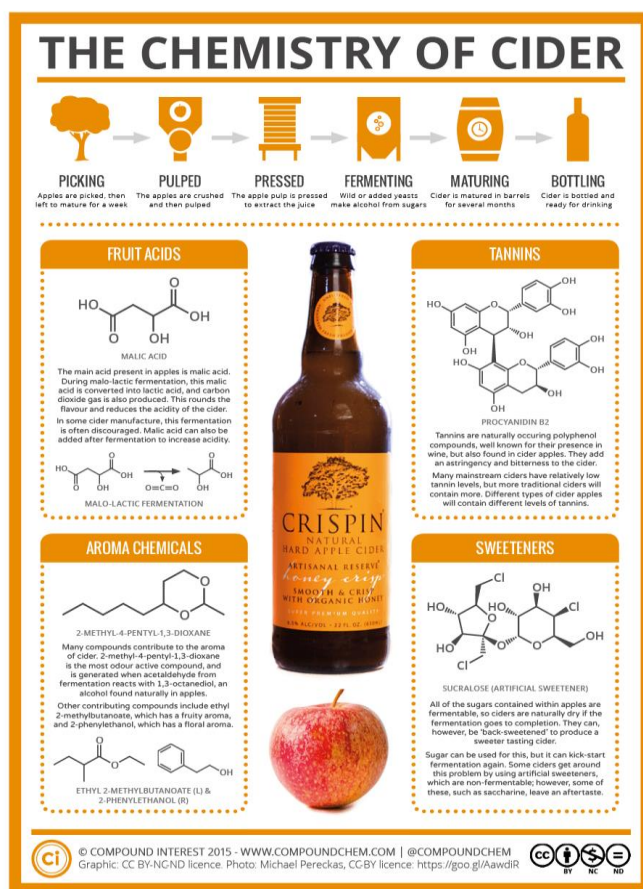
3. Ξινά (<0,2% πολυφαινολικά w/v και >0,45% μηλικό οξύ w/v)

4. Πικρά-ξινά (>0,2% πολυφαινολικά w/v και >0,45% μηλικό οξύ w/v)

### **2.3.4 Η σύσταση του μηλίτη**

Η χημική σύσταση του μηλίτη, εξαρτάται από τη σύσταση του χυμού μήλου, τη φύση των ζυμών της ζύμωσης, τις μικροβιακές προσμείξεις και τους μεταβολίτες τους και τη φύση των προσθέτων που χρησιμοποιούνται στο τελικό προϊόν.(B.Jarvis 1996)

Ο χυμός μήλου είναι ένα μείγμα από νερό,σάκχαρα(κυρίως φρουκτόζη,γλυκόζη και σουκρόζη), ολιγοσακχαρίτες και πολυσακχαρίτες(παράδειγμα είναι το άμυλο),οργανικά οξέα με το μηλικό που είναι και το κύριο οργανικό οξύ στα μήλα (Belitz,Grosch,&Shieberle,2009),που κυμαίνεται από 0,1 έως 1,4% με μέσο όρο 0,5% (Beech and Carr 1977),κινικό και κιτρομηλικό οξύ,ταννίνες (δηλαδή πολυφαινόλες),αμίνες και άλλες αζωτούχες ενώσεις,διαλυτή πηκτίνη,βιταμίνη C, μέταλλα και μια ποικιλία από αλκοόλες αλδεϋδες,κετόνες,εστέρες,λιπαρά οξέα και υδρογονάνθρακες.





© COMPOUND INTEREST 2015 - WWW.COMPOUNDCHEM.COM | @COMPOUNDCHEM  
Graphic: CC BY-NC-ND licence. Photo: Michael Pereckas, CC BY licence: <https://goo.gl/AawdIR>

Εικόνα 2.3.1 Χημική σύσταση του μηλίτη (<https://www.compoundchem.com/2015/06/30/cider/>)

## 2.3.5 Κατηγορίες Μηλίτη

Ο μηλίτης, όπως έχουμε αναφέρει είναι χυμός μήλου που έχει υποστεί ζύμωση. Σύμφωνα με το BJCP χωρίζεται σε δύο κατηγορίες. Αυτές, είναι αρχικά η κατηγορία Standard η οποία καλύπτει τους μηλίτες που παρασκευάζονται κυρίως ή εξ ολοκλήρου από χυμό μήλων (αλλά όχι και τα δύο ταυτόχρονα) και η δεύτερη κατηγορία είναι η Specialty η οποία περιλαμβάνει τα ποτά που παρασκευάζονται με πρόσθετα αρώματα (μπαχαρικά και/ή άλλα φρούτα). Οι δύο κατηγορίες διαχωρίζονται σε υποκατηγορίες ανάλογα με τα στυλ.

Στην κατηγορία Standard ανήκουν:

### 1. New World Cider

Ο μηλίτης του “Νέου Κόσμου” παρασκευάζεται από μήλα, άγριων ποικιλιών που χρησιμοποιούνται συχνά για την ισορροπία οξύτητας/τανίνης. Σε σύγκριση με άλλα στυλ αυτής της κατηγορίας, αυτοί οι μηλίτες έχουν γενικά σχετικά χαμηλότερη περιεκτικότητα σε τανίνη και υψηλότερη οξύτητα. Το "New World" αναφέρεται στο στυλ, όχι σε μια τοποθεσία, καθώς οι μηλίτες σε αυτό το στυλ παρασκευάζονται επίσης στην ανατολική Αγγλία, την Αυστραλία, τη Γερμανία. Οι ποικιλίες μήλων που χρησιμοποιούνται είναι κυρίως οι Winesap, Macintosh, Golden Delicious, Braeburn, Jonathan, Northern Spy, Russets, Baldwi. ABV: 5%-8% v/v

## 2. *English Cider*

Ο μηλίτης παρασκευάζεται από γλυκόπικρες και πικρές-ξινές ποικιλίες μήλων που καλλιεργούνται ειδικά για την παρασκευή μηλίτη. Οι αγγλικοί μηλίτες παραδοσιακά ζυμώνονται και παλαιώνονται σε ξύλινα βαρέλια, κάτι που προσθέτει κάποιο χαρακτήρα. Ωστόσο, τα βαρέλια που χρησιμοποιούνται είναι σπάνια καινούργια, επομένως δεν υπάρχει εμφανής χαρακτήρας ξύλου. Κύριες ποικιλίες: Kingston Black, Stoke Red, Dabinett, Porter's Perfecton, Nehou, Yarlington Mill, Major, various Jerseys. ABV: 6%-9% v/v

## 3. *French Cider*

Ο μηλίτης παρασκευάζεται από γλυκόπικρες και πικρές-ξινές ποικιλίες μήλων που καλλιεργούνται ειδικά για την παρασκευή μηλίτη. Για τους παραδοσιακούς γαλλικούς μηλίτες χρησιμοποιούν διαδικασίες όπου προσθέτουν μικρές ποσότητες αλατιού και ενώσεων ασβεστίου (χλωριούχο ασβέστιο, ανθρακικό ασβέστιο) για να βοηθήσουν στη διαδικασία πήξης της πηκτίνης. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν, πριν τη ζύμωση αλλά σε περιορισμένη ποσότητα. Ποικιλίες μήλων: Nehou, Muscadet de Dieppe, Reine des Pommes, Michelin. ABV: 3%-6% v/v

Στην κατηγορία Specialty ανήκουν:

### 1. *New England Cider*

Ο μηλίτης είναι φτιαγμένος με χαρακτηριστικά μήλα "Νέας Αγγλίας" με σχετικά υψηλή οξύτητα, με πρόσθετα που αυξάνουν τα επίπεδα αλκοόλ και συμβάλλουν με επιπλέον γευστικές νότες. Ποικιλίες μήλων: Northern Spy, Roxbury Russet, Golden Russet, Baldwin και πολλές άλλες αγγλικές παραδοσιακές ποικιλίες μήλων. ABV: 7-13% v/v

### 2. *Cider with other fruits*

Ο μηλίτης με την προσθήκη άλλων φρούτων ή χυμών φρούτων. Ο χαρακτήρας του μηλίτη πρέπει να υπάρχει και να ταιριάζει με τα άλλα φρούτα. Ως προς την εμφάνιση θα πρέπει να έχει καθαρό έως λαμπρό χρώμα. Ως προς την αίσθηση του στόματος μπορεί να είναι τανικό, ανάλογα με τα φρούτα που προστίθενται. ABV: 5%-9% v/v

### 3. *Applewine*

Παραδοσιακός μηλίτης με σημαντική προσθήκη ζάχαρης για την επίτευξη υψηλότερης αλκοόλης από έναν τυπικό μηλίτη. Ως εκ τούτου, έρχεται πιο κοντά σε ένα λευκό κρασί από οποιοδήποτε άλλο στυλ. Κανένα άλλο φρούτο εκτός από μήλα δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί σε αυτό το στυλ. ABV: 9%-12% v/v

### 4. *Ice Cider*

Αυτό είναι ένα στυλ μηλίτη στο οποίο ο χυμός συμπυκνώνεται πριν από τη ζύμωση είτε με την κατάψυξη των φρούτων πριν από το πιεστήριο είτε με την

κατάψυξη του χυμού και αφαιρώντας το νερό. Ο χαρακτήρας του διαφέρει από το Applewine στο ότι η διαδικασία του παγωμένου μηλίτη αυξάνει όχι μόνο τη ζάχαρη (εξ ου και το αλκοόλ) αλλά και την οξύτητα και όλα τα συστατικά γεύσης φρούτων αναλογικά. Δεν επιτρέπονται πρόσθετα σε αυτό το στυλ. Αυτό το στυλ ξεκίνησε στο Κεμπέκ τη δεκαετία του 1990. ABV: 7%-13% v/v

#### 5. *Cider with Herbes/Spices*

Ο μηλίτης με οποιονδήποτε συνδυασμό βοτάνων. Σε αυτή την κατηγορία περιλαμβάνονται και ο μηλίτης με λυκίσκο. Άλλα παραδείγματα είναι ο μηλίτης με τζίντζερ, λεμονόχορτο, μείγματα τσαγιού βοτάνων και άλλα μπαχαρικά που ταιριάζουν στο άρωμα της «μηλόπιτας» όπως κανέλα, μοσχοκάρυδο, μπαχάρι. ABV: 5%-9% v/v

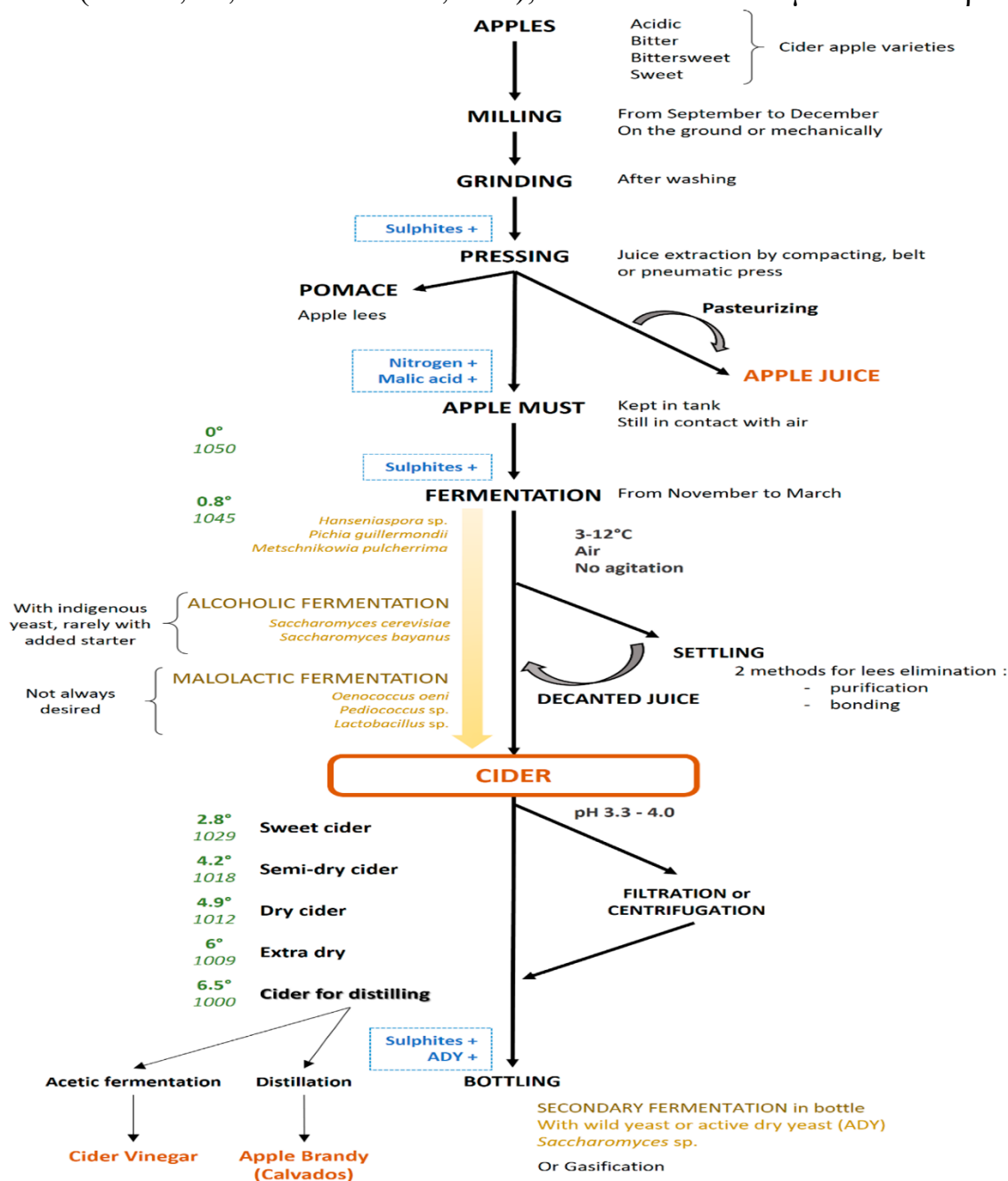
#### 6. *Specialty Cider*

Αυτή είναι μια κατηγορία ανοιχτού τύπου για μηλίτη με άλλα συστατικά έτσι ώστε να μην ταιριάζει σε καμία από τις παραπάνω κατηγορίες. Αυτό περιλαμβάνει τη χρήση άλλων γλυκαντικών. Ένας μηλίτης με προσθήκη μελιού μπορεί να εισαχθεί εδώ εάν ο χαρακτήρας του μηλίτη παραμένει κυρίαρχος. Παραδείγματα περιλαμβάνουν επίσης παλαιωμένους μηλίτες στους οποίους ο χαρακτήρας ξύλου/βαρελιού αποτελεί σημαντικό μέρος του συνολικού γευστικού προφίλ. ABV: 5%-12% v/v



## 2.3.6 Στάδια παραγωγής

Η παραγωγή μηλίτη είναι μια βιοτεχνολογική διαδικασία που αποτελείται από 12 στάδια (Proulx, A., and L. Nichols, 1980), όπου θα αναλύσουμε εκτενέστερα.



Εικόνα 2.3.2 Διάγραμμα παραγωγικής διαδικασίας μηλίτη στη Γαλλία (Cousin et al., 2017)

### 1. Συγκομιδή

Η προσεκτική συγκομιδή των μήλων μαζί με τη συντήρησή τους σε ψυγεία εξασφαλίζουν την παρατεταμένη διάθεση του προϊόντος σε όλες σχεδόν τις εποχές του έτους. Η συγκομιδή γίνεται το Σεπτέμβριο και Οκτώβριο. Τα μήλα συλλέγονται προσεκτικά με το χέρι, όταν φθάσουν στο κατάλληλο στάδιο ωριμότητας. Για να καθορίσουμε το κατάλληλο στάδιο ωριμότητας για τη συγκομιδή χρησιμοποιούμε

διάφορα κριτήρια ωριμότητας όπως:

α. Την αλλαγή του βασικού χρώματος του φλοιού από βαθύ πράσινο σε κίτρινο-πράσινο

β. Την ευκολία αποσπάσεως του καρπού από το δένδρο.

γ. Τη μείωση της συνεκτικότητας της σάρκας.

δ. Την καρπική περίοδο που μεσολαβεί από την ανθοφορία ως την ωρίμανση. (Δενδρώδεις Καλλιέργειες, Ευάγγελος Μ. Σφακιωτάκης). Ο καρπός πρέπει να είναι πλήρως ώριμος και γενικά αποθηκεύεται για μερικές εβδομάδες μετά τη συγκομιδή, έτσι ώστε όλο το άμυλο να μπορεί να μετατραπεί σε ζάχαρη. Τα μήλα πρέπει να ταξινομηθούν και να πλυθούν πριν από το άλεσμα για να εξαλειφθούν τα σάπια υπολείμματα φρούτων και οπωρώνων, τα οποία έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στη μικροβιολογική κατάσταση και στην τελική ποιότητα του μηλίτη. (A.G.H. Lea & J.F. Drilleau, 2003).

## **2. "Εφίδρωση" & Πλύσιμο**

Κατά την αποθήκευση των μήλων, αποφεύγοντας τη συσσώρευσή τους. Γίνεται η τοποθέτησή τους, επάνω σε ξύλινη πλατφόρμα. Τα μήλα έχουν αποκτήσει την κατάλληλη "εφίδρωση", συνήθως μετά από μία εβδομάδα με 10ημέρες από την αποθήκευσή τους, και με αυτόν το τρόπο αλέθονται πιο εύκολα. Τα μήλα πρέπει να ταξινομηθούν και να πλυθούν πριν από το άλεσμα για να εξαλειφθούν τα σάπια υπολείμματα φρούτων και οπωρώνων, τα βακτήρια, υπολείμματα ψεκασμών τα οποία έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στη μικροβιολογική κατάσταση και στην τελική ποιότητα του μηλίτη.

## **3. Άλεση & Πολτοποίηση**

Όπου χρησιμοποιούνται φρέσκα φρούτα, το άλεσμα και το πάτημα για την εξαγωγή του χυμού είναι μια απαραίτητη διαδικασία (Downes, 1994). Το άλεσμα είναι η διαδικασία μετατροπής του καρπού σε πολτό. Αυτό γίνεται έτσι ώστε να μπορεί να εξαχθεί η μέγιστη ποσότητα χυμού κατά τη διαδικασία συμπίεσης. Ο καρπός περνάει μέσα από ένα μύλο, ώστε να παραχθεί ο πολτός των μήλων. Διαφορετικοί τύποι μύλων μπορούν να παράγουν διαφορετικές συνθέσεις πολτού, αλλά γενικά πιστεύεται ότι ο "λεπτότερος" πολτός έχει ως αποτέλεσμα τη μέγιστη απόδοση χυμού. Οι μύλοι φρούτων διατίθενται σε όλα τα σχήματα και μεγέθη που κυμαίνονται από μανιβέλα χειρός έως υδραυλική πρέσα. Λίγος χυμός θα εξαχθεί κατά τη διαδικασία άλεσης. Εάν πρόκειται να γίνει διαβροχή, ο πυρήνας πρέπει να μείνει πάνω σε αυτόν τον χυμό αντί να διαχωριστεί, με αυτόν τον τρόπο θα αναπτύξει καφέ χρώμα μέσω της οξειδωσης των τανινών και θα αναπτύξει τη γεύση του.

Μια εναλλακτική παραδοσιακή γαλλική διαδικασία αξίζει να περιγραφεί λόγω του επιστημονικού της ενδιαφέροντος. Αυτό είναι γνωστό στη Γαλλία ως διαβροχή-maceration et cuvage (Revier, 1985; Beech, 1993). Ο πολτός αλέθεται με τον κανονικό τρόπο και στη συνέχεια τοποθετείται σε βαρέλια για να παραμείνει στους 5 °C για 24–48 ώρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, μεγάλες ποσότητες πηκτικής διαλυτοποιούνται από τα κυτταρικά τοιχώματα του μήλου και

διοχετεύονται στο χυμό. Η πηκτίνη απομεθυλιώνεται επίσης εν μέρει από την φυσική δραστηριότητα της μεθυλεστεράσης της πηκτίνης του καρπού. Ταυτόχρονα, η οξειδάση πολυφαινόλης δρα στην "τανίνη" του καρπού παρουσία αέρα για να αναπτύξει διαλυτό χρώμα. Εάν αυτή η οξειδωση συνεχιστεί περαιτέρω, οι οξειδωμένες πολυφαινόλες (ιδιαίτερα οι προκυανιδίνες) "καφετιάζουν" τον πολτό και το επίπεδο των διαλυτών πολυφαινολών και το χρώμα μπορεί να μειωθεί. Σε λίγες μέρες, επομένως, το απομεθυλιωμένο πηκτικό ανιόν θα συνδυαστεί με κατιόντα χυμού (κυρίως ασβέστιο, πρωτεΐνες και ασπαραγίνη) για να σχηματιστεί ένα τζελ που ανεβαίνει ως το λεγόμενο *chapeau brun* στην κορυφή του βαρελιού. Με αυτόν τον τρόπο παράγει ένα χυμό χωρίς πηκτίνη που ωφελεί στη διαύγεια του τελικού μηλίτη, ελέγχει και τα δύο χρώματα και τη γεύση τανίνης, και μειώνει την περιεκτικότητα σε μαγιά και το αμινο-άζωτο του χυμού προκειμένου να επιβραδυνθεί η επακόλουθη ζύμωση. (A.G.H. Lea & J.F. Drilleau, 2003).

Η πολτοποίηση είναι η διαδικασία εξαγωγής του χυμού από τον πυρήνα, συνήθως μέσω της εφαρμογής πίεσης χρησιμοποιώντας πρέσα φρούτων. Αυτές οι πρέσες αποτελούν έναν κατακόρυφο κύλινδρο από ανοξείδωτο χάλυβα που τοποθετείται σε ένα δίσκο με διχτυωτή επιφάνεια. Στη συνέχεια ασκείται πίεση είτε με χειροκίνητο στρόβιλο είτε υδραυλικά. Με την πίεση που ασκείται, ο χυμός τρέχει από τις διχτυωτές εγκοπές σε ένα χωνί και στη συνέχεια συγκεντρώνεται σε έναν κουβά ή δοχείο. Η διαδικασία ολοκληρώνεται όταν όλος ο χυμός έχει παραδοθεί σε ένα δοχείο ζύμωσης ή σε ένα δοχείο αποθήκευσης όπου μπορεί να καταψυχθεί για μελλοντική χρήση.

Ο πυρήνας από την αρχική έκθλιψη μπορεί να εκχυλιστεί με ζεστό νερό και να κατασταλεί για να δώσει έναν δευτερεύοντα χυμό με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ζάχαρη, εναλλακτικά μια διαδικασία συνεχούς διάχυσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αυξηθεί το συνολικό επίπεδο τανίνης και ζάχαρης που εξάγεται από τον πολτό μήλου. Ο υπολειμματικός πυρήνας χρησιμοποιείται συχνά για την εκχύλιση πηκτίνης για τρόφιμα ή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή (Jarvis, B.;1996).

#### **4. Επεξεργασία Χυμού / Γλεύκους & Ανάμειξη**

Σε αντίθεση με την παραγωγή μύρας, το γλεύκος του μηλίτη παρασκευάζεται με απλή ανάμειξη των πρώτων υλών χωρίς βρασμό. Επομένως, το έτοιμο προς ζύμωση γλεύκος μηλίτη πρέπει να παστεριωθεί στη συνέχεια για να αποφευχθεί η ανάπτυξη μαγιάς και βακτηρίων, που θα μπορούσαν να αλλοιώσουν το προϊόν. Την ανάμειξη των χυμών, ορισμένοι παραγωγοί επιλέγουν να την εκτελέσουν μετά το πλύσιμο, ώστε οι καρποί να μπορούν να αναμειχθούν στο άλεσμα, ενώ άλλοι επιλέγουν να το κάνουν μετά τη ζύμωση για να επιτύχουν ένα πιο σταθερό τελικό προϊόν.

