



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ  
ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ,  
ΑΜΠΕΛΟΥ & ΠΟΤΩΝ

# Μεταβολή χρώματος και πικράδας κατά την παλαίωση του ζύθου



Διπλωματική εργασία:  
Τσιαλούπης Ξένιος

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:  
Δρόσου Φωτεινή

ΑΘΗΝΑ 2021



**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ.**

Φωτεινή Δρόσου: Ακαδημαϊκή Υπότροφος

Γεώργιος Ντουρτόγλου: Ακαδημαϊκός Υπότροφος

Αρχοντούλα Χατζηλαζάρου: Καθηγήτρια Ενόργανης Αναλυτικής  
Χημείας και Φυσικοχημείας

## Δήλωση Συγγραφέα Πτυχιακής Εργασίας

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Τσιαλούπης Ξένιος , με αριθμό μητρώου 718171120 φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνω υπεύθυνα ότι: «Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο Δηλών

Τσιαλούπης Ξένιος

## Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια στο χώρο της ζυθοποιίας παρατηρείται μια αδιάκοπη έρευνα και ανάπτυξη που αφορά στη βελτίωση της πικράδας, του χρώματος και του αρωματικού προφίλ των παραγόμενων προϊόντων. Κύριο αντικείμενο των ερευνών αυτών είναι οι πρώτες ύλες της μύρας οι οποίες μέσα από διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια είναι δυνατό να δώσουν διαφορετικούς συνδυασμούς οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να υπάρχουν αρκετά διαφορετικά προϊόντα όπου ικανοποιούν ακόμη και τον πιο απαιτητικό καταναλωτή.

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε η μεταβολή του χρώματος και της πικράδας κατά τη παλαίωση του ζύθου με το πέρασμα του χρόνου. Ένα από τα πιο βασικά συστατικά του ζύθου είναι ο λυκίσκος. Ο λυκίσκος, ως βότανο, αποτελείται από αρκετά συστατικά τα οποία με το βρασμό απελευθερώνονται και είναι υπεύθυνα για τη πικράδα του ζύθου.

Όμως κατά την παλαίωση της μύρας ο λυκίσκος επηρεάζεται λόγω της οξειδωσης των δεσμών των οξέων όπου συμβαίνει κατά την αποθήκευση και έχει άμεση επίπτωση στη διάρκεια ζωής του προϊόντος, οδηγώντας σε οσμή τυριού. Καθώς ο ζύθος εξελίσσεται και ανάλογα με τις συνθήκες αποθήκευσής του, υφίσταται πολλές αλλαγές. Οι περισσότερες από αυτές τις αλλαγές σχετίζονται με την επιδείνωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, ειδικά στη γεύση ή στο άρωμά του. Αυτές οι αλλαγές καθώς και η εμφάνιση θολερότητας μειώνουν τη διάρκεια ζωής του. Οι περισσότεροι από αυτούς τους παράγοντες έχουν ληφθεί υπόψη: το θόλωμα, για παράδειγμα, εμφανίζεται στην μύρα που έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και τανίνες.

Ένα άλλο σημαντικό συστατικό για τη παραγωγή του ζύθου είναι η βύνη. Η βύνη αποτελείται από άμυλο το οποίο κατά την ενζυμική διάσπαση δίνει σάκχαρα κατά την διαδικασία της πολτοποίησης. Κατά τη διαδικασία αυτή μπορούμε να πάρουμε εκχύλισμα από ανοιχτόχρωμο ξανθό ως σκούρο καφέ χρώμα. Έτσι μπορεί να καθοριστεί το χρώμα της μύρας. Το βυνογλεύκος περιέχει ανάγοντα σάκχαρα, γλυκόζη, μαλτόζη, φρουκτόζη και αμινοξέα, πεπτίδια και πρωτεΐνες. Κατά το βρασμό του βυνογλεύκου, σχηματίζονται χρωστικές (μελανοϊδίνες) ως προϊόντα κυρίως της αντίδρασης Maillard, όπου η καρβονιλομάδα αντιδρά με τα αμινοξέα και σχηματίζουν ένα σύνθετο μείγμα μορίων στα οποία οφείλεται το σκούρο χρώμα και άρωμα.

## **Abstract**

In recent years, the brewing industry has focused on continuous research and development related to the improvement of bitterness, colour and the aromatic profile of the products produced. The main objective of this research is to review the raw materials used in beer which through various processes it is possible to give multiple combinations of organoleptic characteristics. As a result, there are several different products that can even satisfy the most demanding consumer.

In the present study, the change of colour and bitterness of beer was observed during the aging process of the beer. One of the most basic ingredients of beer is hops. Hops is a herb consisted of several components which are gradually released upon boiling and are therefore responsible for the bitterness of beer.

However, during the aging of beer, hops are affected due to oxidation during storage and has a direct impact on its shelf life due to the oxidation of acid bonds which in the case of aged hops, leads to a cheesy odour. As beer matures and depending on its storage conditions, it undergoes through many changes. Most of these changes are related to the deterioration of sensory characteristics, especially in its taste or aroma. These changes as well as the appearance of opacity reduce the overall shelf life of the beer. Most of these factors have been taken into account: opacity, for example, occurs in beer that is high in protein and tannins.

Moreover, another important ingredient for the production of beer is malt. Malt consists of starch, which during the mashing process releases sugars due to the enzymatic breakdown. During this process, an extract is retrieved which ranges from light blonde to dark brown. This extract is what can determine the colour of the beer. This prementioned malt extract consists of invert sugars, glucose, maltose, fructose and amino acids, peptides and proteins. During the boiling process of the malt extract, pigments (melanoidins) are formed mainly due to the Maillard reaction, where the carbonyl group reacts with the amino acids that form a complex mixture of molecules which therefore give the dark colour and aroma.

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	4
Abstract .....	5
Εισαγωγή.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Λυκίσκος .....	10
1.1 Ιστορία λυκίσκου .....	10
1.2 Ιστορία της Οικονομικής Χρήσης.....	11
1.3 Οικονομικές πτυχές .....	12
1.4 Βοτανική περιγραφή.....	14
1.5 Φαρμακευτικές χρήσεις.....	14
1.6 Βιομηχανική παραγωγή λυκίσκου .....	15
1.7 Μικρές μαγειρικές χρήσεις.....	17
1.8 Διάφορες δευτερεύουσες χρήσεις .....	18
1.9 Συγκριτική χημεία και γεύση του λυκίσκου της Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής .....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Σύσταση Λυκίσκου .....	19
2.1 Χημεία κώνων λυκίσκου και ενώσεων που προέρχονται από λυκίσκο .....	19
2.2 Ρητίνες λυκίσκου .....	19
2.3 Πικρά οξέα .....	20
2.4 Πικρά α-οξέα και ισο-α-οξέα στην μύρα.....	22
2.5 Ισο-α-οξέα στην μύρα.....	23
2.6 Αιθέρια έλαια.....	27
2.7 Πολυφαινόλες.....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Μορφές Λυκίσκου στο Ζύθου .....	30
3.1 Λυκίσκος και μύρα.....	31
3.2 Μορφές Λυκίσκου .....	32

3.3 Σφαιρίδια λυκίσκου (pellets) .....	33
3.4 Εκχύλισμα CO <sub>2</sub> .....	33
3.5 Εκχύλισμα αιθανόλης .....	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Αντιδράσεις Κατά τη Παλαίωση του Ζύθου .....	35
4.1 Ισο-α-οξέα και η παλαίωση της μύρας.....	35
4.2 Συμβολή μεμονωμένων ισο-α-οξέων στην ποιότητα της μύρας .....	35
4.3 Φωτοοξείδωση .....	36
4.4 Αυτο-οξείδωση.....	37
4.5 Υδροφοβικότητα .....	39
4.6 Οξύτητα.....	40
4.7 Πικραδα .....	40
4.8 Β-οξέα (Λουπουλόνης): υποπροϊόντα ζυθοποιίας .....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Χρώμα Ζύθου .....	42
5.1 Χρώμα της μύρας.....	42
5.3 Η ιστορία της μέτρησης του χρώματος της μύρας.....	44
5.4 Μέθοδοι μετρήσεις του χρώματος της μύρας .....	44
5.5 Οι σημασία των X, Y και Z .....	48
5.6 Το χρώμα της μύρας σήμερα.....	48
5.7 Αντίδραση Maillard.....	49
5.8 Οξείδωση πολυφαινόλης.....	52
5.9 Αλλαγές στο χρώμα της μύρας, στη συγκέντρωση πολυφαινόλης και στη μείωση της ισχύος....	52
5.10 Θερμόλυση των σακχάρων.....	53
Συμπέρασμα .....	57
Βιβλιογραφία .....	58

## Εισαγωγή

Από τους πρώτους αιώνες και μετά τη γέννηση του Χριστού μέχρι και το μεσαίωνα η ζυθοποιία παρέμεινε δουλειά των γυναικών. Όμως κατά το τέλος του 1<sup>ου</sup> αιώνα άρχισε η παραγωγή της μύρας να γίνεται και σε μοναστήρια. Η αίτια που οι μοναχοί ασχολήθηκαν με τη παραγωγή της μύρας ήταν επειδή θέλανε ένα γευστικό, θρεπτικό ποτό να το σερβίρουν με τα γεύματα τους. Επίσης κατά τη διάρκεια της νηστείας η μύρα επιτρεπόταν και έτσι η παραγωγή της έφτασε σε πολύ υψηλά επίπεδα. Έτσι μετά από λίγο καιρό αυξήσαν την παραγωγή της ποσότητας από αυτή που χρειαζόντουσαν για τις ανάγκες τους και κάπως έτσι άρχισαν το εμπόριο της. Ο ζύθος που παρήγαγαν ήταν αρκετά καλής ποιότητας και έγινε γρήγορα αποδεκτός. Όμως οι άρχοντες εκείνης της εποχής παρατήρησαν την κερδοφόρο αυτή επιχείρηση, φορολόγησαν την παραγωγή και το εμπόριο της μύρας. Έτσι λοιπόν δυστυχώς τα μοναστήρια δεν είχαν τη δυνατότητα να πληρώσουν τα παράλογα πρόστιμα και τα ζυθοποιία τους ξεκίνησαν να κλείνουν το ένα μετά το άλλο (1368-1437 μ.Χ.).

Στην αρχή για να αρωματίσουν την μύρα τους οι παραγωγοί χρησιμοποιούσαν διάφορα μίγματα βοτάνων. Με λίγα λόγια ο κάθε παραγωγός είχε τη δικιά του μυστική ξεχωριστή συνταγή που απαγόρευε σε άλλους να τη χρησιμοποιήσουν. Οπότε θεωρήθηκε απαραίτητο να δημιουργηθεί ένας νόμος που να επιτρέπει το μονοπώλιο και να εξασφαλίζει το επάγγελμα του ζυθοποιού (Flavorings License). Όμως η εμφάνιση του λυκίσκου σαν αρωματικό συστατικό πρόσβαλε το μονοπωλιακό καθεστώς.

Τα διάφορα βότανα που χρησιμοποιούσαν οι παραγωγοί στη συνταγή τους ήταν συχνά δηλητηριώδη ή προκαλούσαν παραισθήσεις στους καταναλωτές της μύρας τους. Σήμερα γνωρίζουμε ότι διάφορες παραισθησιογόνες ουσίες παράγονται από το βότανο υοσκύαμος\* κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης. Έτσι για την μη επιτυχή παραγωγή της μύρας θεωρούνταν υπεύθυνα κακά πνεύματα. Το μεσαίωνα οι παραγωγοί κρεμούσαν συνήθως σκόρδα και διάφορα φυλαχτά στα βαρέλια τους.

Όμως η πρόληψη αυτή παρατράβηξε τόσο πολύ που τυχόν κάτι πήγαινε στραβά κατά τη ζυθοποίηση οφείλονταν στις μάγισσες της μύρας. Το τελευταίο γνωστό κάψιμο μάγισσας γι' αυτό το λόγο έγινε το 1591 μ.Χ.. Αυτό θεωρείται το μαύρο κεφάλαιο στην ιστορία της μύρας. Το τέλος του προληπτικού 16<sup>ου</sup> αιώνα ήρθε με τη χρησιμοποίηση του λυκίσκου. Με αυτόν η μύρα αποκάλυψε τον « πραγματικό της χαρακτήρα ». Παράλληλα με τη βελτίωση της ποιότητας, η διάθεση και εξαγωγή της μύρας αυξήθηκε. Το 14<sup>ο</sup> αιώνα ο Bremen ήταν ο κύριος προμηθευτής μύρας στην Ολλανδία, Αγγλία και στις Σκανδιναβικές χώρες. Ακόμη το Αμβούργο της Γερμανίας αναπτύχθηκε σε μεγάλο κέντρο παραγωγής της μύρας και το 1500 μ.Χ. υπήρχαν σ' αυτό 600 ζυθοποιίες.

Το 1516 μ.Χ. ο δούκας της Βαυαρίας, Wilhelm IV, καθιέρωσε με νόμο (Beer Purity Law) τις προδιαγραφές που έπρεπε να έχει η Γερμανική μύρα. Σαν κύρια συστατικά της μύρας καθιερώθηκαν το κριθάρι, ο λυκίσκος και το νερό. Η χρήση των ζυμών δεν ήταν γνωστή ακόμη. Η ζύμωση του ζύθου αφηνόταν στην τύχη και συνήθως γινόταν με τις ζύμες του αέρα.



Στις αρχές του 19<sup>ου</sup> αιώνα δύο επαναστατικές ανακαλύψεις συμβάλουν στην παραγωγή της μύρας. Η πρώτη ήταν η ατμομηχανή του James Watt, που είχε σαν αποτέλεσμα να πάρει η μύρα το δρόμο της βιομηχανοποίησης. Οι πρώτες βιομηχανίες που χρησιμοποίησαν ατμό αυτοονομάστηκαν βιομηχανίες μύρας ατμού. Ακόμη, το 1835 ο πρώτος Γερμανικός σιδηρόδρομος ένωσε τη Nurnmberg και το Furth. Αυτό είναι σημαντικό και το αναφέρουμε γιατί τα πρώτα αγαθά που μεταφέρθηκαν ήταν 2 βαρέλια μύρας.

Η δεύτερη ανακάλυψη αυτού του αιώνα ήταν η τεχνητή ψύξη από τον Carl von Linde. Εκείνη την εποχή είχε ήδη επιστημονικά αποδειχθεί ότι η παραγωγή καλής ποιοτικά μύρας απαιτούσε συγκεκριμένες θερμοκρασίες. Η μύρα lager απαιτεί θερμοκρασίες 4-10 °C. Αυτές επιτυγχάνονταν μόνο το χειμώνα ή σε βαθιά κελάρια με χρησιμοποίηση μεγάλων ποσοτήτων πάγου. Έτσι μετά την ανακάλυψη του Linde η μύρα μπορούσε να παραχθεί ανεξαρτήτως εποχής. Το πρώτο σύστημα ψύξης δοκιμάστηκε σε ένα ζυθοποιείο του Μονάχου

Επιπλέον το 19<sup>ο</sup> αιώνα έγιναν σημαντικές έρευνες σχετικά με τη μύρα. Η πιο σημαντική ερευνά που έγινε απ' αυτές ήταν αυτή του Louis Pasteur ο οποίος το 1854 άρχισε να διδάσκει στο πανεπιστήμιο της Γαλλικής πόλης Lille. Επίσης εκτός από καθηγητής ήταν ο προϊστάμενος ενός ερευνητικού προγράμματος για τη διερεύνηση προβλημάτων που αντιμετώπιζαν οι βιομηχανίες της περιοχής, που παρήγαγαν κυρίως αλκοολούχα ποτά. Έτσι ο Pasteur αφιέρωσε τον εαυτό του στη μελέτη της διαδικασίας της ζύμωσης. Διαπίστωσε στη πορεία ότι ενώ η επιθυμητή παραγωγή της αλκοόλης γινόταν από τις ζύμες, ανεπιθύμητα προϊόντα της ζύμωσης οφείλονταν στη δράση άλλων οργανισμών, όπως τα βακτήρια. Σαν λύση στο πρόβλημα πρότεινε τη θέρμανση του ζύθου σε υψηλές θερμοκρασίες, έτσι ώστε να θανατωθούν τα ανεπιθύμητα βακτήρια. Την ίδια λύση πρότεινε και για το ξίνισμα του γάλακτος, δηλαδή τη διαδικασία που ονομάζουμε σήμερα «παστερίωση» (pasteurization).

Μια άλλη μεγάλη ανακάλυψη σχετικά με την μύρα βγήκε μέσα από τη δουλειά του Christian Hansen. Ο Δανός αυτός επιστήμονας απομόνωσε με επιτυχία ένα κύτταρο ζύμης, με το οποίο παρήγαγε καθαρή καλλιέργεια ζυμών. Με τον τρόπο αυτό η ζύμωση της μύρας βελτιώθηκε και η γεύση της τελειοποιήθηκε.

