



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
Τμήμα Οίνου, Αμπέλου και Ποτών

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΤΟ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΩΝ ΖΥΘΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

Δελαπόρτας Παναγιώτης
Τσολακίδης Κωνσταντίνος

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

Δρόσου Φωτεινή

ΑΙΓΑΛΕΩ 2022

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

Δρόσου Φωτεινή: Ακαδημαϊκή Υπότροφος.

Κουσίση Ελισάβετ: Επίκουρη Καθηγήτρια Οργανοληπτικής Αξιολόγησης και Σύστασης Οίνου, Ζύθου και Ποτών.

Ντουρτόγλου Ευθαλία: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οργανική Χημεία & Ενζυμολογία. Διευθύντρια Τομέα Χημείας και Τεχνολογίας Οίνου, Ζύθου και Ποτών.

Δήλωση Συγγραφέων Πτυχιακής Εργασίας

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Τσολακίδης Κωνσταντίνος του Κυριάκου, με αριθμό μητρώου 718171102 και Δελαπόρτας Παναγιώτης του Κυριάκου, με αριθμό μητρώου 718171022, φοιτητές του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου & Ποτών, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

« Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε 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, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση των πτυχίων μας».

Οι Δηλούντες

Τσολακίδης Κωνσταντίνος

&

Δελαπόρτας Παναγιώτης



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε ιδιαίτερα την κυρία Δρόσου Φωτεινή, επιβλέπουσα της παρούσας εργασίας, για την εμπιστοσύνη που μας έδειξε αναθέτοντάς μας το συγκεκριμένο θέμα. Θα θέλαμε επίσης να την ευχαριστήσουμε για την υποστήριξη αλλά και καθοδήγησή της και την υπομονή που έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας για την πραγματοποίηση και ολοκλήρωση της. Τέλος θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τις οικογένειές μας και τους φίλους μας για την συνεχή στήριξή τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μία από τις σημαντικότερες έρευνες, η οποία παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία της ζυθοποιίας, είναι η χρήση των non-*Saccharomyces* ζυμών. Οι ζύμες αυτές έχουν τη δυνατότητα να παράξουν μπίρες με ενισχυμένο αρωματικό προφίλ είτε ως μονοκαλλιέργειες είτε σε μικτή καλλιέργεια με *Saccharomyces cerevisiae*.

Μερικοί από τους παράγοντες, που επηρεάζουν την εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων είναι το στέλεχος του ζυμομύκητα και οι αναλογίες τους σε περίπτωση μικτών καλλιεργειών, η θερμοκρασία της ζύμωσης και ο χρόνος παλαίωσης στη φιάλη. Το αντικείμενο της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν η εξέταση αυτών των παραγόντων σε δείγματα ζύθων τύπου American Pale Ale. Τα στελέχη των ζυμομυκήτων, που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής: δύο στελέχη *Torulaspora delbrueckii* 291 (T.d. 291) και *Prelude* (*Prelude*) καθώς και ένα στέλεχος *Metschnikowia pulcherrima* (M.p.). Αναλυτικότερα, οι μπίρες ζυμώθηκαν με τις μονοκαλλιέργειες των S.c. US-05, T.d 291, *Prelude* και M.p. Επιπλέον μελετήθηκαν και οι μικτές καλλιέργειες των στελεχών S.c US-05 και T.d. σε αναλογία 1:10 καθώς και των S.c US-05 και M.p. σε αναλογίες 1:1 και 1:10. Όλες οι προαναφερθείσες ζυμώσεις συγκρίθηκαν με το συμβατικό σακχαρομύκητα. Οι θερμοκρασίες ζύμωσης που επιλέχθηκαν ήταν 20 °C και 13 °C. Τέλος, τα δείγματα πάρθηκαν σε τακτά χρονικά διαστήματα και πιο συγκεκριμένα μετά από 1 εβδομάδα, 1 μήνα, 6 μήνες, 1 έτος και 2 έτη παλαίωσης.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που αναλύθηκαν, οι κύριες κατηγορίες των αρωματικών ενώσεων παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στους 20 °C και ταυτόχρονα σημαντικότερη εξέλιξη στο χρόνο. Συγκεκριμένα, οι ανώτερες αλκοόλες, όπως η φαινυλαιθανόλη, η ίσο-αμυλική αλκοόλη, η ενεργός αμυλική αλκοόλη, η τρυπτοφόλη και η τυροσόλη παρήχθησαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στη μικτή ζύμωση του στελέχους *T. delbrueckii* 291 στους 6 μήνες παλαίωσης, συνεισφέροντας έτσι στο αρωματικό προφίλ του ζύθου με αρώματα λουλουδιών (κυρίως τριαντάφυλλου) και άρωμα αμύγδαλου. Ωστόσο, ακολούθησε μείωση αυτών στον 1 χρόνο παλαίωσης, λόγω της οξειδωσής τους, ενώ στα δύο χρόνια η αύξηση των ανώτερων αλκοολών πραγματοποιήθηκε λόγω της αυτόλυσης των ζυμών. Ταυτόχρονα, η Mix T.d είχε και τις μεγαλύτερες ποσότητες οξικού φαινυλαιθυλεστερά στη 1 εβδομάδα παλαίωσης, ενώ του οξικού ίσο-αμυλεστερά η Mix *Prelude* στη 1 εβδομάδα παλαίωσης. Έπειτα από αυτό το χρονικό διάστημα, ακολούθησε η μείωσή των οξικών εστέρων, λόγω της υδρόλυσής τους προς τις αντίστοιχες ανώτερες αλκοόλες και οξικό οξύ. Κανένας από τους δύο εστέρες δεν ξεπέρασε το όριο ανίχνευσης του. Παράλληλα, η ζύμωση της καθαρής καλλιέργειας *Metschnikowia pulcherrima* παρουσίασε την υψηλότερη συγκέντρωση λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας (MCFA) στους 20 °C στους 6 μήνες παλαίωσης. Ταυτόχρονα, η ίδια ζύμωση παρουσίασε στον ίδιο χρόνο παλαίωσης και στην ίδια θερμοκρασία τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των αντίστοιχων εστέρων. Η συμβολή των τροπικών αρωμάτων από τους MCFA εστέρες έχει ως αποτέλεσμα έναν ζύθο με πιο ενισχυμένο και πολύπλοκο αρωματικό προφίλ. Όπως στους οξικούς εστέρες, έτσι, και στην περίπτωση των MCFA εστέρων παρατηρήθηκε μείωση, λόγω της υδρόλυσης τους προς τα αντίστοιχα λιπαρά οξέα και την αιθανόλη. Στην περίπτωση της 4-βινύλ-γουαϊακόλης, η οποία συνεισφέρει με άρωμα γαρύφαλλου, όντας μία από τις κυριότερες εκπροσώπους των πτητικών φαινολικών ενώσεων, εντοπίστηκε η μεγαλύτερη ποσότητα στις ζυμώσεις της καθαρής M.p. και της Mix T.d 291 στους 20 °C

στους 6 μήνες παλαίωσης στη φιάλη. Έπειτα από αυτό το χρονικό διάστημα, παρατηρήθηκε, η μείωσή της, που επαληθεύει την τάση της να μειώνεται κατά τη πάροδο του χρόνου. Συμπερασματικά, οι ζυμώσεις που πραγματοποιήθηκαν από τη μικτή καλλιέργεια *T. delbrueckii* 291 και τη καθαρή καλλιέργεια *Metschnikowia pulcherrima* στους 20 °C κατά τη χρονική περίοδο παλαίωσης των 6 μηνών, κατέγραψαν τη καλύτερη εξέλιξη των αρωματικών τους ενώσεων.

ABSTRACT

One of the most important research projects, which is of great interest for the brewing industry, is the use of non-*Saccharomyces* yeasts. These yeasts have the potential to produce higher quality beers with enhanced aromatic profiles either in monoculture or in mixed culture fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*.

The most important factors that affect the evolution of specific volatile compounds are the yeast strain and their proportions in case of mixed cultures, the temperature of the fermentation and the ageing in the bottle. The subject of our thesis, was to examine those factors in American Pale Ale beer samples. The yeast strains used were two strains of *Torulaspora delbrueckii* 291 (T.d 291) and Prelude (Prelude) as well as a strain of *Metschnikowia pulcherrima* (M.p.). More specifically, the beers were fermented with the monocultures of S.c. US-05, T.d 291, T.d Prelude and M.p. as well as with mixed cultures of S.c. US-05 and T.d strains in ratio of 1:10. and of S.c. US-05 and M.p. in two ratios 1:1 and 1:10. All the aforementioned fermentations were compared to the *S. cerevisiae* strain. The fermentation temperatures were 20 °C and 13 °C. Last but not least, samples were taken at regular intervals and more specifically after 1 week, 1 month, 6 months, 1 year and 2 years.

According to the results, the concentrations of volatile compounds at 20 °C showed the greatest evolution over time. In particular, the higher alcohols such as phenyl ethanol, iso-amyl alcohol, active amyl alcohol, tryptophol and tyrosol were produced in higher concentrations during 6 months by Mix T.d 291 fermentation. A decrease was observed during the first year of ageing due to oxidation, while in the second year an increase was observed due to the autolysis of the yeasts. Meanwhile, Mix T.d showed the highest amounts of phenyl acetate during the first week of ageing at 20 °C, while Mix Prelude presented the highest amounts of iso-amyl acetate. After this period, their reduction followed, due to their hydrolysis to the corresponding higher alcohols and acetic acid. The fermentations of pure M.p. showed the highest amount of medium chain fatty acids (MCFA) at 20 °C at 6 months of ageing. The same fermentation showed the highest concentrations of the respective esters as well. Similar to the acetate esters, the MCFA esters were also observed to be reduced due to hydrolysis to their corresponding fatty acids and ethanol. In the case of 4-vinylguaiacol its highest concentration was detected in the pure fermentation of M.p. and in the Mix of T.d 291 at 20 °C during the 6 months, followed up by a reduction, which confirms the tendency of this compound to decrease over time. In conclusion, the fermentations of Mix T.d. 291 and pure M.p. at 20 °C during the 6 months of ageing recorded the highest values in their volatile compounds.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT	5
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	8
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	10
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	13
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	14
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	16
1. Επισκόπηση της παραγωγής μπίρας	16
1.1. Σύντομη ιστορία του ζύθου	16
1.2. Τα βασικά συστατικά της μπίρας	17
1.3. Τα βασικά στάδια παραγωγής της μπίρας.....	24
1.4. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της μπίρας	27
1.5. Χαρακτηριστικά μπίρας τύπου American Pale Ale	30
2. Ζύμες <i>Saccharomyces</i> & <i>Non-Saccharomyces</i>	32
2.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33
2.2. <i>Torulaspora delbrueckii</i>	35
2.3. <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	37
3. Οι σημαντικότερες παραγόμενες αρωματικές ενώσεις.....	39
3.1. Ανώτερες αλκοόλες	40
3.2. Οργανικά οξέα	44
3.3. Εστέρες.....	46
3.4. Καρβονυλικές ενώσεις	50
3.5. Θειούχες ενώσεις.....	51
3.6. Φαινολικές ενώσεις	52
3.7. Εξέλιξη του αρωματικού προφίλ κατά τη παλαίωση του ζύθου	53
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	61
Στελέχη ζυμομυκήτων.....	61
Εκχύλιση και ανάλυση πτητικών ενώσεων.....	61
Ανάλυση GC-MS (Gas chromatography mass spectrometry)	61
Στατιστική ανάλυση	62

Παρουσίαση αποτελεσμάτων και σχολιασμός	63
Α. 1 Εβδομάδα Εμφιάλωσης.....	63
Β. 1 Μήνας Εμφιάλωσης.....	68
Γ. 6 Μήνες Εμφιάλωσης	73
Δ. 1 Χρόνος Εμφιάλωσης	78
Ε. 2 Χρόνια Εμφιάλωσης	83
ΣΤ. Εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων των στελεχών της <i>Torulasporea delbrueckii</i> στον χρόνο	87
Ζ. Εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων των στελεχών της <i>Metschnikowia pulcherrima</i> στον χρόνο ...	96
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	104
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	106
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	121

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Η μπίρα και μερικά από τα συστατικά της (The Daily Meal, 2021)

Εικόνα 2: Η κατανάλωση της μπύρας στην Αρχαία Αίγυπτο (Pinterest)

Εικόνα 3: Η παράδοση των μοναχών στην παραγωγή και κατανάλωση ζύθου (Portland Mercury, 2019)

Εικόνα 4: Τα τέσσερα βασικά συστατικά της μπίρας (Beer Cartel, 2016)

Εικόνα 5: Το νερό στη μπίρα (CraftBeer.com, 2018)

Εικόνα 6: Βύνη από κριθάρι (κάτω) και σιτάρι (δεξιά) (Nestle Cereals, 2022)

Εικόνα 7: Άνθη λυκίσκου και pellets λυκίσκου (Andrew Campbell, 2022)

Εικόνα 8: Διάγραμμα φάσεων ανάπτυξης των ζυμομυκήτων. Λανθάνουσα φάση → Φάση επιτάχυνσης → Εκθετική φάση → Φάση επιβράδυνσης → Φάση στασιμότητας → Φάση θανάτου (Lazib, 2015)

Εικόνα 9: Απεικόνιση ζυμομυκήτων ζυθοποίησης (*S. cerevisiae*) σε μικροσκόπιο, που αποτελούνται από μεμονωμένα βλαστικά κύτταρα. Θυγατρικά κύτταρα παρατηρούνται να σχηματίζονται από τα μητρικά κύτταρα. Μεγέθυνση 6250 × (Pinterest)

Εικόνα 10: Διαφορετικά είδη βύνης (Southaustinarewery.com, 2022)

Εικόνα 11: Η διαδικασία της ζυθοποίησης (BreewSavor, 2019)

Εικόνα 12: Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ζύθου (χρώμα, διαύγεια, άρωμα, γεύση, αίσθηση στόματος) (Beervana, 2020)

Εικόνα 13: American Pale ale σε ποτήρι (Kegarator, 2015)

Εικόνα 14: Sierra Nevada Pale Ale (Wikipedia)

Εικόνα 15: Deschutes Mirror Pond Pale Ale (The Liquor Store & Wine Loft Jackson Hole)

Εικόνα 16: Daisy Cutter Pale Ale (Craft Beer & Brewing)

Εικόνα 17: Great Lakes Burning River Pale Ale (West Lakeview Liquors)

Εικόνα 18: Τα κύρια χαρακτηριστικά ενός ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* (Walker, 1998; Walker, 2011)

Εικόνα 19: Κύτταρα *Saccharomyces cerevisiae* σε μικροσκόπιο (μεγέθυνση 600 ×). Χρήση χρώσης μπλε του μεθυλενίου για τη διαφοροποίηση των ενζυμικά ενεργών κυττάρων από τα νεκρά (βαμμένα μπλε) (B.M.Sharga et al., 2017)

Εικόνα 20: Καλλιέργεια in vitro *Torulaspora delbrueckii* (Alchetron, 2018)

Εικόνα 21: Κύτταρα *Torulaspora delbrueckii* σε μικροσκόπιο (Eureka Brewing, 2014)

Εικόνα 22: Κύτταρα *Metschnikowia pulcherrima* σε μικροσκόπιο (Fernandez, et al., 2000)

Εικόνα 23: Κύτταρα *Metschnikowia pulcherrima* σε μεγαλύτερη μεγέθυνση (Dato' DR Anuar, 2020)

Εικόνα 24: Παραγωγή των ανώτερων αλκοολών και τα αρώματα τους μέσω της διαδικασίας Ehrlich pathway (Godoy et al., 2020)

Εικόνα 25: Παραγωγή των εστέρων στον ζυμομύκητα. Αριστερά: γενικό σχήμα παραγωγής των δύο κατηγοριών εστέρων. (A) οξικοί εστέρες, (B) εστέρες λιπαρών οξέων. Δεξιά: παραδείγματα κάποιων από τους πιο σημαντικούς εστέρες και τα αρωματικά χαρακτηριστικά τους (Dzialo et al., 2017)

Εικόνα 26: Οργανοληπτικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της παλαίωσης του ζύθου σύμφωνα με τον Dagiiesh (1977)

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20°C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 2: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 3: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 4: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 5: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 6: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20°C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 7: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 8: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 9 : Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 10: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 11: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20°C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 12: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 13: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 14: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 15: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 16: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 17: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 18: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 19: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 20: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 21: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 22: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 23: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 24: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 25: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις

Διάγραμμα 26: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 27: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 28: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 29: Συγκεντρώσεις 4-βινυλ-γουαϊακόλης, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή της στον χρόνο

Διάγραμμα 30: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 31: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 32: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 33: Συγκεντρώσεις οξικών οξέων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 34: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 35: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

Διάγραμμα 36: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Πίνακας αντιστοίχισης των σημαντικότερων πτητικών ενώσεων με τον συντακτικό τους τύπο, το κατώφλι αντίληψης και τη χαρακτηριστική τους οσμή

Πίνακας 2: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στη 1 εβδομάδα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspota delbrueckii*.

Πίνακας 3: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 μήνα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspota delbrueckii*.

Πίνακας 4: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στους 6 μήνες παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspota delbrueckii*.

Πίνακας 5: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 χρόνο παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspota delbrueckii*.

Πίνακας 6: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στα 2 χρόνια παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspota delbrueckii*.

Πίνακας 7: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στη 1 εβδομάδα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

Πίνακας 8: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 μήνα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

Πίνακας 9: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στους 6 μήνες παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

Πίνακας 10: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 χρόνο παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

Πίνακας 11: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στα 2 χρόνια παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μπίρα είναι ένα αλκοολούχο ποτό, προϊόν ζύμωσης, το οποίο κατά πάσα πιθανότητα δημιουργήθηκε τυχαία χιλιάδες χρόνια πριν και υπήρξε από τότε στενά συνδεδεμένη με την ανθρώπινη κοινωνία. Παρόλο που έχει επέλθει μια τεράστια τεχνολογική εξέλιξη στο τομέα παραγωγής της, η φιλοσοφία που την συνδέει με την αρχαιότητα παραμένει σχεδόν ίδια.

Ως μπίρα ορίζεται ένα ζυμούμενο, αλκοολούχο ποτό βασισμένο σε αμυλούχες πρώτες ύλες και αρωματισμένο με λυκίσκο. Αυτός ο απλός ορισμός περιλαμβάνει τα τέσσερα απαραίτητα συστατικά, τα οποία είναι το Νερό, η Βύνη, οι Ζύμες και ο Λυκίσκος. Η βύνη συνήθως προέρχεται από κριθάρι, αλλά μπορεί να υποκατασταθεί μερικώς από επιπρόσθετα πλούσια σε άμυλο, όπως το ρύζι, η αραβόσιτος ή το σιτάρι.

Η λέξη μπίρα είναι πολύ πιθανόν να πηγάζει από την αγγλοσαξονική λέξη *bjorr*, αν και αυτό δεν έχει επαληθευτεί ακόμα (Νερατζής et al., 2014). Από τα αρχικά στάδια της ιστορίας της, μέχρι το μεγαλύτερο μέρος της, καταναλωνόταν κυρίως από τον αγροτικό πληθυσμό, καθώς αποτελούσε ένα από τα βασικά στοιχεία της διατροφής τους. Ωστόσο, πλέον η παραγωγή μπίρας έχει εξελιχθεί σε μια συνεχώς αναπτυσσόμενη βιομηχανία λόγω της αυξημένης ζήτησης από το ευρύ καταναλωτικό κοινό, έχοντας έρθει σε σημείο να ανταγωνίζεται τα υπόλοιπα επώνυμα αλκοολούχα ποτά σε παγκόσμιο επίπεδο.

Στη πραγματικότητα υπάρχουν χιλιάδες είδη μυρών στο κόσμο λόγω των διαφορετικών χαρακτηριστικών που τις απαρτίζουν, αλλά όλες εντάσσονται στις βασικές κατηγορίες μπίρας οι οποίες είναι οι Αφροζύμωτες (Ale) και οι Βυθοζύμωτες (Lager). Αυτές διαφέρουν σημαντικά ως προς τον ζυμομύκητα παραγωγής, την θερμοκρασία ζύμωσης, και τον χρόνο μεταζύμωσης. Όλες οι ζύμες που χρησιμοποιούνται για την ζυθοποιία, ανήκουν στο γένος *Saccharomyces*. Έτσι οι αφροζύμωτες μπύρες παράγονται από το είδος *S. cerevisiae* σε θερμοκρασία 15-23°C και η μεταζύμωση διαρκεί μικρό χρονικό διάστημα. Αντιθέτως οι βυθοζύμωτες μπύρες ζυμώνονται από τον ζυμομύκητα *S. carlsbergensis* σε θερμοκρασίες μεταξύ 6-12°C και η μεταζύμωση διαρκεί μερικούς μήνες. Ωστόσο, υπάρχει και μια ακόμη κατηγορία, οι μπύρες Φυσικής ή Αυθόρμητης Ζύμωσης (Lambic). Εδώ ανήκουν οι μπύρες που προέρχονται από αυθόρμητη ζύμωση με “άγριες ζύμες” του περιβάλλοντος, χωρίς την προσθήκη άλλου στελέχους, σε ανοιχτά δοχεία, ενώ το μεταζυμωτικό στάδιο έχει πολύ μεγάλη διάρκεια.

Παρόλη την βαρύτητα των οικονομικών και τεχνικών ζητημάτων που επηρεάζουν την παραγωγή και το εμπόριο του ζύθου, είναι εξίσου σημαντική η αναγνώριση της ευρείας κατανάλωσης της. Από τη στιγμή που η μπίρα παράγεται για να καταναλωθεί, πρέπει να ληφθεί υπόψιν και η πλευρά της ζήτησης του καταναλωτικού κοινού. Δεδομένης της αυξανόμενης ζήτησης και της ανταγωνιστικότητας μεταξύ των ζυθοποιών, επέρχεται η ανάγκη βελτίωσης της ποιότητας και πολυπλοκότητας της μπίρας, έννοιες που είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με το αρωματικό προφίλ της. Εκτός από τα τέσσερα κύρια συστατικά που συνεισφέρουν σε αυτό, είναι αρκετοί οι παράγοντες που συντελούν και αυτοί στη διαμόρφωση του.



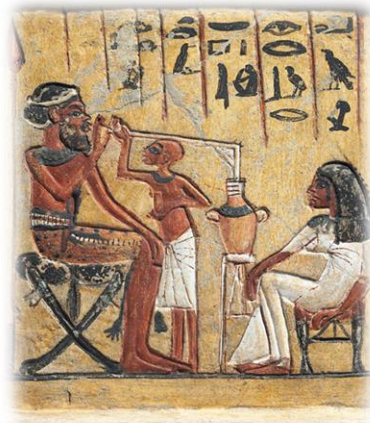
Εικόνα 1: Η μπίρα και μερικά από τα συστατικά της (The Daily Meal, 2021)

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Επισκόπηση της παραγωγής μπίρας

1.1. Σύντομη ιστορία του ζύθου

Μερικοί ιστορικοί ισχυρίζονται ότι ποτά, όπως η μπίρα, παρήχθησαν στη Κίνα ήδη από το 7000 π.Χ. (Bai et al., 2012), όμως οι πρώτες γραπτές αναφορές που αφορούν την κατανάλωση μπίρας, χρονολογούνται από το 2800 π.Χ. στην Μεσοποταμία. Παρόλα αυτά υπάρχουν ισχυρές αποδείξεις ότι η μπίρα γεννήθηκε ήδη από το 9000 π.Χ. κατά την διάρκεια της Νεολιθικής Εποχής (Hornsey, 2004). Ωστόσο, το 2000 π.Χ. μετά την καταστροφή του πολιτισμού των Σουμέριων, αναπτύσσεται ο πολιτισμός των Βαβυλώνιων, οι οποίοι παρήγαγαν 20 διαφορετικά είδη ζύθου (Νερατζής et al., 2014). Από τη Μεσοποταμία η κουλτούρα της μπίρας εξαπλώθηκε στην Αίγυπτο κατά το 3000 π.Χ.



Εικόνα 2: Η κατανάλωση της μπίρας στην Αρχαία Αίγυπτο (Pinterest)

Έπειτα από τους Αιγύπτιους, ακολούθησε η άνθηση της παραγωγής ζύθου στην Αρχαία Ελλάδα και σε όλη την επικράτεια της Ρωμαϊκής αυτοκρατορίας, στην οποία το θεωρούσαν το ποτό των βαρβάρων και τον οίνο το ποτό των Θεών. Στις επαρχίες της γινόταν μόνο η παραγωγή ζύθου, λόγω της οικονομικής δυσχέρειας, που συναντούσαν στην παραγωγή οίνου (Νερατζής et al., 2014). Πριν την επέκταση την Ρωμαϊκής αυτοκρατορίας, η μπίρα ήταν το κυρίαρχο αλκοολούχο ποτό όλων των Κελτών της Γαλλίας, Ισπανίας, Πορτογαλίας, Βρετανίας, Γερμανίας και του Βελγίου. Έπειτα, μαζί με την επέκταση της Ρωμαϊκής αυτοκρατορίας, ήρθε και η ανάπτυξη της κουλτούρας του κρασιού (Nelson, 2003). Όταν οι Ρωμαίοι, όμως, άρχισαν να χάνουν εδάφη της Δυτικής Ευρώπης κυρίως από τις Γερμανικές δυνάμεις τον 5^ο αιώνα μ.Χ., η μπίρα επανέκτησε τη θέση της ως το κυρίαρχο αλκοολούχο ποτό.

Από τις αρχές του 12^{ου} αιώνα μόνο τα μοναστήρια παρήγαγαν ζύθο ποσότητες εμπορικής κλίμακας (Hornsey, 2004), ο οποίος διακρινόταν για την υψηλή του ποιότητα, γεγονός που τον καθιστούσε αρκετά ελκυστικό στους καταναλωτές (Νερατζής et al., 2014). Οι μοναχοί ξεκίνησαν να παράγουν περισσότερη μπίρα από όση μπορούσαν να καταναλώσουν ή να προσφέρουν στους προσκυνητές, τους άπορους και τους καλεσμένους. Έτσι ξεκίνησαν να την πωλούν ως προϊόν του μοναστηριού (Rabin and Forget, 1998), όμως το 1368 με 1437 μ.Χ. σημειώθηκε μια συνεχής μείωση στην παραγωγή της λόγω των υψηλών φόρων (Νερατζής et al., 2014). Ωστόσο, τα θεμέλια της βιομηχανίας ζύθου τέθηκαν στα αναπτυσσόμενα αστικά κέντρα, όπου ξεκίνησαν να αναδεικνύονται οι μεγάλες αγορές.



Εικόνα 3: Η παράδοση των μοναχών στην παραγωγή και κατανάλωση ζύθου (Portland Mercury, 2019)

Το 14^ο αιώνα, η πόλη της Βρέμης αποτελούσε τον κύριο προμηθευτή ζύθου στην Ολλανδία, την Αγγλία και τις Σκανδιναβικές χώρες και κατά το 1500 μ.Χ. το Αμβούργο αναπτύχθηκε σε μεγάλο κέντρο παραγωγής μπίρας. Έπειτα από 16 χρόνια, το κριθάρι, το νερό και ο λυκίσκος καθιερώθηκαν ως τα κύρια συστατικά του ζύθου, ενώ η χρήση των ζυμών δεν ήταν ακόμη γνωστή. Το 1864 μ.Χ. ιδρύθηκε το πρώτο εργοστάσιο μπίρας στην Ελλάδα από τον Ιωάννη Φιξ. Επιπροσθέτως, από το 1800 μ.Χ. υπήρχαν τουλάχιστον 150 ζυθοποιία στις ΗΠΑ, ενώ ήδη από τις αρχές του 18^{ου} αιώνα το Λονδίνο αποτελούσε ένα σημαντικό κέντρο υψηλής παραγωγής και κατανάλωσης ζύθου. Τέλος, η βιομηχανική παραγωγή ζύθου εξαπλώθηκε στον Νέο Κόσμο το 1542 μ.Χ. με την ίδρυση της πρώτης βιομηχανίας ζύθου στο Μεξικό (Νερατζής et al., 2014).

1.2. Τα βασικά συστατικά της μπίρας

Αν και υπάρχουν μπίρες που παράγονται με επιπρόσθετα συστατικά όπως φλούδες πορτοκαλιού, κανέλα, διάφορα φρούτα και μούρα, υπάρχουν μόνο τέσσερα απαραίτητα συστατικά που συνθέτουν όλες τις μπίρες, το Νερό, η Βύνη, ο Λυκίσκος και οι Ζύμες.



Εικόνα 4: Τα τέσσερα βασικά συστατικά της μπίρας (Beer Cartel, 2016)

1.2.1. Το νερό

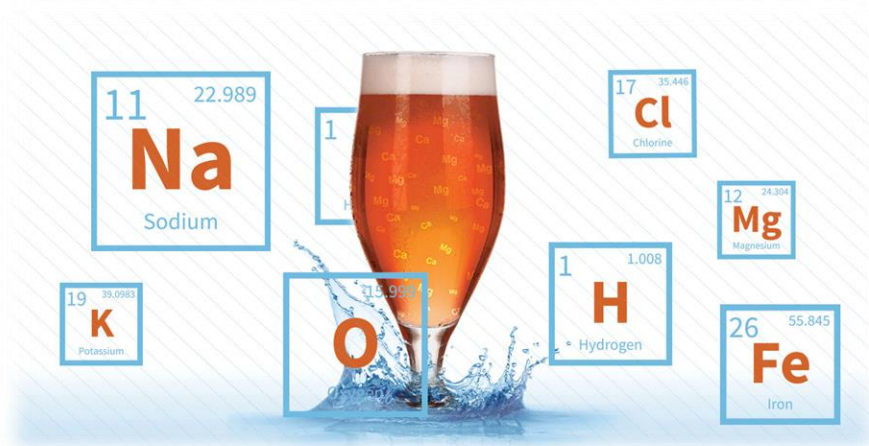
Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία πως το νερό είναι το κύριο συστατικό της μπίρας το οποίο βρίσκεται σε ποσοστό 90% (Νερατζής et al., 2014). Το νερό είναι το πρωτεύον ακατέργαστο υλικό, το οποίο, εκτός από το να συμβάλλει άμεσα ως συστατικό για την παραγωγή της, χρησιμοποιείται και στη διαδικασία της ίδιας της παραγωγής, στον καθαρισμό, το πλύσιμο, ξέπλυμα και για την τροφοδότηση των λεβήτων για την παραγωγή ατμού.

Έτσι η ποιότητα του νερού θα καθορίσει την ποιότητα της μπίρας, οπότε πρέπει να ελέγχεται από την νομοθεσία. Πρέπει να είναι πόσιμο, απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς, καθώς και ελεγμένο από χημικές και μικροβιακές αναλύσεις. Επιπροσθέτως τα διαφορετικά στιλ μπίρας χρειάζονται διαφορετικό τύπο νερού ως προς την σύστασή του.

Κατ' επέκταση, το νερό πρέπει να επεξεργάζεται προηγουμένως για να είναι έτοιμο για χρήση. Η επεξεργασία αυτή περιλαμβάνει την αφαίρεση αιωρούμενων στερεών, τη μείωση των ανεπιθύμητων μεταλλικών στοιχείων και την εξάλειψη τυχόν μικροβιακής μόλυνσης. Συνεπώς, τα διάφορα μεταλλικά ιόντα θα επηρεάσουν την διαδικασία παραγωγής ή την τελική γεύση του ζύθου με διαφορετικό τρόπο.

Για παράδειγμα, οι θειούχες ενώσεις αυξάνουν την σκληρότητα και την ξηρότητα, όμως ευνοεί το αρωματικό μπουκέτο του λυκίσκου. Επίσης, το χρώμα και η γεύση του ζύθου ενδέχεται να επηρεαστούν από υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου και μαγγανίου. Τα ιόντα χλωρίου προσδίδουν την αίσθηση του γεμάτου στόματος, καθώς και την γλυκιά γεύση. Τα ιόντα μαγνησίου σε υψηλές συγκεντρώσεις δίνουν την γεύση του πικρού και του ξινού, ενώ τα ιόντα καλίου του αλμυρού.

Από τα υπόλοιπα μεταλλικά ιόντα το ασβέστιο είναι ίσως εκείνο που έχει την μεγαλύτερη σημασία, καθώς προστατεύει την α -αμυλάση από την πρόωρη αδρανοποίηση της, χαμηλώνοντας το pH προς την βέλτιστη ενζυματική ενεργότητα (Comrie, 1967). Επιπλέον, συνεισφέρει δραματικά στην διαδικασία της ζύμωσης από την στιγμή που κρίνεται απαραίτητο για την κροκίδωση των ζυμών (Stratford, 1989). Τέλος, η ανάπτυξη των ζυμών και η διαδικασία ζύμωσης αυτή καθ' αυτή ευνοείται από τα ιόντα ψευδαργύρου, ενώ παρακωλύεται από τα νιτρικά ιόντα.



Εικόνα 5: Το νερό στη μπίρα (CraftBeer.com, 2018)

1.2.2. Η βύνη

Σε διάφορα μέρη του κόσμου, ως πρώτη ύλη για την παραγωγή ζύθου ανά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί δημητριακά όπως το σιτάρι, ο αραβόσιτος, η σίκαλη, καθώς επίσης και χυμοί φρούτων αλλά και γλυκαντικές ύλες, όπως το μέλι και η σακχαρόζη. Κυρίως, όμως, έχει επικεντρωθεί η προσοχή στο κριθάρι το οποίο έχει καθιερωθεί ως η κατ' εξοχήν πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται σε μεγαλύτερο ποσοστό για την παραγωγή ζύθου (Νερατζής et al., 2014).

Υπάρχουν δύο είδη κριθαριού που χρησιμοποιούνται στην ζυθοποίηση, το δίστιχο και το εξάστιχο. Ο σημαντικότερος διαχωρισμός μεταξύ τους είναι η περιεκτικότητα του κριθαριού σε άμυλο και πρωτεΐνη, και το κατάλληλο είναι αυτό που έχει μικρή ποσότητα πρωτεΐνης και είναι πλούσιο σε άμυλο (Wunderlich and Back, 2009).

Ωστόσο, για την παραγωγή ενός ζύθου η πρώτη ύλη είναι η βύνη η οποία προκύπτει μέσω της διαδικασίας της βυνοποίησης από τα διάφορα δημητριακά, η οποία θα αναφερθεί σε επόμενο κεφάλαιο. Η βύνη κριθαριού είναι αυτή που ξεχωρίζει λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε ένζυμα και είναι ποιοτικά ανώτερη. Ανάμεσα στις προϋποθέσεις που πρέπει να πληροί, οι κυριότερες είναι η χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (10% - 12%), η υψηλή εκχυλισματική απόδοση επί ξηράς ουσίας (76% - 86%), η χαμηλή υγρασία (2% - 3%) και να είναι απαλλαγμένη από ξένες ύλες (Ταταρίδης, 2018).

Στη παραγωγή χρησιμοποιούνται οι βύνες βάσης, οι οποίες βρίσκονται στο μεγαλύτερο ποσοστό σε μια συνταγή και προσδίδουν τα απαραίτητα ένζυμα, το μεγαλύτερο μέρος του εκχυλίσματος και λίγο χρώμα και γεύση. Οι ειδικές βύνες είναι αυτές που χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά οι οποίες προσδίδουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά όπως άρωμα, γεύση και χρώμα (Νερατζής et al., 2014). Ακόμα χρησιμοποιείται και μια διαφορετική αμυλούχα πηγή, τα πρόσθετα (adjuncts). Σκοπός της χρήσης τους είναι η μείωση του τελικού κόστους παραγωγής, η συνεισφορά σακχάρων καθώς και η βελτίωση του χρώματος και του αρώματος της μπίρας. Τα πρόσθετα μπορούν κατά βάση να προέρχονται από αβυνοποίητα δημητριακά όπως κριθάρι, σιτάρι, ρύζι και αραβόσιτος ή από σάκχαρα όπως άμυλο, σουκρόζη και γλυκόζη (Poreda et al., 2014).

Η βύνη επιπλέον περιέχει δεξτρίνες, οι οποίες ανήκουν στο μη ζυμώσιμο εκχύλισμα και συμβάλουν στην δημιουργία ενός πλούσιου και ισορροπημένου σώματος, και πρωτεΐνες, οι οποίες δρουν θετικά στην σταθερότητα του αφρού.



Εικόνα 6: Βύνη από κριθάρι (κάτω) και σιτάρι (δεξιά) (Nestle Cereals, 2022).

1.2.3. Ο λυκίσκος

Εάν η βύνη προσφέρει τα σάκχαρα, ο λυκίσκος προσφέρει την πικρή γεύση και το άρωμα στη μπίρα. Σε σύγκριση με το νερό και τη βύνη, ο λυκίσκος είναι από τα συστατικά που χρησιμοποιείται σε λιγότερη ποσότητα, αλλά κρίνεται σημαντική η συμβολή του στη τελική μπίρα. Οι παραγωγοί χρησιμοποιούν τα άνθη (κώνους) από τα θηλυκά φυτά του γένους *Humulus lupulus*. Καθώς υπάρχουν πολυάριθμες ποικιλίες αυτού του φυτού παντού στο κόσμο, είναι αναμενόμενο ότι η ποιότητα και τα χαρακτηριστικά θα ποικίλουν. (Νερατζής et al., 2014).

Εκτός της πικρής γεύσης που προσδίδει, ο λυκίσκος εξισορροπεί τη γλυκιά γεύση της βύνης, δίνει μία σπιρτάδα στον αρωματικό χαρακτήρα και άνθινο άρωμα καθώς και δρα ως φυσικό διαυγαστικό και παρέχει αντιβακτηριακή προστασία.

Δύο είναι οι κατηγορίες λυκίσκου που χρησιμοποιούνται στη ζυθοποιία και αυτές είναι σύμφωνα με το άρωμα και τη πικρική του δύναμη. Έτσι είτε με βάση το άρωμα ή την πικράδα που θέλουμε να πετύχουμε μπορεί να προστεθεί στο τέλος ή στην αρχή του βρασμού αντίστοιχα κατά την παραγωγική διαδικασία. Τα α-οξέα και β-οξέα είναι υπεύθυνα για την πικράδα ενός λυκίσκου, ενώ το άρωμα είναι συνδεδεμένο με αιθέρια έλαια. Τα α-οξέα κατά την διάρκεια του βρασμού του βυνογλεύκου ισομεριώνονται σε ίσο-α-οξέα. Μέσω αυτής της μετατροπής σημειώνεται αύξηση της διαλυτότητας τους, καθώς και ενεργοποίηση της πικράδας του λυκίσκου, διότι τα ίσο-α-οξέα είναι εννιά φορές πιο πικρά από τα α-οξέα (Lewis & Bamforth, 2006).

Σήμερα, η χρήση ολόκληρων κώνων λυκίσκου είναι σπάνια και έχει καθιερωθεί η χρήση των πέλετς (pellets) και τα εκχυλίσματα λυκίσκου. Τα πέλετς παράγονται από ακατέργαστο λυκίσκο ο οποίος ξηραίνεται, αλέθεται, υφίσταται διαλογή, αναμιγνύεται και συμπιέζεται στα τελικά πέλετς. Από την άλλη τα εκχυλίσματα προκύπτουν από την εξαγωγή τους με αιθανόλη ή διοξείδιο του άνθρακα. Σε αυτές τις μορφές ο λυκίσκος είναι περισσότερο σταθερός, η χρήση τους είναι πιο αποτελεσματική,

αποθηκεύονται εύκολα, διατηρούνται για περισσότερο χρόνο όπως και έχουν διαφορετική χημική σύσταση από ότι οι κώνοι λυκίσκου (Νερατζής et al., 2014).



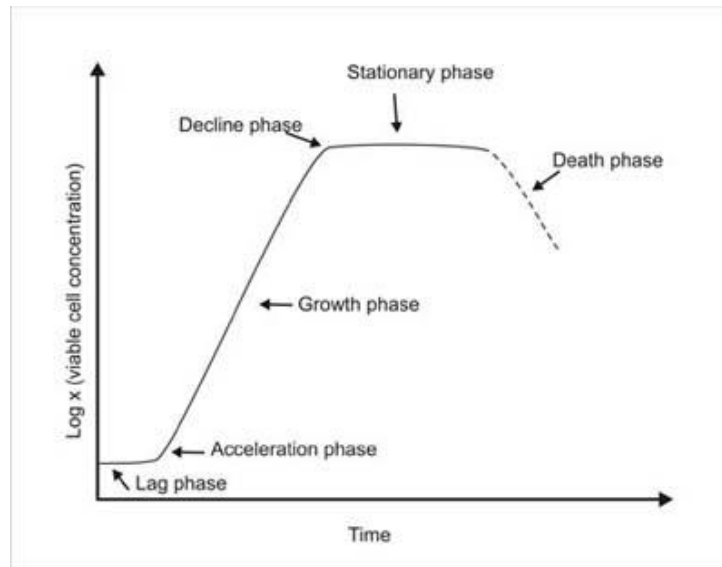
Εικόνα 7: Άνθη λυκίσκου και pellets λυκίσκου (Andrew Campbell, 2022)

1.2.4. Οι ζύμες

Το γένος *Saccharomyces* ακόμα και από τους αρχαίους χρόνους εμπλεκόταν στην διαδικασία της ζυθοποίησης, όμως οι άνθρωποι εκείνης της εποχής δεν γνώριζαν πως η αιτία που προκαλούταν η ζύμωση ήταν ζωντανά κύτταρα.

Μολονότι, ο Antoine van Leeuwenhoek υπήρξε ο πρώτος που εντόπισε τα κύτταρα των ζυμών μέσω ενός μικροσκοπίου το 1680, με βάση τις μετέπειτα έρευνες του Louis Pasteur ανακαλύφθηκε πώς οι υπεύθυνοι της μετατροπής του ζυθογλεύκου σε μπίρα ήταν οι ζυμομύκητες.

Οι ζυμομύκητες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί, οι οποίοι χωρίζονται σε ασκομύκητες και βασιδιομύκητες και αναπαράγονται με εκβλάστηση ή σχάση. Πλέον έχουν αναγνωριστεί 100 γένη τέτοιων μυκήτων, τα οποία περιλαμβάνουν πάνω από 700 είδη (Jolly, et al., 2006). Η ανάπτυξη των διαφόρων ειδών ζύμης αποτελείται από τις εξής τέσσερις φάσεις, την λανθάνουσα φάση, τη φάση εκθετικής ανάπτυξης, τη στατική φάση και τη φάση θανάτου.

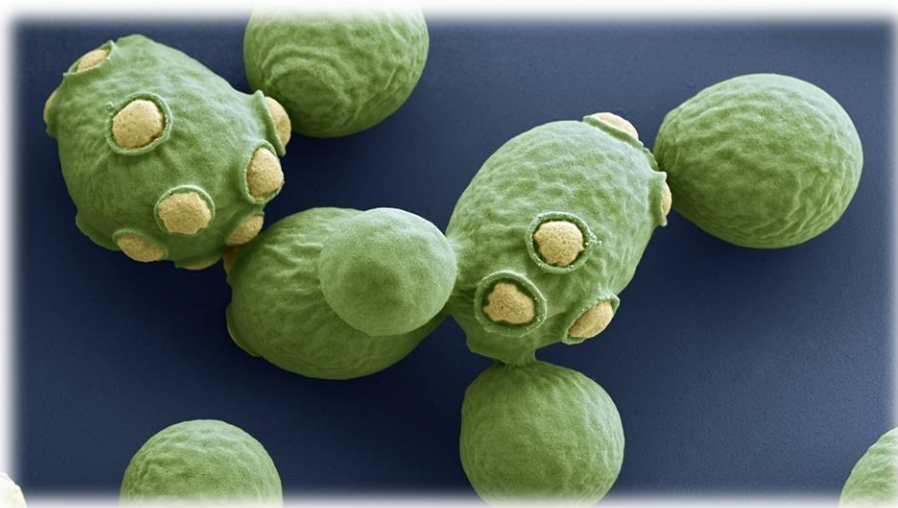


Εικόνα 8: Διάγραμμα φάσεων ανάπτυξης των ζυμομυκήτων. Λανθάνουσα φάση → Φάση επιτάχυνσης → Εκθετική φάση → Φάση επιβράδυνσης → Φάση στασιμότητας → Φάση θανάτου (Lazib, 2015)

Ανάλογα με τα δοκιμασμένα στελέχη, που χρησιμοποιούν, οι ζυθοποιοί τους έχουν δώσει εμπειρικά ονόματα, όπως ζύμη Ale και ζύμη Lager, ή αφροζύμη και βυθοζύμη (Lewis & Bamforth, 2006). Ωστόσο, ο E.G. Hansen από τη ζυθοποιία Carlsberg στη Δανία καθιέρωσε την χρήση επιλεγμένων στελεχών ζυμών ως καλλιέργειες εκκίνησης στη ζυθοποιία το 1883 και ήταν ο πρώτος που καθόρισε τις ζύμες ζυθοποιίας Ale και τη διάκριση τους από Lager ζύμες ζυθοποιίας (Rainieri et al., 2006). Οι δύο αυτές κατηγορίες διαφέρουν μεταξύ τους από τα φαινοτυπικά και γονοτυπικά τους χαρακτηριστικά. Οι αφροζύμες σχηματίζουν κυτταρικά συμπλέγματα μεταξύ τους και κατά την διάρκεια της ζύμωσης ανέρχονται στην επιφάνεια. Από τον περασμένο αιώνα οι Ale ζύμες έχουν ταξινομηθεί ως *S. cerevisiae*. Μεταβολίζουν γρήγορα τα σάκχαρα, σχηματίζουν έντονα αρώματα και οι καλύτερες θερμοκρασίες ζύμωσης κυμαίνονται από 16 έως 18-22°C (Ταταρίδης, 2018). Αντιστοίχως, οι βυθοζύμες, οι οποίες έχουν γίνει γνωστές με διάφορα ονόματα όπως *S. carlsbergensis*, *S. uvarum*, *S. pastorianus* και *S. cerevisiae*, συναντώνται ως μεμονωμένα κύτταρα ή και σε ζεύγη στο βυθό της δεξαμενής και οι καλύτερες θερμοκρασίες ζύμωσης είναι από 7 έως 15°C (Ταταρίδης, 2018). Η κύρια διαφορά τους με τις ζύμες Ale είναι η ικανότητά τους να διασπών το τρισακχαρίτη ραφινόζη του οποίου η διάσπαση δίνει την ιδιαίτερη οσμή Raffi, λόγω του ενζύμου μελιβιάση (α-γαλακτοσιδάση), η οποία διασπά τους δυο γλυκοσιδικούς δεσμούς μεταξύ των μονοσακχαριτών (Νερατζής et al., 2014).

Τόσο στην παραγωγή της μπίρας όσο και στην ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των ζυμών, υπάρχουν κάποιες συγκεκριμένες συνθήκες κάτω από τις οποίες οι ζύμες είναι πιο αποδοτικές όπως η θερμοκρασία, η ύπαρξη επαρκούς ποσότητας θρεπτικών συστατικών και παρουσία ή απουσία οξυγόνου. Ο ακριβής καθορισμός των συνθηκών ζύμωσης και της ποιότητας των ζυμών επιτρέπει στους ζυθοποιούς την παραγωγή ενός προϊόντος σταθερής ποιότητας, καθώς τα κύρια και δευτερεύοντα προϊόντα του μεταβολισμού τους κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της ωρίμανσης, συμβάλουν καθοριστικά στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του ζύθου (Ταταρίδης, 2018).

Τέλος, η χρήση μη συμβατικών στελεχών *Non-Saccharomyces* δεν ήταν αρχικά επιθυμητή καθώς προσέδιδαν χαρακτηριστικά παραλλαγμένα και μη επιθυμητά στο προϊόν και, διότι, η χρήση στελεχών *Saccharomyces* είχε ήδη καθιερωθεί. Παρόλα αυτά, πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει πως στελέχη άγριων και *Non-Saccharomyces* ζυμών, έχουν την ικανότητα στη πραγματικότητα να συνεισφέρουν θετικά στο τελικό προϊόν με διαφορετικά αρώματα και γεύσεις, είτε σε αναλογία 100% είτε σε συνδυασμό με στέλεχος *Saccharomyces* (Tataridis et al., 2013; Varela, 2016).



Εικόνα 9: Απεικόνιση ζυμομυκήτων ζυθοποίησης (*S. cerevisiae*) σε μικροσκόπιο, που αποτελούνται από μεμονωμένα βλαστικά κύτταρα. Θυγατρικά κύτταρα παρατηρούνται να σχηματίζονται από τα μητρικά κύτταρα. Μεγέθυνση 6250 × (Pinterest).

1.3. Τα βασικά στάδια παραγωγής της μπίρας

1.3.1. Βυνοποίηση

Για να παραχθεί η βύνη από τη χρησιμοποιούμενη αμυλούχα πηγή, όπως το κριθάρι, ακολουθείται μια διαδικασία η οποία ονομάζεται βυνοποίηση. Πρωταρχικός σκοπός του βυνοποιού είναι ο σχηματισμός ενζύμων.

➤ Παραλαβή:

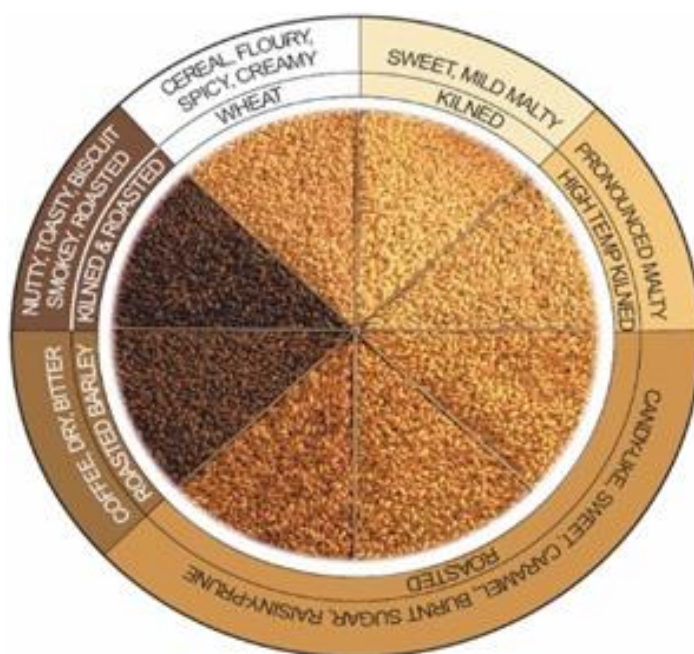
Αρχικά, πραγματοποιείται η παραλαβή της πρώτης ύλης, ο έλεγχός της, καθώς και οι διάφορες μηχανικές και χημικοτεχνικές αναλύσεις για την εξασφάλιση των κατάλληλων και επιθυμητών προδιαγραφών της. Έπειτα, καθαρίζεται, ταξινομείται κατά μέγεθος, ζυγίζεται και αποθηκεύεται.

➤ Διαβροχή - Βλάστηση:

Αναγκαία για την βλάστηση της πρώτης ύλης κρίνεται η αρχική διαβροχή της, με σκοπό την αύξηση της υγρασίας σε 40-48% με ταυτόχρονη παροχή οξυγόνου. Έτσι, επέρχεται η σύνθεση των απαραίτητων ενζύμων με την μικρότερη, όμως, δυνατότητα κατανάλωσης των αποθησαυριστικών ουσιών του σπόρου.

➤ Ξήρανση:

Εν συνεχεία, πραγματοποιείται η διακοπή της βλάστησης και του σχηματισμού των ενζύμων, καθώς και η αδρανοποίησή τους με την ξήρανση της βλαστημένης πρώτης ύλης. Σε αυτό το στάδιο σταθεροποιούνται οι χημικοβιολογικές μεταβολές, που διεξάχθηκαν στο στάδιο της βλάστησης και σχηματίζονται χαρακτηριστικά αρώματα και χρωστικές ουσίες ιδιαίτερα σημαντικές για τον καθορισμό του τελικού προϊόντος. Μετά το τέλος αυτής της διαδικασίας η αρχική πρώτη ύλη, που έχει μερικώς βλαστήσει, είναι πλούσιο σε ένζυμα και έχει ξηραθεί, έχει μετατραπεί σε βύνη (Ταταρίδης, 2018).



Εικόνα 10: Διαφορετικά είδη βύνης (Southaustinarewery.com, 2022)

1.3.2. Ζυθοποίηση

➤ Άλεση:

Μετά την παραλαβή της βύνης, ακολουθεί η άλεσή της με σκοπό την αύξηση της επιφάνειας της και την παροχή πρόσβασης στα ένζυμα για την μετέπειτα αποικοδόμηση και εκχύλιση των ουσιών στο στάδιο της πολτοποίησης.

➤ Πολτοποίηση:

Η συγκεκριμένη αναλογία προστιθέμενου νερού και αλεσμένης βύνης σε συνδυασμό με σωστή ρύθμιση της θερμοκρασίας και του pH καθορίζουν τα προϊόντα της αποικοδόμησης. Τα προϊόντα αυτά κατέχουν βασικό ρόλο για την ανάπτυξη των ζυμών και αποτελούν πρόδρομες ουσίες για τον σχηματισμό μερικών ιδιαίτερων χαρακτηριστικών της μπίρας.

➤ Διήθηση:

Στη συνέχεια, απομακρύνονται τα στερεά υπολείμματα της βύνης, γίνεται έκπλησή τους και παραλαμβάνεται ένα εκχύλισμα, που περιέχει όλες τις διαλυτοποιημένες ουσίες της βύνης, ζυμώσιμες και μη, το οποίο ονομάζεται βυνογλεύκος.

➤ Βρασμός:

Έπειτα, υποβάλλεται σε βρασμό με προσθήκη του επιλεγμένου λυκίσκου τη στιγμή όπου κρίνεται επιθυμητό. Κάποια σημαντικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα κατά την διάρκεια του βρασμού είναι η καταστροφή των ενζύμων και η δημιουργία του θερμού ιζήματος με την ταυτόχρονη ολική απομάκρυνση του. Επιπλέον, το πλέον ζυθογλεύκος, συμπυκνώνεται στην επιθυμητή πυκνότητα, αποστειρώνεται, απαλλάσσεται από ανεπιθύμητες οσμές και εμπλουτίζεται με διάφορες αρωματικές ουσίες.

➤ Ψύξη:

Αμέσως μετά, ψύχεται στη θερμοκρασία εμβολιασμού και απομακρύνεται μερικώς το ψυχρό θόλωμα.

➤ Ζύμωση:

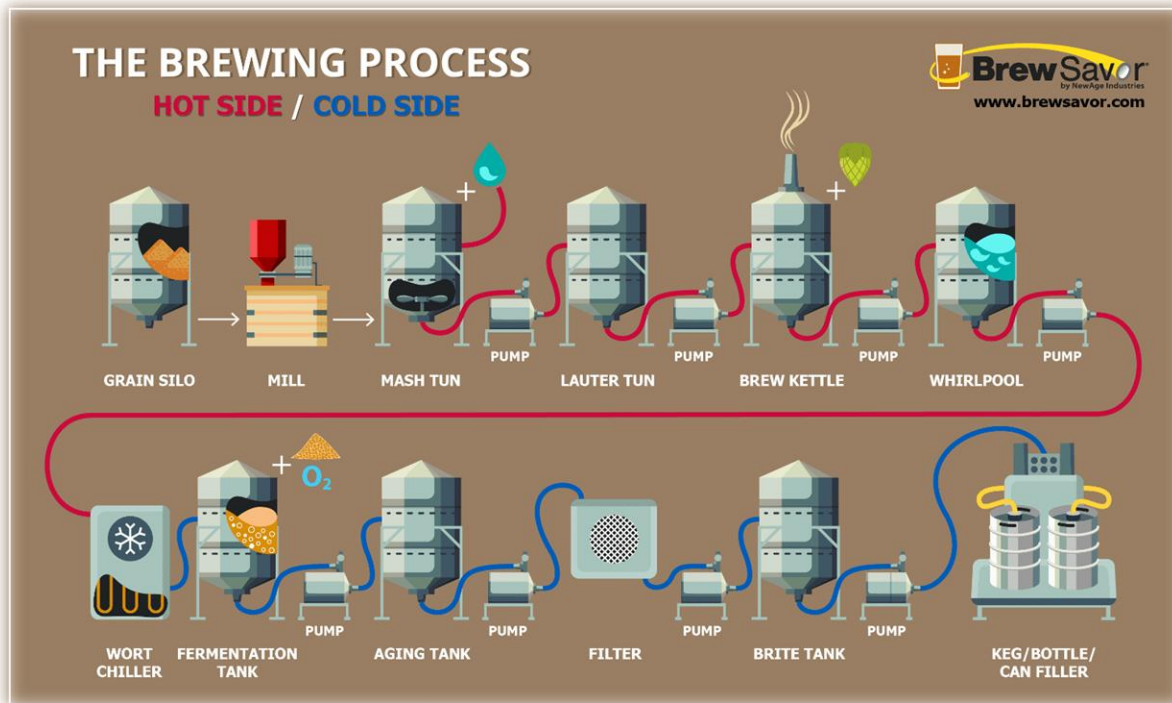
Ύστερα, ακολουθεί η ζύμωση του ζυθογλεύκους από το επιλεγμένο στέλεχος της ζύμης, το οποίο κατέχει σημαντικό ρόλο στο αρωματικό προφίλ του ζύθου, και ο παράλληλος σχηματισμός, κυρίως, της αιθυλικής αλκοόλης, διοξειδίου του άνθρακα και γλυκερίνης. Επίσης, σχηματίζονται και διάφορα σημαντικά δευτερεύοντα προϊόντα από τον μεταβολισμό του διαθέσιμου ζυμώσιμου εκχυλίσματος από τους ζυμομύκητες, στα οποία πραγματικά οφείλεται το άρωμα και η γεύση της.

➤ Ωρίμανση:

Μετέπειτα, στο στάδιο της ωρίμανσης, παρουσία μικρού ποσοστού ζυμών, γίνεται πλήρης ζύμωση του εναπομείναντος ζυμώσιμου εκχυλίσματος και φυσικός κορεσμός της μπίρας με διοξείδιο του άνθρακα. Επιπλέον, επιτυγχάνεται η γευστική και αρωματική αρμονία και η φυσική σταθεροποίηση της μέσω του σχηματισμού επιθυμητών αρωματικών ενώσεων και την αποικοδόμηση των μη επιθυμητών.

➤ Σταθεροποίηση:

Τέλος, πραγματοποιούνται τεχνικές απομάκρυνσης βιολογικών και μη βιολογικών θολωμάτων, με σκοπό τη σταθεροποίηση του ζύθου, παστερίωση για την αποφυγή πιθανής επιμόλυνσης και εμφιάλωση του (Ταταρίδης, 2018).



Εικόνα 11: Η διαδικασία της ζυθοποίησης (BrewSavor, 2019)

1.4. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της μπίρας

1.4.1. Χρώμα

Σε μια οργανοληπτική αξιολόγηση όσον αφορά στα βασικά χαρακτηριστικά μιας μπίρας το πρώτο που παρατηρεί ένας καταναλωτής και που κεντρίζει το ενδιαφέρον του είναι το χρώμα της. Ο καταναλωτής, συνήθως, ταυτίζει ένα σκούρο χρώμα με μια μπίρα βαριά, πικρή, με δυνατή γεύση και άρωμα καθώς και υψηλότερο ποσοστό αλκοόλης, ενώ ένα ήπιο χρώμα με μια πολύ πιο ελαφριά και εύκολη στη πόση της μπίρα (**Lewis & Bamforth, 2006**). Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρώμα ενός ζύθου είναι σίγουρα το είδος και η ποιότητα των πρώτων υλών και ιδιαίτερα της βύνης, που θα χρησιμοποιηθούν, για τη παραγωγή της, καθώς και ο βαθμός άλεσης αυτής.

Άλλη μια μεταβλητή που μπορεί να επηρεάσει την ένταση του χρώματος είναι το στάδιο του βρασμού, καθώς σε αυτήν μπορεί να αυξηθεί σημαντικά, ωστόσο η ένταση αυτή ενδέχεται να μειωθεί κατά την διάρκεια της ζύμωσης. Η σταθεροποίηση του χρώματος μπορεί να επέλθει μετά το τέλος της ζύμωσης είτε με προσθήκη καραμελοχρώματος είτε με προσθήκη εκχυλίσματος σκούρας βύνης (**Lewis & Bamforth, 2006**).

Οι δύο αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κατά το στάδιο του βρασμού και έχουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία του χρώματος της, είναι οι αντιδράσεις Maillard (μη ενζυμικό μαύρισμα) και η αντίδραση οξειδωσης των πολυφαινολών.