Σε αυτό το στάδιο γίνεται η προσθήκη θειώδεις, κυρίως για να αποτρέψει ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς στον χυμό ή την ανεπιθύμητη μηλογαλακτική ζύμωση. Η χρήση του διοξειδίου του θείου (SO<sub>2</sub>) ως συντηρητικό στην παραγωγή μηλίτη ελέγχεται από τη νομοθεσία, στις περισσότερες χώρες το μέγιστο επιτρεπόμενο επίπεδο θείωσης στο τελικό προϊόν είναι 200mg kg<sup>-1</sup>. Ακόμη, η προσθήκη διοξειδίου του θείου πρέπει να ολοκληρωθεί αμέσως μετά την

πολτοποίηση του χυμού, ώστε να ανασταλεί τόσο το οξειδωτικό “καφέτιασμα” όσο και η ανάπτυξη άγριων ζυμών. Εάν απαιτείται διαυγής χυμός, ο θολός συμπιεσμένος χυμός μπορεί να υποβληθεί σε επεξεργασία με πηκτινάσες και αμυλάσες. Όταν διαλύεται στο νερό, το διοξείδιο του θείου και τα άλατά του δημιουργούν ένα εξαρτώμενο από το pH μείγμα ισορροπίας «μοριακού διοξειδίου του θείου», διθειώδους και θειώδους ιόντα. Η αντιμικροβιακή δράση του διοξειδίου του θείου πιστεύεται ότι οφείλεται στη μοριακή υγρασία του διοξειδίου του θείου αυτού του τμήματος που παραμένει αδέσμευτο (το λεγόμενο «ελεύθερο» διοξείδιο του θείου)(Jarvis.B;1996,2003,2014). Λιγότερο διοξείδιο του θείου απαιτείται σε χυμούς υψηλής οξύτητας. Η αποτελεσματικότητα του SO<sub>2</sub> εξαρτάται από το pH αφού μόνο η αδιάσπαστη μορφή (το λεγόμενο μοριακό SO<sub>2</sub>) έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες. Ως εκ τούτου, οι χυμοί μηλίτη πρέπει πάντα να μειώνονται κάτω από το pH 3,8 με την προσθήκη μηλικού οξέος πριν από την προσθήκη SO<sub>2</sub>. Με υγιή φρούτα που περιέχουν μόνο μικρές ποσότητες συστατικών που δεσμεύουν τα θειώδη, αυτό θα πρέπει να αφήνει αρκετό ελεύθερο SO<sub>2</sub> για να παρέχει αποτελεσματική αποστείρωση πριν από την προσθήκη εμβολίου ζύμης 12 ώρες αργότερα. Εάν ο αρχικός καρπός είναι σε κακή κατάσταση, μπορεί να περιέχει μεγάλες ποσότητες 5 κετοφρουκτόζης ή δικετογλυκονικού οξέος από βακτηριακή δραστηριότητα που θα δεσμεύσει το μεγαλύτερο μέρος του προστιθέμενου SO<sub>2</sub> και θα μειώσει την αποτελεσματικότητά του (Burroughs & Sparks, 1964, 1973).

*Πίνακας 2.3.2 Απαιτούμενη προσθήκη SO<sub>2</sub> στο χυμό μήλου ανάλογα το pH (A.G.H. Lea & J.F. Drilleau, 2003)*

| <b>pH</b> | <b>Απαιτούμενη προσθήκη SO<sub>2</sub>(mg/L)</b>  |
|-----------|---|
| 3.0-3.3   | 75  |
| 3.3-3.5   | 100   |
| 3.5-3.8   | 150   |
| >3.8      | Θα πρέπει να μειωθεί με ανάμειξη ή προσθήκη οξέος και να προστεθούν 150 ppm SO <sub>2</sub> . |

Ακόμη, τα θρεπτικά συστατικά προστίθενται επίσης για να εξασφαλιστεί η πλήρης και γρήγορη ζύμωση μέχρι ξηρότητας. Οι χυμοί μήλου περιέχουν πολύ λιγότερο ελεύθερο αμινο-άζωτο από ό,τι τα γλεύκη μύρας, γεγονός που μπορεί να θέσει σοβαρό όριο στην ανάπτυξη της μαγιάς. Ως εκ τούτου, είναι σύνηθες να αυξάνεται το επίπεδο μέχρι περίπου 100 mg αζώτου ανά λίτρο, το οποίο επιτυγχάνεται τυπικά με την προσθήκη 250 ppm θειικού ή φωσφορικού αμμωνίου.

### **5. Αλκοολική Ζύμωση**

Όπως αναφέραμε στην παραπάνω παράγραφο, χρειάστηκε η προσθήκη SO<sub>2</sub> για την αναστολή της ανάπτυξης των “άγριων ζυμών”. Στην περίπτωση παραγωγής αλκοολούχων ποτών από άλλους καρπούς όπως ο μηλίτης, στους καρπούς ανευρίσκονται κυρίως άγριες ζύμες, ιδίως λεμονοειδείς, όπου το ποσοστό των σακχαρομυκήτων είναι αμελητέο. Επιπλέον, η περιεκτικότητα σε άζωτο(N) των

καρπών είναι μειωμένη και οι συνθήκες ανάπτυξης για τις ζύμες δεν είναι τόσο καλές. (Αικατερίνη Κασοπούλου, Μικροβιολογία Οίνων). Γι' αυτό το λόγο, για να ξεκινήσει η ζύμωση πρέπει να γίνει οπωσδήποτε εμβολιασμός με επιλεγμένη ζύμη.

### **Επιλογή ζύμης**

Πολλοί παραδοσιακοί μηλίτες παράγονται σκόπιμα από αυθόρμητη ζύμωση χυμού μήλου που πραγματοποιείται από αυτόχθονες ζύμες (Morrissey, Davenport, Querol, & Dobson, 2004). Ωστόσο, επιλεγμένα στελέχη *Saccharomyces cerevisiae* χρησιμοποιούνται συνήθως για τη διεξαγωγή μιας πλήρους αλκοολικής ζύμωσης αποφεύγοντας οποιαδήποτε αισθητηριακή απόκλιση. Η διαδικασία διασφαλίζει επίσης μια σταθερή ποιότητα των τελικών προϊόντων (Cousin et al., 2017). Υπήρξε αυξημένο ενδιαφέρον για την επιλογή νέων στελεχών με τα κατάλληλα χαρακτηριστικά για τη βελτίωση της ζύμωσης του μηλίτη και τη βελτίωση της συνολικής ποιότητας του μηλίτη. Στελέχη *S. cerevisiae* και *S. bayanus* έχουν ελεγχθεί για να χρησιμοποιηθούν ως εκκινητές στην παραγωγή μηλίτη (Pando Bedriñana, Mangas Alonso, & Suárez Valles, 2017; Suárez Valles, Pando Bedriñana, Lastra Queiro, & Mangas Alonso, 2008).

Επιπλέον, έχει περιγραφεί πρόσφατα η δημιουργία διαειδικών υβριδίων *S. cerevisiae* × *S. eubayanus* για ζύμωση μηλίτη σε χαμηλή θερμοκρασία (Magalhães, Krogerus, Vidgren, Sandell, & Gibson, 2017). Υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ του εμβολιασμού και της αυθόρμητης ζύμωσης σε μικροβιακή διαδοχή, επειδή η εμβολιασμένη ζύμη καταλαμβάνει γρήγορα την κυρίαρχη θέση και περιορίζει άλλους μικροοργανισμούς, ενώ η αυθόρμητη ζύμωση περιλαμβάνει μια σειρά μικροβιακών αλληλεπιδράσεων (Lu et al., 2020; Wu et al., 2021). Αυτοί οι μικροοργανισμοί, ειδικά οι ζύμες, μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη γεύση και την ανάπτυξη του μηλίτη (Calugar et al., 2021; Rosend et al., 2019; Wei et al., 2020). Ωστόσο, μικροοργανισμοί, όπως τα βακτήρια, μπορεί να καθυστερήσουν ή να χαλάσουν την αντίδραση ζύμωσης και να αλλοιώσουν το μηλίτη, ωστόσο θα αναλύσουμε τα βακτήρια εν συνεχεία. Πολλές έρευνες επικεντρώνονται στη ζύμωση και τα χαρακτηριστικά γεύσης *Saccharomyces* και non *Saccharomyces* (Gschaedler et al., 2021; Santiago-Urbina et al., 2014; Xu et al., 2020). Ακόμα στελέχη *S. Pombe* οδηγούν σε μηλίτες με μειωμένη ποσότητα μηλικού οξέος και ξινής γεύσης σε σύγκριση με τους μηλίτες που παράγονται από το *S. cerevisiae* (He et al., 2021).

Η επιλογή της ζύμης και των συνθηκών ζύμωσης είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την ανάπτυξη των αισθητηριακών ιδιοτήτων στους μηλίτες. Επιπρόσθετα, η ζύμη που χρησιμοποιείται στην παραγωγή ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση συμβάλλει στο τελικό προφίλ αρώματος κυρίως αυξάνοντας τα επίπεδα υψηλότερων αλκοολών και εστέρων (McKay et al., 2011).

### **Διαδικασία ζύμωσης**

Στον παραδοσιακό τρόπο παραγωγής μηλίτη, ειδικά όταν ο χυμός δεν υποβάλλεται σε επεξεργασία με θειώδη, οι γηγενείς ζύμες που είναι σημαντικές στη ζύμωση, είναι οι εξής *Candida* spp. και *Kloeckera apiculata*. Γενικά, η *Candida* και η *Kloeckera* πεθαίνουν μέσα στις πρώτες ημέρες. Όταν ο χυμός έχει υποστεί επεξεργασία με θειώδη, η διαδικασία ζύμωσης πραγματοποιείται κυρίως από στελέχη *Saccharomyces* spp., ιδιαίτερα *S. cerevisiae*, *bayanus*, *capensis*, *carlsbergensis* και

unagarum. Ειδικά στελέχη προστίθενται στον επεξεργασμένο με θειώδη χυμό ως καθαρή καλλιέργεια. Η καλλιέργεια εκκίνησης παρασκευάζεται στο εργαστήριο με ψυχρή ξήρανση ή ψύξη με υγρό άζωτο και στη συνέχεια καλλιεργούνται αυξάνοντας τους όγκους ενός κατάλληλου μέσου καλλιέργειας, για να δώσουν ένα εμβόλιο για χρήση σε ένα μέσο πολλαπλασιασμού εκκίνησης. Η φύση του καλλιεργητικού μέσου ποικίλλει, αλλά συχνά βασίζεται στον χυμό μήλου συμπληρωμένο με κατάλληλα αζωτούχα υποστρώματα και βιταμίνες, όπως παντοθενικό οξύ και θειαμίνη. Σήμερα, συνήθως, χρησιμοποιούνται αποξηραμένα ή κατεψυγμένα παρασκευάσματα κυττάρων ζύμης που παράγονται στο εμπόριο, είτε για άμεσο εμβολιασμό σε δεξαμενή είτε ως εμβόλια για το μέσο πολλαπλασιασμού ζυμομύκητα. Η καλλιέργεια πρέπει να έχει τόσο υψηλή βιωσιμότητα όσο και υψηλή ζωτικότητα. Μετά τον εμβολιασμό, οι αρχικές ζύμες, μαζί με τις άγριες ζύμες που είναι ανθεκτικές στο SO<sub>2</sub>, αυξάνονται σε αριθμό από ένα αρχικό επίπεδο περίπου 10<sup>5</sup>cfu ml<sup>(-)</sup>1 σε 5x10<sup>6</sup> – 5x10<sup>7</sup>cfu ml<sup>(-)</sup>1. Μετά από μια αρχική φάση αερόβιας ανάπτυξης, ο προκύπτων περιορισμός οξυγόνου(O<sub>2</sub>) και τα υψηλά επίπεδα υδατανθράκων πυροδοτούν την έναρξη της διαδικασίας αναερόβιας ζύμωσης.(Jarvis.B;2003)

Η ζύμωση συνήθως διαρκεί περίπου 3-8 εβδομάδες (με ειδική πυκνότητα 0.990-1.000), συνεχίζεται με ή χωρίς έλεγχο της θερμοκρασίας, του pH ή άλλων παραμέτρων έως ότου όλα τα ζυμώσιμα σάκχαρα μεταβολιστούν σε αλκοόλη, διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) και άλλους μεταβολίτες.

Σε ελεγχόμενες ζυμώσεις, μια μέγιστη θερμοκρασία 25°C είναι γενικά ανεκτή, αν και οι ζυμώσεις που ελέγχονται στους 15-18°C δεν είναι ασυνήθιστες σε πολλές χώρες. Λόγω της εξώθερμης ενέργειας της διαδικασίας ζύμωσης, σε θερμοκρασίες 30°C ή μεγαλύτερες μπορεί να επιτευχθεί σε περιόδους υψηλής θερμοκρασίας. Γενικά, οι θερμοκρασίες >25 C θεωρούνται ανεπιθύμητες, επειδή κατά τη διάρκεια της ζύμωσης δεν παράγονται πολλές επιθυμητές γευστικές ενώσεις, ωστόσο παράγονται κάποιες ανεπιθύμητες γεύσεις και οι αλκοόλες και άλλοι μεταβολίτες μπορεί να χαθούν με εξάτμιση. Επιπλέον, η δραστηριότητα του επιθυμητού στελέχους ζυμομύκητα μπορεί να ανασταλεί, οδηγώντας σε "κολλημένες" ζυμώσεις (δηλαδή αυτές που απέχουν πολύ από την επίτευξη της αναμενόμενης τελικής πυκνότητας) και την ανάπτυξη ανεπιθύμητων ζυμών και βακτηρίων αλλοίωσης. Οι "κολλημένες" ζυμώσεις μπορούν μερικές φορές να ξαναρχίσουν με τη διέγερση διοξειδίου του άνθρακα μέσα στη δεξαμενή και/ή προσθήκη γλυκόζης, πηγής αζώτου [10–50 mg l<sup>(-)</sup>], συνήθως ως θειικό αμμώνιο ή φωσφορικό διαμμώνιο, μαζί με θειαμίνη [0,1–0,2 mg l<sup>(-)</sup>].(Jarvis.B;2014).

Είναι σημαντικό, να επισημάνουμε για την παρασκευή μηλίτη φρούτων, η οποία είναι παρόμοια με την παρασκευή απλού μηλίτη, εκτός από το ότι πρέπει να δοθεί επιπλέον προσοχή στην προσθήκη των φρούτων καθώς και την επιλογή, το χρονοδιάγραμμα, το χειρισμό και τη διαχείριση του καπακιού. Αναλυτικότερα, η επιλογή των φρούτων είναι σημαντική, καθώς οι τανίνες και τα οξέα στο μείγμα χυμού των μήλων πρέπει να συμπληρώνουν εκείνα του προστιθέμενου φρούτου ή χυμού. Πολλά φρούτα, ιδιαίτερα τα σκούρα φρούτα με χοντρή φλούδα, όπως τα κράνμπερι, είναι εξαιρετικά πλούσια σε οξέα και τανίνες και μπορούν εύκολα να

καλύψουν έναν μηλίτη με λεπτή γεύση. Πολλά φρούτα έχουν επίσης υψηλά επίπεδα πηκτίνης, η οποία μπορεί να δημιουργήσει ανεπιθύμητο θόλωμα στον τελικό μηλίτη. Άλλοι πάλι παράγουν χυμό που οξειδώνεται και δημιουργείται ανεπιθύμητο χρώμα. Φρούτα με λεπτή γεύση, όπως οι φράουλες, τα δαμάσκηνα ή τα ροδάκινα, λειτουργούν καλά στον μηλίτη. Άλλα συχνά χρησιμοποιούμενα φρούτα είναι τα μούρα, τα σμέουρα, τα βατόμουρα και τα φραγκοστάφυλα και τα πυρηνόκαρπα όπως τα κεράσια ή τα βερίκοκα. Αυτά είναι πιο δυνατά αρωματισμένα φρούτα και μπορούν να καλύψουν τη γεύση και το άρωμα του μηλίτη. Τα φρούτα μπορούν να προστεθούν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ή να ζυμωθούν χωριστά και να αναμειχθούν αργότερα. Καθώς ο μηλίτης συχνά έχει αλκοόλ πολύ κάτω από την ανοχή της ζύμης, η προσθήκη φρούτων θα ανανεώσει πολύ τη ζύμωση. Η προσθήκη φρούτων μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης μπορεί να διατηρήσει περισσότερο τον αρχικό χαρακτήρα του φρούτου, ωστόσο μπορεί να χρειαστεί παλαίωση για να αποφευχθεί ο ακατέργαστος, μη ζυμωμένος χαρακτήρας. Ακόμα κι αν η ζύμωση έχει ολοκληρωθεί λόγω της επίτευξης της ανοχής της μαγιάς στο αλκοόλ, τα φρούτα που προστίθενται στο θα αραιώσουν την αλκοόλη (τα φρούτα είναι συνήθως 70% νερό) και μπορεί να επιτρέψουν στη μαγιά να επανενεργοποιηθεί.



Εικόνα 2.3.3 :Μηλίτες με άλλα φρούτα από το πείραμα

## 6. Ωρίμανση και Μηλογαλακτική Ζύμωση

Οι δεξαμενές ωρίμανσης είναι γεμίζονται με μηλίτη και είτε καλύπτονται με μια «στρώση» διοξειδίου του άνθρακα ή σφραγίζονται για να αποτραπεί η είσοδος αέρα, που θα διεγείρει την ανάπτυξη ζυμών, όπως *Brettanomyces spp.*, *Pichia*



membranefaciens, *Candida mycoderma* και αερόβια βακτήρια, όπως *Acetobacter xylinum*. Η ανάπτυξη τέτοιων ζυμομυκήτων θα παράγει πρόδρομες ουσίες μιας δυσάρεστης γευστικής ένωσης, που πιστεύεται ότι είναι η 1,4,5,6-τετραϋδρο-2-ακετο-πυριδίνη. Κατά τη διαδικασία ωρίμανσης, η ανάπτυξη βακτηρίων γαλακτικού οξέος, όπως *Lactobacillus pastorianus* var. *quiniacus*, *L. mali*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, προκαλεί μηλογαλακτική ζύμωση.

Στο τέλος της ζύμωσης, τα κύτταρα της ζύμης κροκιδώνονται και κατακάθονται στον πυθμένα της δεξαμενής – αυτή η διαδικασία μπορεί να υποβοηθηθεί με την ψύξη του μηλίτη στη δεξαμενή. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, λαμβάνει χώρα η αυτόλυση των ζυμών, η οποία απελευθερώνει κυτταρικά συστατικά στον μηλίτη. Ο ακατέργαστος μηλίτης αφαιρείται από τις οινολάσπες. Η αυτόλυση ζυμομυκήτων παρέχει στο γλεύκος πολύτιμα μακρομοριακά συστατικά που παίζουν σημαντικό ρόλο σε φαινόμενα σταθερότητας, διέγερση μηλογαλακτικής ζύμωσης και αισθητηριακή βελτίωση των κρασιών (Fornairon-Bonnedond et al., 2002).

Επιπλέον, οι οινολάσπες είναι σε θέση να συγκρατούν ανεπιθύμητα συστατικά όπως θείο και πτητικές φαινόλες (Chassagne, Guilloux-Benatier, Alexandre, & Voilley, 2005; Pradelles, Alexandre, Ortiz-Julien, & Chassagne, 2008; Vasserot, 2003, Steinmet), ως θολό προϊόν και μεταφέρεται σε δεξαμενές αποθήκευσης για ωρίμανση, προσθέτοντας έτσι κυτταρικά συστατικά όπως ένζυμα, αμινοξέα και νουκλεϊκά οξέα κ.λπ. στο παρασκεύασμα. Η επαφή με τις οινολάσπες επιφέρει σημαντικές αλλαγές στην πτητική σύνθεση του μηλίτη όπως αποδεικνύεται η γενική αύξηση της περιεκτικότητας σχεδόν σε όλες τις δευτερεύουσες πτητικές ενώσεις. Από τεχνολογική άποψη, η προσθήκη β-γλυκανάσης ή/και μικροοξυγόνωσης μπορεί να ωφελήσει το αρωματικό δυναμικό του μηλίτη, λαμβάνοντας υπόψη την επίδραση αυτών των παραγόντων στην αντίληψη του εξανοϊκού αιθυλεστέρα, του οξικού βουτυλεστέρα και του αιθύλιο 2-βουτυρικό μεθυλεστέρα. Ωστόσο, εάν αφηθεί για πολύ καιρό πάνω στις οινολάσπες, υπάρχει σοβαρός κίνδυνος ανάπτυξης αλλοιώσεων στον μηλίτη. Ο μηλίτης διαχωρίζεται από τις οινολάσπες και μεταφέρεται είτε απευθείας, είτε μετά από φυγοκεντρική διαύγαση ή διήθηση, σε δεξαμενές αποθήκευσης. Η πραγματική διαδικασία ωρίμανσης είναι γενικά ανεξέλεγκτη, αν και, όλο και περισσότερο, οι παραγωγοί μηλίτη επιδιώκουν να ελέγξουν τη θερμοκρασία αποθήκευσης και τη δευτερογενή μηλογαλακτική ζύμωση. Η ωρίμανση του μηλίτη αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα ακεταλδεϋδης, μεθανόλης, 2-βουτανόλης, 1-προπανόλης και γαλακτικού αιθυλεστέρα, και εντός ελάχιστων πτητικών, 4-αιθυλφαινόλη, 4-αιθυλκατεχόλη, τέσσερις αλκοόλες (3-μεθυλ-3-βουτενόλη, 1-πεντανόλη, 3-μεθυλ-2-βουτενόλη και εξανόλη), αιθυλεστέρες (προπιονικό, βουτυρικό, 2-μεθυλβουτυρικό και εξανοϊκό), οξικό προπυλεστέρα και μεθειονόλη. Αυτές οι αυξήσεις θα μπορούσαν να σχετίζονται με την ικανότητα των βακτηρίων γαλακτικού οξέος να συνθέτουν αιθυλεστέρες και άλλες πτητικές ενώσεις όπως λιπαρά οξέα, πτητικές φαινόλες, αλκοόλες και c-βουτυρολακτόνη (Beech & Carr, 1977; Sumbly, Grbin, & Jiranek, 2010, Ugliano & Moio, 2005). Η διαδικασία ωρίμανσης γίνεται σιγά σιγά κατανοητή: η μηλογαλακτική ζύμωση (που πραγματοποιείται από διάφορα βακτήρια γαλακτικού οξέος) μειώνει την οξύτητα με τη μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ. Πολλές άλλες μικροβιακές και



βιοχημικές μετατροπές λαμβάνουν χώρα επίσης, συμπεριλαμβανομένης της τροποποίησης των τανινών και της εστεροποίησης, π.χ. του γαλακτικού οξέος προς σχηματισμό γαλακτικού αιθυλεστέρα.

Κατά τη διαδικασία ωρίμανσης, η ανάπτυξη βακτηρίων μηλογαλακτικού οξέος, όπως *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus pastorianus* var. *quinicus*, *L. mali*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* και άλλα είδη, και *Pediococcus* spp. μπορεί να συμβεί εκτενώς, ειδικά εάν χρησιμοποιούνται ξύλινες δεξαμενές. Η μηλογαλακτική ζύμωση (MLF) έχει ως αποτέλεσμα τη μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ και επίσης παράγει δευτερογενείς μεταβολίτες. Η MLF μειώνει την οξύτητα του μηλίτη και προσδίδει ανεπαίσθητες αλλαγές που βελτιώνουν τη γεύση του προϊόντος. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, οι μεταβολίτες των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος μπορεί να βλάψουν τη γεύση και να προκαλέσουν αλλοίωση - για παράδειγμα, υπερβολική παραγωγή διακετυλίου, η γεύση του οποίου μοιάζει με καραμέλα βουτύρου μπορεί να ανιχνευθεί στον μηλίτη ένα επίπεδο κατωφλίου περίπου  $0,6 \text{ mg l}^{-1}$ . Σε μηλίτες που παρασκευάζονται χωρίς  $\text{SO}_2$ , είναι σύνηθες φαινόμενο η MLF να εμφανίζεται ταυτόχρονα με τη ζύμωση ζύμης. Καθώς δεν πραγματοποιείται έλεγχος στα βακτήρια γαλακτικού οξέος μετά τη μηλογαλακτική ζύμωση (MLF), εντοπίζεται μεγάλος αριθμός βακτηρίων γαλακτικού οξέος (Dueñas et al., 1994) και αυτά τα βακτήρια αποτελούν πιθανή πηγή διαφορετικών αλλοιώσεων του μηλίτη. Ένα από τα πιο διαδεδομένα είναι η παραγωγή περίσσειας οξικού οξέος (Irastorza et al., 1993) με τη χρήση υπολειμματικών σακχάρων και άλλων ενώσεων όπως η γλυκερίνη ή το γαλακτικό οξύ. Οξικό οξύ υπάρχει πάντα στον μηλίτη, αλλά η περίσσεια οδηγεί σε αλλοίωση του προϊόντος. Άλλες αλλοιώσεις που αναφέρονται συχνά είναι η framboise (Coton and Coton, 2003) και ο σχηματισμός ακρολεΐνης (Sauvageot et al., 2000).