Τέλος το 1964 τα ξύλινα βαρέλια αντικαταστάθηκαν από μεταλλικά. Αυτό έγινε γιατί το καθαρίσμα, το γέμισμα, το κλείσιμο και το σφράγισμα ήταν πολύ πιο απλά.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΛΥΚΙΣΚΟΣ

## 1.1 Ιστορία λυκίσκου

Ο λυκίσκος (*Humulus lupulus*) έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως από την αρχαιότητα. Το *Humulus* είναι ένα λατινικό όνομα αβέβαιης προέλευσης. Ο *Humulus lupulus* καλείται «λύκος ιτιάς» λόγω της «τάσης του για αναρρίχηση σε ιτιές» (Charters, 2006).

Ο όρος λυκίσκος αναφέρεται στους στρόβιλους ή «κώνους» θηλυκών φυτών του είδους *Humulus lupulus*, L (*Cannabaceae*), ένα είδος που εξημερώθηκε πριν από περισσότερα από 1000 χρόνια (Behre, 1999) και είναι εγγενές στην ευρασιατική περιοχή. Εγγενείς γενεαλογίες έχουν επίσης ανιχνευθεί σε εύκρατες ζώνες της Βόρειας Αμερικής *Humulus lupulus* L. (*Cannabaceae*) (Hampton et al., 2002) και οι ποικιλίες εισήχθησαν με επιτυχία σε πολλά άλλα μέρη του κόσμου, συμπεριλαμβανομένων της Νότιας Αμερικής, της Νότιας Αφρικής, της Αυστραλίας και της Νέας Ζηλανδίας. Σύμφωνα με τον πιο πρόσφατο Διεθνή Κώδικα Βοτανικής Ονοματολογίας (ICBN, St. Louis Code) που εγκρίθηκε από το Δέκατο Έκτο Διεθνές Βοτανικό Συνέδριο το 2000, το επί του παρόντος αποδεκτό όνομα για την οικογένεια είναι *Cannabaceae*, (Greuter et al., 2000) μια οικογένεια που περιλαμβάνει μόνο δύο γένη, *Humulus* L και *Cannabis* L. Το ίδιο το γένος *Humulus* περιλαμβάνει αναμφισβήτητα τρία είδη, *Humulus lupulus* L., *Humulus japonicus* Sieb. & Zucc *japonicus* hop , ενδημικό στην Ανατολική Ασία και το οποίο δεν παράγει πικρά οξέα, αλλά και ένα λιγότερο αναφερόμενο κινέζικο είδος , *Humulus yunnanensis* Hu (Small, 1978; Neve, 1991; Zheng-yi et al., 1994; Stevens et. al., 2000; GRIN, 2011)

Κάποια σύγχυση έχει προκύψει ως συνέπεια της ύπαρξης φυτών λυκίσκου που προέρχονται από τη Β. Αμερική που διασταυρώνονται εύκολα με τον λυκίσκο που εισήγαγαν οι αρχικοί Ευρωπαίοι έποικοι. Οι πρώτοι έποικοι στη Β. Αμερική μπορούσαν να επιλέξουν γηγενείς άγριους λυκίσκους στο δάσος γύρω από τους οικισμούς τους. Ωστόσο, οι Ολλανδοί άποικοι επέλεξαν να εισάγουν αποξηραμένο λυκίσκο από την πατρίδα τους, ενώ οι Άγγλοι έποικοι εισήγαγαν μοσχεύματα από την Αγγλία. Επιπλέον, το 1629 η εταιρεία της 'Μασαχουσέτης' άρχισε να αναπτύσσει λυκίσκο στο εμπόριο. Έτσι, τα ονόματα *H. americanus* Nutt, *H. neomexicanus* Rydb. *H. volubilis* Salisb., *H. vulgaris* Gilib., *Lupulus communis* Gaertn. και *L. humulus* Mill., που αναφέρονται στη Β. Αμερική, δεν είναι είδη αλλά πιθανότατα συνώνυμα για διάφορες ποικιλίες *H. Lupulus*. Σήμερα, όλοι οι καλλιεργημένοι λυκίσκοι είναι ποικιλίες του *H. lupulus*. Εκτιμάται ότι υπάρχουν πάνω από 100 διαφορετικές ποικιλίες λυκίσκου που έχουν εκτραφεί για να παράγουν αυξανόμενες ποσότητες πικρών οξέων (έως 20% σε βάρος) ή πτητικών ελαίων ανάλογα με το σκοπό τους (Neve, 1991).

## 1.2 Ιστορία της Οικονομικής Χρήσης

Ο άγριος Λυκίσκος έχει χρησιμοποιηθεί σε όλη τη διάρκεια της Ιστορίας για γαστρονομικές, φαρμακευτικές και οικιακές χρήσεις ,αν και είναι κυρίως συστατικό ζυθοποιίας και γι' αυτό είναι γνωστό σήμερα. Η πρώιμη Ιστορία του λυκίσκου είναι ασαφής. Ο λυκίσκος ξεκίνησε να καλλιεργείται στην Βαβυλώνα αλλά όχι για το σκοπό της μύρας. Τα ζυμωμένα ποτά, όπως η μύρα, ήταν σημαντικά ποτά στο αρχαίο Κόσμο (υπάρχουν αρχαιολογικές ενδείξεις ότι οι Κινέζοι χωρικοί έπιναν μύρα ήδη από το 7000 π.Χ). Βότανα και μπαχαρικά πρόσθεταν συχνά για βελτίωση της γεύσης ή για διατήρηση της ποιότητας αλλά δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι χρησιμοποιούσαν το λυκίσκο για το σκοπό αυτό. Η πρώτη ξεκάθαρη απόδειξη για τη καλλιέργεια του λυκίσκου προέρχεται από τη Βαυαρία του 9<sup>ου</sup> αιώνα και η παράδοση της χρήσης του στη μύρα διατηρείται εκεί περίπου για μια χιλιετία.

Μέχρι το 7<sup>ο</sup> αιώνα τα ευρωπαϊκά μοναστήρια παρήγαγαν και εμπορεύονταν μύρα και όχι κρασί. Κατά την διάρκεια του Μεσαίωνα, πολλά μοναστήρια έγιναν διάσημα για τις μύρες τους , έτσι το εμπόριο ζυθοποιίας στη Ευρώπη αναπτύχθηκε σαν μια εξαιρετικά εκλεπτυσμένη τέχνη, ενώ η μύρα συχνά καταναλωνόταν είτε για πρωινό είτε για μεσημεριανό αλλά ακόμη και για βραδινό.

Η καλλιέργεια του λυκίσκου δεν είχε εισέρθει στη Αγγλία μέχρι το τέλος του 15<sup>ου</sup> αιώνα. Πριν από τότε οι μύρες στη Αγγλία ήταν παραδοσιακά γλυκές. Αφού έμαθαν ποσό καλά διατηρούσε τη μύρα ο λυκίσκος στην Ευρώπη , οι βρετανοί ζυθοποιοί αρχίσαν να προσθέτουν λυκίσκο σε αλεύρι και έτσι η γλυκιά μύρα που παρασκεύαζαν χωρίς λυκίσκο μετατράπηκε σε πικρή μύρα. Το 1491-1547 ο Henry Will απαντώντας σε μια αναφορά για τη απαγόρευση του λυκίσκου που περιγράφεται ως κακό ζιζάνιο που θα έβαζε τους ανθρώπους σε κίνδυνο, απαγόρευσε τη χρήση του λυκίσκου από τους ζυθοποιούς. Ωστόσο ο γιος του Edward VI διέκοψε την απαγόρευση το 1552.

Η σημερινή μύρα προέρχεται κυρίως από βύνη κριθαριού , λυκίσκο ,νερό και ζύμες άλλα στο παρελθόν προστέθηκαν επίσης διάφορα άλλα βότανα οπού κάποια ήταν και δηλητηριώδη . Τα παραδοσιακά βότανα περιείχαν Rosemay, Yarrow, coriander και Bog Myrtle.

Το 1516 στη Γερμανία , υπήρχαν κανονισμοί γνωστοί ως Reinheitsgebot. Οι Βαυαρικοί νομοί για τη καθαρότητα ορίζει ότι μόνο ο λυκίσκος θα χρησιμοποιηθεί για τη ζύμωση μύρας, καθιστώντας παράνομη τη παρασκευή μύρας με ισχυρά πρόσθετα. Η νομοθεσία αυτή θεωρείται ως πρώτος « νόμος περί ναρκωτικών» της σύγχρονης εποχής.

### 1.3 Οικονομικές πτυχές

Πάνω από 50 χώρες παράγουν λυκίσκο εμπορικά. Η Γερμανία και οι ΗΠΑ κυριαρχούν σήμερα στην παγκόσμια παραγωγή. Στις ΗΠΑ, ο λυκίσκος καλλιεργείται κυρίως στο Όρεγκον, την Ουάσινγκτον και το Αϊντάχο. Η παραγωγή και η χρήση του λυκίσκου είναι εντατικής εργασίας αλλά και οικονομικής σημασίας. Όπως συμβαίνει με όλες τις καλλιέργειες, και ειδικά για καλλιέργειες υψηλής αξίας όπως ο λυκίσκος, τείνουν να παρουσιάζουν διακυμάνσεις στην προσφορά και τη ζήτηση και στην κερδοφορία από έτος σε έτος. Επί του παρόντος, η παραγωγή λυκίσκου βρίσκεται σε φάση επέκτασης.

Το κόστος και η αποδοτικότητα των καλλιεργειών του λυκίσκου ποικίλλουν σημαντικά και η ακόλουθη ανάλυση δεν θα εφαρμοστεί σε πολλές γεωγραφικές περιοχές που έχουν διαφορετική αξία ιδιοκτησίας και άλλες οικονομικές συνθήκες. Στις ΗΠΑ, το κόστος εγκατάστασης ενός συστήματος πέργκολας και αμπέλου μπορεί να είναι περίπου 30.000 δολάρια ανά εκτάριο (12.000 δολάρια / στρέμμα). Η ετήσια συγκομιδή, το κόστος μετά τη συγκομιδή και το κόστος λειτουργίας κυμαίνονται από 20.000 έως 37.000 δολάρια ανά εκτάριο (8000 έως 15.000 δολάρια ανά στρέμμα). Με μέσο ακαθάριστο εισόδημα από \$ 25.000 έως \$ 50.000 ανά εκτάριο, οι καλλιεργητές μπορούν να καθαρίσουν \$ 7000 έως \$ 15.000 ανά εκτάριο (\$ 3000 έως \$ 6000 ανά στρέμμα) ετησίως μετά την αποπληρωμή του αρχικού κόστους.

Συγκριτικά, στις ΗΠΑ το μέσο καθαρό ετήσιο κέρδος όλων των αγροτών είναι περίπου \$ 750 / εκτάριο (\$ 300 / στρέμμα). Θα πρέπει επίσης να γίνει κατανοητό ότι η πλειονότητα των καλλιεργειών λυκίσκου σε ολόκληρο τον κόσμο συγκεντρώνεται σε περιοχές όπου το έδαφος και το κλίμα είναι ιδανικά για την καλλιέργεια και φυσικά οι περιοχές αυτές παρουσιάζουν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα. Επιπλέον, οι περισσότεροι λυκίσκοι παράγονται από μερικούς μεγάλους καλλιεργητές, οι οποίοι κυριαρχούν στην αγορά εξαιτίας των οικονομικών. Ωστόσο, η επέκταση της αγοράς στη μύρα παρέχει ευκαιρίες στους μικρούς καλλιεργητές να παράγουν ιδιαίτερα επιθυμητές ποικιλίες λυκίσκου, οι οποίες μπορούν να πωλούνται σε πολύ υψηλότερες τιμές από τις ποικιλίες που χρησιμοποιούνται για μύρες που καταναλώνονται με μάζα. Στις ΗΠΑ, ο λυκίσκος συνήθως πωλείται για λιγότερο από 5,00 δολάρια / λίβρα, αλλά ορισμένες ποικιλίες, ειδικά εάν εκτραφούν με βιολογικό τρόπο, μπορούν να πουληθούν πέντε φορές περισσότερο. Η μύρα είναι το τρίτο δημοφιλέστερο ποτό στον κόσμο, μετά από νερό και τσάι, και είναι ευρέως το πιο απορροφούμενο αλκοολούχο ποτό κατ'όγκο, που αντιπροσωπεύει περίπου το 90% της κατανάλωσης, σε σύγκριση με 5% περίπου για κάθε κρασί και οινοπνευματώδη ποτά. Ωστόσο, όσον αφορά την καθαρή αλκοόλη που καταναλώνεται παγκοσμίως, τα οινοπνευματώδη ποτά αντιπροσωπεύουν περίπου το 50%, η μύρα για το 35% και ο οίνος για το 8%. Οι ισλαμικές και ινδουιστικές θρησκείες απαγορεύουν τη χρήση αλκοόλ και αυτό επηρεάζει τη γεωγραφία της δημοτικότητας της μύρας. Ανά κάτοικο, τα ευρωπαϊκά έθνη κυριαρχούν στην κατανάλωση μύρας. Προς το παρόν, οι πωλήσεις μύρας αυξάνονται στις χώρες του Τρίτου Κόσμου και μειώνονται κάπως στα δυτικά έθνη. Τον τελευταίο καιρό,

όμως, η παραγωγή μπύρας έχει γίνει πολύ εξειδικευμένη και εμπορική. Η ετήσια κατανάλωση μπύρας παγκοσμίως το 2015 ανήλθε σε 200 εκατομμύρια χιλιόλιτρα περίπου (528 δισεκατομμύρια αμερικανικά γαλόνια), που αντιστοιχούν σε 316 δισεκατομμύρια τυποποιημένες φιάλες μπύρας 633 κ.εκ. (568 κ.εκ.) ή 45 μπουκάλια για κάθε άνθρωπο (συμπεριλαμβανομένων των μωρών) στη Γη . Παρά το γεγονός ότι οι πωλήσεις μπύρας μειώνονται σε ορισμένες χώρες της Δύσης, η παγκόσμια αγορά μπύρας αυξάνεται έντονα και αναμένεται να δημιουργήσει περίπου 700 δισεκατομμύρια δολάρια σε πωλήσεις έως το 2020. Επί του παρόντος, τέσσερις εταιρείες ελέγχουν το ήμισυ της παγκόσμιας παραγωγής μπύρας και η υπόλοιπη μπύρα παράγεται από σχετικά μεγάλες εταιρείες ("macrobreweries").

Ωστόσο τις τελευταίες δεκαετίες υπήρξε μια ανάπτυξη στα μικρό –ζυθοποιεία, τα οποία όχι μόνο παρασκευάζουν αλλά και πουλούν την μπύρα τους. Αυτές οι μικρότερες επιχειρήσεις προσφέρουν αρκετά διαφορετικά προϊόντα από τα κυρίαρχα εθνικά και πολυεθνικά ζυθοποιεία, ιδιαίτερα για την τοπική κατανάλωση. Στις ΗΠΑ υπάρχουν σήμερα περίπου 3000 μικρά τοπικά ζυθοποιεία, τα οποία παρέχουν το 10% της μπύρας της χώρας. Δεδομένου ότι η μπύρα είναι ογκώδης και η μεταφορά μεγάλων αποστάσεων είναι επιβλαβής για το περιβάλλον, η παραγωγή και κατανάλωση «locanore» είναι οικολογικά επιθυμητή. Η γεύση του λυκίσκου είναι ο κύριος παράγοντας ποιότητας που συνδέεται με τις τοπικές ζυθοποιείες και, ως εκ τούτου, οι τοπικοί ζυθοποιοί αναζητούν σπιτικό, ξεχωριστό λυκίσκο. Η πρόβλεψη για μια αυξανόμενη αγορά μπύρας διασφαλίζει ότι θα υπάρξει επίσης μια αυξανόμενη αγορά για τον λυκίσκο.

Χώρα / Περιοχή	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Γερμανία	18,472	18,386	18,228	17,124	16,849	17,308	17,847
Τσεχία	5302	5210	4632	4366	4319	4460	4617
Πολωνία	2167	1545	1297	1510	1357	1410	1424
Σλοβενία	1517	1391	1376	1160	1165	1296	1403
Αγγλία	1075	1069	1113	1051	982	1051	940
Άλλες Ευρωπαϊκές Χώρες	4019	3893	3403	3173	2971	2812	2903
Σύνολο Ευρώπης	32,552	31,494	30,049	28,384	27,643	28,337	29,134
ΗΠΑ	16,077	12,662	12,054	12,923	14,254	15,384	17,801
Κίνα	6710	5028	4390	3529	2538	2701	2574
Αυστραλία	514	448	455	452	449	408	488
Νέα Ζηλανδία	400	400	380	385	378	370	388
Άλλες	938	966	920	919	1026	829	915
Κόσμος	57,191	50,998	48,248	46,592	46,288	48,029	51,300

Πίνακας 1: Περιοχές παγκόσμιας παραγωγής λυκίσκου(εκτάρια) 2009-2015

## 1.4 Βοτανική περιγραφή

Ο λυκίσκος είναι ένα ποώδες πολυετές φυτό, το οποίο παράγει ετήσιες φυτείες. Την άνοιξη και τις αρχές του καλοκαιριού τα αμπέλια αναπτύσσονται γρήγορα, φτάνοντας στο μέγιστο ύψος τους, 5-7 μ. Στις αρχές όμως του καλοκαιριού, όταν καταλάβουν ότι υπάρχει μείωση του μήκους της ημέρας, σταματούν να αναπτύσσονται.