Στην πρώτη παράγονται ως τελικό προϊόν οι μελανοϊδίνες από τα ήδη υπάρχοντα στη μπίρα σάκχαρα και αμινοξέα, οι οποίες είναι μεγαλομοριακές, σκουρόχρωμες ενώσεις, που είναι δυσδιάλυτες στο νερό, αντιδρούν όξινα και ανάγουν άλλες ενώσεις. Ο σχηματισμός τους ευνοείται από το υψηλό pH και την υψηλή θερμοκρασία καθώς αυτά έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού της αντίδρασης Maillard (**Ταταρίδης, 2018**).

Παράλληλα η οξειδωση των πολυφαινολών καταλύεται από το ένζυμο περοξειδάση, το οποίο βρίσκεται σε πολύ μεγάλη συγκέντρωση στη βύνη, και ακόμα σε υψηλές θερμοκρασίες παραμένει ενεργό καθώς είναι θερμοανεκτικό. Έτσι κατά την διάρκεια του βρασμού, οξειδώνει τις πολυφαινόλες σε ο-κινόνες, οι οποίες είναι αρωματικές δικετόνες με έντονο κίτρινο ή κόκκινο χρώμα και ευδιάκριτη οσμή (**Lewis & Bamforth, 2006**).

1.4.2. Αφρός

Αμέσως μετά την παρατήρηση του χρώματος, ο καταναλωτής τείνει να παρατηρήσει τον σχηματιζόμενο αφρό του ζύθου, καθώς είναι άλλο ένα στοιχείο που αναδεικνύει την ποιότητά της. Η σταθερότητα, η υφή, το χρώμα και η διάρκεια του, καθώς και η προσκόλλησή του στο γυαλί είναι χαρακτηριστικά που σκιαγραφούν έναν ποιοτικό αφρό.

Η σταθερότητα του εξαρτάται από τις πρωτεΐνες, τα ίσο-α-οξέα και μερικά μεταλλικά ιόντα, δηλαδή επιφανειοδραστικές και υδρόφοβες ουσίες. Οι πρωτεΐνες, οι οποίες προέρχονται από τη βύνη κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης μετατρέπονται σε πολυπεπίδια, που είναι αρκετά υδρόφοβα (**Evans & Sheehan, 2002**). Αυτές οι υδρόφοβες ουσίες τείνουν να εισέρχονται στις φυσαλίδες (πυρήνωση), που

ανεβαίνουν στην επιφάνεια του υγρού, σχηματίζοντας τον αφρό, και μέσω της ιδιότητας τους να συγκρατούνται μεταξύ τους, τον σταθεροποιούν.

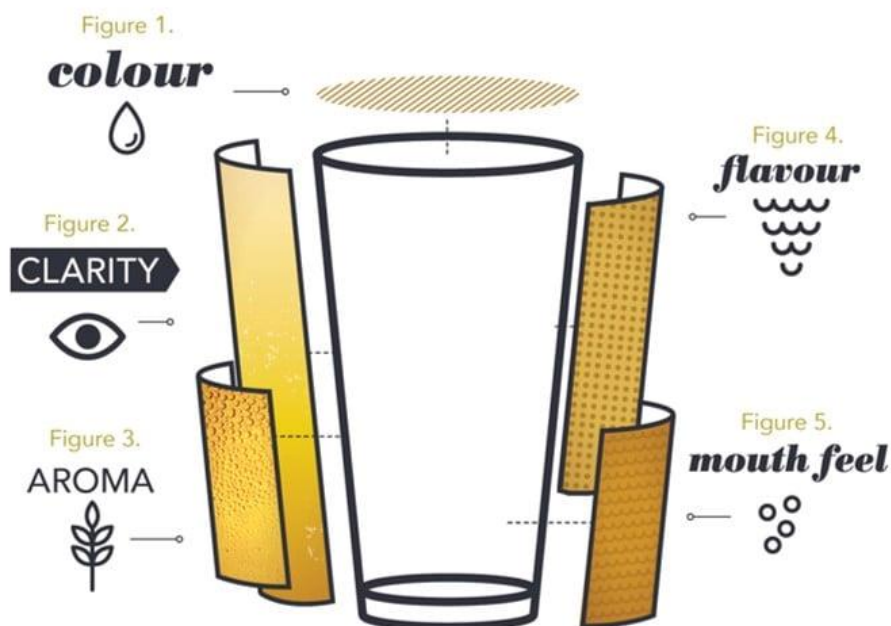
Επιπροσθέτως, στην σταθεροποίηση του αφρού συνεισφέρει και η ιδιότητα μερικών πολυπεπτιδίων να βρίσκονται στη διαχωριστική επιφάνεια μεταξύ υγρού και αφρού.

Ωστόσο η περιεκτικότητα του ζύθου σε υδρόφιλα λιπίδια, επηρεάζει αρνητικά την σταθεροποίηση του αφρού. Συνεπώς, σε ζυθογλεύκος με υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων, αυξάνεται η ωσμωτική πίεση με αποτέλεσμα ο μικροοργανισμός να έρθει σε κατάσταση στρες και έτσι να παράξει μεγαλύτερη ποσότητα λιπιδίων. Για το λόγο αυτό, μύρες με υψηλό αλκοολικό βαθμό δεν εμφανίζουν σταθερό και πλούσιο αφρό. Τη σταθεροποίηση του αφρού επηρεάζει και ο βαθμός αφρίσματος κατά την αλκοολική ζύμωση και οι διάφορες μεταγγίσεις, καθώς με τον αφρισμό επέρχεται και η απομάκρυνση των υδρόφοβων ουσιών, σημαντικών για τη σταθερότητα του (Lewis & Bamforth, 2006).

1.4.3. Θόλωμα

Το θόλωμα, ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του ζύθου, το οποίο σε αντίθεση με το κρασί δεν θεωρείται ελάττωμα αν πρόκειται για ειδικό τύπο μπίρας, μπορεί να δημιουργηθεί από διάφορους παράγοντες. Παρόλο που η αντίδραση μεταξύ των πολυφαινολών και των πρωτεϊνών είναι αναμφισβήτητη η πιο κοινή αιτία, διάφορα μεταλλικά ιόντα, πεντοζάνες, προϊόντα λυκίσκου, σταθεροποιητές αφρού καθώς και το άμυλο μπορούν να προκαλέσουν το λεγόμενο μη βιολογικό θόλωμα. Αντιθέτως, περίσσεια ζυμομυκήτων στη φιάλη ή μια ανεπιθύμητη μόλυνση με άγριες ζύμες ή βακτήρια προκαλεί το βιολογικό θόλωμα (Lewis & Bamforth, 2006). Η συμπλοκοποίηση μεταξύ πρωτεϊνών και πολυφαινολών σε συγκεκριμένες συνθήκες, αποτελεί ένα κολλοειδές σύστημα, το οποίο εκφράζεται ως θόλωμα. Όλες οι πρωτεΐνες που προκαλούν θόλωμα προέρχονται από τη βύνη, ενώ οι πολυφαινόλες και από μια επιπρόσθετη μικρή συνεισφορά από τον λυκίσκο. Ωστόσο, ένα μεγάλο ποσοστό πολυπεπτιδίων μπορεί να απομακρυνθεί κατά τη διάρκεια του βρασμού με τη μετουσίωση τους, αλλά και κατά τη ζύμωση αλλά και την ωρίμανση (Steiner et al., 2010).

Με την απομάκρυνση του θερμού ιζήματος μετά το βρασμό και μερικώς του ψυχρού θολώματος μετά την ψύξη του ζυθογλεύκου, η ωρίμανση της μπίρας είναι το τελικό στάδιο σταθεροποίησής της σε μη βιολογικό θόλωμα. Η πιο αποτελεσματική μεταχείριση είναι η αποθήκευση σε χαμηλές θερμοκρασίες από -1 έως -2 °C για 1 εβδομάδα περίπου. Η μετέπειτα διαύγαση, διήθηση και το φιλτράρισμα απομακρύνουν εξ ολοκλήρου τα ιζήματα πρωτεϊνών-πολυφαινολών, και ακόμα εναπομείναντων μικροοργανισμών, καθιστώντας τη μπίρα σταθερή σε βιολογικό θόλωμα (Νερατζής κ.α. 2014).



Εικόνα 12: Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ζύθου (χρώμα, διαύγεια, άρωμα, γεύση, αίσθηση στόματος) (Beervana, 2020)

1.4.4. Άρωμα & Γεύση

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, κάθε ένα από τα συστατικά της μπίρας συνεισφέρουν και αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους για να διαμορφώσουν τον τελικό οργανοληπτικό χαρακτήρα της. Ήδη από τη ξήρανση της βλαστημένης βύνης διαμορφώνονται οι πρόδρομες ουσίες των τελικών αρωματικών ενώσεων. Ταυτόχρονα η σύσταση του νερού που χρησιμοποιείται, η περιεκτικότητα του λυκίσκου σε α-οξέα καθώς και ο βαθμός άλεσης και το πρόγραμμα πολτοποίησης, το επιλεγμένο στέλεχος ζυμομύκητα και οι συνθήκες της αλκοολικής ζύμωσης που διεξάγεται έως το χρόνο ωρίμανσης και παλαίωσης διαμορφώνουν τον χαρακτήρα της. Στο κεφάλαιο 3^ο θα αναπτυχθούν οι σημαντικότερες αρωματικές ενώσεις καθώς και κάποιες ανεπιθύμητες ουσίες που πιθανώς να σχηματιστούν από λανθασμένη διαδικασία παραγωγής, μετάγγισης, μεταφοράς, ωρίμανσης και συσκευασίας.

1.5. Χαρακτηριστικά μπίρας τύπου American Pale Ale

Ένας εύκολος διαχωρισμός των πολλών ειδών ζύθου θα βασιζόταν σε διάφορα χαρακτηριστικά όπως το άρωμα, τη γεύση, το χρώμα και τον αλκοολικό βαθμό. Ωστόσο, οι μπίρες ποικίλουν ανάλογα και με την τεχνολογία παρασκευής τους, όπως οι Ales και οι Lagers, το χρησιμοποιούμενο νερό και τα πρόσθετα που έχουν χρησιμοποιηθεί (Νερατζής et al., 2014). Παρακάτω, βέβαια, θα αναλυθεί ο τύπος American Pale Ale, καθώς αποτελεί τον τύπο των ζύθων που παρήχθησαν και αναλύθηκαν για το σκοπό αυτής της πτυχιακής.

Η American Pale Ale αποτελεί μια προσαρμογή της English Pale Ale στη σύγχρονη εποχή της αμερικανικής craft μπίρας, χρησιμοποιώντας γηγενή συστατικά. Η Sierra Nevada Pale Ale παρουσιάστηκε το 1980 και συνέβαλε καθοριστικά στη διάδοση του τύπου αυτού. Αυτό το στυλ ήταν η πιο γνωστή και δημοφιλής αμερικανική craft μπίρα πριν από την επέκταση της δημοτικότητας των IPA. Οι σύγχρονες αυτές αμερικανικές εκδοχές είναι συνήθως χαμηλότερης πυκνότητας IPAs.

Αποτελεί μια μέτριας ισχύος μπίρα, που αναδεικνύει περισσότερο τα χαρακτηριστικά του λυκίσκου, με την βύνη να κατέχει έναν υποστηρικτικό ρόλο καθιστώντας το ζύθο ισορροπημένο και ευχάριστο στην κατανάλωση. Η καθαρή παρουσία του λυκίσκου αντανακλά παραδοσιακές, σύγχρονες αμερικανικές είτε ποικιλίες λυκίσκου του Νέου Κόσμου με μεγάλο εύρος χαρακτηριστικών.

Τα χαρακτηριστικά συστατικά μιας American Pale Ale απαρτίζονται από ουδέτερη pale βύνη, λυκίσκο προερχόμενο από αμερικανική ποικιλία ή του Νέου Κόσμου, ουδέτερη έως ελαφρά φρουτώδη αμερικανική ale ή αγγλική ale ζύμη και μικρές ποσότητες από διάφορες ειδικές βύνες.

Το χρώμα της μπίρας είναι γλωμό χρυσό προς κεχριμαρένιο με γενικά καλή διαύγεια και ο αφρός της είναι αρκετά μεγάλος σε ποσότητα με καλή διάρκεια και λευκό προς υπόλευκο χρώμα. Το άρωμα της αποτελείται κυρίως από αρώματα λυκίσκου όπως εσπεριδοειδή, ανθικά, πεύκου, ρητίνης, μπαχαρικών, τροπικών φρούτων, πυρηνόκαρπων φρούτων, μούρων ή και πεπονιού. Κανένα από τα παραπάνω αρώματα δεν είναι απαραίτητο να υπάρχει, όμως το άρωμα του λυκίσκου πρέπει να είναι εμφανές. Ο χαμηλός έως μέτριος χαρακτήρας της βύνης μπορεί να προσδώσει μικρές ποσότητες ειδικών χαρακτηριστικών της, όπως άρωμα ψωμιού, ψημένου, μπισκότου και καραμέλας. Η παρουσία φρουτώδων εστέρων είναι προαιρετική και κυμαίνονται από χαμηλή έως μέτρια ισχύ. Επίσης, η ύπαρξη φρέσκων αρωμάτων από dry hopping είναι προαιρετική.

Παρόμοια χαρακτηριστικά του λυκίσκου και της βύνης εντοπίζονται και στη γεύση, με ίδια ένταση και περιγραφή. Τα αρώματα καραμελοποίησης συνήθως απουσιάζουν ή υπάρχουν σε περιορισμένες συγκεντρώσεις, ωστόσο είναι αποδεκτά εφόσον δεν επηρεάζουν τα αρώματα του λυκίσκου. Η πικράδα είναι μέτρια έως υψηλή, και η συγκέντρωση των φρουτώδων εστέρων μέτρια έως καθόλου, παρότι πολλές ποικιλίες λυκίσκου προωθούν τα αρώματα φρούτων. Έχει καθαρό προφίλ ζύμωσης και μέτριο προς ξηρό τελείωμα. Η ισορροπία κλίνει συνήθως προς την πικράδα και τους late hops. Η γεύση και η πικράδα του λυκίσκου συνήθως παραμένουν έως το τελείωμα, αλλά η επίγευση πρέπει να είναι γενικά καθαρή και όχι βαριά. Η γεύση του φρέσκου dry hop είναι προαιρετική.

Σχετικά με την αίσθηση στο στόμα, το σώμα της είναι μέτριο-ελαφρύ προς μέτριο και η ενανθράκωση της μέτρια προς υψηλή. Γενικά παρουσιάζει απαλό τελείωμα χωρίς στυπτικότητα και τραχύτητα.

Συνήθως έχει πιο ανοιχτό χρώμα, καθώς και λιγότερα αρώματα καραμελοποίησης από τις αντίστοιχες αγγλικές. Μπορεί να θεωρηθεί πως υπάρχει μια αλληλοεπικάλυψη στο χρώμα μεταξύ της American Pale Ale και της American Amber Ale. Σε σχέση με μια American IPA έχει λιγότερη πικράδα στην ισορροπία και αλκοολική δύναμη. Το στυλ της σε σχέση με μια Session IPA είναι πιο βυνώδες, ισορροπημένο και εύκολο στην κατανάλωση και λιγότερο πικρό και προσηλωμένο στον λυκίσκο. Τέλος, είναι μια μπίρα πιο πικρή και με μεγαλύτερη έμφαση στον λυκίσκο απ' ότι μια Blonde Ale.

Μερικά βασικά χαρακτηριστικά μιας American Pale Ale είναι ότι έχει **OG**(Original Gravity): 1.045-1.060, **IBUs**(International Bitterness Units): 30-50, **FG**(Final Gravity): 1.010-1.015, **SRM**(Standard Reference Method): 5-10 και **ABV**(Alcohol By Volume): 4.5-6.2%. Κάποια εμπορικά παραδείγματα τοπικής American Pale Ale μπίρας είναι η Deschutes Mirror Pond Pale Ale, η Half Acre Daisy Cutter Pale Ale, η Great Lakes Burning River και η Sierra Nevada Pale Ale (**BJCP Guideline 2021**).



Εικόνα 13: American Pale ale σε ποτήρι (Kegarator, 2015).



Εικόνα 14: Sierra Nevada Pale Ale (Wikipedia).



Εικόνα 15: Deschutes Mirror Pond Pale Ale (The Liquor Store & Wine Loft Jackson Hole).



Εικόνα 16: Daisy Cutter Pale Ale (Craft Beer & Brewing).



Εικόνα 17: Great Lakes Burning River Pale Ale (West Lakeview Liquors).

2. Ζύμες *Saccharomyces* & *Non-Saccharomyces*

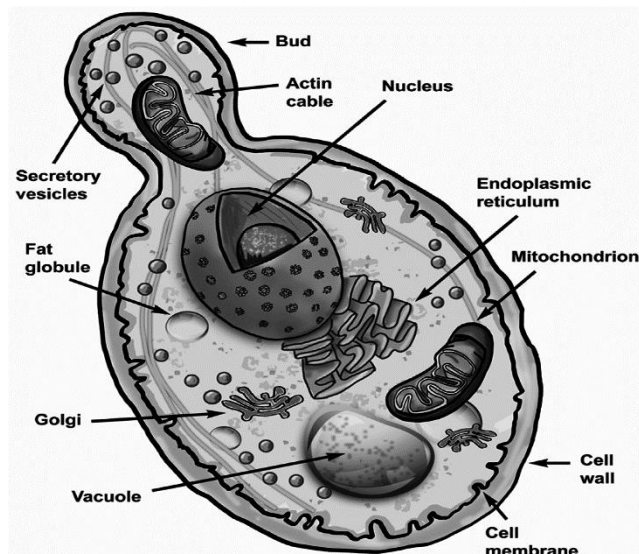
Σε πρόσφατα χρόνια η χρήση ζυμομυκήτων *non-Saccharomyces* έλαβε ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον στην επιστήμη παραγωγής οίνου και ζύθου. Στη πραγματικότητα, πρόσφατες έρευνες απέδειξαν ότι ζύμες *non-Saccharomyces* με ταυτόχρονη ή συνεπακόλουθη συμβίωση με ζυμομύκητες *Saccharomyces cerevisiae*, θα μπορούσαν να παράξουν υψηλότερης ποιότητας προϊόντα με ενισχυμένο αρωματικό προφίλ. Επομένως, δεν λαμβάνονται εξολοκλήρου, ως πηγή μικροβιακής αλλοίωσης πλέον (**The new Brewer, 2016; Bokulich, Bamforth, 2013**). Παρόλα αυτά και η χρήση *non-Saccharomyces* ως καθαρές καλλιέργειες εκκίνησης αυξάνεται ραγδαία τα τελευταία χρόνια (**Yeo and Liu, 2014; Steensels and Verstrepen, 2014; Lentz et al., 2014; Hutzler and Jacob, 2015; Hutzler et al., 2015; Petruzzi et al., 2015; , Basso et al., 2016**). Αυτό είναι το αποτέλεσμα του αυξανόμενου παγκοσμίου ενδιαφέροντος στις craft μπίρες και της αναζήτησης διαφορετικών ειδών ζυμών, για την παραγωγή καινοτόμων ζύθων (**Basso et al., 2016**). Ωστόσο, όταν χρησιμοποιούνται καθαρές καλλιέργειες στελεχών *non-Saccharomyces*, η χαμηλή ζυμοτική ικανότητα και ταχύτητα ζύμωσης, η ανεπαρκής αντοχή στο θειώδες και το απρόβλεπτο αποτέλεσμα είναι κάποια από τα βασικά ελαττώματα που παρουσιάζουν (**Ciani et al., 2010**).

Τα άγρια και μη εξημερωμένα στελέχη ζυμών έχουν τη δυνατότητα να προσδώσουν διαφορετικά αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά, τα οποία οδηγούν σε εναλλακτικές και νέες παραλλαγές μπίρας (**Basso et al., 2016**). Τα είδη *non-Saccharomyces* πρωτίστως, χρησιμοποιούνται για τη παραγωγή μπίρας χαμηλού αλκοολικού βαθμού (0,5-1,2% v/v) και για μπίρες χωρίς αλκοόλ (<0,5% v/v) (**Michel et al., 2016b**). Το γένος *Saccharomyces ludwigii* ήταν αυτό που είχε τη μεγαλύτερη επιτυχία στη βιομηχανική παραγωγή ζύθου χωρίς αλκοόλ, λόγω της ανικανότητας ζύμωσης της μαλτόζης και μαλτοτριόζης, τα δύο επικρατέστερα ζυμώσιμα σάκχαρα της βύνης (**Montanari et al., 2009; Branyik et al., 2012b**). Ακόμα μια εφαρμογή των *non-Saccharomyces* είναι η χρήση τους σε ελεγχόμενες ζυμώσεις. Αυτή η πρακτική έχει αποκτήσει δημοτικότητα μεταξύ των παραγωγών, με στόχο τη παραγωγή ιδιαίτερων προϊόντων με ξεχωριστά αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά (**Vanderhaegen et al., 2006**). Από τα συστατικά που απαρτίζουν τη μπίρα, οι περισσότερες ενεργά αρωματικές ενώσεις καθορίζονται αποκλειστικά από το στέλεχος της ζύμης που έχει επιλεγεί για τη ζύμωση (**Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014**). Στα πλεονεκτήματα των *non-Saccharomyces*, εκτός από την αύξηση της πολυπλοκότητας, συγκαταλέγεται και η περισσότερη παραγωγή της γλυκερίνης, η οποία ενισχύει το σώμα της μπίρας (**Varela, 2016**). Τέλος, μερικά στελέχη έχουν υψηλές συγκεντρώσεις συγκεκριμένων ενζύμων που εμπλέκονται στη παραγωγή των μονοτερπενικών ενώσεων. Ενώσεις όπως η λιναλοόλη σχετίζονται με τα αρώματα του λυκίσκου.

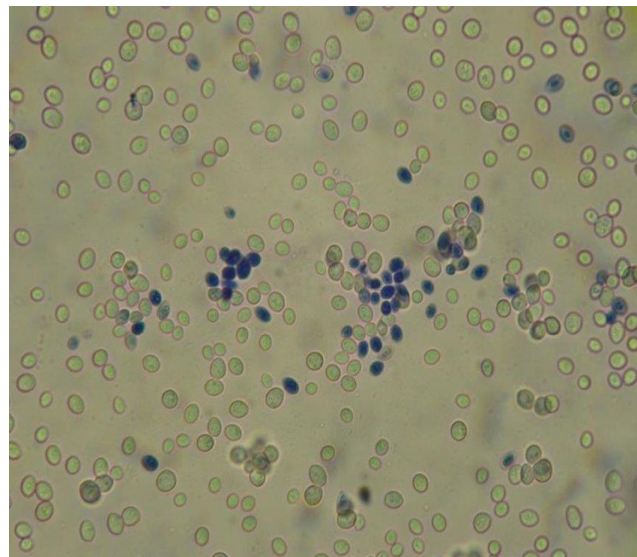
Ωστόσο, σε σύγκριση με τα καθιερωμένα στελέχη *Saccharomyces*, των οποίων όλοι οι παράμετροι της ζύμωσης και η σύσταση του παραγόμενου προϊόντος είναι γνωστά και ελεγχόμενα, για την ταυτοποίηση των χαρακτηριστικών των *non-Saccharomyces* απαιτείται εκτενής έρευνα καθώς η διαφοροποίηση αυτών είναι μεγάλη (**Michel et al., 2016b**).

Στην εν λόγω εργασία μελετήθηκε η χρήση του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* και δύο ζυμών *non-Saccharomyces*, της *Torulaspora delbrueckii* και της *Metschnikowia pulcherrima* για τη παραγωγή ζύθων. Στη συνέχεια αναφέρονται ορισμένα από τα χαρακτηριστικά τους.

2.1. *Saccharomyces cerevisiae*



Εικόνα 18: Τα κύρια χαρακτηριστικά ενός ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* (Walker, 1998; Walker, 2011)



Εικόνα 19: Κύτταρα *Saccharomyces cerevisiae* σε μικροσκόπιο (μεγέθυνση 600 ×). Χρήση χρώσης μπλε του μεθυλενίου για τη διαφοροποίηση των ενζυμικά ενεργών κυττάρων από τα νεκρά (βαμμένα μπλε) (B.M.Sharga et al., 2017).

Ο *Saccharomyces cerevisiae* είναι ο κύριος ζυμομύκητας που χρησιμοποιείται για τη παραγωγή του ζύθου, και άλλων αλκοολούχων ποτών. Είναι ένας μονοκύτταρος ευκαρυωτικός μικροοργανισμός που ανήκει στο είδος των ασκομυκήτων (*Phylum ascomycota*) και το σχήμα των κυττάρων του είναι μεγάλο και στρογγυλό. Επιλέγεται συχνά από την επιστημονική κοινότητα για έρευνες που αφορούν την κατανόηση των κυτταρικών και μοριακών διεργασιών στα ευκαρυωτικά κύτταρα, λόγω της ήδη ολοκληρωμένης εύρεσης του γονιδιώματός του και του πλήρως κατανοητού τρόπου λειτουργίας του (Olaniran et al., 2017). Επιπλέον, ο ρόλος που διαδραματίζει στον τομέα της βιομηχανίας είναι αρκετά σημαντικός, καθώς, χρησιμοποιείται σε διάφορες παραγωγές όπως αυτή του ψωμιού, του οίνου, φαρμακευτικών σκευασμάτων και ενζύμων (Moyad, 2008). Ο *S. cerevisiae* μπορεί να βρεθεί στην επιφάνεια φρούτων και φυτών καθώς και στο γαστρεντερικό σύστημα και στην επιφάνεια του δέρματος των ζώων (Padilla et al., 2016).

Αν και ανέκαθεν ο *S. cerevisiae* ήταν η κυρίαρχη ζύμη στις αυθόρμητες ζυμώσεις, μόλις τον 17^ο αιώνα οι επιστήμονες ξεκίνησαν να κατανοούν τη διαδικασία της ζύμωσης σε μεγαλύτερο βαθμό, γεγονός που οδήγησε στην επίσημη καθιέρωση του ως κυρίαρχη ζύμη στη παραγωγή μπίρας (Basso et al., 2016). Η σημερινή απόλυτη κατανόηση της δράσης του, του χρόνου ζύμωσης, των βέλτιστων συνθηκών εξαγωγής της και των περίπλοκων μεταβολικών οδών, οδήγησε στην παραγωγή προϊόντων σταθερής ποιότητας και επιθυμητών χαρακτηριστικών με ευκολότερο και ταυτόχρονα ταχύτερο τρόπο σε σύγκριση με το παρελθόν (Michel et al., 2016b). Η κύρια χρήση του συγκεκριμένου ζυμομύκητα είναι στη παραγωγή αφροζύμων ζύθων και όχι βυθοζύμων.

Ως ζυμομύκητας χαρακτηρίζεται από την υψηλή του απόδοση σε παραγωγή αιθανόλης, την ικανότητα μεταβολισμού των σακχάρων σύμφωνα με το μεταβολικό μονοπάτι του φαινομένου

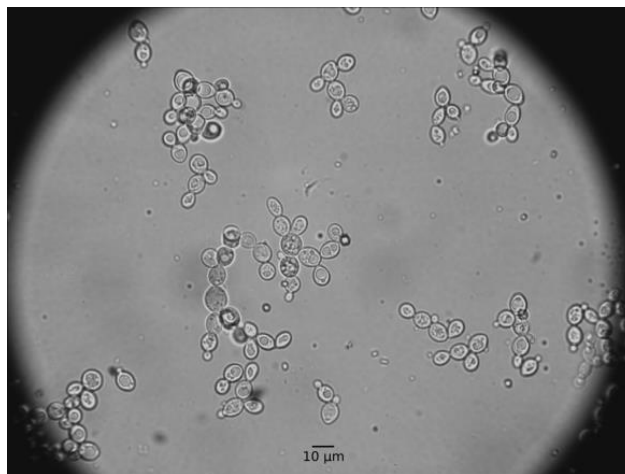
Crabtree, τη δυνατότητα αντοχής σε πολλά είδη περιβαλλοντικού stress, όπως η υψηλή συγκέντρωση σε αιθανόλη, καθώς όμως και από τη σημαντική συμβολή του σε ένα επιθυμητό και ευχάριστο αρωματικό και γευστικό χαρακτήρα στο ζύθο (**Capecce et al., 2018**). Έχει την ικανότητα να μεταβολίζει τους σημαντικότερους μονοσακχαρίτες όπως γλυκόζη, φρουκτόζη, γαλακτόζη και μαννόζη, κάποιους δισακχαρίτες όπως μαλτόζη και σακχαρόζη και να χρησιμοποιεί τον τρισακχαρίτη ραφινόζη. Μερικές από τις σημαντικές πηγές αζώτου τόσο για την ανάπτυξή του αλλά και για τις χημικομεταβολικές του αντιδράσεις είναι τα αμινοξέα, το καρβαμίδιο και η αμμωνία (**Callejo et al., 2017**).

Επίσης, θεωρείται ένας ζυμομύκητας με υψηλή ζυμωτική ικανότητα. Μέσω του μεταβολισμού των ζυμομυκήτων σχηματίζονται σημαντικές ποσότητες εστέρων, οι οποίοι προσδίδουν το χαρακτηριστικό αρωματικό προφίλ των Ale μπυρών (ales, stouts, porters) (**Callejo et al., 2017**). Μαζί με τους εστέρες και οι ανώτερες αλκοόλες αποτελούν ενώσεις με σημαντικό αντίκτυπο στο άρωμα και τη γεύση του ζύθου (**Olaniran et al., 2017**). Τέλος, σε μια έρευνα των King and Dickinson (2000), απεδείχθη ότι ο *Saccharomyces cerevisiae* μπορεί να μετασχηματίσει ένα φάσμα μονοτερπενικών αλκοολών που απαντώνται στο σταφύλι αλλά και στο λυκίσκο, μέσω μια σειράς αντιδράσεων, οι οποίες επηρεάζουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες του οίνου και του ζύθου (**King & Dickinson, 2000**).

2.2. *Torulaspora delbrueckii*



Εικόνα 20: Καλλιέργεια in vitro *Torulaspora delbrueckii* (Alchetron, 2018)



Εικόνα 21: Κύτταρα *Torulaspora delbrueckii* σε μικροσκόπιο (Eureka Brewing, 2014)

Ένας από τους πιο μελετημένους non-*Saccharomyces* ζυμομύκητες, η *Torulaspora delbrueckii*, παλιότερα γνωστή ως *Saccharomyces delbrueckii* ή *Saccharomyces rosei*, είναι ίσως ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος και από τους πρώτους που κυκλοφόρησε εμπορικά (Jolly et al., 2014; Basso et al., 2016). Είναι από τα πιο μελετημένα είδη που ανήκουν στο γένος *Torulaspora* η οποίος ανήκει στο βασίλειο των μυκήτων και ειδικότερα στο είδος των ασκομυκήτων (*Phylum ascomycota*) (Jolly et al., 2006). Η *Torulaspora delbrueckii* έχει συσχετισθεί με τη παραγωγή του κρασιού εδώ και πολλές δεκαετίες και μπορεί να απομονωθεί από το σταφύλι, τον μούστο ή και από το ίδιο το κρασί (Jolly et al., 2006). Τα κύτταρα της *Torulaspora* είναι ως επί το πλείστον σφαιρικά (torulu), αν και το σχήμα τους είναι συνήθως οβάλ και ελλειπτικό, καθώς επίσης κατέχει και χαμηλή ζυμοτική ικανότητα εύρους 6-9% (v/v) σε αιθανόλη (Callejo et al., 2017). Επιπρόσθετα το μέγεθος των κυττάρων είναι 2-6 × 3-7 μm, το οποίο είναι συνήθως μικρότερο από αυτό του *S. cerevisiae*, ωστόσο ο κύκλος ζωής της δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος (Ramirez & Velazquez, 2018).

Χαρακτηρίζεται από την αντοχή του σε συνθήκες οσμωτικού stress, με χαμηλή παραγωγή πτητικής οξύτητας και οξικού αιθυλεστέρα (Hernandez-Lopez et al., 2003). Παρατηρούνται επίσης χαμηλές συγκεντρώσεις αρκετών πτητικών ενώσεων όπως ακεταλδεϋδης, ακετοΐνης, οξικού οξέος και υδρόθειου, όπου η παρουσία τους είναι δυσάρεστη και ανεπιθύμητη σε υψηλές συγκεντρώσεις (; Ciani & Maccarelli, 1998; Comitini et al., 2011; Morata & Suarez-Lepe, 2016). Ταυτόχρονα, αντέχει σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης και μπορεί να αναπτυχθεί και σε χαμηλές θερμοκρασίες (Canonica et al., 2015).

Η χρήση του συγκεκριμένου ζυμομύκητα στη ζυθοποιία προτάθηκε για πρώτη φορά από τους King and Dickinson (2000), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι παρόλο που η *Torulaspora delbrueckii* προέρχεται από τη βιομηχανία του οίνου, είχε τη δυνατότητα να μεταβάλλει τα αρώματα του λυκίσκου, πετυχαίνοντας αξιοσημείωτα αποτελέσματα με τις μονοτερπενικές αλκοόλες. Συγκεκριμένα, έχει την

ικανότητα να μεταβολίζει τη νερόλη αυξάνοντας την ποσότητα της λιναλοόλης (άρωμα λεβάντας) και α-τερπενιόλης (άρωμα πασχαλιάς) (Basso et al., 2016).

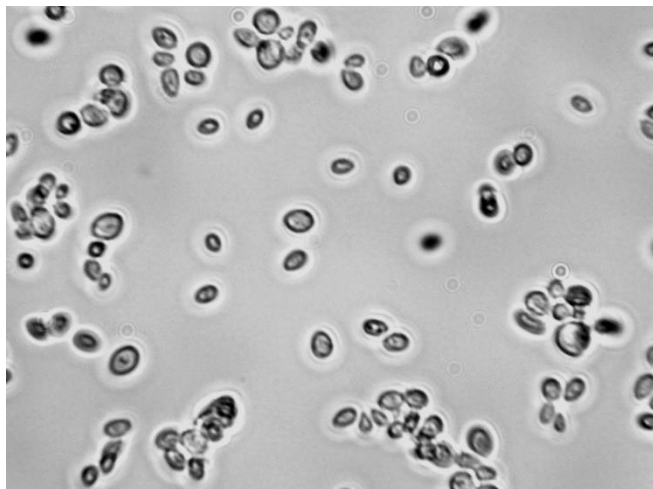
Η επιλογή του επιθυμητού στελέχους, για τη παραγωγή ζύθου γίνεται μέσω ενός ελέγχου που σχετίζεται με την αξιοποίηση του δισακχαρίτη μαλτόζη, την απόδοση της αλκοολικής ζύμωσης και την ανοχή τους στην αιθανόλη. Επίσης, η ανεκτικότητα σε ενώσεις προερχόμενες από τον λυκίσκο, η εκμετάλλευση των αμινοξέων και ο σχηματισμός φαινολικών με αρνητική επίδραση στο άρωμα (off-flavours), είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες (Canonic et al., 2016; Michel et al., 2016a).

Η *Torulaspora delbrueckii* δοκιμαστικά, χρησιμοποιήθηκε για τη παραγωγή ζύθου με χαμηλό αλκοολικό τίτλο και για την βελτίωση ακόμα του αρωματικού και γευστικού προφίλ του (Canonic et al., 2016; Michel et al., 2016a). Το αρωματικό προφίλ της μπίρας το οποίο προσδίδει η *T. delbrueckii* είναι κυρίως φρουτώδες, το οποίο οφείλεται στην έντονη παραγωγή εστέρων. Η σύνθεση αρωματικών εστέρων όπως του γαλακτικού αιθυλεστέρα και του οξικού φαινυλαιθυλεστέρα, βελτιώνεται όσον αφορά ζυμώσεις αποκλειστικά με *S. cerevisiae* (Michel et al., 2016a). Έτσι έπειτα από πειραματική ζύμωση, μπίρες παραγόμενες από επιλεγμένη αμιγή καλλιέργεια *T. delbrueckii* και μικτή καλλιέργεια *T. delbrueckii* με *S. cerevisiae*, παρουσίασαν διαφορετική σύνθεση ως προς τις πτητικές ουσίες έναντι μπιρών που παράχθηκαν μόνο από *S. cerevisiae*.

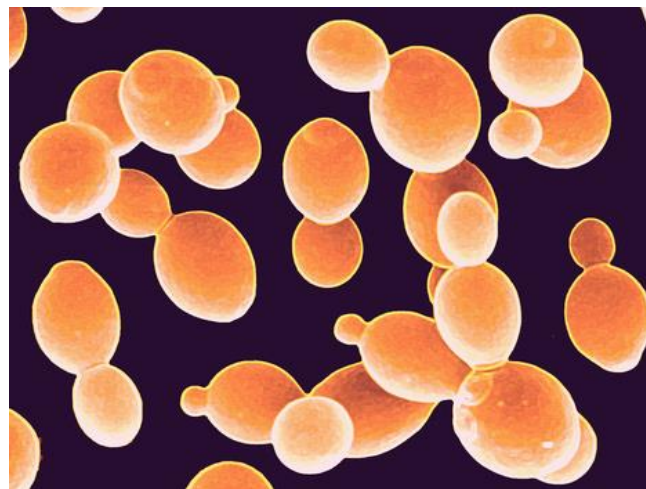
Συγκεκριμένα, μπίρες παραγόμενες από την αμιγή καλλιέργεια, παρουσίαζαν λουλουδένια, φρουτώδη και εσπεριδοειδή αρώματα με γεμάτο σώμα, ενώ κάποιες προερχόμενες από τη μικτή καλλιέργεια αναδείκνυαν περισσότερο χαρακτηριστικά του λυκίσκου και με περισσότερα αρώματα εστέρων. Ταυτόχρονα αυτές οι μπίρες ανέδειξαν καλύτερη διαύγεια, με αφρό που ήταν πιο συμπαγής και περισσότερης διάρκειας, τα οποία είναι σημαντικά χαρακτηριστικά ενός ζύθου (Canonic et al., 2016). Ωστόσο, σε μικτές ζυμώσεις έχει σημειωθεί η αύξηση της συγκέντρωσης του οξικού φαινυλαιθυλεστέρα, του καπροϊκού και του καπρυλικού αιθυλεστέρα, και η μείωση της παραγωγής οξικού ίσο-αμυλεστέρα και φαινυλαιθανόλης (Canonic et al 2015).

Επιπροσθέτως, κάποια στελέχη του *T. delbrueckii* παράγουν πολύ περισσότερο τον οξικό φαινυλαιθυλεστέρα στις μπίρες (Michel et al., 2016a). Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας προσδίδει ένα άρωμα βουτύρου, φράουλας, ακόμα και καφέ αυξάνοντας έτσι την πολυπλοκότητα ενώ, ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας αποτελεί το αρωματικό μόριο στο οποίο ευθύνεται και το άρωμα ροδοπέταλων, όπου δικαιολογεί το όνομα *rosei* (Callejo et al., 2017). Άλλοι εστέρες όπως ο ίσο-αμυλεστέρας και ο ίσο-βουτυλεστέρας ανευρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις. Από τις αλκοόλες, η πιο χαρακτηριστική είναι η φαινυλαιθανόλη η οποία προσδίδει ένα γλυκό άρωμα τριαντάφυλλου που χαρακτηρίζει τον συγκεκριμένο ζυμομύκητα. Επιπλέον, σε υψηλές συγκεντρώσεις παράγονται n-προπανόλη, ίσο-βουτανόλη και η ίσο-αμυλική αλκοόλη (Canonic et al., 2015).

2.3. *Metschnikowia pulcherrima*



Εικόνα 22: Κύτταρα *Metschnikowia pulcherrima* σε μικροσκόπιο (Fernandez, et al., 2000)



Εικόνα 23: Κύτταρα *Metschnikowia pulcherrima* σε μεγαλύτερη μεγέθυνση (Dato' DR Anuar, 2020)

Η *Metschnikowia pulcherrima*, γνωστή και ως *Candida pulcherrima* βρίσκεται συνήθως στο νέκταρ των λουλουδιών, αλλά και σε φρούτα ή φυτικούς ιστούς που αποικοδομούνται και μεταφέρονται σε νέους ξενιστές από έντομα φορείς όπως η μέλισσα (Morata et al., 2019). Έχει ελλειψοειδές και ωοειδές σχήμα, αρκετά μεγάλο μέγεθος, αναπαράγεται με εκβλάστηση και ανήκει στο είδος των ασκομυκήτων (*Phylum ascomycota*) (Jolly et al., 2006). Γενικά δεν διακρίνεται από τον *S. cerevisiae* με μικροσκόπιο, ωστόσο υπό συνθήκες περιβαλλοντικού stress, όπως η έλλειψη αζώτου, εμφανίζει ένα στρώμα λίπους στο εσωτερικό του κυττάρου κατά την παραγωγή σπορίων, γεγονός που την καθιστά εύκολα αναγνωρίσιμη με την χρήση οπτικού μικροσκοπίου.

Χαρακτηρίζεται από την ανθεκτικότητα της στην υψηλή οξύτητα και την αυξημένη συγκέντρωση σακχάρων, όπως και από την ικανότητα του να αντιστέκεται στην ανταγωνιστική μικροχλωρίδα του ζυθογλεύκου (Ευθυμίου, 2015). Έχει ευαισθησία στην αιθανόλη, παρουσιάζει αντιμικροβιακή δράση και συχνά προτιμάται για παραγωγή οίνων με χαμηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης (Hidalgo et al., 2014). Συγκεκριμένα, η ζυμωτική της ικανότητα είναι αρκετά χαμηλή, παράγοντας συνήθως περίπου 4% (v/v) αιθανόλη (Comitini et al., 2011), ωστόσο σε προηγούμενες μελέτες είχε εντοπιστεί ότι η παραγωγή της σε αιθανόλη κυμαινόταν από 6% έως 7% (v/v) (Combina et al., 2005). Μια ακόμα ιδιότητα, που χαρακτηρίζει την *M. pulcherrima*, είναι η δραστηριότητα διαφόρων ενζύμων, κυρίως της πηκτινάσης, της πρωτεάσης και της γλυκανάσης. Αυτό συμβαίνει διότι ο *M. pulcherrima* ως ένας μη συμβατικός ζυμομύκητας μπορεί να εκφράσει περισσότερα εξωκυτταρικά υδρολυτικά ένζυμα. Η υψηλή πρωτεολυτική του δράση τον καθιστά έναν πολύ καλό ζυμωτικό συνεργάτη του *S. cerevisiae*, καθώς τα ελεύθερα αμινοξέα μπορούν να χρησιμεύσουν ως πηγή αζώτου γι' αυτόν. Επιπλέον, είναι γνωστός για τη παραγωγής κόκκινης χρωστικής (πουλχεριμίνη), η οποία επειδή σχηματίζεται από την ένωση του πουλχεριμικού οξέος με το περιβαλλοντικό σίδηρο, αποτρέπει την ανταγωνιστική μικροχλωρίδα να έχει πρόσβαση στον σίδηρο, καθιστώντας την ζύμη αυτή ως βίο-μυκητοκτόνο (Santamauro et al., 2014). Ωστόσο, ο *S. cerevisiae* δεν φαίνεται να επηρεάζεται από αυτή της την ιδιότητα (Morata et al., 2019).

Τα περισσότερα στοιχεία σχετικά με τους παραγόμενους δευτερογενείς μεταβολίτες, προέρχονται από τη βιομηχανία οίνου και αναφέρουν πως η *M. pulcherrima* παράγει πτητικές φαινολικές ουσίες σε μεγάλες συγκεντρώσεις (off-flavours, καπνιστό και γαρύφαλλο), μεταβολίζει τις μονοτερπενικές αλκοόλες του λυκίσκου σε α-τερπινεόλη, νερόλη και γερανιόλη, τα οποία αποτελούν βοτανικά αρώματα και προσδίδει αρώματα φρούτων λόγω της αυξημένης παραγωγής 2-φαινυλαιθανόλης. Επιπροσθέτως, παράγει οξικό οξύ σε μεγάλες σχετικά συγκεντρώσεις (Padilla et al., 2016). Επίσης, βρέθηκε πως η *M. pulcherrima* παράγει αυξημένες ποσότητες προπιονικού αιθυλεστέρα (άρωμα ανανά), οξικού β-μεθυλοπροπυλεστέρα (άρωμα λουλουδιών και φρούτων, μπανάνα), οξικού β-μεθυλοβουτυλεστέρα (άρωμα μήλου), δεκανοϊκού αιθυλεστέρα (άρωμα κεριού, γλυκού μήλου), οξικού φαινυλαθυλεστέρα (άρωμα τριαντάφυλλου, μελιού, φρούτων) και ίσο-βουτανόλης (Einfalt, 2021).

Τέλος, σχετικά με τον ζύθο έχουν γίνει μερικές προσπάθειες παρασκευής του είτε με μονοκαλλιέργεια *M. pulcherrima*, είτε με μικτές καλλιέργειες της. Στη περίπτωση ζύμωσης με μονοκαλλιέργεια τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά, καθώς τα στελέχη που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα φαίνεται πως έχουν χαμηλότερη ικανότητα ζύμωσης της μαλτόζης απ' ότι ο *S. cerevisiae*. Επίσης, παρήχθησαν υπερβολικές συγκεντρώσεις οξικού αιθυλεστέρα, ολικών εστέρων και ολικών ανώτερων αλκοολών, με αρνητικές οργανοληπτικές επιπτώσεις (Ivit & Kemp, 2018). Ωστόσο, στη περίπτωση της μικτής καλλιέργειας, σημειώθηκε μειωμένη παραγωγή του οξικού αιθυλεστέρα, ευνοώντας τον σχηματισμό της φαινυλαιθανόλης και του οξικού φαινυλαιθυλεστέρα, προσφέροντας αρώματα φρούτων και λουλουδιών (Morata et al., 2019; Ivit & Kemp, 2018; Escribano et al., 2019).

3. Οι σημαντικότερες παραγόμενες αρωματικές ενώσεις.

Ένα από τα κυριότερα προϊόντα που παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης του ζυθογλεύκου από τους ζυμομύκητες είναι η αιθανόλη. Αυτή η βασική αλκοόλη, επιδρά στη μπίρα κυρίως μέσω της εντατικοποίησης της οينوπνευματώδους γεύσης και αρώματος, ενώ ταυτόχρονα προσδίδει μια θερμαντική αίσθηση στο στόμα κατά την κατανάλωση της. Ωστόσο, το πρωταρχικό αίτιο που καθορίζει τη γεύση και το άρωμα του ζύθου, είναι οι διάφοροι τύποι και οι συγκεντρώσεις, των άλλων δευτερευόντων ουσιών, προερχόμενων από το μεταβολισμό των ζυμομυκήτων.

Ο σχηματισμός αυτών των ουσιών εξαρτάται αποκλειστικά από τη μεταβολική ισορροπία του χρησιμοποιούμενου ζυμομύκητα. Αυτή η ισορροπία μπορεί να τροποποιηθεί από διάφορους παράγοντες και συνεπώς, ο αρωματικός και γευστικός χαρακτήρας της μπίρας μεταβάλλεται. Το είδος της ζύμης, η θερμοκρασία ανάπτυξης, ο βαθμός χρήσης πρόσθετων (adjuncts), το pH και η πυκνότητα του ζυθογλεύκου, η συγκέντρωση του οξυγόνου και η πίεση, είναι από τους κυριότερους παράγοντες.

Πολλές κατηγορίες πτητικών ουσιών κατέχουν σημαντικό ρόλο στα αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά του ζύθου (**Guido et al., 2004**). Το αρωματικό αυτό πλέγμα μπορεί να αποτελείται από 800 διαφορετικές πτητικές ενώσεις, ωστόσο κάποιες δεκάδες από αυτές είναι αρωματικά ενεργές. Είναι υπεύθυνες δηλαδή για την πυροδότηση της όσφρησης όταν η μπίρα καταναλώνεται (**Palamand and Aldenhoff, 1973**).

Μερικά από τα πτητικά προϊόντα έχουν πολύ μεγάλη σημασία και συνεισφέρουν σημαντικά στο άρωμα. Η σύνθεση και η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από τις πρώτες ύλες, το πρόγραμμα πολτοποίησης κατά τη ζυθοποίηση, οι παράμετροι στην αλκοολική ζύμωση και το είδος της ζύμης που την εκτελεί, καθώς και ο χρόνος ωρίμανσης και παλαίωσης της μπίρας.

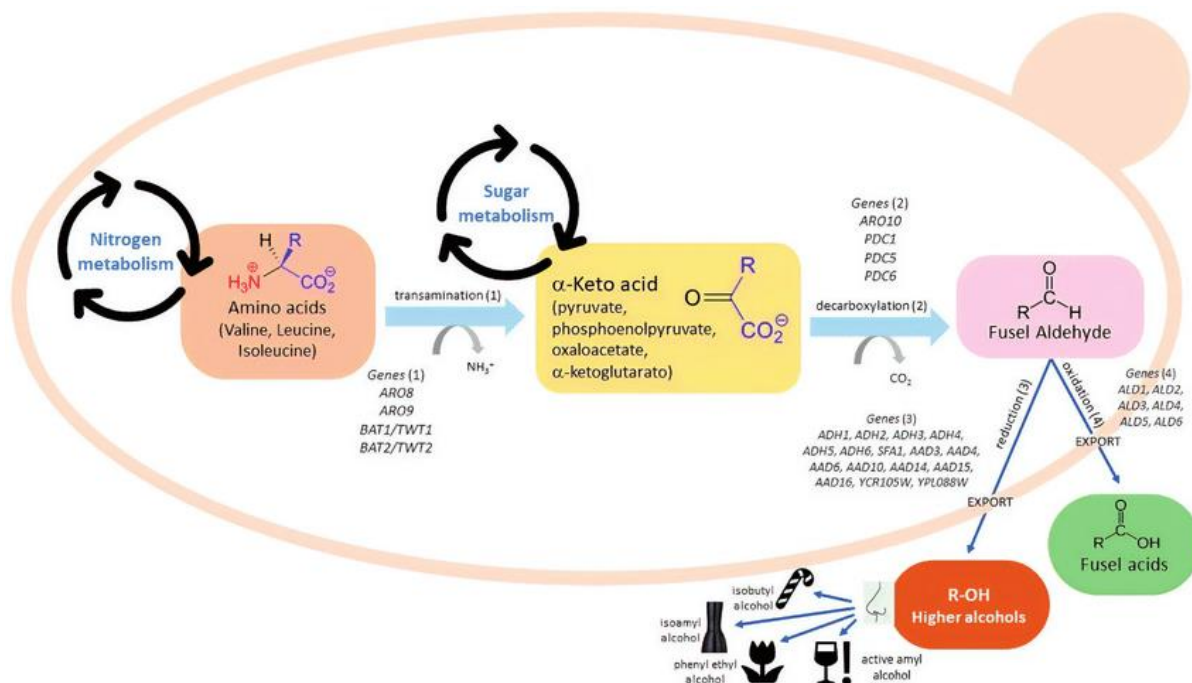
Οι σημαντικές αρωματικές ενώσεις που παράγονται από τις ζύμες μπορούν να ταξινομηθούν σε 5 κατηγορίες: ανώτερες αλκοόλες, εστέρες, οργανικά οξέα, καρβονυλικές ενώσεις και θειούχες ενώσεις. Εκτός από αυτές τις κατηγορίες, μερικές εξειδικευμένες μύρες περιέχουν σημαντικές συγκεντρώσεις πτητικών φαινολικών ενώσεων (**Vanbeneden et al., 2007**). Οι βασικές αυτές ενώσεις προέρχονται είτε από τα συστατικά της μπίρας όπως την αμυλούχα πρώτη ύλη και το λυκίσκο, είτε ως παραπροϊόντα του μεταβολισμού των ζυμομυκήτων. Εξίσου σημαντικοί παράγοντες είναι και η εξέλιξη των αρωματικών κατά τη διάρκεια παραμονής του ζύθου στη φιάλη, καθώς και οι ανεπιθύμητοι μικροοργανισμοί (**Kobayashi et al., 2007**).

3.1. Ανώτερες αλκοόλες

Εκτός από την αιθανόλη, υπάρχουν αρκετές ακόμα αλκοόλες που έχουν εντοπιστεί στη μπίρα, εκ των οποίων σημαντικότερες είναι οι ανώτερες αλκοόλες ή αλλιώς γνωστές ως ζυμέλαια, που συμβάλλουν ιδιαίτερα στο άρωμα της (Hazelwood et al., 2008; He et al., 2014). Προσδίδουν ένα πικάντικο και διαπεραστικό χαρακτήρα και συνεισφέρουν στη γεύση της αλκοόλης (Yeo & Liu, 2014), καθώς επίσης τα φυτικά, φρουτώδη και τα αρώματα βοτάνων είναι επίσης χαρακτηριστικά τους. Είναι πιο τοξικές από την αιθυλική αλκοόλη, καθώς και καθυστερούν την αποικοδόμησή της στον ανθρώπινο οργανισμό (Ντουρτόγλου, 2019). Ανευρίσκονται στη μεγαλύτερη αφθονία από τις υπόλοιπες πηκτικές ενώσεις και περισσότερο από 35 ανώτερες αλκοόλες στη μπίρα έχουν εντοπισθεί και μελετηθεί.

Οι ανώτερες αλκοόλες σχηματίζονται με διάφορους μηχανισμούς μέσω του μεταβολισμού των σακχάρων ή του αζώτου. Μέσω της αφομοίωσης του αζώτου συντίθενται τα αμινοξέα. Τα διάφορα ένζυμα των ζυμομυκήτων είναι υπεύθυνα για την αποαμύνωση των αμινοξέων σε α-κετονοξέα, διεργασία η οποία λαμβάνει χώρα μετά την αφομοίωση του αζώτου. Έπειτα γίνεται η αποκαρβοξυλίωση των α-κετονοξέων σε αλδεϋδες με ταυτόχρονη ελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα. Οι αλδεϋδες αυτές, οξειδώνονται απελευθερώνοντας ηλεκτρόνια προς δημιουργία οξέων, ενώ ταυτόχρονα κάποιες αλδεϋδες ανάγονται, απορροφώντας ηλεκτρόνια, προς τις αντίστοιχες ανώτερες αλκοόλες. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως Ehrlich pathway όπως φαίνεται και στην εικόνα 24 (Hazelwood et al., 2008; Oshita et al., 1995).

Στο μονοπάτι αυτό, ο τύπος των παραγόμενων ανώτερων αλκοολών καθορίζεται από τον τύπο των αμινοξέων που συμμετέχουν. Κοινώς η θρεονίνη (n-προπανόλη), βαλίνη (ίσο-βουτανόλη), λευκίνη (ίσο-αμυλική αλκοόλη), ισολευκίνη (2-μεθύλ-1-βουτανόλη) και η φαινυλαλαίνη (2-φαινυλαιθανόλη). Πράγματι, η προσθήκη ποσότητας λευκίνης βαλίνης, ισολευκίνης, λυσίνης, ιστιδίνης και προλίνης αυξάνουν την σύνθεση των ανώτερων αλκοολών (Lei et al., 2013; Procopio, Krausea, Hofmann, & Beckera, 2013). Η τυροσόλη και η τρυπτοφώλη μπορούν να σχηματιστούν και από τα αμινοξέα τυροσίνη και τρυπτοφάνη αντίστοιχα μέσω του Ehrlich pathway, ωστόσο στα επίπεδα που κανονικά ανευρίσκονται στο ζύθο, δεν αναμένονται να επηρεάσουν το αρωματικό προφίλ του (Li, Yang, Hao, Shan, & Dong, 2008).



Εικόνα 24: Παραγωγή των ανώτερων αλκοολών και τα αρώματα τους μέσω της διαδικασίας Ehrlich pathway (Godoy et al., 2020)

Το είδος της ζύμης, οι συνθήκες της αλκοολικής ζύμωσης και η σύσταση του ζυθογλεύκου, επηρεάζουν σημαντικά τη σύνθεση και το επίπεδο συγκέντρωσης των ανώτερων αλκοολών. Συνθήκες οι οποίες προωθούν την ανάπτυξη των ζυμών όπως, τα υψηλά ποσοστά θρεπτικών συστατικών (αμινοξέα, οξυγόνο, λιπίδια), η αυξημένη θερμοκρασία και η ανάδευση, ωθούν την παραγωγή αυτών των αλκοολών (MacDonald et al., 1984; Engan 1969; Engan and Aubert, 1977; Landaud et al., 2001; Boswell et al., 2002). Η σύνθεση των αρωματικών αλκοολών είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε μεταβολές της θερμοκρασίας. Αντίθετα, συνθήκες οι οποίες περιορίζουν την ανάπτυξη των ζυμομυκήτων, όπως, η μειωμένη θερμοκρασία και η υψηλή πίεση, μειώνουν το εύρος της παραγωγής των αλκοολών (Landaud et al., 2001). Η συμπλήρωση με ζυθογλεύκος, πλούσιο σε βαλίνη, ισολευκίνη και λευκίνη επιφέρουν τη σύνθεση της ίσο-βουτανόλης, αμυλικής αλκοόλης και ίσο-αμυλικής αλκοόλης, αντίστοιχα (Ayrappa 1971; Kodama et al., 2001).

Παρόλα αυτά, ορισμένα γένη και είδη ζυμομυκήτων οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή ανώτερων αλκοολών, καθώς και ο συγκεκριμένος χρόνος παραμονής της μπίρας στη φιάλη επηρεάζει το ποσοστό τους.

Οι αλειφατικές ανώτερες αλκοόλες αποτελούν τη μια από τις δύο κατηγορίες, οι οποίες επιδρούν στο άρωμα, όπως και η αιθανόλη με μία ακόμα μυρωδιά, αυτή του διαλύτη. Έχουν μια δυνατή, διαπεραστική και οξεία οσμή (Ντουρτόγλου, 2019). Η άλλη κατηγορία αποτελεί τις αρωματικές ανώτερες αλκοόλες, με πιο ευχάριστα και επιθυμητά αρώματα. Αυτές οι ενώσεις ενδέχεται να έχουν τόσο θετική όσο και αρνητική επιρροή στο άρωμα και τη γεύση.

Επιπλέον οι ανώτερες αλκοόλες επηρεάζουν έμμεσα το αρωματικό χαρακτήρα του ζύθου, καθώς κατά την ωρίμανση και παλαίωση της, αντιδρούν με καρβονυλικά οξέα και δημιουργούν αρωματικούς

εστέρες, εκτός αυτών που συντίθενται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (Ντουρτόγλου, 2019).

Οι υψηλές συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, μεγαλύτερες από 300 mg/l στη μπίρα, μπορεί να οδηγήσουν σε ένα δυνατό, δριμύ, αρνητικό άρωμα, ενώ στα βέλτιστα επίπεδα έχουμε τα επιθυμητά χαρακτηριστικά.

Παρακάτω αναπτύσσονται οι σημαντικότερες από αυτές:

ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΕΣ ΑΝΩΤΕΡΕΣ ΑΛΚΟΟΛΕΣ

- Η ίσο-βουτανόλη, $C_4H_{10}O$, προσφέρει ένα γλυκό άρωμα σαν αυτό της αμυλικής αλκοόλης αλλά πιο μαλακό, διαπεραστικό και ασφυκτικό που θυμίζει διαλύτη με χαμηλή υπολλειματικότητα. Τα όρια ανίχνευσης κυμαίνονται αντίστοιχα μεταξύ 90-100 mg/l και 50-70 mg/l. Εάν η συγκέντρωσή της ξεπεράσει το 20% της συνολικής ποσότητας της προπυλικής αλκοόλης, ίσο-βουτανόλης και της ίσο-αμυλικής αλκοόλης, επηρεάζει αρνητικά στη ποιότητα της μπίρας (Kobayashi et al., 2006; Michel et al., 2016b; O'Neil, 2013; Snyder, 1992;)
- Η προπυλική αλκοόλη ή n-προπανόλη, C_3H_8O , παρουσιάζει το μεγαλύτερο όριο ανίχνευσης το οποίο ανέρχεται στα 600 mg/l και προσφέρει ένα χαρακτηριστικό άρωμα ώριμου φρούτου και ένα γλυκό αλκοολικό άρωμα (Engan, 1972). Νότες φιστικιού, καρυδιού και τσιγλόφουσκας είναι επίσης παρούσες συνεισφέροντας επίσης και με έναν γεώδη χαρακτήρα (Mosciano & Gerard, 2001a).
- Η ίσο-αμυλική αλκοόλη, $C_5H_{12}O$, θυμίζει ένα άρωμα δριμύ και θρυαλλίδας, είναι αποπνικτική, ερεθιστική και δυσάρεστη, με όρια ανίχνευσης μεταξύ 50-65 mg/l. Ανιχνεύσιμη είναι και η οσμή της μελάσας και της μπανάνας. Όπως και η ίσο-βουτανόλη έτσι και η ίσο-αμυλική αλκοόλη, με την αύξηση της συγκέντρωσης της το άρωμα της μπίρας καθίσταται όλο και πιο βαρύ και ανεπιθύμητο (Meilgaard, 1975a; Kobayashi et al., 2006; Mosciano & Gerard, 1997b).
- Η 2-μεθύλ-1-βουτανόλη η οποία είναι και αυτή από τα πολλά ισομερή της αμυλικής αλκοόλης έχει το χαρακτηριστικό άρωμα της αλκοόλης, αλλά μπορεί να θυμίσει και ψημένο και μαγειρεμένο άρωμα, καθώς και άρωμα κακάου και δερμάτινο χαρακτήρα. Το όριο ανίχνευσης της ανέρχεται στα 50-70 mg/l (Luebke & William, 2021).
- Η 1-εξανόλη, $C_6H_{14}O$, η οποία στη μπίρα συνήθως είναι μικρότερης σημασίας, δίνει χορτώδη και πωάδες οσμή, καθώς και το άρωμα μήλου. Έχει γλυκιά και ευχάριστη αλκοολική γεύση και το όριο ανίχνευσής της είναι τα 0,25 mg/l. (Kobayashi et al., 2006; Mosciano & Gerard, 1993a; Wiley & Sons, 2001).

ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΩΤΕΡΕΣ ΑΛΚΟΟΛΕΣ

- Η αρωματική ένωση 2-φαινυλαιθανόλη, $C_8H_{10}O$, είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης, από τις σημαντικότερες ανώτερες αλκοόλες, η οποία συντίθεται από το αμινοξύ φαινυλαλαίνη και έχει κυρίαρχο άρωμα αυτό του τριαντάφυλλου (Ντουρτόγλου, 2019). Επίσης νότες ανθόνερου και του μελιού είναι παρούσες. Έχει θετική επίδραση στο άρωμα της μπίρας και θεωρείται πως μπορεί να κρύψει τη δυσάρεστη οσμή που ευθύνεται στο διμεθυλοσουλφίδιο (DMS) (Hegarty

et al., 1995). Γίνεται αντιληπτή σε χαμηλές συγκεντρώσεις μεταξύ 40-45 mg/l (**Meilgaard, 1975a; Engan, 1972; Luebke & William, 1981; Mosciano & Gerard, 1993b**).

- Παρόλο που η φαινυλαιθανόλη θεωρείται θετικός παράγοντας για το άρωμα της μπίρας, η τυροσόλη ή p-υδρόξυ-φαινύλ-αιθύλ-αλκοόλη, $C_8H_{10}O_2$, συνεισφέρει με μια πικρή γεύση και άρωμα yeast bite (**Rosculet, 1971**). Αποτελεί και αυτή δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης, προερχόμενο από το αμινοξύ τυροσίνη. Η ένωση αυτή μπορεί να προέρθει και από το ξύλο και μπορεί να εντοπισθεί και στο ελαιόλαδο (**Ντουρτόγλου, 2019**). Επίσης η τρυπτοφόλη με μοριακό τύπο $C_{10}H_{11}NO$, προσδίδει ένα πικρό και φρουτώδες χαρακτήρα και κυρίως άρωμα αμύγδαλου. Τα αρωματικά χαρακτηριστικά της τυροσόλης και της τρυπτοφόλης θεωρούνται ανεπιθύμητα, ωστόσο είναι παρόντα μόνο όταν οι συγκεντρώσεις τους υπερβαίνουν τα όρια ανίχνευσης τους σε μερικές αφροζύμωτες μπίρες (**Djordjevic et al., 2016**). Οι **Charalambous et al., 1972**, ανέφεραν ότι τα όρια ανίχνευσης της τυροσόλης και τρυπτοφόλης ανέρχονται στα 20 και 10 mg/l αντίστοιχα.
- Η 2-φουρανμεθανόλη με μοριακό τύπο $C_5H_6O_2$, χαρακτηρίζεται από μια γλυκιά, εστερική μυρωδιά, ωστόσο αρώματα καραμέλας, καφέ και του καμένου ψωμιού είναι επίσης παρόντα. Το όριο ανίχνευσης της είναι τα 8 mg/l (**Luebke & William, 1997; Mosciano & Gerard, 1990a**).
- Η 2-αιθύλ-1-εξανόλη ή 2-αιθύλεξανόλη, $C_8H_{18}O$, προσδίδει μια γλυκιά, ελαφρώς ανθική μυρωδιά που θυμίζει το τριαντάφυλλο, καθώς και εσπεριδοειδών φρούτων. Έχει λιπαρή υφή και πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης περίπου στα 0,075 mg/l (**McGinty et al., 2010; Bevan, 2001**).
- Τέλος η βενζυλική αλκοόλη ή φαινυλμεθανόλη με μοριακό τύπο C_7H_8O , χαρακτηρίζεται από ανθικά και φαινολικά αρώματα. Επίσης έχει άρωμα βαλσάμικου, ροδοπέταλων, αμύγδαλου και κερασιού και ανιχνεύεται στα 5,5 mg/l. (**Luebke, William, 1981; Luebke, William, 1997**)

3.2. Οργανικά οξέα

Τα οργανικά οξέα συνεισφέρουν στη γεύση πολλών τροφίμων. Η ξινή γεύση, είναι εκείνη, η οποία είναι περισσότερο συνδεδεμένη με τα οξέα, παρόλο που έχουν αναφερθεί και διαφορετικές γεύσεις, όπως πικρές, αλμυρές και η αίσθηση του στυφού χαρακτήρα στο στόμα. Τα οξέα που κοινώς υπάρχουν στα τρόφιμα, ποικίλουν αρκετά λόγω της διαφορετικής δομής τους. Παρόλο που, έχουν γίνει αποφάσεις για τα όρια ανίχνευσης πολλών από αυτών των ενώσεων, δεν είναι εφικτή η ικανοποιητική πρόβλεψη των ορίων αυτών μόνο από τη δομή του μορίου.

Περισσότερα από 100 διαφορετικά οργανικά οξέα έχουν αναφερθεί στη μπίρα (Meilgaard, 1975c), τα οποία μπορούν να διαιρεθούν σε δύο βασικές κατηγορίες, τα πτητικά και τα μη-πτητικά οξέα (Rodrigues et al., 2010b). Τα σημαντικότερα πτητικά οξέα αποτελούν το οξικό, προπανοϊκό, ίσο-βουτυρικό, βουτυρικό, ίσο-βαλερικό, βαλερικό, καπροϊκό, καπρυλικό, καπρινικό και λαυρικό οξύ. Τα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας C₄-C₁₀, τα οποία αποτελούν το 85-90% των λιπαρών οξέων στη μπίρα, συνεισφέρουν στο άρωμα και στη πτητική οξύτητα του ζύθου. Η συγκέντρωσή τους είναι χαμηλή, ανέρχεται σε μερικά mg/l με τα τέσσερα τελευταία να φθάνουν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (Καυσοπούλου, 1991). Ωστόσο, εάν βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις, συνεισφέρουν με μια ξινή και αλμυρή γεύση, καθώς και με off-flavours αρώματα όπως αυτού του ιδρώτα και του τυριού, καθώς και αρώματα κασιόκας και ζύμης. (Meilgaard, 1975a; Clapperton, 1978; Montanari et al., 1999; Siebert, 1999). Ποσοτικά τα πτητικά οξέα που επηρεάζουν περισσότερο τη γεύση και το άρωμα του ζύθου είναι το οξικό, εξανοϊκό (καπροϊκό), οκτανοϊκό (καπρυλικό), δεκανοϊκό (καπρυλικό) και το δωδεκανοϊκό οξύ και είναι τα σημαντικότερα (Coote and Kirsop, 1974; Meilgaard, 1975c; Clapperton, 1978; Chen, 1980; Klopper et al., 1986; Amata and Germain, 1990).

Τα κύρια μη πτητικά οργανικά οξέα του ζύθου, τα οποία σχηματίζονται από τους ζυμομόκητες συμπεριλαμβάνουν τα παρακάτω με τα όρια ανίχνευσής τους.

- Το οξαλικό οξύ, C₂H₂O₄, προσδίδει οξειδωμένη και αλμυρή γεύση με όριο ανίχνευσης τα 500 mg/l.
- Το κιτρικό οξύ, C₆H₈O₇, έχει ξινή γεύση με όριο ανίχνευσης τα 400 mg/l.
- Το μηλικό οξύ, C₄H₆O₅, με όριο ανίχνευσης 700 mg/l.
- Το φουμαρικό οξύ, C₄H₄O₄, έχει ξινή γεύση με όριο ανίχνευσης 400 mg/l.
- Το ηλεκτρικό οξύ, C₄H₆O₄, με όριο ανίχνευσης τα 220 mg/l.
- Το γαλακτικό οξύ, C₃H₆O₃, έχει ξινή γεύση με όριο ανίχνευσης τα 400 mg/l.
- Το πυροσταφυλικό οξύ, C₃H₄O₃, με όριο ανίχνευσης τα 300 mg/l. (Meilgaard, 1975a; Clapperton, 1978; Siebert, 1999; Amata and Germain, 1990; Li and Liu, 2015; Coote and Kirsop, 1974).

Τα οξέα αυτά επηρεάζουν κατευθείαν τη γεύση και το άρωμα, όταν η συγκέντρωσή τους είναι μεγαλύτερη από αυτή του ορίου αναγνώρισης τους, και από την επιρροή τους στην ενεργή οξύτητα (pH) του ζύθου. Αυτές οι ενώσεις προέρχονται από τις πρώτες ύλες όπως τη βύνη και τον λυκίσκο, καθώς παράγονται και από την αλκοολική ζύμωση του ζυθογλεύκου. Τα οργανικά οξέα, τα οποία εξέρχονται από τα κύτταρα, συντίθενται μέσω της διαδικασίας σύνθεσης των αμινοξέων και από το

μεταβολισμό των υδατανθράκων. Ειδικότερα, είναι περίσσια προϊόντα του ημιτελούς κύκλου του Krebs κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Ο βαθμός απέκκρισης των οξέων αυτών εξαρτάται από το είδος της ζύμης και το σθένος της ζύμωσης, με τις αργές ζυμώσεις να παρουσιάζουν χαμηλότερη εξαγωγή (Asano et al., 1999).

Συγκεκριμένα, τα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας παράγονται de novo από τους ζυμομύκητες κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης υπό αναερόβιες συνθήκες. Δεν είναι το αποτέλεσμα οξείδωσης τους ζυθογλεύκους ή των λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας (LCFA). Συνεπώς, οποιαδήποτε μεταβολή στις συνθήκες της ζύμωσης, που προωθούν το εύρος της ανάπτυξης των ζυμομυκήτων, ευνοούν την αυξημένη παραγωγή των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας στη μπίρα. Η υψηλή θερμοκρασία ζύμωσης, η αυξημένη οξυγόνωση του ζυθογλεύκους επηρεάζουν θετικά τη παραγωγή των λιπαρών οξέων (Boulton and Quain 2006). Επίσης η παρουσία αυτών των οξέων, είναι συνδεδεμένη με την αυτόλυση των ζυμομυκήτων (Masschelein 1981). Οι αρωματικές ενώσεις off-flavors, προερχόμενες από την αυτόλυση των ζυμών διεγείρονται σε υψηλές θερμοκρασίες, υπερπληθυσμό των ζυμών και σε παρατεταμένη επαφή τους με τη μπίρα στο τέλος της πρωταρχικής ζύμωσης και κατά τη διάρκεια της δευτερεύουσας ζύμωσης.

Παρακάτω αναπτύσσονται τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα μεσαίας και μακράς αλυσίδας:

ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕΣΑΙΑΣ ΚΑΙ ΜΑΚΡΑΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ

- Το οξικό οξύ, το οποίο είναι η κυρίαρχη ένωση στο ξύδι, με μοριακό τύπο $C_2H_4O_2$ έχει όριο ανίχνευσης τα 175 mg/l, έχει το χαρακτηριστικό άρωμα ξυδιού, είναι ελαφρώς δριμύ και έχει ξινή γεύση (Meilgaard, 1975a).
- Το εξανοϊκό οξύ ή καπροϊκό οξύ, με μοριακό τύπο $C_6H_{12}O_2$, έχει ξινή γεύση και προσδίδει ένα τυρώδη και κατσικίσιο άρωμα. Έχει φαινολικό χαρακτήρα και λιπαρή υφή, με όριο ανίχνευσης που ανέρχεται στα 8 mg/l (Meilgaard, 1975b; Luebke & William, 1987)
- Το οκτανοϊκό οξύ ή καπρυλικό οξύ, $C_8H_{16}O_2$, έχει κηρώδη και τυρώδη αρώματα καθώς και βαριά αρώματα λαχανικών. Επίσης η οσμή χαλασμένου φαγητού και το κατσικίσιο άρωμα είναι χαρακτηριστικά του. Έχει ελαιώδη και λιπαρή υφή, με όριο ανίχνευσης κυμαίνεται μεταξύ 15-19 mg/l (Meilgaard, 1975a; Luebke & William, 1988)
- Το δεκανοϊκό οξύ ή καπρινικό οξύ, $C_{10}H_{20}O_2$, αν και ανήκει στη κατηγορία αυτή προσδίδει μια νότα εσπεριδοειδών αρωμάτων και ελαφρώς φρουτώδη οσμή. Αποτελείται και από βουτυρένιο, λιπαρό και κηρώδη χαρακτήρα με ξινή γεύση και το όριο ανίχνευσης του τα 10 mg/l (Meilgaard, 1975a).
- Με μοριακό τύπο $C_{12}H_{24}O_2$, το δωδεκανοϊκό οξύ ή λαυρικό οξύ, προσφέρει άρωμα λαδιού καρύδας, ζωικού λίπους και φάρμας. Χαρακτηρίζεται από σαπωνοειδή και ελαφρώς λιπαρό χαρακτήρα με όριο ανίχνευσής τα 6,1 mg/l (Meilgaard, 1975a; Luebke & William, 1990).
- Το έξα-δεκανοϊκό οξύ, $C_{16}H_{32}O_2$, συνεισφέρει με κρεμώδη, γαλακτώδες χαρακτηριστικά με ελαιώδη νότες. Έχει λιπαρή υφή, με όριο ανίχνευσης τα 10mg/l (Meilgaard, 1975a; Luebke & William, 1989; Mosciano & Gerard, 2001b).

3.3. Εστέρες

Σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δευτερογενή προϊόντα των ζυμών, οι εστέρες υπάρχουν σε ίχνη. Παρόλο που βρίσκονται σε τόσο μικρές συγκεντρώσεις στη μπίρα, οι εστέρες είναι οι πιο σημαντικές αρωματικές ενώσεις που παράγονται από τους ζυμομύκητες (Meilgaard 1975b; Saison et al., 2009). Αυτό διότι, διαθέτουν πολύ χαμηλό κατώφλι αντίληψης στο ζύθο, πολύ μικρότερο από αυτό των ανώτερων αλκοολών, ταυτόχρονα όμως, μπορούν να καθορίσουν σε μεγάλο βαθμό το τελικό άρωμα του. Τα αρώματα φρούτων και λουλουδιών ευθύνονται κατά κύριο λόγο στους εστέρες, ωστόσο, εάν η παραγωγή τους υπερβεί την επιθυμητή συγκέντρωση, εν δυνάμει επηρεάζουν αρνητικά το ζύθο με μία πικρή, υπερβολικά φρουτώδες γεύση (Engan, 1974; Suomalainen, 1981; Nykanen and Suomalainen, 1983; Peddie, 1990; Meilgaard 1991; Saerens et al., 2008a; Saison et al., 2009; Verbelen et al., 2009; Hiralal et al., 2013). Έτσι, η ύπαρξη των βέλτιστων συνθηκών ζύμωσης είναι απαραίτητη, για την απόκτηση μιας ισορροπημένης μπίρας, όσον αφορά τους εστέρες.

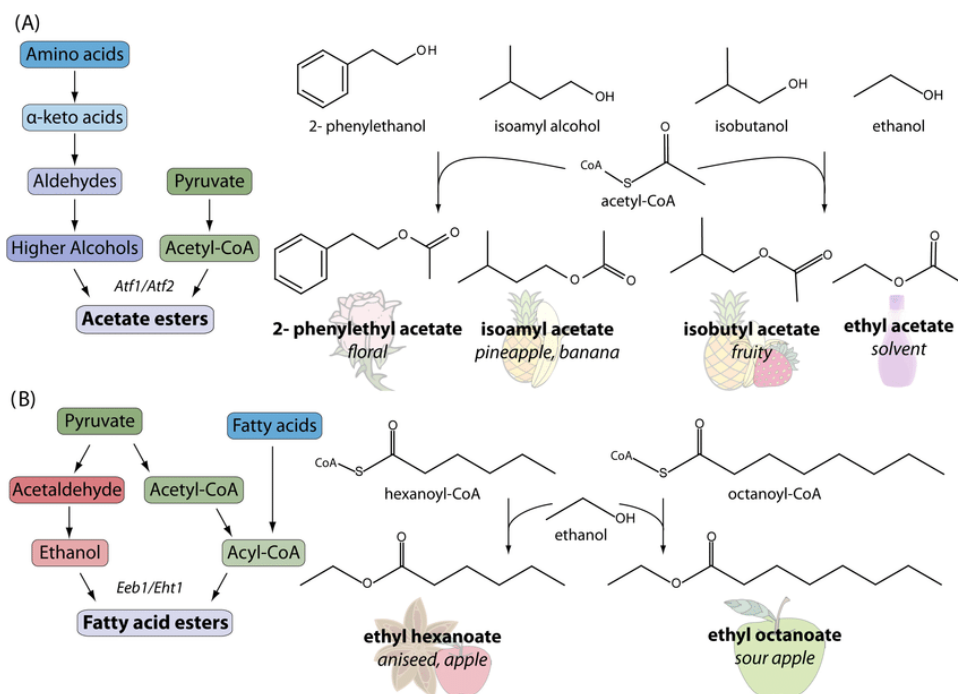
Οι εστέρες σχηματίζονται κυρίως κατά τη δραστήρια φάση της πρωταρχικής ζύμωσης, από μία ενζυμική, χημική συμπίκνωση μεταξύ των οργανικών οξέων και των αλκοολών. Οι πτητικοί εστέρες στη μπίρα, κατά κύριο λόγο ομαδοποιούνται σε δύο κατηγορίες, τους οξικούς εστέρες και τους MCFA (medium-chain fatty acid), (C₆-C₁₀) αιθυλεστέρες (Engan 1974; Meilgaard 1975b). Σχηματίζονται στο κυτόπλασμα του ζυμομύκητα και με ευκολία διαπερνούν την πλασματική μεμβράνη καθώς είναι λιπόφιλα. Ωστόσο, ενώ οι οξικοί εστέρες μικρής αλυσίδας μπορούν να μεταφερθούν εύκολα δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης, οι αιθυλικοί εστέρες μεσαίας αλυσίδας μπορεί να επιβραδυνθούν (Nykanen and Nykanen 1977; Nykiinen et al., 1977; Dufour, 1994).

Όπως απεικονίζεται στην εικόνα 25, για τη σύνθεση των εστέρων, τα οργανικά οξέα, πρέπει πρώτα να συνδεθούν με ένα συνένζυμο A, για το σχηματισμό ακυλ-CoA μορίων. Αυτά τα μόρια με παρουσία οξυγόνου, οξειδώνονται σε μικρότερα μέρη, τα ακέτυλο-CoA μόρια στα μιτοχόνδρια του ζυμομύκητα. Αυτό γίνεται εκτός αν το οργανικό οξύ που συμμετέχει είναι το οξικό οξύ το οποίο μετατρέπεται κατευθείαν σε ακέτυλο-CoA μόριο. Ωστόσο η πλειοψηφία των ακέτυλο-CoA μορίων, προέρχεται από την οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος. Υπό αερόβιες συνθήκες στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων τα ακέτυλο-CoA μόρια εισέρχονται στο κύκλο του Krebs προς σχηματισμό τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), δηλαδή συμμετέχουν στη κυτταρική αναπνοή. Αντίθετα, σε αναερόβιες συνθήκες εστεροποιούνται ενζυμικά με μια αλκοόλη προς δημιουργία οξικών εστέρων. Οι MCFA αιθυλεστέρες σχηματίζονται από μεγαλύτερης αλυσίδας ακέτυλ-CoA μορίων με την αιθανόλη (Pires et al., 2014).

Οι οξικοί εστέρες δημιουργούνται από την εστεροποίηση μεταξύ του οξικού οξέος και της αιθανόλης ή μιας ανώτερης αλκοόλης. Σε αυτή τη κατηγορία εστέρων, όπως ο οξικός αιθυλεστέρας, ο οξικός ίσο-αμυλεστέρας και ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας, αποτελούν ύψιστη σημασία ως αρωματικά συστατικά. Στη περίπτωση των MCFA αιθυλεστέρων, η αιθανόλη θα παρέχει το άκρο με την υδροξυλομάδα και το όξινο άκρο θα προέρχεται από ένα λιπαρό οξύ μεσαίας αλυσίδας (Engan 1974; Meilgaard 1975b). Αντίστοιχα όπως και στους οξικούς εστέρες, ο εξανοϊκός, ο οκτανοϊκός, ο δεκανοϊκός και δωδεκανοϊκός αιθυλεστέρας αποτελούν τους πιο σημαντικούς. Επιπλέον, εστέρες προερχόμενοι από λιπαρά οξέα με ακόμα μεγαλύτερη αλυσίδα (C₁₃-C₂₂), όπως ο έξα-δεκανοϊκός αιθυλεστέρας και ελαϊκός αιθυλεστέρας,

συντίθενται ενδοκυτταρικά και παραμένουν κατά κύριο λόγο στο εσωτερικό του ζυμομύκητα (Saerens et al., 2008; Zhuang, 2014). Παρόλα αυτά η κατανομή τους μεταξύ του κυττάρου και του υποστρώματος, εξαρτάται από το είδος του ζυμομύκητα που χρησιμοποιείται. Οι αιθυλικοί εστέρες των λιπαρών οξέων με μικρό αριθμό μορίων άνθρακα συνεισφέρουν στο άρωμα σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι οι αιθυλικοί εστέρες με μεγαλύτερο αριθμό μορίων άνθρακα (Καψοπούλου, 1991). Όσο το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας μεγαλώνει, ο αρωματικός χαρακτήρας των εστέρων αυτών μετατρέπεται από φρουτώδης προς σαπωνοειδή, σε λιπαρή αρωματική νότα (Ντουρτόγλου, 2019). Ως λιποδιαλυτοί, οι αιθυλεστέρες, μπορούν να μεταφερθούν δια μέσω της πλασματικής μεμβράνης στο ζυμούμενο υπόστρωμα, συνεισφέροντας έτσι στην αυξανόμενη συγκέντρωση τους στη μπίρα (Saerens et al., 2008; Zhuang, 2014). Επιπλέον, η παρουσία διαφορετικών εστέρων μπορεί να έχει συνεργατική επίδραση στα μεμονωμένα αρωματικά χαρακτηριστικά, καθιστώντας έτσι τους εστέρες, ικανές ενώσεις να επηρεάσουν το άρωμα και τη γεύση του ζύθου πολύ πιο κάτω από τα όρια ανίχνευσής τους (Rodrigues et al., 2008a).

Ο σχηματισμός και των δύο ομάδων εστέρων αυξάνεται με αυξανόμενη συγκέντρωση σακχάρων του ζυθογλεύκου καθώς και σε αυξημένη περιεκτικότητα σε άζωτο. Επίσης η παραγωγή τους εξαρτάται από το είδος της ζύμης και από τις συνθήκες ζύμωσης. Η αύξηση του pH αυξάνει την παραγωγή τους όπως επίσης και η χαμηλή θερμοκρασία ζύμωσης. Η περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα και στερόλες καθώς επίσης ο αερισμός και η συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα αποτελούν περαιτέρω παράγοντες στην επίδραση της σύνθεσης των εστέρων (Καψοπούλου, 1991).



Εικόνα 25: Παραγωγή των εστέρων στον ζυμομύκητα. Αριστερά: γενικό σχήμα παραγωγής των δύο κατηγοριών εστέρων. (A) οξικοί εστέρες, (B) εστέρες λιπαρών οξέων. Δεξιά: παραδείγματα κάποιων από τους πιο σημαντικούς εστέρες και τα αρωματικά χαρακτηριστικά τους (Dzialo et al., 2017).

Παρακάτω αναπτύσσονται οι σημαντικότεροι εστέρες:

ΟΞΙΚΟΙ ΕΣΤΕΡΕΣ

- Από τους εστέρες, ο οξικός αιθυλεστέρας, $C_4H_8O_2$, κατά κανόνα αντιπροσωπεύει περίπου το 1/3 όλων των εστέρων στη μπίρα, διότι παράγεται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις (**Jespersen and Jacobsen, 1996**). Το όριο ανίχνευσης του στη μπίρα ανέρχεται στα 30-33mg/l, αλλά σε lager μπύρες είναι μικρότερο των 5 mg/l (**Smogrovicova and Domeny, 1999**). Το άρωμα που προσφέρει είναι αυτό του διαλύτη αλλά και φρούτων, με κυρίαρχο αυτό του ανανά, με χορτώδη νότες και έχει μια γλυκιά, ευχάριστη γεύση. Ωστόσο, κατά την διάρκεια αποθήκευσης του ζύθου, η συγκέντρωση του συγκεκριμένου εστέρα μπορεί να μειωθεί σε επίπεδα πολύ χαμηλότερα από το κατώφλι αντίληψής του (**Mosciano, Gerard, 1994; Vanderhaegen et al., 2007; Holt et al., 2019**);).
- Το πολυπόθητο άρωμα μπανάνας είναι το κύριο χαρακτηριστικό του οξικού ίσο-αμυλεστέρα. Σε χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης ($10^{\circ}C$) που ευνοούν τον σχηματισμό του (**Ντουρτόγλου, 2019**), και με μοριακό τύπο $C_7H_{14}O_2$, ο συγκεκριμένος εστέρας προσφέρει έντονα αρώματα ώριμων φρούτων, όπως και αυτό του ανανά και ανιχνεύεται σε όριο ανίχνευσης των 1,6-2 mg/l (**Engan, 1972; Meilgaard, 1975a; Peddie, 1990; Mosciano, Gerard, 1991**)
- Ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας, $C_{10}H_{12}O_2$, προσφέρει, όπως και η μία από τις δύο πρόδρομες ενώσεις του, το άρωμα τριαντάφυλλου. Οι υψηλές θερμοκρασίες ζύμωσης ($15-20^{\circ}C$) ευνοούν την παραγωγή του (**Ντουρτόγλου, 2019**). Τα ανθικά αρώματα είναι κυρίαρχα, παρόλα αυτά νότες τροπικών φρούτων και μελιού είναι χαρακτηριστικά του. Έχοντας γλυκιά γεύση όπως και ο οξικός ίσο-αμυλεστέρας, εντοπίζονται και φρουτώδεις πινελιές στο στόμα. Το όριο ανίχνευσης του είναι τα 3,8 mg/l. (**Engan, 1972; Meilgaard, 1975a; Peddie, 1990; Mosciano, Gerard, 2001a**)
- Ο οξικός ίσο-βουτυλεστέρας, με μοριακό τύπο $C_6H_{12}O_2$, προσδίδει αρώματα γλυκών και τροπικών φρούτων, με μια νότα μπανάνας tutti frutti. Έχει γλυκιά γεύση, η παραγωγή του ευνοείται σε χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης ($10^{\circ}C$) και το όριο ανίχνευσης του είναι 1,6 mg/l (**Engan, 1972; Meilgaard, 1975a; Peddie, 1990; Mosciano, Gerard, 1990c; Ντουρτόγλου, 2019**).

ΑΙΟΥΛΕΣΤΕΡΕΣ ΑΠΟ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΜΕΣΑΙΑΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ (MCFA)

- Ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας, με μοριακό τύπο $C_8H_{16}O_2$, εκτός από τα φρουτώδη αρώματα, προσδίδει και νότες γλυκάνισου, άγουρης μπανάνας και μια κηρώδη μυρωδιά. Έχει γλυκιά γεύση, με πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης το οποίο είναι 0,23 mg/l. (**Meilgaard, 1975a; Mosciano, Gerard, 1997c; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014**).
- Με μοριακό τύπο $C_{10}H_{20}O_2$, ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας, συνεισφέρει με αρώματα φρούτων όπως βερίκοκου, αχλαδιού και ξινόμηλου. Έχει σαπωνοειδή χαρακτήρα με λιπαρή και κρεμώδης υφή και γλυκιά γεύση. Οι υψηλές θερμοκρασίες ζύμωσης ($15-20^{\circ}C$) ευνοούν την παραγωγή του

(Ντουρτόγλου, 2019) και το όριο ανίχνευσης του ανέρχεται μεταξύ των 0,5-0,9 mg/l (Meilgaard, 1975a; Mosciano, Gerard, 1997a; Luebke, William, 1986; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014)

- Με αρώματα σταφυλιού, μήλου και κεριού απαρτίζεται ο δεκανοϊκός αιθυλεστέρας, καθώς έχει και ελαιώδη υφή και γλυκιά γεύση, με όριο ανίχνευσης 1,5 mg/l. Ο μοριακός τύπος είναι $C_{12}H_{24}O_2$ και η παραγωγή του ευνοείται σε υψηλές θερμοκρασίες ζύμωσης (15-20°C) (Meilgaard, 1975b; Luebke, William, 1987; Mosciano, Gerard, 1990b; Ντουρτόγλου, 2019).
- Ο δωδεκανοϊκός αιθυλεστέρας, $C_{14}H_{28}O_2$, έχει σαπυνοειδή χαρακτήρα, με κηρώδη οσμή και μερικές νότες ανθών. Έχει κρεμώδη υφή και γλυκιά γεύση, με όριο ανίχνευσης 3,5 mg/l. (Meilgaard, 1975b; Mosciano, Gerard, 1995b).

Στη συνέχεια ακολουθούν LCFA (λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας) αιθυλεστέρες μεγαλύτερου μοριακού βάρους από τους MCFA αιθυλεστέρες.

- Ο έξα-δεκανοϊκός αιθυλεστέρας ή παλμιτικός αιθυλεστέρας, με μοριακό τύπο $C_{18}H_{36}O_2$, έχει βουτυρώδη και λιπαρή υφή, με άρωμα βανίλιας, βαλσάμικου και ήπιες γαλακτώδη νότες. Το όριο ανίχνευσης του ανέρχεται στα 5 mg/l. (Meilgaard, 1975b; Mosciano, Gerard, 1997a; Luebke, William, 2021)
- Ο ελαϊκός αιθυλεστέρας, $C_{20}H_{38}O_2$, έχει τα ίδια χαρακτηριστικά με τον παλμιτικό αιθυλεστέρα, με πιο έντονη τη κρεμώδη και λιπαρή υφή και όριο ανίχνευσης 3,5 mg/l. (Meilgaard, 1975b; Luebke, William, 2009)

3.4. Καρβονυλικές ενώσεις

Οι συγκεντρώσεις των καρβονυλικών ενώσεων στη μπίρα είναι σχετικά χαμηλές (**Kobayashi et al., 2008**). Οι αλδεΐδες συντίθενται σε διάφορες διαδικασίες κατά τη διάρκεια της παραγωγής, όπως στις αντιδράσεις Maillard, στην οξείδωση των λιπιδίων και στον σχηματισμό των ανώτερων αλκοολών ως λειτουργικό συστατικό της αναβολικής και καταβολικής οδού, κατά την αλκοολική ζύμωση.

Η σημαντικότερη από αυτές είναι η ακεταλδεΐδη, η οποία αποτελεί το μόριο που μεσολαβεί για τον σχηματισμό της αιθανόλης. Προσφέρει ένα τραγανό άρωμα πράσινου μήλου και το όριο ανίχνευσης της στον ζύθο κυμαίνεται μεταξύ 10-20 mg/l . Ωστόσο, εάν η συγκέντρωση της είναι σε μεγαλύτερα ποσοστά, συμβάλει αρνητικά με χορτώδη off-flavours (**Lodolo et al., 2008**). Πολλοί δοκιμαστές μπορούν να εντοπίσουν την ακεταλδεΐδη σε πολύ μικρότερα επίπεδα (**Lodolo et al., 2008, Coetzee, 2014**).

Οι vicinal δικετόνες είναι κετόνες με δύο γειτονικές καρβονυλικές ομάδες. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, αυτές οι ενεργά αρωματικές ενώσεις παράγονται ως παραπροϊόντα του μεταβολισμού των αμινοξέων ίσο-λευκίνης, λευκίνης και βαλίνης (**Nakatani et al., 1984**). Προσφέρουν ένα βουτυρώδη χαρακτήρα και ένα άρωμα καραμέλας βουτύρου σε αλκοολούχα ποτά.

Διάφορες vicinal δικετόνες είναι παρούσες στη μπίρα, αλλά σχετικά με το άρωμα της, οι σημαντικότερες είναι το διακετύλιο (2,3-βουτανοδιόνη) και η 2,3-πεντανοδιόνη (**Lodolo et al., 2008**). Το διακετύλιο ποσοτικά είναι πιο σημαντικό από την πεντανοδιόνη και έχει εκτενώς θεωρηθεί ως μία πολύ σοβαρή off-flavour ένωση (με αρνητικό άρωμα) στο ζύθο (**Thompson et al., 1970**). Το διακετύλιο έχει ένα ισχυρό άρωμα καραμέλας βουτύρου σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από το όριο ανίχνευσής των 0,1-0,15 mg/l, ειδικά σε μύρες lager, περίπου 10 φορές μικρότερο από αυτό της πεντανοδιόνης (**Wainwright, 1973**). Το διακετύλιο είναι παραπροϊόν του αναβολισμού του αμινοξέως βαλίνη, σχηματιζόμενο από μια σειρά αντιδράσεων από τη γλυκόζη. Έπειτα το διακετύλιο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης μεταβολίζεται σε 2,3-βουτανεδιόλη η οποία δεν παρουσιάζει αρνητικό άρωμα (**Garcia et al., 1994; Krogerus, Gibson, 2013**). Η ένωση 2,3-πεντανοδιόνη είναι γνωστή για αρώματα παρόμοια με αυτά του διακετυλίου με όριο ανίχνευσης περίπου τα 0,9 mg/l (**Meilgaard, 1975b**). Παράγεται ως παραπροϊόν στη σύνθεση του αμινοξέως ίσο-λευκίνη στα μιτοχόνδρια του κυττάρου (**Ryan and Kohlhaw, 1974**).

Στο τέλος της κύριας ζύμωσης και της ωρίμανσης του ζύθου, το διακετύλιο αφομοιώνεται ξανά και μειώνεται η συγκέντρωσή του από τις ζύμες σε acetoin και 2,3-βουτανοδιόλη. Αυτές οι ενώσεις έχουν σχετικά υψηλά όρια ανίχνευσης, οπότε εντοπίζονται δύσκολα (**Branyik et al., 2008a**).

3.5. Θειούχες ενώσεις

Στη παραγωγή του ζύθου, οι θειούχες ενώσεις έχουν πολύ σημαντικό ρόλο, διότι ακόμα και σε ίχνη συμβάλλουν στο άρωμα και τη γεύση του. Επίσης, είναι από τις δυσκολότερες μεταβλητές που μπορεί ο ζυθοποιός να ελέγξει. Παρόλο που μικρές ποσότητες αυτών είναι αποδεκτές ή ακόμα και επιθυμητές στη μπίρα, σε περίσσια αυξάνουν τις ανεπιθύμητες off-flavours ενώσεις. Σε τέτοιες περιπτώσεις, εκκαθάριση με διοξείδιο του άνθρακα ή παρατεταμένη ωρίμανση είναι απαραίτητες διεργασίες για την απομάκρυνσή τους (Stewart et al., 2018).

Σημαντικότερες από τις θειούχες ενώσεις είναι το υδρόθειο (H_2S), διμεθυλοσουλφίδιο (DMS), το διοξείδιο του θείου (SO_2) και θειόλες όπως η μεθειονόλη.

- Οι ζυθοποιοί είναι πολύ οικείοι με το διοξείδιο του θείου (SO_2), διότι έχει σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση του αρώματος καθώς δεσμεύει ενώσεις σχετικά με τα αρώματα παλαιώσης και της ακεταλδεϋδης, και κυρίως δρα ως αντιοξειδωτικό επεκτείνοντας σημαντικά τη διάρκεια ζωής του ζύθου. Συνήθως παράγεται σε συγκεντρώσεις μικρότερες των 10 mg/l, ωστόσο το όριο ανίχνευσης του είναι τα 2,5 mg/l, το οποίο αποτελεί επιθυμητό θετικό χαρακτηριστικό σε κάποιες βυθοζύμωτες μπίρες (Plett, 1995; Dvořák et al., 2006; Kleinbeck et al., 2011; Stewart et al., 2018).
- Σε αντίθεση, το υδρόθειο (H_2S) αποτελεί μία ανεπιθύμητη πτητική ένωση διότι έχει υψηλές πιθανότητες να «σκεπάσει» τα υπόλοιπα θετικά αρώματα στο ζύθο. Έχει πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης τα 0,005 mg/l, με άρωμα το οποίο εκλαμβάνεται ως μυρωδιά σάπιου αυγού (Anderson & Howard 1974; Oka et al., 2008). Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, οι ζυμομύκητες συνήθως εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες υδρόθειου και διοξειδίου του θείου. Υπερβολικές συγκεντρώσεις του υδρόθειου σημειώνονται όταν το ζυθογλεύκος έχει έλλειψη σε θρεπτικά συστατικά, η αλκοολική ζύμωση δεν ελέγχεται κανονικά και από ζύμες που έχουν υποστεί έντονο stress. Υπό κανονικές συνθήκες, οι μπίρες περιέχουν χαμηλές συγκεντρώσεις υδρόθειου (Stewart et al., 2018).
- Το διμεθυλοσουλφίδιο (DMS) προέρχεται από τη παραγωγική διαδικασία του ζυθογλεύκους και μέσω του μεταβολισμού των ζυμομυκήτων. Το άρωμα του μπορεί να χαρακτηριστεί ως αυτό του βραστού λαχανικού και συγκεκριμένα του καλαμποκιού. Σε χαμηλά επίπεδα, συνιστάται σημαντική αρωματική ένωση, καθώς συμβάλει στο διακριτικό άρωμα και γεύση της lager μπίρας, όμως σε υψηλές συγκεντρώσεις προσδίδει δυσάρεστη μυρωδιά. Αποφάσεις για τη συγκέντρωσή του, μπορούν να παρθούν κατά την ωρίμανση με το σκοπό επίτευξης επιθυμητών επιπέδων στη τελική μπίρα (Scheuren et al., 2016). Το όριο ανίχνευσης του κυμαίνεται μεταξύ 25-60 mg/l (Swiegers et al., 2005).
- Από τις θειόλες, συγκεκριμένα η μεθειονόλη με μοριακό τύπο $C_4H_{10}OS$, προσδίδει άρωμα κρεμμυδιού, λαχανικών ακόμα και κρεατώδη οσμή. Επίσης έχει άρωμα κουνουπιδιού και πατάτας με αλμυρή γεύση και όριο ανίχνευσης τα 0,5 mg/l (Mosciano & Gerard, 1995a; Swiegers et al., 2005).

3.6. Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις συναντώνται σε όλα τα είδη λαχανικών και συγκεκριμένα η παρουσία τους σε μεγάλο βαθμό στο ζύθο οφείλεται κυρίως στη βύνη και σε μικρότερο βαθμό στο λυκίσκο (**Gromus and Lustig, 1998**). Κατά την διάρκεια παραγωγής της μπίρας, η περιεκτικότητα σε φαινολικά και η αντιοξειδωτική δράση μειώνονται κατά την μετατροπή του γλεύκους σε ζύθο (**Fantozzi et al., 1998**). Χάρη στα συγκεκριμένα τους χαρακτηριστικά, παρουσιάζουν πολύ μεγάλο τεχνολογικό και φυσιολογικό ενδιαφέρον (**Hough et al., 1981; Moll, 1987; Duke, 1992; Abu-Amsa et al., 1996; Croft, 1998; Nardini et al., 1998; Radtke et al., 1998; Gasbarrini et al., 1998**), καθώς συμμετέχουν στη διατήρηση του αφρού, στη φυσική και χημική ισορροπία της μπίρας και στην διάρκεια ζωής της κατά την αποθήκευση (**Hough et al., 1981; Moll, 1987**).

Στο ζύθο απαντώνται και φαινολικά οξέα αλλά και πολυφαινόλες (**Fantozzi et al., 1998**). Οι πτητικές φαινόλες, που επηρεάζουν το αρωματικό προφίλ της μπίρας, παράγονται από τους ζυμομύκητες και στα περισσότερα είδη μπίρας, εκτός των κατηγοριών όπως η Belgian Lambic και η German Wheat Beer, προσδίδουν ανεπιθύμητα αρωματικά. Συνήθως τα αρωματικά που προέρχονται από αυτές τις ενώσεις θυμίζουν κλούβιο αυγό, καμένο, πικάντικο και καπνιστό. Η παραγωγή τους εξαρτάται από το είδος της ζύμης, από την αρχική σύσταση του γλεύκους, καθώς και από την παρουσία φαινολικών οξέων με υψηλά όρια ανίχνευσης, όπως το φερουλικό, το κουμαρικό και το κινναμωμικό οξύ (**Coghe et al., 2004; Lewis & Bamforth, 2006; Vanbeneden et al., 2008**). Τα πιο κοινά αρώματα προερχόμενα από αυτές τις ενώσεις είναι αυτά των μπαχαρικών, του καπνιστού, των πικάντικων, φαρμακευτικών και των καμένων (**Thurston, 1986; Scholtes, 2014**).

Σημαντικότερες από τις πτητικές φαινόλες είναι η 4-βινύλ-γουαϊακόλη, η 4-βινύλ-φαινόλη, η 4-αιθύλ-γουαϊακόλη και η 4-αιθύλ-φαινόλη. Οι βινύλ-φαινόλες (4-βινύλ-γουαϊακόλη και 4-βινύλ-φαινόλη) περιέχονται κυρίως σε μπίρες που έχουν υποστεί ζύμωση από κάποιο στέλεχος *S. cerevisiae*, και η παρουσία τους είναι επιθυμητή σε συγκεντρώσεις έως 4 mg/l (**Michel et al., 2016b**).

- Η 4-βινύλ-γουαϊακόλη ή 4-μεθόξυ-βινύλφαινόλη, με μοριακό τύπο $C_9H_{10}O_2$, προσδίδει αρώματα γαρύφαλλου και μπαχαρικών όπως το πιπέρι. Επίσης η αίσθηση του καπνιστού, του ξύλου και της πούδρας είναι επίσης χαρακτηριστικά της. Προσδίδει στο ζύθο μια έντονη πικράδα και το όριο ανίχνευσής της είναι 0,3 mg/l.
- Η 4-αιθύλ-γουαϊακόλη ή 4-αιθύλ-2-μεθοξύφαινόλη, $C_9H_{12}O_2$, συνεισφέρει στη μπίρα με αρώματα καπνιστού ή πικάντικου κρέατος και είναι ανιχνεύσιμη σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 0,13 mg/l.
- Η 4-βινύλ-φαινόλη, με μοριακό τύπο C_8H_8O , χαρακτηρίζεται από το καπνιστό χαρακτήρα της, καθώς και από κρεατώδη, χημικά, φαινολικά αρώματα, ακόμα και φαρμάκων. Το όριο ανίχνευσής της ανέρχεται στα 0,2 mg/l.
- Τέλος η 4-αιθύλ-φαινόλη, $C_8H_{10}O$, έχει φαινολικό χαρακτήρα με δριμύ άρωμα και το όριο ανίχνευσής της είναι τα 0.9 mg/l (**Meilgaard, 1975b; Thurston, 1981; Thurston, 1986; Coghe et al., 2004; Vanbeneden et al., 2008; Scholtes, 2014;**)

3.7. Εξέλιξη του αρωματικού προφίλ κατά τη παλαίωση του ζύθου

Η μπίρα από τη φύση της είναι ένα ασταθές προϊόν, το οποίο έχει αρκετά περιορισμένο χρόνο ζωής όσον αφορά το άρωμα και τη γεύση. Συνεπώς, οι περισσότερες έρευνες διεξάγονται στο τομέα της αποθήκευσης/παλαίωσης του ζύθου. Οι παράγοντες και οι ουσίες που εμπλέκονται στο τάγγισμα και μπαγιάτεμα του ζύθου έχουν εκτενώς ελεγχθεί από πληθώρα συγγραφέων όπως οι **Dagliesh, (1977); Tressl et al., (1980); Hashimoto, (1981)**. Όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, κάθε επιλογή και κατεργασία των πρώτων υλών εμπλέκεται στην παλαίωση της μπίρας. Ωστόσο, όλοι οι συγγραφείς συμφωνούν πως οι αντιδράσεις υπεύθυνες για την εμφάνιση του μπαγιάτικου χαρακτήρα επιβραδύνονται με την προϋπόθεση ότι η μπίρα υφίσταται την ελάχιστη δυνατή επαφή με το οξυγόνο και η επακόλουθη αποθήκευσή σε χαμηλή θερμοκρασία (**Meilgaard and Peppard, 1975**).

Το μόνο πρόβλημα του ζύθου σχετικά με τη ποιότητα του, είναι η μεταβολή της χημικής σύστασης του κατά τη διάρκεια της παλαίωσής, η οποία θεωρείται ότι ξεκινάει τη στιγμή του διαχωρισμού της μπίρας από τους ζυμομύκητες. Μια ποικιλία αρωματικών ενώσεων μπορεί να εμφανιστεί, εξαρτώμενη από το τύπο της μπίρας και τις συνθήκες αποθήκευσης της. Διαφορετικοί τύποι ζύθου, παλαιώνουν με διαφορετικούς τρόπους σε διαφορετικούς ρυθμούς (**Bart Vanderhaegen et al., 2004; Meilgaard and Peppard, 1975**).

Πολλές διαφορετικές ενώσεις, υπόκεινται μια μεταβολή στις συγκεντρώσεις τους, καθώς ο ζύθος παλαιώνει. Από τις χημικές ενώσεις που προκαλούν το τάγγισμα του ζύθου, όπως αυτές που συντίθεται κατά τη διάρκεια της, οι αλδεϋδες αντιπροσωπεύουν το μεγαλύτερο συγκρότημα που έχει αναφερθεί έως τώρα (**Tressl et al., 1979; Hashimoto, 1981**). Ωστόσο, έχουν αναφερθεί και άλλες ενώσεις όπως οι κετόνες, θειούχες ενώσεις, αιθυλικοί εστέρες, furans, dioxanes, και dioxolanes (**Tressl et al., 1980; Williams and Gracey, 1982; Barrett et al., 1983**). Μερικές από αυτές όπως οι αιθυλικοί εστέρες, οι furans, οι dioxanes, και οι dioxolanes απλά αυξάνονται μέσω της σταδιακής αποκατάστασης της χημικής ισορροπίας, ενώ άλλες είναι το αποτέλεσμα οξειδωτικών αντιδράσεων. Επιπρόσθετα, οι αντιδράσεις Maillard, η οξείδωση των λιπιδίων, των καροτενοειδών ενώσεων και των ανώτερων αλκοολών, εμπλέκονται στο μπαγιάτεμα του ζύθου (**Meilgaard and Peppard, 1975**).

Ο **Dagliesh (1977)** περιέγραψε τις μεταβολές αυτές με τις περισσότερες λεπτομέρειες. Ωστόσο, η γραφική παράσταση του **Dagliesh** που φαίνεται στην εικόνα 26, είναι μια γενίκευση της αισθητηριακής εξέλιξης κατά τη περίοδο αποθήκευσης της μπίρας και σε καμία περίπτωση δεν ισχύει για κάθε μία.

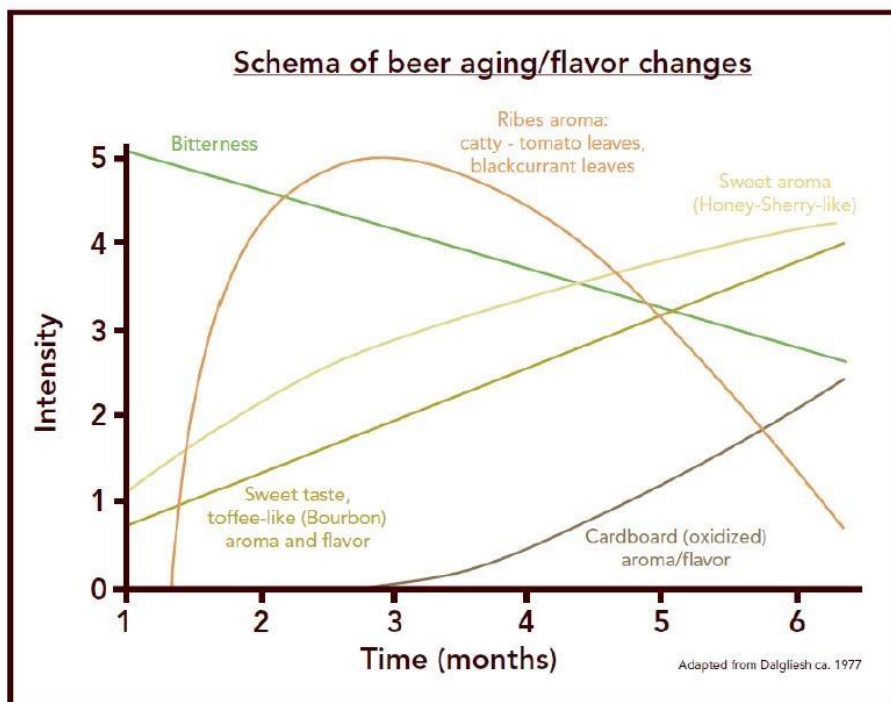
Κατά τη διάρκεια της παλαίωση παρατηρείται σταθερή μείωση της πικρής γεύσης. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην συγκάλυψη από τον αυξανόμενο γλυκό χαρακτήρα. Ταυτόχρονα, ο σχηματισμός αρωμάτων καραμέλας, καμένης ζάχαρης και δέρματος, συμπίπτουν με την αύξηση της γλυκιάς γεύσης. Επιπλέον, παρατηρείται ένας ταχύς σχηματισμός ενός χαρακτήρα, γνωστός ως ribes, ο οποίος συνδέεται με αρώματα φύλλων φραγκοστάφυλου. Έπειτα όμως, η ένταση των αρωματικών αυτών μειώνεται. Σύμφωνα με τον **Dagliesh (1977)**, ο σχηματισμός των χαρακτηριστικών αρωμάτων που θυμίζουν χαρτόνι και χαρτόκουτο, έπεται των ribes αρωμάτων.

Από την άλλη πλευρά, σύμφωνα με τον **Meilgaard (1972)**, ο χάρτινος χαρακτήρας αυξάνεται συνεχώς μέχρι το μέγιστο, ακολουθούμενος από μια μείωση της συγκέντρωσής του. Άλλες παρατηρήσεις εκτός αυτών σχετικά με τη μεταβολή του οργανοληπτικού χαρακτήρα είναι η παρουσία

έντονα πικρών και στυφών χαρακτήρων, αλλά και νότες οίνου και ούισκι σε έντονα παλαιωμένες μπίρες (Drost et al., 1971; Lewis et al., 1974). Τα θετικά αρωματικά χαρακτηριστικά της μπίρας, όπως αρώματα φρούτων και λουλουδιών, τείνουν να μειώνονται έντονα. Συνολικά, η μείωση των θετικών αρωμάτων μπορεί να είναι εξίσου σημαντική με την ανάπτυξη των αρωμάτων παλαίωσης (Whitair et al., 1979; Bamforth, 1999b).

Συχνά, το μπαγιάτεμα της μπίρας συσχετίζεται με την ανάπτυξη του χάρτινου χαρακτήρα. Ενώ, σε ορισμένες περιπτώσεις, και ειδικά στις μπίρες lager, ο χαρακτήρας αυτός είναι η κύρια εκδήλωση της μπαγιάτικης οσμής, αυτό δεν μπορεί να γενικευθεί. Αυτό συμβαίνει, διότι τα αρώματα και οι γεύσεις της παλαίωσης ποικίλλουν μεταξύ των τύπων ζύθου, και βεβαίως για ειδικές μπίρες, μερικά άλλα αρώματα αυτού του χαρακτήρα είναι πιο εμφανή. Ο Whitair (1981) ανέφερε τα αρώματα παλαίωσης μιας strong ale ως αυτά της καραμέλας, της γλυκόριζας και του καμένου. Επίσης ο αλκοολικός και στυφός χαρακτήρας ήταν παρόντες, ωστόσο ο χάρτινος και ο μεταλλικός χαρακτήρας δεν βρέθηκαν. Επιπρόσθετα, οι αρχικές καμένες γεύσεις σε σκουρόχρωμες μπίρες μπορεί να καλύψουν την ανάπτυξη των αρωμάτων παλαίωσης, οδηγώντας στην καλύτερη σταθεροποίηση της γεύσης και του αρώματος.

Εκτός από τη συγκέντρωση του οξυγόνου, η θερμοκρασία αποθήκευσης επηρεάζει τα χαρακτηριστικά της παλαίωσης. Σύμφωνα με τους Furusho et al., (1999), η ένταση του χάρτινου χαρακτήρα, κατά τη παλαίωση μιας lager μπίρας, διαφέρει στους 20° C και στους 30° C. Συγκεκριμένα στους 30° C η παρουσία αρωμάτων χαρτιού είναι εντονότερη. Συνεπώς, η μεταβολή των αρωματικών και γευστικών χαρακτηριστικών επηρεάζεται κυρίως από τον τύπο της μπίρας, τη συγκέντρωση οξυγόνου και τη θερμοκρασία αποθήκευσης.



Εικόνα 26 : Οργανοληπτικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της παλαίωσης του ζύθου σύμφωνα με τον Dalglish (1977).

Όσον αφορά τις καρβονυλικές ενώσεις, ο Hashimoto (1966) ήταν ο πρώτος που ανέφερε μια αξιοσημείωτη αύξηση στα επίπεδα των πτητικών καρβονυλικών ενώσεων, με μια παράλληλη αύξηση

στο ταγγισμένο χαρακτήρα. Η ακεταλδεΐδη ήταν από τις πρώτες ενώσεις της οποίας η αυξημένη συγκέντρωση παρατηρήθηκε σε παλαιωμένη μπίρα (Engan, 1969). Υπάρχουν ενδείξεις ότι κάποιες καρβονυλικές ενώσεις είναι σημαντικές στην εμφάνιση μαγατιάτικων οσμών στο ζύθο. Άλλες αλδεΐδες που συντίθενται κατά την παλαίωση είναι οι λεγόμενες Strecker αλδεΐδες. Η 2-μεθύλ-προπανάλη (Wheeler et al., 1971; Bohmann, 1985b; Vesely et al., 2003), η 2-μεθύλ-βουτανάλη (Miedaner et al., 1991; Vesely et al., 2003), η 3-μεθύλ-βουτανάλη (Wheeler et al., 1971; Miedaner et al., 1991; Vesely et al., 2003), η βενζαλδεΐδη (Wheeler et al., 1971; Miedaner et al., 1991), η φαινύλακεταλδεΐδη (Miedaner et al., 1991; Vesely et al., 2003) και η μεθειονάλη (Gijs et al., 2002; Vesely et al., 2003). Γενικά οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται περισσότερο σε αυξημένες συγκεντρώσεις οξυγόνου (Bohmann, 1985a; Narziss et al., 1985; Miedaner et al., 1991). Η μεθειονάλη και η φαινύλακεταλδεΐδη σχετίζονται με το αρωματικό προφίλ ενός παλαιωμένου ζύθου. Αντίθετα, οι υπόλοιπες αλδεΐδες Strecker δεν θεωρούνται σημαντικές για τον σχηματισμό μαγατιάτικων οσμών, ωστόσο η ύπαρξή τους θεωρείται ως δείκτης οξείδωσης της μπίρας (Narziss, Miedaner, & Eichhorn, 1999a, 1999b).

Για τις κετόνες, μελέτες αποκάλυψαν ότι η β-δαμασκηνόνη (άρωμα κόκκινων φρούτων και φράουλας) επηρεάζει τη γεύση και το άρωμα του ζύθου κατά τη παλαίωση (Chevance et al., 2002; Gijs et al., 2002). Άλλες κετόνες, των οποίων η συγκέντρωση αυξάνεται καθώς ο ζύθος παλαιώνει είναι η 3-μεθύλ-βουτάν-2-όνη και η 4-μεθύλπενταν-2-όνη (Hashimoto & Kuroiwa, 1975; Lustig et al., 1993) και οι vinical δικετόνες, το διακετύλιο και η 2,3-πεντανοδιόνη. Αυτό είναι πιο έντονο σε υψηλότερα επίπεδα οξυγόνου και το διακετύλιο μπορεί να ξεπεράσει ακόμα και το όριο ανίχνευσής του (Wheeler et al., 1971).

Οι ετεροκυκλικές ενώσεις, μερικές με καρβονυλικές λειτουργίες, αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα ενώσεων που πρόκειται να υποστούν αλλαγές στη συγκέντρωσή τους κατά τη διάρκεια της παλαίωσης του ζύθου. Οι παρακάτω furans σχηματίζονται (Lustig et al., 1993; Madigan et al., 1998; Varmuza et al., 2002): η φουρφουράλη, 5-υδροξύμεθύλ-φουρφουράλη (HMF), η 5-μεθύλ-φουρφουράλη, η 2-ακέτυλο-φουράνη, η 2-ακέτυλο-5-μεθύλ-φουράνη, η φουράνη και η φουρφουριλική αλκοόλη. Παρότι οι συγκεντρώσεις τους παραμένουν πολύ πιο κάτω από τα όρια ανίχνευσής τους, αναφέρονται ως ευαίσθητοι δείκτες γευστικής υποβάθμισης της μπίρας (Brenner & Khan, 1976; Bernstein & Laufer, 1977; Shimizu et al., 2001b). Τα επίπεδα της φουρφουράλης ενδέχεται να αυξηθούν σε σχέση με το χρόνο σε περίπου γραμμικό ρυθμό, το οποίο βέβαια μεταβάλλεται λογαριθμικά με τη θερμοκρασία αποθήκευσης (Madigan et al., 1998). Ως προϊόν των αντιδράσεων Maillard, η συγκέντρωσή της αυξάνεται περισσότερο κατά τη παλαίωση όταν η βύνη ψήνεται σε υψηλές θερμοκρασίες και το θερμό ίζημα στο ζυθογλεύκος ήταν υψηλότερο κατά τη διάρκεια της παραγωγής (Narziss et al., 1999). Από την άλλη πλευρά οι αντιδράσεις Maillard αναστέλλονται από θειώδες (Wedzicha & Kedward, 1995). Μαζί με την ικανότητα του να αναστέλλει το σχηματισμό ελεύθερων ριζών και να συνδέεται με καρβονυλικές ενώσεις, το θειώδες θεωρείται πολύ καλός αναστολέας του ταγγισμένου χαρακτήρα. Το οξυγόνο δείχνει να μην επηρεάζει. Συνεπώς, αυτές οι ενώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες αλλοιωμένης μπίρας που προκλήθηκαν από την υψηλή θερμοκρασία.

Οι πυραζίνες σχηματίζουν μια άλλη ομάδα ετεροκυκλικών σωματιδίων που υπόκεινται αλλαγές κατά την αποθήκευση. Σύμφωνα με τους Qureshi et al., (1979), οι συγκεντρώσεις από μερικές πυραζίνες

μειώνονται πολύ γρήγορα. Μερικές από αυτές είναι η 2-εθύλ-6-μέθυλοπυραζίνη και η 2-εθύλ-5-μέθυλοπυραζίνη. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες που εξαφανίζονται εντελώς, όπως η 2-ακετυλοπυραζίνη και 2,3 και 2,5 διμέθυλοπυραζίνες.

Οι αρωματικοί εστέρες που προσδίδουν φρουτώδη αρώματα, υπολογίζονται ως ιδιαίτερα θετικά χαρακτηριστικά μιας φρέσκης μπίρας. Ωστόσο, κατά την παλαίωση, οι συγκεντρώσεις των εστέρων όπως ο οξικός ίσο-αμυλεστέρας, μειώνονται σε επίπεδα κατώτερα των ορίων ανίχνευσής τους λόγω της υδρόλυσης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση των φρουτώδων αρωμάτων στο ζύθο (; **Stenroos, 1973; Neven et al., 1997**).