Η θείωση του μηλίτη μετά την ωρίμανση του μηλίτη και της MLF είναι μια λύση που μερικές φορές γίνεται, προκειμένου να εξαλειφθούν τα βακτήρια που προκαλούν ανεπιθύμητες αλλοιώσεις. (Dueñas et al., 2002). Κατά γενικό κανόνα, οι μηλίτες άνω του pH 3,8 διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο αλλοίωσης από βακτήρια και δεν μπορούν εύκολα να προστατευτούν με θείωση, καθώς πολύ λίγο μοριακό  $\text{SO}_2$  είναι διαθέσιμο από την ισορροπία σε αυτό το pH. (A.G.H. Lea & J.F. Drilleau, 2003).

## **7. Σταθεροποίηση & Εμφιάλωση**

Για τη σταθεροποίηση του μηλίτη και για παρατεταμένη διάρκεια ζωής, ο μηλίτης με υπολειμματικά σάκχαρα πρέπει να υποστεί θερμική επεξεργασία ή να προστεθεί διοξείδιο του θείου ( $\text{SO}_2$ ) και συντηρητικά όπως σορβικό κάλιο για να αποφευχθεί η αλλοίωση από τη μικροβιακή ανάπτυξη στο μπουκάλι (Lea and Drilleau 2003). Μια εναλλακτική λύση στη χημική σταθεροποίηση είναι η παστερίωση, η οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί μετά από την εμφιάλωση, ανάλογα με τον διαθέσιμο εξοπλισμό και την παρουσία διοξειδίου του άνθρακα. Η παστερίωση σε μπουκάλι επιτρέπει τη διατήρηση της ενανθράκωσης, ενώ η απευθείας παστερίωση του μη εμφιαλωμένου προϊόντος θα μειώσει την ενανθράκωση, επειδή η διαλυτότητα του  $\text{CO}_2$  σε υδατικά διαλύματα είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη θερμοκρασία εντός του λειτουργικού εύρους της παρασκευής μηλίτη. Η βάση μηλίτη (έως 12% abv) φυγοκεντρείται για

να αφαιρεθούν τα στερεά. Οι διαδικασίες μικροδιήθησης χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενός μηλίτη που αναμιγνύεται με χυμό μήλου ή νερό για να δώσει ένα κατάλληλο επίπεδο αλκοόλ (συνήθως 3,5–8,5% abv). Σε αυτό το στάδιο, μπορεί να προστεθεί γλυκαντικό και άλλα συστατικά για να ρυθμιστεί η ισορροπία οξέος-γλυκύτητας, σύμφωνα με το οργανοληπτικό στυλ του μηλίτη που απαιτείται. Όλο και περισσότερο χρησιμοποιούνται προσθήκες χυμών φρούτων όπως το cranberry ή το βατόμουρο στο μηλίτη.(Jarvis. B;2014) Ο μη ανθρακούχος μηλίτης πωλείται όλο και περισσότερο σε γυάλινα μπουκάλια και δοχεία από πολυαιθυλένιο. Η ταχεία παστερίωση και η ψυχρή πλήρωση επιτρέπουν την ανάπτυξη ειδών μούχλας που έχουν ανθεκτικά στη θερμότητα σπόρια. Η αποστείρωση πραγματοποιείται με θέρμανση στους 82°C, διατήρηση 15 δευτερολέπτων, ψύξη στους 63° και πλήρωση σε αυτή τη θερμοκρασία: το περιεχόμενο στη συνέχεια ψύχεται σε φυσικό περιβάλλον. Οι εναλλακτικές μέθοδοι σταθεροποίησης που χρησιμοποιούνται στα μικρότερα εργοστάσια περιλαμβάνουν αποστειρωμένη διήθηση και παστερίωση σε δοχείο στους 68° για 30 λεπτά. Όλοι οι μη ανθρακούχοι μηλίτες σε αυτούς τους τύπους δοχείων πρέπει να περιέχουν ελεύθερο διοξείδιο του θείου, να είναι ουσιαστικά απαλλαγμένοι από άλατα σιδήρου και να έχουν αεροστεγές καπάκι.( F. W. Beech´1972).

### 2.3.7 Βασικές Αναλύσεις

Τα νομοθετικά κριτήρια καθορίζουν όχι μόνο τις πρώτες ύλες και τις διαδικασίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή μηλίτη, αλλά και καθορίζουν ελάχιστα αναλυτικά κριτήρια για τα προϊόντα όπως αλκοόλη, πυκνότητα, οξύτητα, pH, σάκχαρα, CO<sub>2</sub>. Αναλυτικότερα:

#### 1. Αλκοόλη

Με τη μέθοδο της απόσταξης, η μέτρηση μπορεί να γίνει με υδρόμετρο χρησιμοποιώντας πίνακες ή γραφήματα μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση της αλκοόλης στους 20°C.

#### 2. Πυκνότητα

Με τη μέθοδο της απόσταξης και με χρήση διαθλασίμετρου (Brix)

#### 3. Οξύτητα

Με τη μέθοδο τιτλοδότησης με δείκτη.

#### 4. pH

Το pH εξαρτάται από τη συγκέντρωση των οξέων και ο προσδιορισμός του pH του δείγματος γίνεται με πεχάμετρο, μετά τη χρήση με πρότυπο ρυθμιστικό διάλυμα.

#### 5. Σάκχαρα

Με τη χρήση διαθλασίμετρου (Brix) και τη χρήση φασματοφωτομέτρου.

#### 6. CO<sub>2</sub>

Για τον προσδιορισμό του CO<sub>2</sub> υπάρχουν δύο μέθοδοι

α. Μανομετρικά (μέθοδος Gray) όπου:

$$\%CO_2 = [P - (ml\text{αέρα}/ml\text{κενού φιάλης} * 14,7)] * 0,0096$$

β. Ογκομετρικά (μέθοδος De Clerck) όπου:

1β. παίρνουμε 10ml παγωμένου δείγματος με CO<sub>2</sub> σε 25ml NaOH 0,1N και ογκομετρούμε με

0,1 N HCl μέχρι το pH=8,3 (δείκτης φαινολοφθαλεΐνης). Έστω α ml η κατανάλωση του

HCl 0,1 N.

2β. παίρνουμε 10ml χωρίς CO<sub>2</sub> και ογκομετρούμε με 0,1 N NaOH μέχρι το pH=8,3. Έστω βml

η κατανάλωση NaOH 0,1 N.

$$\% \text{CO}_2 = [25 - (\alpha + \beta)] * 0,0044 * 10$$

Πίνακας 2.3.3 Σύγκριση βασικών αναλύσεων για χυμό μήλου & γλεύκος (F. W. Beech '1972)

| Χαρακτηριστικά  | Χυμός Μήλου | Γλεύκος     |
|-----------------|-------------|-------------|
| Ολική πυκνότητα | 1,045-1,061 | 1,029-1,050 |
| Ολική Οξύτητα   | 22,5-136    | 6-11        |
| pH              | 3,0-4,5     | 5,3-5,9     |
| Τανίνη (%w/v)   | 0,08-0,54   |             |
| Διαλυτό άζωτο   | 3,7-14,8    | 50-95       |

## 2.4 FT-IR Φασματοσκοπία

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier αποτελεί μία από τις διάφορες μεθόδους φασματοσκοπίας. Στην υπέρυθρη φασματοσκοπία, το υπέρυθρο φως (πηγή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας) αλληλεπιδρά με την ύλη. Η αλληλεπίδραση δημιουργεί δονήσεις (αλλαγές στη διπολική ροπή του μορίου. Η μέθοδος είναι κατάλληλη για στερεά, υγρά και αέρια δείγματα. Η υπέρυθρη ακτινοβολία είναι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με τα μεγαλύτερα μήκη κύματος και τις χαμηλότερες συχνότητες από αυτές του ορατού φωτός. Η υπέρυθρη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος διακρίνεται σε τρεις περιοχές (Theophanides, 2012. « Introduction to Infrared Spectroscopy», Materials Science, Engineering and Technology):

i. Το εγγύς υπέρυθρο (NIR) φάσμα που κυμαίνεται μεταξύ 0,78  $\mu\text{m}$  έως 2,5  $\mu\text{m}$  (ή κυματαριθμούς 14.000-4.000  $\text{cm}^{-1}$  ), μπορεί να διεγείρει επιτονικές ή αρμονικές δονήσεις.

ii. Το μέσο υπέρυθρο (MIR) φάσμα που κυμαίνεται μεταξύ 2,5  $\mu\text{m}$  έως 30  $\mu\text{m}$  (ή κυματαριθμούς 4.000-400  $\text{cm}^{-1}$  ), τη συσχέτιση δομής περιστροφής-δόνησης.

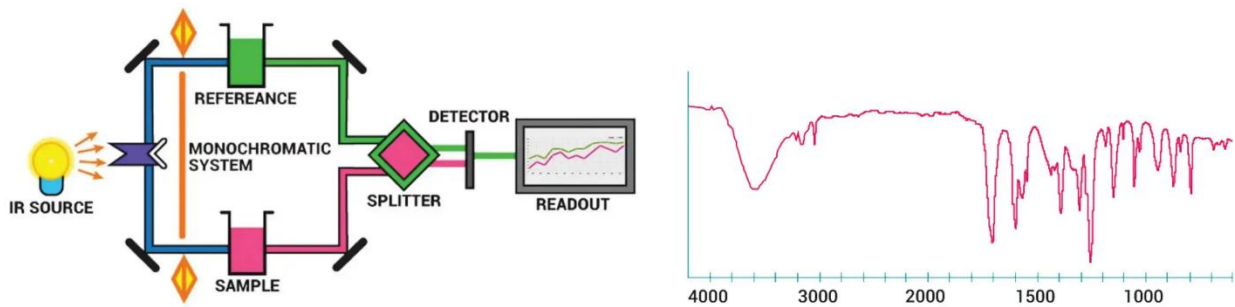
iii. Το άπω υπέρυθρο (FIR) φάσμα που κυμαίνεται μεταξύ 30  $\mu\text{m}$  έως 300  $\mu\text{m}$  (ή κυματαριθμούς 400-10  $\text{cm}^{-1}$  ), είναι το χαμηλότερο σε ενέργεια και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για περιστροφική φασματοσκοπία. (Jadhav et al., 2013).

Στην υπέρυθρη φασματοσκοπία με μετασχηματισμό Fourier, ένα φάσμα το οποίο θεωρείται απεριοδική κυματική ομάδα, λαμβάνεται στο σήμα εξόδου αφού υποστεί ολοκλήρωση κατά Fourier. Το πλεονέκτημα στηρίζεται στο συμβολόμετρο, το οποίο επεξεργάζεται συγχρόνως ολόκληρη τη φασματική περιοχή, σε αντίθεση με τα κλασσικά φασματοφωτόμετρα στα οποία η επεξεργασία γίνεται σε μικρά βήματα για κάθε φασματικό στοιχείο. Η διάταξη ενός φασματοφωτομέτρου Fourier είναι η εξής :

πηγή υπέρυθρης ακτινοβολίας  $\rightarrow$  συμβολόμετρο  $\rightarrow$  χώρος δείγματος  $\rightarrow$  ανιχνευτής υπέρυθρου

καθώς υπάρχει και μια πηγή laser , η οποία χρησιμοποιείται για τη δημιουργία εσωτερικής αναφοράς, της μέτρησης των κυματαριθμών και τη ρύθμιση της διάρκειας παλμών. (Μ.Κουή, Β.Δρίτσα, Π.Παπανδρεόπουλος;Εφαρμογές στην Υπέρυθρη Φασματοσκοπία με μετασχηματισμό Fourier).

# Infrared (IR) Spectroscopy



Εικόνα 2.4.1 IR Spectroscopy – Αρχή, Όργανα, Εφαρμογή  
(<https://microbiologynote.com/el/%CE%95%CF%86%CE%B1%CF%81%CE%BC%CE%BF%CE%B3%CE%AE-%CE%BF%CF%81%CE%B3%CE%AC%CE%BD%CF%89%CE%BD-%CE%B1%CF%81%CF%87%CE%AE%CF%82-%CF%86%CE%B1%CF%83%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CF%83%CE%BA%CE>)

Η φασματοφωτομετρία υπέρυθρου χρησιμοποιείται ευρύτατα για τον προσδιορισμό της δομής (συντάξεως) και την ταυτοποίηση οργανικών (κυρίως) και ανόργανων ουσιών, και περιορισμένα στην ποσοτική ανάλυση. (Θ.Π Χατζηγιάννου, Μ.Α Κούππαρη, Ενόργανη ανάλυση)

## 2.4.1 Εφαρμογές στη βιομηχανία ποτών και τροφίμων

Τις τελευταίες δεκαετίες, η υπέρυθη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier (FTIR) έχει επεκτείνει σημαντικά τις εφαρμογές της υπέρυθρης φασματοσκοπίας. Περιοχές του φάσματος που προηγουμένως ήταν δύσκολο να μελετηθούν με συμβατικά φασματοφωτόμετρα υπέρυθρων, πλέον μπορούν να μελετηθούν. Οι εφαρμογές του FTIR στην ανάλυση τροφίμων και ποτών είναι ποικίλες όπως:

- οι αναλύσεις ποιότητας των πρώτων υλών
- παρακολούθηση τη διαδικασία και τη σταθερότητα της ζύμωσης, μετρώντας τις αλλαγές των διαφόρων ενώσεων που συμμετέχουν στη ζύμωση
- ταυτοποίηση ουσιών
- ανίχνευση πιθανών μολυσματικών ενώσεων ή αλλοιώσεων στο τελικό προϊόν

Συγκεκριμένα στην παραγωγή ζύθου, μηλίτη και kombucha, η φασματοσκοπία FTIR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διάφορους σκοπούς, όπως:

1. Ανάλυση πρώτων υλών: Το FTIR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση των χαρακτηριστικών και της ποιότητας διαφόρων πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται

στην ζυθοποιία, όπως οι βύνες, ο λυκίσκος και η μαγιά. Μπορεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη χημική σύνθεση των προϊόντων, την περιεκτικότητα σε υγρασία και πιθανές μολύνσεις σε αυτά τα συστατικά.

2. Παρακολούθηση ζύμωσης: Το FTIR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση και ανάλυση της διαδικασίας ζύμωσης μετρώντας τις αλλαγές στη χημική σύνθεση του γλεύκους κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Μπορεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την περιεκτικότητα σε σάκχαρα και αλκοόλ, καθώς και τη συγκέντρωση παραπροϊόντων όπως οργανικά οξέα και εστέρες.

3. Ποιοτικός έλεγχος: Η φασματοσκοπία FTIR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της ποιότητας του τελικού προϊόντος και τον εντοπισμό ενώσεων που δρουν αρνητικά στο παραγόμενο ή στο τελικό προϊόν, όπως μολύνσεις ή αποκλίσεις γεύσης. Μπορεί να παρέχει ποσοτικά δεδομένα για διάφορες παραμέτρους όπως η περιεκτικότητα σε αλκοόλ, τα υπολειμματικά σάκχαρα και οι πτητικές ενώσεις.

4. Βελτιστοποίηση διαδικασίας: Η φασματοσκοπία FTIR μπορεί να βοηθήσει τους παραγωγούς να βελτιστοποιήσουν τις διαδικασίες παρασκευής τους παρέχοντας ανάλυση σε πραγματικό χρόνο κρίσιμων παραμέτρων. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση της εξέλιξης της πολλαπλασιασμού, τον καθορισμό του βέλτιστου χρόνου μεταφοράς του μούστου και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του πολλαπλασιασμού της ζύμης.

## **2.4.2 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα :**

Είναι σημαντικό να ληφθούν υπόψη ορισμένοι παράγοντες πριν την επιλογή της μεθόδου φασματοσκοπίας.

Ακολουθούν ορισμένα βασικά πλεονεκτήματα:

1. Ευρεία φασματική περιοχή: Η ανάλυση FTIR καλύπτει ένα ευρύ φάσμα φάσματος, συνήθως από το μακρινό υπέρυθρο έως το εγγύς υπέρυθρο, επιτρέποντας την ανίχνευση και την ανάλυση ενός ευρέος φάσματος μοριακών δονήσεων.

2. Υψηλή ευαισθησία και ακρίβεια: Τα φασματόμετρα FTIR παρέχουν υψηλή αναλογία σήματος προς θόρυβο, που οδηγεί σε βελτιωμένη ευαισθησία και την ικανότητα ανίχνευσης ακόμη και μικρών αλλαγών στο δείγμα .

3. Ταχεία λήψη δεδομένων: Τα φασματόμετρα FTIR μπορούν να αποκτήσουν δεδομένα σε πολλαπλά μήκη κύματος ταυτόχρονα, χωρίς να απαιτείται σάρωση με χρήση κινούμενου πλέγματος/πρίσματος.

4. Μη καταστροφική ανάλυση: Η ανάλυση FTIR είναι μια μη καταστροφική τεχνική, που σημαίνει ότι το δείγμα παραμένει άθικτο μετά την ανάλυση. Αυτό το

καθιστά κατάλληλο για την ανάλυση ευαίσθητων ή πολύτιμων δειγμάτων.

5. Ευελιξία: Η ανάλυση FTIR μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα ευρύ φάσμα δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένων στερεών, υγρών και αερίων. Χρησιμοποιείται συνήθως σε διάφορους τομείς όπως η χημεία, τα φαρμακευτικά προϊόντα, η επιστήμη των υλικών, η περιβαλλοντική επιστήμη και η ιατροδικαστική.

Έχει όμως και ορισμένα μειονεκτήματα :

1. Περιορίζεται στον εντοπισμό λειτουργικών ομάδων: Η φασματοσκοπία FTIR μπορεί να αναγνωρίσει μόνο λειτουργικές ομάδες σε ένα δείγμα, όχι μεμονωμένα μόρια. Επομένως, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της πλήρους χημικής δομής μιας ένωσης.
2. Δυσκολία στον εντοπισμό σύνθετων δειγμάτων: Σε σύνθετα δείγματα, όπως μείγματα ή επικαλυπτόμενα φάσματα, μπορεί να είναι δύσκολο να προσδιοριστούν με ακρίβεια όλα τα συστατικά.
3. Ευαισθησία στην υγρασία: Η φασματοσκοπία FTIR είναι ευαίσθητη στο νερό και το νερό μπορεί να επηρεάσει την ανάλυση των δειγμάτων. Ως εκ τούτου, τα δείγματα θα πρέπει να στεγνώνουν καλά πριν από την ανάλυση.
4. Προετοιμασία δείγματος: Η φασματοσκοπία FTIR απαιτεί την προετοιμασία μιας λεπτής μεμβράνης του δείγματος, η οποία μπορεί να είναι χρονοβόρα και απαιτεί κάποια εμπειρία.
5. Φασματική παρεμβολή: Η παρεμβολή από άλλα μόρια ή ακαθαρσίες στο δείγμα μπορεί να προκαλέσει φασματική παρεμβολή και να οδηγήσει σε ανακριβείς μετρήσεις.

### **2.4.3 Προϋποθέσεις για την φασματοσκοπία FT-IR:**

1. Βασίζεται στην απορρόφηση του υπέρυθρου φωτός από ορισμένους τρόπους δόνησης των δεσμών μεταξύ των ατόμων σε ένα μόριο. Για να είναι χρήσιμη η φασματοσκοπία υπέρυθρων, το δείγμα πρέπει να περιέχει δεσμούς που απορροφούν το υπέρυθρο φως.
2. Διαφανές ή ημιδιαφανές δείγμα: Η φασματοσκοπία IR περιλαμβάνει τη μέτρηση της απορρόφησης του υπέρυθρου φωτός από ένα δείγμα. Για να είναι ακριβής η μέτρηση, το δείγμα πρέπει να είναι διαφανές ή ημιδιαφανές, ώστε το υπέρυθρο φως να περνά μέσα από αυτό.
3. Ένα σταθερό δείγμα: Η φασματοσκοπία υπέρυθρων περιλαμβάνει τη μέτρηση της απορρόφησης του υπέρυθρου φωτός από ένα δείγμα για μια ορισμένη χρονική περίοδο. Για να είναι ακριβής η μέτρηση, το δείγμα πρέπει να είναι σταθερό και να μην υφίσταται αλλαγές κατά τη διάρκεια της μέτρησης.

4. Αντιπροσωπευτικό δείγμα: Για να είναι χρήσιμη η φασματοσκοπία IR, το δείγμα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό του υλικού που αναλύεται. Αυτό σημαίνει ότι το δείγμα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό της μέσης μοριακής δομής του υλικού και δεν πρέπει να έχει μολυνθεί με άλλα υλικά.

5. Κατάλληλος διαλύτης: Σε πολλές περιπτώσεις, είναι απαραίτητο να διαλυθεί το δείγμα σε διαλύτη προκειμένου να προετοιμαστεί για φασματοσκοπία IR. Η επιλογή του διαλύτη μπορεί να επηρεάσει το φάσμα απορρόφησης του δείγματος και είναι σημαντικό να επιλέξετε έναν διαλύτη που δεν παρεμβαίνει στη μέτρηση της απορρόφησης του δείγματος.

6. Κατάλληλα όργανα: Η φασματοσκοπία υπέρυθρων απαιτεί εξειδικευμένα όργανα, όπως ένα φασματόμετρο υπέρυθρου, για τη μέτρηση της απορρόφησης του υπέρυθρου φωτός από το δείγμα. Η ευαισθησία και η ανάλυση των οργάνων μπορεί να επηρεάσει την ακρίβεια και την ακρίβεια της μέτρησης.





# Πειραματικό Μέρος

## Κεφάλαιο 3 : Υλικά και Μέθοδοι

### 3.1 Δείγματα

Στην παρούσα μελέτη, για το πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν δεκατρία (10) δείγματα ζυμωμένων προϊόντων, εκ των οποίων τα έξι (6) ήταν μύρα και τα τέσσερα (4) ήταν ποτά από ζύμωση, συγκεκριμένα κομπούχα. Όλα τα δείγματα ήταν του εμπορίου. Αφού ανοίχτηκαν δεν αφαιρέθηκε το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>). Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται τα δείγματα με τα χαρακτηριστικά τους.

*Πίνακα 3.1.1: Δείγματα και χαρακτηριστικά τους*

| Sample ID  | Sample Type | Location | % vol alc. | Sample Name               | Sample Style           | Color                | Hops                             | Water           |
|------------|-------------|----------|------------|---------------------------|------------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------|
| BudLager   | Beer        | CZ       | 5          | Budweiser Budvar          | Pilsner-Bohemian/Czech | Bright golden yellow | Saaz                             | Artesian        |
| HofbrLager | Beer        | DE       | 5,1        | Hofbräu Original          | Lager                  | Golden yellow        | Herkules,Perle,Magnum,Select     | Artesian        |
| Purq       | Beer        | CZ       | 4,4        | Pilsnerurquell            | Pilsner Bohemian/Czech | Gold                 | Saaz                             | Soft            |
| Tuch       | Beer        | DE       | 5,2        | Tucher helles hefe weizen | Hefeweizen/Wheat       | Hazy yellow          |                                  | Soft            |
| Weiz       | Beer        | CZ       | 4,8        | Primator Weizen           | Hefeweizen/Wheat       | Yellow               | Žatecký poloraný červeňák,Sládek | Soft            |
| FullLp     | Beer        | UK       | 5,4        | Fuller's London Porter    | Porter                 | Dark brown           | Fuggles                          | Hard            |
| Komburhu   | Kombucha    | LV       | 0,8        | Rudy's Kombucha           | Kombucha with rhubarb  | Pink                 |                                  | Filtered spring |
| Kombupin   | Kombucha    | LV       | 0,8        | Rudy's kombuch            | Kombucha with          | Orange               |                                  | Filtered        |

|              |              |    |     |                        |                                    |                      |  |                        |
|--------------|--------------|----|-----|------------------------|------------------------------------|----------------------|--|------------------------|
|              |              |    |     | a                      | pineapple&p<br>each                |                      |  | spring                 |
| Kombu<br>hop | Kombu<br>cha | LV | 0,8 | Rudy's<br>Kombuc<br>ha | Kombucha<br>with hops              | Bright<br>yello<br>w |  | Filter<br>ed<br>spring |
| Kombu<br>cof | Kombu<br>cha | LV | 0,8 | Rudy's<br>Kombuc<br>ha | Kombucha<br>with coffee            | Ambe<br>r            |  | Filter<br>ed<br>spring |
| Rpass        | Cider        | SE | 4,5 | Rekorder<br>ling       | Cider with<br>passionfruit         | Colorl<br>ess        |  | Pure<br>spring         |
| Rstr         | Cider        | SE | 4,5 | Rekorder<br>ling       | Cider with<br>strawberry &<br>lime | Light<br>amber       |  | Pure<br>spring         |
| Rrasb        | Cider        | SE | 4,5 | Rekorder<br>ling       | Cider with<br>mango &<br>raspberry | Mediu<br>m<br>amber  |  | Pure<br>spring         |

### 3.2 Μεθοδολογία

Οι μετρήσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν μέσω του φασματοφωτομέτρου IRAffinity-1s της εταιρείας Shimadzu στο τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Στο φασματοφωτόμετρο IRAffinity-1s, το συμβολόμετρο βελτιστοποιείται από ένα δυναμικό μηχανισμό ευθυγράμμισης και ο αυτόματος αφυγραντήρας του, βοηθά στη διασφάλιση συντήρησής του. Το φασματοφωτόμετρο συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή στον οποίο είναι εγκατεστημένο το λογισμικό πρόγραμμα LabSolutions IR.