Στο βόρειο ημισφαίριο, οι λυκίσκοι («κώνοι») συγκομίζονται συνήθως στα τέλη Αυγούστου ή Σεπτεμβρίου, από το πολυετές φυτείες (Neve, 1991). Οι κώνοι ξηραίνονται αμέσως μετά τη συγκομιδή με εξαναγκασμένο ζεστό αέρα και συχνά συμπιέζονται σε πυκνά κυλινδρικά σφαιρίδια, περίπου. Διάμετρος 5-8 mm και μήκος έως 25 mm.

Η «πελετοποίηση» μειώνει σημαντικά τη συνολική επιφάνεια, μειώνοντας κατά συνέπεια τον ρυθμό χημικής οξειδωσης / υποβάθμισης, και επίσης παρέχει ένα πιο συμπαγές προϊόν για αποστολή. Τα τυπικά μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των κώνων λυκίσκου σε σκόνη περιλαμβάνουν πολυάριθμους κίτρινους αδένες που είναι μοναδικοί για το είδος («lupulin glands»).



Εικόνα 1: Κώνοι λυκίσκου (στρόβιλοι) A) Πριν από τη συγκομιδή. B) Αδένες της λουπουλόνης στους κώνους

## 1.5 Φαρμακευτικές χρήσεις

Ο λυκίσκος έχει μεγάλη ιστορία χρήσης στη λαϊκή ιατρική, όχι μόνο στον παλαιό Κόσμο, αλλά και από τους ιθαγενείς Αμερικανούς. Οι συνθήκες που αντιμετωπίστηκαν περιλαμβάνουν , μώλωπες, καρκίνο, κράμπες, βήχα, αδυναμία, παραλήρημα, διάρροια, πυρετό, καταπληξία, υστερία, φλεγμονή, αϋπνία, ίκτερο και ρευματισμούς. Η ρητίνη λυκίσκου είναι βακτηριοστατική

(έναντι Gram θετικών οργανισμών) και αυτός ο παράγοντας μπορεί να δώσει κάποια αξιοπιστία στη χρήση του λυκίσκου σε προηγούμενους χρόνους για τη θεραπεία ορισμένων τύπων επιδερμικών πληγών, ερεθισμάτων και βακτηριακών λοιμώξεων όπως η φυματίωση. Παρόλο που η βακτηριοστατική δραστηριότητα δεν είναι σημαντική σε σύγχρονες συνθήκες ζυθοποιίας, ήταν τόσο σημαντική που όταν τα περιεχόμενα ρητίνης προσδιορίστηκαν αρχικά χημικά εκφράστηκαν σε όρους PV (συντηρητική τιμή). Στην Κίνα και την Ιαπωνία οι ξηροί κώνοι έχουν χρησιμοποιηθεί ως τονωτικό, για την αντιμετώπιση των προβλημάτων του στομάχου και για την αύξηση της ροής των ούρων.

Τον δέκατο ένατο αιώνα, ο λυκίσκος ήταν ένα συστατικό σε πολλά φάρμακα ευρεσιτεχνίας. Ένα από αυτά ήταν πικραλίδα λυκίσκου, αποτελούμενο από λυκίσκο σε αλκοόλ 30%. Σήμερα, τα εκχυλίσματα προστίθενται σε κρέμες, λοσιόν και σαμπουάν στην Ευρώπη για τις υποτιθέμενες ιδιότητες μαλακώσεως του δέρματος. Το εκχύλισμα λυκίσκου έχει επίσης χρησιμοποιηθεί ως αρωματική πικρή αρχή στις φαρμακευτικές παρασκευές (οι πικρές αρχές μερικές φορές χρησιμεύουν ως διέγερση της όρεξης).

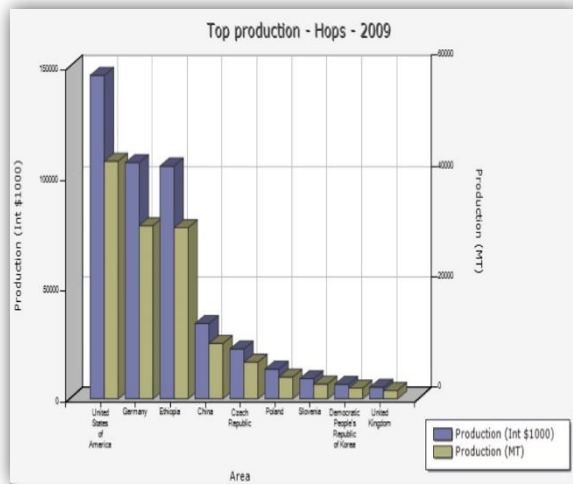
Ο λυκίσκος συμβάλλει σε μια ποικιλία χημικών ουσιών στην μύρα και υπάρχουν ισχυρισμοί ότι υπάρχουν κάποια εμφανή πλεονεκτήματα στη κατανάλωση μύρας που οφείλονται στις χημικές ουσίες του λυκίσκου. Οι συνθήκες που υποτίθεται ότι βελτιώθηκαν λόγω αυτών των ουσιών στην μύρα είναι ο διαβήτης, ο καρκίνος, οι καρδιακές παθήσεις, οι πέτρες στα νεφρά, οι χολόλιθοι, η νόσος του Alzheimer και η ασθένεια του Parkinson.

## 1.6 Βιομηχανική παραγωγή λυκίσκου

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το *Humulus lupulus* είναι ένα πολυετές φυτό που αναβιώνει κάθε άνοιξη από τα ριζώματα ενός υπόγειου ριζικού υλικού. Στη φύση εξαπλώνεται μέσω υπόγειων ριζωμάτων και από σπόρους. Ο Small (1978) διαχώρισε τους *H. lupulus* σε πέντε ταξινομικές ποικιλίες βασισμένες κυρίως στα χαρακτηριστικά των φύλλων, όπως οι τρίχες των φύλλων, οι λοβοί των φύλλων και ο αριθμός των αδένων. Ο λυκίσκος ευρωπαϊκού τύπου είναι λιγότερο εφηβικός, έχει λιγότερους αδένες και έχει φύλλα σε σχήμα καρδιάς με λίγους λοβούς. Οι ζυθοποιοί έχουν από καιρό αναγνωρίσει τον παραδοσιακό ευρωπαϊκό λυκίσκο ως ήπιου και πιο αρωματικού από αυτούς από τη Β. Αμερική. Ο Haunold et al. (1993) ανέφερε ότι ο ντόπιος λυκίσκος της Β. Αμερικής είχε «βαθιά λοβωτά φύλλα με κυρίαρχο πέντε ή επτά λοβούς». Ο Small επίσης παρατήρησε τα έντονα εφηβικά και βαθιά λοβωτά φύλλα των γηγενών αμερικανικών ποικιλιών λυκίσκου που επίσης σημείωσαν οι πρώτοι Άγγλοι κτηνοτρόφοι λυκίσκου για την υψηλή περιεκτικότητά τους σε ρητίνη, περιγράφοντάς τους ως πλούσια σε αδένες και «βουτυρώδες».

Στην εμπορική παραγωγή λυκίσκου, τα αμπέλια λυκίσκου εκπαιδεύονται για να ανεβαίνουν χορδές που έχουν αναρτηθεί από 25 πόδια ή υψηλότερες πέργκολες. Τα αμπέλια συγκρατούν τις χορδές με δυνατές γαντζωμένες τρίχες (στο Β. Ημισφαίριο) στην κορυφή της πέργκολας. Οι πλευρικοί βραχίονες αναπτύσσονται στους κόμβους, παράγοντας λουλούδια στους ακροδέκτες τους. Κατά τη συγκομιδή τα αμπέλια κόβονται και οι κώνοι αφαιρούνται, αλλά το στεφάνι

παραμένει στο έδαφος ως πηγή για την ανάπτυξη των επόμενων ετών. Τα στεφάνια μπορούν να παραμείνουν παραγωγικά για χρόνια και γενικά αφαιρούνται μόνο όταν ένα αμπέλι λυκίσκου είτε αφαιρείται από την παραγωγή είτε αντικαθίσταται με μια νέα ποικιλία. Ο λυκίσκος απαιτεί μεγάλες καλοκαιρινές μέρες για να ανθίσει και να παράγει καλές αποδόσεις κώνου. Μόνο οι κώνοι των θηλυκών φυτών χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία ζυθοποιίας. Οι ώριμοι κώνοι καλύπτονται με μικροσκοπικούς αδένες που συγκρατούν την κολλώδη κίτρινη ρητίνη που περιέχει τις ενώσεις που χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία παρασκευής. Οι κώνοι κυμαίνονται σε μέγεθος από 1 έως 10 εκατοστά σε μήκος με πράσινα τεμαχισμένα βράκτια. Οι αδένες ρητίνης επικαλύπτουν τα βράκτια και τους σπόρους των κώνων.



Εικόνα 2 Συνολική παραγωγή λυκίσκου

Ένας καλλιεργημένος λυκίσκος υψηλής ποιότητας απαιτεί μέση τιμή ηλιακής ακτινοβολίας 1800-2000 ώρες ετησίως, συμπεριλαμβανομένων 1300-1500 ωρών κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου. Τα ιδανικά γεωγραφικά πλάτη για την καλλιέργεια καλλιεργειών είναι 35-51 ° Β και 34-43 ° S με ετήσια θερμοκρασία 5-21 ° C (FAO-Ecoport

Συνολικά, ο λυκίσκος καλλιεργείται σε περίπου 30 χώρες. Η παγκόσμια παραγωγή ανήλθε σε 141.307 τόνους το 2009 (FAOSTAT). Η συνολική έκταση των καλλιεργειών λυκίσκου εκτιμήθηκε στα 83.283 εκτάρια από το FAO το 2009 και οι χώρες με την υψηλότερη παραγωγή στον κόσμο ήταν οι ΗΠΑ, η Γερμανία και η Αιθιοπία (FAOSTAT). Το 2009, οι ΗΠΑ παράγααν το 30,2%, η Γερμανία 22,2% και η Αιθιοπία το 21,9% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής. Πολύ πίσω από αυτά είναι η Κίνα με παραγωγή που αντιπροσωπεύει 7,1% και η Τσεχική Δημοκρατία περίπου ένα 4,7% της παγκόσμιας παραγωγής, αντιπροσωπεύοντας μεταξύ αυτών των 5 χωρών το 86,1% της παγκόσμιας παραγωγής (Εικ. 2-2).

Τα δεδομένα που παρέχονται από άλλες πηγές, όπως η IHGC (International Hop Growers Convention) και η Ευρωπαϊκή Ένωση δεν αναφέρουν την εξέχουσα συμβολή της Αιθιοπίας στην παγκόσμια παραγωγή. Στην πραγματικότητα, η Αιθιοπία δεν αναφέρεται καν μεταξύ των



αφρικανικών χωρών που καλλιεργούν λυκίσκο και δεν παρέχεται καμία εξήγηση. Οι Αιθίοπες αναφέρονται σε ένα άλλο φυτό, το *Rhamnus prinoides*, (γνωστό ως Gesho) ως λυκίσκο και το χρησιμοποιούν ως πικρό παράγοντα στην μύρα. Αυτό δεν θα μπορούσε να συγγέεται για την παραγωγή λυκίσκου στη βάση δεδομένων FAOSTAT, οπότε είναι σίγουρα ένα γεγονός που πρέπει να αποσαφηνιστεί.

Ο συγκομισμένος λυκίσκος κανονικά περιέχει περίπου 80% υγρασία, ο οποίος μειώνεται σε περίπου 10% με ξήρανση σε κλιβάνους ζεστού αέρα με εξαναγκασμένη βύθιση και στη συνέχεια συσκευάζεται για αποθήκευση και παράδοση. Στις περισσότερες εμπορικές περιοχές που παράγουν λυκίσκο παγκοσμίως, η συλλογή γίνεται με μηχανές, οι οποίες έχουν αποδειχθεί 10-20 φορές πιο αποδοτικές από την εργασία με το χέρι. Οι αποδόσεις του Ca. 2 τόνοι / εκτάριο (0,9 τόνοι / στρέμμα) είναι τυπικοί. Σε θερμοκρασία δωματίου, η οξείδωση οδηγεί σε γρήγορες απώλειες της αξίας ζυθοποιίας του λυκίσκου, έτσι ώστε η κρύα (συχνά παγωμένη) αποθήκευση πρέπει να δοθεί το συντομότερο δυνατό μετά τη συγκομιδή. Ο λυκίσκος ψύχεται κανονικά μέχρι να χρησιμοποιηθεί στη ζυθοποιία, συνήθως μεταξύ 6 και 20 μηνών μετά τη συγκομιδή. Σε θερμοκρασία δωματίου, η οξείδωση παράγει βαλερικό οξύ (που συνδέεται με την οσμή του χαλασμένου τυριού), ισοβαλερικό οξύ (με «ιδρωμένη» οσμή) και καρυλικό οξύ («οσμή κατσίκας»).

## 1.7 Μικρές μαγειρικές χρήσεις

Οι νεαροί βλαστοί (που αναδύονται από τα υπόγεια ριζώματα) που έχουν μήκος 5-10 εκατοστά (2-4 ίντσες) μερικές φορές καταναλώνονται όπως τα σπαράγγια. Αυτές οι λόγχες (μερικές φορές αποκαλούνται "κορυφές λυκίσκου") μπορούν να βράσουν για 2-3 λεπτά και στη συνέχεια να βράσουν ξανά σε μια αλλαγή νερού μέχρι να μαλακώσουν. Όταν βράσουν για 5 λεπτά στον ατμό και σερβιριστούν με λιωμένο βούτυρο ή με σάλτσα τυριού, οι βλαστοί μοιάζουν γευστικά πολύ σαν τα σπαράγγια. Στις περιοχές της Ευρώπης που παράγουν λυκίσκο μερικές φορές ο λυκίσκος σερβίρεται σε φέτες σε ωραία εστιατόρια. Επίσης το τσάι του λυκίσκου παρασκευάζεται μερικές φορές με εκχείλιση (με καυτό αλλά όχι βραστό νερό) των φύλλων και των κώνων. Ο λυκίσκος μπορεί να προστεθεί σε σούπες και άλλα τρόφιμα για την παραγωγή πικρής γεύσης, εάν είναι επιθυμητό. Τα εκχυλίσματα λυκίσκου και το λάδι έχουν χρησιμοποιηθεί για την γεύση καπνού, ζύμης, ποτά εκτός από μύρες, κατεψυγμένα γαλακτοκομικά επιδόρπια, καραμέλες, ζελατίνες, πουτίγκες, ψητά, διάφορα γλυκά, τσίχλες και καρυκεύματα.

Πριν οι ζυμομύκητες γίνουν ευρέως διαθέσιμοι στα καταστήματα, η ζύμη για την παρασκευή αρτοποιημάτων παρασκευάστηκε καλλιεργώντας άγρια ζύμη σε ένα αφένημα από αλεύρι, λυκίσκο και νερό. Ο λυκίσκος χρησίμευσε για την αναστολή των ανταγωνιστικών μικροβίων, επιτρέποντας την ανάπτυξη της ζύμης. Όταν το μίγμα λυκίσκου-ζύμης συνδυάστηκε με ζύμη ψωμιού, ο λυκίσκος πρόσθεσε γεύση στο ψωμί.

## 1.8 Διάφορες δευτερεύουσες χρήσεις

Τα στελέχη λυκίσκου περιέχουν σημαντικές ίνες και έχουν χρησιμοποιηθεί στην κατασκευή χαρτιού και σπάγγου. Τα στελέχη χρησιμοποιήθηκαν κάποτε για την κατασκευή καλάθων και ψάθινων προϊόντων. Οι ταξιανθίες και τα φύλλα του λυκίσκου αποδίδουν κίτρινη βαφή.