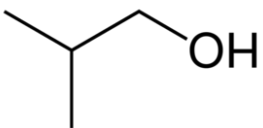
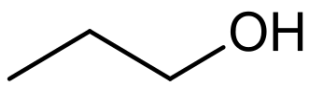
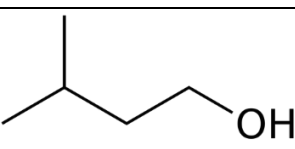
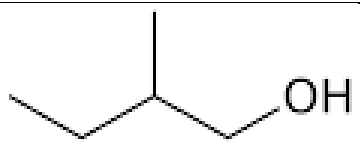
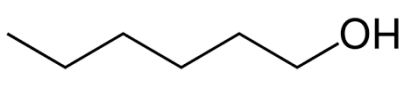
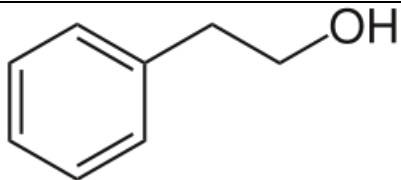
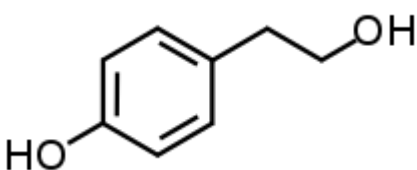
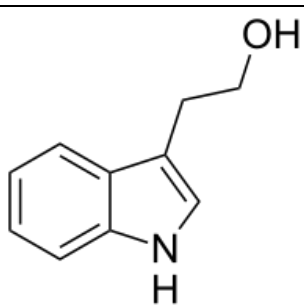
Σε αντίθεση, συγκεκριμένοι πτητικοί εστέρες όπως 2 και 3-μεθύλ-βουτυρικός αιθυλεστέρας, ο γαλακτικός αιθυλεστέρας και ο φαινυλοξικός αιθυλεστέρας, συντίθενται κατά τη διάρκεια της παλαίωσης του ζύθου (**Williams & Wagner, 1978; Bohmann, 1985b; Miedaner et al., 1991; Lustig et al., 1993; Gijis et al., 2002**). Αυτό διότι η χημική συμπύκνωση μεταξύ των αλκοολών και των οργανικών οξέων πραγματοποιείται σε υψηλούς ρυθμούς κατά την παλαίωση της μπίρας (**Williams & Wagner, 1978**). Οι **Williams & Wagner (1978)** συσχέτισαν τον σχηματισμό των δύο πρώτων αιθυλεστέρων με την ανάπτυξη αρωμάτων του κρασιού.

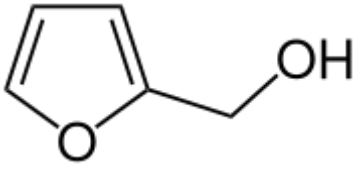
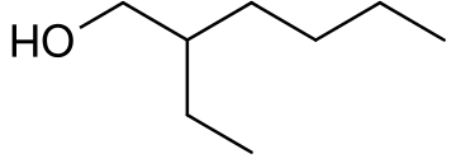
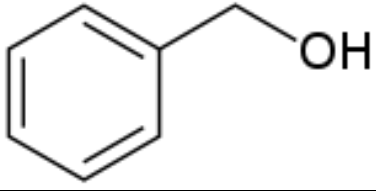
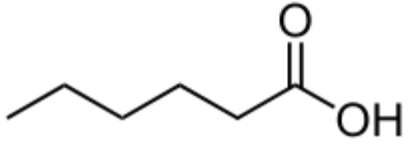
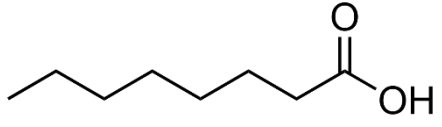
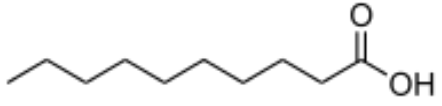
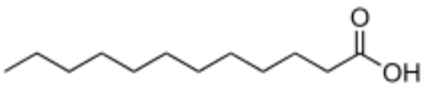
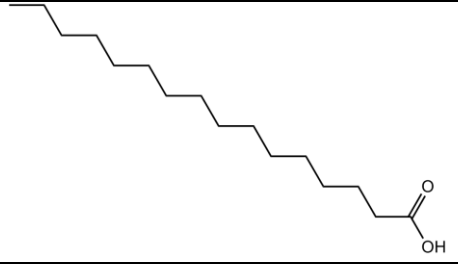
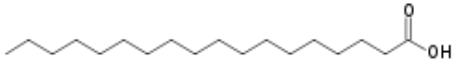
Οι θειώδεις ενώσεις γενικά έχουν ένα υπερβολικά χαμηλό όριο ανίχνευσης στη μπίρα και ακόμα και οι παραμικρές μεταβολές στη συγκέντρωσή τους μπορεί να έχουν παρατηρήσιμες επιδράσεις στο άρωμα και τη γεύση. Το διμέθυλο-τρι σουλφίδιο (άρωμα φρέσκου κρεμμυδιού) μπορεί να αυξηθεί πάνω από το όριο ανίχνευσής του που είναι τα 0,1 mg/l (**Gijis et al., 2002; Gijis, Perpete, Timmermans, & Collin, 2000; Williams & Gracey, 1982**).

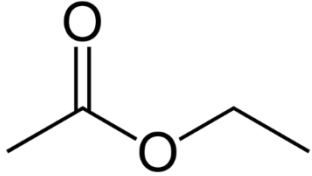
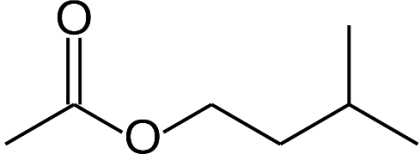
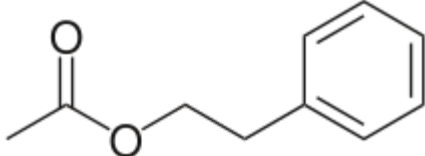
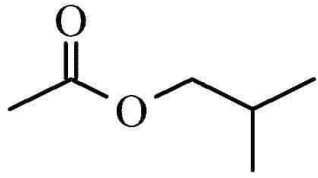
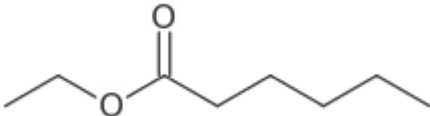
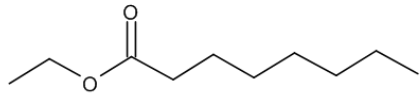
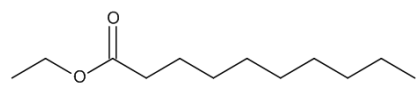
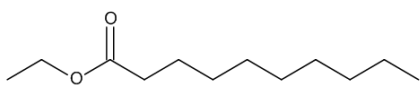
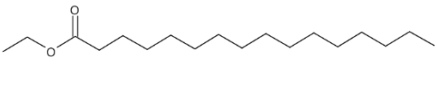
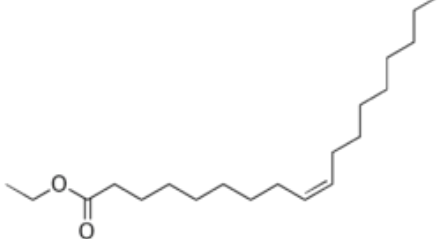
Οι μη πτητικές ενώσεις στο ζύθο μπορούν να γίνουν σημαντικές στη γεύση και στην αίσθηση στο στόμα. Αλλαγές στη συγκέντρωσή τους μπορεί, συνεπώς να προκαλέσουν αισθητηριακές διαφοροποιήσεις. Τα ίσο-α-οξέα, οι κύριες ουσίες που προκαλούν πικράδα στη μπίρα, είναι αρκετά ευαίσθητα στην υποβάθμιση κατά την παλαίωση (**Walters et al., 1997b ; King & Duineveld, 1999; De Cooman et al, 2000**), το οποίο οδηγεί σε μια μείωση στην πικράδα. Τα ίσο-α-οξέα αποτελούνται από 6 κύρια συστατικά: τα trans- και cis- ισομερή της ισοκοχουμουλόνης, ισοχομουλόνης και ισοαντχομουλόνης.


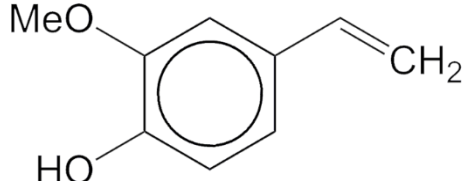
Το οξυγόνο, ειδικότερα, προκαλεί ταχεία αλλοίωση της γεύσης της μπίρας, υποδηλώνοντας ότι το οξυγόνο έχει την ικανότητα να πυροδοτεί κάποιες πολύ σημαντικές αντιδράσεις παλαίωσης . Η σημασία των ROS (reactive oxygen species) για το τάγγισμα της μπίρας υποδείχθηκε για πρώτη φορά από τους **Bamforth και Parsons (1985)**. Γενικά οι ελεύθερες ρίζες όπως (O_2^- , HOO^- , H_2O_2 και HO^\cdot), αντιδρούν με όλα τα είδη των οργανικών μορίων της μπίρας, όπως πολυφαινόλες, ισοχομουλόνες και αλκοόλες, με αποτέλεσμα τη μεταβολή του αρωματικού προφίλ της. Γίνεται σαφές ότι το οξυγόνο πυροδοτεί την απελευθέρωση ελεύθερων ριζών, οι οποίες μπορούν εύκολα να αντιδράσουν με πολλά συστατικά της μπίρας, οδηγώντας σε απότομες μεταβολές στο αρωματικό προφίλ της. Μεταξύ αυτών των συστατικών είναι οι αλκοόλες, οι πικρές ενώσεις του λυκίσκου και οι πολυφαινόλες. Δεδομένου ότι το οξυγόνο επιβλαβές για το ζύθο, οι ζυθοποιοί προσπάθησαν να ελαχιστοποιήσουν τη πρόσληψη οξυγόνου στο τελικό προϊόν. Οι σύγχρονοι εξοπλισμοί πλήρωσης μπορούν να πετύχουν συνολικό επίπεδο οξυγόνου στη φιάλη κάτω από 0,1mg/l (**Meilgaard and Peppard, 1975**).

Πίνακας 1: Πίνακας αντιστοίχισης των σημαντικότερων πτητικών ενώσεων με τον συντακτικό τους τύπο, το κατώφλι αντίληψης και τη χαρακτηριστική τους οσμή.

ΟΝΟΜΑ ΕΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ (mg/L)	ΑΡΩΜΑ
Ίσο-βουτανόλη C ₄ H ₁₀ O		90-100 ^a	Γλυκό, διαπεραστικό, ασφυκτικό, διαλύτη ^{b,c}
Προπυλική αλκοόλη C ₃ H ₈ O		600 ^d	Ώριμο φρούτο, αλκοόλης, φιστίκι, καρύδι, τσιγλόφουσκα ^{d,e}
Ίσο-αμυλική αλκοόλη C ₅ H ₁₂ O		50-65 ^f	Δριμύ, θρυαλλίδα, αποπνικτικό, μελάσα, μπανάνια ^{f,g}
2-μεθύλ-1-βουτανόλη C ₅ H ₁₂ O		50-70 ^h	Αλκοόλης, ψημένο, μαγειρεμένο, κακάο, δέρμα ^h
1-εξανόλη C ₆ H ₁₄ O		0,25 ^{r,6}	Χορτώδη, ποώδες, μήλο ^{i, r}
2-φαινυλαιθανόλη C ₈ H ₁₀ O		40-45 ^{e, f}	Τριαντάφυλλο, ανθόνερο, μέλι ^{i,j,k}
Τυροσόλη C ₈ H ₁₀ O ₂		20 ^l	Πικρό, yeast bite ^m
Τρυπτοφόλη C ₁₀ H ₁₁ NO		10 ^l	Πικρό, αμύδαλο, ελαφρώς φρουτώδες ^m

2-φουραν-μεθανόλη C ₅ H ₆ O ₂		8 ^{n,o}	Γλυκό, εστερικό, καραμέλα, καφέ, καμένο ψωμί ^{n,o}
2-αιθύλ-1-εξανόλη C ₈ H ₁₈ O		0,075 ^p	Γλυκό, ελαφρώς ανθικό τριαντάφυλλο, εσπεριδοειδή φρούτα ^d
Βενζυλική αλκοόλη C ₇ H ₈ O		5,5 ^{i,n}	Ανθικό, φαινολικό, βαλσάμικο, ροδοπέταλο, αμύγδαλο, κεράσι ^{i,n}
Εξανοϊκό οξύ C ₆ H ₁₂ O ₂		8 ^s	Ξινό, τυρώδη, κατσικίσιο, φαινολικό, λιπαρό ^t
Οκτανοϊκό οξύ C ₈ H ₁₆ O ₂		13 ^s 15-19 ^f	Κηρώδη, τυρώδη, βαριά αρώματα λαχανικών, κατσικίσιο, ελαιώδη, λιπαρή ^u
Δεκανοϊκό οξύ C ₁₀ H ₂₀ O ₂		10 ^{f, s}	Νότα εσπεριδοειδών, ελαφρώς φρουτώδες, βουτυρένιο, λιπαρή, κηρώδη, ξινή ^f
Δωδεκανοϊκό οξύ C ₁₂ H ₂₄ O ₂		6,1 ^{f, s}	Λάδι, καρύδα, ζωικό λίπος και στάβλου, σαπυνοειδή, λιπαρό ^v
Έξα-δεκανοϊκό οξύ C ₁₆ H ₃₂ O ₂		10 ^f	Κρεμώδη, γαλακτώδες, ελαιώδη νότες, λιπαρή ^w
Όκτα-δεκανοϊκό οξύ		N. F	N. F

Οξικός αιθυλεστέρας C ₄ H ₈ O ₂		30 ^s 30-33 ^x	Διαλύτη, φρούτο, ανανά, με χορτώδη νότες, γλυκό, ευχάριστο ^y
Οξικός ίσο- αμυλεστέρας C ₇ H ₁₄ O ₂		1,2-1,6 ^s 1,6-2 ^{d, f, z}	Μπανάνα, ώριμο φρούτο, ανανά ¹
Οξικός φαινυλαιθυλεστέρας C ₁₀ H ₁₂ O ₂		3,8 ^{d, f, s, z}	Τριαντάφυλλο, γλυκό, ανθικό, νότες τροπικών φρούτων, μέλι ^e
Οξικός ίσο- βουτυλεστέρας C ₆ H ₁₂ O ₂		1,6 ^{d, f, s, z}	Γλυκό, τροπικό φρούτο, με νότα μπανάνας ²
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας C ₈ H ₁₆ O ₂		0,21-0,23 ^s 0,23 ^{f, 3, 4}	Φρούτο, με νότες γλυκάνισου, κηρώδες, άγουρη μπανάνα ⁵
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας C ₁₀ H ₂₀ O ₂		0,9 ^s 0,5-0,9 ^{f, 3, 4}	Φρούτο, βερίκοκο, αχλάδι, ξινόμηλο ^{6, 7}
Δεκανοϊκός αιθυλεστέρας C ₁₂ H ₂₄ O ₂		1,5 ^s	Σταφύλι, μήλο, κηρώδες ^{4, 8}
Δωδεκανοϊκός αιθυλεστέρας C ₁₄ H ₂₈ O ₂		3,5 ^s	Νότες ανθών, κηρώδη, κρεμώδη ⁹
Έξα-δεκανοϊκός αιθυλεστέρας C ₁₈ H ₃₆ O ₂		5 ^s	Βουτυρώδη, λιπαρή, βανίλια, βαλσάμικο, γαλακτώδη νότες ^{h, 6}
Ελαϊκός αιθυλεστέρας C ₂₀ H ₃₈ O ₂		3,5 ^s	Έντονη κρεμώδη, λιπαρή, βαλσάμικο, γαλακτώδη ¹⁰

Μεθειονόλη C ₄ H ₁₀ OS		0,5 ¹¹	Κρεμμύδι, λαχανικών, κρεατώδη, κουνουπίδι, πατάτα ¹²
4-βινύλ-γουαϊακόλη C ₉ H ₁₀ O ₂		0,3 ^s	Γαρύφαλλου, μπαχαρικών (πιπέρι), καπνιστό, ξύλο, πούδρα ^s

*N. F = Not Found

*(a) Michel et al., 2016b (b) O'Neil, 2013 (c) Snyder, 1992 (d) Engan, 1972; (e) Mosciano & Gerald, 2001a (f) Meilgaard, 1975a (g) Mosciano & Gerald, 1997b (h) Luebke & William, 2021 (i) Luebke & William, 1981 (j) Mosciano & Gerald, 1993b (k) E. Ντουρτόγλου (l) Charalambous et al., 1972 (m) Rosculet, 1971 (n) Luebke & William, 1997 (o) Mosciano & Gerard, 1990a (p) Bevan, 2001 (q) McGinty et al., 2010 (r) Kobayashi et al., 2006 (s) Meilgaard, 1975b (t) Luebke & William, 1987 (u) Luebke & William, 1988 (v) Luebke & William, 1990 (w) Mosciano & Gerald, 2001b (x) Smogrovicova and Domeny, 1999 (y) Mosciano, Gerard, 1994 (z) Peddie, 1990 (1) Mosciano, Gerard, 1991 (2) Mosciano, Gerard, 1990c (3) Verstrepn et al., 2003 (4) Pires et al., 2014 (5) Mosciano, Gerard, 1997c (6) Mosciano, Gerard, 1997a (7) Luebke, William, 1986 (8) Mosciano, Gerard, 1990b (9) Mosciano, Gerard, 1995b (10) Luebke, Williams, 2009 (11) Swiegers et al., 2005 (12) Mosciano & Gerard, 1995a

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Στελέχη ζυμομυκήτων

Για την εκπόνηση του παρακάτω πειράματος χρησιμοποιήθηκαν δείγματα American Pale Ale που είχαν ζυμωθεί σε 13 και 20 °C από μικτές καλλιέργειες στελέχους *Saccharomyces cerevisiae* US-05 με τον ζυμομύκητα *Metschnikowia pulcherrima* σε αναλογίες 1:1 και 1:10 και είχαν παλαιώσει για δύο χρόνια.

Εκχύλιση και ανάλυση πτητικών ενώσεων

Η εκχύλιση και η ανάλυση των πτητικών ενώσεων εκτελέστηκαν όπως περιγράφεται από τους Δρόσου et al., 2021. Εν συντομία, 50 ml δείγματος απανθρακωμένης μπίρας αναμίχθηκαν με οργανικούς διαλύτες (μίγμα 1-πεντανόλης και διαιθυλαιθέρα, από 25 ml το κάθε ένα), αναδεύτηκαν για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου και πραγματοποιήθηκε έπειτα φυγοκέντριση στις 3.500 rpm για 10 min. Η υδατική φάση υποβλήθηκε σε δεύτερη εκχύλιση υπό τις ίδιες συνθήκες. Οι οργανικές στιβάδες συνδυάστηκαν, πλύθηκαν με απεσταγμένο νερό σε διαχωριστική χοάνη και η περίσσεια νερού απομακρύνθηκε με άνυδρο θειικό νάτριο. Το διάλυμα έπειτα διηθήθηκε με διηθητικό χαρτί (Whatman No. 42, Maidstone, U.K) και προστέθηκαν 10 μl 3-οκτανόλης 2,500 ppb σε χλωροφόρμιο ως εσωτερικό πρότυπο και στη συνέχεια συμπυκνώθηκε σε στήλη Vigreux. Το λαμβάνων υγρό εξατμίστηκε περαιτέρω και προσαρμόστηκε σε τελικό όγκο 100μl, από τον οποίο 1 μl χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση GC-MS. Όλες οι εξαγωγές πραγματοποιήθηκαν επί δύο φορές.

Ανάλυση GC-MS (Gas chromatography mass spectrometry)

Η ανάλυση φασματομετρίας μάζας με αέρια χρωματογραφία είναι ένα αποτελεσματικό εργαλείο δοκιμών και αντιμετώπισης προβλημάτων για πολλούς κατασκευαστές σε διάφορες βιομηχανίες, βοηθώντας στον εντοπισμό και ποσοτικό προσδιορισμό των ουσιών που αποτελούν ένα δείγμα ή στην αποκάλυψη ελαττωματικών ενώσεων που επηρεάζουν την ποιότητα του προϊόντος.

Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε ήταν ένα σύστημα GC της σειράς Agilent 6890 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, U.S.A), συζευγμένο με ανιχνευτή μάζας 5975 CMSD και εξοπλισμένο με τριχοειδή στήλη τετηγμένου πυριτίου, 30 m × 0,32 mm i.d., επίστρωση πάχους 0,25 μm (HP-5MS, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, U.S.A). Ένα μl δείγματος εγχύθηκε χρησιμοποιώντας αναλογία διαχωρισμού 100:1. Η θερμοκρασία του ψεκασμού, το φέρον αέριο, το πρόγραμμα θερμοκρασίας φούρνου και η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς ρυθμίστηκαν όπως περιγράφηκε από τους Δρόσου

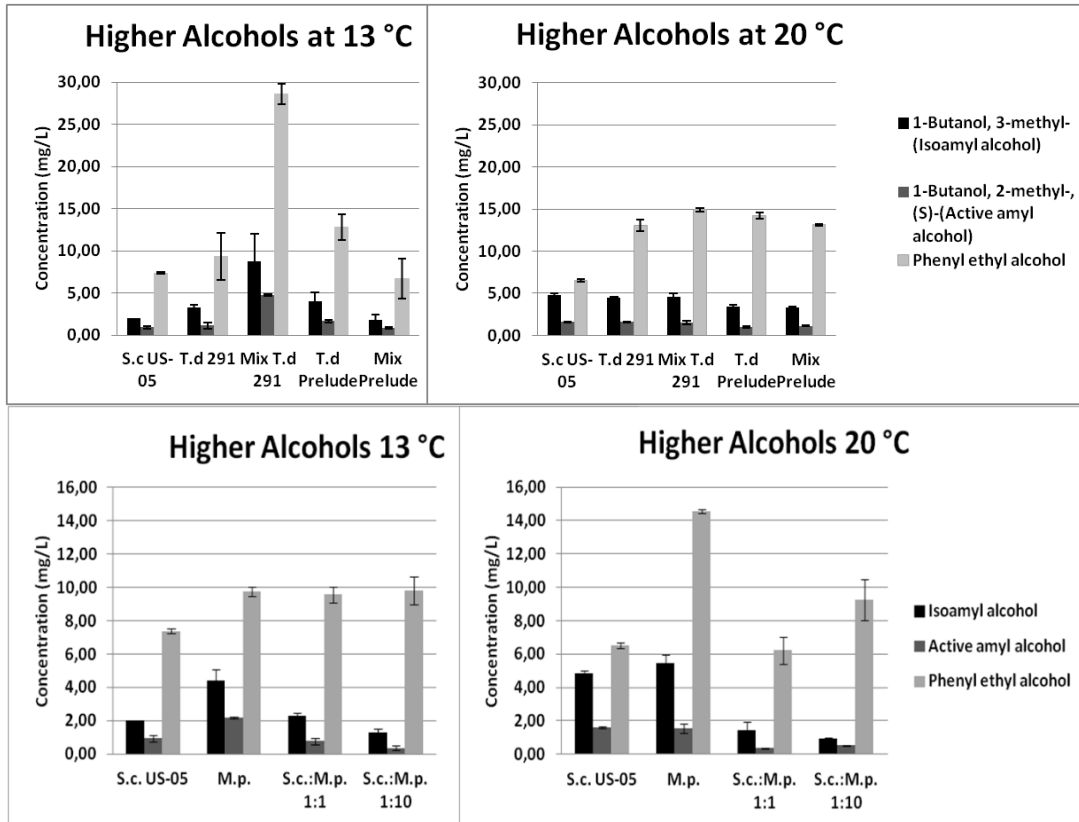
et al., 2021. Όλα τα δεδομένα καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό Turbomass 5.0 ChemStation Software.

Στατιστική ανάλυση

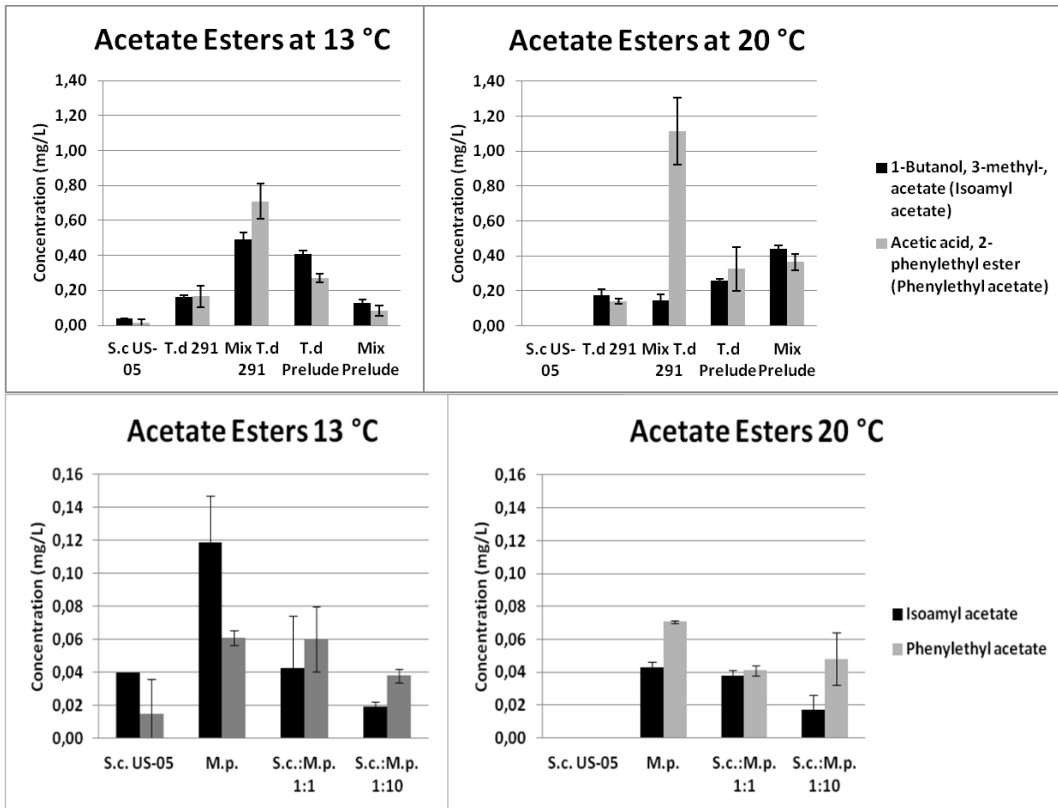
Όλα τα πειράματα επαναλήφθηκαν εις διπλούν και παρουσιάζονται οι τυπικές αποκλίσεις τους. Πειραματικά δεδομένα των αρωματικών ενώσεων υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης προκειμένου να ανιχνευθούν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διερευνημένων παραγόντων (ζυμομύκητες, θερμοκρασία ζύμωσης, χρόνος εμφιάλωσης). Το τεστ πολλαπλού εύρους (Duncan's multiple-range test) εφαρμόστηκε στις περιπτώσεις σημαντικών διαφορών ($p < 0,05$). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό Statistica 7.0 (StaSoft, Tulsa, OK, U.S.A).

Παρουσίαση αποτελεσμάτων και σχολιασμός

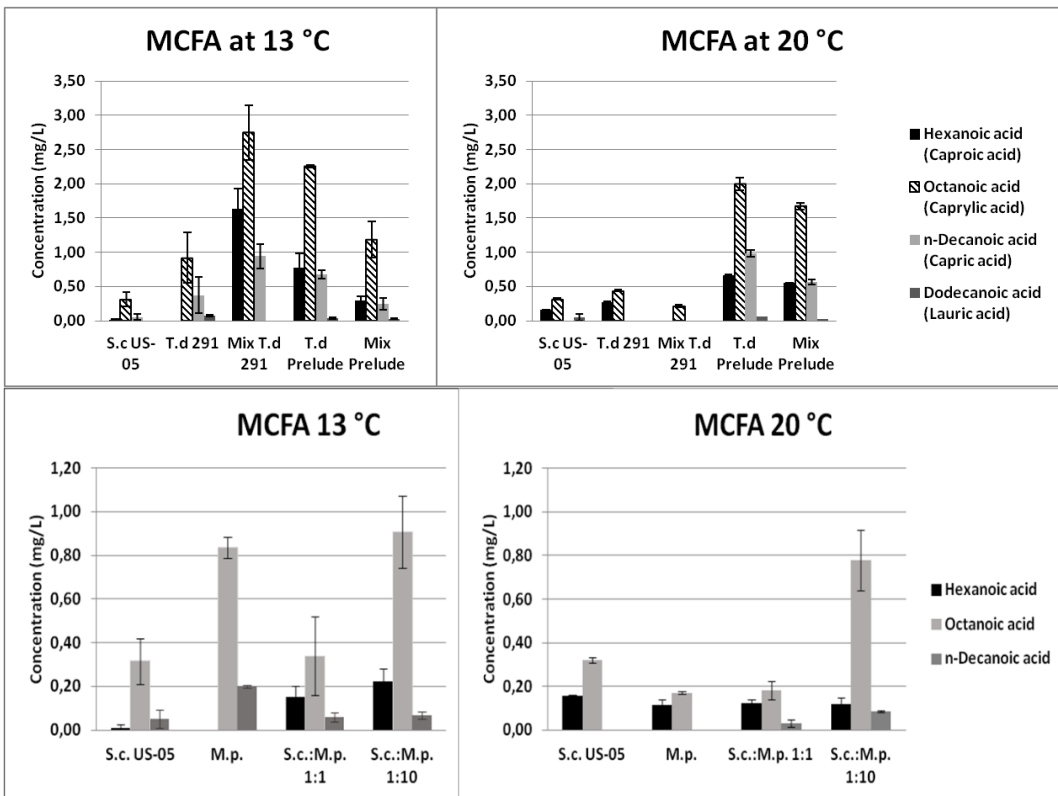
A. 1 Εβδομάδα Εμφιάλωσης



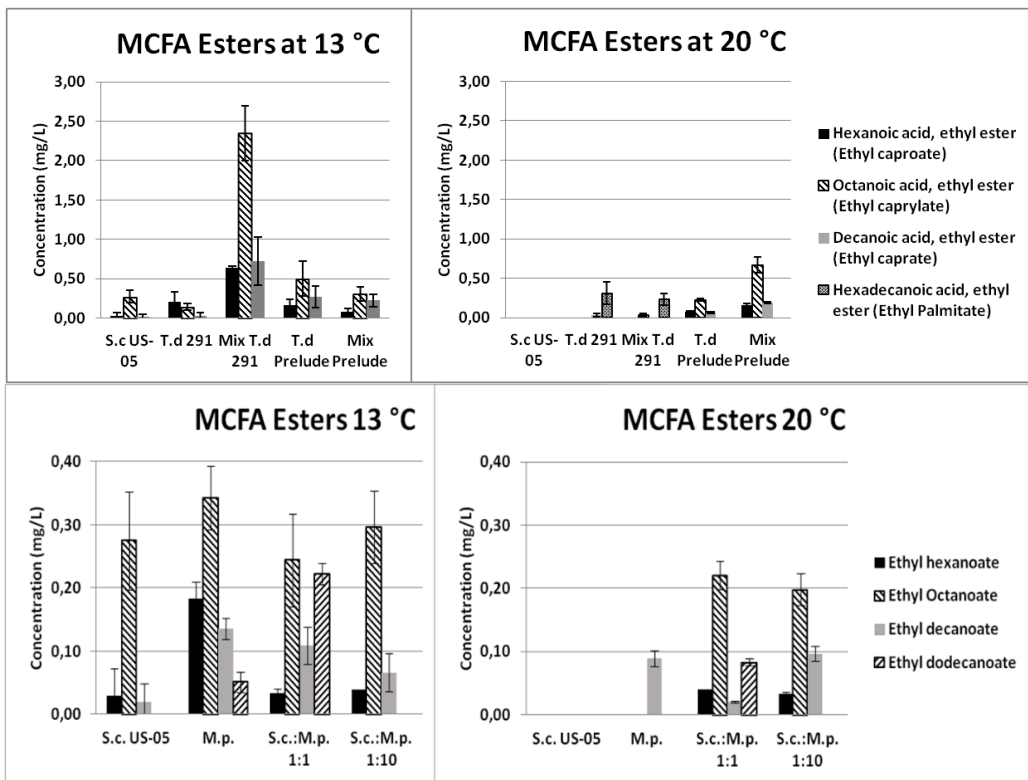
Διάγραμμα 1: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



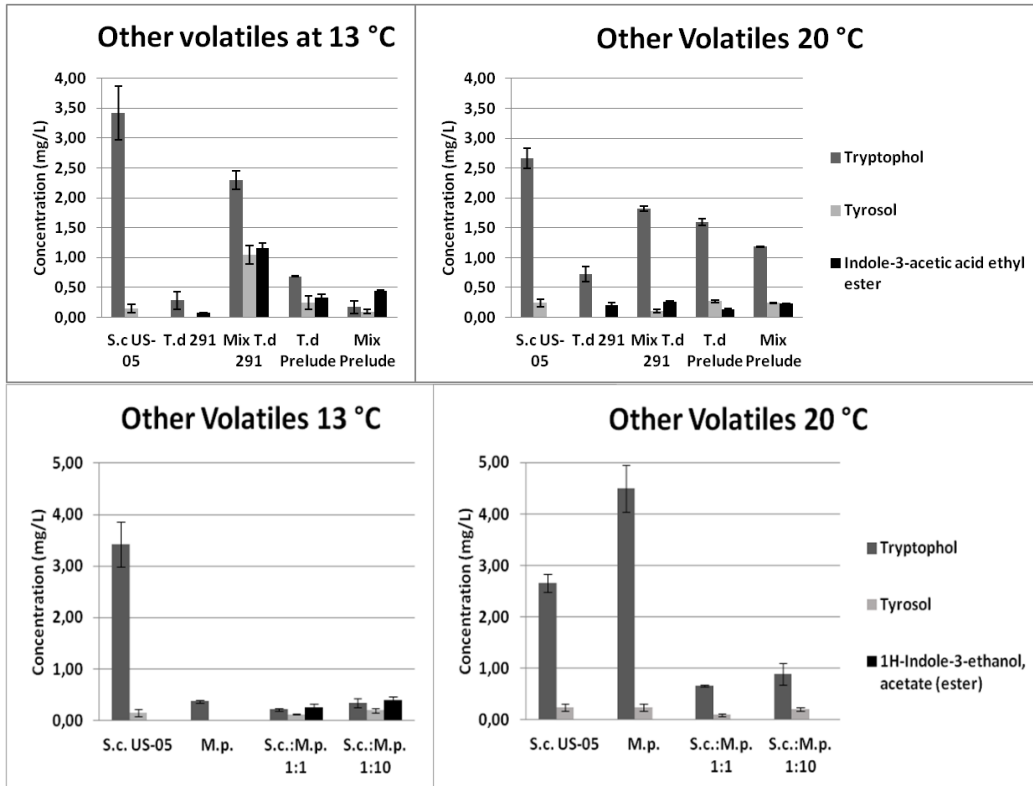
Διάγραμμα 2: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



Διάγραμμα 3: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



Διάγραμμα 4: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



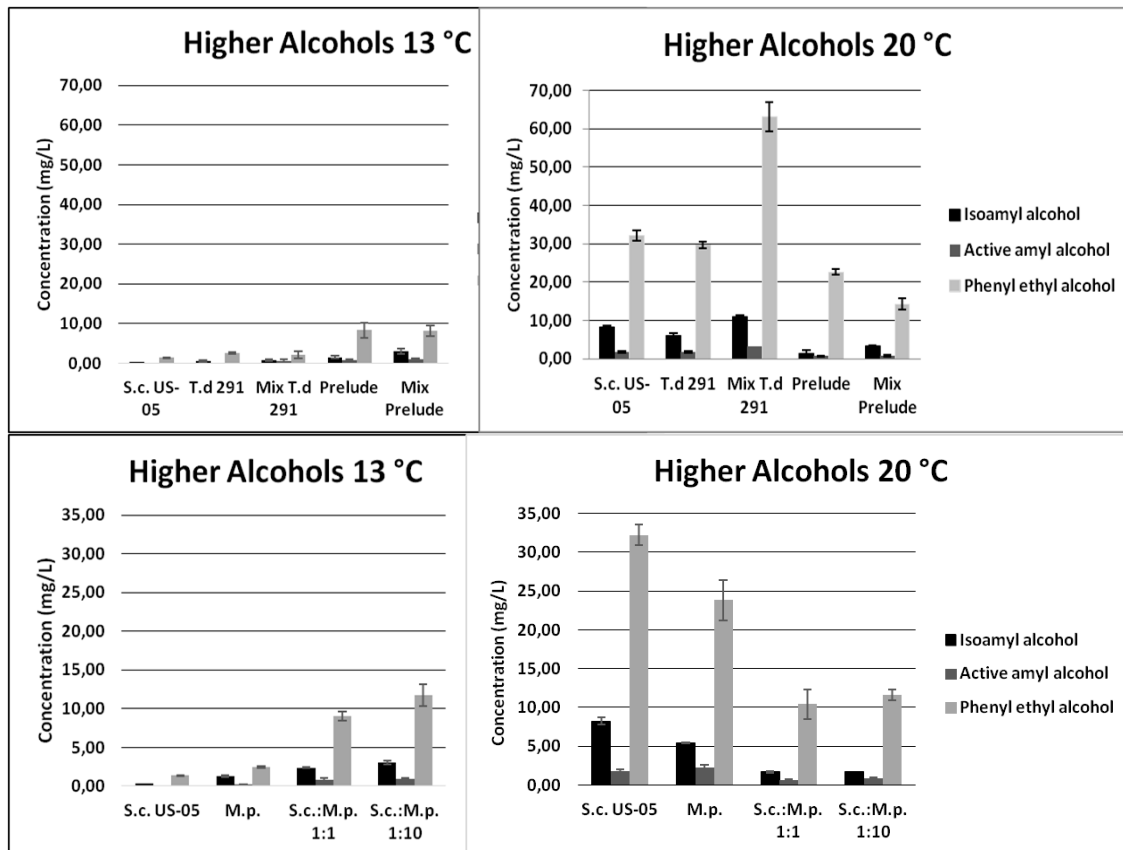
Διάγραμμα 5: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πηθικών ενώσεων, στη 1 εβδομάδα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Γενικά παρατηρείται ότι η ζύμωση με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις είναι αυτή της Mix T.d 291. Αυτό διότι η σύνθεση αρωματικών ενώσεων όπως των ανώτερων αλκοολών (φαινυλαιθανόλης), οξικών εστέρων (οξικός φαινυλαιθυλεστέρας), λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας (καπροϊκό και καρυλικό οξύ) και των εστέρων τους βελτιώνεται όσον αφορά μικτές ζυμώσεις αποκλειστικά με *S. cerevisiae* (Michel et al., 2016a). Αυτό όμως δεν παρατηρείται στην περίπτωση της Prelude, όπου φαίνεται πως τα αρωματικά χαρακτηριστικά δεν βελτιώνονται στη μικτή ζύμωση με τον *S. cerevisiae* έναντι της καθαρής. Ένας βιοτικός παράγοντας που μπορεί να το δικαιολογήσει αυτό, είναι αυτός της ανταγωνιστικότητας του κάθε διαφορετικού στελέχους ζύμης. Γι' αυτό, παρότι η *T. delbrueckii* 291 και η Prelude είναι αμφοτέρως στελέχη της *Torulaspota delbrueckii*, παρατηρούνται διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης αρωματικών μεταξύ καθαρών και μικτών ζυμώσεων. Ωστόσο, στη περίπτωση του *S. cerevisiae* η πλειονότητα των μικτών ζυμώσεων έδωσε καλύτερα αποτελέσματα. Έτσι επαληθεύεται το γεγονός ότι η χρήση ζυμών non-*Saccharomyces* έχει δυνατότητες βελτίωσης του οργανοληπτικού χαρακτήρα του ζύθου. Στη ζύμωση S.c. παρατηρείται μεγαλύτερη συγκέντρωση τρυπτοφώλης σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ζυμώσεις των μη συμβατικών ζυμομυκήτων. Από την άλλη πλευρά οι ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* έδωσαν χαμηλότερα επίπεδα αρωματικών σε σύγκριση με τις υπόλοιπες. Σύμφωνα με τη θεωρία, η καθαρή καλλιέργεια της M.p. παράγει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ολικών εστέρων και ανώτερων αλκοολών, σε σχέση με τις μικτές καλλιέργειες. Η παραγωγή της φαινυλαιθανόλης όμως βρίσκεται στα ίδια επίπεδα, δείχνοντας έτσι το χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου ζυμομύκητα να παράγει σε υψηλά επίπεδα φαινυλαιθανόλης ανεξαρτήτου του τύπου καλλιέργειάς της (καθαρής ή μικτής). Παρατηρούνται επίσης στη καθαρή και μικτή S.c.:M.p. 1:10 υψηλότερα επίπεδα λιπαρών οξέων, το οποίο δείχνει την ικανότητα παραγωγής των οξέων αυτών από την *Metschnikowia pulcherrima*.

Σε σύγκριση με τις ζυμώσεις των 13°C παρατηρούμε πως οι συγκεντρώσεις των ανώτερων αλκοολών αυξάνονται σχεδόν σε όλες τις ζυμώσεις εκτός της Mix T.d 291, S.c.:M.p. 1:1 και S.c.: M.p. 1:10 οι οποίες μειώνονται. Η αύξηση αυτή εν μέρει αιτιολογείται καθώς σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες ζύμωσης ευνοείται η σύνθεση των αλκοολών, συνεπώς και των ανώτερων αλκοολών, ενώ η μείωση τους στις ζυμώσεις της mix T.d. 291, S.c.:M.p. 1:1 και S.c.: M.p. 1:10 ενδέχεται να συμβαίνει λόγω ανταγωνισμού των ζυμών καθώς ο εμβολιασμός και των δυο ζυμών σε κάθε περίπτωση είναι ταυτόχρονος. Επίσης σημειώνεται στατιστική διαφορά στη συγκέντρωση της τυροσόλης μεταξύ των ζυμώσεων mix T.d. 291, όπου στη χαμηλότερη θερμοκρασία ζύμωσης παράγεται μεγαλύτερη ποσότητά της. Ταυτόχρονα παρατηρούνται χαμηλότερες συγκεντρώσεις MCFA και MCFA εστέρων καθώς και οξικού ίσο-αμυλεστέρα. Συμπερασματικά, η T.d. 291 σε συνεργασία με τον *Sc* δίνει καλύτερα αποτελέσματα όταν ζυμώνει στους 13°C. Η αύξηση όμως του φαινυλαιθυλεστέρα μπορεί να δικαιολογηθεί από την μείωση της φαινυλαιθανόλης. Αντίθετα για την mix Prelude στους 20°C σημειώνει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πτητικών ενώσεων σε σύγκριση με τους 13°C, που υποδηλώνει πως σε μικτή καλλιέργεια με τον *Saccharomyces cerevisiae* βελτιώνεται η απόδοσή της. Περαιτέρω σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ζυμώσεις στους 20°C η mix Prelude έχει παράξει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις MCFA εστέρων και οξικού ίσο-αμυλεστέρα, τρυπτοφώλης και τυροσόλης σε σχέση με τις υπόλοιπες. Εντούτοις, δεν υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των ανώτερων αλκοολών στους 20°C, εκτός των ζυμώσεων της M.p., που υποδηλώνει πως τα στελέχη της *Torulaspota delbrueckii*

έχουν την ικανότητα να παράξουν ίσες και σε κάποιες περιπτώσεις (φαινυλαιθανόλη) μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών από τον *Saccharomyces cerevisiae*. Στις ζυμώσεις της M.p. παρατηρούνται στατιστικές διαφορές στις ανώτερες αλκοόλες με τις συγκεντρώσεις της καθαρής καλλιέργειας να είναι υψηλότερες από τις δυο μικτές και στις δυο θερμοκρασίες. Αυτό ίσως ευθύνεται στο γεγονός πως η παρουσία του S.c. περιορίζει σε κάποιο βαθμό την παραγωγή ανώτερων αλκοολών στις μικτές. Παράλληλα, όμως, στατιστικές διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών σημειώνονται μόνο μεταξύ των συγκεντρώσεων της φαινυλαιθανόλης στη M.p. και στη S.c.: M.p. 1:1. Σημαντική διαφορά υπάρχει στις συγκεντρώσεις της τρυπτοφώλης στις 2 θερμοκρασίες και γενική αύξησή της στους 20°C, στο σημείο να παράγει ακόμα μεγαλύτερη ποσότητα και από τη ζύμωση Sc., γεγονός που δείχνει ότι παράγεται πιο έντονα σε αυτή την θερμοκρασία. Το ίδιο παρατηρείται και για την τυροσόλη στην καθαρή καλλιέργεια. Περαιτέρω, μόνο η M.p. σημειώνει στατιστικές διαφορές στα MCFA και στους MCFA εστέρες ανάμεσα στις δυο θερμοκρασίες ζύμωσης με τους εστέρες να μειώνονται στους 20°C. Αυτό, όμως, δεν παρατηρείται στους οξικούς εστέρες σε καμία από τις ζυμώσεις.

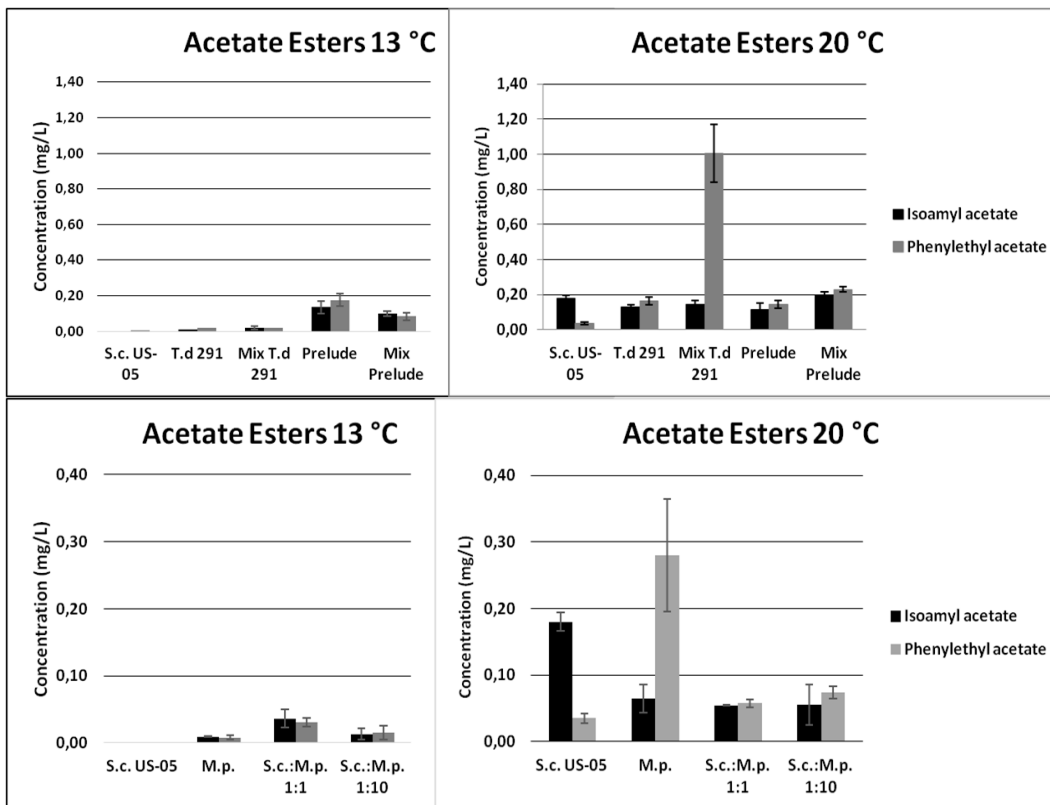
B. 1 Μήνας Εμφιάλωσης



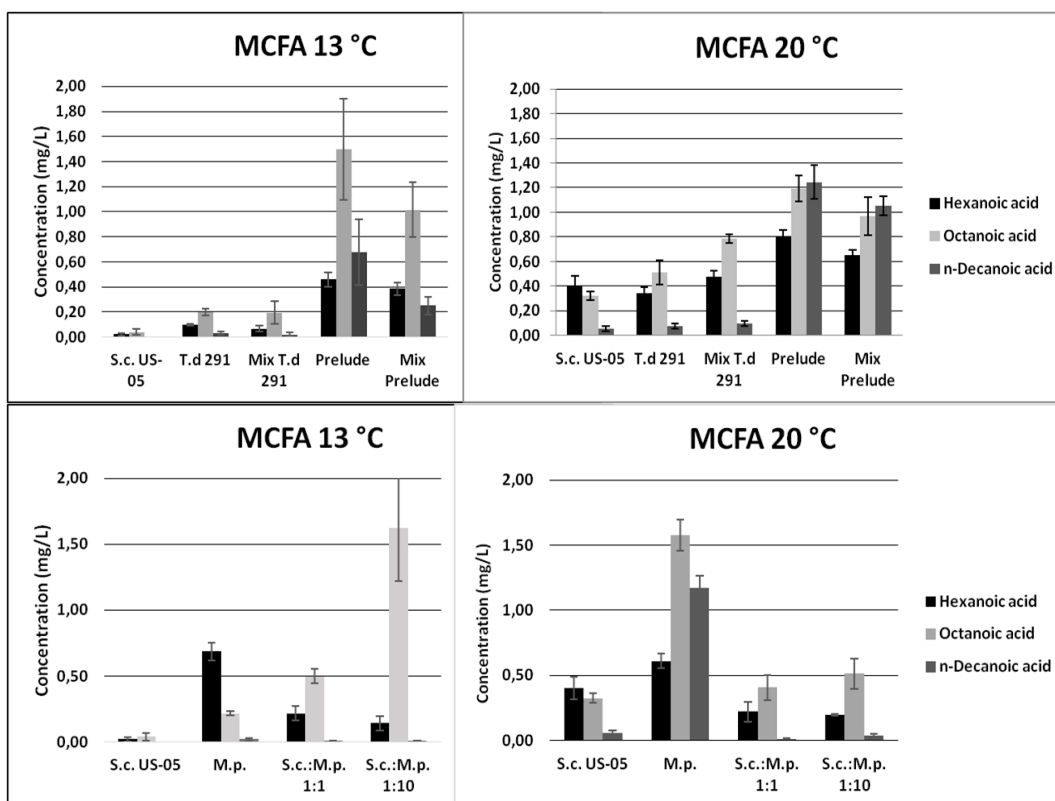
Διάγραμμα 6: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στα διαγράμματα 6 και 7 παρατηρείται πως οι ανώτερες αλκοόλες και οι οξικοί εστέρες παράγονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις και από όλες τις ζυμώσεις, επαληθεύοντας έτσι το γεγονός ότι στους 20 °C ευνοείται ο σχηματισμός τους. Σύμφωνα με τον **Pires et al., 2014** και **Willaert., 2012**, η αύξηση της θερμοκρασίας ζύμωσης προωθεί τη σύνθεση των ανώτερων αλκοολών. Συγκεκριμένα η φαινυλαιθανόλη ξεχωρίζει με τη Mix T.d 291 να έχει την υψηλότερη συγκέντρωση, η οποία είναι πάνω από το κατώφλι αντίληψής της (40-45 mg/l). Επίσης σημειώνεται πως η T.d 291 δεν έχει στατιστική διαφορά με τον συμβατικό ζυμομύκητα στους 20 °C επαληθεύοντας έτσι το ισχυρό χαρακτηριστικό του ζυμομύκητα να παράγει υψηλές συγκεντρώσεις φαινυλαιθανόλης. Ωστόσο, συγκρίνοντας τις λαμβανόμενες τιμές, στις δύο θερμοκρασίες ζύμωσης παρατηρείται ότι το στέλεχος της *Prelude* ήταν πιο ικανό να παράγει φαινυλαιθανόλη στους 13 °C σε σύγκριση με τη T.d 291. Η συγκέντρωση του φαινυλαιθυλεστέρα από τη Mix T.d 291 αν και σε υψηλότερη παραμένει κάτω από το κατώφλι αντίληψής του (3,8 mg/l). Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται για τα δύο στελέχη στις δύο θερμοκρασίες ζύμωσης, αποδεικνύοντας τη καλύτερη σύνθεση αυτών των ενώσεων αυτών από τη *Prelude* σε σύγκριση με τη T.d 291 στους 13 °C. Στην καλλιέργεια της M.p., επίσης, αυξήθηκαν οι συγκεντρώσεις των ανώτερων αυτών αλκοολών από τους 13°C στους 20°C, με την φαινυλαιθανόλη να αυξάνεται σχεδόν κατά 10 φορές παραπάνω, αιτιολογώντας το γεγονός πως η M.p. έχει σημειωθεί ότι παράγει 2-φαινυλαιθανόλη σε μεγάλη ποσότητα (**Padilla et al., 2016**). Όσον αφορά τις δύο μεικτές καλλιέργειες

της M.p. σημειώνεται μια αύξηση στην συγκέντρωση της φαινυλαιθανόλης στην καλλιέργεια της S.c.:M.p. 1:1 και μια μείωση στη συγκέντρωση της ίσο-αμυλικής αλκοόλης στις καλλιέργειες S.c.:M.p. 1:1 και S.c.:M.p. 1:10. Στην περίπτωση των οξικών εστέρων που παράχθηκαν από όλες τις καλλιέργειες της M.p. παρατηρείται μια αύξηση και των δυο αυτών εστέρων σε όλες αυτές τις ζυμώσεις στους 20°C, με σημαντική αναφορά στην αύξηση της συγκέντρωσης του οξικού φαινυλαιθυλεστέρα στην καθαρή M.p., η οποία συμβαδίζει με το γεγονός πως η M.p. παράγει αυξημένες ποσότητες οξικού φαινυλαιθυλεστέρα (Einfalt, 2021).



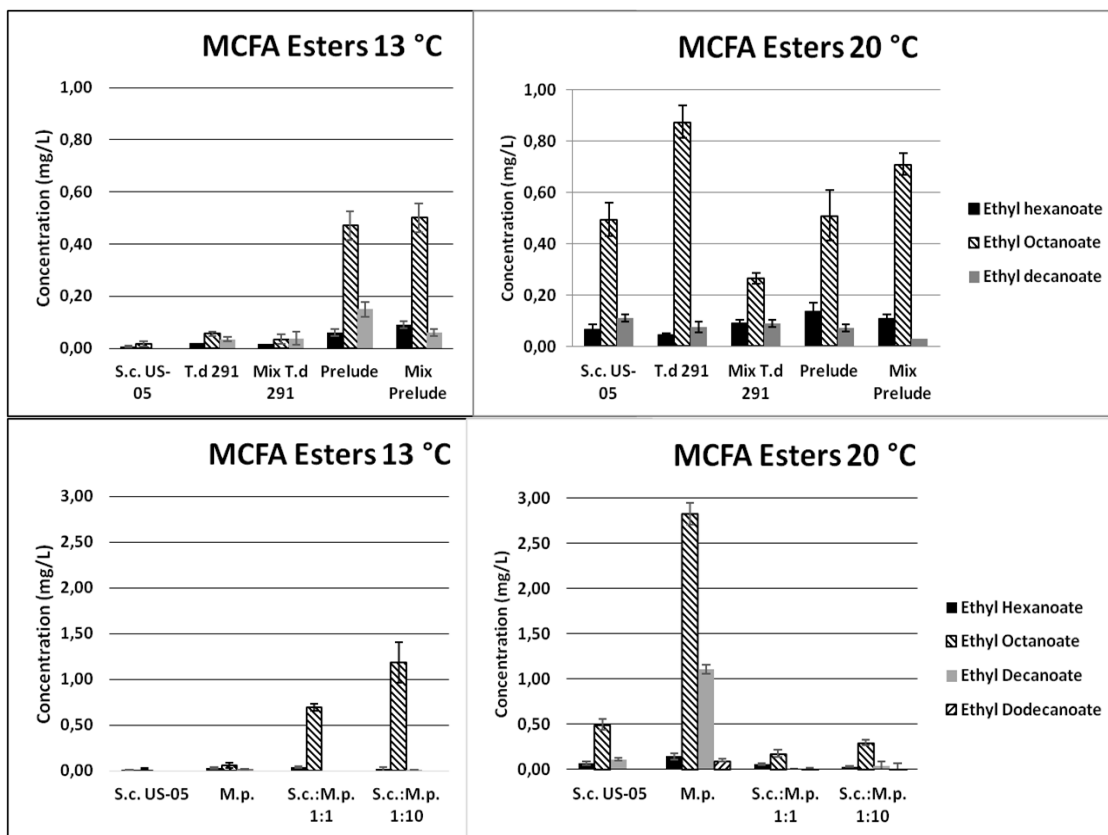
Διάγραμμα 7: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



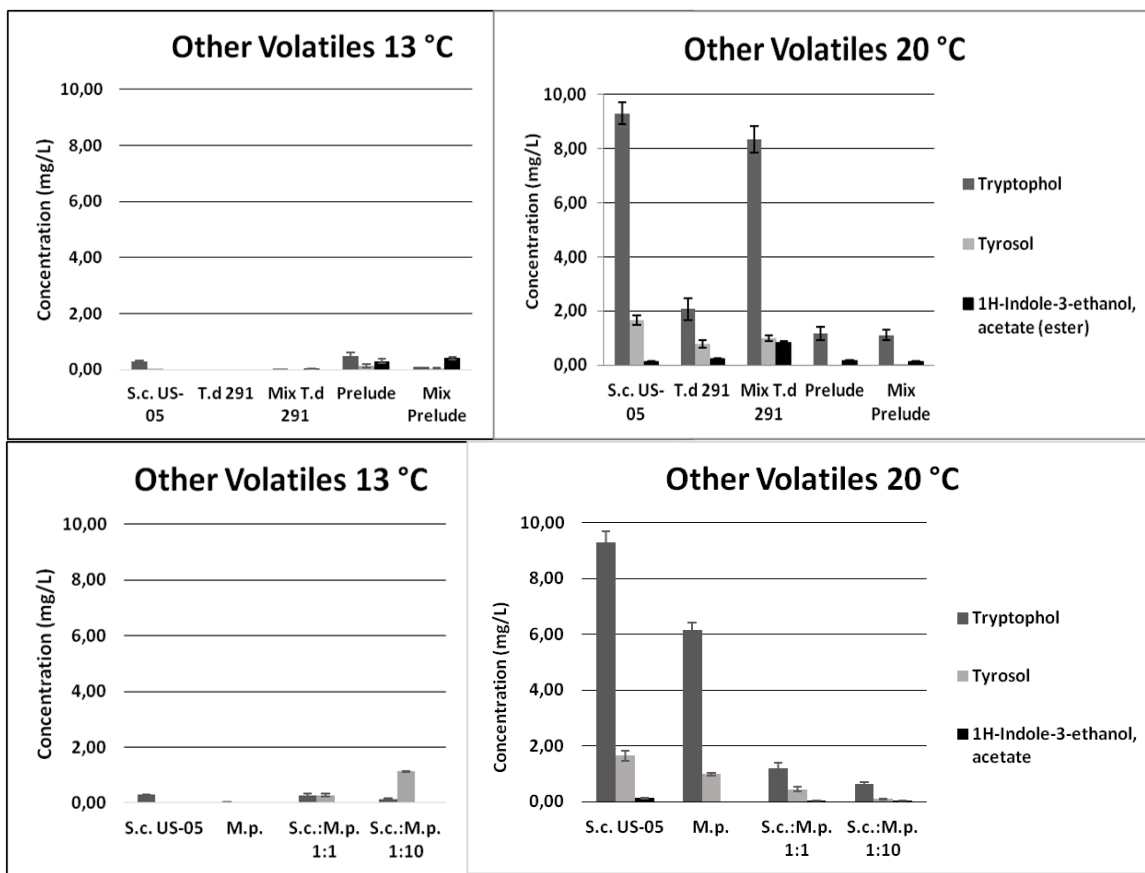
Διάγραμμα 8: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στα διαγράμματα 8 και 9 παρατηρούνται οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας και οι αντίστοιχοι εστέρες τους. Στους 13 °C το στέλεχος T.d. Prelude σημείωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις όλων των οξέων, με τις υψηλότερες να διακρίνονται στην καθαρή καλλιέργεια. Το οκτανοϊκό οξύ παρατηρείται ότι έχει παραχθεί στην μεγαλύτερη συγκέντρωση, ωστόσο κάτω από το όριο ανίχνευσής του. Αντίθετα στους 20 °C παρατηρείται σύνθεση των οξέων από όλες τις ζυμώσεις, γεγονός που καθιστά τη θερμοκρασία σημαντικό παράγοντα στη σύνθεση αυτών. Σύμφωνα με τους **Boulton and Quain 2006**, η υψηλή θερμοκρασία ζύμωσης επηρεάζει θετικά στη παραγωγή των λιπαρών οξέων. Παρόμοια είναι και τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από την εξέλιξη των αρωματικών του στελέχους T.d. Prelude, με τη συγκέντρωση του δεκανοϊκού οξέος να είναι μεγαλύτερη από το οκτανοϊκό οξύ, και με την Mix T.d 291 να έχει τις αμέσως επόμενες υψηλότερες συγκεντρώσεις. Καθώς η παραγωγή των εστέρων εξαρτάται από την θερμοκρασία και το στέλεχος του ζυμομύκητα είναι αναμενόμενο ότι στην υψηλότερη θερμοκρασία και στις ζυμώσεις με τους μη συμβατικούς ζυμομύκητες να σημειώνεται υψηλότερη παραγωγή. Ωστόσο, σύμφωνα με τον **Willaert., 2012** είναι γνωστό ότι η θερμοκρασία επηρεάζει κάθε εστέρα με διαφορετικό τρόπο. Ταυτόχρονα το διαφορετικό αντίκτυπο της θερμοκρασίας σε κάθε ζυμομύκητα οδηγεί στη διαφορετική σύνθεση των εστέρων. Έτσι από το διάγραμμα 9 συνολικά παρατηρείται μεγαλύτερη παραγωγή εστέρων στους 20 °C, με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση οκτανοϊκού αιθυλεστέρα στην Mix T.d 291 ακολουθούμενη από τη Mix Prelude. Στους 13 °C μόνο στις ζυμώσεις της Prelude σημειώνεται μεγάλη παραγωγή οκτανοϊκού αιθυλεστέρα, επαληθεύοντας το γεγονός ότι το στέλεχος της T.d Prelude ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες έχει την ικανότητα παραγωγής των MCFA και των εστέρων τους. Στην καλλιέργεια της M.p., επίσης, αυξήθηκαν οι συγκεντρώσεις του οκτανοϊκού και του δεκανοϊκού οξέος και μειώθηκε

αυτή του εξανοϊκού οξέος. Στις δύο μεικτές καλλιέργειες της σημειώνεται μια μείωση της συγκέντρωσης του εξανοϊκού οξέος στην S.c.:M.p. 1:10 και του οκτανοϊκού οξέος στις ζυμώσεις S.c.: M.p. 1:1 και S.c.: M.p. 1:10. Σχετικά με τους MCFA εστέρες παρατηρείται μια τεράστια αύξηση στην συγκέντρωση του οκτανοϊκού αιθυλεστέρα της M.p. στους 20°C, πάνω από το όριο αντίληψης του (0.5-0.9 mg/l) (Meilgaard, 1975b; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014), προσδίδοντας αρώματα βερίκοκου και αχλαδιού στον παραγόμενο ζύθο (Mosciano, Gerard, 1997a; Luebke, William, 1986). Επίσης, σημειώθηκε αύξηση και στους υπόλοιπους τρεις MCFA εστέρες στην M.p. στους 20°C. Στις μικτές καλλιέργειες της ίδιας ζύμης παρατηρήθηκε μείωση της ποσότητας του οκτανοϊκού αιθυλεστέρα από τους 13°C στους 20°C, από συγκεντρώσεις που ξεπερνούσαν το όριο αντίληψης της ενώσεις σε συγκεντρώσεις κάτω από αυτό.