Πριν ξεκινήσουν οι μετρήσεις χρειάζεται να γίνουν οι κατάλληλες ρυθμίσεις. Αυτές αφορούν τα δεδομένα (Data) και είναι οι εξής :

Λειτουργία μέτρησης : %Απορρόφησης

Apodization [ορίζεται ως η σταδιακή μείωση των περιθλατικών βημάτων από το κέντρο του φακού προς το εξωτερικό άκρο για να δημιουργηθεί μια ομαλή μετάβαση του φωτός μεταξύ της απόστασης, των ενδιάμεσων και των κοντινών εστιακών σημείων ( Ortiz et al,2008)] : Happ-Genzel

Αριθμός Σαρώσεων : 45

Διαχωριστική ικανότητα :  $4\text{ cm}^{-1}$

Εύρος κυματαριθμών :  $\text{min } 400\text{cm}^{-1}$

$\text{max } 4000\text{cm}^{-1}$

Η πρώτη λήψη φάσματος που καταγράφηκε, ήταν του τυφλού δείγματος

(background), δηλαδή ο υποδοχέας του φασματοφωτομέτρου ήταν κενός και με αυτόν τον τρόπο, αφαιρέσαμε τα παρεμβάλλοντα στοιχεία του χώρου, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Στη συνέχεια, ξεκινούν οι μετρήσεις των δειγμάτων. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τρεις (3) επαναλήψεις. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον υποδοχέα με τη βοήθεια μικροπιπέτας. Μεταξύ των μετρήσεων κάθε διαφορετικού δείγματος, έγινε καθαρισμός του υποδοχέα με χαρτί και επαναλήφθηκε η λήψη του αρχικού φάσματος (background). Έπειτα, έγινε η απεικόνιση και η επεξεργασία των ληφθέντων φασμάτων μέσω του προγράμματος OMNIC 9. Μέσω του προγράμματος, δημιουργήθηκαν τα “average” φάσματα, δηλαδή από το μέσο όρο των επαναλήψεων των φασμάτων και τα “variance” φάσματα, δηλαδή φάσματα διακύμανσης όπου γίνεται η σύγκριση μεταξύ διαφορετικών φασμάτων.



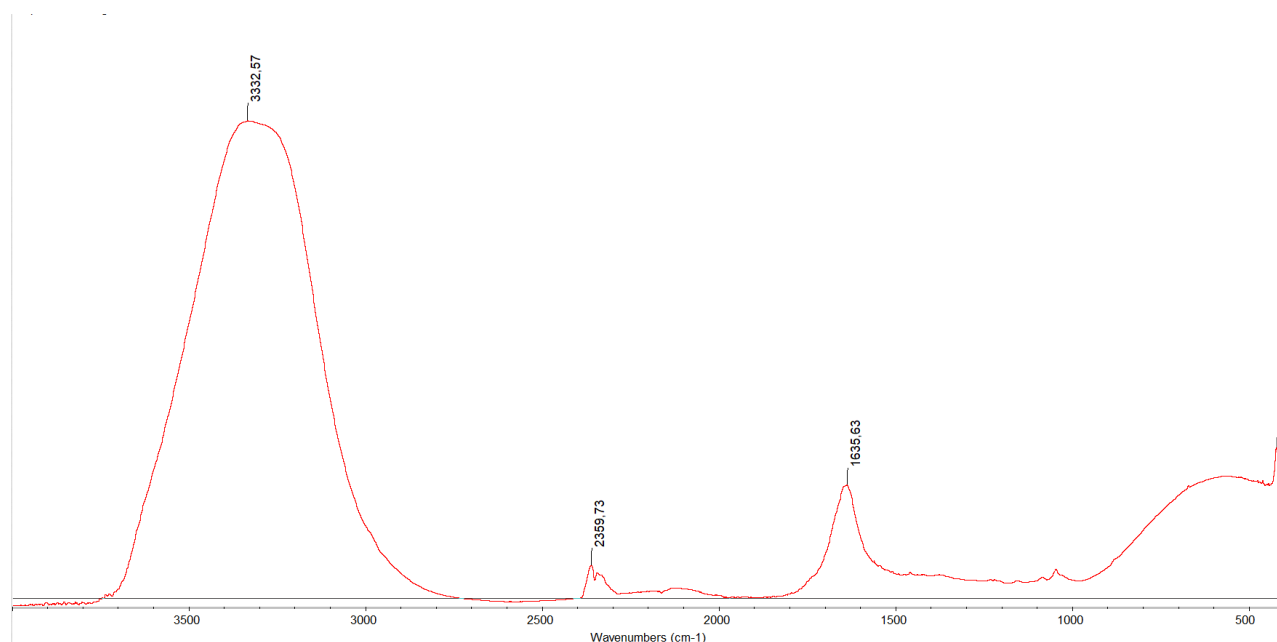
Εικόνα 3.2.1 : Μηχάνημα IRAffinity-1S, FTIR

## Κεφάλαιο 4 : Αποτελέσματα FTIR

### 4.1 Απεικόνιση φασμάτων FTIR

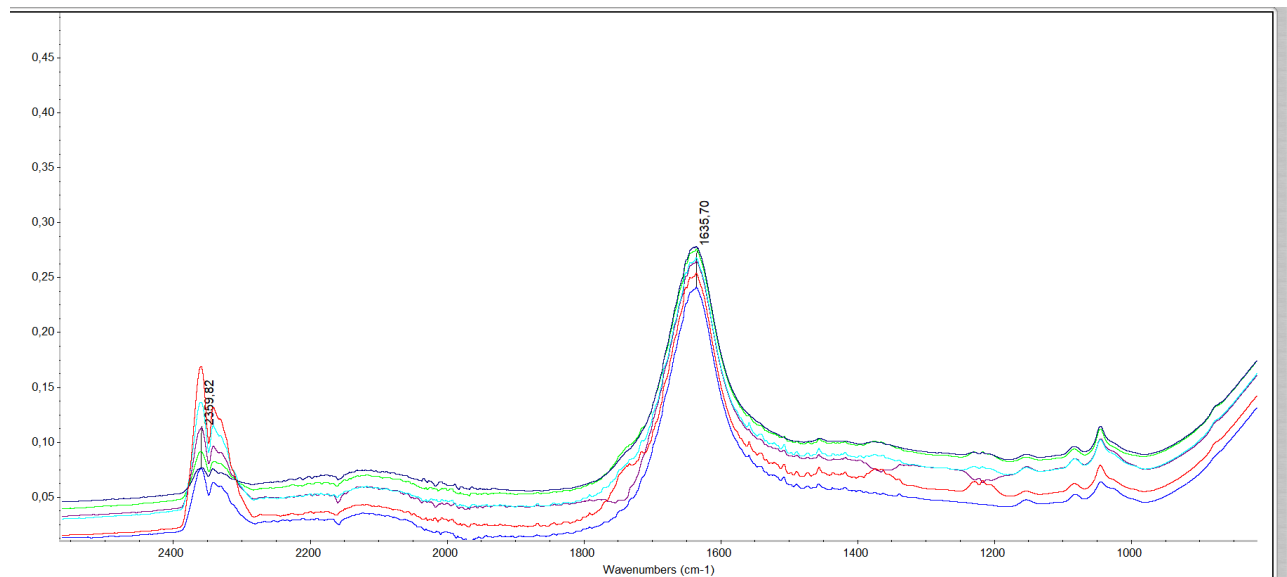
#### 4.1.1 Απεικόνιση φασμάτων Μπύρας

Μέσω του προγράμματος OMNIC , όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, δημιουργήθηκε ένα μέσο φάσμα (average) , δηλαδή ένα καινούργιο φάσμα που παρουσιάζει το μέσο όρο των φασμάτων με κοινά χαρακτηριστικά. Ακολούθως παρουσιάζονται τα average φάσματα των δειγμάτων μπύρας και κομπούχα.



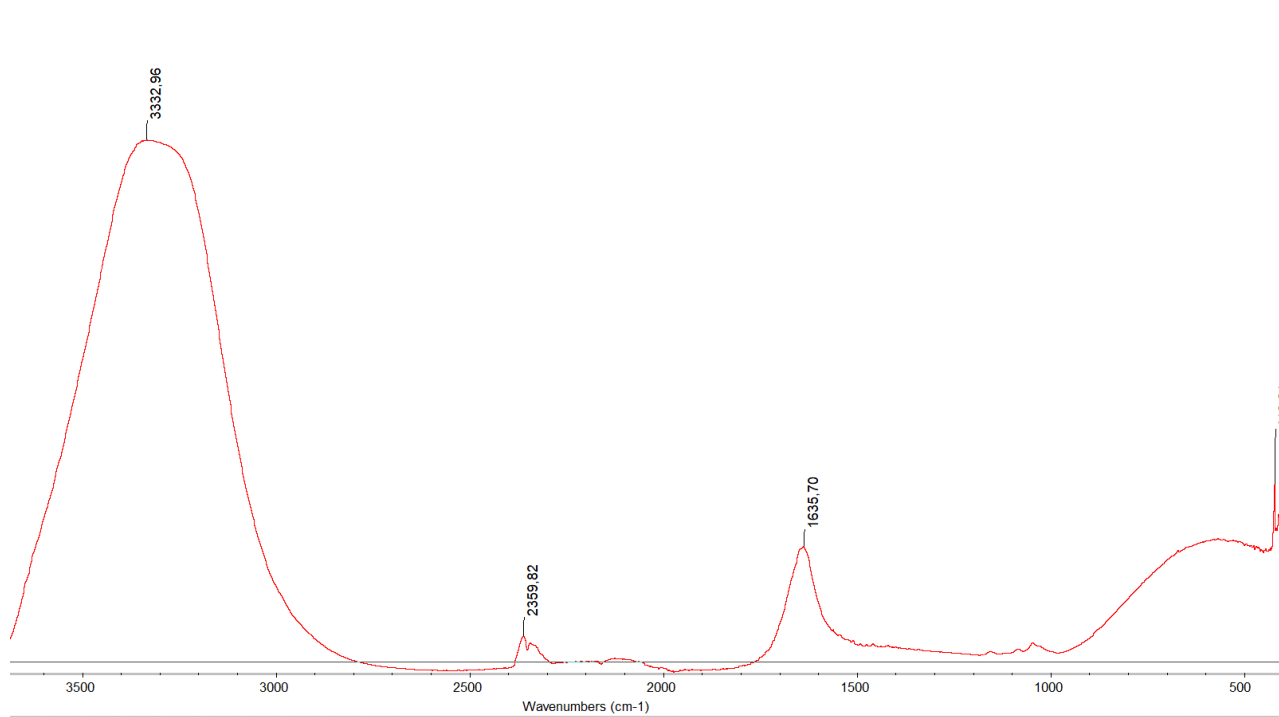
Εικόνα 4.1.1 Απεικόνιση μέσου φάσματος μπύρας

Σύμφωνα με την παραπάνω εικόνα, στο μέσο φάσμα δε διακρίνονται αρκετές κορυφές. Ωστόσο παρουσιάζονται ορισμένες φασματικές περιοχές όπως το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) όπου βρίσκεται στη φασματική περιοχή 2400-1800cm<sup>-1</sup> όμως δε θεωρείται για περαιτέρω αναλύσεις ή ερμηνεία φασμάτων (Russell Gordon<sup>1</sup> & James Chapman<sup>1</sup> & Aoife Power<sup>1</sup> & Shaneel Chandra<sup>1</sup> & Jessica Roberts<sup>1</sup> & Daniel Cozzolino ). Απορροφήσεις παρατηρήθηκαν στα 3332,57 και 1635,63, οι οποίες αντιστοιχούν στην τάση και την κάμψη του δεσμού O-H, αντίστοιχα, λόγω των μορίων του νερού. ( Cozzolino, D.; Holdstock, M.; Damberg, R.G.; Cynkar, W.U.; Smith, P.A. Mid infrared spectroscopy and multivariate analysis: A tool to discriminate between organic and non-organic wines grown in Australia. Food Chem. 2009) Μέσω της απεικόνισης των φασμάτων, δεν καταφέραμε να ταυτοποιήσουμε μεμονωμένες κορυφές . Λόγω αυτού μέσω του προγράμματος OMNIC 9 καταφέραμε να απεικονίσουμε το μέσο φάσμα για κάθε δείγμα μπύρας. Αυτά τα φάσματα διακρίνονται παρακάτω.



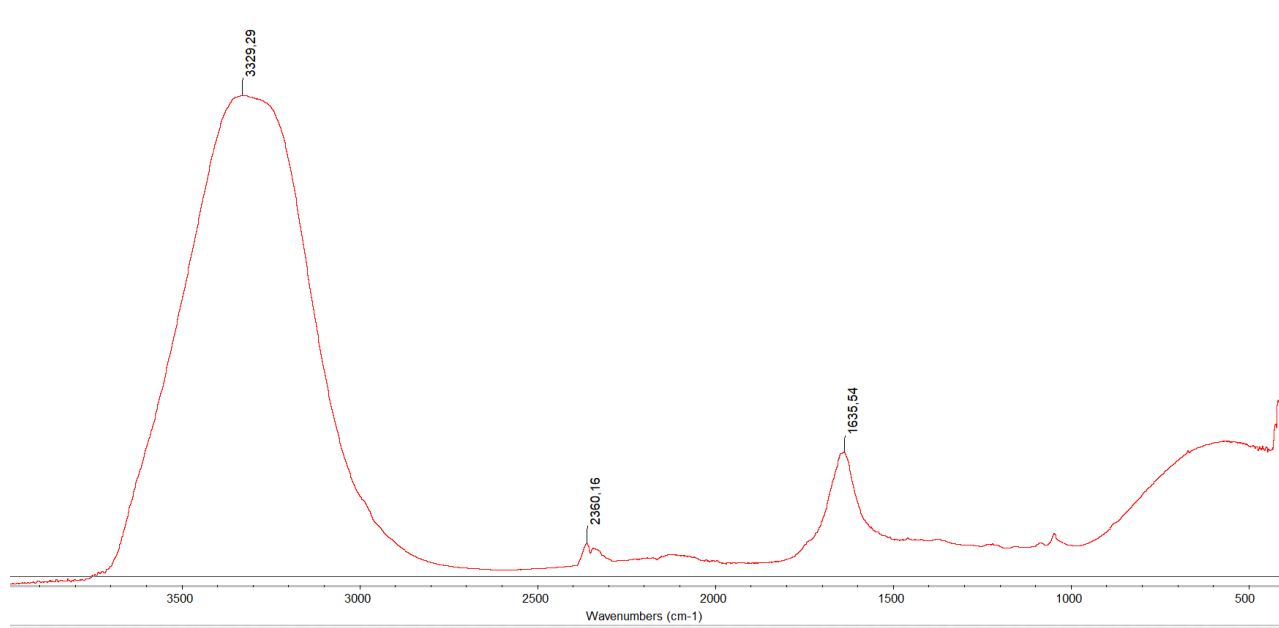
Εικόνα 4.1.2 Μεγέθυνση μέσου φάσματος μύρας στο δακτυλικό αποτύπωμα

Σε αυτό το εύρος 1900-1000cm<sup>-1</sup> διακρίνουμε ενώσεις με δεσμούς C-O, C-C, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, C-C-H, C-OH, C-H, C N, σάκχαρα, οργανικά οξέα, μεθανόλη. Στα 1100-1000 cm<sup>-1</sup> διακρίνουμε απορροφήσεις από εστέρες, σάκχαρα, αρωματικές ουσίες και αιθανόλη λόγω δεσμών C-O και C-C. Οι περιοχές απορρόφησης 1776-1500cm<sup>-1</sup> προκύπτουν από την απορρόφηση της δόνησης της τάσης του νερού και οι περιοχές απορρόφησης 1725-1745cm<sup>-1</sup> συμβάλλουν στη δόνηση της τάσης του δεσμού C-O των εστέρων και των λιπαρών οξέων. Η φασματική περιοχή 1050-700cm<sup>-1</sup> υποδεικνύει τη δόνηση της τάσης των δεσμών C-O-C των νουκλεϊκών οξέων και των φωσφολιπιδίων. Μεταξύ του 1800 και 1600 cm<sup>-1</sup> και 1400 και 1000 cm<sup>-1</sup>, η πρώτη περιοχή μπορεί να συνδεθεί με πρωτεΐνες ενώ η δεύτερη μπορεί να συνδεθεί με υδατάνθρακες.



Εικόνα 4.1.3 Απεικόνιση μέσω φάσματος της μύρας BudLager

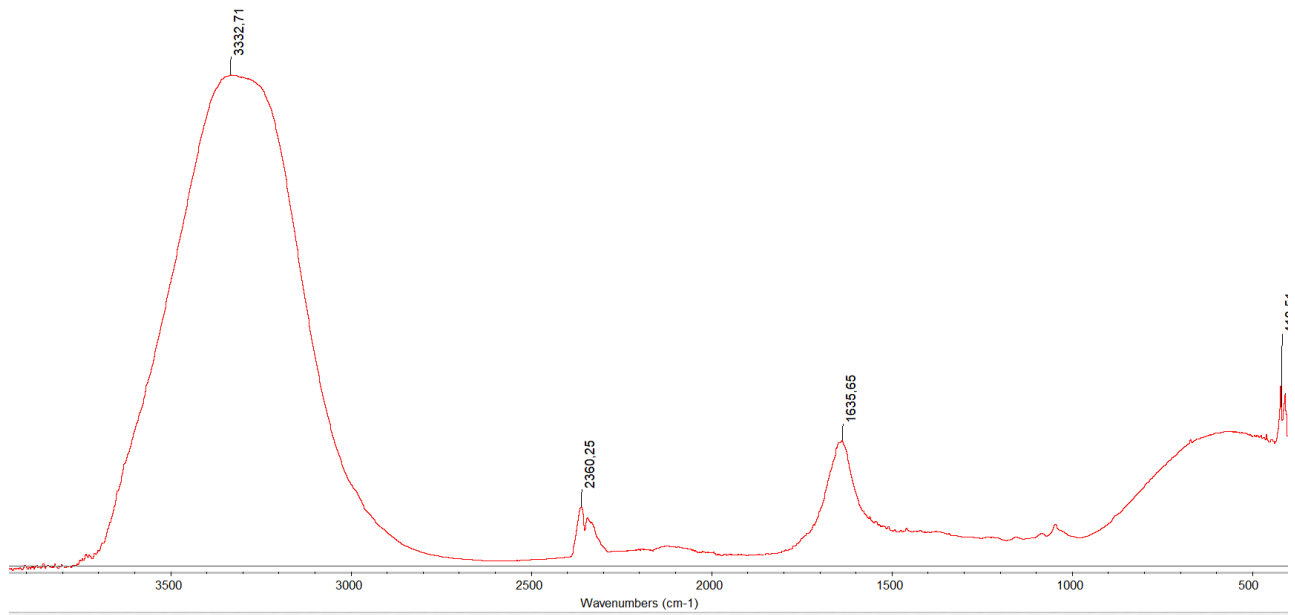
Στο δείγμα της μύρας Budweiser Budvar παρατηρούμε αρκετά μικρό αριθμό κορυφών



Εικόνα 4.1.4 Απεικόνιση μέσω φάσματος της μύρας HofbrLager

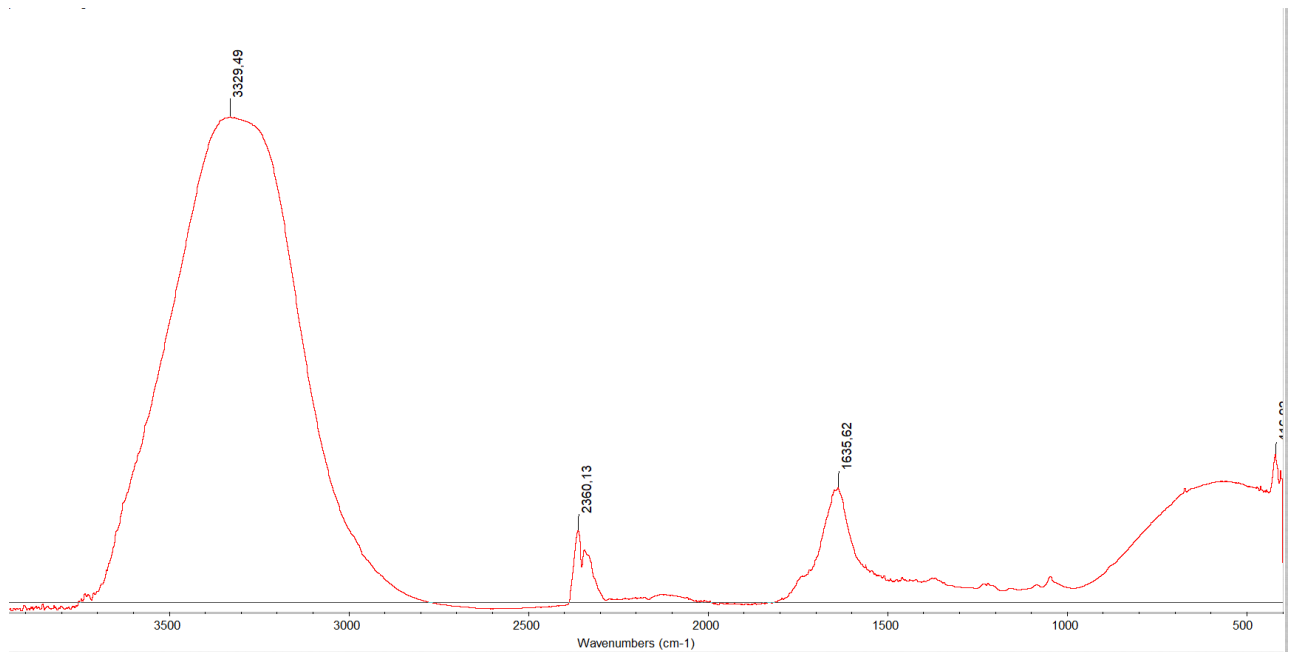
Στο δείγμα της μύρας Hofbräu Original παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών

pectra: Average



Εικόνα 4.1.5 Απεικόνιση μέσω φάσματος της μπίρας Pilsner Urquell

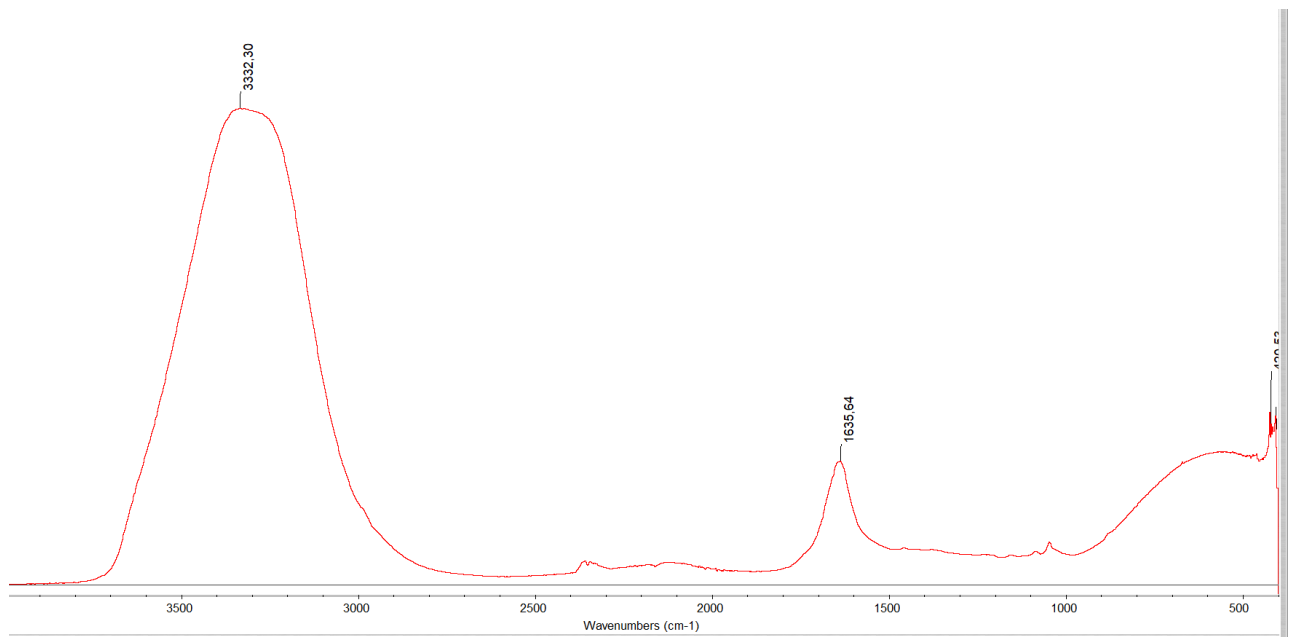
Στο δείγμα της μπίρας Pilsner Urquell παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.