## 1.9 Συγκριτική χημεία και γεύση του λυκίσκου της Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής

Τα είδη *Humulus* έχουν μικροσκοπικούς αδένες που συνθέτουν ρητινώδες υλικό. Πάνω από 300 πτητικά έλαια (επίσης γνωστά ως βασικά έλαια) έχουν καταγραφεί στη ρητίνη, τα οποία παράγουν χαρακτηριστικές οσμές και συμβάλλουν στη γεύση. Το *Myrcene* είναι το πιο κοινό από αυτά τα αιθέρια έλαια. Ενώ οι μικροσκοπικοί εκκριτικοί αδένες εμφανίζονται στο φύλλωμα, είναι μεγαλύτεροι και πιο άφθονοι στις μασχάλες των βραχιόνων που βρίσκονται στους κώνους. Στους κώνους, αυτοί οι κιτρινωποί αδένες ονομάζονται «λουπουλονικοί αδένες» και μερικές φορές οι συλλογές λουπουλόνης πωλείται ως ιατρικό θεραπευτικό υλικό. Οι μπύρες διαφορετικών περιοχών είναι συχνά πολύ διαφορετικές ως προς τη γεύση, ουσιαστικά λόγω του διαφορετικού λυκίσκου που χρησιμοποιείται στη ζυθοποιία. Οι σημαντικές χημικές ουσίες στους κώνους λυκίσκου είναι τα α-οξέα και τα β-οξέα, που επίσης αναφέρονται ως *humulones* και *lupulones*, αντίστοιχα. Και οι δύο συμβάλλουν στην πικράδα της μπύρας, αλλά τα α-οξέα είναι πολύ πιο έντονα από τα β-οξέα. Ο «λυκίσκος πικράδας» είναι ο λυκίσκος που χρησιμοποιείται για την παραγωγή πικράδας στην μύρα. Οι ποικιλίες λυκίσκου που χρησιμοποιούνται έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε α-οξέα. Ο όρος "χονδρό" είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να δείξει ότι μια μύρα έχει ξεφύγει και είναι πολύ πικρή. Οι «ευγενείς λυκίσκου» έχουν σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα α-οξέων και χρησιμοποιούνται για να προσδώσουν άρωμα και γεύση, αλλά όχι απαραίτητα πικράδα. Οι ποικιλίες αυτού του τύπου λυκίσκου είναι δημοφιλείς στη Γερμανία και το Βέλγιο.

Δεδομένου ότι τα α-οξέα είναι η κύρια πηγή της πικράδας, το περιεχόμενο πρέπει να είναι γνωστό για τον προσδιορισμό του ποσοστού με τον οποίο προστίθεται λυκίσκος στο ζυθοποιείο. Το περιεχόμενο του α-οξέος κυμαίνεται από 3,5% σε παραδοσιακούς ευρωπαϊκούς τύπους έως και 15% σε νεότερες πικρές ποικιλίες. Οι ευρωπαϊκές μορφές λυκίσκου έχουν σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε «μαλακές ρητίνες» (α- και β-οξέα συλλογικά), λόγος α: β που προσεγγίζει μέτρια χαμηλή περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο και σχετικά χαμηλό μυρσενιο στο κλάσμα αιθέριου ελαίου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΥΣΤΑΣΗ ΛΥΚΙΣΚΟΥ

### 2.1 Χημεία κώνων λυκίσκου και ενώσεων που προέρχονται από λυκίσκο

Οι θηλυκοί κώνοι λυκίσκου περιέχουν αδενικές δομές (αδένες λουπουλόνης) που εκκρίνουν σκόνη λουπουλόνης, πλούσια σε δευτερογενείς μεταβολίτες. Πάνω από 1000 ενώσεις ταυτοποιήθηκαν σε ώριμους κώνους λυκίσκου. Αυτά μπορούν να ταξινομηθούν ως πτητικά έλαια, πολυφαινόλες και (ρητινώδη) πικρά οξέα .

### 2.2 Ρητίνες λυκίσκου

Η περιεκτικότητα σε ρητίνη του καλλιεργημένου λυκίσκου που χρησιμοποιείται σήμερα για τη ζυθοποιία είναι κοντά στο 30%. Αυτή η ρητίνη αποτελείται από έναν αριθμό ταυτοποιημένων ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των α- και β-πικρών οξέων και δευτερευόντων παραγώγων όπως τα δεσοξυ-α-οξέα. Περιέχει επίσης τα περισσότερα λιπαρά και κεριά(waxes) ο κώνος του λυκίσκου (περίπου 5% του συνολικού του βάρους)

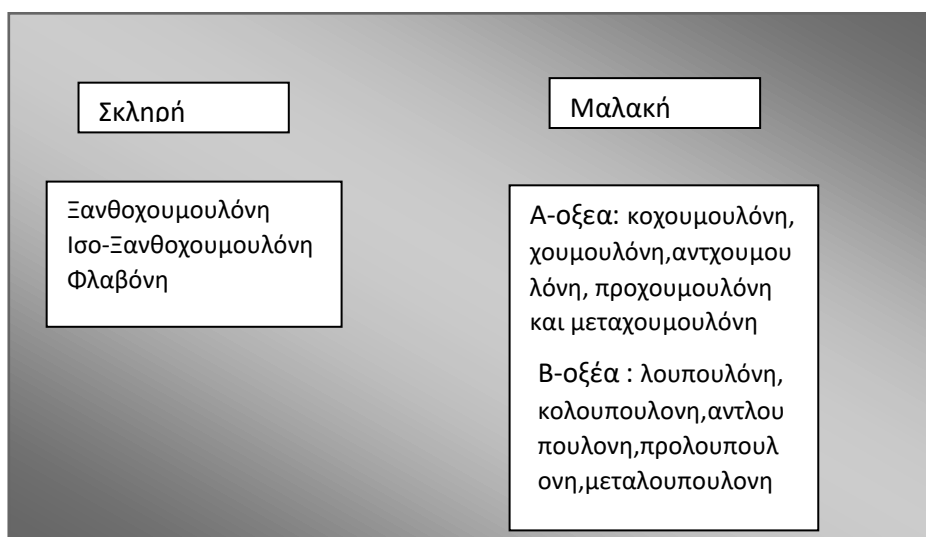
Η αναλογία των διαφορετικών συστατικών της lupulinic ρητίνης (ολική ρητίνη) σχετίζεται με την ποιότητά της και έτσι η Ευρωπαϊκή Σύμβαση Ζυθοποιίας (EBC) καθώς και η American of Brewing Chemists (ASBC) πρότειναν το ακόλουθο σύστημα ονοματολογίας με βάση τα κλάσματα που μπορούν να ληφθούν σύμφωνα με τον διαλύτη που χρησιμοποιείται: σκληρή ρητίνη (μέρος της συνολικής ρητίνης που είναι αδιάλυτο σε εξάνιο) και μαλακή ρητίνη (τμήμα της συνολικής ρητίνης που είναι διαλυτή σε εξάνιο). Αυτή η διαφορά στη διαλυτότητα οφείλεται στη χημική τους σύνθεση. Ωστόσο, τόσο τα κλάσματα σκληρής όσο και μαλακής ρητίνης είναι διαλυτά σε ψυχρή μεθανόλη και σε διαιθυλαιθέρα, παρέχοντας έναν τρόπο για να τα διακρίνουμε από τα κεριά λυκίσκου που δεν είναι διαλυτά σε κρύα μεθανόλη. Αυτά τα κεριά αποτελούνται από αλκοόλες, οξέα, εστέρες και υδρογονάνθρακες μακράς αλυσίδας (Verhagen, 2010).

Το κλάσμα μαλακής ρητίνης βασικά αποτελείται από ανάλογες σειρές στενών συγγενών ομολόγων, α- και β- πικρών οξέων, ενώ το κλάσμα σκληρής ρητίνης αποτελείται από ένα κυρίως απροσδιόριστο μείγμα προϊόντων οξειδωσης των μαλακών ρητινών. Αυτό το κλάσμα είναι μεγαλύτερο στους λυκίσκους που έχουν λάβει ακατάλληλη επεξεργασία μετά τη συγκομιδή ή με ανεπαρκείς συνθήκες αποθήκευσης.

Οι κύριες ενώσεις που υπάρχουν σε σκληρές και μαλακές ρητίνες μπορούν να παρατηρηθούν παρακάτω.

Ενώσεις	Ποσοστό %
α -Οξέα	2-17
β - Οξέα	2-10
Αμινοξέα	0.1
Άλατα	10
Κυτταρίνη/Λιγνίνη	40-50
Μονοσακχαριτες	2
Ελαία και λιπαρά οξέα	1-5
Πηκτινες	2
Πολυφαινόλες/Ταννίνες	3-6
Πρωτεΐνες	15
Πτητικά ελαία	0.5-3 (v/m)
Νερό	8-12

Πίνακας 2 Χημική σύνθεση λυκίσκου που έχει ξηραθεί στον αέρα (από Benitez, 1997)



Πίνακας 3 : Σύνθεση ρητίνης λυκίσκου

### 2.3 Πικρά οξέα

Τα κύρια συστατικά της μαλακής ρητίνης λυκίσκου είναι τα πικρά οξέα, τα οποία διακρίνονται ως α-οξέα ή χουμουλόνες και β-οξέα ή λουπουλόνες (βλέπε εικ4), που είναι, αντίστοιχα, παράγωγα δι ή τρι-προπυλωμένης φθορογλυκινόλης.

Το 1888, ο Hayduck ταξινόμησε τις πικρές ενώσεις λυκίσκου σε δύο κλάσματα ανάλογα με τη συμπεριφορά τους παρουσία του ιόντος μόλυβδου, δηλαδή, ένα κλάσμα α-οξέων που καταβυθίστηκε από μόλυβδο και ενώσεις που παρέμειναν στο υπερκείμενο, τα β-οξέα. Οι Wieland και Wollmer ανέθεσαν τη δομή αυτών των ενώσεων το 1925-1926. Περαιτέρω, μεταξύ του 1950 και του 1975, ο Rigby στις ΗΠΑ και ο Howard στο Ηνωμένο Βασίλειο, έδειξαν ότι τα α- και β-οξέα ήταν ένα μείγμα ομολόγων και αναλογών που ανήκουν σε δύο σειρές που περιλαμβάνουν, στην πραγματικότητα, τρία συστατικά που διαφέρουν στη φύση της πλευρικής αλυσίδας τους όπου προέρχεται από τα υδρόφοβα αμινοξέα, λευκίνη, βαλίνη και ισολευκίνη. Η αρχική δομή των α-οξέων προτάθηκε από τη Wieland το 1926 και επιβεβαιώθηκε από τη σύνθεσή του από τον Riedl στη δεκαετία του 1950. Αυτή η προτεινόμενη δομή δεν διέφερε ουσιαστικά από αυτήν που επιβεβαιώθηκε τελικά από τους De Keukeleire και Verzele το 1970.

Οι Verzele και De Keukeleire είχαν αρχίσει να εργάζονται επάνω στο λυκίσκο το 1945 στο Πανεπιστήμιο της Γάνδης του Βελγίου και έγινε ένας από τους σημαντικότερους συντελεστές στη γνώση και την κατανόηση της χημείας του λυκίσκου. Μεταξύ πολλών άλλων πραγμάτων, όχι μόνο αποσαφήνισαν τη δομή των πικρών ενώσεων του λυκίσκου, αλλά και το μοτίβο ενοποίησης τους και την απόλυτη διαμόρφωση της φυσικής (-) - χουμουλόνης, των αντιδράσεων οξείδωσης και μείωσής τους, καθώς και του ισομερισμού κατά τη διάρκεια του βρασμού του μούστου (Enari, 1995, Moir, 2000).

Το 1979, η Verzele επαλήθευσε την κύρια δομή της humulone με το φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίων 100 MHz, στο οποίο όλα τα σήματα εκχωρήθηκαν αναμφίβολα (Moir, 2000). Αυτές είναι η humulone (1) / lupulone (6), η cohumulone (2) / colupulone (7) και η adhumulone (3) / adlupulone (8) όπως μπορεί να παρατηρηθεί στη εικ4.

Τα β-οξέα (lupulone, colupulone και adlupulone) διαφέρουν δομικά από τα οξέα (humulone, cohumulone και adhumulone) με την παρουσία μιας ακόμη prenyl ομάδας, ως αποτέλεσμα της οποίας είναι ελαφρώς πιο λιπόφιλα. Τα ρητινώδη πικρά οξέα είναι μοναδικά στον λυκίσκο και μέχρι σήμερα δεν έχουν βρεθεί σε κανένα άλλο είδος στον κόσμο (Verhagen, 2010). Στους κώνους αυτά τα οξέα υπάρχουν σε ελεύθερη, πλήρως πρωτονιωμένη κατάσταση. Σε αυτήν την κατάσταση, είναι πολύ αδιάλυτα στο νερό αλλά μπορούν να εκχυλιστούν με μεθανόλη, αν και πιο επιλεκτικά με εξάνιο, τολουόλιο, διγλωρομεθάνιο ή διαιθυλαιθέρα. Εάν απομονωθούν, τα α-οξέα έχουν μια κίτρινη, παστώδη όψη ενώ τα β-οξέα είναι λιγότερο κίτρινα και σχεδόν κρυσταλλικά. Ωστόσο, όταν θερμαίνονται ελαφρά γίνονται πιο υγρά, αν και τα β-οξέα απαιτούν περισσότερη θερμότητα για να υγροποιηθούν. Αυτές οι ενώσεις ορίζονται ως οξέα λόγω των χαρακτηριστικών τους (δότη πρωτονίων), και διαλύονται ελεύθερα σε αλκαλικά διαλύματα, όπως τα α-οξέα που έχουν πολύ χαμηλότερες τιμές pKa (Simpson, 1993).

Η τιμή pKa για τα α-οξέα έχει τιμή pH κοντά στο 4,7, ενώ τα β-οξέα φτάνουν μόνο το 50% του διαχωρισμού σε pH 5,7. Η πρακτική συνέπεια για την παρασκευή μπίρας είναι ότι στο τυπικό pH της μπίρας (μεταξύ 3,8 και 4,5) τα α-οξέα θα είναι αρκετά διαλυτά, έτσι ώστε μια μεγάλη ποσότητα μη-ισομερισμένων α-οξέων να περάσει από το βρασμένο βούτυρο στην μπίρα, ενώ ένα πολύ χαμηλό ποσοστό των β-οξέων θα διαλυτοποιηθεί.

Έτσι, ενώ η μέση μύρα περιέχει αρκετά μέρη ανά εκατομμύριο (ppm) α-οξέων, δεν περιέχει ποτέ περισσότερα από 1 ppm β-οξέων (Ono et al., 1985).

Όσον αφορά την απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας, η δομή τους περιέχει χρωμοφόρα (φορείς διαφορετικών ηλεκτρονίων που όταν διεγερθούν από τη ενέργεια του ορατού φωτός ,αντανακλούν το εύρος των χρωμάτων ) που απορροφούν έντονα στην περιοχή 310-340 nm με  $\epsilon$  c.a 104, εξασφαλίζοντας την ανίχνευσή τους σε διάλυμα με χαμηλές συγκεντρώσεις (Hughes P, 1996).

Ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό των οξέων λυκίσκου είναι η εξαιρετικά υψηλή περιεκτικότητά τους, που αντιπροσωπεύει έως και 25% και περισσότερο του ξηρού βάρους των κώνων λυκίσκου. Οι σχετικές αναλογίες των μεμονωμένων συστατικών εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία λυκίσκου και, για μια δεδομένη ποικιλία, από τις συνθήκες ανάπτυξης.

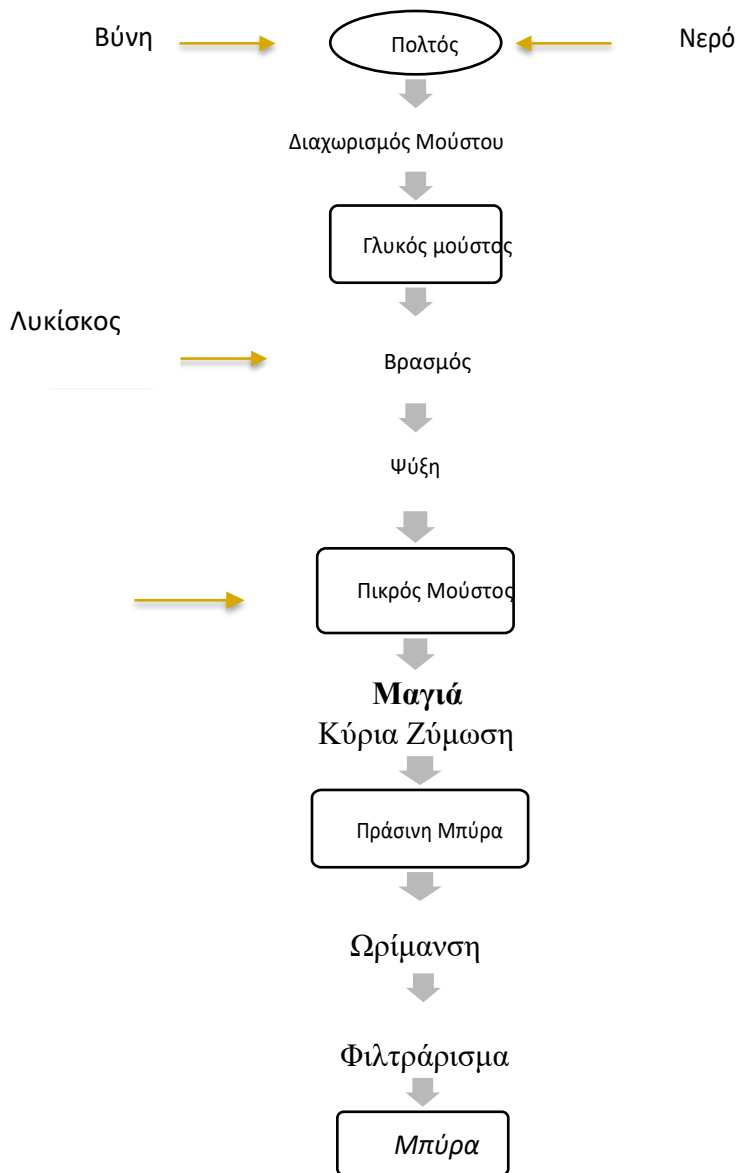
Τα πικρά οξέα λυκίσκου είναι πολύ ευαίσθητα στην οξειδωση, σχηματίζοντας ένα μείγμα εσφαλμένων προϊόντων που είναι διαλυτά σε διαιθυλαιθέρα, αλλά όχι πλέον σε εξάνιο (σκληρές ρητίνες). Επιδείνωση του λυκίσκου ως συνάρτηση του χρόνου συνοδεύεται από την ανάπτυξη μιας έντονης οσμής που γενικά δεν είναι ευπρόσδεκτη από τους ζυθοποιούς.