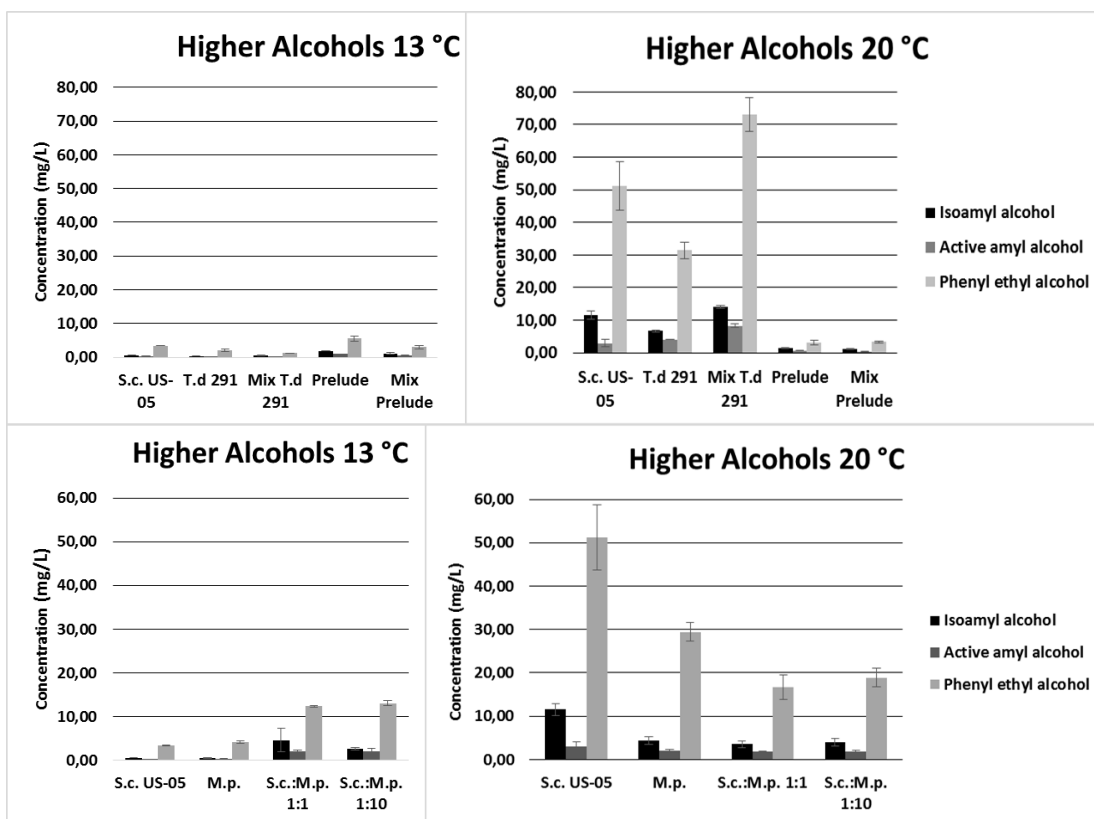
Διάγραμμα 9: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



Διάγραμμα 10: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στον 1 μήνα εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στις υπόλοιπες πτητικές ενώσεις, στο διάγραμμα 10 παρατηρείται πως ο S.c. US-05 έδωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις τρυπτοφόλης στους 20°C από κάθε άλλη καλλιέργεια. Ωστόσο, σε καμία καλλιέργεια και θερμοκρασία δεν υπερβαίνει το όριο ανίχνευσής της (10 mg/l) (Mosciano, Gerard, 1991). Η παραγωγή από την ζύμωση της Mix T.d 291 έχει την δεύτερη υψηλότερη συγκέντρωση τρυπτοφόλης, με την M.p. τρίτη. Οι ποσότητες της τυροσόλης είναι μικρές σε όλες τις ζυμώσεις και του εστέρα είναι σχεδόν αμελητέες, εκτός από αυτήν της Mix T.d 291.

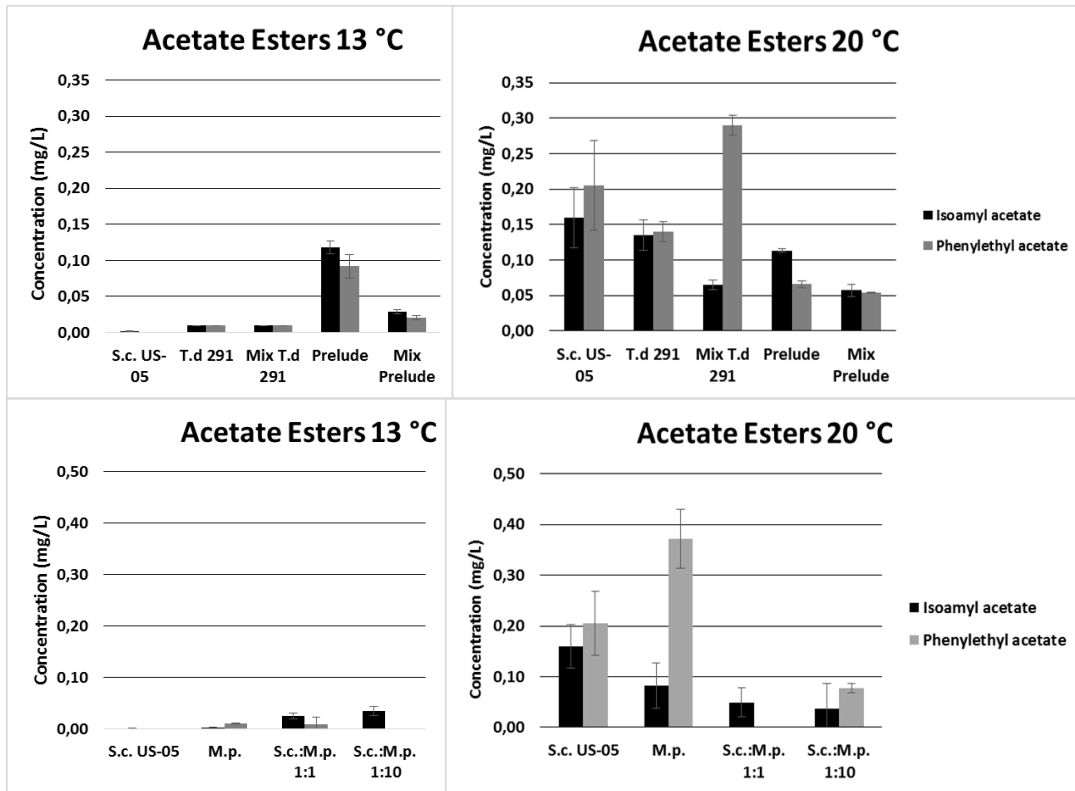
Γ. 6 Μήνες Εμφιάλωσης



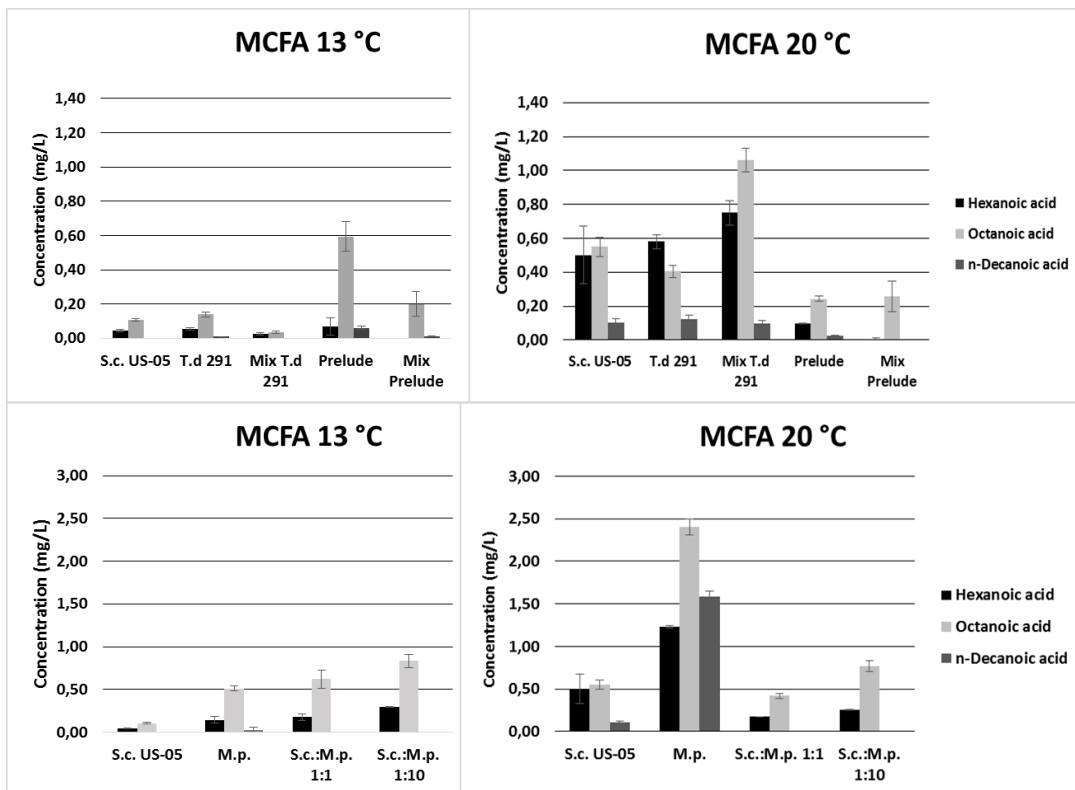
Διάγραμμα 11: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στο διάγραμμα 11 παρατηρείται ότι η Mix T.d. 291 στους 20 °C έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινυλαιθανόλης για λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω. Σχεδόν στη διπλάσια συγκέντρωση πάνω από το όριο ανίχνευσής της, προσδίδει στη μπίρα μια έντονη οσμή που ενδέχεται να μην είναι θετική λόγω της υπερβολικής ποσότητας. Οι ζυμώσεις της Prelude είχαν χαμηλές συγκεντρώσεις, το οποίο μπορεί να οφείλεται στην εστεροποίηση όπως φαίνεται στο διάγραμμα 12. Από τις ζυμώσεις της M.p. η καθαρή καλλιέργεια έδωσε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινυλαιθανόλης, ακολουθούμενη από τη μικτή 1:10 και μετά την 1:1. Παρόλα αυτά στους 13 °C οι δύο μικτές ζυμώσεις της M.p. έδωσαν τα μεγαλύτερα αποτελέσματα από όλες τις άλλες ζυμώσεις των 13°C, υποδεικνύοντας έτσι τη δυνατότητα παραγωγής αυτών των ανώτερων αλκοολών από το συγκεκριμένο στέλεχος. Η συγκεντρώσεις της ισοαμυλικής αλκοόλης και του ισομερούς της δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$).

Οι συγκεντρώσεις των εστέρων όπως παρατηρείται στο διάγραμμα 12 είναι συγκριτικά μεγαλύτερες στην υψηλότερη θερμοκρασία, επαληθεύοντας ότι έχει αναφερθεί παραπάνω. Υψηλότερη συγκέντρωση φαινυλαιθυλεστέρα σημειώνει η καθαρή καλλιέργεια της M.p., όμως κάτω από το όριο ανίχνευσής του. Αμέσως επόμενη είναι της Mix T.d. 291. Η Prelude δεν έχει στατιστική διαφορά μεταξύ των θερμοκρασιών ενώ η Mix Prelude έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις οξικών εστέρων στους 20 °C. Στους 13 °C οι ζυμώσεις της Prelude είχαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις.



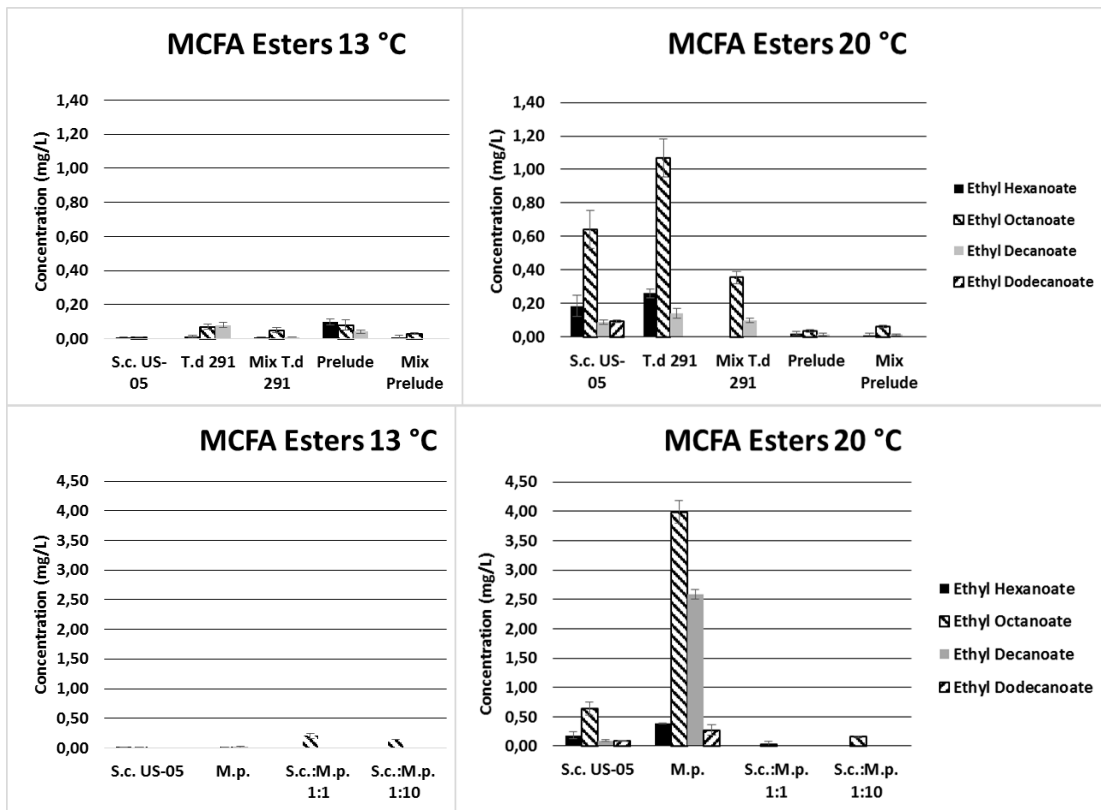
Διάγραμμα 12: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



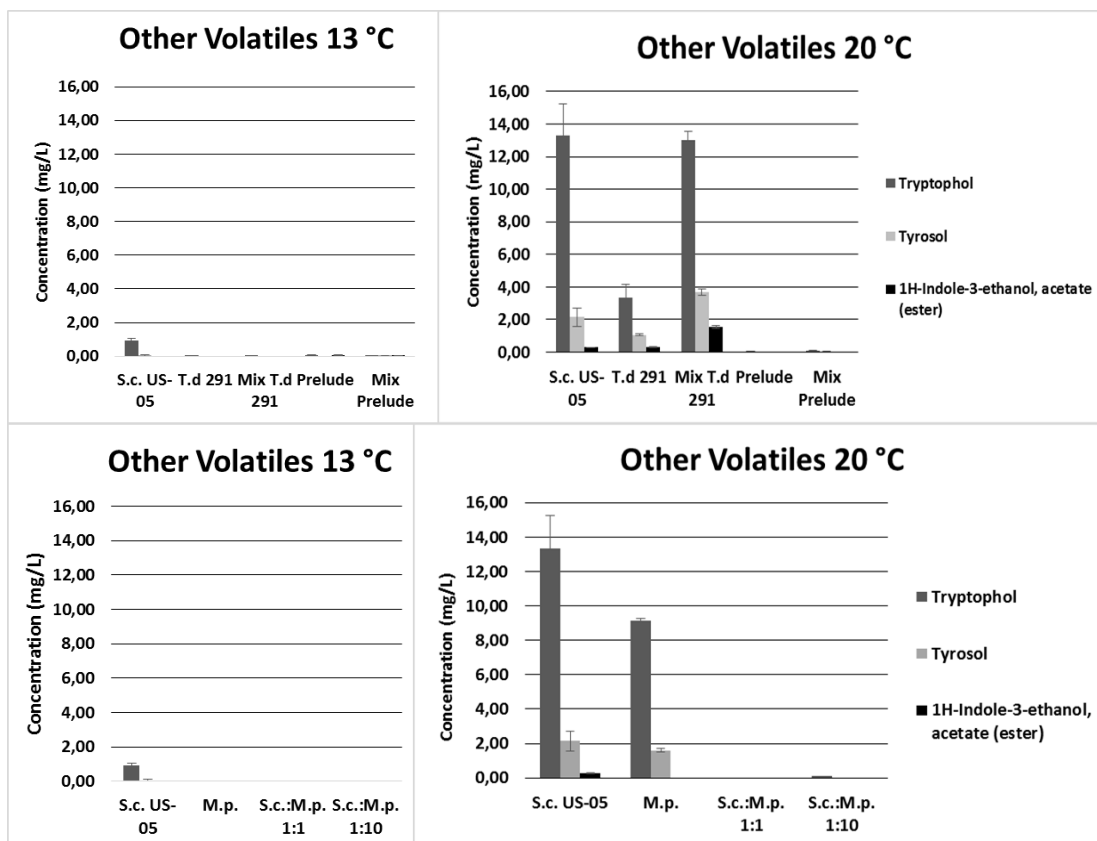
Διάγραμμα 13: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, τις 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στα διαγράμματα 13 και 14 παρατηρούνται οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας και οι αντίστοιχοι εστέρες τους. Στους 13 °C η καλλιέργεια S.c.:M.p. 1:10 σημείωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις όλων των οξέων, εκτός του δεκανοϊκού, η οποία σημειώθηκε στην καλλιέργεια της Prelude. Το οκτανοϊκό οξύ παρατηρείται ότι έχει παραχθεί στην μεγαλύτερη συγκέντρωση, ωστόσο κάτω από το όριο ανίχνευσής του. Στους 20 °C παρατηρείται μεγαλύτερη σύνθεση των οξέων από όλες τις ζυμώσεις, εκτός αυτήν της καλλιέργειας Prelude, της S.c.:M.p. 1:1 και της S.c.: M.p. 1:10, γεγονός που συμβαδίζει με την ερμηνεία πως η υψηλή θερμοκρασία ζύμωσης επηρεάζει θετικά στη παραγωγή των λιπαρών οξέων (**Boulton and Quain 2006**). Επιπλέον, τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις και των τριών αυτών λιπαρών οξέων παρουσιάζει η καλλιέργεια της καθαρής M.p., δείχνοντας, έτσι, τη δυνατότητα παραγωγής αυτών από το συγκεκριμένο στέλεχος ζύμης. Οι συγκεντρώσεις και των τριών αυτών λιπαρών οξέων δεν ξεπερνούν ούτε σε μία περίπτωση τα όρια ανίχνευσής τους, γεγονός ευχάριστο για το αρωματικό προφίλ του ζύθου.

Η μεταβολή της θερμοκρασίας στους 20°C είχε σημαντική επιρροή στην αύξηση της συγκέντρωσης των MCFA εστέρων σε όλες τις καλλιέργειες, εκτός από την Prelude, την S.c.:M.p. 1:1 και την S.c.: M.p. 1:10, οι οποίες μειώθηκαν στους 20°C. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρουσιάζει η καλλιέργεια της M.p.. Το όριο αντίληψης του εξανοϊκού αιθυλεστέρα (0,23 mg/l) ξεπερνιέται από την T.d. 291 και την M.p. στους 20°C, προσδίδοντας στον παραγόμενο ζύθο ένα άρωμα φρούτου με νότες γλυκάνισο (**Meilgaard, 1975a; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014**). Το όριο αντίληψης του οκτανοϊκού αιθυλεστέρα (0,5-0,9 mg/l) ξεπερνιέται από την S.c., την T.d. 291 και την M.p. στους 20°C, προσδίδοντας ένα άρωμα πράσινου μήλου στη μπίρα (**Meilgaard, 1975a; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014; Mosciano, Gerard, 1997a; Luebke, William, 1986**). Τέλος, το όριο αντίληψης του δεκανοϊκού αιθυλεστέρα (1,5 mg/l) ξεπερνιέται από την καλλιέργεια της M.p. στους 20°C, προσδίδοντας ένα άρωμα σταφυλιού και μήλου (**Meilgaard, 1975b; Luebke & William, 1987; Mosciano, Gerard, 1990b**).



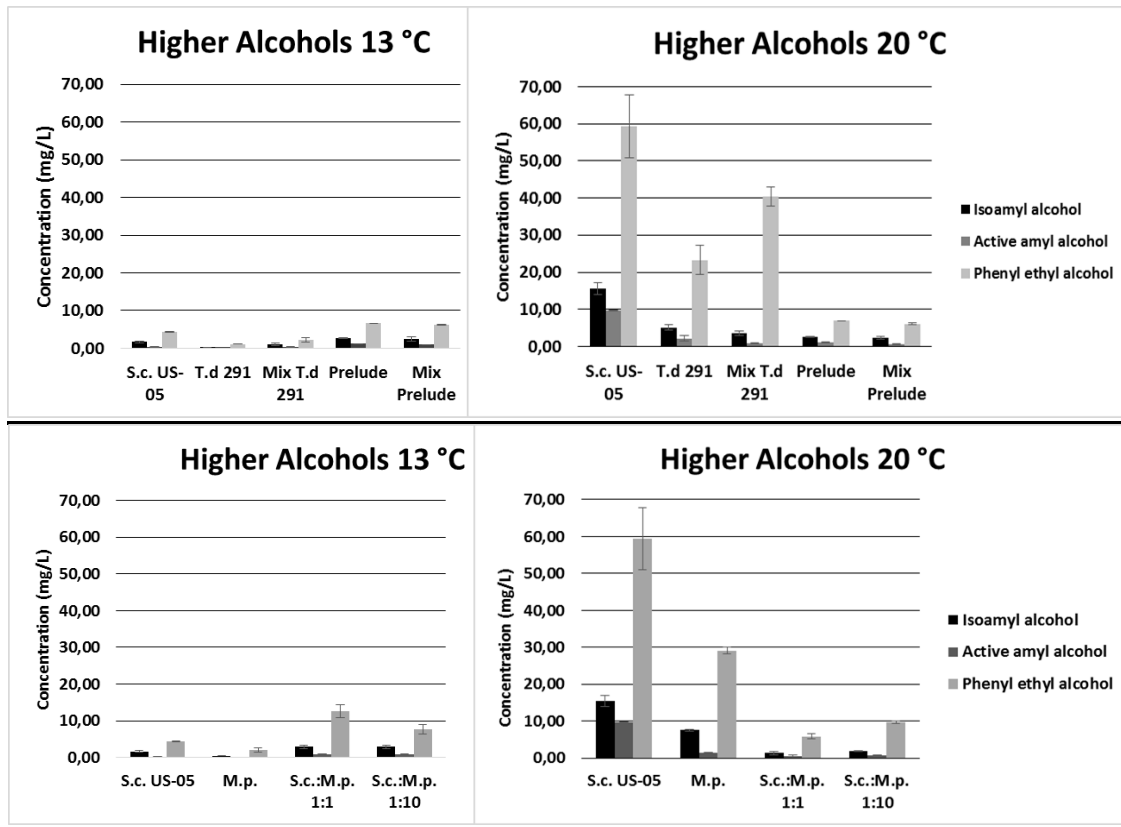
Διάγραμμα 14: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, τις 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



Διάγραμμα 15: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στους 6 μήνες εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στις υπόλοιπες πτητικές ενώσεις, στο διάγραμμα 15 παρατηρείται πως ο S.c. US-05 έδωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις τρυπτοφώλης στους 20°C από κάθε άλλη καλλιέργεια, υπερβαίνοντας το όριο ανίχνευσής της (10 mg/l) (Mosciano, Gerard, 1991) και, προσδίδοντας, έτσι, ένα άρωμα αμυγδαλού στο ζύθο που παράχθηκε, μαζί και με την καλλιέργεια της Mix T.d 291., η οποία παρουσιάζει την αμέσως επόμενη υψηλότερη συγκέντρωση τρυπτοφώλης. Τρίτη στη σειρά έρχεται η M.p., η οποία, όμως, δεν ξεπερνά αυτό το όριο. Οι ποσότητες της τυροσόλης είναι μικρές σε όλες τις ζυμώσεις, με μεγαλύτερη αυτήν που παράχθηκε από την Mix T.d. 291, και του εστέρα είναι σχεδόν αμελητέες, εκτός πάλι από αυτήν της Mix T.d 291.

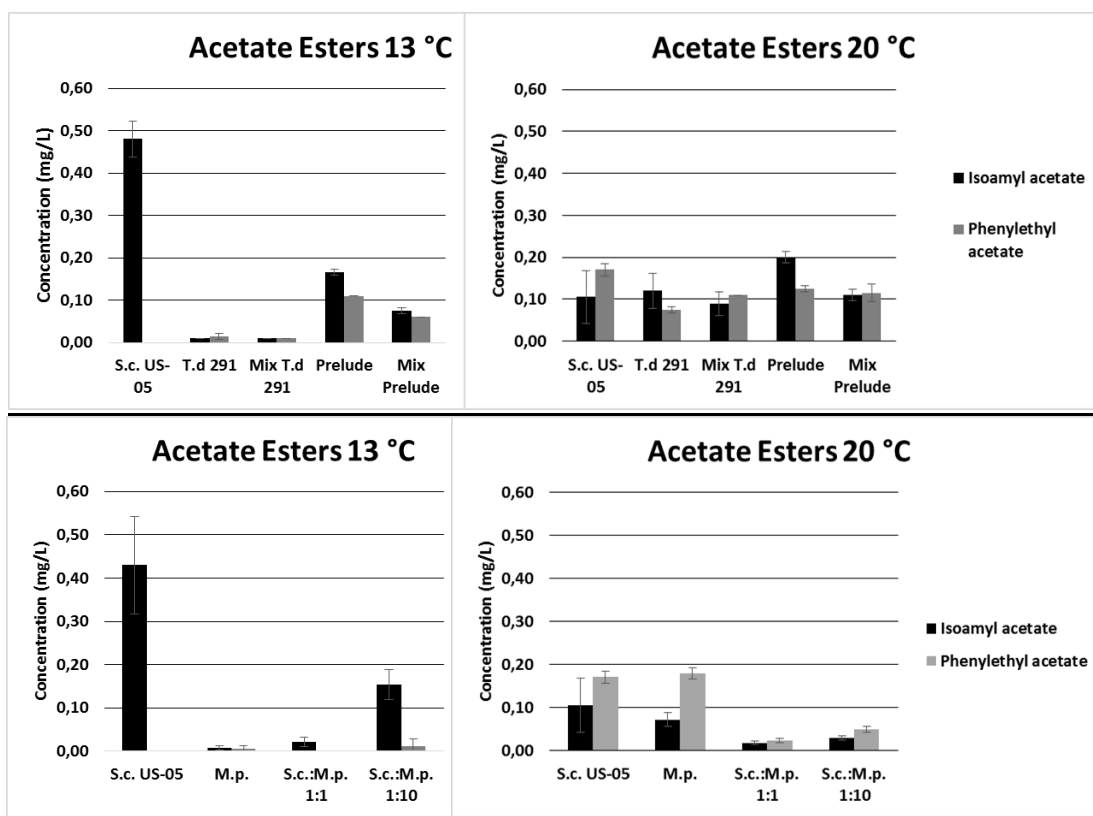
Δ. 1 Χρόνος Εμφιάλωσης



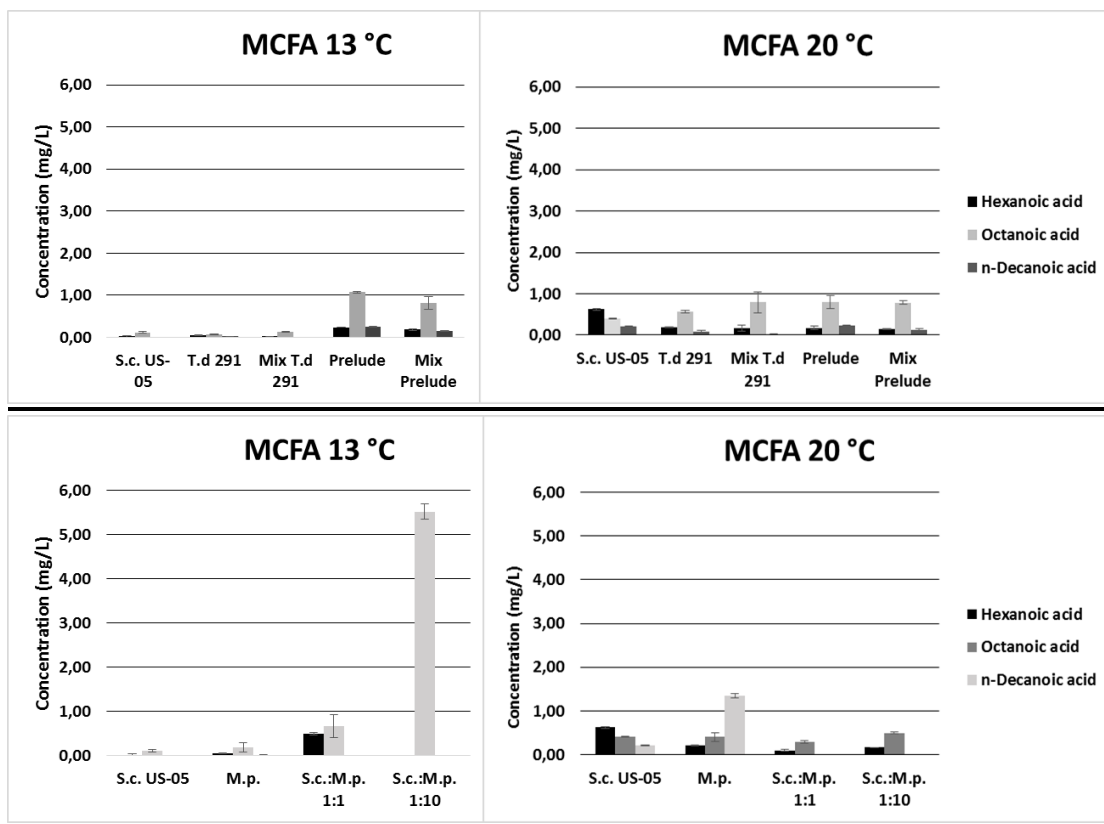
Διάγραμμα 16: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στον 1 χρόνο παλαίωσης στο διάγραμμα 16 παρατηρείται ότι οι συγκεντρώσεις αυτών των ανωτέρων αλκοολών αυξάνονται με την αύξηση της θερμοκρασίας στους 20°C στις ζυμώσεις που πραγματοποιήθηκαν από τις καλλιέργειες του S.c. US-05, της T.d 291, της Mix T.d 291 και της M.p. και αυτές είναι, κυρίως, οι ποσότητες της ίσο-αμυλικής αλκοόλης και της φαινυλαιθανόλης. Συνεπώς, η μεγαλύτερη θερμοκρασία ζύμωσης φαίνεται πώς επηρεάζει σημαντικά την εξέλιξή τους, καθώς σε όλες τις καλλιέργειες, εκτός της Prelude, της Mix Prelude, της S.c.:M.p 1:1 και της S.c.:M.p 1:10, αυξάνονται ραγδαία οι συγκεντρώσεις τους από τις αντίστοιχες στους 13°C. Οι συγκεντρώσεις της ίσο-αμυλικής αλκοόλης και του ισομερούς της δεν ξεπερνούν τα 10 mg/l σε καμία καλλιέργεια, με εξαίρεση την ποσότητα της ίσο-αμυλικής αλκοόλης που παράχθηκε από την καλλιέργεια του συμβατικού ζυμομύκητα Sc. Οι συγκεντρώσεις τους, όμως, δεν καταφέρνουν να ξεπεράσουν τα όρια αντίληψής τους, τα οποία είναι 50-65 mg/l και 50-70 mg/l αντίστοιχα (Meilgaard, 1975a; Luebke & William, 2021). Ωστόσο, στην περίπτωση της φαινυλαιθανόλης το όριο αντίληψής της (40-45 mg/l) (Meilgaard, 1975a; Engan, 1972; Luebke & William, 1981; Mosciano & Gerard, 1993b) ξεπερνιέται από την ποσότητα που σημειώθηκε από την καλλιέργεια του S.c. US-05 και οριακά από αυτήν της Mix T.d 291, προσδίδοντας έτσι στους αντίστοιχους ζύθους 1 χρόνου παλαίωσης ένα επιθυμητό άρωμα τριαντάφυλλου (Ντουρτόγλου, 2019).

Σχετικά με τους οξικούς εστέρες, η παραγωγή του οξικού φαινυλαιθυλεστέρα αυξήθηκε σε συγκέντρωση στις ζυμώσεις όλων των καλλιιεργειών στους 20°C, με την μεγαλύτερη ποσότητα να σημειώνεται στην ζύμωση της καθαρής καλλιιεργειας M.p., το οποίο συμβαδίζει με το γεγονός πως η M.p. παράγει αυξημένες ποσότητες οξικού φαινυλαιθυλεστέρα (Einfalt, 2021). Στην περίπτωση του οξικού ίσο-αμυλεστέρα, σημειώνεται μια αύξηση της συγκέντρωσης του στους 20°C, σε όλες τις καλλιιεργειες, εκτός του S.c. US-05, της S.c.: M.p. 1:1 και της S.c.: M.p. 1:10, που σημειώνουν μείωση της συγκέντρωσής τους και στην περίπτωση του S.c. ραγδαία. Παρότι καμία ζύμωση δεν σημείωσε συγκεντρώσεις ανώτερες από το κατώφλι αντίληψης των οξικών εστέρων, με του ίσο-αμυλεστέρα να είναι 1,2-2 mg/l και του φαινυλαιθυλεστέρα 3,8 mg/l (Engan, 1972; Meilgaard, 1975a; Peddie, 1990; Mosciano, Gerard, 2001a), είναι ικανές ενώσεις να επηρεάσουν το άρωμα και τη γεύση του ζύθου κάτω από τα όρια ανίχνευσής τους (Rodrigues et al., 2008a).



Διάγραμμα 17: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

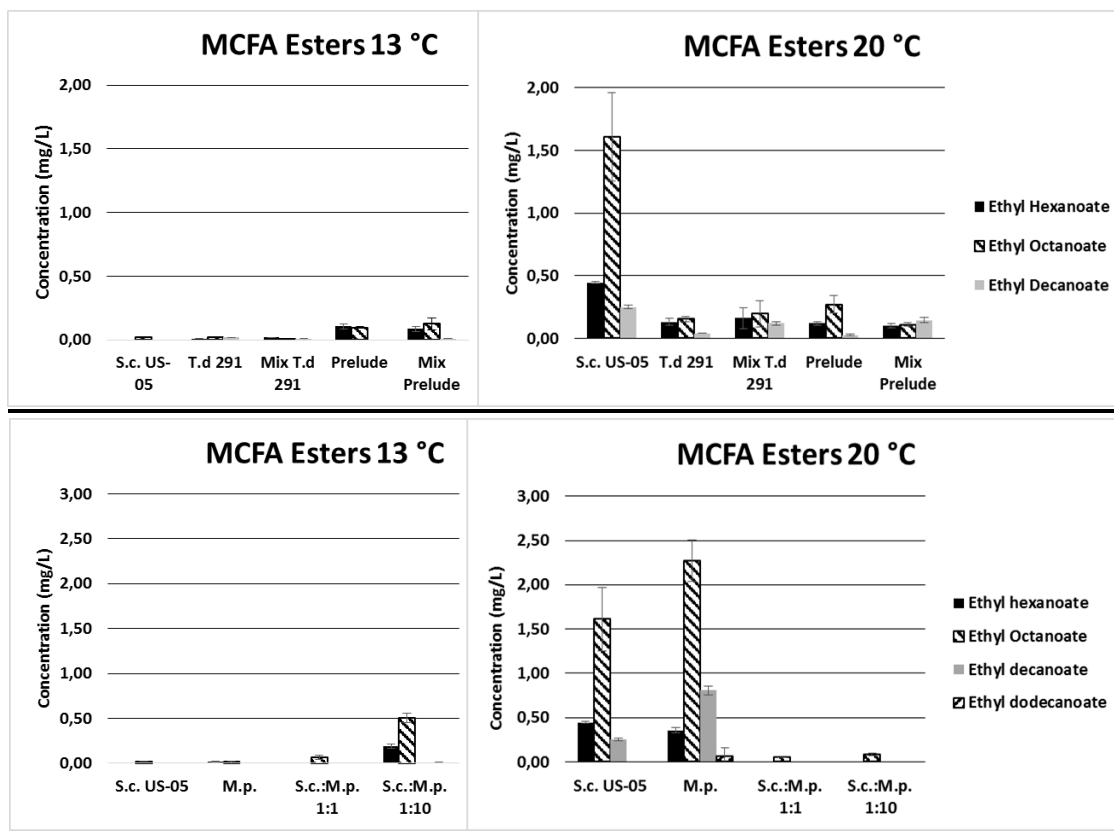


Διάγραμμα 18: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

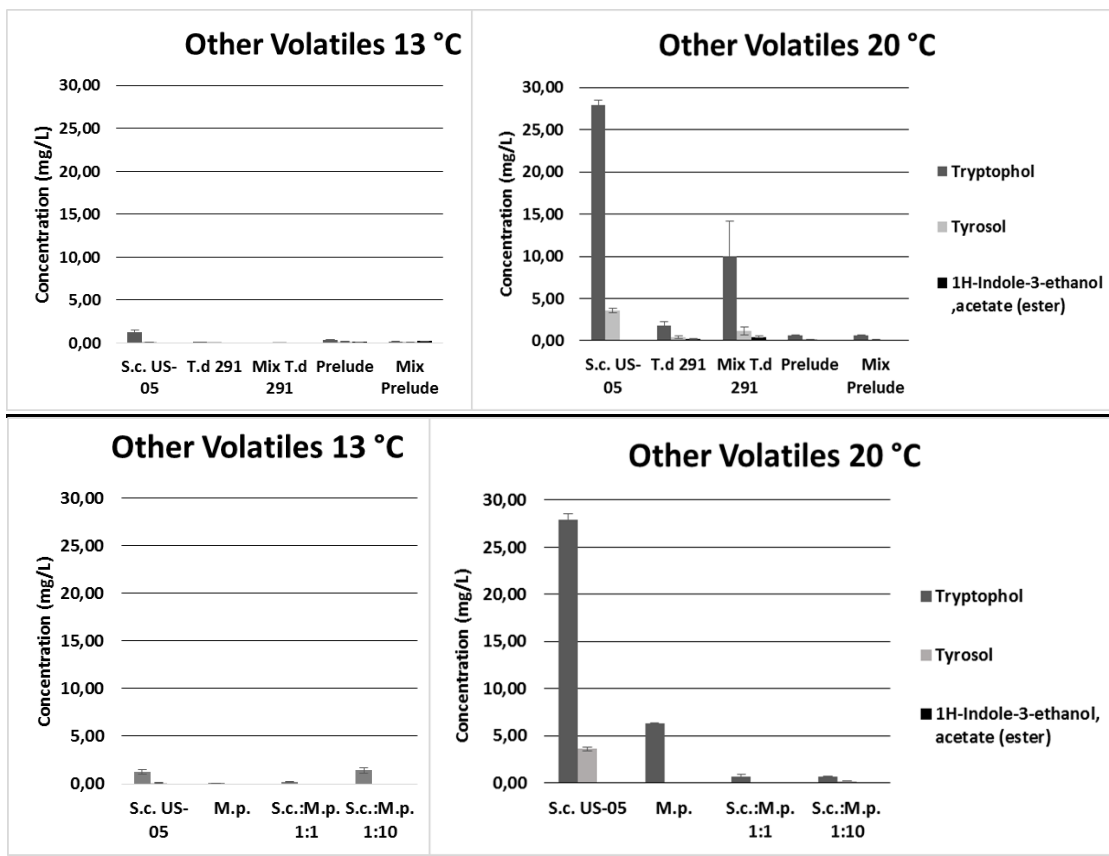
Με βάση την θεωρία, στις υψηλότερες θερμοκρασίες ζύμωσης ευνοείται η παραγωγή των MCFA οξέων (Boulton and Quain, 2006), κάτι που αποδεικνύεται και στα παραπάνω διαγράμματα του 1 χρόνου παλαίωσης, με εξαίρεση τις καλλιέργειες της Prelude, της Mix Prelude, της S.c.:M.p. 1:1 και της S.c.:M.p. 1:10, στις οποίες μειώνονται οι συγκεντρώσεις και ιδιαίτερα η συγκέντρωση του οκτανοϊκού οξέος στην καλλιέργεια της S.c.:M.p. 1:10. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις και των τριών αυτών λιπαρών οξέων δεν ξεπερνούν ούτε σε μία περίπτωση τα όρια ανίχνευσής τους, τα οποία είναι 8 mg/l, 15-19 mg/l και 10 mg/l αντίστοιχα (Meilgaard, 1975b; Luebke & William, 1987; Meilgaard, 1975a; Luebke & William, 1988), γεγονός που είναι αρκετά ευχάριστο για το αρωματικό προφίλ του ζύθου, καθώς δεν συνεισφέρουν θετικά σε αυτό (Meilgaard, 1975a; Clapperton, 1978; Montanari et al., 1999; Siebert, 1999).

Η μεταβολή της θερμοκρασίας στους 20°C είχε σημαντική επιρροή στην αύξηση της συγκέντρωσης των MCFA εστέρων σε όλες τις καλλιέργειες, εκτός από την S.c.:M.p. 1:1 την S.c.: M.p. 1:10 και την συγκέντρωση του οκτανοϊκού αιθυλεστέρα στην καλλιέργεια της Mix Prelude, οι οποίες μειώθηκαν στους 20°C. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρουσιάζει η καλλιέργεια της M.p., εκτός του εξανοϊκού αιθυλεστέρα, που εντοπίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην καλλιέργεια του S.c. US-05. Το όριο αντίληψης του εξανοϊκού αιθυλεστέρα (0,23 mg/l) ξεπερνιέται από την S.c. και την M.p. στους 20°C, προσδίδοντας στον παραγόμενο ζύθο ένα άρωμα φρούτου με νότες γλυκάνισο (Meilgaard, 1975a; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014). Το όριο αντίληψης του οκτανοϊκού αιθυλεστέρα (0,5-0,9 mg/l) ξεπερνιέται από την S.c. και την M.p. στους 20°C και την S.c.:M.p. 1:10 στους 13°C,

προσδίδοντας ένα άρωμα πράσινου μήλου στη μπίρα (Meilgaard, 1975a; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014; Mosciano, Gerard, 1997a; Luebke, William, 1986).



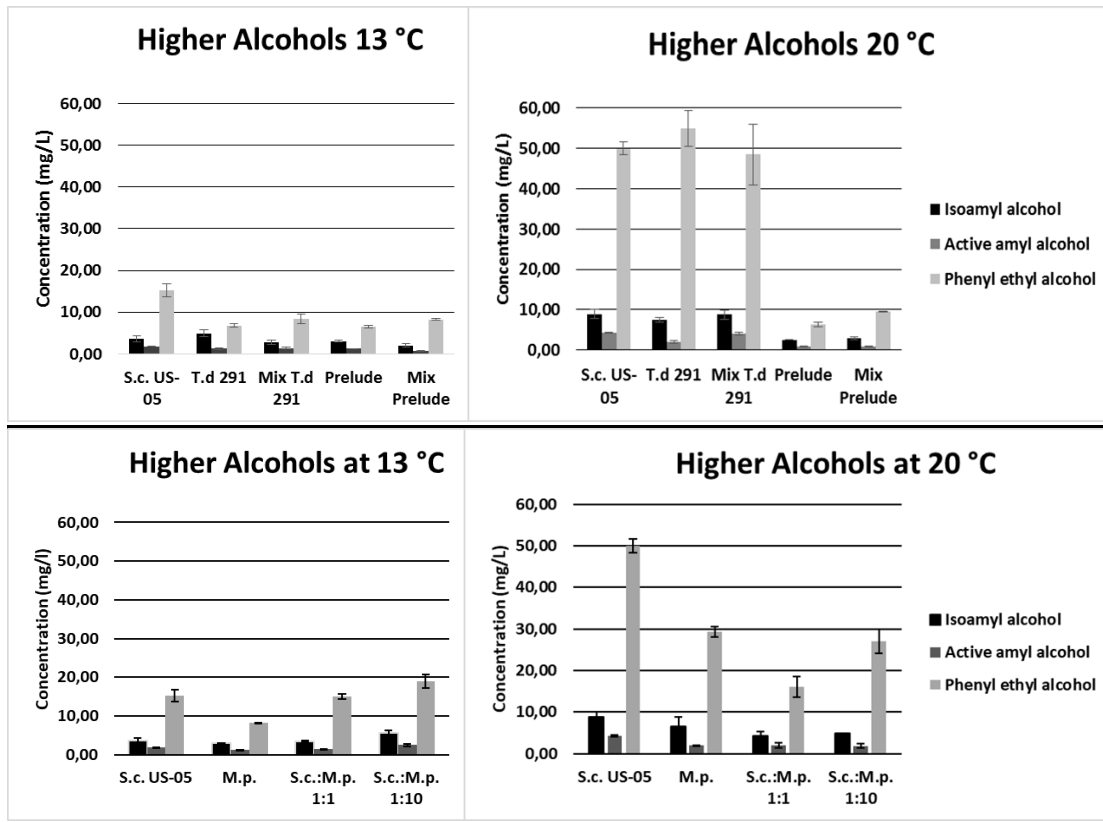
Διάγραμμα 19: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



Διάγραμμα 20: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στον 1 χρόνο εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στις υπόλοιπες πτητικές ενώσεις παρατηρείται πως ο S.c. US-05 έδωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις τρυπτοφώλης σε κάθε θερμοκρασία. Ειδικότερα στους 20 °C η συγκέντρωση της τρυπτοφώλης υπερβαίνει το όριο ανίχνευσής της (10 mg/l), προσδίδοντας, έτσι, ένα άρωμα αμυγδάλου (Djordjevic et al., 2016). Η παραγωγή από την ζύμωση της Mix T.d 291 έχει την δεύτερη υψηλότερη συγκέντρωση τρυπτοφώλης αγγίζοντας κι αυτή το όριο αντίληψής της. Οι ποσότητες της τυροσόλης είναι μικρές σε όλες τις ζυμώσεις και του εστέρα είναι σχεδόν αμελητέες.

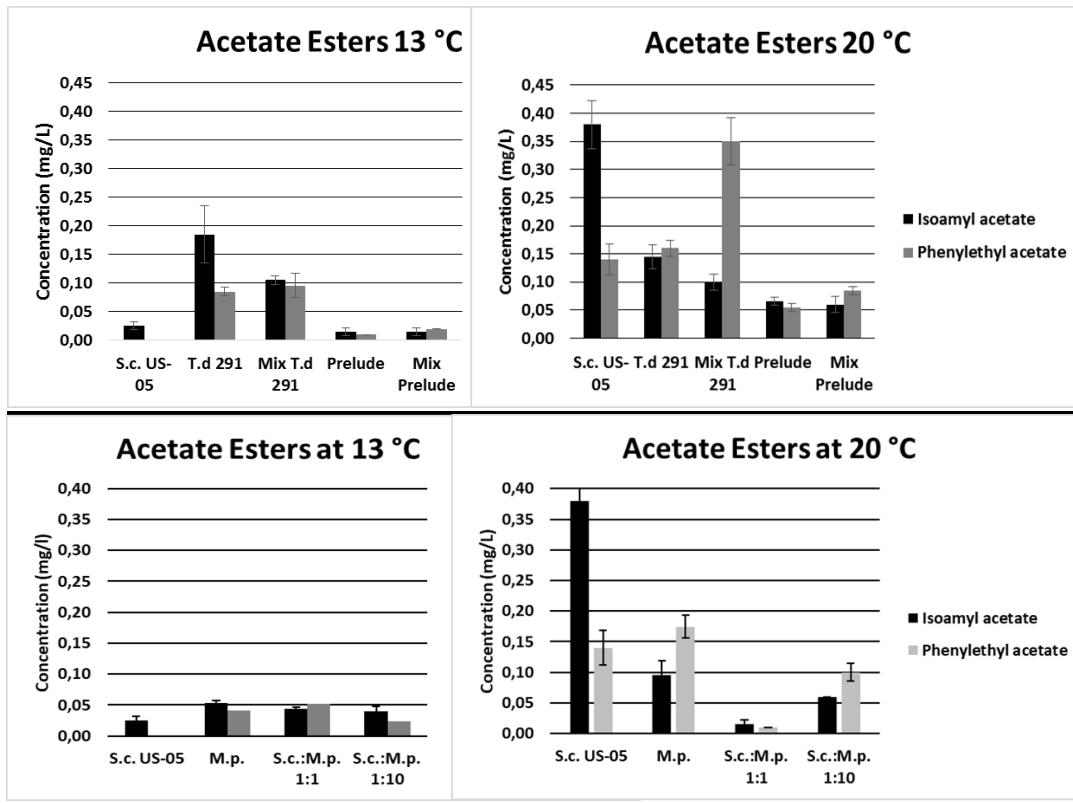
E. 2 Χρόνια Εμφιάλωσης



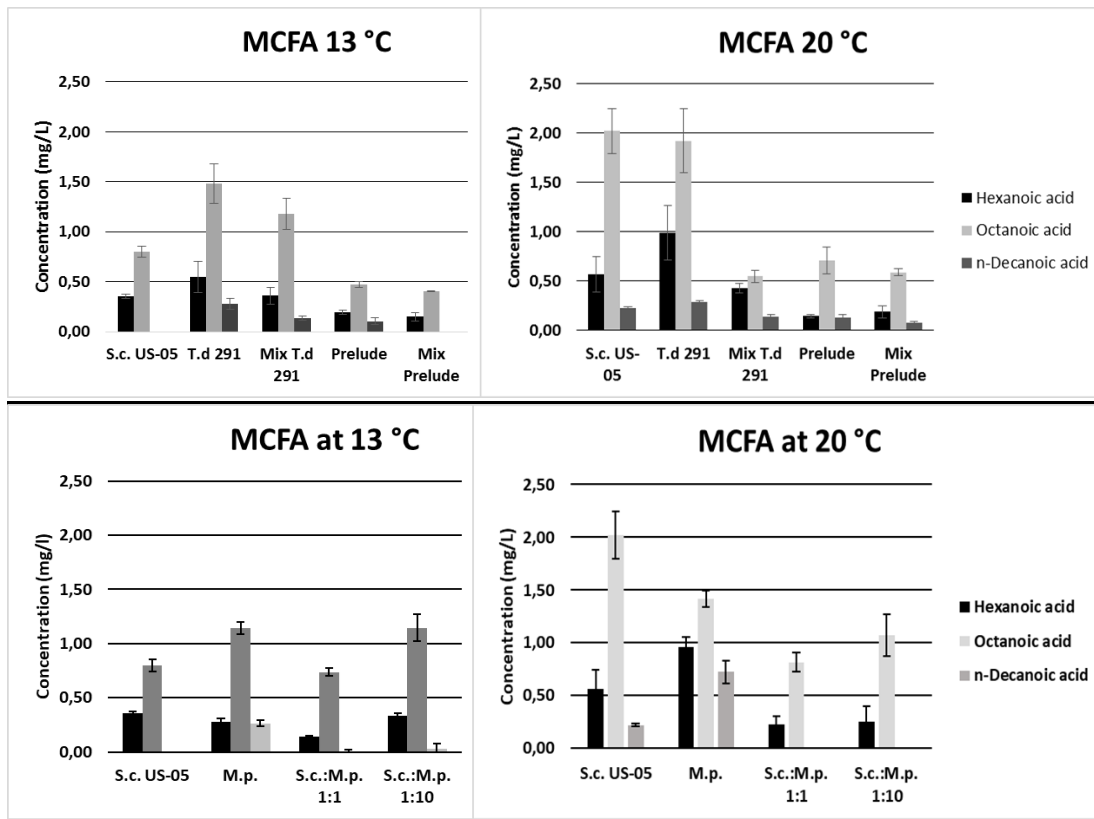
Διάγραμμα 21: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Με την αυτόλυση των ζυμομυκήτων μετά τον 1 χρόνο κυρίως, η συγκέντρωση της φαινυλαιθανόλης αυξάνεται με γρήγορους ρυθμούς στις ζυμώσεις της T.d 291 και του συμβατικού ζυμομύκητα, προσφέροντας έτσι ένα ευχάριστο άρωμα τριαντάφυλλου σε μπίρα ηλικίας 2 χρόνων. Η επιρροή της θερμοκρασίας είναι ξανά φανερή καθώς στους 13 °C έχουμε σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις της ίσο-αμυλικής αλκοόλης και του ισομερούς της παραμένουν κάτω από τα 10 mg/l σε όλες τις ζυμώσεις καθώς και χαμηλότερα από τα όρια ανίχνευσής τους (50-65 mg/l και 50-70 mg/l αντίστοιχα) (Meilgaard, 1975a; Luebke & William, 2021). Οι ζυμώσεις της M.p έδωσαν καλύτερα αποτελέσματα στην μεγαλύτερη θερμοκρασία, ωστόσο παραμένει η συγκέντρωση της φαινυλαιθανόλης κάτω από το όριο ανίχνευσής της (40-45 mg/l).

Όσον αφορά τους οξικούς εστέρες η ζύμωση με τον *Saccharomyces cerevisiae* επηρεάστηκε από την θερμοκρασία καθώς στους 20 °C σημειώνεται αύξηση της συγκέντρωσης του φαινυλαιθυλεστέρα και ακόμη περισσότερη του ίσο-αμυλεστέρα. Αν και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση του πρώτου τη παράγει η Mix T.d 291 παραμένει ακόμα κάτω από το όριο ανίχνευσής του (3,8 mg/l). Οι ζυμώσεις της M.p στους 13 °C δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$), ωστόσο στους 20 °C η καθαρή καλλιέργεια και η S.c.:M.p. 1:10 ευνοούνται ενώ η S.c.: M.p. 1:1 έδωσε χαμηλότερα αποτελέσματα. Αυτό είναι μια ένδειξη ότι ακόμα και με την αύξηση της θερμοκρασίας δεν ευνοείται πάντα η σύνθεση των ενώσεων.

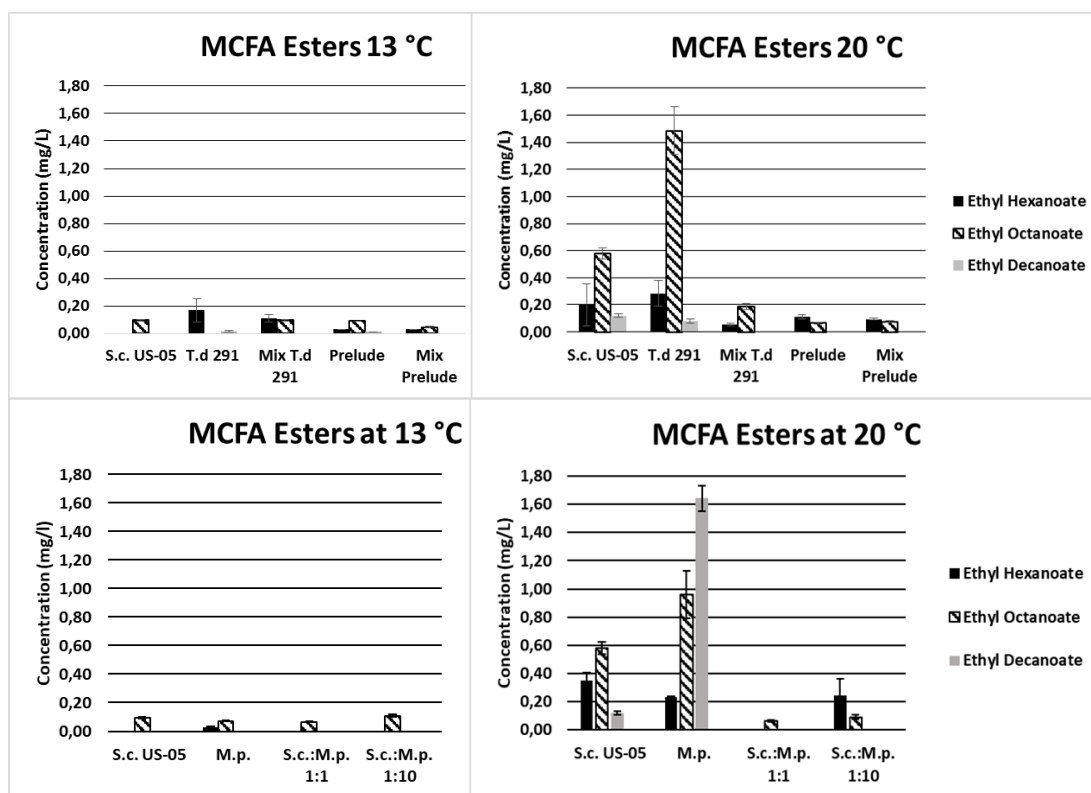


Διάγραμμα 22: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.