Εικόνα 4.1.6 Απεικόνιση μέσω φάσματος της μπίρας Tucher

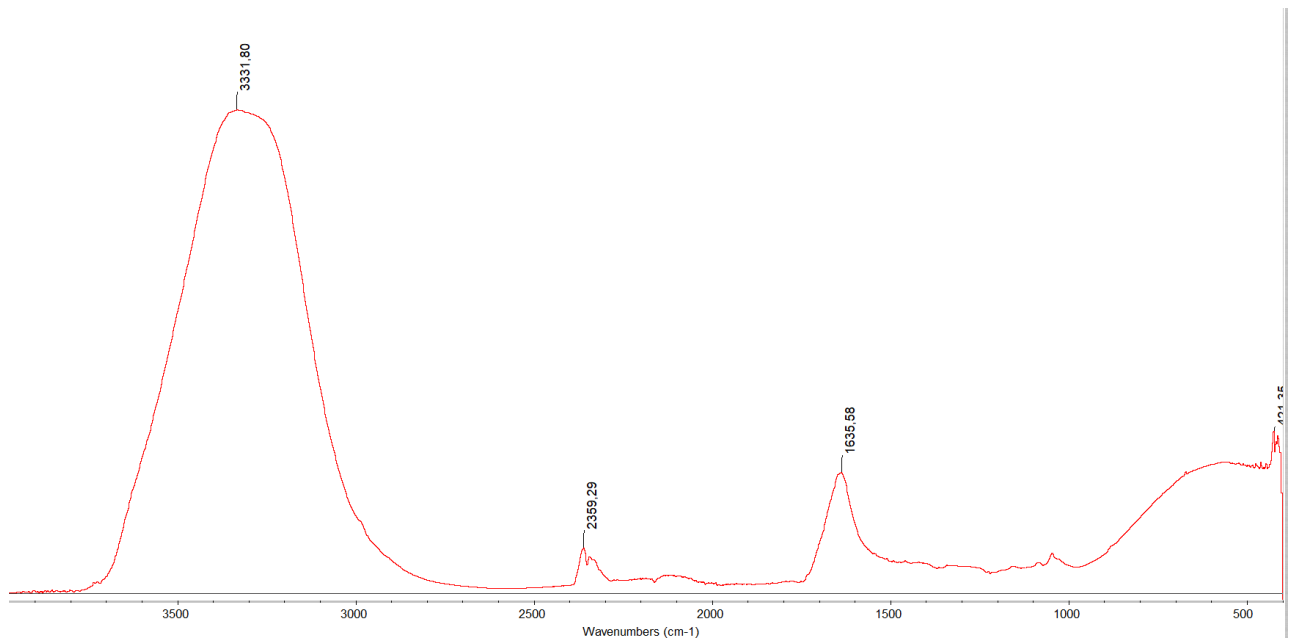
Στο δείγμα της μπίρας Tucher helles hefe weizen παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών





Εικόνα 4.1.7 Απεικόνιση μέσω φάσματος της μύρας Weiz

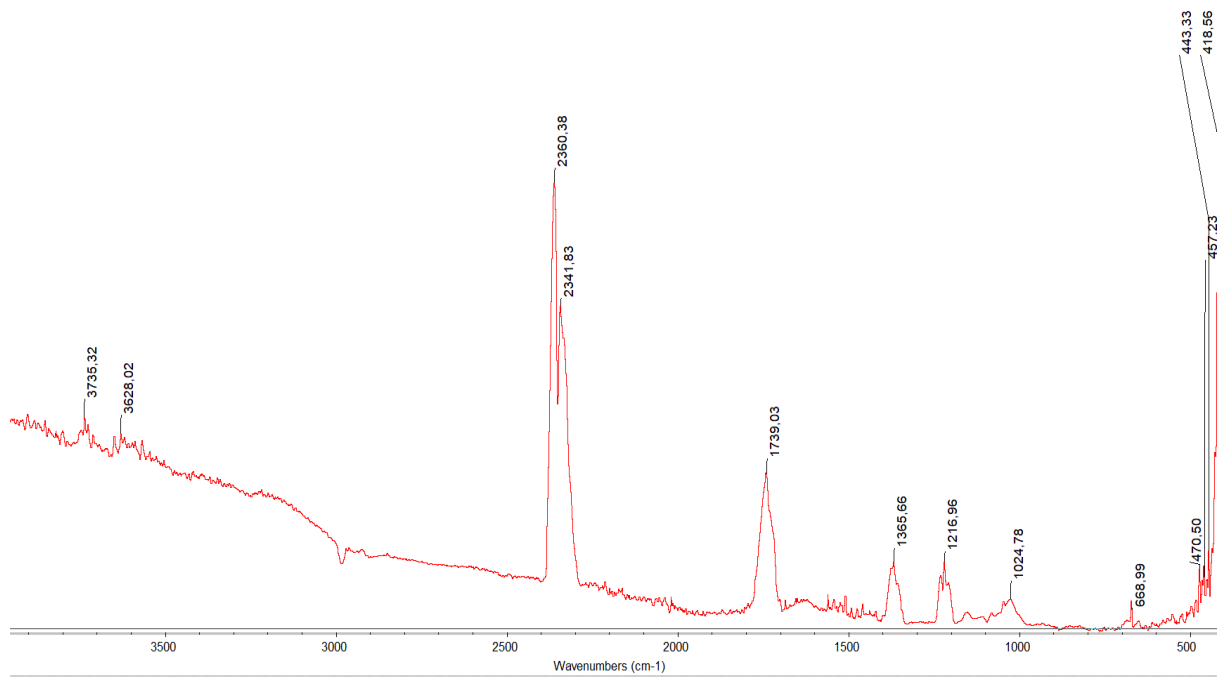
Στο δείγμα της μύρας Primator Weizen παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.



Εικόνα 4.1.8 Απεικόνιση μέσω φάσματος της μύρας Fullp

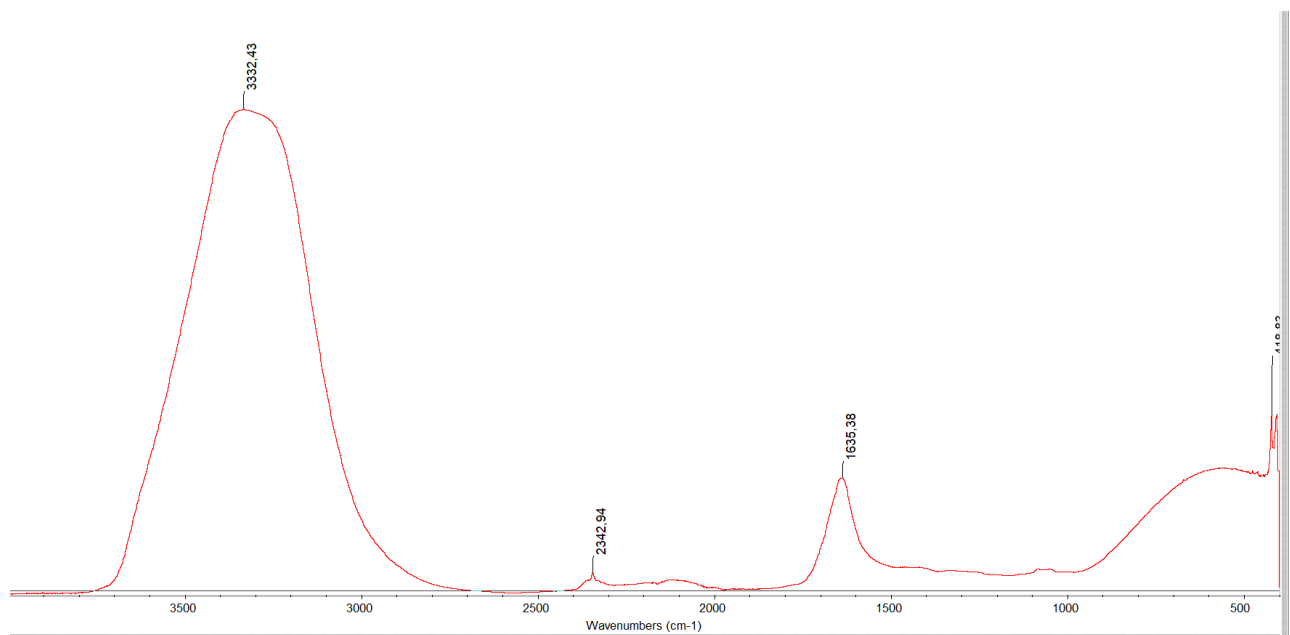
Στο δείγμα της μύρας Fuller's London Porter παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.

Λόγω του ότι δεν παρατηρούνται πολλές διαφορές στα παραπάνω φάσματα. Χρησιμοποιήθηκαν τα φάσματα διακύμανσης (variance). Με τον όρο διακύμανση περιγράφεται ένα φάσμα που προκύπτει από τη σύγκριση διαφορετικών φασμάτων. Ειδικότερα συγκρίνονται οι κορυφές των average φασμάτων όλων των δειγμάτων της μύρας και απεικονίζονται με σκοπό το διαχωρισμό τους.



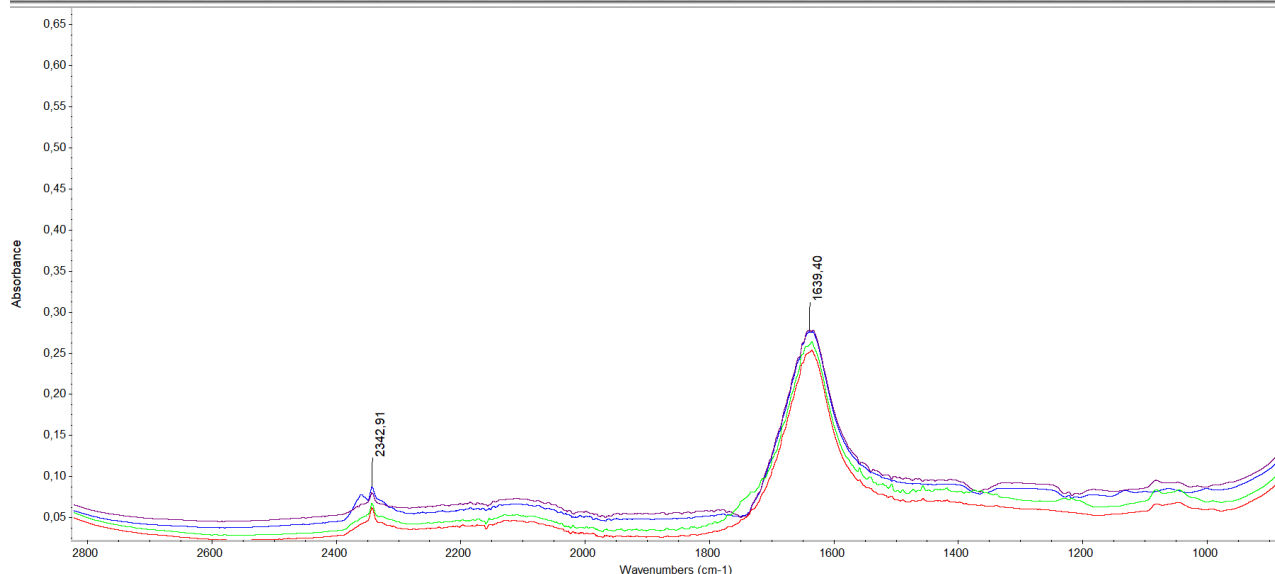
Εικόνα 4.1.9 Απεικόνιση φάσματος διακύμανσης των δειγμάτων μύρας

## 4.1.2 Απεικόνιση φασμάτων Κομπούχας



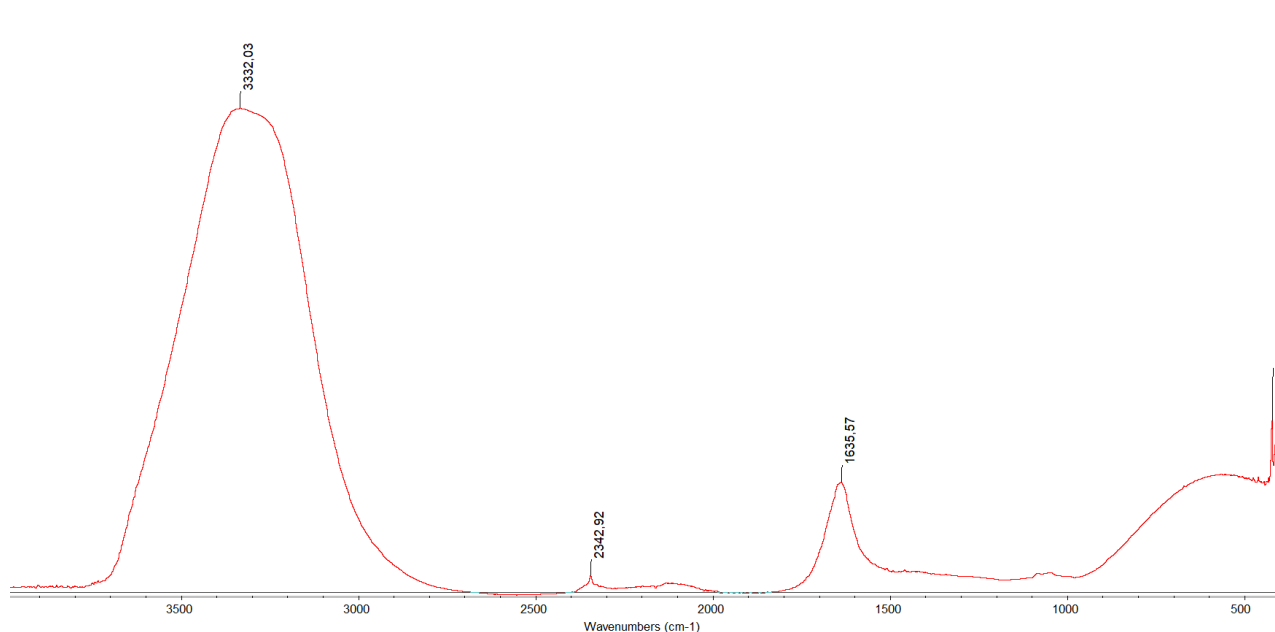
Εικόνα 4.1.2.1 Απεικόνιση μέσου φάσματος Κομπούχας

Σύμφωνα με το μέσο φάσμα Κομπούχας διακρίνεται ένας μικρός αριθμός κορυφών.



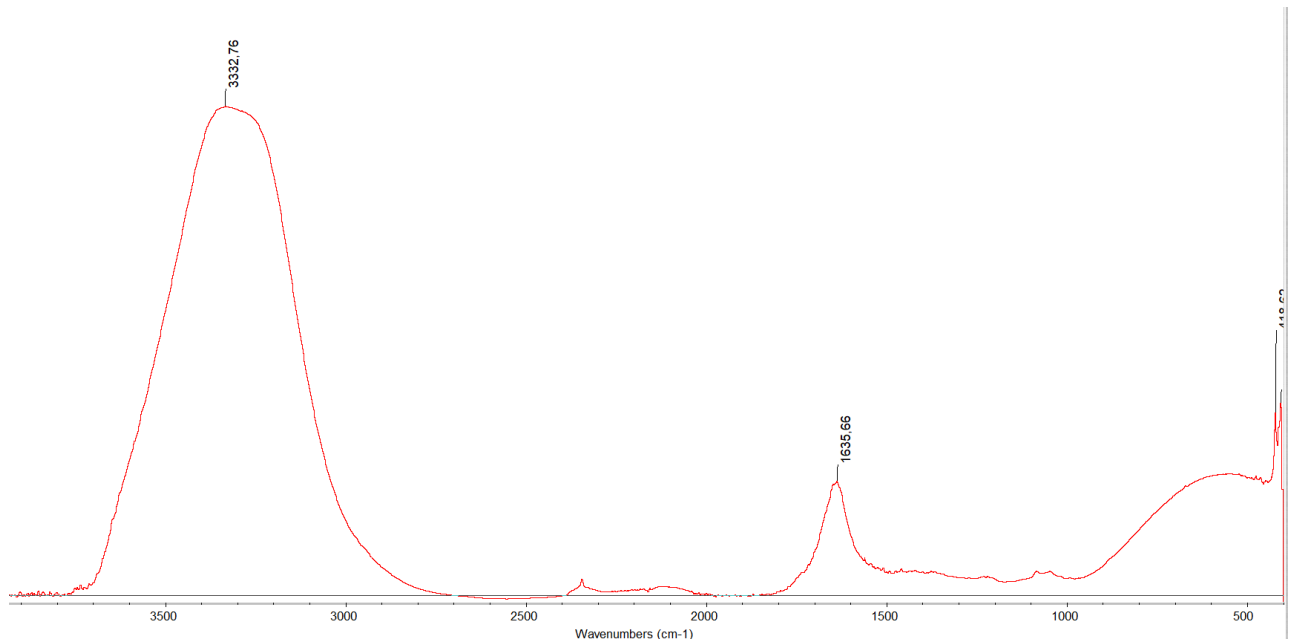
Εικόνα 4.1.2.2 Μεγέθυνση μέσω φάσματος δειγμάτων κομπούχας στο δακτυλικό αποτύπωμα

Μεταξύ του εύρους των ζωνών  $1800-1500\text{cm}^{-1}$  και  $1500-1200\text{cm}^{-1}$ , διακρίνουμε ότι η περιοχή αυτή αποδόθηκε στην τάση του δεσμού  $\text{C}=\text{O}$ , λόγω της παρουσίας οργανικών οξέων. Η περιοχή απορρόφησης μεταξύ  $1500-1290\text{cm}^{-1}$  συνδέεται με τους δεσμούς  $\text{C}-\text{H}_2$  και  $\text{C}-\text{H}_3$  των σακχάρων και των οργανικών οξέων. Στο εύρος των κορυφών  $1100-1000\text{cm}^{-1}$  αντιστοιχεί η ομάδα  $\text{C}-\text{O}$ , των ενώσεων των πρωτογενών και δευτερογενών ομάδων αλκοόλης και στην ομάδα αρωματικών εστέρων



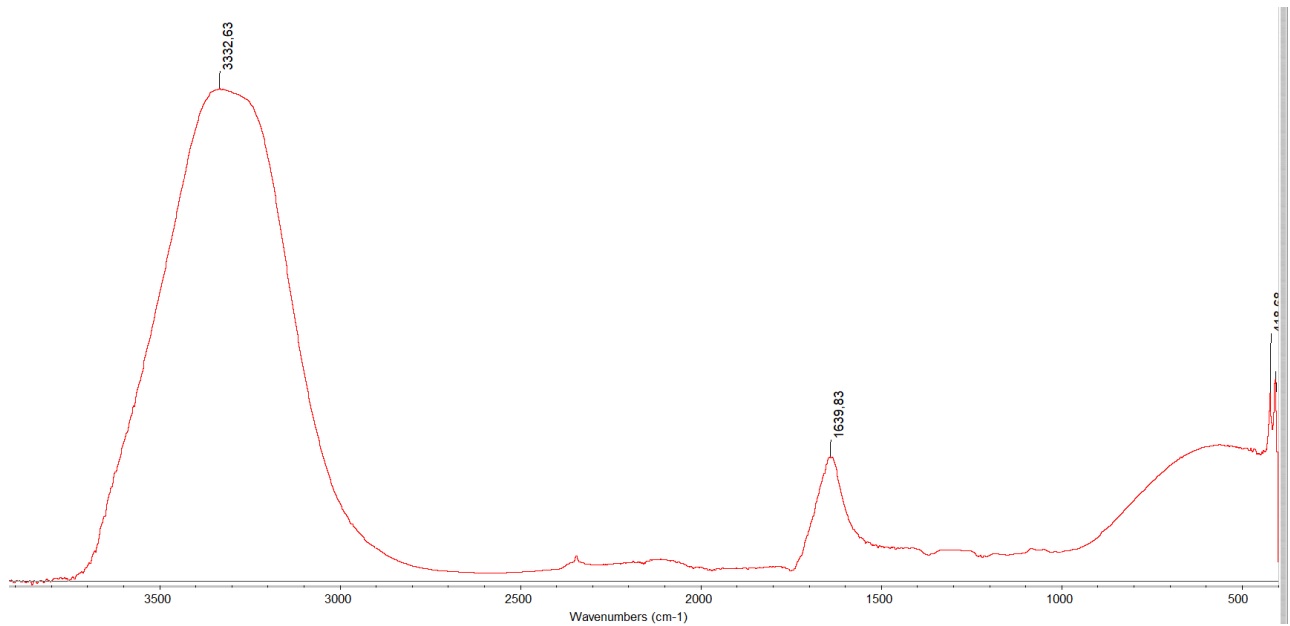
Εικόνα 4.1.2.3 Απεικόνιση μέσω φάσματος Komburhi

Στο δείγμα της κομπούχας *Kombuhi* παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.



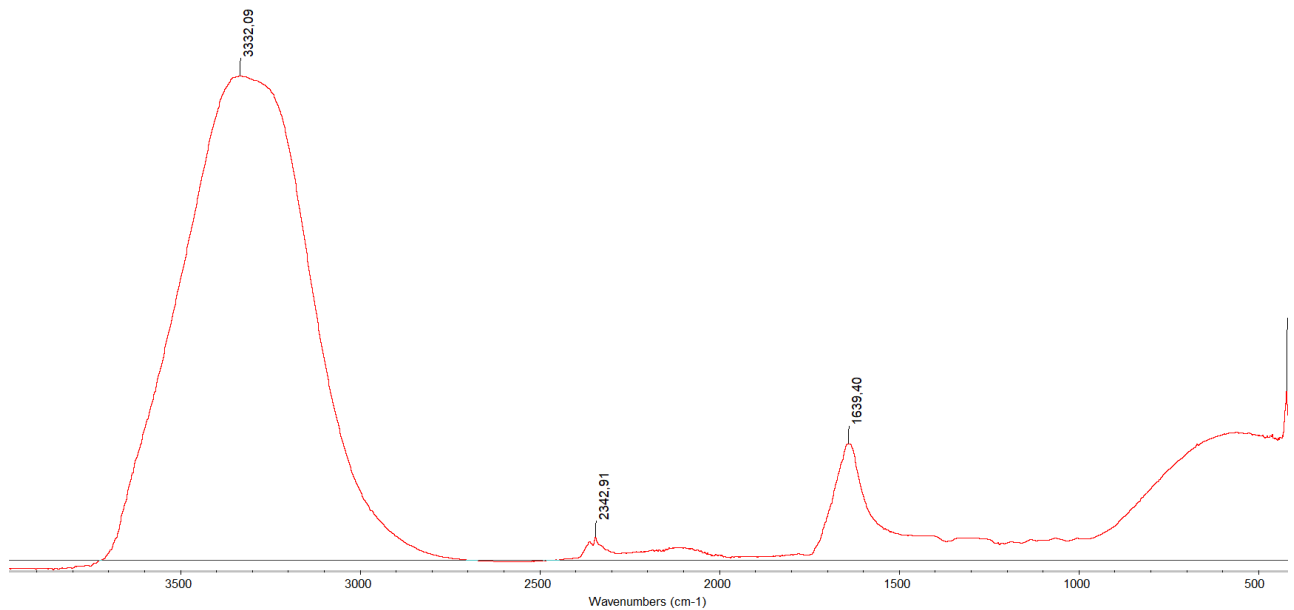
Εικόνα 4.1.2.4 Απεικόνιση μέσω φάσματος *Kombuiri*

Στο δείγμα της κομπούχας *Komburi* παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.