Για να αποφευχθεί αυτό, ο λυκίσκος ξηραίνεται γρήγορα μετά τη συγκομιδή, σφαιροποιείται και αποθηκεύεται σε αεροστεγείς σακούλες, κατά προτίμηση σε χαμηλές θερμοκρασίες. Σήμερα, εκτός από τη χρήση σφαιριδίων, εκχυλίσματα λυκίσκου προστίθενται επίσης συχνά για να προσδώσουν πικράδα στην μύρα. Τα πλεονεκτήματα αυτού είναι ότι αυτά τα εκχυλίσματα έχουν υψηλότερη συγκέντρωση αρχών παρασκευής, αυξημένη σταθερότητα, βελτιωμένη ομοιομορφία και ευκολότερο χειρισμό (Combes, 1998).

## **2.4 Πικρά α-οξέα και ισο-α-οξέα στην μύρα**

Τα α-οξέα του λυκίσκου εμφανίζονται στην μύρα σε συγκεντρώσεις έως 4 mg / L. Βελτιώνουν τη σταθερότητα του αφρού, καταστέλλουν την έκπλυση και συμβάλλουν στη διατήρηση της μύρας. Η κύρια συμβολή τους στην μύρα, ωστόσο, είναι μέσω ισομερισμού κατά τη διάρκεια του βρασμού του μούστου με λυκίσκο, σχηματίζοντας έτσι τα εξαιρετικά πικρά ισο-α-οξέα (Verzele, 1991).

Σήμερα, οι βιομηχανικοί ζυθοποιοί δεν προσθέτουν κώνους λυκίσκου αλλά μάλλον έναν ή περισσότερους τύπους επεξεργασμένων προϊόντων λυκίσκου που είναι τυποποιημένα και μπορούν να εγγυηθούν καλύτερη αναπαραγωγικότητα της γεύσης και του αρώματος. Μπορούν επίσης να αποθηκευτούν για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους.



Εικόνα 3 : Κύρια βήματα στη διαδικασία παρασκευής μπίρας (Προσαρμογή από τη Verhagen, L.- Beer Flavour, 2010)

## 2.5 Ισο-α-οξέα στην μπίρα

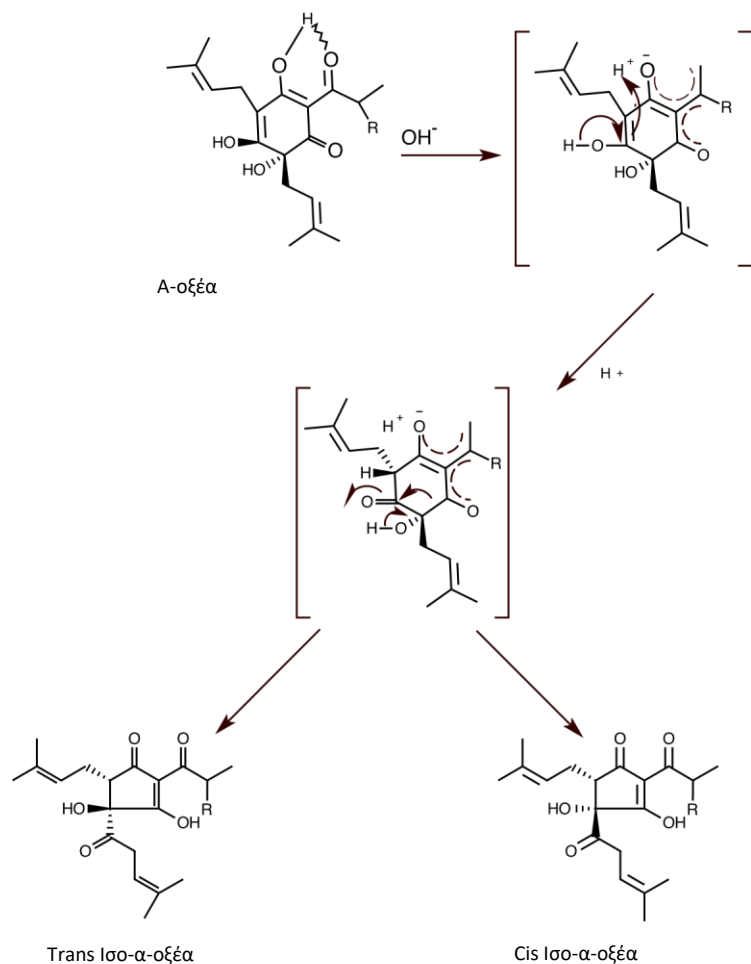
Όταν ο λυκίσκος προστίθεται στην μπίρα στο στάδιο του βρασμού της ζύμης στη παραγωγή μπίρας, τα α-οξέα που τα ίδια δεν είναι πικρά ακόμη και σε συγκεντρώσεις 100 mg / l (100 ppm) ισομερίζονται θερμικά σε έντονα πικρές ενώσεις γνωστές ως ισο-α-οξέα.

Αυτή η αντίδραση λαμβάνει χώρα στο σχετικά όξινο μέσο στον υδατικό μούστο ( $\text{pH} \sim 5,0-5,5$ ) και τα ισο- $\alpha$ -οξέα σχηματίζονται μετά από μια ενδο-μοριακή αναδιάταξη των  $\alpha$ -οξέων, με αποτέλεσμα δύο σειρές ενώσεων πενταμελούς δακτυλίου, τα trans-ισο- $\alpha$ -οξέα και τα cis-ισο- $\alpha$ -οξέα. Σε αυτές τις συνθήκες, ο ισομερισμός οδηγεί σε αναλογία περίπου 68:32 ισο- $\alpha$ -οξέων cis / trans.

Αυτές οι ενώσεις είναι σχετικά όξινες ( $\text{pKa}$  περίπου 3) και επομένως είναι πολύ πιο διαλυτές στο νερό από τα  $\alpha$ -οξέα.

Δεδομένου ότι ο ρυθμός μετατροπής των  $\alpha$ -οξέων σε μύρα είναι μόνο 30-35%, η βιομηχανία λυκίσκου έχει αναπτύξει διάφορα προ-ισομερισμένα προϊόντα, τα οποία, όπως φαίνεται στο Σχ. 2-10, προστίθενται στη διαδικασία παρασκευής μετά από το βρασμός. Αυτά τα ισομερισμένα εκχυλίσματα λυκίσκου παρασκευάζονται είτε με αποθήκευση στους  $50^\circ \text{C}$  σαν σφαιρίδια λυκίσκου με οξείδιο μαγνησίου είτε με ισομερισμό εκχυλισμάτων  $\text{CO}_2$  με υδροξείδιο καλίου. Στην πρώτη περίπτωση, λαμβάνονται θαμπά κιτρινωπά σφαιρίδια που περιέχουν μεταξύ 2-20% ισο- $\alpha$ -οξέων, εκτός από τα  $\beta$ -οξέα ( $> 92\%$  των  $\alpha$ -οξέων που υπάρχουν στο αρχικό υλικό ισομερίζονται). Εκχυλίσματα με υψηλότερες συγκεντρώσεις ισο- $\alpha$ -οξέων λαμβάνονται στη δεύτερη περίπτωση και μεταξύ 20-30% του άλατος καλίου των ισο- $\alpha$ -οξέων μπορούν να βρεθούν στο παχύ αλκαλικό υδατικό διάλυμα που μοιάζει με σιρόπι.





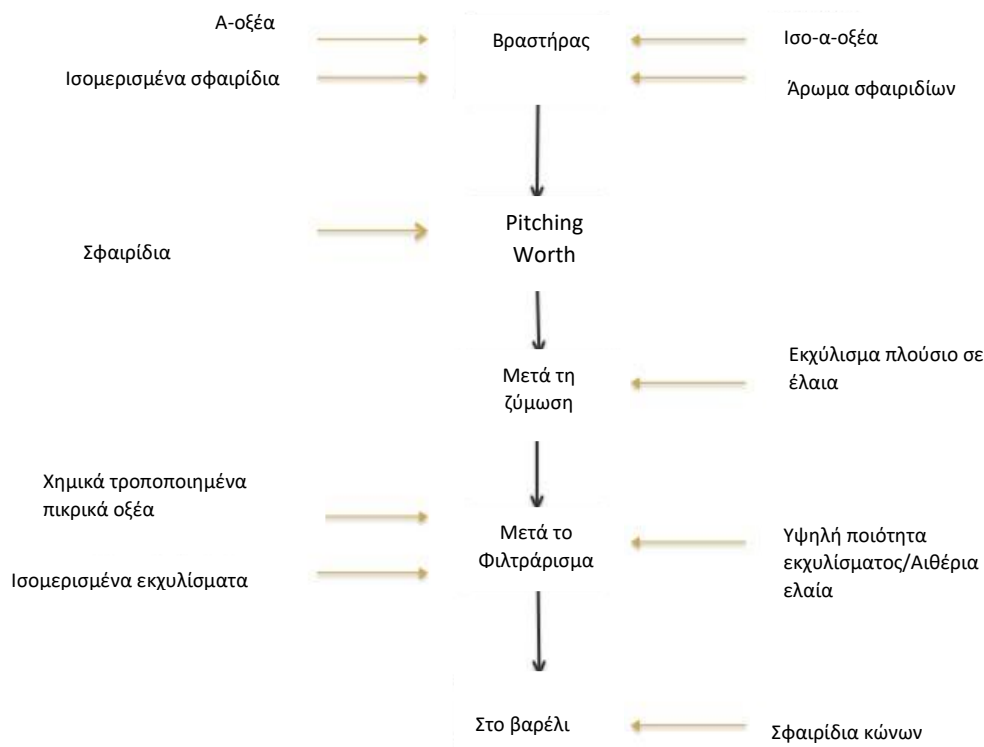
Εικόνα 4 cis/trans α-οξέα

R=	α-acids	cis/trans-iso-α-acids
-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	cohumulone	isohumulone
-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	humulone	isocohumulone
-CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	adhumulone	isoadhumulone

Τα ισο-α-οξέα επιβιώνουν με βρασμό σε μεγάλο βαθμό αν και θεωρείται ότι παράγονται πολλά οξειδωμένα παράγωγα, αν και σε μικρότερο βαθμό. Άλλες δομικές παραλλαγές αυτών των οξέων μπορούν να ανιχνευθούν σε χαμηλές ποσότητες, ιδιαίτερα ισο-α-οξέα και αντι-ισο-α-οξέα (Hughes, 1996).

Το cis- ισομερή είναι πιο σταθερό (χρόνος μισής ζωής >> 5 χρόνια) (De Keukeleire, 2000) από τα trans-ισομερή (χρόνος μισής ζωής περίπου 1 έτος) ίσως, λόγω του χαμηλότερου στεροειδούς εμποδίου μεταξύ των δύο μεγάλων γειτονικών πλευρικές αλυσίδες (Verzele et al. 1991). Αυτό

αλλάζει φυσικά την αναλογία cis: trans και έχει σημαντικές συνέπειες σε σχέση με τη γεύση και τη σταθερότητα της γεύσης. Έτσι, φαίνεται ενδιαφέρον να έχουμε την υψηλότερη δυνατή περιεκτικότητα σε cis-ισοχουμουλόνες στο μείγμα ισοχουμουλονών. Ο Intelmann κ.ά. (2009b) αποκάλυψε τον μηχανισμό των αντιδράσεων που υφίστανται τα trans- και όχι τα cis-ισο-α-οξέα, όπου οδηγείται στην αστάθεια τους.



Εικόνα 5: Μηχανισμός των αντιδράσεων cis/trans

Η συνολική συγκέντρωση ισο-α-οξέων στις μύρες κυμαίνεται συνήθως από 5-50 ppm. Έχει αποδειχθεί ότι αυτές οι ενώσεις είναι απαραίτητες για το σχηματισμό μιας σταθερής αφρώδους κεφαλής στην μύρα, χρησιμεύοντας έτσι ως όχημα συμπλοκοποίησης ιόντα που έχουν ζωτική σημασία για την ενίσχυση των δομών που περιβάλλουν τις φυσαλίδες. Το παραδοσιακό μοντέλο για τη δομή αφρού μύρας είναι αυτό του Asano et al. (1976) που ανέφερε ότι η ενίσχυση της σταθερότητας του αφρού προκύπτει από ιοντική έλξη μεταξύ των αρνητικών φορτισμένων ισο-α-οξέων και των θετικών φορτισμένων ιόντων αμμωνίου στα πολυπεπίδια του αφρού. Το πιο αποδεκτό μοντέλο στις μέρες μας, ωστόσο, δείχνει ότι οι δυνάμεις σύνδεσης που σταθεροποιούν τον αφρό δεν είναι ιοντικές αλλά μάλλον περιλαμβάνουν το σχηματισμό μεταλλικών συμπλοκών (Simpson et al, 1994). Οι επιδράσεις μεταξύ των ισο-α-οξέων και των ιόντων μετάλλων, που οδηγούν σε δραματικές αυξήσεις στη σταθερότητα του αφρού μύρας, έχουν καταδειχθεί από τον Roberts (1975), ο οποίος έδειξε ότι στην ανεμπόδιστη μύρα τα περισσότερα μεταλλικά κατιόντα ( $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) έχουν μικρό αποτέλεσμα ή ακόμη και να μειώνουν τη σταθερότητα του αφρού. Ωστόσο, η παρουσία συγκέντρωσης  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$  ισο-α-οξέος, και τα διάφορα κατιόντα όπως Fe, Ni, Co ή Cu αυξάνουν σημαντικά την σταθερότητα αφρού της μύρας.

Περαιτέρω στοιχεία για αυτό μπορούν να βρεθούν στη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Blanco et al. (2006) που ανέφεραν ότι εάν τα κατιόντα, Ca (II), Ni (II) ή Fe (III) υπάρχουν στην μύρα, τα σύμπλοκα μεταξύ των ισο-α-οξέων και των κατιόντων διασυνδέουν τα πολυπεπτίδια αφρού στο τοίχωμα των φυσαλίδων, σταθεροποιώντας κατά συνέπεια. Στην πράξη, απαιτούνται τουλάχιστον 20 ppm ισο-α-οξέων για τη διατήρηση μιας σταθερής αφρώδους κεφαλής (De Keukeleire et al. 1992).

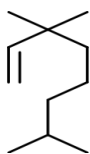
Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες για τον προσδιορισμό του ρόλου των ισο-α-οξέων στην ποιότητα της μύρας. Η πικράδα τους έχει παρατηρηθεί από μια μελέτη που διεξήγαγε η BRI (Brewing Research International) σε ψυχοφυσικά πειράματα. Αποδείχθηκε ότι υπήρχαν μεγάλες διαφορές στην πικράδα των μεμονωμένων ενώσεων και συνήχθη το συμπέρασμα ότι το συστατικό cis είναι σημαντικά πικρότερο από το αντίστοιχο τους, και ότι η ισοχομουλόνη είναι πικρότερη από την ισοκοχομουλόνη (Hughes, 1996).

Παρατηρήσεις σχετικά με τις αντιβακτηριακές τους ιδιότητες έδειξαν ότι τα ισο-α-οξέα θα μπορούσαν να δρουν ως ιονοφόρα που έχουν αντιβακτηριακή δράση. Η μελέτη της επίδρασης των κατιόντων μετάλλων στην αποτελεσματικότητα της trans-ισοχομουλόνης ως αντιβακτηριακού παράγοντα έδειξε δραστικότητα αναστολής των θετικών κατά gram βακτηρίων λόγω της ανταλλαγής H<sup>+</sup> με κυτταρικά κατιόντα όπως το Mn<sup>2+</sup> (Simpson, 1992). Σε αυτή τη μελέτη αναφέρθηκε επίσης ότι η προσθήκη β-κυκλοδεξτρίνης σε διάλυμα trans-ισο-α-οξέων μείωσε τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες.

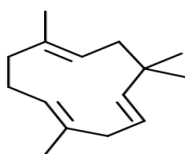
## 2.6 Αιθέρια έλαια

Ο λυκίσκος μπορεί να περιέχει από 0,3 έως και 1,0% αιθέριο έλαιο. Εκτός από πτητικά συστατικά όπως απλά οξειδωμένα αλκάνια, έχουν αναγνωριστεί εκατοντάδες τερπενοειδή συστατικά συμπεριλαμβανομένων μονοτερπενίων και σесκιτερπενίων (Chadwick et al., 2006).