Διάγραμμα 23: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

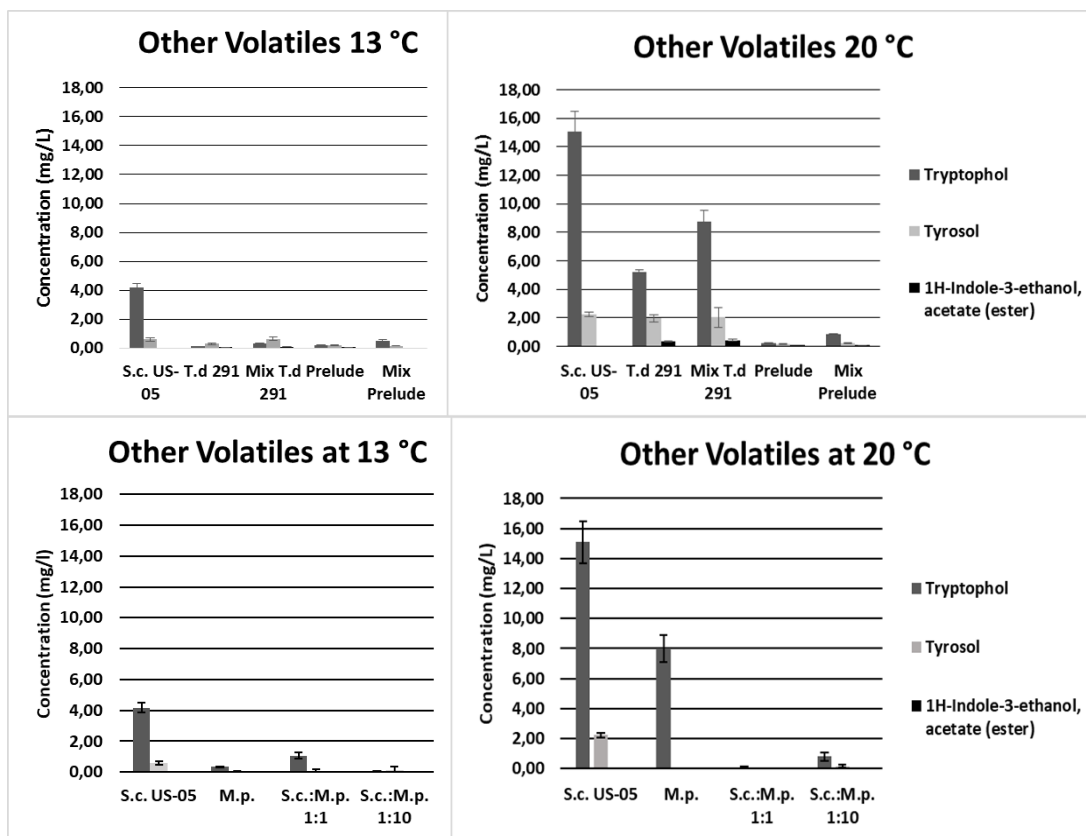
Σύμφωνα με τους **Boulton και Quain (2006)**, οποιαδήποτε μεταβολή στις συνθήκες της ζύμωσης, που προωθούν το εύρος της ανάπτυξης των ζυμομυκήτων, ευνοούν την αυξημένη παραγωγή των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας στη μπίρα. Συνεπώς στους 20 °C παρατηρούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Υψηλότερες συγκεντρώσεις οκτανοϊκού οξέος έδωσε η ζύμωση με τον S.c. US-05. Επιπλέον, φαίνεται πως η *Torulasporea delbrueckii* και η *Metschnikowia pulcherrima* παράγουν υψηλές συγκεντρώσεις καπροϊκού και καπρυλικού οξύ, με τις καθαρές καλλιέργειές τους να έχουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις μετά από τον *S. cerevisiae*. Ωστόσο στη Mix T.d 291 οι συγκεντρώσεις είναι πιο χαμηλές από τους 13 °C. Πιθανώς, η ύπαρξη του συμβατικού ζυμομύκητα στο χρονικό στάδιο αυτό να δρα ανασταλτικά. Οι ζυμώσεις της Prelude έδωσαν χαμηλά αποτελέσματα και οι ζυμώσεις της M.p. ως προς τη παραγωγή οκτανοϊκού οξέος ακολουθούν το ίδιο μοτίβο. Παρόλα αυτά όλες οι συγκεντρώσεις παραμένουν κάτω από τα όρια ανίχνευσής τους.



Διάγραμμα 24: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στην παραγωγή των MCFA εστέρων η μεταβολή της θερμοκρασίας είχε σημαντικό αντίκτυπο στις καθαρές καλλιέργειες των μη συμβατικών ζυμομυκήτων και τους *S.cerevisiae* εκτός της Prelude. Σημειώνεται από το διάγραμμα 24 πως η T.d. 291 έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ακολουθούμενη από την M.p. και έπειτα από τον S.c. US-05. Με συγκεντρώσεις πάνω από το κατώφλι αντίληψης του (0,5-0,9 mg/l), ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας προσδίδει ένα άρωμα πράσινου μήλου στη μπίρα. Παρατηρείται, πως τη σημαντικότερη παραγωγή του δεκανοϊκού αιθυλεστέρα την έχει η M.p., υποδεικνύοντας την ικανότητα αυτής της ζύμης να παράγει τον συγκεκριμένο εστέρα. Σε συγκέντρωση

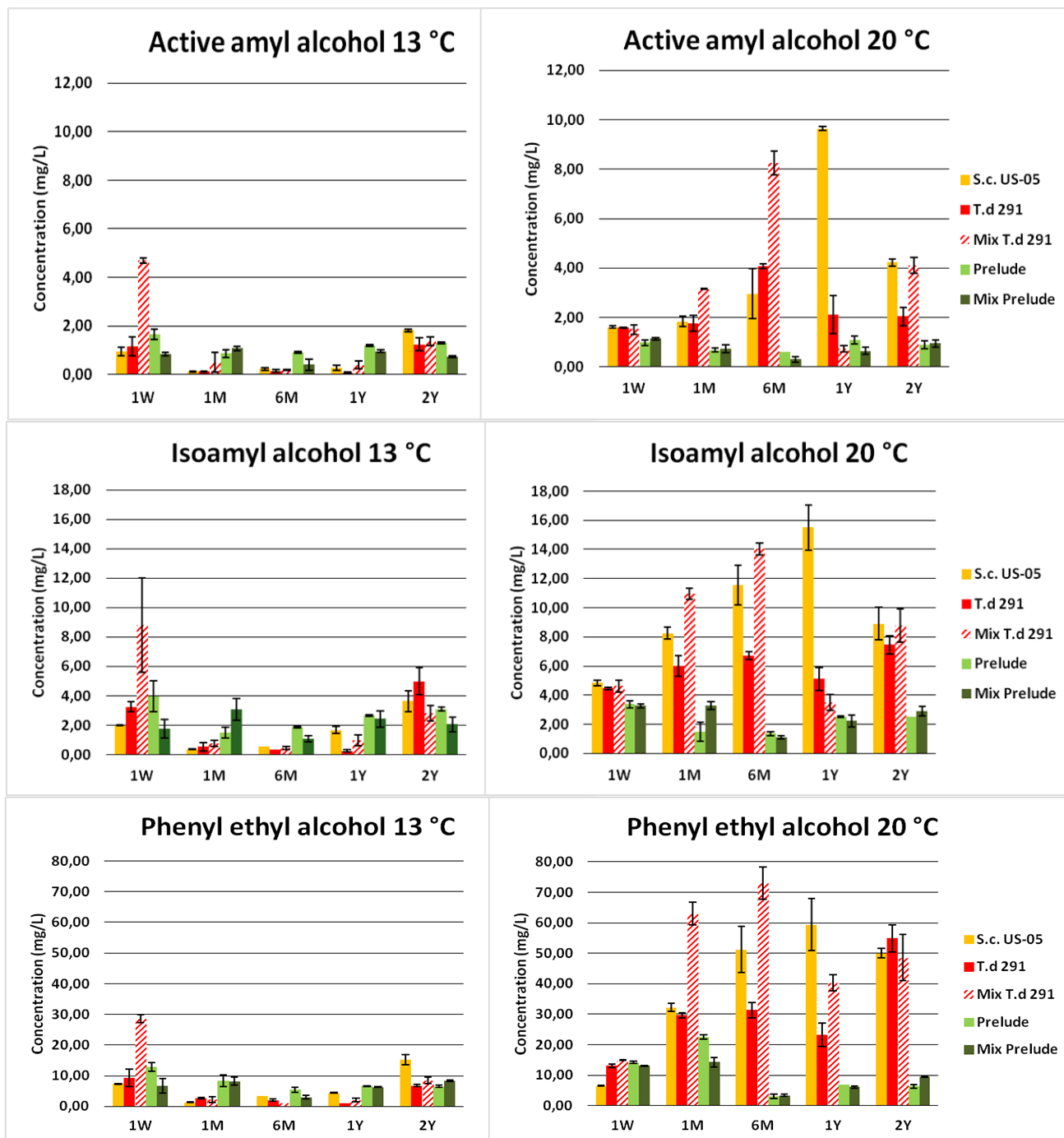
πάνω από το όριο ανίχνευσής της (1,5 mg/l), προσδίδει σε μπίρα παλαίωσης 2 χρόνων νότες σταφυλιού και μήλου (Meilgaard, 1975b; Luebke & William, 1987).



Διάγραμμα 25: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στα 2 χρόνια εμφιάλωσης, στους 13 και 20 °C, σε όλες τις ζυμώσεις.

Στο διάγραμμα 25 παρατηρείται πως ο συμβατικός ζυμομύκτης έδωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις τρυπτοφώλης σε κάθε θερμοκρασία. Ειδικότερα στους 20 °C η συγκέντρωση της τρυπτοφώλης υπερβαίνει το όριο ανίχνευσής της (10 mg/l). Η παραγωγή της ζύμωσης T.d 291 ήταν χαμηλότερη από την Mix T.d 291. Η ζύμωση με τη καθαρή καλλιέργεια M.p. έδωσε ποσότητα τρυπτοφώλης στα ίδια επίπεδα. Οι ποσότητες της τυροσόλης είναι μικρότερες και στις υπόλοιπες ζυμώσεις οι ποσότητες αυτών των πτητικών και τους εστέρα είναι σχεδόν αμελητέες.

ΣΤ. Εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων των στελεχών της *Torulaspora delbrueckii* στον χρόνο



Διάγραμμα 26: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.

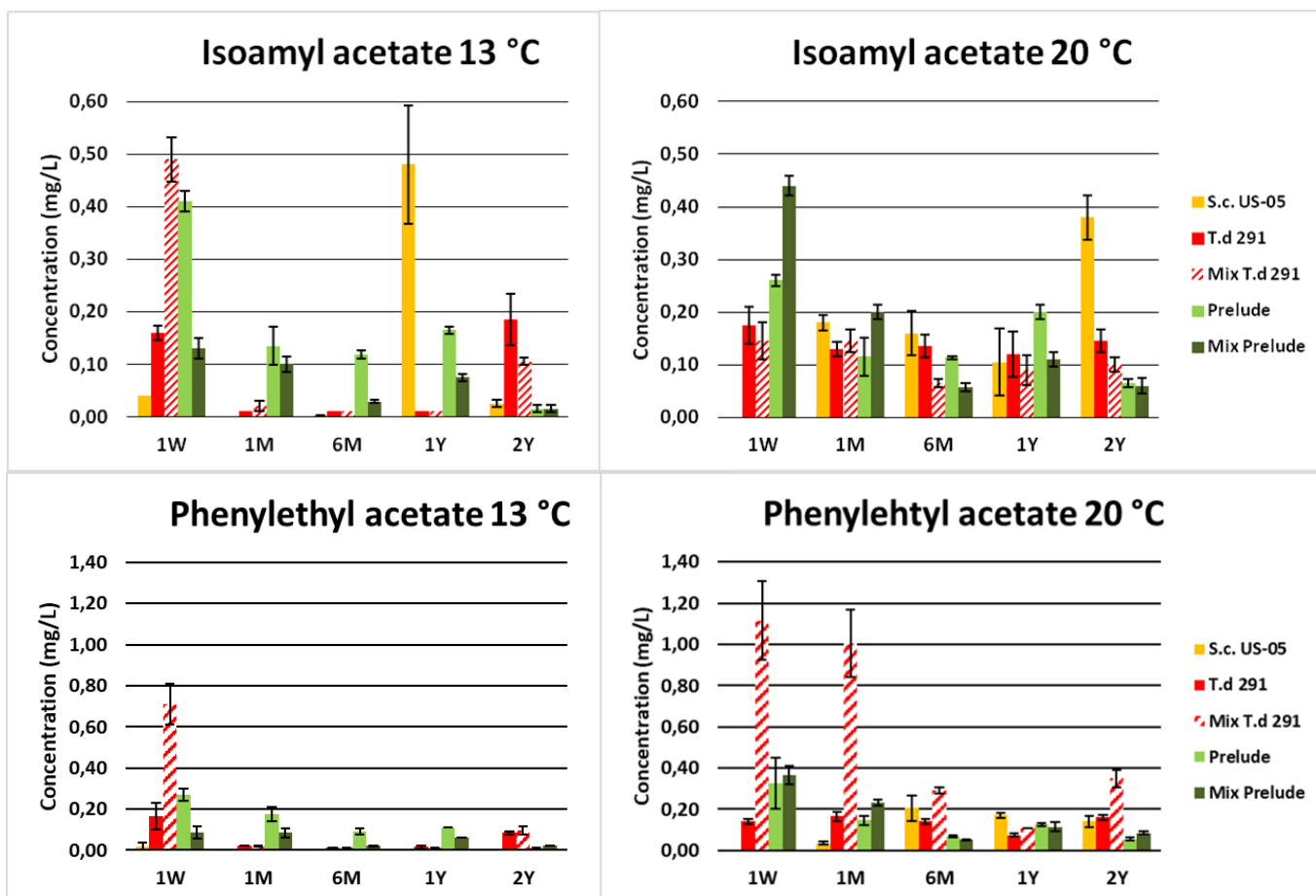
Οι συγκεντρώσεις και η εξέλιξη των κύριων ανώτερων αλκοολών που φαίνονται στο διάγραμμα 26 επηρεάστηκαν σημαντικά από τη θερμοκρασία ζύμωσης, εφόσον στους 13 °C ήταν χαμηλότερες,

ανεξαρτήτου του στελέχους ζύμης. Αντίθετα, με τη πάροδο του χρόνου στους 20 °C σημειώνεται συνεχής αύξηση των ανώτερων αλκοολών έως τους 6 μήνες σε όλες τις ζυμώσεις εκτός της περίπτωσης της Prelude, όπου παραμένουν σταθερές ($p < 0,05$), με εξαίρεση την φαινυλαιθανόλη και στις δύο ζυμώσεις της. Ως συμβατικός ζυμομύκητας ο S.c. US-05 ακόμα και στον 1 χρόνο εμφιάλωσης συνεχίζει την παραγωγή των αλκοολών. Αντίθετα, στη περίπτωση των ζυμώσεων της T.d 291, μειώνονται οι ποσότητες αυτών έως και τρεις φορές, και ειδικότερα στην Mix T.d 291, το οποίο οφείλεται σε οξειδωση αυτών στις αντίστοιχες αλδεΐδες. Ο Hashimoto (1972) μελέτησε τον σχηματισμό των αλδεϋδών, λόγω της έκθεσης του ζύθου σε υψηλότερα επίπεδα οξυγόνου. Οι υψηλές θερμοκρασίες, το χαμηλό pH και η συμπλήρωση πρόσθετων ανώτερων αλκοολών οδήγησαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αλδεϋδών. Στα δύο χρόνια εμφιάλωσης μια τέτοια σημαντική μείωση παρατηρείται στον συμβατικό ζυμομύκητα, στην ίσο-αμυλική αλκοόλη και στο ισομερές της που οφείλεται σε οξειδωσή τους. Η ταυτόχρονη αύξηση του οξικού ίσο-αμυλεστέρα στα δύο χρόνια όπως παρατηρείται παρακάτω στο διάγραμμα 27 αιτιολογεί περαιτέρω την μείωση της αντίστοιχής αλκοόλης λόγω της εστεροποίησης. Ωστόσο, στις ζυμώσεις της T.d 291 σημειώνεται το αντίθετο φαινόμενο. Εκτός από τη θερμοκρασία, οι ενεργά αρωματικές ενώσεις εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό και από τη συγκέντρωση αζώτου και σύμφωνα με τη θεωρία οι ανώτερες αλκοόλες παράγονται και από τον μεταβολισμό του. Έτσι με την αυτόλυση των ζυμομυκήτων σε χρονικό διάστημα ενός χρόνου παρατηρείται αύξηση των ανώτερων αλκοολών ειδικά στη Mix T.d 291 που βελτιώνεται περαιτέρω η παραγωγή λόγω της ύπαρξης του συμβατικού ζυμομύκητα (Michel et al., 2016a). Παρόμοιο φαινόμενο παρατηρείται και στους 13 °C με χαμηλότερες αυξήσεις. Η φαινυλαιθανόλη, γνωστή για το άρωμα τριαντάφυλλου και με κατώφλι αντίληψης 40-45 mg/l (Πίνακας 1), είναι ο κύριος αντιπρόσωπος του ζυμομύκητα *Torulaspora delbrueckii*. Παρατηρείται ότι έως και διπλάσια συγκέντρωση έχει παραχθεί από τη Mix T.d 291 σε σύγκριση με τον S.c. US-05 στον ένα μήνα εμφιάλωσης, ενώ η καθαρή καλλιέργειά της με τον συμβατικό ζυμομύκητα δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά ($p < 0,05$) (Πίνακας 3). Παρατηρούνται συγκεντρώσεις υψηλότερες του ορίου ανίχνευσής της από την Mix T.d 291 στον ένα μήνα παλαίωσης, έπειτα και από τον S.c. US-05 και τέλος στα δύο χρόνια η T.d 291 έχει την υψηλότερη συγκέντρωση φαινυλαιθανόλης. Παράλληλα, η Prelude δείχνει υψηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τις υπόλοιπες δύο ανώτερες αλκοόλες, δείχνοντας έτσι την ικανότητα της να παράγει σε μεγαλύτερη ποσότητα την συγκεκριμένη αλκοόλη.

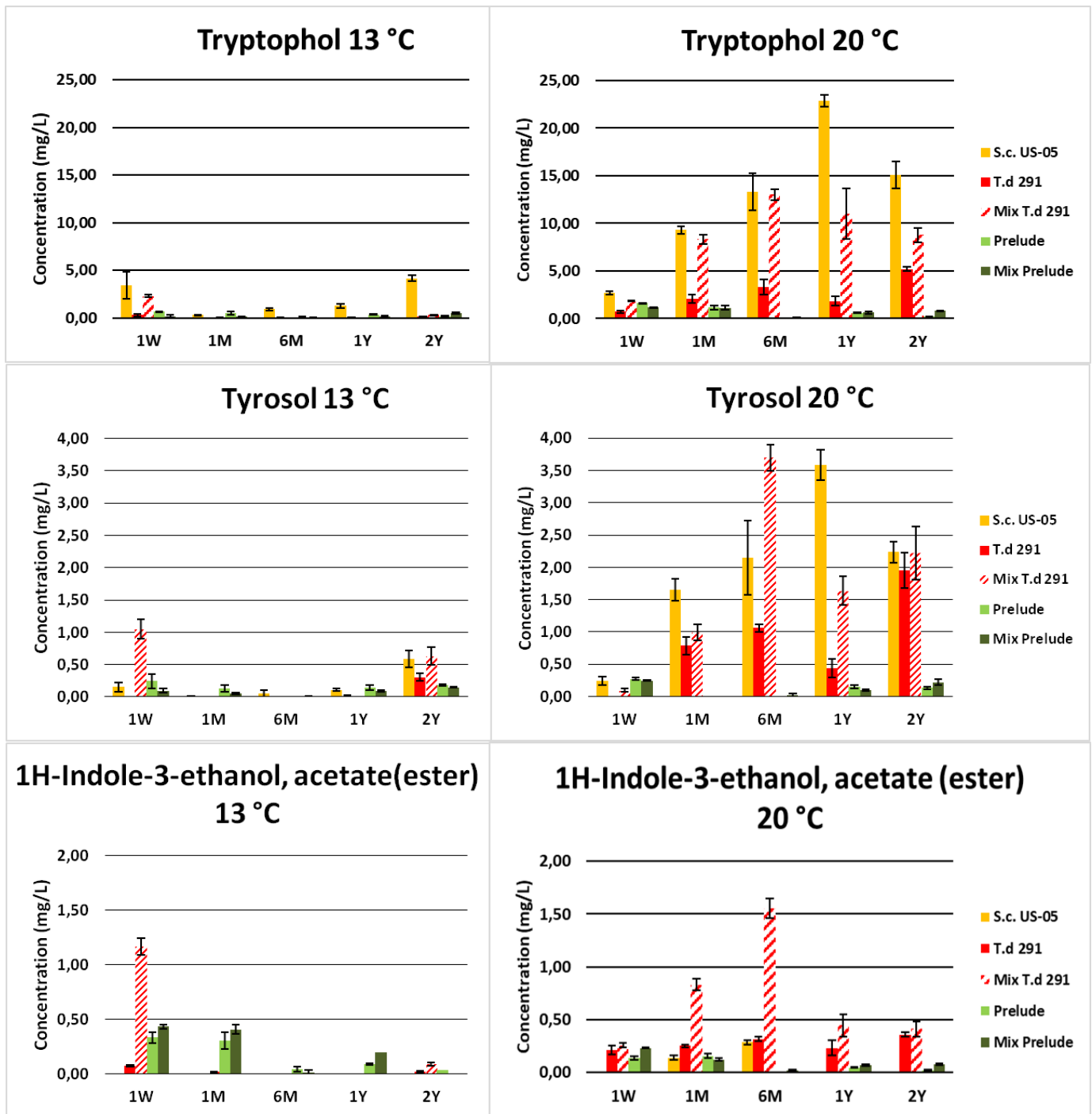
Οι οξικοί εστέρες και ειδικότερα ο οξικός ίσο-αμυλεστέρας (μπανάνα) και ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας (τριαντάφυλλο), τείνουν να μειώνονται όσο η μπίρα παλαιώνει λόγω της αυτόλυσης τους στην αντίστοιχη ανώτερη αλκοόλη και οξικό οξύ. Έτσι παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του οξικού ίσο-αμυλεστέρα όσο ο χρόνος εμφιάλωσης επεκτείνεται και στις υπόλοιπες ζυμώσεις. Όπως παρατηρείται στο διάγραμμα 27 τις μεγαλύτερες ποσότητες οξικού ίσο-αμυλεστέρα δίνει το στέλεχος της Prelude και ειδικότερα η μικτή ζύμωσή της στους 20 °C. Αντίθετα Η Mix T.d 291 σημειώνει τις σημαντικότερες υψηλότερες συγκεντρώσεις οξικού φαινυλαιθυλεστέρα με την ίδια πορεία κατά τη πάροδο του χρόνου. Στους 13 °C η παρουσία των δύο εστέρων και ειδικότερα του φαινυλαιθυλεστέρα μειώνεται, πιθανώς λόγω της υδρόλυσής τους. Το ίδιο παρατηρείται και στους 20 °C καθώς μετά τον μήνα η συγκέντρωση του φαινυλαιθυλεστέρα της Mix T.d. 291 μειώνεται λόγω της παλαίωσης με τη ταυτόχρονη αύξηση της φαινυλαιθανόλης όπως παρατηρείται και στο διάγραμμα 26. Εκτός από την υδρόλυση και την εστεροποίηση, η ενέργεια διάφορων ενζύμων, μερικές φορές

ανιχνεύσιμη στη μπίρα, μπορεί επίσης να επηρεάσει το αρωματικό προφίλ που προσδίδουν οι εστέρες. Ο Neven, 1997 έδειξε πως κάποιες εστεράσες απελευθερώνονται από τον ζυμομύκητα, ως αποτέλεσμα της αυτόλυσης κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της παλαίωσης. Μια τέτοια δραστηριότητα εξαρτάται από το είδος της ζύμης, με τις αφροζύμες να παρουσιάζουν περισσότερο το φαινόμενο αυτό σε σχέση με τις βυθοζύμες.

Παρόλα αυτά καμία ζύμωση δεν σημείωσε συγκεντρώσεις ανώτερες από το κατώφλι αντίληψης των οξικών εστέρων, με του ίσο-αμυλεστέρα τα 1,2-2 mg/l και του φαινυλαιθυλεστέρα τα 3,8 mg/l. Ωστόσο, ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, έχουν συνεργατική επίδραση στα μεμονωμένα αρωματικά χαρακτηριστικά, καθιστώντας έτσι τους εστέρες, ικανές ενώσεις να επηρεάσουν το άρωμα και τη γεύση του ζύθου πολύ πιο κάτω από τα όρια ανίχνευσής τους (Rodrigues et al., 2008a).



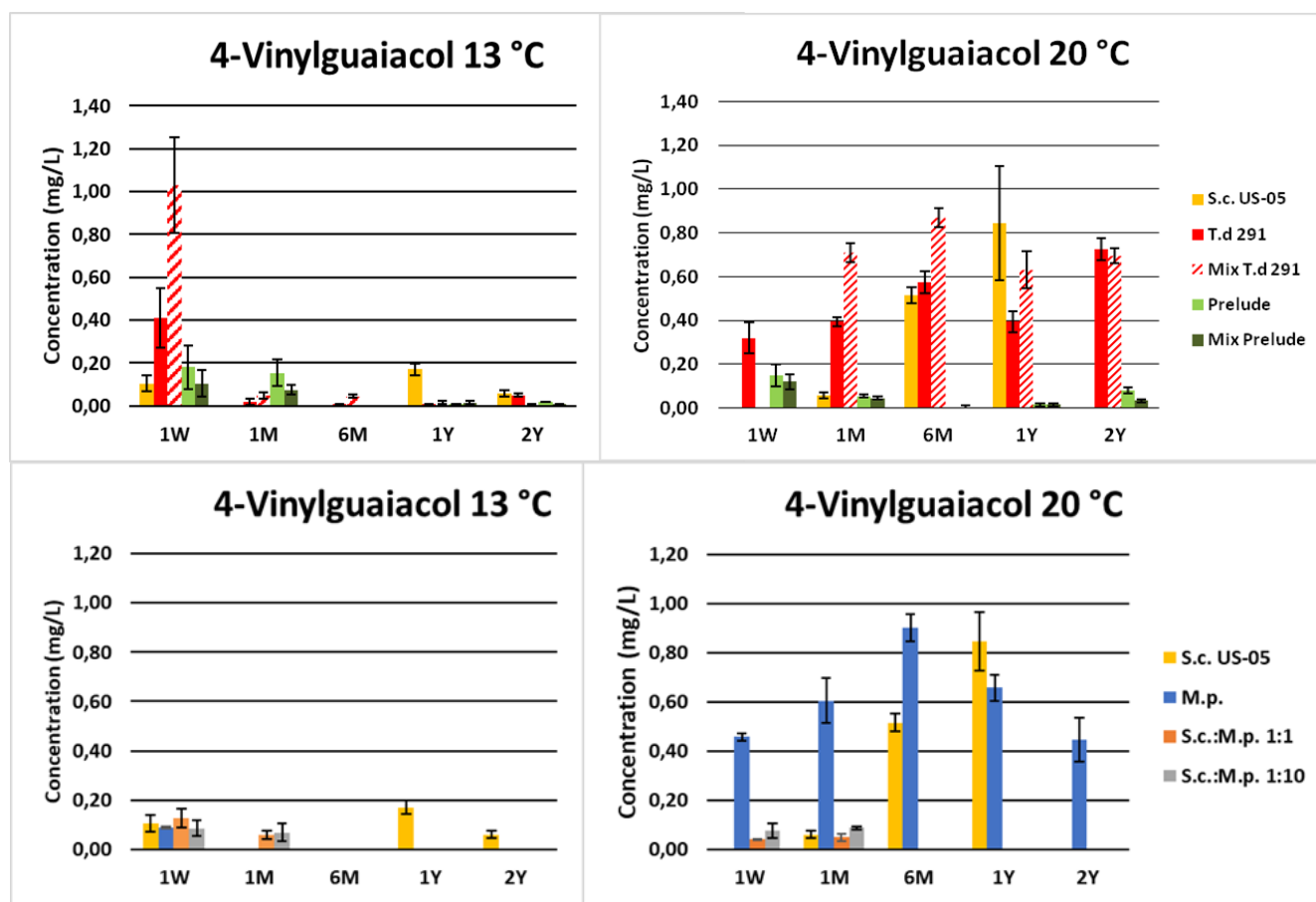
Διάγραμμα 27: Συγκεντρώσεις οξικών εστέρων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.



Διάγραμμα 28: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πηκτικών ενώσεων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.

Σύμφωνα με τους **Quiros et al., 2013** οι ζυμομύκητες αρχικά καταναλώνουν πρώτα τη λυσίνη μετά τη τρυπτοφάνη και τέλος τη τυροσίνη. Αυτές οι οδοί είναι σημαντικοί διότι τα συγκεκριμένα αμινοξέα είναι οι πρόδρομες ενώσεις της τρυπτοφόλης και τυροσόλης αντίστοιχα. Από τη βιομηχανία κρασιού, αυτές οι αλκοόλες είναι γνωστές για την ανθώδη συνεισφορά τους και τη γεύση που μοιάζει με αμύγδαλο στα κρασιά. Παρατηρείται στο διάγραμμα 28 ότι η τρυπτοφόλη εμφάνισε τις υψηλότερες

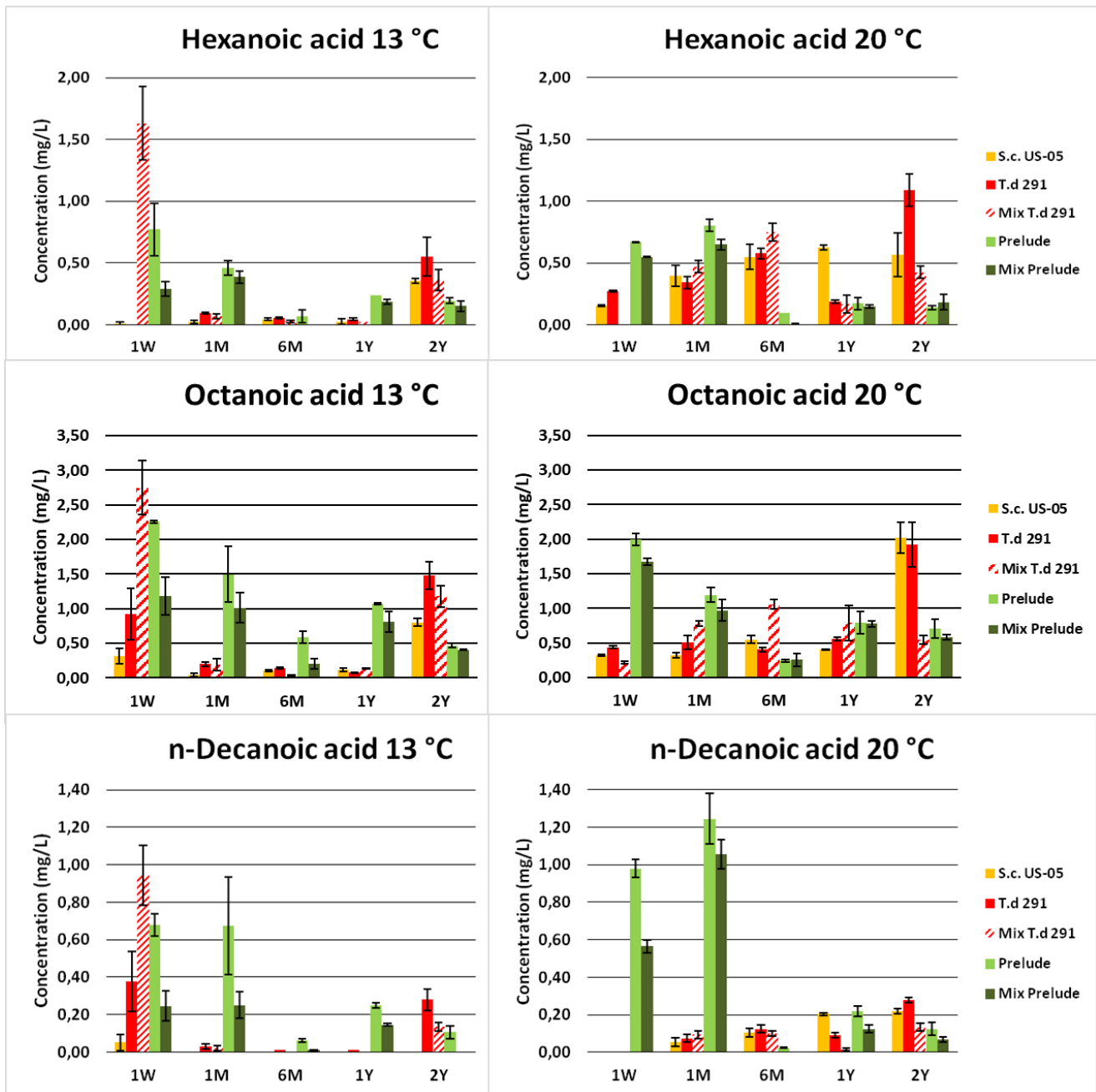
τιμές στις ζυμώσεις του *S. cerevisiae* και στις δύο θερμοκρασίες, ακολουθούμενη από τη Mix T.d 291. Με τη πάροδο του χρόνου οι συγκεντρώσεις της αυξάνονται έως τους 6 μήνες, καθιστώντας τη Mix T.d 291 τη ζύμωση με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις τρυπτοφώλης από όλες τις ζυμώσεις με *Non-Saccharomyces*, ενώ μετά από τον ένα χρόνο μειώνονται. Συγκεκριμένα στους 6 μήνες παλαίωσης ξεπερνάει το όριο ανίχνευσης της τρυπτοφώλης συνεισφέροντας με άρωμα αμύγδαλου. Στη περίπτωση της τυροσώλης στη μία εβδομάδα εμφιάλωσης η θερμοκρασία είχε μεγάλη επίδραση στη μικτή ζύμωση της T.d 291. Στους 13°C στους επόμενους χρόνους σημειώνονται ελάχιστες συγκεντρώσεις ενώ στα 2 χρόνια εμφιάλωσης παρατηρείται η αύξηση της. Στους 20 °C η παραγωγή της τυροσώλης στη Mix T.d στους 6 μήνες παλαίωσης τριπλασιάζεται, ενώ έπειτα μειώνεται. Γενικά οι *Non-Saccharomyces* ζυμομύκητες θεωρούνται υψηλοί καταναλωτές αζώτου (Andorra et al., 2010; Andorra et al., 2012). Έτσι ο πιθανός εμπλουτισμός σε πηγή αζώτου από την αυτόλυση των ζυμομυκήτων ενίσχυσε την παραγωγή τρυπτοφώλης και τυροσώλης στα 2 χρόνια παλαίωσης. Τέλος οι εξελίξεις των συγκεντρώσεων του εστέρα παρατηρούνται μόνο στις ζυμώσεις της T.d. 291 και Prelude, ενώ στον συμβατικό παράγεται σε ελάχιστες ποσότητες στους 20 °C στον 1 μήνα και 6 μήνες εμφιάλωσης. Με την Mix T.d. 291 να έχει τις υψηλότερες συγκεντρώσεις, θεωρείται ότι είναι η πιο ικανή να παράξει αυτόν τον εστέρα. Με τη πάροδο του χρόνου μειώνονται οι συγκεντρώσεις και στις δύο θερμοκρασίες.



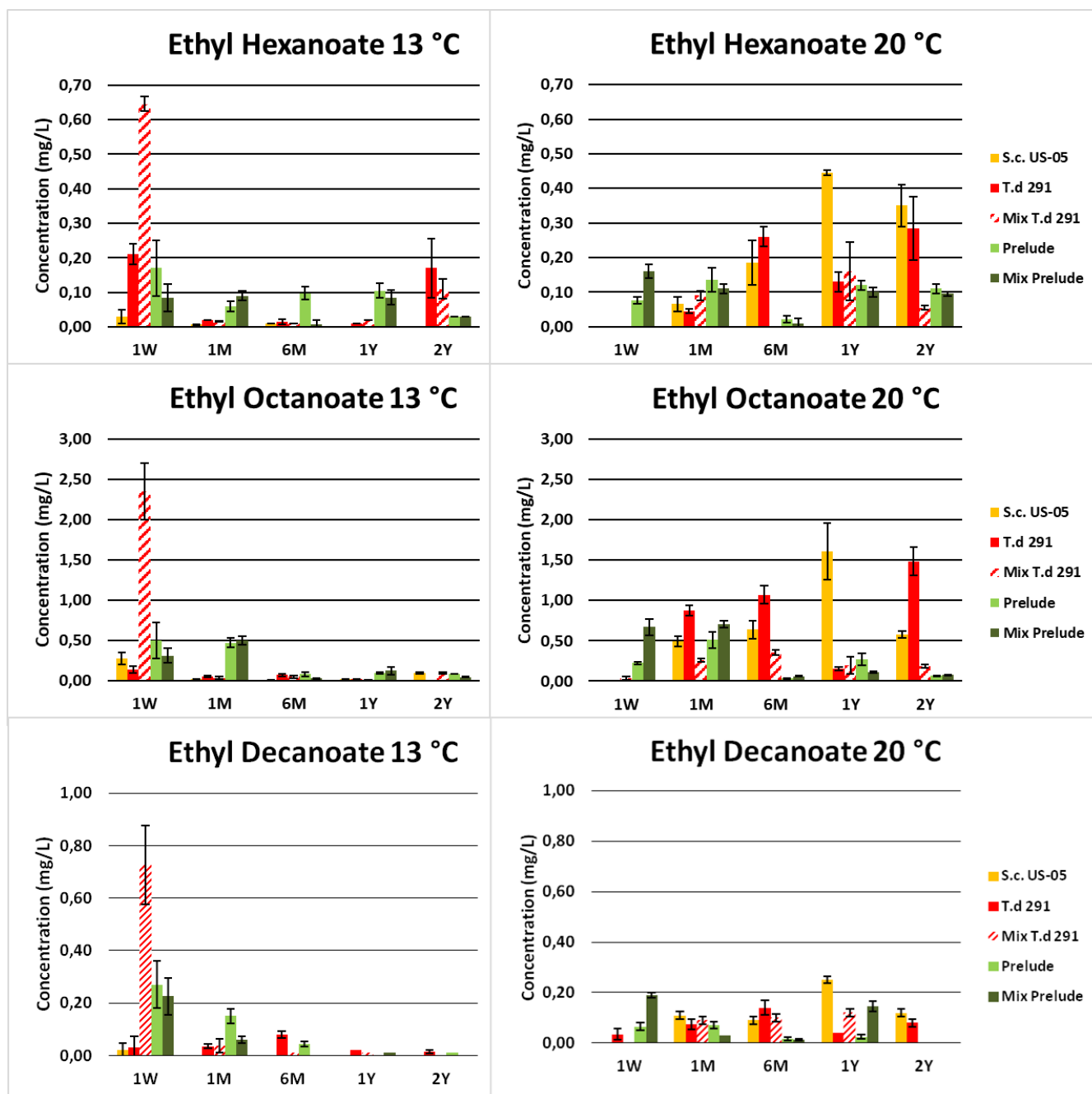
Διάγραμμα 29: Συγκεντρώσεις 4-βινυλ-γουαϊακόλης, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή της στον χρόνο.

Η κυριότερη από τις πτητικές φαινόλες, η 4-βινυλ-γοαϊακόλη θεωρείται ανεπιθύμητη όταν υπάρχει σε υπερβολική συγκέντρωση σε βυθοζύμωτες μπίρες pilsner. Παρόλο που η συνεισφορά της θεωρείται ως off-flavour, αυτή η πτητική ένωση είναι γνωστή ότι αποτελεί σημαντικό αρωματικό χαρακτηριστικό στις Belgian white και German Weizen μπίρες, ενισχύοντας τις συγκεκριμένες με αρώματα γαρύφαλλου. Η συγκεκριμένη φαινόλη είναι προϊόν αποκαρβοξυλίωσης του φερουλικού οξέος. Οι **Holt et al., 2014** ανέφεραν ότι εκτός από τα είδη *Brettanomyces* και *Dekkera*, μερικοί μη συμβατικοί ζυμομύκητες όπως η *Torulaspora delbrueckii* παρήγαγαν μπίρες εμπλουτισμένες με φαινολικές νότες. Σύμφωνα με μια μελέτη από τους **Scholtes et al., 2014** η συγκέντρωση της 4VG συνδέεται με το στέλεχος της ζύμης που χρησιμοποιείται στην αλκοολική ζύμωση. Όπως παρατηρείται στο διάγραμμα 29 στους 20 °C οι υψηλότερες συγκεντρώσεις εντοπίζονται στη Mix T.d. 291 και τη καθαρή καλλιέργεια της M.p.. Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της *Metschnikowia pulcherrima* είναι η παραγωγή τη συγκεκριμένης φαινόλης σε υψηλές συγκεντρώσεις. Στους 20 °C μετά τους 6 μήνες παλαίωσης οι συγκεντρώσεις της 4VG μειώνονται, επαληθεύοντας έτσι το γεγονός ότι καθώς ο ζύθος παλαιώνει η ποσότητά της ελαττώνεται. Παρόλα αυτά ανευρίσκεται σε ποσότητες μεγαλύτερες από το όριο ανίχνευσής της με εξαίρεση τις ζυμώσεις της Prelude και τις δύο μικτές της M.p.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρούνται οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας και η εξέλιξή τους στον χρόνο στις δύο θερμοκρασίες. Όλες οι συγκεντρώσεις είναι κάτω από τα αντίστοιχα όρια ανίχνευσής τους (8 mg/l, 13-19 mg/l και 10 mg/l) αντίστοιχα για το εξανοϊκό, οκτανοϊκό και δεκανοϊκό οξύ (**Meilgaard, 1975a; Meilgaard, 1975b**). Και τα δύο στελέχη της *T. delbrueckii*, στους 13 °C στη μια εβδομάδα εμφιάλωσης σημειώνουν παραγωγή λιπαρών οξέων. Έπειτα επέρχεται η μείωση τους στους επόμενους χρόνους παλαίωσης και στα δύο χρόνια παρατηρείται αύξηση στις ζυμώσεις, με αίτιο την αυτόλυση των ζυμομυκήτων, διότι η συγκέντρωσή τους, είναι συνδεδεμένη με αυτό το φαινόμενο (**Masschelein 1981**). Στους 20 °C ωστόσο οι υψηλότερες συγκεντρώσεις σημειώνονται στη ζύμωση με τη καθαρή καλλιέργεια της T.d. 291 και συγκεκριμένα στα 2 χρόνια. Στις ζυμώσεις της Prelude η εξέλιξη των λιπαρών οξέων στο χρόνο διαφοροποιείται. Και στις δύο θερμοκρασίες η καθαρή καλλιέργεια της Prelude παρήγαγε υψηλότερες συγκεντρώσεις από τη μικτή της, υποδεικνύοντας ότι υπήρχε ανταγωνισμός μεταξύ του συμβατικού και του *Non-Saccharomyces* ζυμομύκητα στη Mix Prelude με αποτέλεσμα τη μείωση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων. Μετά τον 1 μήνα παλαίωσης οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων μειώνονται ενώ αυξάνονται και σταθεροποιούνται στον 1 χρόνο και 2 χρόνια παλαίωσης. Η Prelude συνολικά έδειξε καλύτερα αποτελέσματα στη παραγωγή λιπαρών οξέων, ειδικότερα του οκτανοϊκού και δεκανοϊκού οξέος σε σύγκριση με τις ανώτερες αλκοόλες. Η διαφορετική εξέλιξη των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας και στις δύο θερμοκρασίες ήταν έντονη, δείχνοντας έτσι τη διαφορετική επιρροή του κάθε στελέχους. Η μείωση των οργανικών οξέων μπορεί να οφείλεται στην εστεροποίηση, στην αυτό-οξειδωση τους, είτε στην ενζυματική διάσπαση αυτών από ορισμένα ένζυμα (**Yang & Schwartz, 1995**).



Διάγραμμα 30: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.



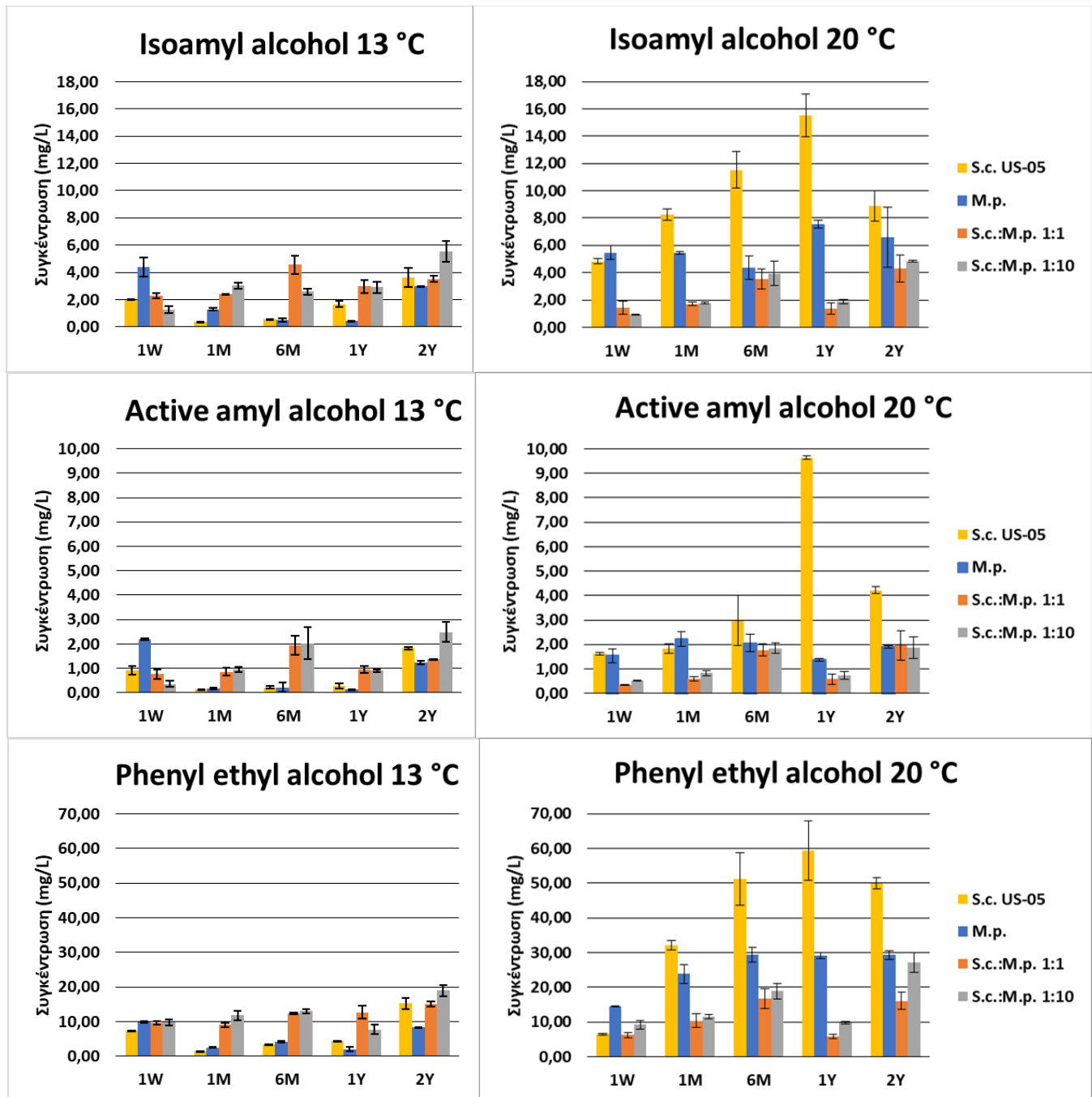
Διάγραμμα 31: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Torulaspora delbrueckii* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.

Στο διάγραμμα 31 παρατηρείται ότι στους 13 °C, στη μία εβδομάδα παλαίωσης η ποσότητες των MCFA εστέρων από την Mix T.d. 291 είναι υψηλότερες, ωστόσο από τον 1 μήνα και μετά μειώνονται σε ελάχιστες ποσότητες. Από τη στιγμή που η χημική ισορροπία της φρέσκιας μπίρας είναι ακόμα ασταθής είναι αναμενόμενο ότι με την πάροδο του χρόνου να λαμβάνει χώρα η υδρόλυση των εστέρων και με αργούς ρυθμούς σταθεροποιείται. Έτσι σε συγκεντρώσεις πάνω από τα όρια ανίχνευσης, με τον εξανοϊκό και τον οκτανοϊκό αιθυλεστέρα να έχουν όρια ανίχνευσης (0,23 mg/l και 0,5-0,9 mg/l) αντίστοιχα, προσδίδουν ευχάριστα αρώματα φρούτων όπως άγουρης μπανάνας, ξινόμηλου και αχλαδιού

(Meilgaard, 1975a; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014). Στους 20 °C στις ζυμώσεις με τους μη συμβατικούς ζυμομύκητες κυρίως της T.d 291 παρατηρείται αύξηση ως προς τους δύο αυτούς εστέρες με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυτές της καθαρής καλλιέργειας T.d. 291, ώσπου μετά τους 6 μήνες εμφιάλωσης μειώνονται. Ειδικό χαρακτηριστικό της *Torulaspota delbrueckii* φαίνεται να είναι η παραγωγή των εστέρων αυτών, ωστόσο μόνο στα δύο χρόνια ο οκτανοϊκός παράγεται σε συγκέντρωση ίση με το όριο ανίχνευσής του. Στον ένα χρόνο τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σημειώνει ο S.c. US-05 πάνω από τα όρια ανίχνευσης.

Εκτός από αυτές τις αρωματικές ενώσεις, μερικές ακόμα εντοπίστηκαν σε ίχνη. Το έξα-δεκανοϊκό οξύ σημείωσε παραγωγή σε ελάχιστες συγκεντρώσεις από τις ζυμώσεις της Prelude και από τη καθαρή καλλιέργεια της T.d. 291 σύμφωνα με τους πίνακες 2-6. Ο έξα-δεκανοϊκός αιθυλεστέρας παράχθηκε από τον συμβατικό ζυμομύκητα μετά το πέρας του 1 μήνα, ενώ από τα στελέχη της *T. delbrueckii* παρήχθησαν από την πρώτη εβδομάδα παλαίωσης. Ωστόσο και στα δύο στελέχη στα 2 χρόνια δεν εντοπίστηκε. Η μεθειονόλη ως θειούχα ένωση είναι πολύ σημαντική διότι έχει πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης (0,5 mg/l) (Swiegers et al., 2005), με αποτέλεσμα αν βρεθεί πάνω από το όριο αυτό συμβάλει σε αρώματα off-flavours στη μπίρα. Σημειώθηκαν σημαντικές παραγωγές στους 20 °C με αρχική αύξηση της μέχρι τους 6 μήνες, έπειτα μείωσή της στον 1 χρόνο και τέλος στα δύο χρόνια σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από το κατώφλι αντίληψής της. Συγκεκριμένα η καθαρή καλλιέργεια της T.d 291 έδωσε τα μεγαλύτερα αποτελέσματα τα οποία είναι πάνω από τα 0,5 mg/l. Τέλος η 2-φουρανμεθανόλη με αρώματα καραμέλας παράχθηκε και έμεινε σε σταθερή συγκέντρωση από τις ζυμώσεις της Prelude, ενώ από στις ζυμώσεις της T.d 291 και του S.c. US-05 δεν εντοπίστηκε μέχρι τον 1 μήνα. Μετά τους 6 μήνες ακολουθεί αυξανόμενη παραγωγή με τη μεγαλύτερη να σημειώνεται στους 20 °C. Πιο συγκεκριμένα η 2-φουρανμεθανόλη είναι κυρίως προϊόν της αντίδρασης Maillard, αλλά και η παραγωγή της εξαρτάται και σε ένα μικρό βαθμό από την υδρόλυση του 2-furfuryl acetate (Yaylayan & Keyhani., 2000).

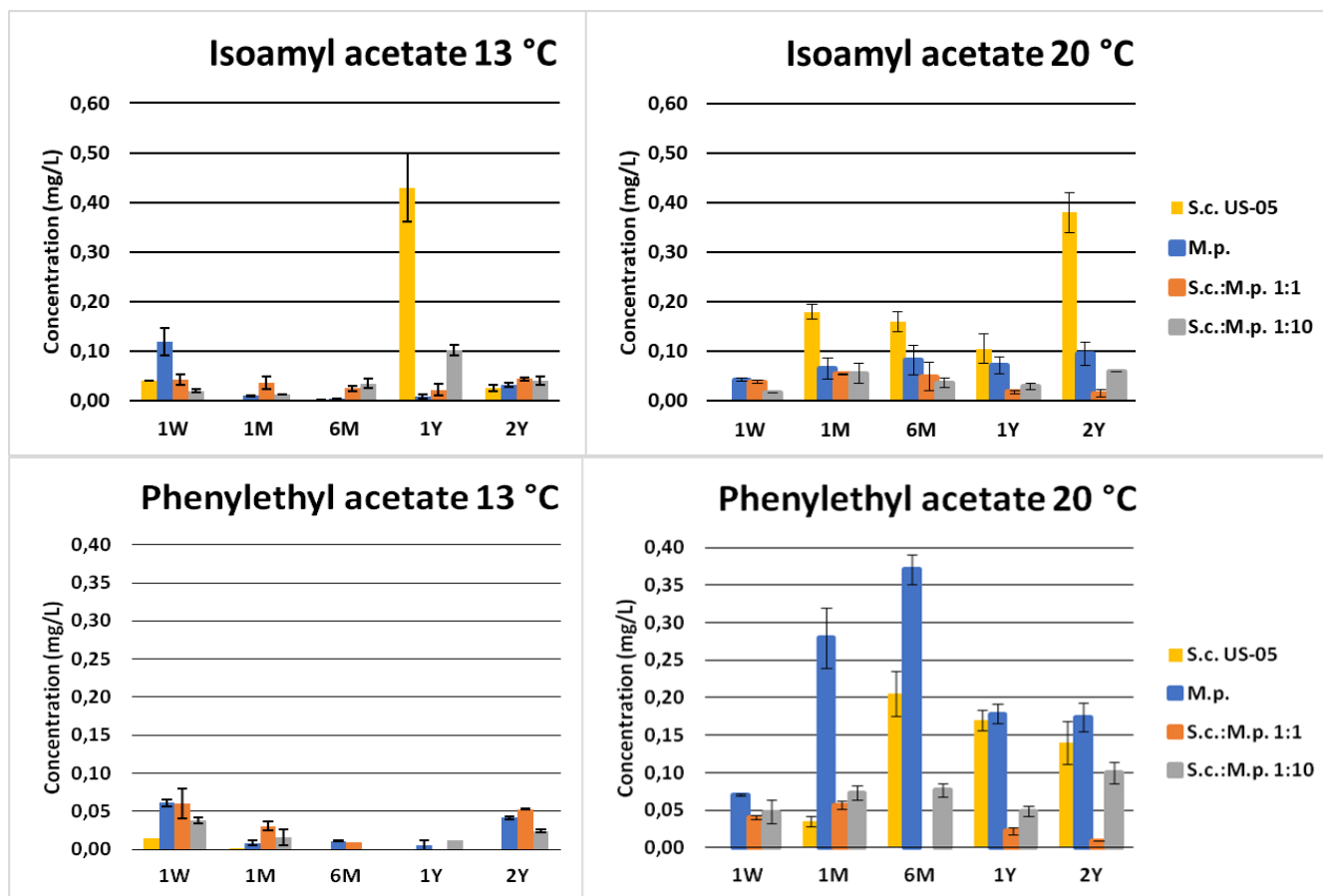
Z. Εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων των στελεχών της *Metschnikowia pulcherrima* στον χρόνο



Διάγραμμα 32: Συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.

Από το διάγραμμα 32, διακρίνεται έντονα η επίδραση της θερμοκρασίας ως προς την εξέλιξη των συγκεκριμένων ανώτερων αλκοολών, με τη συγκέντρωσή τους να αυξάνεται σημαντικά στους 20° C, ιδιαίτερα στις ζυμώσεις που πραγματοποιήθηκαν με καθαρό Sc και με καθαρή M.p., με το μέγιστο να

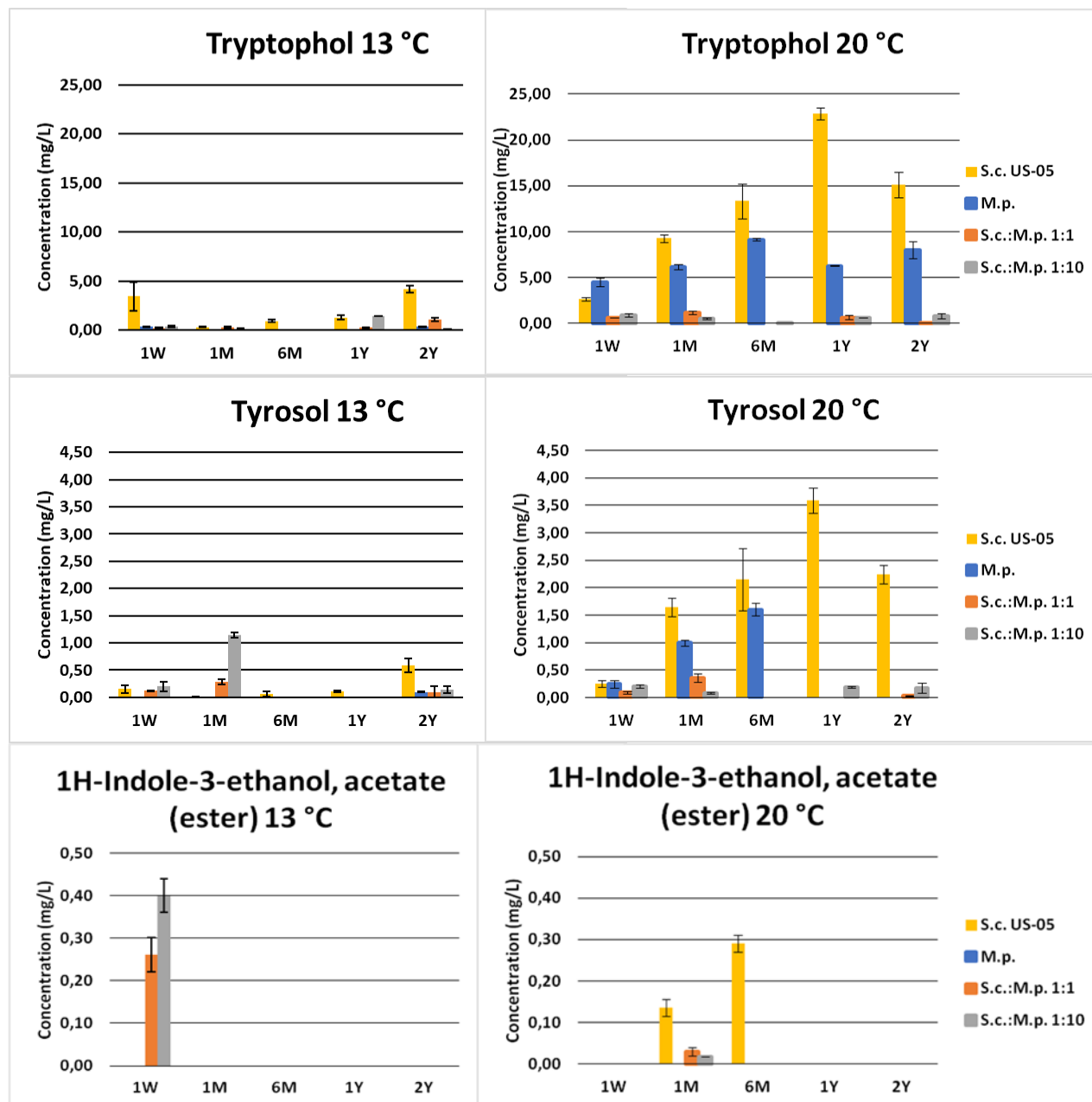
σημειώνεται συνήθως στον 1 χρόνο παλαίωσης και να ακολουθεί, στη συνέχεια, μια μείωση στα 2 χρόνια παλαίωσης. Η συγκεκριμένη ανύψωση των συγκεντρώσεων, λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας, ερμηνεύεται μέσω του γεγονότος ότι η σύνθεση των αρωματικών αλκοολών είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε μεταβολές της θερμοκρασίας, καθώς το είδος της ζύμης, οι συνθήκες της αλκοολικής ζύμωσης και η σύσταση του ζυθογλεύκου, επηρεάζουν σημαντικά τη σύνθεση και το επίπεδο συγκέντρωσης των ανώτερων αλκοολών και, ακόμη πιο συγκεκριμένα, συνθήκες οι οποίες προωθούν την ανάπτυξη των ζυμών όπως, τα υψηλά ποσοστά θρεπτικών συστατικών (αμινοξέα, οξυγόνο, λιπίδια), η αυξημένη θερμοκρασία και η ανάδευση, ωθούν την παραγωγή αυτών των αλκοολών (MacDonald et al., 1984; Engan 1969; Engan and Aubert, 1977; Landaud et al., 2001; Boswell et al., 2002). Αυτή, όμως, η συμπεριφορά δεν παρατηρήθηκε και στις ζυμώσεις των άλλων δυο μικτών καλλιέργειών (S.c.: M.p. 1:1 & S.c.: M.p. 1:10), καθώς φαίνεται πως η θερμοκρασία ζύμωσης δεν αποτέλεσε ιδιαίτερο παράγοντα αύξησης ή μείωσης της συγκέντρωσης των ανώτερων αλκοολών. Αντιθέτως, και στα τρία διαγράμματα ο χρόνος παλαίωσης φαίνεται πως διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των ανωτέρων αυτών αλκοολών σε αυτά τα δύο στελέχη ζύμης, καθώς σχεδόν σε όλες τις θερμοκρασίες ζύμωσης και τις ενώσεις που παράγονται, διακρίνεται μια συνεχόμενη αύξηση στις συγκεντρώσεις των ενώσεων μέχρι την χρονική περίοδο παλαίωσης των 6 μηνών και, μετά, παρατηρείται μείωση στον ένα χρόνο, συνοδευόμενη από μία μεγάλη, πάλι, αύξηση παραγωγής τους στα 2 χρόνια παλαίωσης. Αυτό μπορεί να ερμηνευθεί, καθώς έχοντας , ήδη, παράξει μια μεγάλη συγκέντρωση ολικών αλκοολών, οι δυο αυτές μικτές καλλιέργειες μείωσαν την παραγωγή τους σε ανώτερες αλκοόλες στον 1 χρόνο παλαίωσης λόγω της αυτόλυσης των ζυμών M.p., διότι έχει σημειωθεί ότι παρουσιάζει ευαισθησία στην αιθανόλη ως στέλεχος και συχνά προτιμάται για παραγωγή οίνων με χαμηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης (Hidalgo et al., 2014). Με την διαδικασία, όμως, της αυτόλυσης των ζυμών M.p. τα ελευθερωμένα πια αμινοξέα ενδέχεται να αξιοποιήθηκαν από τις ζύμες S.c. προς την παραγωγή επιπλέον συγκεντρώσεων ανωτέρων αλκοολών την χρονική περίοδο των 2 χρόνων παλαίωσης, κάτι που ερμηνεύει την αύξηση των συγκεντρώσεών τους. Επιπλέον, η μείωση της συγκέντρωσης των ανώτερων αυτών αλκοολών σε όλες τις ζυμώσεις είτε μετά τον ένα χρόνο είτε μετά τους έξι μήνες παλαίωσης ενδέχεται να οφείλεται και σε πιθανή οξειδωση αυτών σε αλδεΐδες, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω (Hashimoto, 1972). Τέλος, παρότι η M.p. έχει σημειωθεί ότι παράγει 2-φαινυλαιθανόλη σε μεγάλη ποσότητα, αυτό δεν παρατηρείται και στα διαγράμματα των συγκεντρώσεων, που παρήχθησαν από αυτές τις 4 διαφορετικές καλλιέργειες ζυμομυκήτων, καθώς μόνο η καλλιέργεια του Sc παρήγαγε αρκετή 2-φαινυλαιθανόλη ξεπερνώντας το κατώφλι αντίληψής της (40-45 mg/l) (Padilla et al., 2016; Morata et al., 2019; Ivit & Kemp, 2018; Escribano et al., 2019). Αυτό ενδέχεται να συμβαίνει και λόγω της πολύ χαμηλής ζυμωτικής ικανότητας της M.p. (Comitini et al., 2011; Combina et al., 2005).