Εικόνα 4.1.2.5 Απεικόνιση μέσω φάσματος *Kombuhoi*

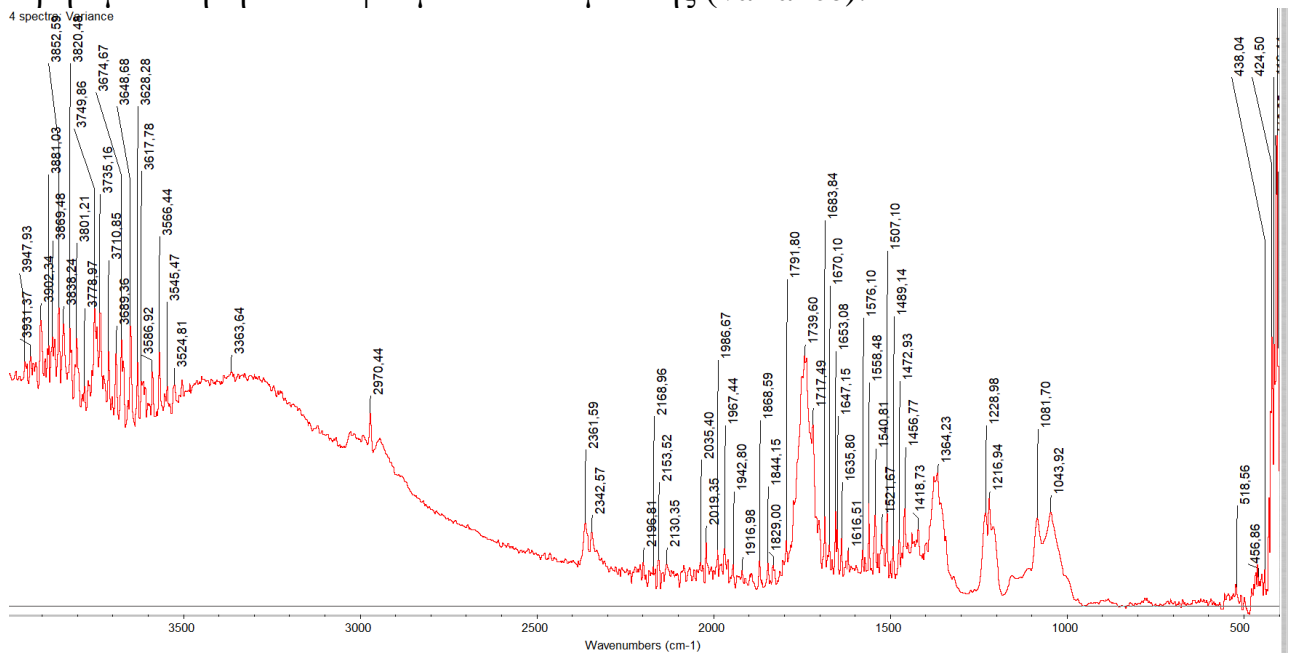
Στο δείγμα της κομπούχας *Kombuhoi* παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.



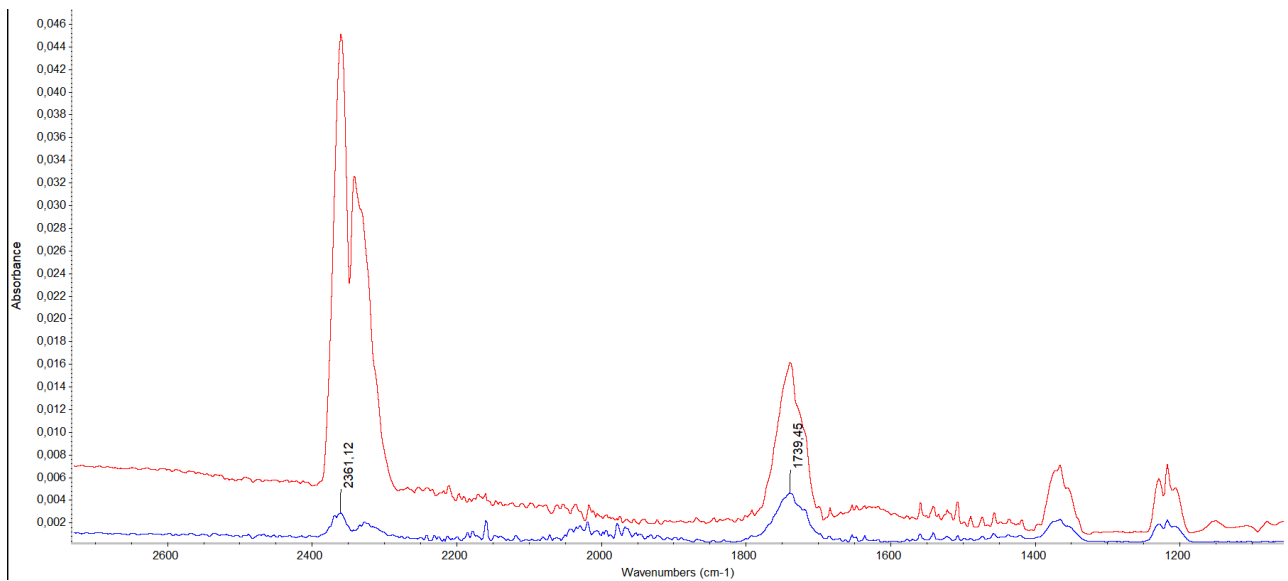
Εικόνα 4.1.2.6 Απεικόνιση μέσου φάσματος Kombucof

Στο δείγμα της κομπούχας Kombucof παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.

Λόγω του ότι δεν παρατηρούνται πολλές διαφορές στα παραπάνω φάσματα. Χρησιμοποιήθηκαν τα φάσματα διακύμανσης (variance).



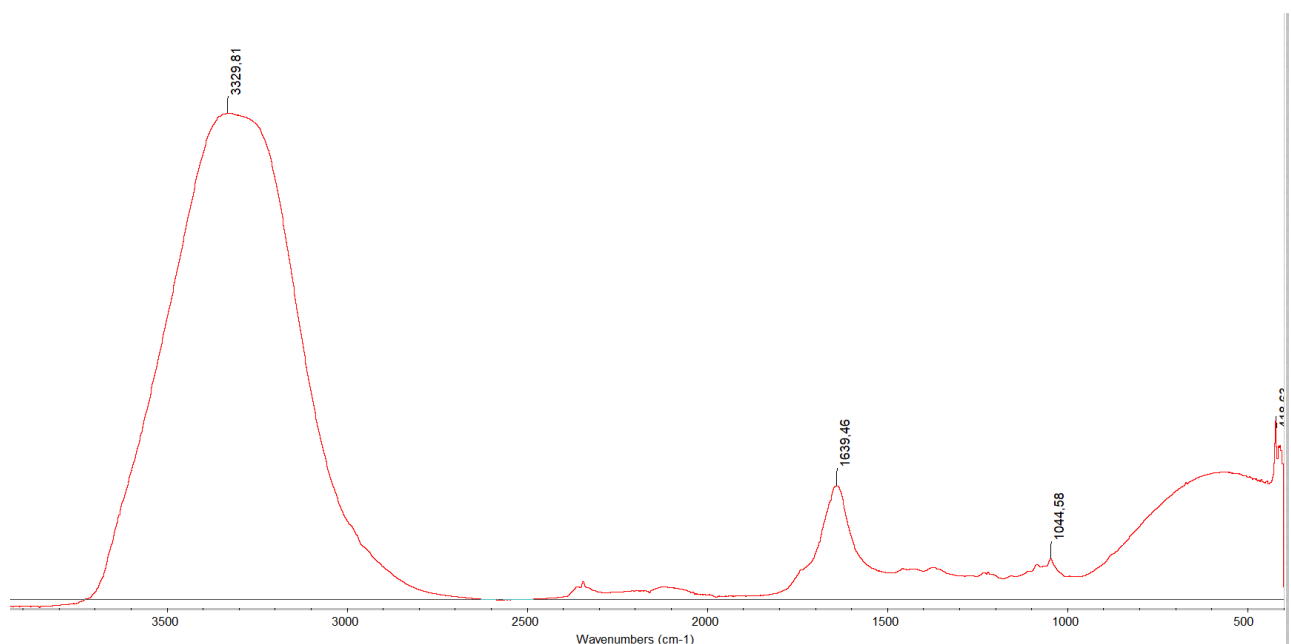
Εικόνα 4.1.2.7 Απεικόνιση φάσματος διακύμανσης των δειγμάτων κομπούχας.



Εικόνα 4.1.2.8 Φάσμα διακύμανσης μύρας(κόκκινο)-κομπούχα με λυκίσκο(μπλε)

Στο φάσμα αυτό επιλέξαμε να συγκρίνουμε τις κορυφές με βάση το λυκίσκο. Στις περιοχές MIR 4000-2782cm<sup>-1</sup>, 2780-1882cm<sup>-1</sup>, 1880-1492cm<sup>-1</sup> & 1492-874cm<sup>-1</sup>, υπάρχουν αναφορές για το λυκίσκο. Παρατηρούμε κορυφές, αρκετά μικρές για την κομπούχα με λυκίσκο. Ωστόσο, υπάρχουν στις κορυφές 2361,12 ,1739,45 και στο εύρος της περιοχής 1400-1200cm<sup>-1</sup>. Οι οποίες, τοποθετούνται στις περιοχές των συστατικών του λυκίσκου.

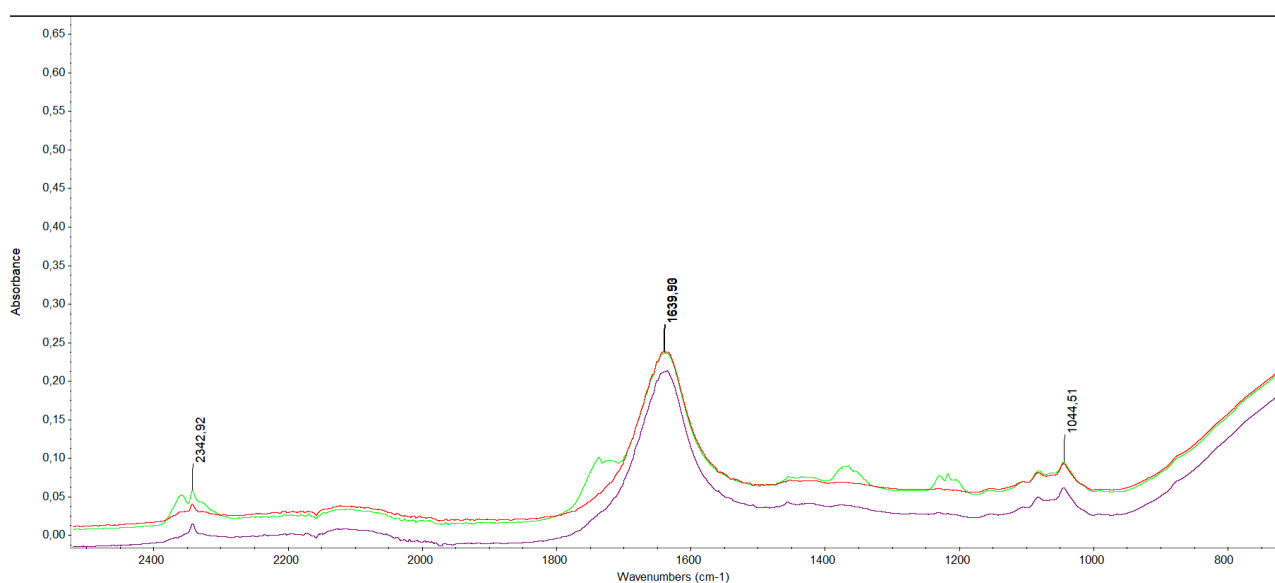
### 4.1.3 Απεικόνιση φασμάτων Μηλίτη



Εικόνα 4.1.3.1 Απεικόνιση μέσου φάσματος μηλίτη

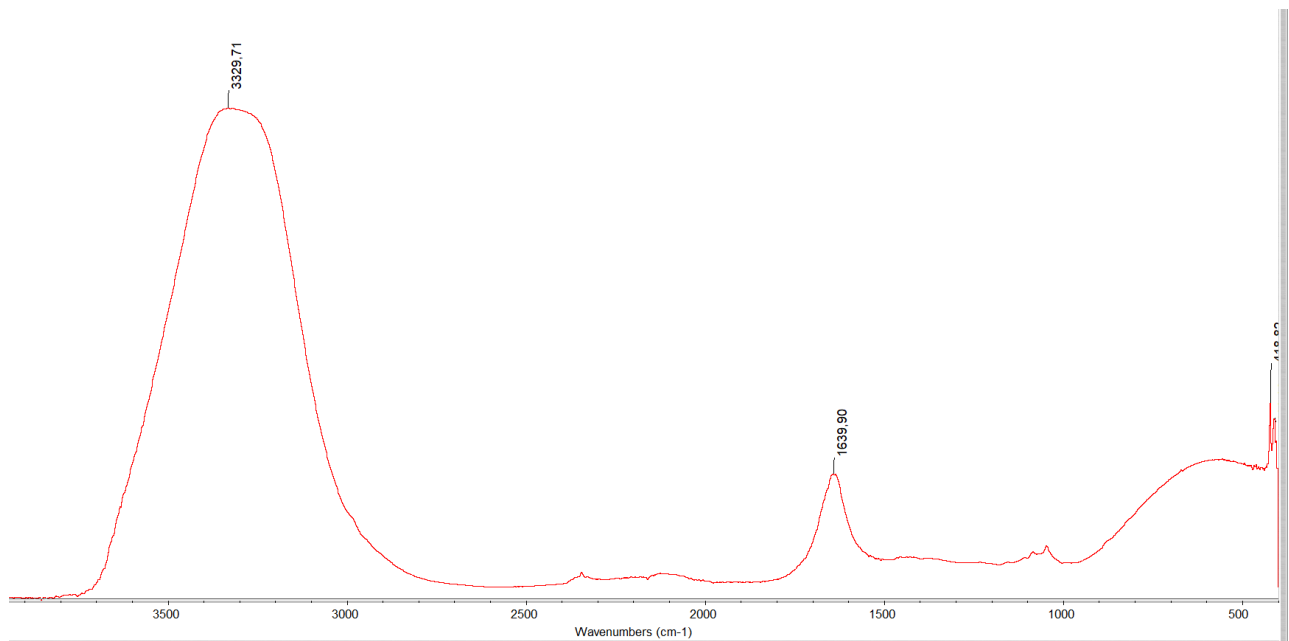
Σύμφωνα με το μέσο φάσμα Μηλίτη, διακρίνεται ένας μικρός αριθμός κορυφών. Αναλυτικά παρατηρούμε μια ισχυρή απορρόφηση στα 3329,81, ενώ μέτρια

απορρόφηση βρέθηκε στις κορυφές 1044,58 και 1639,46. Στις κορυφές 3329,81 και 1639,46 αντιστοιχούν η τάση και η κάμψη, αντίστοιχα, του δεσμού O-H, λόγω των μορίων του νερού. Ενώ η κορυφή 1044,58 είναι πιθανό να αποδοθεί στο δεσμό C-OH που παρουσιάζεται στην αιθανόλη, γλυκερόλη, γλυκόζη και φρουκτόζη. (Cozzolino, D.; Holdstock, M.; Damberg, R.G.; Cynkar, W.U.; Smith, P.A. Mid infrared spectroscopy and multivariate analysis: A tool to discriminate between organic and non-organic wines grown in Australia. Food Chem. 2009, Cozzolino, D.; Cynkar, W.; Shah, N.; Smith, P. Feasibility study on the use of attenuated total reflectance mid-infrared for analysis of compositional parameters in wine. Food Res. Int. 2011, 44, 181–186).



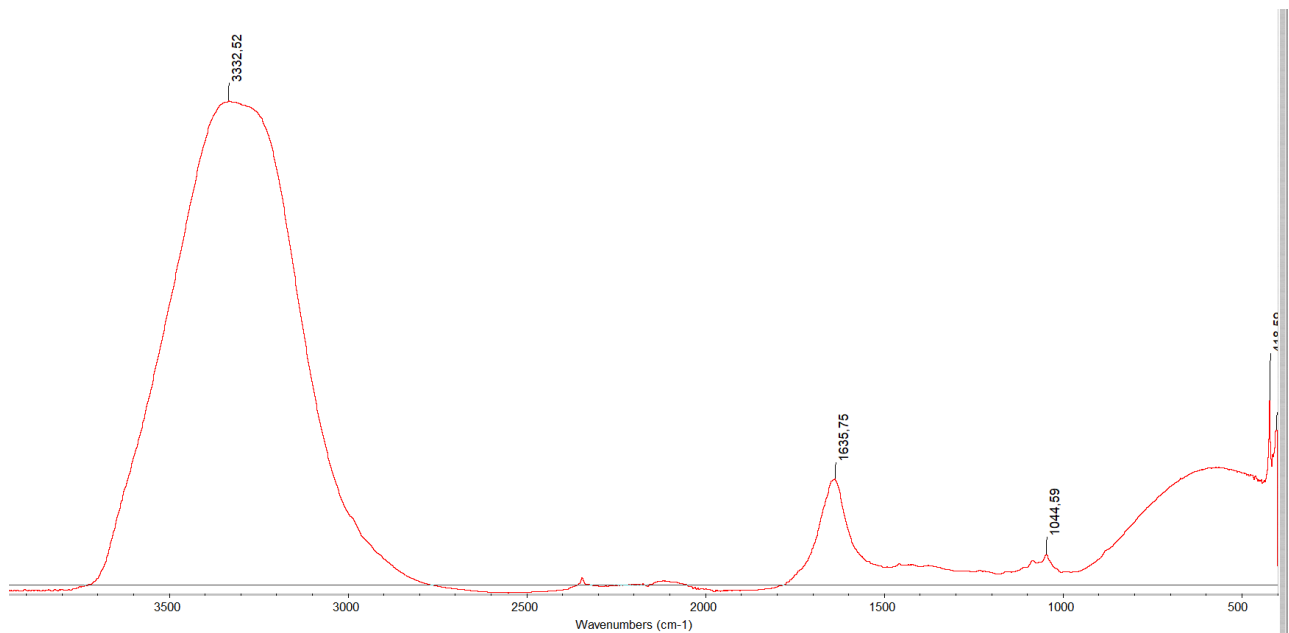
Εικόνα 4.1.3.2 Μεγέθυνση μέσω φάσματος δειγμάτων μηλίτη (Rstr, τιρκουάζ/Rrasb, red/Rpass, purple) στο δακτυλικό αποτύπωμα

Η μέγιστη διαπερατότητα για το νερό εμφανίζεται περίπου στα 1600 cm<sup>-1</sup>. Η φασματική ζώνη που βρίσκεται στα 1750–1690 cm<sup>-1</sup> απορροφά τη χαρακτηριστική ομάδα (C=O) των εστέρων. Στην περιοχή 1735–1681 cm<sup>-1</sup> οι κορυφές αποδίδονται στην τάση της δόνησης των δεσμών C=O των αλδεϋδών και κετονών. Το εύρος των περιοχών από 1700 -1500 cm<sup>-1</sup> αντιστοιχεί στην περιοχή των δονήσεων τάσης των δεσμών C=O των οξέων. Η περιοχή από 1500 -1200 μπορεί επίσης να αντιστοιχεί στην απορρόφηση των δονήσεων της τάσης των δεσμών C-O και των δονήσεων της κάμψης των δεσμών C-O-H των φαινολών, των καρβοξυλικών οξέων και των υδατανθράκων. Παρατηρούμε στο λαχανί δείγμα, που περιέχει το μήλο, τη φράουλα και το λάιμ υπάρχουν διαφοροποιήσεις στο φάσμα, στην περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος



Εικόνα 4.1.3.3 Απεικόνιση μέσου φάσματος δείγματος Rrass

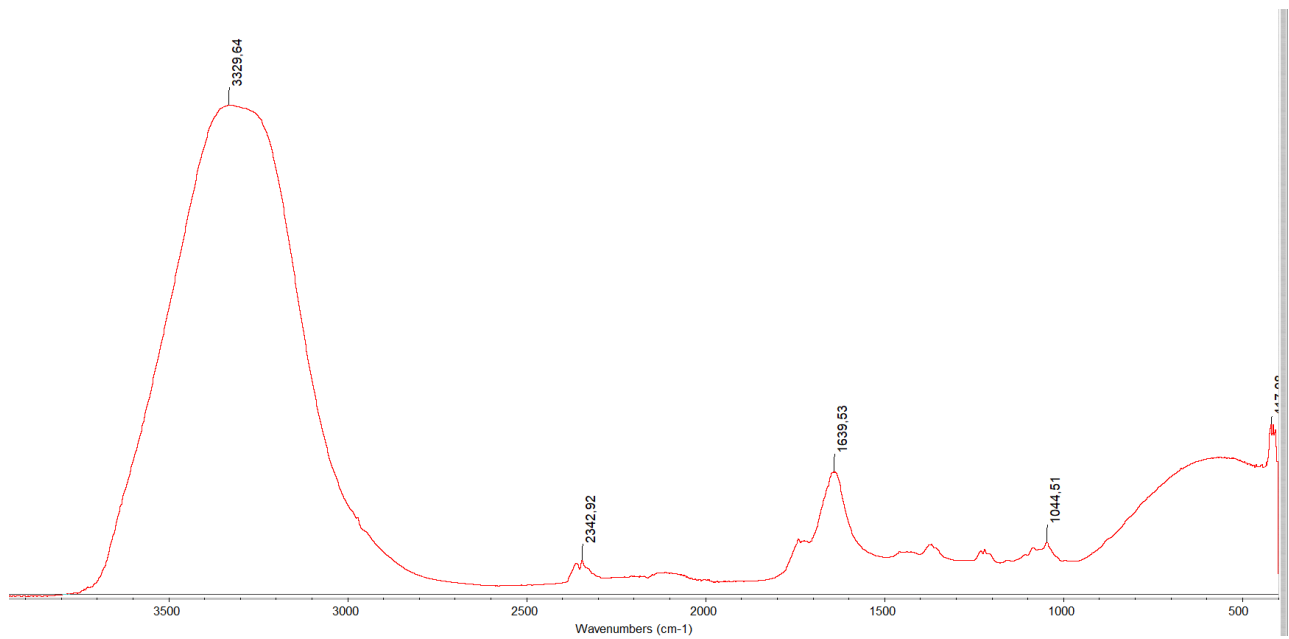
Στο δείγμα του μηλίτη Rrass παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών



Εικόνα 4.1.3.4 Απεικόνιση μέσου φάσματος δείγματος Rrasb

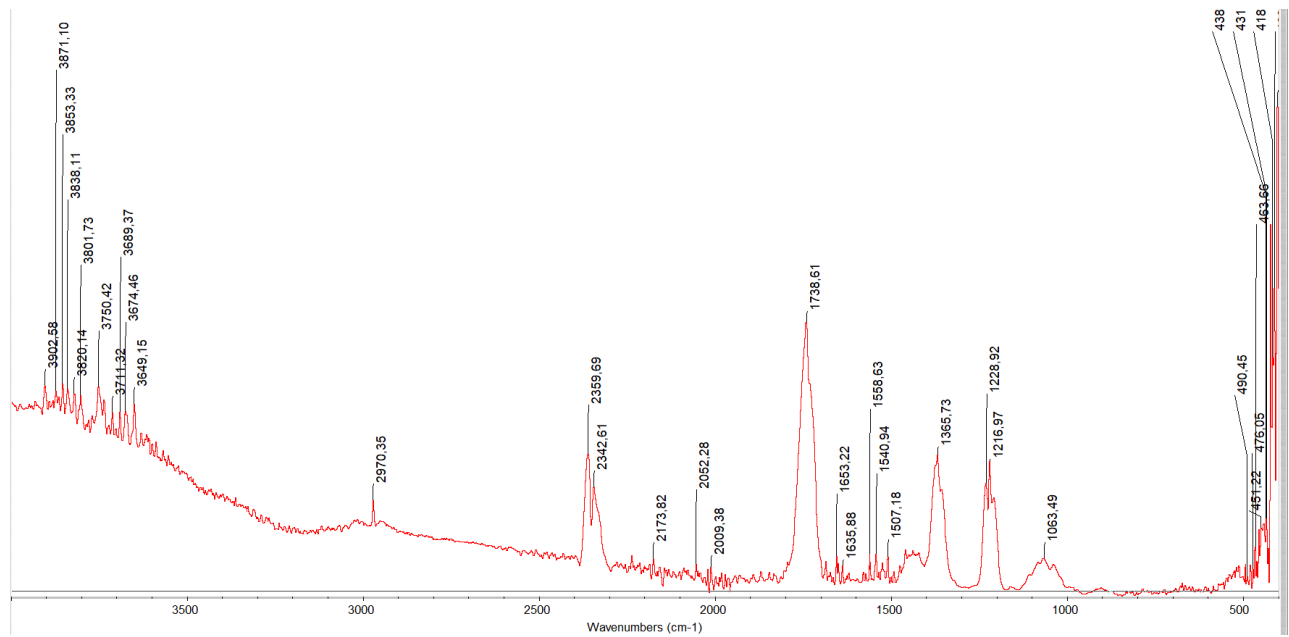
Στο δείγμα του μηλίτη Rrasb παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.