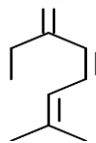
Το 1994, ο Moir ανέφερε ότι περισσότερες από 300 ενώσεις που ανήκουν σε επτά διαφορετικές ομάδες ενώσεων είχαν ταυτοποιηθεί στο αιθέριο έλαιο λυκίσκου (βλ.εικ9).



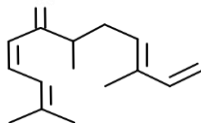
Linalool



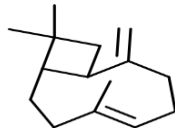
Humulene



β-myrcene



Farnesene



β-Caryophyllene

Εικόνα 6 Κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου λυκίσκου

ΟΜΑΔΑ	ΚΑΤΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ
Υδρογονάνθρακας	60
Αλδεΐδες/Κετόνες	60
Εστέρας	70
Οξέα	10
Αλκόολες	60
Ετερόκλητες ενώσεις με O <sub>2</sub>	30
Ενώσεις Θείου	30

Πίνακας 4 Τύπος και αριθμός ενώσεων που προσδιορίζονται στο αιθέριο έλαιο λυκίσκου (Moir M, 1994)

Ο Eri et al. (2000) εντόπισε 286 διαφορετικές χημικές ουσίες στο χρωματογράφημα του πτητικού ελαίου περισσότερες από τις 100 από τις οποίες δεν ταυτοποιήθηκαν. Τα κύρια πτητικά συστατικά σε όλες τις ποικιλίες είναι τα Hydrocarbons, που αποτελούν περίπου το 40 έως 80% της συνολικής περιεκτικότητας σε έλαια (Verhagen, 2010). Μέσα σε αυτά τα πτητικά συστατικά είναι το μυρσένιο, (30-50%) , η χουμουλόνη (15-25%) και το β-καρυοφυλλένιο όπου είναι και τα πιο κυρίαρχα. Άλλα κύρια συστατικά της μύρας είναι οι οξυγονωμένες ενώσεις που αντιπροσωπεύουν μεταξύ 20 και 50% των συνολικών αιθέριων ελαίων. Αποτελούνται κυρίως από εστέρες που προέρχονται από ευθείες και διακλαδισμένες αλκοόλες και οξέα, Εικ.9(Verhagen, 2010).

Άλλοι συγγραφείς (Malizia et al. 1999; Eri et al., 2000) παρόλο που συμπίπτουν με την επικράτηση των ενώσεων Hydrocarbons, βρήκαν υψηλότερες ποσότητες μυρσενίου (30-50%), χουμουλόνης (15-25%), β-καρυοφυλλενίου και farnesene ,τα οποία μαζί αποδείχθηκε ότι

περιλαμβάνει μεταξύ 57% και 82% του πτητικού ελαίου, ανάλογα με την ποικιλία και τη μέθοδο αντίχνευσης.

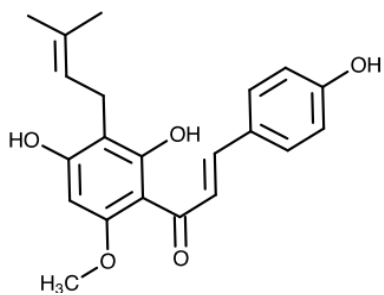
## 2.7 Πολυφαινόλες

Βρέθηκε ότι οι ξηροί κώνοι λυκίσκου περιέχουν περίπου 4% και 14% πολυφαινόλες (Stevens et al., 1998; De Keukeleire et al. 1999, Taylor et al., 2003). Αυτές ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες, εκ των οποίων οι 30 έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα. Η ξανθοχουμουλόνη (XH) είναι το πιο άφθονο φλαβονοειδές που απαντάται σε φρέσκο και σωστά διατηρημένο λυκίσκο, σε συγκέντρωση περίπου. 0,01-0,5% (HermansLokkerbol et al., 1997; Stevens et al., 1999b). Μαζί και με τη desmethy l xanthohumol, όπου είναι ένα άλλο πρενυλιωμένο φλαβονοειδές, όπου είναι πρόδρομοι των ισομερών φλαβονών ισοξανθοχουμουλόνης και 8-prenyl naringenin, αντίστοιχα.

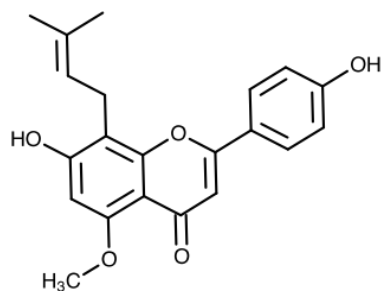
Η ξανθοχουμουλόνη και η 8-prenyl naringenin, συγκεκριμένα, έχουν μελετηθεί έντονα τα τελευταία χρόνια λόγω του ενδιαφέροντος για τη βιοδραστικότητα που τους έχουν αποδοθεί, συμπεριλαμβανομένης της πρόληψης της οστεοπόρωσης, του καρκίνου του μαστού και μιας ευεργετικής δραστηριότητας στον διαβήτη. Στην περίπτωση της, 8-prenyl naringenin in vivo μελέτες έχουν δείξει ότι είναι ένα ισχυρό φυτοοιστρογόνο (Milligan et al., 1999, 2000; Bowe et al., 2006). Ωστόσο, υπάρχει σε πολύ μικρές ποσότητες, καθώς το φυτό δεν το συνθέτει, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αλλά είναι το προϊόν του αργού αυθόρμητου ισομερισμού της esmethy l xanthohumol (De Keukeleire, 2003).

Έχουν επίσης αναφερθεί ενδιαφέρουσες φαρμακευτικές ιδιότητες για την isoxanthohumol, όπως αντικαρκινικές δραστηριότητες, αλλά σε πολύ χαμηλότερο επίπεδο από αυτό που παρατηρήθηκε για την xanthohumol (Stevens et al., 1998; Gerhauser et al., 2002a, 2002b).

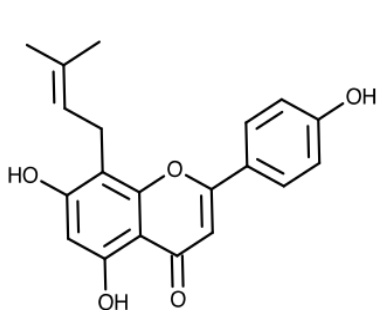
Ο λυκίσκος είναι επίσης πλούσιος σε φλαβονόλες flavonol aglycones (καμφερόλη, κερκετίνη kaempferol, quercetin), γλυκοζίτες φλαβονολών (κερκετρίνη, ρουτίνη) flavonol glycosides (quercitrin, rutin) (Sägesser et al., 1996) και προκυανιδίνες (κατεχίνη, επικατεχίνη). Αυτές οι προκυανιδίνες υπάρχουν σε σχετικά μεγάλες ποσότητες και καθώς τα μονομερή συμβάλλουν στη σταθερότητα του λυκίσκου και της μετέπειτα μπίρας λόγω των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων. Ωστόσο, όταν πολυμερίζονται ως διμερή ή περισσότερο ακίνητα ως ολιγομερή (3-8 +) μπορούν να συνδεθούν με πρωτεΐνες και να καθιζάνουν, και έτσι προκαλούν θολότητα (Roberts et al., 2006). Άλλες προκυανιδίνες που υπάρχουν είναι η procyanidins και η galocatechin (Gorissen et al., 1968).



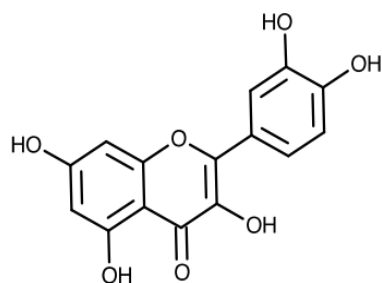
1. Xanthohumol (XH)



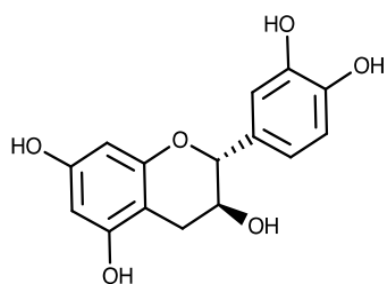
2. Isoxanthohumol



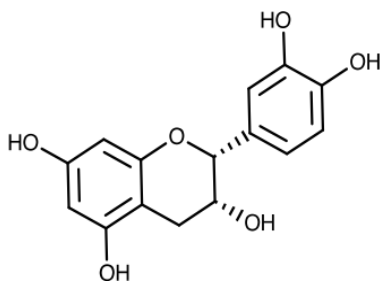
3. 8-prenylnaringenin (PN)



4. Quercetin



5. Catechin



6. Epicatechin

Εικόνα 7 Οι πιο γνωστές Πολυφαινόλες

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΟΡΦΕΣ ΛΥΚΙΣΚΟΥ ΣΤΟ ΖΥΘΟΥ

### 3.1 Λυκίσκος και μύρα

Η μύρα είναι ένα ποτό που έχει υποστεί ζύμωση με βάση το άμυλο και αρωματίζεται από λυκίσκο (Moir, 1994). Αυτός ο απλός ορισμός περιλαμβάνει τα τέσσερα βασικά συστατικά, τα οποία χρησιμοποιούνται απαραίτητα στην παρασκευή μύρας: βύνη κριθαριού, νερό παρασκευής, λυκίσκος και μαγιά.

Η μύρα όμως δεν φτιάχτηκε πάντα με λυκίσκο. Οι πρώτες αναφορές αυτού του ποτού χρονολογούνται από τους αρχαίους χρόνους, όπου στην Αίγυπτο, για παράδειγμα, έγινε από την αυθόρμητη ζύμωση των ψωμιού που βυθίστηκε σε πολύ γλυκό χυμό. Αυτό το ποτό, γνωστό ως «Zithum», ήταν πολύ δημοφιλές. Κατά τη διάρκεια της Γαλλορωμαϊκής περιόδου η μύρα ονομάστηκε «cernoise» (εξ ου και η ισπανική «cerveza») προς τιμήν του Ceres, της ρωμαϊκής θεάς της γεωργίας. Η προέλευση της λέξης «μύρα» δεν είναι καλά καθορισμένη, αλλά σχετίζεται στενά με τη λατινική λέξη «bibere» (για να πει) (Arnold, 2005). Υπάρχουν συγγραφείς που υποστηρίζουν ότι αυτά τα ποτά δεν μπορούν να θεωρηθούν μύρα και θεωρούν ότι ήταν πραγματικά ευρωπαϊκής προέλευσης (Nelson, 2005). Μεταξύ του 6ου και του 7ου αιώνα, το μεγαλύτερο μέρος της ζυθοποιίας στη Βόρεια Ευρώπη μονοπωλήθηκε από μοναχούς και ήταν ένας από αυτούς τους Βενεδικτίνους μοναχούς, τον Άγιο Άρνολντ, ο οποίος προφανώς εισήγαγε τη χρήση λυκίσκου ως αρωματικού παράγοντα στην μύρα, αντικαθιστώντας άλλα βότανα που είχαν εξαντληθεί σε εκείνη τη στιγμή.

Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι ο λυκίσκος έχει μια αρχαία παράδοση ιατρικών χρήσεων, για παράδειγμα, υπάρχουν αναφορές στη χρήση του για τις αντιφλεγμονώδεις, αντισηπτικές, αντιδιουρητικές, αφροδισιακές, υπνωτικές, ηρεμιστικές και στομαχικές του ιδιότητες (Gessner et al., 1974; Asano et al., 1976; Van Hellefont, 1993; Stevens et al., 2000; Brunetton, 2003; Ebadi, 2006; Duke, 2007; Van Cleemput et al., 2009). Έκτοτε, ο λυκίσκος είναι ο μόνος αρωματικός παράγοντας που προστίθεται στην μύρα, αν και αυτό είναι φυσικά ένα υποτιμημένο, καθώς ο λυκίσκος έχει πολλές άλλες λειτουργίες στην μύρα, όπως θα εξηγηθεί αργότερα.

Η πραγματική έναρξη της σύγχρονης ζυθοποιίας συνέβη το δεύτερο μισό του 19ου αιώνα. Αφού ο Louis Pasteur δημοσίευσε τα μυστικά της ζύμωσης στο βιβλίο του "Etudes sur la biere" (1876), αναπτύχθηκε ένα νέο στέλεχος ζύμης που είχε την ιδιαιτερότητα της ζύμωσης σε χαμηλή θερμοκρασία (περίπου 5 °C) όπου και κατακρημνίζεται στο κάτω μέρος του ο ζυμωτής στο τέλος της ζύμωσης. Το όνομα Pilsner beer δημιουργήθηκε για αυτό το νέο ποτό μετά την Τσεχοσλοβακική πόλη Pilsen, όπου κυκλοφόρησε για πρώτη φορά. Σύντομα ιδρύθηκαν πολλά σχολεία ζυθοποιίας, ιδίως στη Γερμανία (Μόναχο, Βερολίνο) και στο Βέλγιο (Γάνδη, Λουβαίν), και η επιχείρηση ζυθοποιίας ξεκίνησε μια πολύ ακμάζουσα περίοδο καθώς η ζύμωση μύρας αποδείχτηκε εύκολα δεκτική σε παραγωγή μεγάλης κλίμακας.

Εν συντομία, το σώμα της μύρας παρέχεται από κριθάρι, ειδικότερα βύνη κριθαριού και, γενικά, μερικές εκατοντάδες γραμμάρια χρησιμοποιούνται για ένα λίτρο μύρας. Η βύνη μπορεί

να αντικατασταθεί εν μέρει από πλούσια σε άμυλο πρόσθετα, όπως ρύζι, καλαμπόκι ή σιτάρι. Όταν ένας πολτός βύνης κριθαριού και νερού παρασκευής (που ονομάζεται «πολτό») θερμαίνεται σε θερμοκρασία περίπου 60 ° C, τα ένζυμα βύνης, κυρίως αμυλάσες αλλά και πρωτεάσες, αποικοδομούν το άμυλο και τις πρωτεΐνες, οδηγώντας σε ένα μείγμα σακχάρων και πεπτιδίων ή αμινοξέων.

Για το σκοπό αυτό, το κριθάρι πρέπει να υποβληθεί, πριν από το τρίψιμο, σε ελεγχόμενη βλάστηση, κατά τη διάρκεια της οποίας αυτά τα ένζυμα σχηματίζονται στον κριθάρι. Το βλαστημένο κριθάρι είναι γνωστό ως βύνη κριθαριού. Η μετατροπή του αμύλου σε ζάχαρη σταματά με θέρμανση. Σε αυτό το στάδιο και μετά τη διήθηση, το διάλυμα ζάχαρης ή ο μούστος σε ζυθοποιία μεταφέρεται στον βραστήρα παρασκευής, όπου βράζεται για τουλάχιστον μία ώρα με την ψύξη και την αφαίρεση του χρησιμοποιημένου λυκίσκου, το υγρό, γνωστό 'hopped wort' αντλείται στα δοχεία ζύμωσης και προστίθεται ζύμη υπό αερισμό για ανάπτυξη.

Κατά τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης τα κύτταρα ζύμης μετατρέπουν τα σάκχαρα σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Ανάλογα με τη θερμοκρασία κατά τη ζύμωση και τη φύση της συλλογής ζύμης στο τέλος της περιόδου ζύμωσης, οι μύρες διακρίνονται ότι παράγονται από «bottom fermented» ή «top fermented». Τα στελέχη ζύμης, κατάλληλα για μύρες με bottom fermented (*Saccharomyces carlsbergensis*), είναι ενεργά κάτω από 5°C και κατακάθονται στον πυθμένα του ζυμωτή μετά από παραγωγή περίπου 5% αιθανόλης. Αντίθετα, οι τυπικές ζύμες για την παραγωγή μύρας με top fermented (*Saccharomyces cerevisiae*), λειτουργούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αντιστέκονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης, έως και 12%. Όταν η δραστηριότητα σταματά, τα κύτταρα ζύμης συλλέγονται στην κορυφή ως πυκνό αφρό.

### 3.2 Μορφές Λυκίσκου

Ο λυκίσκος συλλέγεται και ξηραίνεται αμέσως προκειμένου να διατηρηθεί η περιεκτικότητα σε πικρά οξέα, καθώς αυτές οι ενώσεις είναι σχετικά ασταθείς. Η διαδικασία ξήρανσης είναι κρίσιμη καθώς είναι απαραίτητο να μειωθεί η περιεκτικότητα σε νερό περίπου 10%, αλλά η θερμοκρασία και ο χρόνος στον οποίο εκτίθεται ο λυκίσκος είναι κρίσιμοι για να αποφευχθεί η υποβάθμιση των πικρών οξέων και του περιεχομένου αιθέριου ελαίου. Στη συνέχεια, ο ξηρός λυκίσκος συμπιέζεται σε δέματα για να αποκλείσει το οξυγόνο όσο το δυνατόν περισσότερο και αποθηκεύεται κάτω από τους 5°C (verhagen, 2010).