Διάγραμμα 33: Συγκεντρώσεις οξικών οξέων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.

Από το διάγραμμα 33, παρατηρείται πως μεγαλύτερες ποσότητες οξικού ίσο-αμυλεστέρα δίνει το στέλεχος του *Sc* και συγκεκριμένα η ζύμωσή του στους 20 °C. Αυτό μπορεί να ερμηνευτεί από την σημαντική ποσότητα εστέρων που σχηματίζονται μέσω του μεταβολισμού αυτού του στελέχους ζυμομύκητα (υψηλή ζυμωτική ικανότητα), οι οποίοι και προσδίδουν το χαρακτηριστικό αρωματικό προφίλ των Ale μπυρών (ales, stouts, porters) (Callejo et al., 2017). Παρότι έχει βρεθεί πως σε χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης (10°C) εννοείται ο σχηματισμός του (Ντουρτόγλου, 2019), αυτό δεν ερμηνεύεται και στα διαγράμματα παραγωγής του, καθώς σχεδόν σε όλους τους χρόνους παλαίωσης παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους 20°C. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οξικού φαινυλαιθυλεστέρα φαίνεται πως δίνει το στέλεχος *M.p.* στους 20°C με σχηματισμό κορυφής στους 6 μήνες παλαίωσης, το οποίο συμβαδίζει με το γεγονός πως η *M.p.* παράγει αυξημένες ποσότητες οξικού φαινυλαιθυλεστέρα (Einfalt, 2021). Παρατηρείται, επιπλέον, στο διάγραμμα μια μεγάλη αύξηση συγκέντρωσής του στους 20°C σχεδόν από όλες τις καλλιέργειες και σχεδόν σε όλους τους χρόνους παλαίωσης, το οποίο προκύπτει από την ικανότητα του να παράγεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις, όταν οι θερμοκρασίες ζύμωσης είναι υψηλές (15-20°C) (Ντουρτόγλου, 2019). Η μείωση των συγκεντρώσεων τους όσο αυξάνει χρονικά η παλαίωση, που διακρίνεται στο διάγραμμα 33 (εκτός από τα 2 χρόνια παλαίωσης του οξικού ίσο-αμυλεστέρα) ευθύνεται στο γεγονός ότι οι οξικοί εστέρες και ειδικότερα ο οξικός ίσο-αμυλεστέρας (μπανάνα) και ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας (τριαντάφυλλο),

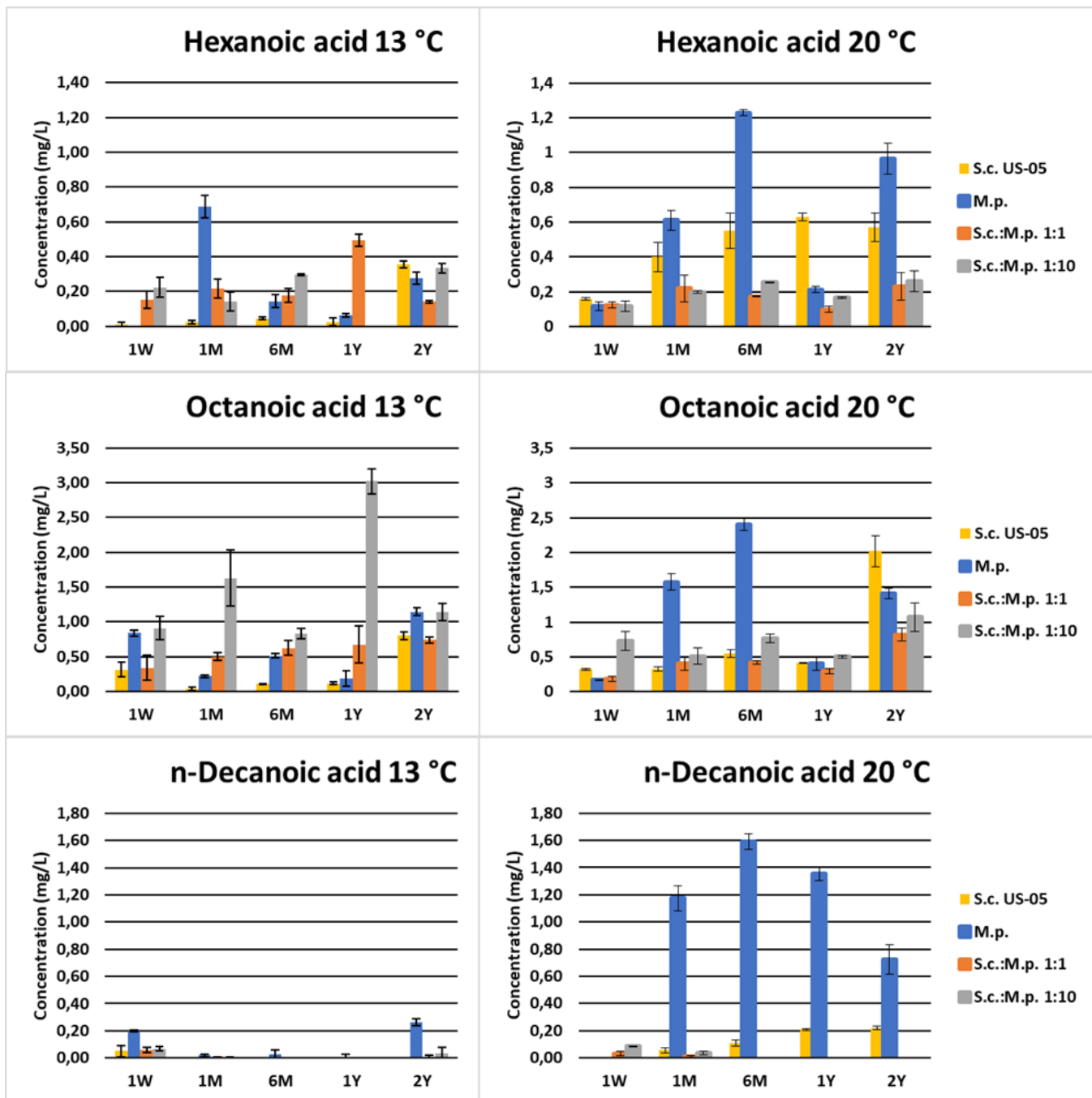
τείνουν να μειώνονται όσο η μπίρα παλαιώνει λόγω της υδρόλυσής τους προς στην αντίστοιχη ανώτερη αλκοόλη και οξικό οξύ, όπως και αναφέρθηκε παραπάνω. Τέλος, παρότι καμία ζύμωση δεν σημείωσε συγκεντρώσεις ανώτερες από το κατώφλι αντίληψης των οξικών εστέρων, με του ίσο-αμυλεστέρα να είναι 1,2-2 mg/l και του φαινυλαιθυλεστέρα 3,8 mg/l (Engan, 1972; Meilgaard, 1975a; Peddie, 1990; Mosciano, Gerard, 2001a), ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, έχουν συνεργατική επίδραση στα μεμονωμένα αρωματικά χαρακτηριστικά, καθιστώντας έτσι τους εστέρες, ικανές ενώσεις να επηρεάσουν το άρωμα και τη γεύση του ζύθου πολύ πιο κάτω από τα όρια ανίχνευσής τους. (Rodrigues et al., 2008a).



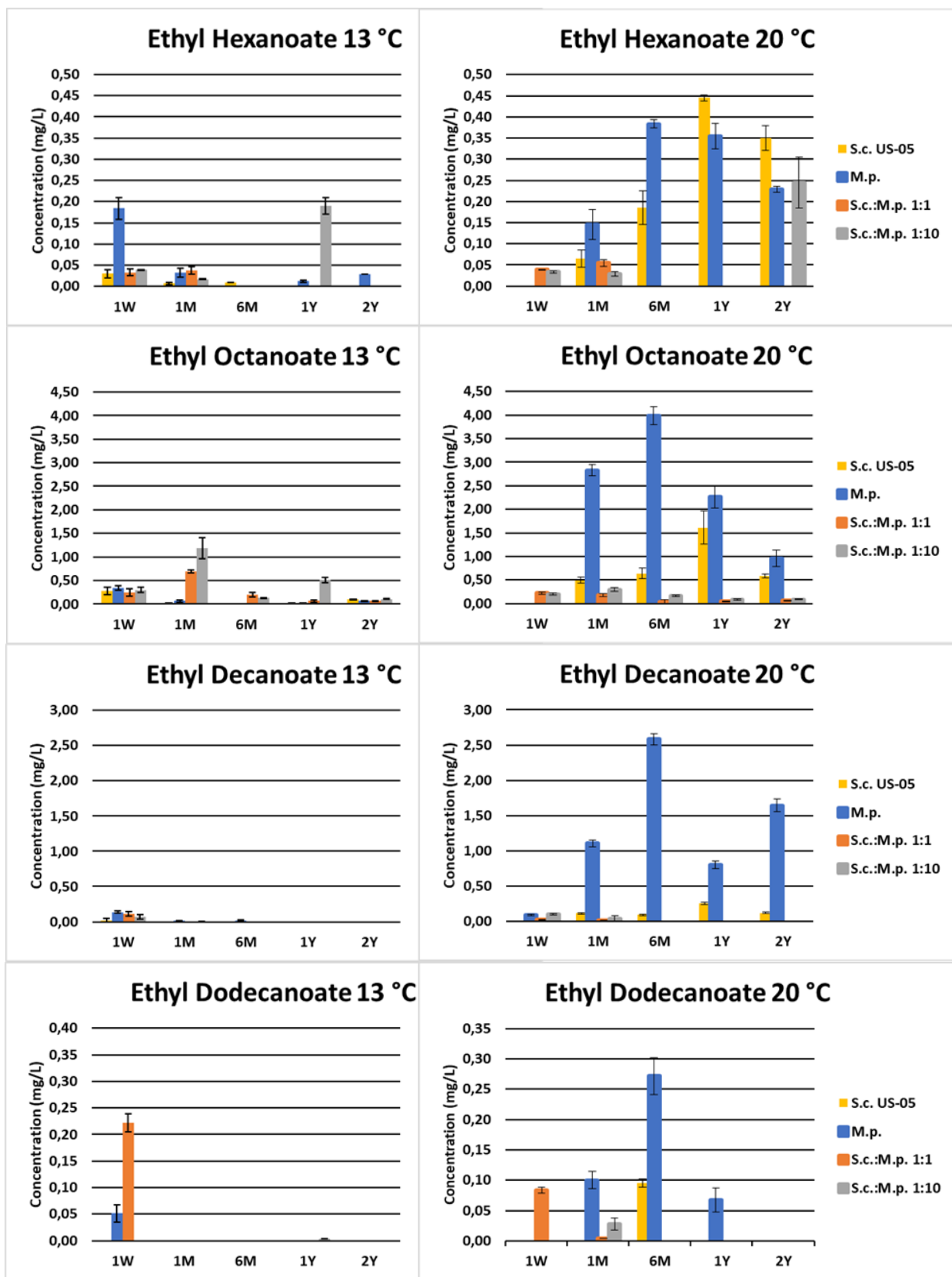
Διάγραμμα 34: Συγκεντρώσεις υπόλοιπων πτητικών ενώσεων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.

Και στα δυο διαγράμματα είναι φανερή η σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας στην μεταβολή των συγκεντρώσεων αυτών των δυο ανωτέρων αλκοολών. Στους 20 °C αυξήθηκε η συγκέντρωσή τους στις καλλιέργειες του συμβατικού ζυμομύκητα Sc και της καθαρής M.p., καθώς η αυξημένη θερμοκρασία ωθεί την παραγωγή των ανωτέρων αλκοολών (MacDonald et al., 1984; Engan 1969; Engan and Aubert, 1977; Landaud et al., 2001; Boswell et al., 2002). Επιπροσθέτως, μεγαλύτερες συγκεντρώσεις και στις δυο ανώτερες αλκοόλες παρουσιάζει ο Sc, πιθανώς λόγω της υψηλής του ζυμωτικής ικανότητας σε σχέση με το στέλεχος M.p. (Capece et al., 2018). Μεγαλύτερες, επίσης, συγκεντρώσεις και των δύο ανωτέρων αλκοολών παρουσιάζει και η μονοκαλλιέργεια της M.p. σε σχέση με τις μικτές της καλλιέργειες, κι αυτό γίνεται, διότι στη περίπτωση ζύμωσης με μονοκαλλιέργεια M.p. τα αποτελέσματα είναι αρνητικά, καθώς παράγονται υπερβολικές συγκεντρώσεις οξικού αιθυλεστέρα, ολικών εστέρων και ολικών ανωτέρων αλκοολών, με αρνητικές οργανοληπτικές επιπτώσεις (Ivit & Kemp, 2018). Επιπλέον, η μείωση της συγκέντρωσης των ανωτέρων αυτών αλκοολών στους 20°C σχεδόν σε όλες τις ζυμώσεις, έπειτα από κάποια χρονική στιγμή παλαίωσης, ενδέχεται να οφείλεται και σε πιθανή οξείδωση αυτών σε αλδεΐδες, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω (Hashimoto, 1972).

Μέσα από την παρατήρηση του διαγράμματος 35 προκύπτει το συμπέρασμα, πως στις καλλιέργειες του συμβατικού ζυμομύκητα και της καθαρής καλλιέργειας M.p. παράγονται μεγαλύτερες ποσότητες αυτών των λιπαρών οξέων, όταν η θερμοκρασία ζύμωσης είναι υψηλότερη, καθώς η υψηλή θερμοκρασία ζύμωσης είναι ένας από τους παράγοντες που οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή αυτών (Boulton and Quain, 2006). Αυτό, όμως, δεν επαληθεύεται στην περίπτωση των ζυμώσεων των δύο μικτών καλλιεργειών της M.p., καθώς σχεδόν σε όλους τους χρόνους παλαίωσης οι συγκεντρώσεις του εξανοϊκού οξέος και του οκτανοϊκού οξέος στους 13°C είναι μεγαλύτερες. Τέλος, οι συγκεντρώσεις και των τριών αυτών λιπαρών οξέων δεν ξεπερνούν ούτε σε μία περίπτωση τα όρια ανίχνευσής τους τα οποία είναι τα αντίστοιχα (8 mg/l, 13-19 mg/l και 10 mg/l) (Meilgaard, 1975b; Luebke & William, 1987; Meilgaard, 1975a; Luebke & William, 1988), γεγονός που είναι αρκετά ευχάριστο για το αρωματικό προφίλ του ζύθου, καθώς εάν βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις, συνεισφέρουν με off-flavours αρώματα (Meilgaard, 1975a; Clapperton, 1978; Montanari et al., 1999; Siebert, 1999).



Διάγραμμα 35: Συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.



Διάγραμμα 36: Συγκεντρώσεις MCFA εστέρων, στους 13 και 20 °C, στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima* και η εξέλιξή τους στον χρόνο.

Στο διάγραμμα 36, όπου παρατηρούνται οι συγκεντρώσεις των MCFA εστέρων, είναι φανερή η σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας στην εξέλιξη αυτών. Στους 20 °C αυξήθηκε η συγκέντρωσή τους στις καλλιέργειες του συμβατικού ζυμομύκητα και της καθαρής καλλιέργεια M.p., καθώς η αυξημένη θερμοκρασία (15-20 °C) ωθεί την παραγωγή του οκτανοϊκού αιθυλεστέρα και του δεκανοϊκού αιθυλεστέρα (Ντουρτόγλου, 2019). Παρόλα αυτά, πιθανό είναι να ευνοείται και ο σχηματισμός του εξανοϊκού και του δωδεκανοϊκού αιθυλεστέρα, καθώς κι εκείνοι έδειξαν μεγάλη αύξηση παραγωγής στους 20 °C και ιδιαίτερα σε αυτές τις δυο καλλιέργειες. Ωστόσο, οι δύο μικτές καλλιέργειες της M.p. με τον *S. cerevisiae* έδειξαν μέσω των διαγραμμάτων ότι δεν ευνοείται η παραγωγή τους με την αύξηση της θερμοκρασίας, αφού σε αρκετές χρονικές περιόδους παλαίωσης εμφανίζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους 13 °C. Επιπλέον, όσον αφορά τον σχηματισμό των MCFA εστέρων, η αιθανόλη παρέχει το άκρο με την υδροξυλομάδα και το όξινο άκρο προέρχεται από ένα λιπαρό οξύ μεσαίας αλυσίδας (Engan 1974; Meilgaard 1975b). Συνεπώς, όταν οι συγκεντρώσεις των MCFA είναι χαμηλές, ίσως ευθύνεται γι' αυτό ο σχηματισμός των αντίστοιχων MCFA εστέρων και, αντίστροφα, όπου παρατηρούνται μεγάλες συγκεντρώσεις MCFA, ενδέχεται να μην έχουν σχηματιστεί μεγάλες ποσότητες MCFA εστέρων. Τέλος, τα όρια ανίχνευσης αυτών των εστέρων, εκτός του δωδεκανοϊκού αιθυλεστέρα, ξεπερνιούνται κατά κύριο λόγο στις ζυμώσεις που επικρατούσε η θερμοκρασία των 20 °C και συνήθως από τις καλλιέργειες του *S. cerevisiae* και της καθαρής καλλιέργειας M.p. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η παρουσία διαφορετικών εστέρων μπορεί να έχει συνεργατική επίδραση στα μεμονωμένα αρωματικά χαρακτηριστικά, καθιστώντας έτσι τους εστέρες, ικανές ενώσεις να επηρεάσουν το άρωμα και τη γεύση του ζύθου κάτω από τα όρια ανίχνευσής τους (Rodrigues et al., 2008a). Τα όρια ανίχνευσης του εξανοϊκού, του οκτανοϊκού, του δεκανοϊκού και του δωδεκανοϊκού αιθυλεστέρα είναι αντίστοιχα 0.23 mg/l, 0.5-0.9 mg/l, 1.5 mg/l και 3.5 mg/l (Meilgaard, 1975a; Meilgaard, 1975b; Verstrepen et al., 2003; Pires et al., 2014).

Εκτός από αυτές τις αρωματικές ενώσεις, μερικές ακόμα εντοπίστηκαν σε ίχνη. Το έξα-δεκανοϊκό οξύ σημείωσε συνολικά τη μεγαλύτερη παραγωγή στους 20 °C στη καθαρή καλλιέργεια της M.p. και στη ζύμωση του συμβατικού ζυμομύκητα, παρόλα αυτά σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από το κατώφλι αντίληψής του. Παράλληλα, και ο έξα-δεκανοϊκός αιθυλεστέρας από τις ίδιες ζυμώσεις παράχθηκε σε ίχνη. Επίσης, η μεθειονόλη σημείωσε χαμηλές συγκεντρώσεις στις δύο μικτές ζυμώσεις της M.p. με καμία εξέλιξη στον χρόνο, ενώ η καθαρή καλλιέργεια παρουσίασε αύξηση της μέχρι τους 6 μήνες παλαίωσης και έπειτα από τον 1 χρόνο επήλθε η μείωσή της, ωστόσο κάτω από το όριο ανίχνευσής της. Τέλος, πλησιάζοντας το κατώφλι αντίληψης στους 20 °C, η 2-φουρανμεθανόλη παράχθηκε στη μεγαλύτερη συγκέντρωση από τη ζύμωση της M.p. σε σύγκριση με τις δύο μικτές ζυμώσεις της, οι οποίες είχαν χαμηλές συγκεντρώσεις.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη παρούσα εργασία, μελετήθηκε η εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων σε ζύθους American Pale Ale κατά τη διάρκεια παλαίωσης 2 ετών, οι οποίες παρήχθησαν από τους μη συμβατικούς ζυμομύκητες *Torulaspora delbrueckii* και *Metschnikowia pulcherrima* σε καθαρές και μικτές καλλιέργειες. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 8 διαφορετικές ζυμώσεις του ίδιου ζυθογλεύκου, οι οποίες διέφεραν ως προς τα στελέχη και την αναλογία των μικροοργανισμών και τη θερμοκρασία ζύμωσης. Τα δείγματα, που αναλύθηκαν, πάρθηκαν σε συγκεκριμένες χρονικές περιόδους, οι οποίες ήταν 1 εβδομάδα, 1 μήνας, 6 μήνες, 1 χρόνος και 2 χρόνια.

Οι δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ζύμωσης, 13°C και 20°C, επηρέασαν σε σημαντικό βαθμό την παραγωγή και την εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η αλκοολική ζύμωση που πραγματοποιήθηκε από κάθε στέλεχος non-*Saccharomyces* σε όλους τους χρόνους παλαίωσης σημείωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις στους 20°C. Ωστόσο, η μοναδική περίπτωση που παρατηρήθηκε το αντίθετο φαινόμενο ήταν η ζύμωση της Mix T.d 291 στους 13°C στη μία εβδομάδα παλαίωσης.

Συμπερασματικά, η συγκέντρωση των ανώτερων αλκοολών και, ειδικότερα, της φαινυλαιθανόλης παρουσίασε μεγαλύτερη εξέλιξη στις ζυμώσεις της T.d 291 και της μικτής της καλλιέργειας, ξεπερνώντας το όριο ανίχνευσής της (40-45 mg/l), ενισχύοντας το ευχάριστο άρωμα τριαντάφυλλου. Αναλυτικότερα, η μικτή καλλιέργεια της T.d 291 σημείωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών με την υψηλότερη τιμή να καταγράφεται στους 6 μήνες. Έπειτα, ακολούθησε μείωση των συγκεντρώσεων τους στον ένα χρόνο παλαίωσης, λόγω της οξειδωσης αυτών στις αντίστοιχες αλδεΐδες τους. Ωστόσο, στα 2 χρόνια, λόγω της αυτόλυσης των ζυμομυκήτων, αυξήθηκε η συγκέντρωση των ελεύθερων αμινοξέων, με αποτέλεσμα τη σύνθεση των ανώτερων αλκοολών και αύξηση των συγκεντρώσεων τους, με την φαινυλαιθανόλη να παραμένει πάνω από το όριο ανίχνευσής της ακόμα και μετά τα δύο χρόνια παλαίωσης. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός, πως στους 13 °C η Mix T.d. 291 στη μία εβδομάδα παλαίωσης σημείωσε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις όλων των αρωματικών ενώσεων σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ζυμώσεις εκείνης της θερμοκρασίας. Οι ενώσεις τρυπτοφόλη και τυροσόλη ακολούθησαν παρόμοια εξέλιξη στο χρόνο, με τη Mix T.d. 291 να παρουσιάζει τις υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με τις υπόλοιπες, παρουσιάζοντας μέγιστη συγκέντρωση στους 6 μήνες παλαίωσης ξεπερνώντας το όριο ανίχνευσής της (10 mg/l) και προσδίδοντας άρωμα αμυγδάλου. Αντίστοιχα με τη φαινυλαιθανόλη, έτσι και αυτές οι ενώσεις σημείωσαν, μείωση στον 1 χρόνο παλαίωσης και αύξηση στα 2 χρόνια, ιδιαίτερα στη ζύμωση T.d. 291. Χαμηλότερες συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών παρατηρήθηκαν στις ζυμώσεις της *Metschnikowia pulcherrima*, ακόμα και από τα όρια ανίχνευσής τους.

Συνολικά, παρατηρήθηκε μείωση των συγκεντρώσεων των οξικών εστέρων από τη μία εβδομάδα μέχρι τα δύο χρόνια, λόγω της υδρόλυσης των εστέρων στις αντίστοιχες ανώτερες αλκοόλες και οξικό οξύ. Πιο συγκεκριμένα, υψηλότερες συγκεντρώσεις του οξικού φαινυλαιθυλεστέρα καταγράφηκαν από τις ζυμώσεις Mix T.d. 291 και καθαρής καλλιέργειας M.p., ενώ του οξικού ίσο-αμυλεστέρα από τις ζυμώσεις τις Prelude και Mix Prelude. Η μία εβδομάδα παλαίωσης ήταν η χρονική περίοδος, όπου ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας και ο οξικός ίσο-αμυλεστέρας παρουσίαζαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις

στις ζυμώσεις Mix T.d. 291 και Mix Prelude αντίστοιχα. Παρότι, κανένας οξικός εστέρας δεν ξεπέρασε το κατώφλι αντίληψης του, συμβάλουν σε σημαντικό βαθμό στο αρωματικό προφίλ του παραγόμενου ζύθου, λειτουργώντας συνεργιστικά ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, συνεισφέροντας με αρώματα μπανάνας και τριαντάφυλλου.

Επιπρόσθετα, τα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας (MCFA) παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στη ζύμωση της καθαρής καλλιέργειας M.p., γεγονός που αιτιολογείται από την τάση των MCFA να παράγονται σε μεγαλύτερη ποσότητα, όπου επικρατούν ευνοϊκότερες συνθήκες ανάπτυξης των ζυμομυκήτων. Συνολικά, μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του εξανοϊκού, οκτανοϊκού και δεκανοϊκού οξέος σημειώθηκαν κατά τους 6 μήνες παλαίωσης. Στις ζυμώσεις της *Torulasporea delbrueckii* καταγράφηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις MCFA στη ζύμωση με Prelude έως τον ένα μήνα. Αντίθετα, μετά τον ένα μήνα παλαίωσης επέρχεται μείωση της συγκέντρωσής τους και στη χρονική περίοδο από 6 μήνες έως 2 χρόνια παρατηρείται η σταθεροποίηση της.

Στη περίπτωση των MCFA εστέρων υψηλότερη αύξηση συγκεντρώσεων στο χρόνο παρουσιάστηκε από τις ζυμώσεις των καθαρών καλλιέργειών M.p. και T.d 291 στους 6 μήνες παλαίωσης. Οι συγκεντρώσεις του εξανοϊκού και οκτανοϊκού αιθυλεστέρα ξεπέρασαν τα όρια ανίχνευσης (0,23 mg/l και 0,5,-0,9 mg/l, αντίστοιχα), προσδίδοντας αρώματα τροπικών φρούτων. Ωστόσο, μόνο στη ζύμωση της καθαρής καλλιέργειας M.p. η συγκέντρωση του δεκανοϊκού αιθυλεστέρα υπερέβη το κατώφλι αντίληψης (1,5 mg/l), προσφέροντας άρωμα φρούτων. Αυτό αιτιολογείται από την χαρακτηριστική ικανότητα της *Metschnikowia pulcherrima*, να παράγει σε υψηλές συγκεντρώσεις τον συγκεκριμένο αιθυλεστέρα.

Επίσης, είναι σημαντικό να αναφερθεί η εξέλιξη της 4-βινύλγουαιακόλης, που σημειώνεται από τις ζυμώσεις της καθαρής M.p, της T.d. 291 και της Mix T.d. 291, οι οποίες ξεπέρασαν σε συγκεντρώσεις το όριο ανίχνευσης (0,3 mg/l), συνεισφέροντας, έτσι, με το χαρακτηριστικό άρωμα του γαρούφαλλου. Η μέγιστη συγκέντρωσή της παρατηρείται στους 6 μήνες παλαίωσης στις ζυμώσεις της καθαρής M.p. και της Mix T.d 291. Παροδικά, μετά τους 6 μήνες μειώνεται η συγκέντρωσή της, επιβεβαιώνοντας την τάση της, να μειώνεται σε συγκέντρωση όσο αυξάνεται ο χρόνος παλαίωσης.

Εν κατακλείδι, η καλύτερη εξέλιξη των αρωματικών ενώσεων, παρατηρήθηκε στις ζυμώσεις των 20 °C και ιδιαίτερα στις ζυμώσεις Mix T.d 291, T.d. 291 και καθαρής καλλιέργειας M.p.. Ωστόσο, η επίδραση της θερμοκρασίας ήταν χαμηλότερη στις ζυμώσεις της Prelude και των μικτών της M.p.. Στη περίπτωση της Prelude σημαντική εξέλιξη αρωματικών ενώσεων καταγράφηκε έως τον 1 μήνα παλαίωσης, όπου έπειτα ακολούθησε η μείωση και σταθεροποίησή τους. Η χρονική περίοδος με τη μεγαλύτερη θετική μεταβολή των αρωματικών ενώσεων ήταν οι 6 μήνες παλαίωσης στους 20 °C στις ζυμώσεις Mix T.d 291 και καθαρής M.p..

Τέλος, για μια πιο ολοκληρωμένη μελέτη των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των προϊόντων ζύμωσης, ενδιαφέρουσα θα ήταν η συσχέτιση των προαναφερθέντων αποτελεσμάτων με την οργανοληπτική αξιολόγηση ενός εκπαιδευμένου πάνελ δοκιμαστών. Εξίσου σημαντική θα θεωρούταν η μελέτη της επίδρασης των παραγόντων, που εξετάστηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία, στο αρωματικό προφίλ του ζύθου από διαφορετικές non-*Saccharomyces* ζύμες.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ABU-AMSHA, R., CROFT, K. D., PUDDLEY, I. B., PROUDFOOT, J.M. AND BEILIN, L. J. Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation *in vitro*: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clinical Science*, 91, 449-458 (1996)

Amata, I. A., and Germain, P. (1990) The effect of pitching yeast aeration on the production of acetic acid during fermentation with brewers' yeast: An enzymatic approach, *J. Inst. Brew.* 96, 131–134.

Anderson, R. J., and Howard, G. A. (1974) The origin and occurrence of volatile sulphur compounds in British ales and lagers, *J. Inst. Brew.* 80, 357–370.

Asano T et al. 1999. Effect of NAD⁺-dependent isocitrate dehydrogenase gene (IDH1, IDH2) disruption of sake yeast on organic acid composition in sake mash. *J Biosci Bioeng* 88: 258–263.

Ayrapaa T. 1971. Biosynthetic formation of higher alcohols by yeast. Dependence on the nitrogenous nutrient level of the medium. *J Inst Brew* 77: 266–275.

Bai J, Huang J, Rozelle S, Boswell M (2012) Beer battles in China: the struggle over the world's largest beer market. In: *The economics of beer*. Oxford Scholarship Online, Chap. 15:267–286

Bamforth, C. W. (1999). Enzymic and non-enzymic oxidation in the brewhouse: A theoretical consideration. *Journal of the Institute of Brewing*, 105, 237–242.

Basso, R. F., Alcarde, A. R., Portugal, and Barbosa, C. (2016) Could non-Saccharomyces yeasts contribute on innovative brewing fermentations? *Food Res. Int.* 86, 112–120.

Beer Judge Certification Program Guideline 2021

Bernstein, L., & Laufer, L. (1977). Further studies on furfural: the influence of raw materials, processing conditions and pasteurization temperatures. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 35, 21–35.

Bevan C. Monohydric alcohols-C7 to C18, aromatic, and other alcohols. In: Bingham E, Cohrssen B, Powell CH, eds. *Patty's Toxicology*. 5th ed. New York: John Wiley & Sons; 2001:470-476.

Bokulich NA, Bamforth CW. The microbiology of malting and brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2013; 77:157-172.

Boswell CD et al. 2002. Studies on the effect of mechanical agitation on the performance of brewing fermentations: fermentation rate, yeast physiology, and development of flavor compounds. *J Am Soc Brew Chem* 60: 101–106.

Boulton C, Quain D. 2006. *Brewing Yeast and Fermentation*. Blackwell Science, Oxford.

Branyik, T., Vicente, A. A., Dostalek, P., and Teixeira, J. A. (2008) A review of flavour formation in continuous beer fermentations, *J. Inst. Brew.* 114, 3–13.

Branyik T, Silva DP, Baszczyński M, Lehnert R, Silva JBA. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. *Journal of Food Engineering*. 2012; 108:493-506.

Brewers-Association. National Beer Sales and Production Data. The New Brewer [Internet]. 2016. Available from: beer-sales-production-data [Accessed: 21 March, 2016]

Callejo, María Jesús, Carmen González, and Antonio Morata. “Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Bottle Fermentation of Aged Beers.” In *Brewing Technology*, edited by Makoto Kanauchi. InTech, 2017.

Canonico, L., Agarbati, A., Comitini, F. & Ciani, M., 2015. *Torulaspora delbrueckii* in the brewing process: A new approach to enhance bioflavour and to reduce ethanol content. *FOOD MICROBIOLOGY*, 21 12, pp. 45-51.

Canonico L, Agarbati A, Comitini F, Ciani M (2016) *Torulaspora delbrueckii* in the brewing process: a new approach to enhance bioflavour and to reduce ethanol content. *Food Microbiol* 56:45–51

Capece, Angela, Rossana Romaniello, Gabriella Siesto, and Patrizia Romano. “Conventional and Non-Conventional Yeasts in Beer Production.” *Fermentation* 4, no. 2 (June 1, 2018): 38.

Charalambous, G., Bruckner, K. J., Hardwick, W. A., & Weatherby, T. J., *Technical Quarterly Master Brewers Association of America*, 1972, 9, 131.

Chen EC-H. 1980. Utilisation of fatty acids by yeast during fermentation. *J Am Soc Brew Chem* 38: 148–153.

Ciani, M.; Comitini, F.; Mannazzu, I.; Domizio, P. Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-Saccharomyces yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Res.* 2010, 10 (2), 123-133.

Ciani M, Maccarelli F. Oenological properties of non-Saccharomyces yeasts associated with wine-making. *World Journal of Microbiology & Biotechnology.* 1998; 14:199-203

Clapperton, J. F. (1978) Fatty acids contributing to caprylic flavour in beer. The use of profile and threshold data in flavor research, *J. Inst. Brew.* 84, 107–112.

Coetzee, C. (2014) Oxidation treatments affecting Sauvignon blanc wine sensory and chemical composition, PhD thesis, Stellenbosch University, Stellenbosch. Available from:

Combina, M.; Elía, A.; Mercado, L.; Catania, C.; Ganga, A.; Martinez, C. Dynamics of indigenous yeasts populations during spontaneous fermentation of wines from Mendoza, Argentina. *Int. J. Food Microbiol.* 2005, 99, 237-243.

[CrossRef] [PubMed]

Comitini F, Gobbi M, Domizio P, Romani C, Lencioni L, Mannazzu I, Ciani M (2011) Selected non-Saccharomyces wine yeasts in controlled multistarted fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol* 28:873-882

Comrie A (1967) Brewing liquor—a review. *J Inst Brew* 73:335–346.

Coghe, S., Benoot, K., Delvaux, F., Vanderhaegen, B., and Delvaux, F. R. (2004) Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: Indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Agric. Food Chem.* 52, 602–608.

Coote N, Kirsop BH. 1974. The content of some organic acids in beer and in other fermented media. *J Inst Brew* 80: 474–483.

CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 854, 435-42 (1998)

Drosou, F.; Anastasakou, K.; Tataridis, P.; Dourtoglou, V.; Oreopoulou, V. Study of the Fermentation Kinetics and Secondary Metabolites of *Torulaspora delbrueckii* Yeasts from Different Substrates. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2021, 80, 99–108. DOI: 10.1080/03610470.2021.1915660.

Dufour JP (1994) Higher alcohols, acids and ester secretion during yeast growth. In: Proceedings of the 6th Jean De Clerck Chair. Academic, Leuven, pp 1–40

DUKE, J. A. *Handbook of biological active phytochemicals and their activities*. CRC Press, (1992)

Dvorak, J., Dostalek, P., Sterba, K., Cejka, P., Kellner, V., Culik, J., and Beinrohr, E. (2006) Determination of total sulphur dioxide in beer samples by flow-through chronopotentiometry, *J. Inst. Brew.* 112, 308–313

Einfalt, D. Barley-sorghum craft beer production with *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Metschnikowia pulcherrima* yeast strains. *Eur Food Res Technol* **247**, 385–393 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03632-7>

Engan S. 1969. Wort composition and beer flavour. I. The influence of some amino acids on the formation of higher aliphatic alcohols and esters. *J Inst Brew* 76: 254–261.

Engan S. 1972. Organoleptic threshold values of some alcohols and esters in beer. *J Inst Brew* 78: 33–36.

Engan S (1974) Esters in beer. *J Inst Brew Dig* 49:40–48

Engan S, Aubert O. 1977. Relations between fermentation temperature and the formation of some flavour components. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, Amsterdam, pp. 591–607.

Escribano, R., L. González-Arenzana, J. Portu, P. Garijo, I. López-Alfaro, R. López, P. Santamaría, and A.R. Gutiérrez. “Wine Aromatic Compound Production and Fermentative Behaviour within Different Non-Saccharomyces Species and Clones.” *Journal of Applied Microbiology* 124, no. 6 (June 2018): 1521-31.

Evans, D. & Sheehan, M., 2002. Don't be fobbed off, the substance of beer foam, a review (invited). *Journal American Society of Brewing Chemists*, 60 , pp. 45-57.

FANTOZZI, P., MONTANARI, L., MANCINI, F., GASBARRINI, A., ADDOLORATO, G., SIMONCINI, M., NARDINI, M., GHISELLI, A. AND SCACCINI, C. *In vitro* antioxidant capacity from wort to beer. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 31, 221-227 (1998)

Garcia, A. I., Garcia, L. A., and Diaz, M. (1994) Modelling of diacetyl production during beer fermentation, *J. Inst. Brew.* 100, 179–183.

GASBARRINI, A., ADDOLORATO, G., SIMONCINI, M., GASBARRINI, G., FANTOZZI, P., MANCINI, F., MONTANARI, L., NARDINI, M., GHISELLI, A. AND SCACCINI, C. Beer effects oxidative stress due to ethanol in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 43, 1332}1338 (1998)

GROMUS, J. AND LUSTIG, S. Influence of polyphenols and reducing substances on beer quality and their fate during beer production. *Bulletin of the European Brewery Convention, Brewing Science Group*, pp. 192-217 (1998)

Guido, L. F., Rodrigues, P. G., Rodrigues, J. A., Goncalves, C. R., and Barros, A. A. (2004) The impact of the physiological condition of the pitching yeast on beer flavour stability: An industrial approach, *Food Chem.* 87, 187–193.

Hazelwood, L. A., Daran, J.M., van Maris, A. J. A., Pronk, J. T., and Dickinson, J. R. (2008) The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: A century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74:2259–2266.

Hegarty PK et al. 1995. Phenyl ethanol—a factor determining lager character. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, pp. 515–522.

He, Y., Dong, J., Yin, H., Zhao, Y., Chen, R., Wan, X., Chen, P., Hou, X., Liu, J., and Chen, L., Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer—A review, *J. Inst. Brew.*, 120:157–163, 2014.

Hernandez-Lopez M, Prieto J, Randez-Gil F. Osmotolerance and leavening ability in sweet and frozen sweet dough. Comparative analysis between *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast strains. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2003; 84:125-134.

Hidalgo, C. C. και συν., 2014. Evaluation of Non-Saccharomyces yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Applied Environmental Microbiology* 80(5), March, pp. 1670-1678.

Hiralal L, Olaniran AO, Pillay B (2013) Aroma-active ester profile of ale beer produced under different fermentation and nutritional conditions. *J Biosci Bioeng* 117:57–64

Holt, S.; Miks, M.; Carvalho, B.; Moreno, M.; Thevelein, J. The molecular biology of fruity and floral aromas in beer and other alcoholic beverages. *FEMS Microbiol. Rev.* 2019, 43, 193–222. [CrossRef] [PubMed]

Hornsey I (2004) A history of beer and brewing, vol 1. Royal Society of Chemistry, Cambridge.

HOUGH, J. S., BRIGGS, D. E., STEVENS, J. S. AND YOUNG, T. W. Chemical and physical properties of beer. In: HOUGH, J. S., BRIGGS, D. E., STEVENS, J. S. AND YOUNG, T. W. (Eds) *Malting and Brewing Science*. London: Chapman & Hall pp.821-828 (1981).

Hutzler, M., and Jacob, F. (2015) Hefe im Wandel der Zeit, *Brauindustrie* 100 Jahre Brauindustrie (special edition), 76–80.

Hutzler, M., Stretz, D., Meier-Dornberg, T., Michel, M., and Schneiderbanger, H. (2015) Grobes Aromapotenzial – Die vielfältige Aromenwelt der Hefen, *Brauindustrie* 4, 28–31.

Ilett, D. R. (1995) Aspects of the analysis, role, and fate of sulphur dioxide in beer – A review, *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 32, 213–221.

Ivit, Nedret, and Belinda Kemp. “The Impact of Non-Saccharomyces Yeast on Traditional Method Sparkling Wine.” *Fermentation* 4, no. 3 (September 1, 2018): 73..

Jespersen, L., and Jakobsen, M. (1996) Specific spoilage organisms in breweries and laboratory media for their detection, *Int. J. Food Microbiol.* 33, 139–155.

Jolly, N. P., Augustyn, O. & Pretorius, I. S., 2006. *The Role and Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Wine Production*.

Jolly, N. P.; Varela, C.; Pretorius, I. S. Not your ordinary yeast: non- Saccharomyces yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res.* 2014, 14 (2), 215-237.

King, Andrew, and J Richard Dickinson. “Biotransformation of Monoterpene Alcohols By Saccharomyces Cerevisiae, Torulaspora Delbrueckii and Kluyveromyces Lactis,” 2000, 8.

Kleinbeck, S., Schaper, M., Juran, S. A., Kiesswetter, E., Blaszkewicz, M., Golka, K., Zimmermann, A., Bruning, T., and van Thriel, C. (2011) Odor thresholds and breathing changes of human volunteers as consequences of sulphur dioxide exposure considering individual factors, *H. Safe Health Work* 2, 355–364.

Klopper WJ et al. 1986. Organic acids and glycerol in beer. *J Inst Brew* 92: 311–318.

Kobayashi, M., Nagahisa, K., Shimizu, H., and Shioya, S. (2006) Simultaneous control of apparent extract and volatile compounds concentrations in low-malt beer fermentation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73, 549–558.

Kobayashi, N., Sato, M., and Fukuhara, S. (2007) Application of shotgun DNA microarray technology to gene expression analysis in lager yeast, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 65, 92–98.

Kobayashi, M., Shimizu, H., and Suteaki, S. (2008) Beer volatile compounds and their application to low-malt beer fermentation, *J. Biosci. Bioeng.* 106, 317–323.

Kodama Y et al. 2001. Control of higher alcohol production by manipulation of the *BAP2* gene in brewing yeast. *J Am Soc Brew Chem* 59: 57–62.

Krogerus, K., and Gibson, B. R. (2013) 125th Anniversary Review: Diacetyl and its control during brewery fermentation, *J. Inst. Brew.* 119, 86–97.

Landaud S et al. 2001. Top pressure and temperature control of the fusel alcohol/ester ratio through yeast growth in beer fermentation. *J Inst Brew* 10: 107–117.

Lentz, M., Putzke, T., Hessler, R., and Luman, E. (2014) Genetic and physiological characterization of yeast isolated from ripe fruit and analysis of fermentation and brewing potential, *J. Inst. Brew.* 120, 559–564.

Lewis, M. J. & Bamforth, C. W., 2006. *ESSAYS IN BREWING SIENCE*. 1 επιμ. Davis, California, USA: Springer.

Li, H., and Liu, F. (2015) The chemistry of sour taste and the strategy to reduce the sour taste of beer, *Food Chem.* 185, 200–204.

Li, M.; Yang, Z.; Hao, J.; Shan, L.; Dong, J. Determination of Tyrosol, 2-Phenethyl Alcohol, and Tryptophol in Beer by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2008, 66, 245–249. DOI: 10.1094/ASBCJ-2008-0914-01.

Lodolo, E. J., Kock, J. L. F., Axcell, B. C., and Brooks, M. (2008) The yeast *Saccharomyces cerevisiae* the main character in beer brewing, *FEMS Yeast Res.* 8, 1018–1036.

Luebke, William tgsc, (1981)

Luebke, William tgsc, (1986)

Luebke, William tgsc, (1987)

Luebke, William tgsc, (1988)

Luebke, William tgsc, (1990)

Luebke, William tgsc, (1997)

Luebke, William tgsc, (2009)

Luebke, William tgsc, (2021)

- MacDonald J et al. 1984. Current approaches to brewery fermentations. *Prog Ind Microbiol* 19: 47–198.
- Oshita, K., Kubota, M., Uchida, M., and Ono, M. (1995) Clarification of the relationship between fusel alcohol formation and amino acid assimilation by brewing yeast using ¹³C-labeled amino acid, in *Proceedings of the European Brewers Convention Congress*, pp. 387–394, IRL Press, Oxford.
- McGinty D, Scognamiglio J, Letizia CS, Api AM. Fragrance material review on 2-ethyl-1-hexanol. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(Suppl 4) :S 115-129.
- Masschelein CA. 1981. Role of fatty acids in beer flavour. EBC Flavour Symposium, Copenhagen, Denmark. EBC Monograph VII, pp. 211–221, 237–238.
- Meilgaard, M. (1972) Stale flavor carbonyls in brewing, *Brew. Dig.* 47,48–57.
- Meilgaard, M. C. (1975a) Flavor chemistry of beer: Part 1: Flavor and thresholds of 239 aroma volatiles, *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 12, 107–117.
- Meilgaard MC (1975b) Flavour chemistry of beer. Part II: flavor and threshold of 239 aroma volatiles. MBAA. Technol Q 12:151–168
- Meilgaard MC. 1975c. Flavour chemistry of beer. Part 2: flavour and threshold of 239 aroma volatiles. Tech Quart Master Brew Assoc Am 12: 151–173.
- Meilgaard MC (1991) The flavor of beer. MBAA Technol Q 28:132–141
- M.C. Meilgaard and T.L. Peppard, The Stroh Brewery Co., Detroit, MI (U.S.A), The flavour of beer, 1975, Chapter IV.
- Michel M, Kopecka J, Meier-Doernberg T, Zarnkow M, Jacob F, Hutzler M (2016a) Screening for new brewing yeasts in the non-*Saccharomyces* sector with *Torulaspora delbrueckii* as model. *Yeast* 33:129–144
- Michel M, Meier-Dornberg T, Fritz J, Methner F-J, Wagner RS, Hutzler M. Review: Pure non-*Saccharomyces* starter cultures for beer fermentation with a focus on secondary metabolites and practical applications. *Journal of the Institute of Brewing.* 2016b; 122:569-587.
- MOLL, M. Colloidal stability of beer. In: POLLOCK, J. R. A. (Ed.) *Brewing Science* Vol. 3 New York: Academic Press, pp. 46-47 (1987)

Montanari L, Marconi O, Mayer H, Fantozzi P. Production of alcohol-free beer. In: Preedy VR, editor. Beer in Health and Disease Prevention. Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2009; pp. 61-75

Montanari, L., Perretti, G., Natella, F., Guidi, A., and Fantozzi, P. (1999) Organic and Phenolic Acids in Beer, *LWT - Food Sci Technol.* 32, 535–539.

Morata, Antonio, Iris Loira, Carlos Escott, Juan Manuel del Fresno, María Antonia Bañuelos, and José Antonio Suárez-Lepe. “Applications of *Metschnikowia Pulcherrima* in Wine Biotechnology.” *Fermentation* 5, no. 3 (July 9, 2019): 63.

Morata A, Suarez-Lepe JA. New biotechnologies for wine fermentation and ageing. In: Ravishankar Rai V, editor. *Advances in Food Biotechnology*. 1st ed. West Sussex, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2016. pp. 287-301

Mosciano, Gerard P&F 15, No. 2, 69, (1990)a

Mosciano, Gerard P&F 15, No. 3, 51, (1990)b

Mosciano, Gerard P&F 15, No. 6, 35, (1990)c

Mosciano, Gerard P&F 16, No. 6, 43, (1991)

Mosciano, Gerard P&F 18, No. 2, 38, (1993)a

Mosciano, Gerard P&F 18, No. 4, 51, (1993)b

Mosciano, Gerard P&F 19, No. 5, 79, (1994)

Mosciano, Gerard P&F 20, No. 1, 31, (1995)a

Mosciano, Gerard P&F 20, No. 4, 23, (1995)b

Mosciano, Gerard P&F 22, No. 2, 69, (1997)a

Mosciano, Gerard P&F 22, No. 4, 75, (1997)b

Mosciano, Gerard P&F 22, No. 6, 41, (1997)c

Mosciano, Gerard P&F 26, No. 1, 52, (2001)a

Mosciano, Gerard P&F 26, No. 3, 80, (2001)b

Moyad, 2008. Brewer's/baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and preventive medicine: Part II.. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 28 February, pp. 73-75

Nakatani K et al. 1984. Kinetic studies of vicinal diketones in brewing. 2. Theoretical aspects for the formation of total vicinal diketones. *Tech Quart Master Brew Assoc Am* 21: 175–183.

NARDINI, M., PISU, P., GENTILI, V., NATELLA, F., DIFELICE, M., PICCOLELLA, E. AND SCACCINI, C. Effect of caffeic acid on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in U937. *Free Radical Biology and Medicine*, 25, 1098-1105 (1998).

Nelson M (2003) The cultural construction of beer among Greeks and Romans. *Syllecta Classica* 14:101–120.

Nykanen L, Nykanen I (1977) Production of esters by different yeast strains in sugar fermentations. *J Inst Brew* 83:30–31

Nykanen I, Suomalainen H (1983) Formation of aroma compounds by yeast. In: Nyaken I, Suomalainen H (eds) *Aroma of beer, wine and distilled beverages*. Reidel, Dordrecht, pp 3–16

Nykiinen L, Nykiinen I, Suomalainen H (1977) Distribution of esters produced during sugar fermentation between the yeast cell and the medium. *J Inst Brew* 83:32–34

Oka, K., Hayashi, T., Matsumoto, N., and Yanase, H. (2008) Decrease in hydrogen sulfide content during the final stage of beer fermentation due to involvement of yeast and not carbon dioxide gas purging, *J. Biosci. Bioeng.* 106, 253–257.

Olaniran, Ademola O., Lettisha Hiralal, Mduduzi P. Mokoena, and Balakrishna Pillay. “Flavour-Active Volatile Compounds in Beer: Production, Regulation and Control.” *Journal of the Institute of Brewing* 123, no. 1 (January 2017): 13-23.
<https://doi.org/10.1002/jib.389>.

O'Neil, M.J. (ed.). *The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2013., p. 953

Padilla, B., Gil, J. . V. & Manzanares , P., 2016. Past and Future of Non-Saccharomyces Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tool for Improving Wine Aroma Complexity. *Frontiers in Microbiology* 7, 31 May, p. 411

Palamand, S. R., and Aldenhoff, J.M. (1973) Bitter tasting compounds of beer: Chemistry and taste properties of some hop resin compounds, *J. Agric. Food Chem.* 21, 535–543.

Peddie HAB (1990) Ester formation in brewery fermentations. *J Inst Brew Dig* 96:327–331

Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., and Bevilacqua, A. (2015) Brewers's yeast in controlled and uncontrolled fermentation, with a focus on novel, non-conventional and superior strains, *Food Rev. Int.* 32, 341–363.

Poreda A, Czarnik A, Zdaniewicz M, Jakubowski M, Antkiewicz P (2014) Corn grist adjunct-application and influence on the brewing process and beer quality. *J Inst Brew* 120:77–81.

Pires EJ, Teixeira JA, Brányik T, Vicente AA. Yeast: The soul of beer's aroma—A review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2014; 98:1937-1949.

Quiros, M.; Martinez-Moreno, R.; Albiol, J.; Morales, P.; Vazquez-Lima, F.; Barreiro-Vazquez, A.; Ferrer, P.; Gonzalez, R. Metabolic Flux Analysis during the Exponential Growth Phase of *Saccharomyces cerevisiae* in Wine Fermentations. *PLoS One.* 2013, 8, e71909. DOI: 10.1371/journal.pone.0071909.

Rabin D, Forget C (1998) The dictionary of beer and brewing, 2nd edn. Fitzroy Dearborn Publishers, Chicago.

RADTKE, J., LINSEISEN, J. ANDWOLFRAM, G. Phenolic acid intake of adults in a Bavarian subgroup of the national food consumption survey. *Zeitschrift fur Ernährungswissenschaft*, 37, 190-197 (1998)

Rainieri Sandra, Yukiko Kodama¹, Yoshinobu Kaneko, Kozaburo Mikata, Yoshihiro Nakao¹ and Toshihiko Ashikar. Pure and Mixed Genetic Lines of *Saccharomyces bayanus* and *Saccharomyces pastorianus* and Their Contribution to the Lager Brewing Strain Genome⁺. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, June 2006, p. 3968-3974.

Ramírez, M.; Velázquez, R. The Yeast *Torulasporea delbrueckii*: An Interesting But Difficult-To-Use Tool for Winemaking. *Fermentation* 2018, 4, 94.

Renault, P.; Coulon, J., de Revel, G., Barbe, J. C.; Bely, M. Increase of Fruity Aroma during Mixed T. delbrueckii/S. cerevisiae Wine Fermentation is Linked to Specific Esters Enhancement. *Int. J. Food Microbiol.* 2015, 207, 40–48. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.0.

Rodrigues, F., Caldeira, M., and Camara, J. S. (2008a) Development of a dynamic headspace solid-phase microextraction procedure coupled to GC–qMSD for evaluation the chemical profile in alcoholic beverages, *Anal. Chim. Acta* 609, 82–104.

Rodrigues, J. E. A., Erny, G. L., Barros, A. S., Esteves, V. I., Brandao, T., Ferreira, A. A., Cabrita, E., and Gil, A. M. (2010b) Quantification of organic acids in beer by nuclear magnetic resonance (NMR)-based methods, *Anal. Chim. Acta* 674, 166–175.

Roscullet, G., *Brewers Digest*, 1971, 46, 68

Ryan, E. D., and Kohlhaw, G. B. (1974) Subcellular localization of isoleucine-valine biosynthetic enzymes in yeast, *J. Bacteriol.* 120, 631–637.

Tataridis, P., Kanelis, A., Logotetis, S., and Nerancis, E. (2013) Use of non-Saccharomyces *Torulaspora delbrueckii* yeast strains in winemaking and brewing, *Zb. Mat. Srp. Prir. Nauk.* 124, 415–426.

Thompson, W., Shovers, J., Sandine, W. E., and Elliker, P. R. (1970) Enzymatic removal of diacetyl from beer, *Appl. Microbiol.* 19, 883–889.

Thurston, P. (1986) The phenolic off-flavor test—A method for confirming the presence of wild yeasts, *J. Inst. Brew.* 92, 9–10.

Thurston, P. A., and Tubb, R. S. (1981) Screening yeast strains for their ability to produce phenolic off-flavours, *J. Inst. Brew.* 87, 177–179.

Saerens SM, Delvaux F, Verstrepen KJ, Van Dijck P, Thevelein JM, Delvaux FR (2008) Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. *Appl Environ Microbiol* 74:454–461

Santamauro F., Whiffin F.M., Scott R.J., Chuck C.J., 2014. Low-cost lipid production by an oleaginous yeast cultured in non-sterile conditions using model waste resources. *Biotechnology for Biofuels.* 7.34-35

Scheuren, H., Baldus, M., Methner, F.J., and Dillenburger, M., Evaporation behaviour of DMS in an aqueous solution at infinite dilution—A review, *J. Inst. Brew.*, 122:181–190, 2016.

Scholtes, C., Nizet, S., and Collin, S. (2014) Guaiacol and 4-methylphenol as specific markers of torrefied malts. Fate of volatilephenols in special beers through aging, *J. Agric. Food Chem.* 62, 9522–9528.

Siebert, K. J. (1999) Modeling the flavor thresholds of organic acids in beer as a function of their molecular properties, *Food Qual. Prefer.* 10,129–137.

Smogrovicova, D., and Domeny, Z. (1999) Beer volatile by-product formation at different fermentation temperature using immobilized yeasts, *Process Biochem.* 34, 785–794.

Snyder, R. (ed.). Ethel Browning's Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents. Second Edition. Volume 3 Alcohols and Esters. New York, NY: Elsevier, 1992., p. 46

Steensels, J., and Verstrepen, K. J. (2014) Taming wild yeast: Potential of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations, *Annu. Rev. Microbiol.* 68, 61–80.

Steiner, E., Becker, T. & Gastl, M., 2010. Turbidity and Haze Formation in Beer – Insights and Overview. *J. Inst. Brew.* 116(4), pp. 360-368.

Stewart, G. G., Anstruther, A., & Russell, I. (2017). *Handbook of Brewing, Third Edition*. Milton: CRC Press.

Stratford M (1989) Yeast flocculation: calcium specificity. *Yeast* 5:487–496.

Suomalainen H (1981) Yeast esterases and aroma esters in alcoholic beverages. *J Inst Brew* 87:296–300

Swiegers, Jan & Bartowsky, Eveline & Henschke, P.A. & Pretorius, Isak. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* 11. 139-173.

Varela, C., 2016. The impact of non-Saccharomyces yeasts in the production.. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg Appl Microbiol Biotechnol*,100 (23), 27 October, pp. 9861-74.

Vanbeneden N et al. 2007. Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids: occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad1-activity among brewing yeasts. *Food Chem* 107: 221–230.

Vanbeneden, N., van Roey, T., Willems, F., Delvaux, F., and Delvaux, F. R. (2008) Release of phenolic flavour precursors during wort production: Influence of process parameters and grist composition on ferulic acid release during brewing, *Food Chem.* 111, 83–91

Vanderhaegen B, Neven H, Verachttert H, Derdelinckx G. The chemistry of beer aging—A critical review. *Food Chemistry.* 2006; 95:357-381.. foodchem.2005.01.006

Vanderhaegen, B.; Necen, H.; Verachttert, H.; Derdelinckx, G. The chemistry of beer aging—a critical review. *Food Chem.* 2007, 95, 357–381. [CrossRef]

Verbelen PJ, Dekoninck TM, Saerens SM, Van Mulders SE, Thevelein JM, Delvaux FR (2009) Impact of pitching rate on yeast fermentation performance and beer flavour. *Appl Microbiol Biotechnol* 82:155–167

Verschueren, K. *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. Volumes 1-2. 4th ed. John Wiley & Sons. New York, NY. 2001, p. V2: 1272

Verstrepen KJ, Derdelinckx G, Dufour JP, Winderickx J, Thevelein JM, Pretorius IS, Delvaux FR. Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2003; 96:110-118.