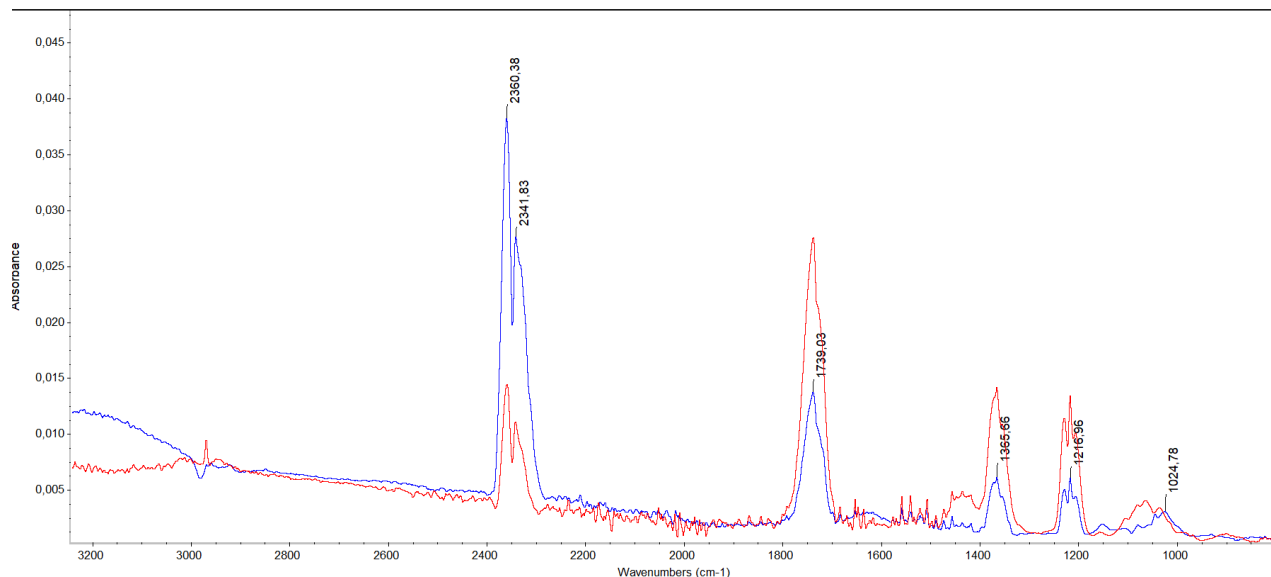


Εικόνα 4.1.3.5 Απεικόνιση μέσω φάσματος δείγματος Rstr

Στο δείγμα του μηλίτη Rstr παρατηρούμε μικρό αριθμό κορυφών.

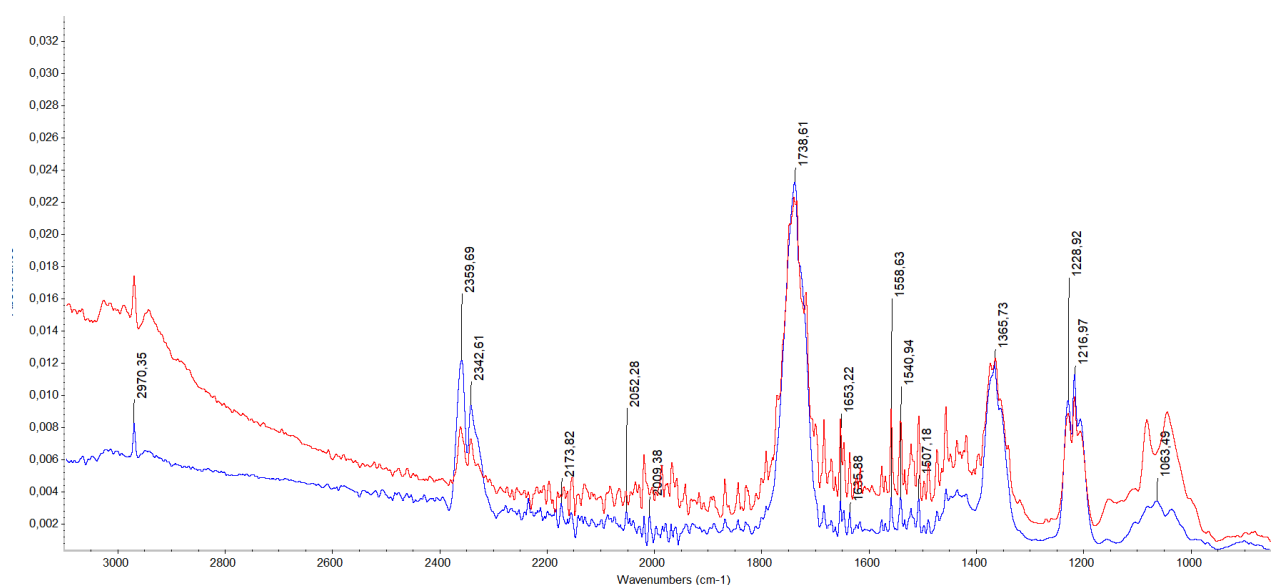


Εικόνα 4.1.3.6 Απεικόνιση φάσματος διακόμανσης των δειγμάτων μηλίτη



Εικόνα 4.1.3.7 Φάσμα διακύμανσης μπύρας(μπλε) και μηλίτη(κόκκινο)

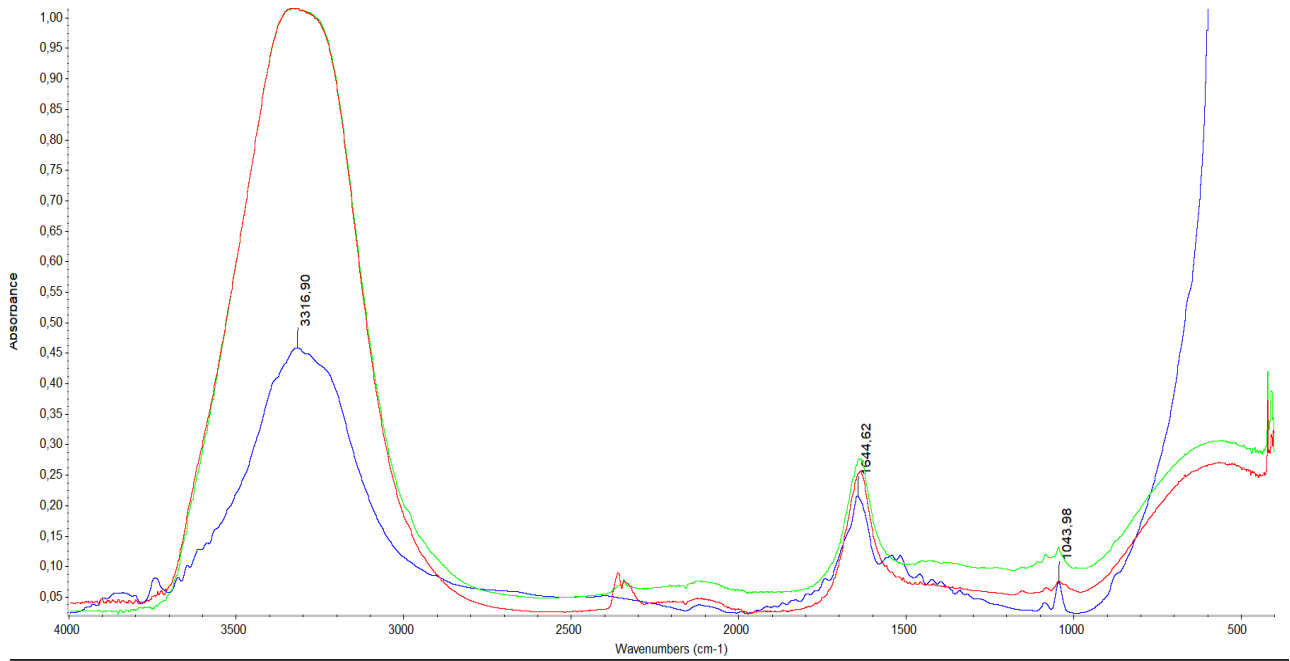
Συγκρίνοντας τα φάσματα διακύμανσης μπύρας-μηλίτη, παρατηρούμε κορυφές στα 2360,38 και 2341,83cm<sup>-1</sup>. Είναι ξεκάθαρο, ότι η κορυφή του CO<sub>2</sub> υπερτερεί στο δείγμα της μπύρας. Οι κορυφές στα 1739,03, 1365,66, 1216,96 και 1024,78cm<sup>-1</sup> φανερώνουν απορροφήσεις από ένα εύρος ενώσεων, όπως οξέων, πολυφαινολών, υδρογονανθράκων, σακχάρων. Δεν παρατηρείτε διαφορά στο εύρος της αλκοόλης, καθώς και τα δύο δείγματα έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη.



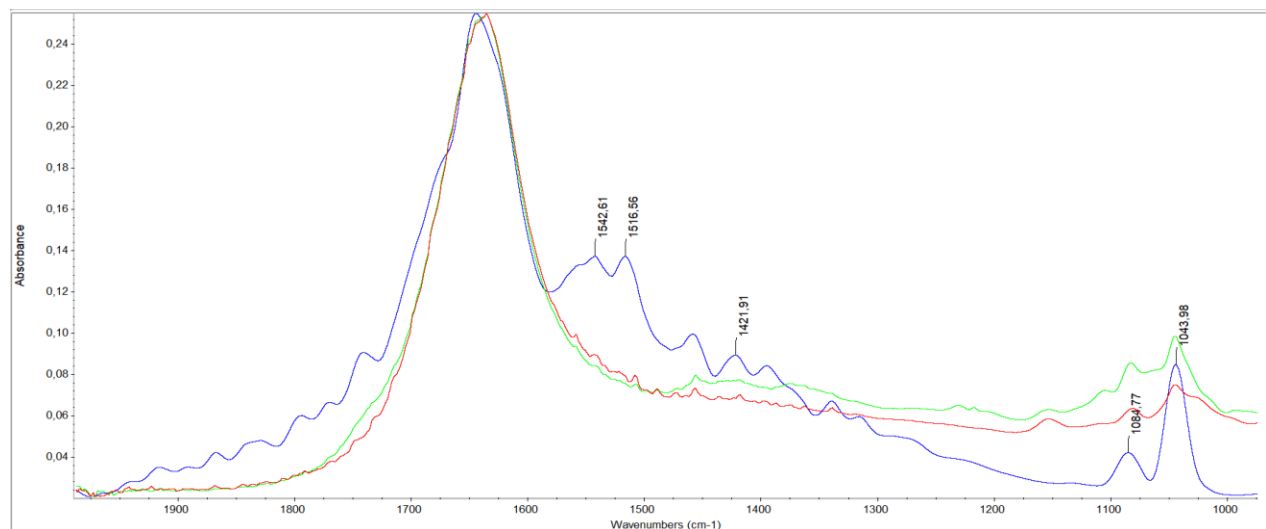
Εικόνα 4.1.3.8 Φάσμα διακύμανσης μηλίτη(μπλε)-κομπούχα(κόκκινο)

Η παρατήρηση γίνεται σε ένα χαμηλόβαθμο σε περιεκτικότητα αλκοόλη ζυμωμένο ποτό και σε ένα μη αλκοολούχο. Ο σκοπός δεν είναι να δούμε τη διαφορά σε αλκοόλη, αλλά διαφορετικές ενώσεις. Επιλέξαμε αυτή τη διαφοροποίηση καθώς τα δείγματα της κομπούχας έχουν προστιθέμενα φρούτα, όπως και ο μηλίτης (πέρα από το ίδιο το μήλο) Από το φάσμα διακρίνονται κορυφές στα 2970,35 όπου ανευρίσκουμε το νερό και στα 2359,69 κ' 2342,61cm<sup>-1</sup> όπου οι κορυφές είναι του

CO<sub>2</sub>. Οι πιο έντονες κορυφές συνυπάρχουν στην περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος με απορροφήσεις από ενώσεις όπως σάκχαρα, οξέα και πολυφαινόλες



Εικόνα 4.1.3.9 Μέσο φάσμα μύρας(BudLager-κόκκινο),μηλίτη(Rpass-Λαχανί) και κρασιού(WN1-μπλε)



Εικόνα 4.1.3.10 Μεγέθυνση μέσου φάσματος μύρας(BudLager-κόκκινο),μηλίτη(Rpass-Λαχανί) και κρασιού(WN1-μπλε) στο δακτυλικό αποτύπωμα

## 4.2 Μελέτη των αποτελεσμάτων

### 4.2.1 CO<sub>2</sub>

Το CO<sub>2</sub>, λόγω της ισχυρής απορρόφησής του στο υπέρυθρο, είναι ένα γραμμικό μόριο με τέσσερις τρόπους δόνησης: συμμετρική τάση, ασύμμετρη τάση και δύο

τρόπους κάμψης.

Το συμμετρικό τέντωμα δεν είναι ενεργό στο IR και οι τρόποι κάμψης είναι εκφυλισμένοι με αποτέλεσμα δύο ενεργές κορυφές IR. Το ατμοσφαιρικό CO<sub>2</sub> είναι πανταχού παρόν και έχει ένα σημαντικό σήμα που το καθιστά κοινό μολυσματικό υπόβαθρο στη συνήθη ανάλυση FTIR. Κατά συνέπεια, διατηρήθηκε σταθερός καθαρισμός των διαμερισμάτων οπτικού και δείγματος στο FTIR για να διασφαλιστεί ένα σταθερό υπόβαθρο καθ' όλη τη διάρκεια της μέτρησης. Πριν από τη μέτρηση της πρόσληψης CO<sub>2</sub> στα προσροφητικά, μετρήσαμε το FTIR καθαρού CO<sub>2</sub> υψηλής πίεσης. Η αντισυμμετρική τάση, (2385–2300 cm<sup>-1</sup>) και η κάμψης των δεσμών, στα 668 cm<sup>-1</sup>, είναι και τα δύο ορατά.

#### 4.2.2 Μελέτη των αποτελεσμάτων των δειγμάτων μύρας

Παρά τη χρήση της MIR φασματοσκοπία στην ανάλυση τροφίμων, έχουν βρεθεί λίγες μελέτες στη βιβλιογραφία που αναφέρουν τη χρήση της φασματοσκοπίας FTMIR-ATR σε ανάλυση δειγμάτων μύρας (Meurens and Yan 2006, Garrigues and de la Guardia 2009, Biancolillo et al. 2014, Grassi et al. 2014, Lachenmeier 2007, Pearce et al. 2016, Debebe et al. 2017, Nordon et al. 2005, Coates 2006, Innocenzi et al. 2008, Griffiths and de Haseth 2006, Polshin et al. 2011). Ωστόσο υπάρχουν αναφορές σχετικά με την ερμηνεία των φασμάτων.

Σύμφωνα με την εικόνα 4.8, θα ξεκινήσουμε τη μελέτη του φάσματος από τα αριστερά προς τα δεξιά. Αρχικά, παρουσιάζεται η πρώτη κορυφή στα 2360,38 cm<sup>-1</sup> και 2341,83 cm<sup>-1</sup>, αυτές βρίσκονται στην περιοχή μεταξύ 2400-1800 cm<sup>-1</sup>, όπου εμφανίζεται το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>), αλλά δεν εξετάζεται για περαιτέρω ανάλυση ή ερμηνεία φασμάτων (Russell Gordon<sup>1</sup> & James Chapman<sup>1</sup> & Aoife Power<sup>1</sup> & Shaneel Chandra<sup>1</sup> & Jessica Roberts<sup>1</sup> & Daniel Cozzolino).

Επίσης, διακρίνουμε την κορυφή στα 1739,03 cm<sup>-1</sup>. Οι περιοχές απορρόφησης 1776-1500 cm<sup>-1</sup> προκύπτουν από την απορρόφηση της δόνησης της τάσης του νερού (Stuart, 2004, Coates, 2000) και οι περιοχές απορρόφησης 1725-1745 cm<sup>-1</sup> συμβάλλουν στη δόνηση της τάσης του δεσμού C-O των εστέρων λιπαρών οξέων. (Rajesh Kumar Saharan, Sukesh Chander Sharma).

Οι κορυφές 1216,96-1024,78 cm<sup>-1</sup> ανήκουν σε ένα ευρύ φάσμα περιοχών απορρόφησης. Αρχικά, στην περιοχή φάσματος 1500-900 cm<sup>-1</sup>, η οποία αντιπροσωπεύει το δακτυλικό αποτύπωμα. Ειδικότερα, η περιοχή 1200-900 cm<sup>-1</sup> αντιπροσωπεύει πολλά μακρομόρια όπως πολυσακχαρίτες, φωσφολιπίδια και νουκλεϊκά οξέα. (Rajesh Kumar Saharan, Sukesh Chander Sharma). Αναλυτικότερα, η φασματική περιοχή 1050-700 cm<sup>-1</sup> υποδεικνύει τη δόνηση της τάσης των δεσμών C-O-C των νουκλεϊκών οξέων και των φωσφολιπιδίων. (Rajesh Kumar Saharan, Sukesh Chander Sharma). Η περιοχή 1500-700 cm<sup>-1</sup> είναι η περιοχή των υδατανθράκων, ιδίως για τις ζώνες 1022 cm<sup>-1</sup> και 991 cm<sup>-1</sup> (Duarte et al., 2004; Grassi, Amigo, Lyndgaard, Foschino, & Casiraghi, 2014b; Polshin et al., 2011). Στην περιοχή απορρόφησης 1200-800 cm<sup>-1</sup> εξηγούνται ενώσεις οι οποίες είναι ο

συνδυασμός πτητικών και μη πτητικών ενώσεων, εστέρων, αρωματικών ενώσεων, πολυφαινολών (Russell Gordon<sup>1</sup> & James Chapman<sup>1</sup> & Aoife Power<sup>1</sup> & Shaneel Chandra<sup>1</sup> & Jessica Roberts<sup>1</sup> & Daniel Cozzolino). Επίσης στην περιοχή 1200-950cm<sup>-1</sup> αντιστοιχούν δονήσεις της τάσης του δεσμού C-C και δονήσεις της τάσης του δεσμού C-O των υδατανθράκων (Rafael Llario, Fernando A. In<sup>3</sup>on<sup>3</sup>, Salvador Garrigues, Miguel de la Guardia). Οι περιοχές απορρόφησης 1080-1040cm<sup>-1</sup> οφείλονται στις δονήσεις της τάσης του δεσμού C-O των πρωτοταγών και/ή δευτεροταγών αλκοολών. (Biancolillo et al. 2014, Grassi et al. 2014; Coates 2006) και σύμφωνα με προηγούμενους συγγραφείς, αυτές οι περιοχές συνδέονται άμεσα με την περιεκτικότητα σε αιθανόλη στη μύρα. (Biancolillo et al. 2014; Grassi et al. 2014; Coates 2006).

Μεταξύ των περιοχών 1160-1140cm<sup>-1</sup> και 1040-980cm<sup>-1</sup> μπορούν να παρατηρηθούν διαφορές ανάμεσα σε κανονικά δείγματα μύρας και σε δείγματα μύρας με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ. (Castritius et al. 2012; Llario et al. 2006; In<sup>3</sup>on<sup>3</sup> et al. 2006; Garrigues and de la Guardia 2009; Biancolillo et al. 2014; Grassi et al. 2014; Innocenzi et al. 2008). Όσο αναφορά την περιοχή κάτω από 1500 cm<sup>-1</sup> όπου ορίζεται ως την περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος (Griffiths and de Haseth 2006), οι κύριες κορυφές αναφέρονται στη δόνηση της τάσης των δεσμών C-C-O στα 1040cm<sup>-1</sup> και στη δόνηση της τάσης των δεσμών C-O στα 1080cm<sup>-1</sup>. (Castritius et al. 2012; Llario et al. 2006; In<sup>3</sup>on<sup>3</sup> et al. 2006; Garrigues and de la Guardia 2009; Biancolillo et al. 2014; Grassi et al. 2014; Innocenzi et al. 2008) (Castritius et al. 2012; Biancolillo et al. 2014; Grassi et al. 2014).

Καταλήγοντας στην τελευταία κορυφή 669,03cm<sup>-1</sup>, μέσα από τη βιβλιογραφία, οι περιοχές απορρόφησης μεταξύ 4000-3050cm<sup>-1</sup> και 850-600cm<sup>-1</sup> εξαλείφονται πριν τους υπολογισμούς, καθώς παρατηρήθηκε ότι οι διακυμάνσεις σε αυτές τις περιοχές δεν μπορούν να αποδοθούν σε διακυμάνσεις στη σύνθεση του δείγματος. (Fernando A. In<sup>3</sup>on<sup>3</sup> a,<sup>1</sup> Salvador Garrigues b, Miguel de la Guardia b,).

### **4.2.3 Μελέτη των αποτελεσμάτων των δειγμάτων κομπούχας**

Σύμφωνα με την MIR φασματοσκοπία, οι περιοχές απορρόφησης μπορούν να διαχωριστούν σε τέσσερις ζώνες: R1 4000-2782cm<sup>-1</sup>, R2 2780-1882cm<sup>-1</sup>, R3 1880-1492cm<sup>-1</sup>, R4 874-600cm<sup>-1</sup>. Στο φάσμα μας διακρίνουμε πλήθος κορυφών, προκειμένου να φανούν οι διαφορές, εστιάζουμε στις έντονες κορυφές.

Με βάση την εικόνα 4.14, θα ξεκινήσουμε τη μελέτη από τα αριστερά προς τα δεξιά. Στο φάσμα μας διακρίνουμε πλήθος κορυφών, προκειμένου να φανούν οι διαφορές, εστιάζουμε στις έντονες κορυφές. Από τη βιβλιογραφία για τις κορυφές που εμφανίζονται στην περιοχή μεταξύ 3902,34-3617,78cm<sup>-1</sup> δεν υπάρχουν πληροφορίες.

Στη συνέχεια στην περιοχή 3600-3000cm<sup>-1</sup>, η εντονότερη κορυφή διακρίνεται στα 3566,44cm<sup>-1</sup>, η περιοχή αυτή συσχετίστηκε από τις ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις της τάσης των δεσμών O-H του νερού (Coates, 2000; Pajderska, Chudoba, Mielcarek, & Wasicki, 2010) και των πολυσακχαριτών. (Pakoulev et al. 2003). Στην περιοχή απορρόφησης 3500-3100cm<sup>-1</sup>, παρατηρούμε μια αδύναμη κορυφή στα

3363,64cm<sup>-1</sup>, η συγκεκριμένη περιοχή μπορεί να υποδηλώνει ότι τα δείγματα έχουν καρβοξυλική ομάδα που υπάρχει σε φαινολικές ενώσεις (Ceslova, Holcapek, Fidler, Drsti. & Lickova, 2009). Στην περιοχή 3000-2850cm<sup>-1</sup> που αντιστοιχεί στους δεσμούς C-H των ενώσεων με την παρουσία CH<sub>2</sub> και CH<sub>3</sub> (Schulz & Baranska, 2007) διακρίνουμε την κορυφή 2970,44cm<sup>-1</sup>.