Ο λυκίσκος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως έχει ή να υποστεί περαιτέρω επεξεργασία για τη βελτίωση της αποθήκευσης και του χειρισμού. Αυτές οι διεργασίες περιλαμβάνουν τη μετατροπή τους σε σφαιρίδια, εκχυλίσματα με διαλύτες, CO<sub>2</sub> ή αιθανόλη, καθένα από τα οποία παράγει διαφορετικά παρασκευάσματα λυκίσκου.



### 3.3 Σφαιρίδια λυκίσκου (pellets)

Ολόκληρος ο αποξηραμένος λυκίσκος αλέθεται σε λεπτή σκόνη και συμπιέζεται για να σχηματίσει σφαιρίδια που είναι περίπου 10 x 6 mm και συσκευάζονται κανονικά σε ελασματοποιημένα φύλλα πολυεστέρα / επιμεταλλωμένου πολυεστέρα εντός χαρτοκιβωτίων είτε ως «σκληρές» συσκευασίες υπό κενό είτε ως «μαλακές» συσκευασίες υπό αδρανή αέριο (N<sub>2</sub> και / ή CO<sub>2</sub>) σε ατμοσφαιρική πίεση. Το πλεονέκτημα αυτού είναι ότι είναι ευκολότερο να αποθηκευτούν και να διατηρηθούν καλύτερα. Ωστόσο, πρέπει να διατηρούνται σε χαμηλή θερμοκρασία (0 - 5 ° C) για χρήση εντός 2-3 ετών ή στους -20 ° C για 5 χρόνια σύμφωνα με τον κατασκευαστή. Τα σφαιρίδια που παράγονται όπως εξηγείται παραπάνω έχουν περιεκτικότητα 2 - 5% α-οξέων. Τα σφαιρίδια λυκίσκου με υψηλότερη περιεκτικότητα σε α-οξέα μπορούν να ληφθούν με κατάψυξη προηγουμένως των κώνων στους -30 ή -40 ° C προκειμένου να σκληρυνθούν οι πλούσιοι σε ρητίνη αδένες λουπουλόνης οι οποίοι στη συνέχεια διαχωρίζονται από τον υπόλοιπο κώνο με ειδικές μηχανές κοσκίνισματος (Verhagen, 2010). Στη συνέχεια αλέθονται και συμπιέζονται για σχηματισμό σφαιριδίων που περιέχουν μεταξύ 4-20% α-οξέα. Το πλεονέκτημα είναι ότι έχουν πολύ χαμηλότερη ποσότητα πολυφαινόλων και άλλων ανεπιθύμητων προϊόντων.

### 3.4 Εκχύλισμα CO<sub>2</sub>

Είναι ένα εκχύλισμα λυκίσκου που παράγεται με εκχύλιση σφαιριδίων λυκίσκου με χρήση διοξειδίου του άνθρακα υπό υγρές ή υπερκρίσιμες συνθήκες. Πρακτικά αυτός ο μη πολικός αδρανής διαλύτης επιτρέπει την επιλεκτική εκχύλιση των υδρόφοβων μη-πολικών α-και β-οξέων και των αιθέριων ελαίων του λυκίσκου ,ενώ πολικές πολυφαινόλες, συμπεριλαμβανομένων τανινών, ξανθοχουμόλης και παραγώγων, καθώς βαρέων μετάλλων και νιτρικών δεν εξάγονται. Τα περισσότερα φυτοφάρμακα και ζιζανιοκτόνα μπορούν επίσης να απομακρυνθούν κατά την εκχύλιση. Το προϊόν που λαμβάνεται με τον τρόπο αυτό είναι μια παχιά, πρασινωπή-κίτρινη πάστα που μπορεί να ρευστοποιηθεί με θέρμανση και περιέχει, ανάλογα με την ποικιλία του λυκίσκου, περίπου 35 - 50% α-οξέα. Είναι εξαιρετικά σταθερό εάν φυλάσσεται σε χαμηλές θερμοκρασίες (μεταξύ 4 και 8 ετών σύμφωνα με τον κατασκευαστή στους 0 - 5 °C).

### 3.5 Εκχύλισμα αιθανόλης

Σε αυτήν την περίπτωση, ο λυκίσκος εκχυλίζεται με βρασμένη αιθανόλη 90%. Μετά τη διήθηση, η αιθανόλη απομακρύνεται με εξάτμιση μειωμένης πίεσης αποδίδοντας ένα σύστημα δύο φάσεων που επιτρέπει τον διαχωρισμό των πιο πολικών υδρόφιλων ενώσεων όπως τανίνες και άλλες πολυφαινόλες από τα πικρά οξέα και το αιθέριο έλαιο. Λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που χρησιμοποιούνται για εκχύλιση, ένα ποσοστό των πικρών οξέων ισομερίζεται σε ισο-α-οξέα. Παρ'όλα αυτά, το υπόλοιπο εκχύλισμα έχει υψηλή περιεκτικότητα σε οξέα, περίπου 50% ανάλογα με την ποικιλία, ενώ βαρέα μέταλλα, νιτρόδη άλατα και σε κάποιο βαθμό αφαιρούνται τα φυτοφάρμακα και τα ζιζανιοκτόνα Η ξανθοχουμουλόνη υπάρχει σε αυτό το εκχύλισμα αιθανόλης ενώ δεν υπάρχουν στα εκχυλίσματα CO<sub>2</sub>. Αυτά τα εκχυλίσματα είναι επίσης σταθερά προϊόντα και αν διατηρηθούν σωστά μπορούν να διαρκέσουν έως και 4 χρόνια (αποθηκευμένα <10 °C). Οι περισσότεροι βιομηχανικοί παραγωγοί μπύρας προσθέτουν σφαιρίδια λυκίσκου ή εκχυλίσματα CO<sub>2</sub> στην μπύρα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βρασμού.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΠΑΛΑΙΩΣΗ ΤΟΥ ΖΥΘΟΥ

### 4.1 Ισο-α-οξέα και η παλαιώση της μύρας

Εκτός από τις θετικές συνεισφορές, τα ισο-α-οξέα έχουν αποδειχθεί βασικά συστατικά στην ανάπτυξη δυσάρεστων γεύσεων κατά την αποθήκευση, τα οποία έχουν άμεση επίπτωση στον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής τους. Καθώς ο ζύθος παλαιώνει και ανάλογα με τις συνθήκες αποθήκευσής τους, υφίσταται πολλές αλλαγές. Οι περισσότερες από αυτές τις αλλαγές σχετίζονται με την επιδείνωση των αισθητηριακών χαρακτηριστικών, ειδικά στη γεύση ή στο άρωμά του. Αυτές οι αλλαγές καθώς και η εμφάνιση της αδιαφάνειας μειώνουν τη διάρκεια ζωής του ζύθου και έχουν, επομένως, μεγάλη οικονομική σημασία για τη βιομηχανία μύρας. Οι περισσότεροι από αυτούς τους παράγοντες έχουν ληφθεί υπόψη: η αδιαφάνεια, για παράδειγμα, εμφανίζεται στην μύρα που έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και τανίνες. Μια δυσάρεστη γεύση που μοιάζει με χαρτόνι (Kamimura et al., 1992) φαίνεται να οφείλεται στο σχηματισμό (E) -2-nonenal, όπου εξελίσσεται μόνο στη αποθηκευμένη μύρα. Αυτή η ένωση, μαζί με τα πτητικά καρβονύλια θεωρήθηκε ότι είναι προϊόν της οξείδωσης των ενδιάμεσων ακόρεστων λιπαρών οξέων που εμφανίζονται στα λιπίδια κριθής και λυκίσκου βύνης (De Keukeleire, 1999).

Τρεις αντιδράσεις αποδόμησης έχουν αποδοθεί, ωστόσο, αποκλειστικά σε ισο-α-οξέα, δύο από τα οποία επηρεάζουν τόσο τα cis- όσο και τα trans-ισομερή είναι : η φωτοοξείδωση και η αυτοοξείδωση και ακόμη ένα αλλά μόνο τα trans-ισομερή: καταλύτη που καταλύεται από πρωτόνια.

### 4.2 Συμβολή μεμονωμένων ισο-α-οξέων στην ποιότητα της μύρας

Η πικράδα είναι ένα από τα πιο σημαντικά ποιοτικά χαρακτηριστικά της μύρας, συμβάλλοντας αναμφισβήτητα στην τυπική γεύση της. Όπως συζητήθηκε προηγουμένως, η πικράδα της μύρας παράγεται αποκλειστικά από ισο-α-οξέα τα οποία παράγονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βρασμού του μούστου από τα α-πικρά οξέα του λυκίσκου που προστίθενται σε αυτό το σημείο της διαδικασίας ζυθοποιίας, ή αμέσως μετά στη επεξεργασία ως προϊσομερισμένα προϊόντα. Η συγκέντρωση αυτών των ισο-α-οξέων μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 5 και 50 mg / L (Verhagen, 2010). Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό της μύρας είναι ο αφρός. Ενώ η σταθεροποίηση αφρού οφείλεται αναμφίβολα στην παρουσία ενεργών πολυπεπτιδίων αφρού, τα ισο-α-οξέα είναι γνωστό ότι ενισχύουν τη σταθερότητα του αφρού.

Έτσι, η σημασία των ισο-α-οξέων γενικά στην πικράδα και τη σταθερότητα του αφρού της μύρας έχει τεκμηριωθεί πλήρως (Bamforth, 2000; Briggs et al., 2004). Τα μεμονωμένα ισο-α-οξέα, παρόλο που είναι παρόμοια, παρουσιάζουν κάποιες διαφορές στη χημική τους συμπεριφορά, γεγονός που υποψιάζεται ότι μπορεί να οδηγήσει σε διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους ή σε άλλες παραμέτρους, όπως η πρόσδεση αφρού τους ή οι σταθεροποιητικές ιδιότητες μεταξύ άλλων. Στην περίπτωση του αφρού, οι δοκιμές με τα

μεμονωμένα ισο-α-οξέα έδειξαν ότι απαιτούνται μεγαλύτερες ποσότητες ισοκοχουμουλονών (σε γραμμομοριακή βάση) για τη σταθεροποίηση του αφρού από τις λιγότερο πολικές ισοκοχουμουλόνες και αντίστοιχες ισοαντχομουλόνες. Φάνηκε, ωστόσο, να υπάρχει μικρή διαφορά στις σχετικές ικανότητες από τα cis- και τα trans για σταθεροποίηση των αφρών (Hughes, 2000).

Σε άλλες πτυχές, όπως η πικράδα και η σταθερότητα, οι διαφορές στη συμπεριφορά της σειράς cis και trans ήταν εμφανείς, πιθανότατα βασισμένες στη διαφορετική υδροφοβικότητα, οξύτητα, σταθερότητα και συγκεκριμένη ικανότητα συμπλοκοποίησής τους.

### 4.3 Φωτοοξειδωση

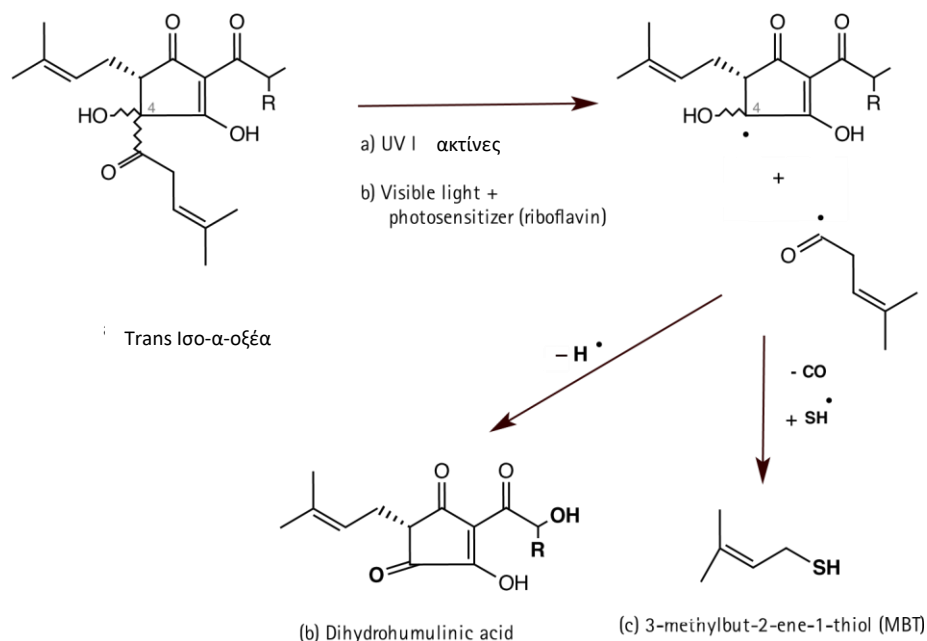
Όλα τα ισο-α-οξέα είναι ασταθή με παρουσία οξυγόνου. Αυτή η αστάθεια αυξάνεται με παρουσία φωτός, καθώς οδηγεί σε μια αντίδραση φωτοοξειδωσης που έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση της λεγόμενης «ελαφριάς γεύσης» ή LSF, μιας δυσάρεστης γεύσης που περιγράφεται ως «skunky» λόγω της θειόλης. Η γεύση αποδόθηκε στον σχηματισμό 3-μεθυλβουτ-2-εν-1-θειόλης (3-methylbut-2-ene-1-thiol) (MBT) (Kuroiwa et al., 1961a) που έδειξε για πρώτη φορά την εμφάνιση LSF σε μοντέλα συστημάτων, αποτελούμενα από ριβοφλαβίνη, ισο-α-οξέα και πηγή θείου (κυστεΐνη), όταν ακτινοβολήθηκε με ορατό φως (350–500 nm) και αποστάθηκε η αντίδραση σε μύρα, προτείνοντας έναν πιθανό μηχανισμό για την αντίδραση, με ριβοφλαβίνη (άμεσα διαθέσιμη σε μύρα) ως παράγοντα φωτοευαισθητοποίησης (Kuroiwa et al., 1961 β).

Το 1978, ο Gunst et al δημοσίευσε περαιτέρω λεπτομέρειες αυτής της αντίδρασης. Ακολούθησαν συζητήσεις για τις επιδράσεις στη γεύση και τη σχέση της με τη συγκέντρωση (Irwin et al., 1993; Goldstein et al., 1993; Templar et al., 1995; Hughes, 1997,1999) αλλά η συμμετοχή των ισο-α-οξέων και ο μηχανισμός αυτής της αντίδρασης είναι γενικά αποδεκτός. Όπως φαίνεται παρακάτω στη Εικόνα, η αντίδραση ξεκινά με την απορρόφηση φωτός από την ομάδα ακυλοΐνης (acyloin) που αποτελείται από τη λειτουργία τριτοταγούς αλκοόλης στο C (4) και την καρβονυλομάδα της πλευρικής αλυσίδας στο C (4) σε όλα τα ισο-α-οξέα (α) που υφίστανται διάσπαση δεσμού με αντίδραση Norbs Type I., που οδηγεί σε ζεύγος ριζών ketyl-acyl

Η επακόλουθη ταχεία αποκαρβονυλίωση οδηγεί στο σχηματισμό μιας ρίζας 3-methylbut-2-enyl, η οποία μπορεί να παγιδευτεί από μια ρίζα θειουλίου για να δώσει MBT (c) και dihydrohumulinic(b) (Heyerick et al., 2003, 2005). Το LSF είναι, ωστόσο, πολύ πιο εμφανές όταν η μύρα εκτίθεται σε ενέργεια υψηλότερου μήκους κύματος (στην μπλε περιοχή) που δεν απορροφάται από την ομάδα ακυλοΐνης, επιβεβαιώνοντας το ρόλο ενός φωτοευαισθητοποιητή όπως η ριβοφλαβίνη (βιταμίνη B2) που απορροφά ενέργεια σε αυτό το μήκος κύματος και μπορεί έτσι να παρέμβει στο σχηματισμό ριζών που πιθανότατα εμπλέκονται στο αρχικό στάδιο της αποσύνθεσης σε μια ρίζα 3methylbut-2-enyl, ένα βασικό ενδιάμεσο στην οδό που οδηγεί στην ελαφριά γεύση μύρας (Huvaere et al., 2004.2006). Και τα δύο cis / trans τα ισο-α-οξέα υποφέρουν από αυτόν τον τύπο φωτοοξειδωσης.

Η παραγωγή αυτής της θειόλης, με κατώφλι γεύσης μικρότερο από 1 ppb, προκαλεί μια δυσάρεστη γεύση εκτός μύρας (Kuroiwa et al., 1963, Gunst et al. 1978; Templar et al., 1995, Hughes, 1999). Ο μηχανισμός αυτής της αντίδρασης μπορεί να παρατηρηθεί στη εικόνα.