Wainwright T. 1973. Diacetyl—a review. *J Inst Brew* 79: 451–470.

Willaert, R. *Biochemistry of Beer Fermentation*. In *Food Biochemistry and Food Processing*, 2nd ed.; Simpson, B. K., Ed.; Wiley, UK, 2012; pp 627–653. DOI: 10.1002/9781118308035.ch33.

Wunderlich S, Back W (2009) Overview of manufacturing beer: ingredients, processes, and quality criteria. In: Preedy VR (ed) *Beer in health and disease prevention*. Elsevier, London, pp 3–16.

Yang, G. S., & Schwarz, P. B. (1995). Activity of lipoxygenase isoenzymes during malting and mashing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, 45–49.

YYaylayan, V. A.; Keyhani, A. Origin of carbohydrate degradation products in L-alanine/D-[13C] glucose model systems. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 2415-2419.

Yeo HQ, Liu SQ. An overview of selected specialty beers: Developments, challenges and prospects. *International Journal of Food Science & Technology*. 2014;49:1607-1618. <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.12488>

Zhuang, S. (2014) The relationship between high gravity brewing, key performance indicators and yeast osmotic stress response, PhD thesis, University of Nottingham, Nottingham. Available from:

Αικατερίνη Καμπούλου Dr.rer.nat. Μικροβιολογία οίνων (1991). Τ.Ε.Ι Αθήνας, ΣΤΕΤΡΟΔ, Τμήμα Οινολογίας. Σημειώσεις.

Αναστασάκου – Παρασκευοπούλου Αικατερίνη, Διπλωματική εργασία: Μελέτη παραγωγής μπίρας με χρήση ζυμών non-*Saccharomyces*, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Αθήνα 2018

Δρ. Ε. Ντουρτόγλου, Αρωματικές Ενώσεις Οίνων, Σημειώσεις (2019). Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών.

Δρ. Ταταρίδης Παναγιώτης, Επίκουρος Καθηγητής, Τεχνολογία Βυνοποίησης, Σημειώσεις Θεωρίας & Εργαστηρίου. Αθήνα, 2018. Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών.

Ευθυμίου, Μ.-Ν. Π., 2015. Μεταπτυχιακή μελέτη: Αξιολόγηση και βελτιστοποίηση της παραγωγής μεταβολικών προϊόντων με χρήση ελαιογόνων ζυμών., Αθήνα: Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών.

Μπέκος Νικόλαος, Διπλωματική εργασία: Μελέτη της ζύμωσης απλών σακχάρων και ζυθογλεύκους από μη συμβατικές ζύμες, Αθήνα 2019.

Νερατζής Ηλίας, Ταταρίδης Παναγιώτης, Κεχαγιά Δέσποινα, Βιβλιοθήκη του Ζύθου - Τεχνολογίες Βύνης & Ζύθου, Έκδοση Πρώτη Αθήνα 2014.

Τσαγκάρη Νίνα – Αικατερίνη, Πτυχιακή εργασία: Παραγωγή ζύθου με μη συμβατικές ζύμες, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Τμήμα Επιστημών Οίνου Αμπέλου & Ποτών, Αιγάλεω 2021.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 2: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στη 1 εβδομάδα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspora delbrueckii*.

	1 ΕΒΔΟΜΑΔΑ									
Yeasts	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude
Temperature	20 °C					13 °C				
Isoamyl alcohol	4.84±0.18	4.47±0.08	4.63±0.42	3.38±1.65	3.27±1.07	1.99±0.01 ^b	3.26±0.33 ^{ab}	8.79±4.25 ^a	3.98±2.26 ^{ab}	1.76±0.16 ^b
Active amyl alcohol	1.62±0.05 ^A	1.60±0.02	1.52±0.19 ^A	0.98±0.28	1.14±0.42	0.94±0.18 ^{bb}	1.15±0.38 ^b	4.71±0.11 ^{ab}	1.66±0.70 ^b	0.85±0.40 ^b
Methionool	0.00±0.00 ^c	0.16±0.03 ^{ba}	0.12±0.04 ^b	0.29±0.06 ^a	0.31±0.01 ^a	0.00±0.00 ^d	0.01±0.01 ^{cdB}	0.24±0.12 ^{ab}	0.40±0.08 ^a	0.19±0.05 ^{bc}
Phenyl ethyl alcohol	6.52±0.19 ^A	13.07±0.67	14.94±0.19 ^A	14.22±7.38	13.15±2.51	7.38±0.13 ^{bb}	9.31±2.79 ^b	33.55±4.94 ^{ab}	12.84±2.31 ^b	6.72±0.49 ^b
Tryptophol	2.66±0.17 ^a	0.73±0.12 ^b	1.82±0.04 ^{ab}	1.59±1.17 ^{ab}	1.19±0.16 ^{ba}	3.43±1.44 ^a	0.29±0.15 ^c	2.30±0.16 ^{ab}	0.69±0.09 ^{bc}	0.17±0.07 ^{cb}
2-Furanmethanol	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.06±0.01 ^b	0.14±0.04 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.61±0.30 ^a	0.08±0.01 ^b	0.04±0.01 ^b
Tyrosol	0.25±0.06 ^{ab}	0.00±0.00 ^c	0.10±0.03 ^{bcA}	0.27±0.10 ^a	0.25±0.06 ^{ab}	0.15±0.07 ^{bc}	0.00±0.00 ^c	1.05±0.16 ^{ab}	0.25±0.05 ^b	0.10±0.06 ^{bc}
Hexanoic acid	0.16±0.01 ^{bcA}	0.28±0.01 ^{abCA}	0.00±0.00 ^{CA}	0.67±0.33 ^a	0.55±0.23 ^{ab}	0.01±0.01 ^{CB}	0.00±0.00 ^{CB}	1.63±0.30 ^{ab}	0.77±0.10 ^b	0.29±0.06 ^c
Octanoic acid	0.32±0.01 ^b	0.44±0.01 ^{ab}	0.22±0.02 ^{ba}	2.00±1.35 ^a	1.68±0.29 ^{ab}	0.32±0.11 ^c	0.92±0.47 ^{bc}	2.75±0.40 ^{ab}	2.26±0.01 ^a	1.19±0.05 ^b
n-Decanoic acid	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^{ba}	0.98±0.64 ^a	0.57±0.11 ^{ab}	0.05±0.04 ^c	0.38±0.26 ^{bc}	0.95±0.18 ^{ab}	0.68±0.00 ^{ab}	0.25±0.11 ^c
Isoamyl acetate	0.00±0.00 ^{da}	0.18±0.04 ^c	0.15±0.04 ^{CA}	0.26±0.00 ^b	0.44±0.04 ^{aA}	0.04±0.00 ^{bb}	0.16±0.01 ^b	0.49±0.04 ^{ab}	0.41±0.08 ^a	0.13±0.04 ^{bb}
Phenylethyl acetate	0.00±0.00 ^c	0.14±0.01 ^{bc}	1.12±0.19 ^a	0.33±0.16 ^b	0.37±0.08 ^{ba}	0.02±0.02 ^d	0.17±0.06 ^{bc}	0.71±0.10 ^a	0.27±0.03 ^b	0.09±0.01 ^{cdB}
Ethyl hexanoate	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^{CA}	0.08±0.02 ^b	0.16±0.03 ^a	0.03±0.04 ^c	0.21±0.13 ^b	0.65±0.02 ^{ab}	0.17±0.04 ^{bc}	0.09±0.01 ^{bc}
Ethyl Octanoate	0.00±0.00 ^{CA}	0.00±0.00 ^{CA}	0.04±0.02 ^{bcA}	0.23±0.06 ^b	0.67±0.17 ^a	0.28±0.08 ^{bb}	0.14±0.04 ^{bb}	2.80±0.59 ^{ab}	0.50±0.18 ^b	0.31±0.13 ^b
Ethyl decanoate	0.00±0.00 ^b	0.04±0.02 ^b	0.00±0.00 ^b	0.07±0.02 ^{ba}	0.19±0.07 ^a	0.02±0.03 ^b	0.03±0.04 ^b	0.73±0.30 ^a	0.27±0.06 ^{bb}	0.23±0.18 ^b
Ethyl dodecanoate	0.00±0.00 ^b	0.02±0.01 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl hexadecanoate	0.00±0.00	0.32±0.25	0.24±0.11	0.00±0.00	0.00±0.00	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4-Vinylguaiacol	0.05±0.01 ^b	0.32±0.07 ^a	0.20±0.07 ^{ab}	0.15±0.11 ^{ab}	0.12±0.01 ^b	0.11±0.04 ^b	0.41±0.21 ^a	0.18±0.00 ^{ab}	0.18±0.00 ^{ab}	0.11±0.01 ^b
1-Hexanol, 2-ethyl-	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.03±0.01 ^a	0.02±0.01 ^{ab}	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,08±0,01 ^a	0,03±0,01 ^b
Ethyl Oleate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Hexadecanoic acid	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.28±0.11 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.69±0.30 ^a	0.16±0.11 ^b
1H-Indole-3-ethanol, acetate (ester)	0,00±0,00 ^b	0,21±0,04 ^{aA}	0,26±0,02 ^{aA}	0,14±0,11 ^{ab}	0,23±0,04 ^{aA}	0,00±0,00 ^c	0,08±0,01 ^{cb}	1,17±0,08 ^{ab}	0,34±0,05 ^b	0,44±0,04 ^{bb}

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 3: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 μήνα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspora delbrueckii*.

Yeasts	1 ΜΗΝΑΣ									
	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude
Temperature	20 °C					13 °C				
Isoamyl alcohol	8,26±0,42 ^{ba}	6,00±0,71 ^{ca}	10,94±0,39 ^{ba}	1,49±0,68 ^e	3,29±0,25 ^d	0,36±0,01 ^{cb}	0,54±0,30 ^{bcB}	0,76±0,23 ^{bcB}	1,50±0,35 ^b	3,07±0,73 ^a
Active amyl alcohol	1,84±0,21 ^{ba}	1,77±0,33 ^{ba}	3,15±0,01 ^{ba}	0,68±0,08 ^c	0,74±0,17 ^c	0,13±0,02 ^{cb}	0,12±0,01 ^{cb}	0,50±0,41 ^{bcB}	0,86±0,16 ^{ab}	1,07±0,10 ^a
Methionool	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,00±0,00 ^f	0,01±0,00 ^f	0,00±0,00 ^c	0,14±0,01 ^b	0,17±0,02 ^a
Phenyl ethyl alcohol	32,20±1,33 ^{ba}	29,74±0,84 ^b	63,05±3,76 ^{ba}	22,64±0,71 ^{ca}	14,29±1,51 ^d	1,35±0,03 ^{bb}	2,63±0,20 ^b	2,21±0,89 ^{bb}	8,33±1,87 ^{ab}	8,16±1,34 ^a
Tryptophol	9,29±0,41 ^{aA}	2,07±0,42 ^{ca}	8,33±0,48 ^{ba}	1,17±0,23 ^c	1,12±0,21 ^{ca}	0,30±0,01 ^{ab}	0,00±0,00 ^{bb}	0,02±0,00 ^{bb}	0,47±0,16 ^a	0,10±0,01 ^{bb}
2-Furanmethanol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,02±0,01 ^a	0,03±0,01 ^a
Tyrosol	1,65±0,17 ^{aA}	0,79±0,13 ^{ba}	1,00±0,12 ^{ba}	0,00±0,00 ^c	0,01±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{bb}	0,00±0,00 ^{bb}	0,00±0,00 ^b	0,13±0,06 ^a	0,05±0,01 ^b
Hexanoic acid	0,40±0,08 ^{ca}	0,35±0,05 ^{ca}	0,48±0,05 ^{ca}	0,81±0,05 ^{aA}	0,65±0,04 ^{ba}	0,02±0,01 ^{bb}	0,10±0,01 ^{bb}	0,07±0,02 ^{bb}	0,46±0,06 ^{ab}	0,39±0,05 ^{ab}
Octanoic acid	0,33±0,04 ^{ca}	0,51±0,10 ^c	0,79±0,04 ^{ba}	1,20±0,11 ^a	0,97±0,16 ^{ab}	0,04±0,03 ^{bb}	0,20±0,03 ^b	0,19±0,09 ^{bb}	1,50±0,40 ^a	1,02±0,22 ^a
n-Decanoic acid	0,06±0,02 ^c	0,08±0,02 ^c	0,10±0,02 ^c	1,25±0,13 ^a	1,06±0,08 ^{ba}	0,00±0,00 ^b	0,03±0,01 ^b	0,02±0,01 ^b	0,68±0,26 ^a	0,25±0,07 ^{bb}
Isoamyl acetate	0,18±0,01 ^{abA}	0,13±0,01 ^{bca}	0,15±0,02 ^{abca}	0,12±0,04 ^c	0,20±0,01 ^{aA}	0,00±0,00 ^{bb}	0,01±0,00 ^{bb}	0,02±0,01 ^{bb}	0,14±0,04 ^a	0,10±0,01 ^{ab}
Phenylethyl acetate	0,04±0,01 ^{ba}	0,17±0,02 ^{ba}	1,01±0,16 ^{aA}	0,15±0,02 ^b	0,23±0,01 ^{ba}	0,00±0,00 ^{cb}	0,02±0,00 ^{cb}	0,02±0,00 ^{cb}	0,18±0,04 ^a	0,09±0,02 ^{bb}
Ethyl hexanoate	0,07±0,02 ^{bc}	0,05±0,01 ^{ca}	0,09±0,01 ^{abca}	0,14±0,04 ^a	0,11±0,01 ^{ab}	0,01±0,00 ^c	0,02±0,00 ^{cb}	0,02±0,00 ^{cb}	0,06±0,01 ^b	0,09±0,01 ^a
Ethyl Octanoate	0,50±0,06 ^{ca}	0,88±0,06 ^{aA}	0,27±0,02 ^{da}	0,51±0,10 ^c	0,71±0,04 ^b	0,02±0,01 ^{bb}	0,06±0,01 ^{bb}	0,03±0,02 ^{bb}	0,47±0,06 ^a	0,50±0,06 ^a
Ethyl decanoate	0,11±0,01 ^{aA}	0,08±0,02 ^{ab}	0,09±0,01 ^{abc}	0,07±0,01 ^b	0,03±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{cb}	0,04±0,01 ^{bc}	0,04±0,03 ^{bc}	0,15±0,03 ^a	0,06±0,01 ^b
Ethyl dodecanoate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl hexadecanoate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4-Vinylguaiaacol	0,06±0,01 ^{ca}	0,40±0,02 ^{ba}	0,71±0,04 ^{aA}	0,06±0,01 ^c	0,05±0,01 ^c	0,00±0,00 ^{bb}	0,02±0,01 ^{bb}	0,05±0,01 ^{bb}	0,16±0,06 ^a	0,08±0,02 ^{ab}
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^c	0,05±0,01 ^a	0,03±0,00 ^b
Ethyl Oleate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Hexadecanoic acid	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,04±0,01 ^a	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
1H-Indole-3-ethanol, acetate (ester)	0,14±0,02 ^{ca}	0,25±0,01 ^{ba}	0,83±0,06 ^{aA}	0,16±0,02 ^c	0,12±0,01 ^{ca}	0,00±0,00 ^{cb}	0,00±0,00 ^{cb}	0,02±0,02 ^{cb}	0,31±0,08 ^b	0,41±0,04 ^{ab}

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 4: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στους 6 μήνες παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspora delbrueckii*.

	6 ΜΗΝΕΣ									
Yeasts	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude
Temperature	20 °C					13 °C				
Isoamyl alcohol	11.53±1.36 ^{ba}	6.70±0.28 ^{ca}	14.02±0.41 ^{aa}	1.35±0.15 ^{da}	1.11±0.13 ^d	0.56±0.01 ^{cb}	0.35±0.02 ^{cb}	0.46±0.10 ^{cb}	1.85±0.05 ^{ab}	1.08±0.21 ^b
Active amyl alcohol	2.97±1.03 ^b	4.07±0.08 ^{ba}	8.26±0.49 ^{aa}	0.62±0.00 ^{ca}	0.30±0.10 ^c	0.23±0.06 ^b	0.15±0.06 ^{bb}	0.19±0.03 ^{bb}	0.91±0.02 ^{ab}	0.40±0.22 ^b
Methionool	0.00±0.00 ^c	0.37±0.05 ^{ba}	0.72±0.09 ^{aa}	0.02±0.02 ^c	0.02±0.03 ^c	0.00±0.00 ^b	0.01±0.00 ^{abb}	0.00±0.00 ^{bb}	0.05±0.04 ^a	0.03±0.02 ^{ab}
Phenyl ethyl alcohol	51.24±7.48 ^{ba}	31.38±2.56 ^{ca}	73.04±5.20 ^{aa}	3.07±0.65 ^d	3.34±0.33 ^d	3.38±0.05 ^{bb}	2.02±0.31 ^{cdB}	1.23±0.04 ^{db}	5.49±0.83 ^a	2.96±0.60 ^{bc}
Tryptophol	13.32±1.93 ^{aA}	3.35±0.80 ^{ba}	13±0.57 ^{aA}	0.01±0.02 ^c	0.08±0.04 ^c	0.92±0.13 ^{ab}	0.02±0.01 ^{bb}	0.00±0.00 ^{bb}	0.06±0.05 ^b	0.01±0.00 ^b
2-Furanmethanol	0.07±0.02 ^c	0.12±0.01 ^{ba}	0.20±0.04 ^{aa}	0.01±0.01 ^d	0.00±0.01 ^d	0.01±0.00	0.01±0.00 ^B	0.00±0.00 ^B	0.01±0.00	0.01±0.00
Tyrosol	2.15±0.57 ^{ba}	1.06±0.06 ^{ca}	3.70±0.21 ^{aa}	0.00±0.00 ^d	0.02±0.03 ^d	0.06±0.05 ^B	0.00±0.00 ^B	0.00±0.00 ^B	0.00±0.00	0.01±0.01
Hexanoic acid	0.50±0.17 ^b	0.58±0.04 ^{abA}	0.75±0.07 ^{aA}	0.10±0.00 ^f	0.00±0.01 ^c	0.05±0.01 ^{ab}	0.06±0.01 ^{abb}	0.03±0.01 ^{abb}	0.07±0.05 ^a	0.00±0.00 ^b
Octanoic acid	0.55±0.06 ^{ba}	0.41±0.04 ^{bca}	1.06±0.07 ^{aA}	0.24±0.02 ^{ca}	0.26±0.09 ^c	0.11±0.01 ^{bcb}	0.14±0.01 ^{bcb}	0.04±0.01 ^{cb}	0.59±0.09 ^{ab}	0.20±0.07 ^b
n-Decanoic acid	0.11±0.02 ^{aA}	0.13±0.02 ^{aA}	0.10±0.01 ^{aA}	0.02±0.00 ^{ba}	0.00±0.00 ^{ba}	0.00±0.00 ^{bb}	0.01±0.00 ^{bb}	0.00±0.00 ^{bb}	0.06±0.01 ^{ab}	0.01±0.00 ^{bb}
Isoamyl acetate	0.16±0.04 ^{aA}	0.14±0.02 ^{aA}	0.07±0.01 ^{ba}	0.11±0.00 ^{ab}	0.06±0.01 ^{ba}	0.00±0.00 ^{db}	0.01±0.00 ^{cb}	0.01±0.00 ^{cb}	0.12±0.01 ^a	0.03±0.00 ^{bb}
Phenylethyl acetate	0.21±0.06 ^{ba}	0.14±0.01 ^{bca}	0.29±0.01 ^{aA}	0.07±0.00 ^{cd}	0.05±0.00 ^{da}	0.00±0.00 ^{cb}	0.01±0.00 ^{bcb}	0.01±0.00 ^{bcb}	0.09±0.02 ^a	0.02±0.00 ^{bb}
Ethyl hexanoate	0.19±0.06 ^a	0.26±0.03 ^{aA}	0.00±0.00 ^b	0.02±0.01 ^{ba}	0.01±0.01 ^b	0.01±0.00 ^b	0.02±0.01 ^{bb}	0.01±0.00 ^b	0.10±0.02 ^{ab}	0.01±0.01 ^b
Ethyl Octanoate	0.64±0.11 ^{ba}	1.07±0.11 ^{aA}	0.36±0.04 ^{ca}	0.04±0.01 ^d	0.06±0.01 ^{da}	0.01±0.00 ^{cb}	0.07±0.01 ^{abb}	0.05±0.01 ^{abcb}	0.08±0.03 ^a	0.03±0.01 ^{bcb}
Ethyl decanoate	0.09±0.01 ^{ba}	0.14±0.03 ^a	0.10±0.01 ^{abA}	0.02±0.01 ^c	0.01±0.00 ^c	0.00±0.00 ^{cb}	0.08±0.01 ^a	0.01±0.00 ^{cb}	0.04±0.01 ^b	0.00±0.00 ^c
Ethyl dodecanoate	0.10±0.01 ^{aA}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl hexadecanoate	0.53±0.04 ^{aA}	0.00±0.00 ^b	0.49±0.11 ^{aA}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4-Vinylguaiaacol	0.52±0.04 ^{ba}	0.58±0.05 ^{ba}	0.87±0.04 ^{aA}	0.00±0.00 ^c	0.01±0.01 ^c	0.00±0.01 ^{cb}	0.01±0.00 ^{bb}	0.05±0.01 ^{ab}	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl Oleate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Hexadecanoic acid	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.02±0.01 ^a	0.02±0.01 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
1H-Indole-3-ethanol, acetate (ester)	0,29±0,02 ^{ba}	0,32±0,02 ^{ba}	1,56±0,09 ^{aA}	0,00±0,00 ^c	0,02±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{bb}	0,00±0,00 ^{bb}	0,00±0,00 ^{bb}	0,05±0,02 ^a	0,02±0,02 ^{ab}

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 5: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 χρόνο παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspora delbrueckii*.

	1 ΧΡΟΝΟΣ									
Yeasts	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude
Temperature	20 °C					13 °C				
Isoamyl alcohol	15.51±1.54 ^{abA}	5.11±0.78 ^{ba}	3.50±0.53 ^{bca}	2.53±0.07 ^c	2.23±0.40 ^c	1.67±0.23 ^{bcB}	0.26±0.06 ^{dB}	0.98±0.35 ^{cdB}	2.65±0.06 ^a	2.44±0.56 ^{ab}
Active amyl alcohol	9.64±0.08 ^{aA}	2.12±0.76 ^b	0.72±0.13 ^c	1.09±0.15 ^c	0.64±0.14 ^c	0.28±0.11 ^{cdB}	0.08±0.01 ^d	0.40±0.15 ^c	1.20±0.04 ^a	0.96±0.05 ^b
Methionool	0.13±0.01 ^A	0.12±0.03	0.15±0.00	0.13±0.01	0.11±0.01	0.00±0.00 ^B	0.07±0.02 ^b	0.00±0.00 ^c	0.18±0.04 ^a	0.16±0.01 ^a
Phenyl ethyl alcohol	59.42±8.46 ^{aA}	23.31±3.85 ^{ca}	40.40±2.69 ^{ba}	6.86±0.06 ^d	6.08±0.33 ^d	4.34±0.13 ^{bb}	1.09±0.02 ^{dB}	2.13±0.59 ^{cb}	6.60±0.08 ^a	6.29±0.14 ^a
Tryptophol	22.87±6.41 ^{aA}	1.81±0.49 ^{bca}	10.04±4.07 ^b	0.59±0.06 ^{ca}	0.62±0.11 ^{ca}	1.27±0.22 ^{ab}	0.02±0.01 ^{cb}	0.00±0.00 ^c	0.35±0.02 ^{bb}	0.18±0.01 ^{bcB}
2-Furanmethanol	0.00±0.00 ^D	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^D	0.05±0.01 ^a	0.04±0.01 ^a	0.01±0.00 ^c	0.01±0.00 ^c	0.01±0.00 ^c	0.06±0.01 ^a	0.04±0.00 ^b
Tyrosol	3.59±0.23 ^{aA}	0.44±0.14 ^c	1.14±0.49 ^b	0.15±0.03 ^c	0.10±0.01 ^c	0.11±0.01 ^{ab}	0.02±0.01 ^b	0.01±0.00 ^b	0.14±0.04 ^a	0.09±0.01 ^a
Hexanoic acid	0.63±0.02 ^{aA}	0.19±0.01 ^{ba}	0.17±0.07 ^b	0.18±0.05 ^b	0.15±0.01 ^b	0.03±0.02 ^{cb}	0.05±0.01 ^{cb}	0.02±0.00 ^c	0.24±0.00 ^a	0.19±0.02 ^b
Octanoic acid	0.41±0.01 ^{ba}	0.56±0.03 ^{aba}	0.79±0.25 ^a	0.80±0.16 ^a	0.78±0.04 ^a	0.12±0.02 ^{cb}	0.08±0.01 ^{cb}	0.14±0.01 ^c	1.07±0.01 ^a	0.82±0.15 ^b
n-Decanoic acid	0.21±0.01 ^{aA}	0.09±0.01 ^{ba}	0.02±0.01 ^c	0.22±0.03 ^a	0.13±0.02 ^b	0.00±0.00 ^{cb}	0.01±0.00 ^{cb}	0.00±0.00 ^c	0.25±0.01 ^a	0.15±0.01 ^b
Isoamyl acetate	0.11±0.06 ^{ab}	0.12±0.04 ^{ab}	0.09±0.03 ^b	0.20±0.01 ^a	0.11±0.01 ^{ab}	0.43±0.11 ^a	0.01±0.00 ^c	0.01±0.00 ^c	0.17±0.01 ^b	0.08±0.01 ^{bc}
Phenylethyl acetate	0.17±0.01 ^{aA}	0.08±0.01 ^{ca}	0.11±0.00 ^b	0.13±0.01 ^b	0.12±0.02 ^b	0.00±0.00 ^{dB}	0.02±0.01 ^{cb}	0.01±0.00 ^c	0.11±0.00 ^a	0.06±0.00 ^b
Ethyl hexanoate	0.45±0.01 ^{aA}	0.13±0.03 ^{ba}	0.16±0.08 ^b	0.12±0.01 ^b	0.10±0.01 ^b	0.00±0.00 ^{bb}	0.01±0.00 ^{bb}	0.02±0.00 ^b	0.11±0.02 ^a	0.09±0.02 ^a
Ethyl Octanoate	1.61±0.35 ^{aA}	0.16±0.02 ^{ba}	0.20±0.11 ^b	0.27±0.07 ^b	0.11±0.01 ^b	0.02±0.00 ^{bb}	0.02±0.00 ^{bb}	0.01±0.00 ^b	0.10±0.01 ^a	0.13±0.05 ^a
Ethyl decanoate	0.25±0.01 ^{aA}	0.04±0.00 ^c	0.12±0.01 ^{ba}	0.03±0.01 ^{ca}	0.15±0.02 ^{ba}	0.00±0.00 ^B	0.02±0.00	0.01±0.00 ^B	0.00±0.00 ^B	0.01±0.00 ^B
Ethyl dodecanoate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl hexadecanoate	0.11±0.16 ^b	0.40±0.14 ^a	0.01±0.00 ^b	0.04±0.03 ^b	0.00±0.00 ^b	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4-Vinylguaiacol	0.85±0.26 ^a	0.40±0.05 ^{ba}	0.63±0.08 ^{aba}	0.02±0.01 ^c	0.02±0.01 ^c	0.17±0.03 ^a	0.01±0.00 ^{bb}	0.02±0.01 ^{bb}	0.01±0.00 ^b	0.02±0.01 ^b
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl Oleate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Hexadecanoic acid	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^{ca}	0.00±0.00 ^c	0.22±0.01 ^{ba}	0.39±0.13 ^a	0.00±0.00 ^d	0.05±0.01 ^{cb}	0.00±0.00 ^d	0.11±0.01 ^{bb}	0.13±0.01 ^a
1H-Indole-3-ethanol, acetate (ester)	0,00±0,00 ^b	0,23±0,07 ^{aA}	0,45±0,11 ^{aA}	0,05±0,01 ^{ba}	0,07±0,01 ^{ba}	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{cb}	0,00±0,00 ^{cb}	0,10±0,01 ^{bb}	0,20±0,00 ^{aB}

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 6: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στα 2 χρόνια παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τα δύο στελέχη της *Torulaspora delbrueckii*.

	2 ΧΡΟΝΙΑ									
Yeasts	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude	S.c. US-05	T.d 291	Mix T.d 291	Prelude	Mix Prelude
Temperature	20 °C					13 °C				
Isoamyl alcohol	8.91±1.12 ^{aA}	7.45±0.60 ^a	8.77±1.16 ^{aA}	2.52±0.01 ^{bA}	2.91±0.30 ^b	3.64±0.70 ^{abB}	4.98±0.93 ^a	2.81±0.53 ^{bb}	3.09±0.13 ^{bb}	2.07±0.50 ^b
Active amyl alcohol	4.22±0.16 ^{aA}	2.04±0.37 ^b	4.11±0.33 ^{aA}	0.89±0.16 ^c	0.95±0.14 ^c	1.83±0.05 ^{ab}	1.25±0.26 ^b	1.39±0.18 ^{bb}	1.30±0.04 ^b	0.73±0.03 ^c
Methionool	0.14±0.05 ^c	0.71±0.01 ^{aA}	0.45±0.12 ^b	0.05±0.01 ^c	0.08±0.02 ^c	0.00±0.00 ^e	0.09±0.01 ^{bb}	0.19±0.01 ^a	0.06±0.00 ^c	0.02±0.00 ^d
Phenyl ethyl alcohol	50.03±1.63 ^{aA}	54.95±4.48 ^{aA}	48.54±7.56 ^{aA}	6.34±0.56 ^b	9.50±0.10 ^{bA}	15.25±1.61 ^{ab}	6.81±0.39 ^{bb}	8.48±1.14 ^{bb}	6.54±0.35 ^b	8.28±0.27 ^{bb}
Tryptophol	15.09±1.39 ^{aA}	5.19±0.20 ^{bcA}	6.77±3.58 ^b	0.19±0.04 ^d	0.84±0.02 ^{cdA}	4.17±0.32 ^{ab}	0.10±0.01 ^{cb}	0.29±0.04 ^{bc}	0.18±0.03 ^{bc}	0.50±0.07 ^{bb}
2-Furanmethanol	0.50±0.03 ^{bA}	0.67±0.09 ^{aA}	0.50±0.09 ^{bA}	0.05±0.01 ^c	0.05±0.01 ^c	0.00±0.00 ^{cb}	0.10±0.03 ^{ab}	0.03±0.00 ^{bcB}	0.06±0.01 ^b	0.04±0.01 ^b
Tyrosol	2.24±0.16 ^{aA}	1.96±0.28 ^{aA}	2.02±0.69 ^a	0.14±0.02 ^b	0.22±0.04 ^b	0.59±0.13 ^{ab}	0.31±0.06 ^{bb}	0.64±0.13 ^a	0.18±0.01 ^b	0.15±0.01 ^b
Hexanoic acid	0.57±0.18 ^b	0.99±0.28 ^a	0.43±0.05 ^{bc}	0.14±0.01 ^c	0.19±0.06 ^{bc}	0.36±0.02 ^{ab}	0.55±0.16 ^a	0.36±0.08 ^{ab}	0.20±0.02 ^b	0.15±0.04 ^b
Octanoic acid	2.02±0.23 ^{aA}	1.92±0.33 ^a	0.55±0.06 ^{bA}	0.71±0.13 ^b	0.59±0.04 ^{bA}	0.80±0.06 ^{cb}	1.48±0.20 ^a	1.18±0.16 ^{bb}	0.47±0.03 ^d	0.41±0.01 ^{dB}
n-Decanoic acid	0.22±0.01 ^{bA}	0.28±0.01 ^a	0.14±0.02 ^c	0.13±0.04 ^{cd}	0.07±0.01 ^{dA}	0.00±0.00 ^{cb}	0.28±0.06 ^a	0.14±0.02 ^b	0.11±0.04 ^b	0.00±0.00 ^{cb}
Isoamyl acetate	0.23±0.17	0.15±0.02	0.10±0.01	0.07±0.01 ^A	0.06±0.01	0.03±0.01 ^c	0.19±0.05 ^a	0.11±0.01 ^b	0.02±0.01 ^{cb}	0.02±0.01 ^c
Phenylethyl acetate	0.14±0.03 ^{bcA}	0.16±0.01 ^{bA}	0.35±0.04 ^{aA}	0.06±0.01 ^{dA}	0.09±0.01 ^{cdA}	0.00±0.00 ^{bb}	0.09±0.01 ^{ab}	0.10±0.02 ^{ab}	0.01±0.00 ^{bb}	0.02±0.00 ^{bb}
Ethyl hexanoate	0.20±0.16 ^{ab}	0.29±0.09 ^a	0.06±0.01 ^b	0.11±0.01 ^{abA}	0.10±0.01 ^{abA}	0.00±0.00 ^c	0.17±0.08 ^a	0.11±0.03 ^{ab}	0.03±0.00 ^{bcB}	0.03±0.00 ^{bcB}
Ethyl Octanoate	0.58±0.04 ^{bA}	1.39±0.04 ^{aA}	0.19±0.02 ^{CA}	0.07±0.01 ^{CA}	0.08±0.01 ^c	0.10±0.01 ^{ab}	0.00±0.00 ^{cb}	0.10±0.01 ^{ab}	0.09±0.00 ^{ab}	0.05±0.01 ^b
Ethyl decanoate	0.12±0.01 ^{aA}	0.08±0.01 ^{bA}	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^{bb}	0.02±0.01 ^{ab}	0.00±0.00 ^b	0.01±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b
Ethyl dodecanoate	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl hexadecanoate	0.09±0.01 ^{aA}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4-Vinylguaiacol	0.00±0.00 ^{CA}	0.73±0.05 ^{aA}	0.70±0.04 ^{aA}	0.08±0.01 ^{bA}	0.04±0.01 ^{bc}	0.06±0.01 ^{ab}	0.03±0.01 ^{bb}	0.00±0.00 ^{cb}	0.02±0.00 ^{bb}	0.02±0.00 ^b
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl Oleate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Hexadecanoic acid	0.00±0.00 ^{bA}	0.00±0.00 ^{bA}	0.00±0.00 ^{bA}	0.23±0.10 ^a	0.31±0.13 ^a	0.40±0.10 ^{ab}	0.29±0.02 ^{abB}	0.34±0.05 ^{abB}	0.14±0.00 ^b	0.29±0.18 ^{ab}
1H-Indole-3-ethanol, acetate (ester)	0,00±0,00 ^b	0,36±0,02 ^{aA}	0,41±0,07 ^{aA}	0,02±0,01 ^{bA}	0,08±0,01 ^{bA}	0,00±0,00 ^c	0,03±0,01 ^{bA}	0,09±0,01 ^{ab}	0,04±0,00 ^{bb}	0,00±0,00 ^{cb}

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 7: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στη 1 εβδομάδα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

	1 ΕΒΔΟΜΑΔΑ							
Yeasts	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10
Temperature	20 °C				13 °C			
Isoamyl alcohol	4.84±0.18 ^{aA}	5.48 ± 0.50 ^a	1.44 ± 0.48 ^b	0.92 ± 0.05 ^b	1.99±0.01 ^{bB}	4.39 ± 0.70 ^a	2.29 ± 0.17 ^b	1.26 ± 0.25 ^b
Active amyl alcohol	1.62±0.05 ^{aA}	1.53 ± 0.27 ^a	0.36 ± 0.02 ^b	0.52 ± 0.01 ^b	0.94±0.18 ^{bB}	2.19 ± 0.05 ^a	0.76 ± 0.20 ^{bC}	0.37 ± 0.13 ^c
Methionool	0.00±0.00 ^b	0.12 ± 0.02 ^{aA}	0.02 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.01 ^b	0.00±0.00 ^b	0.01 ± 0.02 ^{abB}	0.05 ± 0.02 ^a	0.01 ± 0.00 ^{ab}
Phenyl ethyl alcohol	6.52±0.19 ^{cA}	14.57 ± 0.12 ^{aA}	6.23 ± 0.82 ^{cA}	9.27 ± 1.23 ^b	7.38±0.13 ^{bB}	9.75 ± 0.26 ^{aB}	9.57 ± 0.47 ^{aB}	9.82 ± 0.84 ^a
Tryptophol	2.66±0.17 ^b	4.49 ± 0.45 ^{aA}	0.66 ± 0.01 ^{cA}	0.90 ± 0.21 ^c	3.43±1.44 ^a	0.37 ± 0.03 ^{bB}	0.21 ± 0.02 ^{bB}	0.34 ± 0.09 ^b
2-Furanmethanol	0.00±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.03 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^a
Tyrosol	0.25±0.06 ^a	0.25 ± 0.07 ^{aA}	0.10 ± 0.02 ^b	0.20 ± 0.03 ^{ab}	0.15±0.07 ^a	0.00 ± 0.00 ^{bB}	0.12 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.04 ^a
Hexanoic acid	0.16±0.01 ^A	0.12 ± 0.02 ^A	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.01±0.01 ^{bB}	0.00 ± 0.00 ^{bB}	0.15 ± 0.05 ^a	0.22 ± 0.06 ^a
Octanoic acid	0.32±0.01 ^b	0.17 ± 0.00 ^{bA}	0.18 ± 0.04 ^b	0.73 ± 0.21 ^a	0.32±0.11 ^b	0.84 ± 0.05 ^{aB}	0.34 ± 0.18 ^b	0.91 ± 0.17 ^a
n-Decanoic acid	0.00±0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^{cA}	0.03 ± 0.02 ^b	0.09 ± 0.00 ^a	0.05±0.04 ^b	0.20 ± 0.01 ^{aB}	0.06 ± 0.02 ^b	0.07 ± 0.02 ^b
Isoamyl acetate	0.00±0.00 ^{cA}	0.04 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.01 ^b	0.04±0.00 ^{bB}	0.12 ± 0.03 ^a	0.04 ± 0.03 ^b	0.02 ± 0.00 ^b
Phenylethyl acetate	0.00±0.00 ^c	0.07 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.02 ^b	0.02±0.02 ^b	0.06 ± 0.00 ^a	0.06 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.00 ^{ab}
Ethyl hexanoate	0.00±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^{bA}	0.04 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.00 ^a	0.03±0.04 ^b	0.18 ± 0.03 ^{aB}	0.03 ± 0.01 ^b	0.04 ± 0.00 ^b
Ethyl Octanoate	0.00±0.00 ^{bA}	0.00 ± 0.00 ^{bA}	0.22 ± 0.02 ^a	0.20 ± 0.03 ^a	0.28±0.08 ^B	0.34 ± 0.05 ^B	0.24 ± 0.07	0.30 ± 0.06
Ethyl decanoate	0.00±0.00 ^b	0.09 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^b	0.10 ± 0.01 ^a	0.02±0.03 ^b	0.14 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.03 ^{ab}	0.07 ± 0.03 ^{ab}
Ethyl dodecanoate	0.00±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^{bA}	0.08 ± 0.01 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00±0.00 ^c	0.05 ± 0.02 ^{bB}	0.22 ± 0.02 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^c
Ethyl hexadecanoate	0.00±0.00 ^b	0.16 ± 0.03 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00±0.00	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4-Vinylguaiaicol	0.00±0.00 ^b	0.46 ± 0.01 ^{aA}	0.04 ± 0.00 ^b	0.08 ± 0.03 ^b	0.11±0.04	0.09 ± 0.00 ^B	0.13 ± 0.04	0.09 ± 0.03
1-Hexanol, 2-ethyl-	0.00±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0,00±0,00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.01 ^{ab}	0.02 ± 0.00 ^a
Ethyl Oleate	0.00±0.00 ^b	0.58 ± 0.16 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00±0.00	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Hexadecanoic acid	0.00±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.11 ± 0.03 ^b	0.58 ± 0.12 ^a	0.00±0.00	0.00 ± 0.00	0.15 ± 0.09	0.41 ± 0.05
1H-Indole-3-ethanol, acetate	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0,26±0,07 ^b	0,40±0,07 ^a

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 8: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 μήνα παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

	1 ΜΗΝΑΣ							
Yeasts	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10
Temperature	20 °C				13 °C			
Isoamyl alcohol	8,26±0,42 ^{BA}	5,45±0,07 ^{BA}	1.70 ± 0.13 ^{CA}	1.78 ± 0.04 ^{CA}	0,36±0,01 ^{DB}	1.28 ± 0.12 ^{CB}	2.39 ± 0.04 ^{BB}	3.02 ± 0.21 ^{AB}
Active amyl alcohol	1,84±0,21 ^{BA}	2,23±0,31 ^{BA}	0.60 ± 0.09 ^B	0.83 ± 0.10 ^B	0,13±0,02 ^{BB}	0.19 ± 0.03 ^{BB}	0.86 ± 0.15 ^A	0.95 ± 0.10 ^A
Methionool	N.D	0,00±0,00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0,00±0,00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.02
Phenyl ethyl alcohol	32,20±1,33 ^{BA}	23,82±2,63 ^{BA}	10.41 ± 1.95 ^C	11.59 ± 0.69 ^C	1,35±0,03 ^{CB}	2.47 ± 0.10 ^{CB}	9.05 ± 0.58 ^B	11.73 ± 1.44 ^A
Tryptophol	9,29±0,41 ^{BA}	6,16±0,27 ^{BA}	1.21 ± 0.18 ^{CA}	0.63 ± 0.23 ^C	0,30±0,01 ^{AB}	0.01 ± 0.00 ^{BB}	0.26 ± 0.06 ^{AB}	0.12 ± 0.05 ^{AB}
2-Furanmethanol	N.D	0,12±0,04	0.04 ± 0.03	0.05 ± 0.04	0,00±0,00	0.00 ± 0.00	0.07 ± 0.08	0.02 ± 0.01
Tyrosol	1,65±0,17 ^{BA}	1,00±0,05 ^{BA}	0.36 ± 0.22 ^C	0.08 ± 0.05 ^C	0,00±0,00 ^{CB}	0.00 ± 0.00 ^{CB}	0.28 ± 0.05 ^B	1.14 ± 0.02 ^A
Hexanoic acid	0,40±0,08 ^{BA}	0,61±0,06 ^A	0.22 ± 0.08 ^C	0.20 ± 0.01 ^C	0,02±0,01 ^{CB}	0.69 ± 0.07 ^A	0.22 ± 0.06 ^B	0.14 ± 0.05 ^{BC}
Octanoic acid	0,33±0,04 ^{BA}	1,58±0,12 ^{BA}	0.41 ± 0.10 ^B	0.51 ± 0.12 ^B	0,04±0,03 ^{BB}	0.22 ± 0.02 ^{BB}	0.50 ± 0.05 ^B	1.63 ± 0.40 ^A
n-Decanoic acid	0,06±0,02 ^B	1,18±0,09 ^{BA}	0.01 ± 0.01 ^B	0.04 ± 0.01 ^B	0,00±0,00 ^B	0.02 ± 0.01 ^{AB}	0.01 ± 0.00 ^{AB}	0.00 ± 0.01 ^{AB}
Isoamyl acetate	0,18±0,01 ^{BA}	0,07±0,02 ^B	0.05 ± 0.00 ^B	0.06 ± 0.03 ^B	0,00±0,00 ^{BB}	0.01 ± 0.00 ^B	0.04 ± 0.01 ^A	0.01 ± 0.01 ^B
Phenylethyl acetate	0,04±0,01 ^{BA}	0,28±0,08 ^{BA}	0.06 ± 0.01 ^{BA}	0.07 ± 0.01 ^{BA}	0,00±0,00 ^{BB}	0.01 ± 0.00 ^{BB}	0.03 ± 0.01 ^{AB}	0.02 ± 0.01 ^{AB}
Ethyl hexanoate	0,07±0,02 ^B	0,15±0,04 ^A	0.02 ± 0.03 ^B	0.03 ± 0.01 ^B	0,01±0,00 ^C	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.02
Ethyl Octanoate	0,50±0,06 ^{BA}	2,83±0,12 ^{BA}	0.10 ± 0.14 ^{CA}	0.30 ± 0.03 ^{BCA}	0,02±0,01 ^{CB}	0.06 ± 0.03 ^{CB}	0.69 ± 0.03 ^{BB}	1.18 ± 0.22 ^{AB}
Ethyl decanoate	0,11±0,01 ^{BA}	1,11±0,05 ^{AB}	0.00 ± 0.01 ^C	0.03 ± 0.05 ^{BC}	0,00±0,00 ^{BB}	0.02 ± 0.00 ^{AB}	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.01 ^B
Ethyl dodecanoate	N.D	0,10±0,01 ^{BA}	0.00 ± 0.01 ^B	0.03 ± 0.04 ^B	N.D	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ethyl hexadecanoate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4-Vinylguaiaicol	0,06±0,01 ^{BA}	0,61±0,09 ^{BA}	0.05 ± 0.02 ^B	0.09 ± 0.01 ^B	0,00±0,00 ^{BB}	0.00 ± 0.00 ^{BB}	0.06 ± 0.02 ^B	0.07 ± 0.04 ^A
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	N.D	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0,00±0,00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.02 ± 0.01 ^A	0.01 ± 0.01 ^{AB}
Ethyl Oleate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Hexadecanoic acid	N.D	N.D	0.12 ± 0.01 ^A	0.17 ± 0.04	0,04±0,01 ^B	0.00 ± 0.01 ^B	0.40 ± 0.08 ^{AB}	0.00 ± 0.00 ^{BB}
1H-Indole-3-ethanol, acetate (ester)	0,14±0,02 ^{BA}	0,00±0,00 ^B	0,03±0,02 ^B	0,02±0,02 ^B	0,00±0,00 ^{CB}	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 9: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στους 6 μήνες παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

Yeasts	6 ΜΗΝΕΣ							
	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10
	20 °C				13 °C			
Isoamyl alcohol	11.53±1.36 ^{ab}	4.36 ± 0.84 ^{ba}	3.53 ± 0.73 ^b	3.95 ± 0.87 ^b	0.56±0.01 ^{bb}	0.51 ± 0.13 ^{bb}	4.56 ± 2.67 ^a	2.58 ± 0.23 ^{ab}
Active amyl alcohol	2.97±1.03	2.06 ± 0.34 ^A	1.77 ± 0.24	1.85 ± 0.22	0.23±0.06 ^b	0.22 ± 0.19 ^{bb}	1.95 ± 0.39 ^a	2.03 ± 0.66 ^a
Methionool	0.00±0.00 ^b	0.12 ± 0.01 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^B	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
Phenyl ethyl alcohol	51.24±7.48 ^{ab}	29.40 ± 2.18 ^{ba}	16.74 ± 2.82 ^c	18.89 ± 2.21 ^c	3.38±0.05 ^{bb}	4.11 ± 0.28 ^{bb}	12.34 ± 0.25 ^a	12.99 ± 0.59 ^a
Tryptophol	13.32±1.93 ^{ab}	9.16 ± 0.10 ^{ba}	0.00 ± 0.00 ^c	0.09 ± 0.02 ^{ca}	0.92±0.13 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^{bb}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^{bb}
2-Furanmethanol	0.07±0.02 ^b	0.42 ± 0.10 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.01 ^b	0.01±0.00	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Tyrosol	2.15±0.57 ^{aA}	1.60 ± 0.12 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.06±0.05 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Hexanoic acid	0.50±0.17 ^b	1.23 ± 0.02 ^{aA}	0.17 ± 0.00 ^c	0.25 ± 0.00 ^{ca}	0.05±0.01 ^c	0.14 ± 0.04 ^{bb}	0.18 ± 0.04 ^b	0.29 ± 0.01 ^{ab}
Octanoic acid	0.55±0.06 ^{ca}	2.41 ± 0.09 ^{aA}	0.42 ± 0.03 ^c	0.77 ± 0.06 ^b	0.11±0.01 ^{cb}	0.51 ± 0.03 ^{bb}	0.62 ± 0.10 ^b	0.83 ± 0.08 ^a
n-Decanoic acid	0.11±0.02 ^{ba}	1.59 ± 0.06 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^c	0.00±0.00 ^B	0.02 ± 0.03 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Isoamyl acetate	0.16±0.04 ^{aA}	0.08 ± 0.04 ^{ab}	0.05 ± 0.03 ^{ab}	0.04 ± 0.05 ^b	0.00±0.00 ^{bb}	0.00 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a
Phenylethyl acetate	0.21±0.06 ^{ba}	0.37 ± 0.06 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^c	0.08 ± 0.01 ^{ca}	0.00±0.00 ^{cb}	0.01 ± 0.00 ^B	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00 ^B
Ethyl hexanoate	0.19±0.06 ^b	0.38 ± 0.01 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^c	0.01±0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ethyl Octanoate	0.64±0.11 ^{ba}	3.99 ± 0.19 ^{aA}	0.03 ± 0.05 ^c	0.16 ± 0.01 ^c	0.01±0.00 ^{bb}	0.01 ± 0.00 ^{bb}	0.20 ± 0.05 ^a	0.14 ± 0.00 ^a
Ethyl decanoate	0.09±0.01 ^{ba}	2.58 ± 0.08 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00±0.00 ^B	0.01 ± 0.01 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ethyl dodecanoate	0.10±0.01 ^{ba}	0.27 ± 0.09 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	N.D	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ethyl hexadecanoate	0.53±0.04 ^{aA}	0.59 ± 0.06 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	N.D	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4-Vinylguaicol	0.52±0.04 ^{ba}	0.90 ± 0.06 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^c	0.00±0.01 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ethyl Oleate	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Hexadecanoic acid	N.D	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.14 ± 0.03 ^a	0.02±0.01	0.00 ± 0.00	0.57 ± 0.49	0.05 ± 0.08
1H-Indole-3-ethanol, acetate	0,29±0,02 ^{aA}	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0,00±0,00 ^B	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 10: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στον 1 χρόνο παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

	1 ΧΡΟΝΟΣ							
Yeasts	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10
Temperature	20 °C				13 °C			
Isoamyl alcohol	15.51±1.54 ^{AA}	7.57 ± 0.30 ^{BA}	1.35 ± 0.40 ^C	1.89 ± 0.18 ^C	1.67±0.23 ^{BB}	0.45 ± 0.01 ^{CB}	2.96 ± 0.46 ^A	2.89 ± 0.39 ^A
Active amyl alcohol	9.64±0.08 ^{AA}	1.38 ± 0.06 ^{BA}	0.59 ± 0.21 ^C	0.72 ± 0.16 ^C	0.28±0.11 ^{BB}	0.14 ± 0.02 ^{BB}	0.96 ± 0.14 ^A	0.91 ± 0.05 ^A
Methionool	0.13±0.01 ^A	0.07 ± 0.09	0.00 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.00±0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.04
Phenyl ethyl alcohol	59.42±8.46 ^{AA}	29.08 ± 0.92 ^{BA}	5.88 ± 0.62 ^{CA}	9.77 ± 0.37 ^C	4.34±0.13 ^{CB}	2.00 ± 0.59 ^{CB}	12.66 ± 1.84 ^{AB}	7.74 ± 1.27 ^B
Tryptophol	22.87±6.41 ^{AA}	6.31 ± 0.03 ^{BA}	0.66 ± 0.22 ^C	0.64 ± 0.02 ^C	1.27±0.22 ^{AB}	0.00 ± 0.00 ^{BB}	0.23 ± 0.05 ^B	1.43 ± 0.28 ^A
2-Furanmethanol	0.00±0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.01 ± 0.02 ^{AB}	0.04 ± 0.00 ^{AA}	0.01±0.00 ^C	0.00 ± 0.00 ^C	0.07 ± 0.01 ^B	0.32 ± 0.04 ^{AB}
Tyrosol	3.59±0.23 ^{AA}	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.19 ± 0.01 ^{BA}	0.11±0.01 ^{AB}	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^{BB}
Hexanoic acid	0.63±0.02 ^{AA}	0.21 ± 0.02 ^{BA}	0.10 ± 0.02 ^{DA}	0.17 ± 0.00 ^{CA}	0.03±0.02 ^{BCB}	0.06 ± 0.01 ^{BB}	0.49 ± 0.03 ^{AB}	0.00 ± 0.00 ^{CB}
Octanoic acid	0.41±0.01 ^{ABAA}	0.41 ± 0.10 ^{AB}	0.30 ± 0.03 ^B	0.50 ± 0.02 ^{AA}	0.12±0.02 ^{CB}	0.19 ± 0.11 ^C	0.67 ± 0.26 ^B	5.52 ± 0.18 ^{AB}
n-Decanoic acid	0.21±0.01 ^{BA}	1.35 ± 0.05 ^{AA}	0.00 ± 0.00 ^C	0.00 ± 0.00 ^C	0.00±0.00 ^B	0.01 ± 0.01 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Isoamyl acetate	0.11±0.06	0.07 ± 0.02 ^A	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.01 ^A	0.43±0.11 ^A	0.01 ± 0.00 ^{BB}	0.02 ± 0.01 ^B	0.15 ± 0.03 ^{BB}
Phenylethyl acetate	0.17±0.01 ^{AA}	0.18 ± 0.01 ^{AA}	0.02 ± 0.00 ^{BA}	0.05 ± 0.01 ^B	0.00±0.00 ^B	0.00 ± 0.01 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.01 ± 0.02
Ethyl hexanoate	0.45±0.01 ^{AA}	0.35 ± 0.03 ^{BA}	0.00 ± 0.00 ^C	0.00 ± 0.00 ^{CA}	0.00±0.00 ^{BB}	0.01 ± 0.00 ^{BB}	0.00 ± 0.00 ^B	0.19 ± 0.02 ^{AB}
Ethyl Octanoate	1.61±0.35 ^{BA}	2.27 ± 0.23 ^{AA}	0.05 ± 0.00 ^C	0.09 ± 0.02 ^{CA}	0.02±0.00 ^{BB}	0.02 ± 0.01 ^{BB}	0.07 ± 0.03 ^B	0.51 ± 0.05 ^{AB}
Ethyl decanoate	0.25±0.01 ^{BA}	0.80 ± 0.05 ^{AA}	0.00 ± 0.00 ^C	0.00 ± 0.00 ^C	0.00±0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ethyl dodecanoate	N.D	0.07 ± 0.09	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.01
Ethyl hexadecanoate	0.11±0.16	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4-Vinylguaiacol	0.85±0.26 ^A	0.66 ± 0.05 ^{AA}	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0.17±0.03 ^A	0.00 ± 0.00 ^{BB}	0.00 ± 0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.01	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ethyl Oleate	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Hexadecanoic acid	0.00±0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	1.16 ± 0.22 ^A	0.71 ± 0.23 ^A	0.00±0.00 ^C	0.01 ± 0.01 ^C	1.35 ± 0.48 ^B	2.82 ± 0.34 ^A
1H-Indole-3-ethanol, acetate	0,00±0,00 ^B	±	±	±	0,00±0,00 ^C	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).

Πίνακας 11: Η παραγωγή αρωματικών ενώσεων στα 2 χρόνια παλαίωσης, στους 13 °C & 20 °C, από τη *Metschnikowia pulcherrima*.

	2 ΧΡΟΝΙΑ							
Yeasts	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10	S.c. US-05	M.p.	S.c.:M.p. 1:1	S.c.:M.p. 1:10
Temperature	20 °C				13 °C			
Isoamyl alcohol	8.91±1.12 ^{AA}	6.57 ± 2.20 ^{ab}	4,32±0,98 ^b	4,82±0,06 ^b	3.64±0.70 ^{abB}	2.96 ± 0.04 ^b	3,50±0,22 ^b	5,52±0,75 ^a
Active amyl alcohol	4.22±0.16 ^{AA}	1.90 ± 0.06 ^{BA}	1,96±0,62 ^b	1,87±0,44 ^b	1.83±0.05 ^{BB}	1.24 ± 0.07 ^{BB}	1,37±0,01 ^b	2,48±0,40 ^a
Methionool	0.14±0.05 ^a	0.08 ± 0.03 ^{ab}	0,03±0,01 ^b	0,03±0,01 ^{BA}	0.00±0.00	0.01 ± 0.00	0,01±0,00	0,00±0,00 ^B
Phenyl ethyl alcohol	50.03±1.63 ^{AA}	29.33 ± 1.20 ^{BA}	16,13±2,47 ^c	27,11±2,90 ^b	15.25±1.61 ^{CB}	8.27 ± 0.05 ^{CB}	15,04±0,71 ^b	18,95±1,69 ^a
Tryptophol	15.09±1.39 ^{AA}	8.01 ± 0.89 ^{BA}	0,11±0,01 ^{CA}	0,80±0,25 ^c	4.17±0.32 ^{AB}	0.36 ± 0.01 ^{CB}	1,06±0,20 ^{BB}	0,04±0,06 ^c
2-Furanmethanol	0.50±0.03 ^{AA}	0.00 ± 0.00 ^{CA}	0,07±0,00 ^b	0,08±0,02 ^{BA}	0.00±0.00 ^{BB}	0.05 ± 0.00 ^{AB}	0,04±0,02 ^a	0,00±0,00 ^{BB}
Tyrosol	2.24±0.16 ^{AA}	0.00 ± 0.00 ^{BA}	0,03±0,01 ^b	0,17±0,09 ^b	0.59±0.13 ^{AB}	0.09 ± 0.00 ^{BB}	0,09±0,12 ^b	0,14±0,19 ^b
Hexanoic acid	0.57±0.18 ^b	0.96 ± 0.09 ^{AA}	0,23±0,08 ^b	0,26±0,15 ^b	0.36±0.02 ^{ab}	0.28 ± 0.03 ^{BB}	0,14±0,01 ^c	0,33±0,03 ^{ab}
Octanoic acid	2.02±0.23 ^{AA}	1.42 ± 0.08 ^b	0,82±0,09 ^c	1,07±0,20 ^{bc}	0.80±0.06 ^{BB}	1.14 ± 0.05 ^a	0,74±0,04 ^b	1,14±0,12 ^a
n-Decanoic acid	0.22±0.01 ^{BA}	0.72 ± 0.11 ^{AA}	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0.00±0.00 ^{BB}	0.26 ± 0.03 ^{AB}	0,01±0,01 ^b	0,03±0,05 ^b
Isoamyl acetate	0.23±0.17 ^a	0.09 ± 0.02 ^b	0,02±0,01 ^{CA}	0,06±0,00 ^{bc}	0.03±0.01 ^b	0.03 ± 0.04 ^a	0,04±0,00 ^{AB}	0,04±0,01 ^{ab}
Phenylethyl acetate	0.14±0.03 ^{abA}	0.17 ± 0.02 ^{AA}	0,01±0,00 ^c	0,10±0,01 ^{BA}	0.00±0.00 ^{DB}	0.04 ± 0.00 ^{BB}	0,05±0,00 ^a	0,02±0,00 ^{CB}
Ethyl hexanoate	0.20±0.16 ^a	0.23 ± 0.01 ^{AA}	0,00±0,00 ^b	0,25±0,12 ^a	0.00±0.00 ^b	0.03 ± 0.00 ^{AB}	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
Ethyl Octanoate	0.58±0.04 ^{BA}	0.84 ± 0.33 ^{AA}	0,07±0,01 ^c	0,09±0,01 ^c	0.10±0.01 ^{AB}	0.07 ± 0.00 ^{BB}	0,07±0,00 ^b	0,11±0,01 ^a
Ethyl decanoate	0.12±0.01 ^{BA}	1.44 ± 0.37 ^{AA}	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0.00±0.00 ^B	0.00 ± 0.00 ^B	0,00±0,00	0,00±0,00
Ethyl dodecanoate	0.00±0.00	0.00 ± 0.00	0,00±0,00	0,00±0,00	N.D	0.00 ± 0.00	0,00±0,00	0,00±0,00
Ethyl hexadecanoate	0.09±0.01 ^{AA}	0.00 ± 0.00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	N.D	0.00 ± 0.00	0,00±0,00	0,00±0,00
4-Vinylguaiacol	0.00±0.00 ^{BA}	0.45 ± 0.19 ^a	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0.06±0.01 ^{AB}	0.00 ± 0.00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
1-Hexanol, 2-ethyl-	N.D	0.00 ± 0.00 ^b	0,04±0,01 ^a	0,00±0,00 ^b	N.D	0.00 ± 0.00 ^b	0,02±0,01 ^a	0,00±0,00 ^b
Ethyl Oleate	N.D	0.00 ± 0.00	0,00±0,00	0,00±0,00	N.D	0.00 ± 0.00	0,00±0,00	0,00±0,00
Hexadecanoic acid	0.00±0.00 ^{BA}	0.00 ± 0.00 ^b	0,46±0,11 ^{ab}	0,53±0,35 ^a	0.40±0.10 ^B	0.21 ± 0.19	0,00±0,00	0,00±0,00
1H-Indole-3-ethanol, acetate	0,00±0,00	0.00 ± 0.00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

*Οι εκθέτες συμβολίζουν στατιστική διαφορά (τα μικρά μεταξύ ζυμώσεων και τα κεφαλαία μεταξύ θερμοκρασιών).