Ακόμη στις περιοχές μεταξύ 1800-1500cm<sup>-1</sup> και 1500-1200cm<sup>-1</sup> διακρίνονται οι εντονότερες κορυφές στα 1739,60cm<sup>-1</sup>, 1683,84cm<sup>-1</sup>, 1558,48cm<sup>-1</sup>, 1364cm<sup>-1</sup> και 1216,94cm<sup>-1</sup>, η περιοχή αυτή αποδόθηκε στην τάση του δεσμού C=O, λόγω της παρουσίας οργανικών οξέων (Gullo et al., 2017; Sharma & Bhadrwaj, 2019) (Ramirez Tapias et al., 2020). Επιπλέον, η περιοχή απορρόφησης μεταξύ 1500-1290cm<sup>-1</sup> συνδέεται με τους δεσμούς C-H<sub>2</sub> και C-H<sub>3</sub> των σακχάρων και των οργανικών οξέων, ενώ οι κορυφές που προκύπτουν είναι μεταξύ 1180-1056cm<sup>-1</sup> οι οποίες προέρχονται κυρίως από τους δεσμούς C-O και C-C των σακχάρων και των οργανικών οξέων. (Coates, 2000; Workman, 2001).

Καταλήγοντας, στο εύρος των κορυφών 1100-1000cm<sup>-1</sup> παρατηρούμε τις κορυφές 1081,70cm<sup>-1</sup> και 1044,92cm<sup>-1</sup>. Στο εύρος αυτό αντιστοιχεί η ομάδα C-O, των ενώσεων των πρωτογενών και δευτερογενών ομάδων αλκοόλης και στην ομάδα αρωματικών εστέρων. (Kaashyap et al. 2021).

#### 4.2.4 Μελέτη των αποτελεσμάτων των δειγμάτων μηλίτη

Τα φάσματα FTIR-ATR ορίζονται από την παρουσία των κύριων συστατικών του μηλίτη. Η αιθανόλη, βρίσκεται με κορυφές στα 1045 και 1086 cm<sup>-1</sup>. Οι περιοχές φασματοσκοπίας που εντοπίζονται μεταξύ 1300 και 950 cm<sup>-1</sup>, αντιστοιχούν στη δόνηση της τάσης των δεσμών των ενώσεων με C-O, στα 1470–1200 cm<sup>-1</sup> στη δόνηση της κάμψης των δεσμών των ενώσεων με C-H, στα 1750–1680 cm<sup>-1</sup> στη δόνηση της τάσης των δεσμών των ενώσεων με C=O και 2990–2900 cm<sup>-1</sup> στη δόνηση της τάσης των δεσμών ενώσεων με C-H (Willard, Merritt, Dean, & Settle, 1990). Το διοξείδιο του άνθρακα απορροφά περίπου στην κορυφή 2350 cm<sup>-1</sup>, ενώ η μέγιστη διαπερατότητα για το νερό εμφανίζεται περίπου 1600 cm<sup>-1</sup>, έτσι ώστε αυτές οι περιοχές θα πρέπει να αποφεύγονται. Η φασματική ζώνη που βρίσκεται στα 1750–1690 cm<sup>-1</sup> είχε την υψηλότερη απορρόφηση. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί με βάση ότι περιλαμβάνει τόσο οργανικά οξέα όσο και εστέρες με χαρακτηριστική ομάδα (C=O).

Τα σάκχαρα είναι ενώσεις, με ομάδες αλκοόλης (πρωτοταγείς και δευτερογενείς) και C=O (αλδεϋδη και κετόνη). Έτσι, οι ζώνες απορρόφησης τους βρίσκονται στα 1300-1000cm<sup>-1</sup>. Οι απορροφήσεις στο εύρος των κορυφών 1470-1370cm<sup>-1</sup> μπορούν να αποδοθούν στη δόνηση της κάμψης των δεσμών C-H και στα 1735-1681cm<sup>-1</sup> στη δόνηση της τάσης των δεσμών C=O σε αλδεϋδες και κετόνες. Μεταξύ 937 και 1514 cm<sup>-1</sup>, η περιοχή παρουσιάζει απορροφήσεις που αποδίδονται σε σάκχαρα και οργανικά οξέα (He et al., 2007· Shah et al., 2010· Vardin et al., 2008).

Το εύρος κορυφών από 1700 έως 1500 cm<sup>-1</sup> αντιστοιχεί στην περιοχή των δονήσεων της τάσης των δεσμών C=O των οξέων (Defernez & Wilson, 1995). Πολλές περιοχές από την κορυφή 1500cm<sup>-1</sup> και κάτω μπορούν να αντιστοιχιστούν

στην απορρόφηση των δονήσεων της τάσης των δεσμών C-O και στις δονήσεις της κάμψης των δεσμών C-O-H των φαινολών, των καρβοξυλικών οξέων και των υδατανθράκων (He et al., 2007). Η περιοχή δακτυλικών αποτυπωμάτων, από 1200 έως 900  $\text{cm}^{-1}$ , δείχνει τη δόνηση της τάσης των δεσμών C-C και C-O, που σχετίζονται επίσης με σάκχαρα και οργανικά οξέα (He et al., 2007· Shah et al., 2010· Vardin et al., 2008) .

## Συμπεράσματα

Με τη βοήθεια του FT-IR, καταγράψαμε τα φάσματα των δειγμάτων μας. Όσο αναφορά, τα φάσματα των δειγμάτων καταλήξαμε σε κάποια συμπεράσματα. Αρχικά τα δείγματα μας δεν έδειξαν μεγάλες διαφοροποιήσεις ως προς τις ευρύτερες φασματικές περιοχές. Ειδικά τα χαμηλόβαθμα σε περιεκτικότητα αλκοόλη όπως η μύρα και ο μηλίτης και το μη αλκοολούχο. Το δείγμα του κρασιού, επέφερε διαφοροποιήσεις ως προς την αλκοόλη, τη μεθανόλη, το CO<sub>2</sub> και την υγρασία συγκριτικά με τη μύρα και το μηλίτη.

Στο φάσμα της μύρας και της κομπούχας με λυκίσκο, παρατηρήσαμε τις περιοχές απορρόφησης, στις οποίες μπορούμε σύμφωνα με τη βιβλιογραφία να διακρίνουμε τις διαφορετικές ποικιλίες του λυκίσκου και τις πολυφαινόλες του. Στα φάσματα του μηλίτη, στην περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος και ειδικά στις περιοχές 1700-1500cm<sup>-1</sup> μπορούμε να διακρίνουμε την πηκτίνη από τα μήλα.

Στο μέσο φάσμα του μηλίτη, στο δείγμα Rstr παρατηρήθηκαν κάποιες κορυφές στο δακτυλικό αποτύπωμα όπου βρίσκονται ενώσεις φαινολών. Αυτό, οφείλεται στην πολυπλοκότητα και τη διαφορετικότητα των φρούτων. Ωστόσο η διαφοροποίηση, ήταν αισθητή και αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί, γιατί η φράουλα είναι το φρούτο με την υψηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικά και αντιοξειδωτική δράση.

Στα φάσματα της κομπούχας, διακρίνουμε το εύρος των απορροφητικών ζωνών που αντιστοιχούν στην ομάδα των πολυσακχαριτών.. Στις περιοχές μεταξύ 1800-1500cm<sup>-1</sup> και 1500-1200cm<sup>-1</sup> διακρίνονται οι εντονότερες κορυφές, λόγω της παρουσίας οργανικών οξέων που παράγονται κατά τη ζύμωση της κομπούχας, όπως οξικό οξύ, γλυκονικό και γλυκουρονικό οξύ. Οι περιοχές απορρόφησης μεταξύ 1754-1550cm<sup>-1</sup> υποδεικνύουν τις περιοχές απορρόφησης της καφεΐνης.

Στα φάσματα των δειγμάτων μύρας και στα φάσματα των δειγμάτων μηλίτη παρατηρούμε διαφοροποίηση στην κορυφή 2341,83cm<sup>-1</sup> λόγω του CO<sub>2</sub>. Στην επόμενη κορυφή, διαπιστώνουμε μια αυξομείωση των φασμάτων. Παρατηρούμε αύξηση των κορυφών ως προς τα δείγματα του μηλίτη από τις κορυφές 1739,03 όπου συναντάμε ενώσεις εστέρων, του νερού, στις κορυφές 1365,66-1216,96cm<sup>-1</sup> και 1024,78 που συναντάμε ενώσεις των οργανικών οξέων κυρίως μηλικό, αλκοολών, σακχάρων και πολυφαινολών. Συγκεκριμένα διαφοροποιούνται ως προς το γευστικό χαρακτήρα.

Στο φάσμα της μύρας, στην κορυφή 1348cm<sup>-1</sup> ταυτοποιείται το πυρουβικό οξύ. Η περιοχή 1500-700cm<sup>-1</sup> είναι η περιοχή των υδατανθράκων, ιδίως για τις ζώνες 1022cm<sup>-1</sup> και 991cm<sup>-1</sup>, που αντιστοιχούν σε δεξτρίνη και μαλτόζη αντίστοιχα. Στην περιοχή απορρόφησης 1200-800cm<sup>-1</sup> εξηγούνται ενώσεις οι οποίες προέρχονται από τη διαδικασία παρασκευής μύρας και είναι ο συνδυασμός πτητικών και μη πτητικών ενώσεων, εστέρων, αρωματικών ενώσεων, πολυφαινολών, ιχνών ζύμης και ενώσεων που προέρχονται από την αντίδραση Maillard.



Στην περιοχή  $1200-950\text{cm}^{-1}$  , οι διαφοροποιήσεις μπορεί να σχετίζονται με το πραγματικό και φαινομενικό εκχύλισμα.

Τέλος, μεταξύ των δειγμάτων μηλίτη και κομπούχας παρατηρούμε διαφοροποιήσεις ως προς την κορυφή  $2359,69$  του  $\text{CO}_2$  και στο εύρος των κορυφών από  $1653,22$  έως  $1063,49$  παρατηρούνται αρκετές διακυμάνσεις ,οι οποίες οφείλονται στην αιθανόλη, στη φρουκτόζη και σε πολυφαινόλες, χάρη στην χημική σύνθεση των φρούτων, του καφέ και της συμβιωτικής καλλιέργειας.

Συμπερασματικά, οι πιο σημαντικές περιοχές απορρόφησης εντοπίστηκαν μεταξύ του  $1800 -1600\text{ cm}^{-1}$  και  $1400 -1000\text{ cm}^{-1}$ .

Οι κορυφές στην περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος είναι πολύ δύσκολο να αποδοθούν σε συγκεκριμένη μοριακή δόνηση σε ένα τόσο πολύπλοκο μείγμα όπως η μύρα και ο μηλίτης.

Παρατηρήσαμε ότι το δείγμα του κρασιού, επέφερε διαφοροποιήσεις ως προς την αλκοόλη, τη μεθανόλη, το  $\text{CO}_2$  και την υγρασία συγκριτικά με τη μύρα και το μηλίτη

Το FTIR είναι κατάλληλο για μετρήσεις στη μύρα, στο μηλίτη και την κομπούχα, ωστόσο θα ήταν εύλογο να χρησιμοποιηθεί μαζί με μία άλλη μέθοδο, για συγκεκριμένη παραγωγική διαδικασία μελετώντας και τις αναλυτικές παραμέτρους για πιο λεπτομερή αποτελέσματα

# Βιβλιογραφία

Alain Clement, Bernard Panneton, Richard Bastien, Pauline Fernandez Ice cider fingerprinting using optical spectroscopy and simple laboratory measurements

Andoni Zuriarrain-Ocio, Juan Zuriarrain, Oier Etxebeste, María Teresa Duenas, Inaki Berregi. Evolution of main polyphenolics during cidermaking

Anna Picinelli Lobo, Belén Suárez Valles, Norman Fernández Tasco'n, Roberto Rodríguez Madrera, Ovidio Fernández García Calibration models for routine analysis of cider by mid-infrared spectroscopy.

ANNIE PROULX & LEW NICHOLS. MAKING, USING & ENJOYING SWEET & HARD CIDER Third Edition

Aroh, Kenechukwu, Review: Beer Production, 2019

Bamforth C.W. Chemistry of Brewing, University of California, Davis, CA, USA

Beer judge certification program (BJCP)

Carolina Sheng Whei Miaw, Camila Assis, Alessandro Rangel Carolino Sales Silva, Maria Luísa Cunha, Marcelo Martins Sena, Scheilla Vitorino Carvalho de Souza, Determination of main fruits in adulterated nectars by ATR-FTIR spectroscopy combined with multivariate calibration and variable selection methods.

Chris White with Jamil Zainasheff, Yeast: the practical guide to beer fermentation

Denis De Keukeleire, Fundamentals of beer and hop chemistry (2000)

Dennis E. Briggs, Chris A. Boulton, Peter A. Brookes and Roger Stevens Brewing Science and practice.

Dirk W. Lachenmeier, Rapid quality control of spirit drinks and beer using multivariate data analysis of Fourier transform infrared spectra

Eduardo J. Pires & José A. Teixeira & Tomás Brányik & António A. Vicente Yeast: the soul of beer's aroma—a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast.

Fabien J. Cousin, Rozenn Le Guellec, Margot Schlüsselhuber, Marion Dalmasso, Jean-Marie Laplace and Marina Cretenet. Microorganisms in Fermented Apple Beverages: Current Knowledge and Future Directions

Fatma N. El-Shal, Mona T. Al-Shemy, Ghada E. Dawwam, Multifunction smart nanocomposite film for food packaging based on carboxymethyl cellulose/Kombucha SCOBY/pomegranate anthocyanin pigment

F. W. Beech. CIDER MAKING AND CIDER RESEARCH: REVIEW

Francylaine Silva de Almeida, Cinthia Aparecida de Andrade Silva, Sandro Marcio Lima, Yzel Rondon Suarez, Luis Humberto da Cunha Andrade, Use of Fourier transform infrared spectroscopy to monitor sugars in the beer mashing process

Gustavo P. Lorca Mandujano, Henrique C. Alves, Cleiton D. Prado, Jeferson G. O. Martins, Hosana R. Novaes, João Pedro Maia de Oliveira da Silva, Gleidson Silva Teixeira, André Ohara, Mateus H.R. Alves, Isadora C. Pedrino, Iran Malavazi, Cristina Paiva de Sousa, Anderson F. da Cunha, Identification and selection of a new *Saccharomyces cerevisiae* strain isolated from Brazilian ethanol fermentation process for application in beer production

IOLA F. DUARTE, ANTONIO BARROS, CLAUDIA ALMEIDA, MANFRED SPRAUL AND ANA M

GIL, Multivariate Analysis of NMR and FTIR Data as a Potential Tool for the Quality Control of Beer.  
Hailee E. Anderson, Ines C. Santos, Zacariah L. Hildenbrand, Kevin A. Schug, A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control

J.S. Hough, D.E Briggs, R. Stevens, T.W Young, Chemical and Physical Properties of Beer

Jarvis.B;1996 Cider, perry, fruit wines and other alcoholic fruit beverages 1999 cider (Hard cider)

Julio C. Machado Jr., Miguel A. Faria, Isabel M.P.L.V.O. Ferreira, Ricardo N.M.J. Páscoa, João A. Lopes, Varietal discrimination of hop pellets by near and mid infrared spectroscopy

Juyoung Kim and Koushik Adhikari, Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research

Lachlan Girschik , Joanna E. Jones , Fiona L. Kerslake , Mark Robertson , Robert G. Damberg , Nigel D. Swarts, Apple variety and maturity profiling of base ciders using UV spectroscopy.

Lenka Punčochářová, Jaromír Pořízka, Pavel Diviš, Václav Štursa Study of the influence of brewing water on selected analytes in beer.

Luigi Montanari, Giuseppe Perretti, Fausta Natella, Alessia Guidi and, Paolo Fantozzi, Organic and Phenolic Acids in Beer

M. Ortega-Heras, M.L González-Sanjosè,2003

M. Jedney, M.S Izydorczyk, Canadian Grain Commission, Winnipeg, Manitoba, Canada, 2003)

P. Hughes, Heineken Technical Services, Zoeterwoude, The Netherlands

Peyton Bishop, Eric R. Pitts, Writing – review & editing, Drew Budner, Katherin A.

Thompson-Witrick Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile

Raquel Macedo Dantas Coelho, Aryelle Leite de Almeida, Rafael Queiroz Gurgel do Amaral, Robson Nascimento da Mota, Paulo Henrique M. de Sousa Kombucha: Review

Rajko Vidrih, Janez Hribar

S.-Q. Liu, Impact of yeast and bacteria on beer appearance and flavour, in *Brewing Microbiology*, 2015

Silvia Grassi , José Manuel Amigo, Christian Bøge Lyndgaard , Roberto Foschino , Ernestina Casiraghi Beer fermentation: Monitoring of process parameters by FT-NIR and multivariate data analysis.

Slaughter J. Colin Biochemistry and physiology of yeast growth

Sonia Cortacero-Ramirez, Miguel Herna´inz-Bermu´dez de Castro, Antonio Segura-Carretero, Carmen Cruces-Blanco, Alberto Ferna´ndez-Gutie´rrez, Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods

Tao Hong, Jun-Yi Yin, Shao-Ping Nie, Ming-Yong Xie, Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective.

V.M.Bergottini, D. Bernhardt, Bacterial cellulose aerogel enriched in nanofibers obtained from Kombucha SCOBY by product

Valentina Giovenzana, Roberto Beghi, Riccardo Guidetti Rapid evaluation of craft beer quality during

fermentation process by vis/NIR spectroscopy

Wei Yang a , Shuxun Liu, Alexis Marsol-Vall , Roni Tahti " , Oskar Laaksonen , Saila Karhu , Baoru Yang , Xueying Ma, Chemical composition, sensory profile and antioxidant capacity of low-alcohol strawberry beverages fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii*

Yingying Han, Jinhua Du, A comparative study of the effect of bacteria and yeasts communities on inoculated and spontaneously fermented apple cider.

Yong-Seo Park, Myeng He Im, Kyung-Sik Ham, Seong-Gook Kang, Yang-Kyun Park, Jacek Namiesnik, Hanna Leontowicz, Maria Leontowicz, Simon Trakhtenberg, Shela Gorinstein Quantitative assessment of the main antioxidant compounds, antioxidant activities and FTIR spectra from commonly consumed fruits, compared to standard kiwi fruit

Yoshihiro Abiko, Durga Paudel, Osamu Uehara Hops components and oral health.

Yuly A.Ramírez Tapias, M.Victoria Di Monte, Mercedes A. Peltzer, Andrés G. Salvay, Kombucha fermentation in yerba mate: Cellulose production, films formulation and its characterisation

Zhiyu Lia , Wenxiu Hua , Jiajia Dongb , Fidelis Azia , Xiao Xuc , Chuanhai Tud , Sijie Tanga , Mingsheng Dong, The use of bacterial cellulose from kombucha to produce curcumin loaded Pickering emulsion with improved stability and antioxidant properties

Kallipos: Φασματοσκοπία Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (ATR-FTIR)](<https://repository.kallipos.gr/handle/11419/6175> )

[Ανάλυση φασματοσκοπίας FTIR](<https://www.laboratuar.com/el/testler/kimyasal-testler/ftir-spektroskopii-analizleri/> )

"Applications of Fourier transform infrared spectroscopy" by University of Barcelona. Available at: [https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/32136/1/ChT03%20-%20Applications%20of%20FTIR\\_ed2.pdf](https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/32136/1/ChT03%20-%20Applications%20of%20FTIR_ed2.pdf)

Analysis of Beer and Sour Beer using EQTA (Eurofins Quality Trait Analysis) (PDF). Available at: [Eurofins](#)

Zhang, L., Zhang, Z., & Shi, H. (2014). Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in Determination of Content of Geosmin and 2-Methylisoborneol (2-MIB) in Water. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 8(1), 47-55.

<https://journals.scholarsportal.info/browse/19327587/v5i3-4>

Calibration models for routine analysis of cider by mid-infrared spectroscopy, Anna Puccinelli Lobo, Belén Suarez Valles, Norman Fernandez Tascon, Roberto Rodriguez Madrera, Ovidio Fernandez Garcí a A´rea de Tecnología de los Alimentos, SERIDA, Apdo. 13, 33300-Villaviciosa(Asturias),Spain

([https://www.researchgate.net/publication/238382590\\_Calibration\\_models\\_for\\_routine\\_analysis\\_of\\_cider\\_by\\_mid-infrared\\_spectroscopy](https://www.researchgate.net/publication/238382590_Calibration_models_for_routine_analysis_of_cider_by_mid-infrared_spectroscopy) )

Εφαρμογές της υπέρυθρης φασματοσκοπίας (FTIR) και της φασματοσκοπίας Raman (FT-Raman) στη μελέτη συστατικών γεωργικών προϊόντων](<https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/39015>)

Thermo Fisher Scientific: Advantages of a Fourier Transform Infrared Spectrometer](

<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/Application-Notes/TN50674-E-0215M-FT-IR-Advantages.pdf> )

JASCO: Principles of infrared spectroscopy - Advantages of FTIR spectroscopy](<https://www.jasco-global.com/principle/principles-of-infrared-spectroscopy-4-advantages-of-ftir-spectroscopy/> )

Chemistry LibreTexts: How an FTIR Spectrometer

Operates]([https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational\\_Spectroscopy/Infrared\\_Spectroscopy/How\\_an\\_FTIR\\_Spectrometer\\_Operates](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/How_an_FTIR_Spectrometer_Operates) )

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168169914001938>

<https://dl.acm.org/doi/10.1016/j.compag.2014.07.009>

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01140671.2015.1131725>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092552141630669X>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030442381730133>  
<https://www.britannica.com/topic/cider>  
Φυσικοχημικές και Μικροβιολογικές Αναλύσεις σε Όλα τα Στάδια Παραγωγής Ζύθου, Μαρία Τζαμτζή,  
Πανεπιστήμιο Πατρών 2016  
[https://www.shimadzu.co.kr/sites/shimadzu.co.kr/files/pim/pim\\_document\\_file/brochures/10377/286\\_c103e096d.pdf](https://www.shimadzu.co.kr/sites/shimadzu.co.kr/files/pim/pim_document_file/brochures/10377/286_c103e096d.pdf)  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092552141630669X>  
<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/25113/1/Artem%20Petrosian.pdf>  
<https://www.chemlabgenius.com/advantages-and-disadvantages-of-ftir-spectroscopy/>  
<https://agta.org/advantages-and-disadvantages-of-raman-fourier-transform-infrared-spectroscopy-ftir-in-the-gemological-field/>  
[https://microbiologynote.com/el/infrared-ir-spectroscopy-principle-instrumentation-application/#Principle\\_of\\_IR\\_Spectroscopy](https://microbiologynote.com/el/infrared-ir-spectroscopy-principle-instrumentation-application/#Principle_of_IR_Spectroscopy)  
Calibration models for routine analysis of cider by mid-infrared spectroscopy  
<https://eclass.uniwa.gr/modules/document/index.php?course=WVBS269&openDir=/5c81c121nUPw>  
<https://www.onlinebiologynotes.com/beer-production-process/>  
<https://www.ift.org/news-and-publications/food-technology-magazine/issues/2017/november/columns/processing-beer>  
<https://www.britannica.com/topic/beer>  
<https://www.asbcnet.org/methods/pages/default.aspx>

#### Διαδίκτυο

[www.kombuchabrewers.org/kombucha-code-of-practice.com](http://www.kombuchabrewers.org/kombucha-code-of-practice.com)  
[www.ellinikienosizithopoion.gr](http://www.ellinikienosizithopoion.gr)  
[www.aade.gr](http://www.aade.gr)  
[www.zythopedia.eu](http://www.zythopedia.eu)  
[www.beer.gr](http://www.beer.gr)  
[www.czechbrewersystem.com](http://www.czechbrewersystem.com)  
[www.gea.com](http://www.gea.com)