Το φωτοευαίσθητο χρωμοφόρο στις ισοχουμουλόνες είναι η ομάδα ακυλοΐνης που αποτελείται από τη λειτουργία της τριτοταγούς αλκοόλης στο C (4) και την καρβονυλομάδα της πλευρικής αλυσίδας στο C (4). Η ενεργοποίηση της με υπεριώδες φως προκαλεί διάσπαση του δεσμού από τη αντίδραση Norrish Type 1, οδηγώντας σε ζεύγος ριζών ketylacyl. Επακόλουθη απώλεια μονοξειδίου του άνθρακα από τη ρίζα ακυλίου και ανασυνδυασμός του προκύπτοντος θραύσματος με ρίζα θειόλης αποδίδοντας 3-μεθυλβουτ-2-εν-1-θειόλη (b), γνωστή ως «skunky thiol» ή MBT και αφυδροουμουλινικό οξύ (c) (Heyerick et al., 2005, Huvaere et al., 2006). Η αντίδραση ξεκινά με ριβοφλαβίνη (βιταμίνη B2) ως φωτοευαίσθητοποιητής, καθώς τα ισο-α-οξέα δεν απορροφούν φως στην ορατή περιοχή.



Εικόνα 8 Σχηματισμός της «ελαφριάς» γεύσης της μύρας με έκθεση στο φως των ισο-α-οξέων (Προσαρμογή από το Van Cleemput 2009)

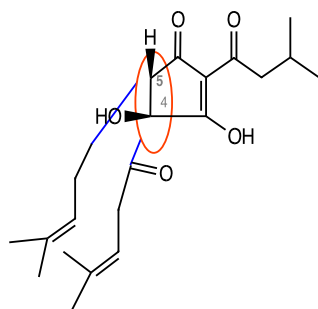
#### 4.4 Αυτο-οξείδωση

Τα ισο-α-οξέα αποσυντίθενται εύκολα λόγω των αντιδράσεων αυτοοξείδωσης που συμβαίνουν σε επαφή με το οξυγόνο. Στην παρασκευή μύρας, επιβιώνουν σε μεγάλο βαθμό στο βρασμό,

παρόλο που σε ορισμένες ποσότητες μπορεί να ανιχνευθεί ένας αριθμός προϊόντων με οξείδια οξέος. Αυτά τα προϊόντα πιστεύεται ότι παράγονται σε σταδιακό μετασχηματισμό σε άλλα-ισο-α-οξέα, ενυδατωμένα άλλα-ισο-α-οξέα, ακετυλομουλουλινικά οξέα και τελικά χουμουλινικά οξέα (Verzele et al., 1991). Τα ισο-α-οξέα αποσυντίθενται εύκολα λόγω αντιδράσεων αυτοοξειδωσης που συμβαίνουν σε επαφή με οξυγόνο. Στην παρασκευή μύρας, επιβιώνουν σε μεγάλο βαθμό στο βρασμό του μούστου παρόλο που σε ορισμένες ποσότητες μπορεί να ανιχνευθεί ένας αριθμός οξειδωμένων προϊόντων. Αυτά τα προϊόντα πιστεύεται ότι παράγονται σε σταδιακό μετασχηματισμό σε άλλα-ισο-α-οξέα, σε ενυδατωμένα άλλα-ισο-α-οξέα, acetylhumulinic και τελικά χουμουλινικά οξέα (Verzele et al., 1991). Την χουμουλινικού οξέος στην μύρα φαίνεται να αποτελούν επιβεβαίωση αυτού (Verzele et al., 1973). Στη συνέχεια μελετήθηκε η σταθερότητα των ισο-α-οξέων στην μύρα κατά την αποθήκευση, προστατευμένη από το φως. Ο Hughes et al (1997) ανέλυσε τη εμπορική lager που διατηρήθηκε στους 250° C και στους 400° C για 3 μήνες παρατηρώντας μείωση της συγκέντρωσης των ισο-α-οξέων μόνο στην υψηλότερη θερμοκρασία και ιδιαίτερα στα trans-ισομερή.

Οι μετέπειτα μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν σε επιλεγμένη μύρα υψηλής ζύμωσης και ζύμωσης υψηλής ποιότητας που διατηρήθηκε σε διαφορετικές συνθήκες και περιόδους αποθήκευσης απέδωσαν ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα. Σε αυτήν την περίπτωση, ο De Cooman et al. (2000) παρατήρησε ότι ενώ η συγκέντρωση των cis-ισο-α-οξέων μειώθηκε λιγότερο από 10% μετά από 15 μήνες, η μείωση της συγκέντρωσης trans-ισο-α-οξέων ήταν έντονη. Αυτή η διαφορά ήταν πιο δραματική στην περίπτωση υψηλότερων θερμοκρασιών όπου ο λόγος trans / cis παρατηρήθηκε να μειώνεται από 47 σε 11% σε 12 μήνες στους 25 ° C και από 48 σε 17% σε μόλις 10 ημέρες στους 60 ° C. Συγκρίθηκε επίσης η συμπεριφορά της μύρας που περιείχε παράγωγα τετραϋδρο-ισο-α-οξέος-στα οποία η πλευρική αλυσίδα C (4) είναι μειωμένη διαπιστώνοντας ότι αυτά έδειξαν καλή σταθερότητα στους ίδιους χρόνους αποθήκευσης και θερμοκρασίας. Ως εξήγηση σε αυτό, οι συγγραφείς υπέθεσαν ότι αυτή η διαφορά σταθερότητας συσχετίστηκε με μεγαλύτερη τάση trans-ισο-α-οξέος προς αυτοοξείδωση λόγω της διαμόρφωσης cis των πλευρικών αλυσίδων στους C (4) και C (5), η οποία δημιούργησε μια περιοχή ηλεκτρικής πυκνότητας, επιτρέποντας έτσι την άμεση έναρξη των αντιδράσεων οξείδωσης.

Μελέτες που δημοσιεύθηκαν πρόσφατα, ωστόσο, ανέφεραν την ταυτοποίηση προηγούμενων μη ταυτοποιημένων ενώσεων που προέκυψαν από την αυτοοξείδωση των ισο-α-οξέων για την παραγωγή cis- και trans- -hydroxy-peroxyalloisocohumulone, hydroxy-peroxyalloisohumulone, hydroxy-peroxyalloisoadhumulone και cis/trans- hydroxy-alloisocohumulone, cis/trans- hydroxyalloisohumulone και cis/trans hydroxy-alloisoadhumulone (Intelmann et al., 2010). Ο ποσοτικός προσδιορισμός αυτών των προϊόντων οξείδωσης έδειξε ότι και τα δύο cis / trans ισο-α-οξέα ήταν εξίσου ευαίσθητα.



Εικόνα 9 Η διαμόρφωση *Trans*-ισο-α- οξέος C4-OH έχει ως αποτέλεσμα *cis* - διαμόρφωση πλευρικής αλυσίδας C4 και C5 (De Cooman et al., 2000)

#### 4.5 Υδροφοβικότητα

Αυτός ο όρος αναφέρεται στη συγγένεια που έχει μια ένωση με το νερό και αντιστρόφως όπου σχετίζεται με την λιπόφιλη φύση της ή τη συγγένεια με τους μη πολικούς διαλύτες. Όλα τα ισο-α-οξέα είναι γνωστό ότι είναι υδρόφοβα, αλλά είναι σημαντικό να υπάρχει κάποιος τύπος μέτρησης της σχετικής υδροφοβικότητάς τους. Ο Hughes το εκτίμησε με συσχέτιση των ενώσεων με τον σχετικό όγκο κατακράτησής τους σε σύστημα HPLC αντίστροφης φάσης και με σύγκριση των συντελεστών κατανομής *octan-1-ol/phosphate* ρυθμιστικού διαλύματος (Εικ). Όπως μπορεί να παρατηρηθεί, τα *cis* - ισο-α-οξέα είναι λιγότερο υδρόφοβα ή περισσότερο λιπόφιλα από τα αντίστοιχα τους και σε κάθε ζεύγος ισομερών. Ειδικά στην περίπτωση της υδροφοβίας, υπάρχει έρευνα που υποστηρίζει μια άμεση σχέση μεταξύ αυτού του χαρακτηριστικού και της πικράδας (Gardner, 1978,1979).

	Συντελεστής κατανομής	Συντελεστής χωρητικότητας (k <sup>+</sup> )
Trans Ισο-α-οξέα	1.99	
Cis Ισο-α-οξέα	2.23	
Cis-Ισο-κοχουμουλόνη		2.93
Trans Ισο-κοχουμουλόνη		3.14
Cis-ισοχομουλόνη		3.51
Trans-ισοχομουλόνη		4.02
Cis-αντχομουλόνη		5.46
Trans-αντχομουλόνη		5.83

Πίνακας 5 Μέτρηση υδροφοβικότητας για ισο-α-οξέα

## 4.6 Οξύτητα

Τα ισο-α-οξέα θεωρούνται ως υπολογίσιμα, λόγω των σημαντικών ιδιοτήτων του δότη πρωτονίων. Σε αυτήν την περίπτωση, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ζευγών ισομερών, αλλά αναμένεται ότι υπάρχει κάποια διαφορά στην οξύτητα, αν και δεν ήταν δυνατόν να βρεθεί αναφορά για τις τιμές pKa όλων των ισομερών. Ο Simpson (1993) απέκτησε κατά προσέγγιση τιμή pKa = 3,1 για trans-ισοχομουλόνη. Η εργασία που πραγματοποιήθηκε, στην οποία τα ισομερή διαχωρίστηκαν χρησιμοποιώντας τη ζώνη καθαρισμού του pH, το CPC θα έδειχνε ότι υπάρχει κάποια, αν και, μικρή διαφορά στην οξύτητα των ισομερών και ότι η σειρά είναι: *transisocohumulone* > *cis-isocohumulone* > *trans-isohumulone* > *cis-isohumulone* > *transiso-adhumulone* > *cis-isoadhumulone*.

## 4.7 Πικράδα

Δεδομένου ότι η γεύση και η σταθερότητα της γεύσης αποτελούν μείζον ζήτημα ποιότητας στην μπύρα, έχει γίνει μεγάλη έρευνα για να καθοριστεί ο ρόλος κάθε ισο-α οξέος. Υπήρξε ένα είδος συναίνεσης ότι η ισοχομουλόνη ήταν πικρότερη, καθιερώνοντας μια προτίμηση για τα προϊόντα λυκίσκου φτωχά σε χουμουλόνη, αλλά δεν υπήρχε πραγματική επιστημονική έρευνα για να υποστηρίξει αυτήν την ιδέα. Προκειμένου να ρίξει λίγο φως σε αυτό το ζήτημα, ο Hughes (2000) πραγματοποίησε ένα ψυχοφυσικό τεστ με τέσσερα από τα έξι κύρια ισο-α-οξέα που απομόνωσε - τα cis- και τα trans-ισομερή της ισοκοχομουλόνης και της ισοχομουλόνης που λήφθηκαν χρησιμοποιώντας μια προπαρασκευαστική HPLC μέθοδος (Hughes, 1996). Δεν ήταν δυνατή η διεξαγωγή δοκιμών με trans / cis-ισο adhumulone λόγω της δυσκολίας στη συλλογή επαρκών ποσοτήτων καθαρών ενώσεων. Χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα των καθαρών ισομερών σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού νατρίου και αιθανόλη και τα αποτελέσματα τους επέτρεψαν να συμπεράνουν ότι υπό αυτές τις συνθήκες, η πικρότερη ένωση ήταν η cis-ισοχομουλόνη, ενώ η trans ισοκοχομουλόνη ήταν η λιγότερο πικρή, δηλ. *cis-ισοχομουλόνη* > *trans-ισοχομουλόνη* ≈ *cis-ισοκοχομουλόνη* > *transisocohumulone*.

Λόγω της επιβεβαίωσης των αξιοσημείωτων διαφορών μεταξύ των διαφορετικών ισομερών ισο-α-οξέων, στις περισσότερες πτυχές που σχετίζονται με την ποιότητα και τη σταθερότητα της μπύρας, ήταν απαραίτητο να διεξαχθεί περαιτέρω έρευνα για όλες τις πτυχές που σχετίζονται με αυτές τις ιδιότητες.



#### 4.8 Β-οξέα (Λουπουλόνης): υποπροϊόντα ζυθοποιίας

Επειδή αρχικά δεν κατακρημνίστηκαν με οξικό μόλυβδο και βρέθηκαν δεύτερα από τα α-οξέα, τα άλλα κύρια οξέα που παράγονται από τους αδένες λουπουλόνης του λυκίσκου είναι γνωστά ως β-οξέα. Αναφέρεται επίσης ως λουπουλόνης, υποστηρίζεται ότι ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά το 1863 από τον Lermier ως λευκή κρυσταλλική σκόνη. Τα β-οξέα μοιάζουν με τα α-οξέα στη μοριακή δομή, εκτός από το ότι διαθέτουν μια τρίτη ισοπρενύλ (ισοπεντενύλ) πλευρική αλυσίδα αντί μιας υδροξυλομάδας στο C-4 στον εξαμελή δακτύλιο. Όπως και οι μεγάλες αδερφές τους, τα α-οξέα, τα β-οξέα διαθέτουν πέντε κυρίαρχα ανάλογα, που διαφέρουν μόνο μεταξύ τους στις πλευρικές αλυσίδες κετόνης R-ομάδας τους στη θέση C-2.

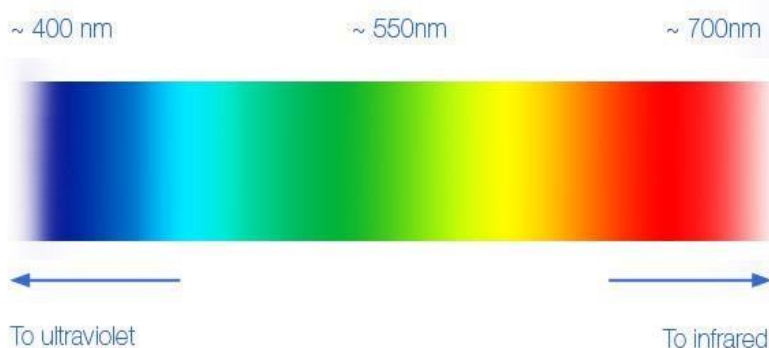
Τα β-οξέα ονομάζονται ,αντίστοιχα όπως τα α-οξέα: (MW 400), λουπουλόνη και αντλουπουλόνη (MW 414), prelupulone (MW 386) and postlupulone (MW 428). Η λουπουλόνη, κολουπουλόνη και η αντλουπουλόνη αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 95% των β-οξέων.

Τα β-οξέα είναι επίσης ασθενή οξέα λόγω δύο όξινων πρωτονίων από ένα τμήμα της 1,3-τρικετο-ενόλης (pKa1 5–5,5) και από την 1,3-δικετο-ενόλη. Ωστόσο, τα β-οξέα πιστεύεται ότι είναι υποπροϊόντα και έχουν ελάχιστη έως και καθόλου τιμή παρασκευής λόγω της περιορισμένης διαλυτότητάς τους. Είναι ελάχιστα διαλυτά τόσο στο νερό όσο και στο γλεύκος και ως καθαρές ενώσεις μόνο 1 g / 100 mL είναι διαλυτό. Ωστόσο, καθώς ένα μείγμα που απαντάται φυσικά σε εγκλεισμένο λυκίσκο στους αδένες της λουπουλόνης με άλλες ενώσεις , αυξάνεται η διαλυτότητά τους. Πιστεύεται ότι τα περισσότερα διαλυτοποιημένα οξέα χάνονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής λόγω της επαφής με τα συστατικά όπου σχηματίζουν ίζημα ή χάνονται μέσω οξειδωτικών μέσων.

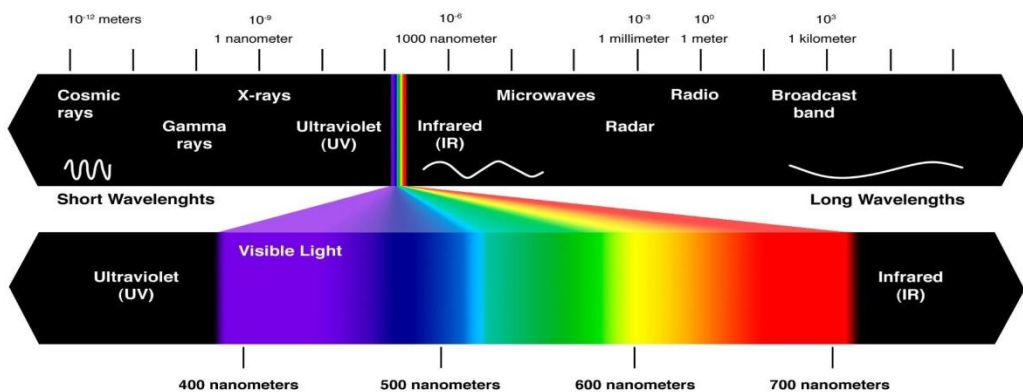
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΧΡΩΜΑ ΖΥΘΟΥ

### 5.1 Χρώμα της μπύρας

- Το χρώμα είναι μια ιδιότητα του φωτός, το οποίο είναι ένα ηλεκτρομαγνητικό κύμα.
- Όπως όλα τα κύματα, μπορεί να έχει διαφορετικές συχνότητες, οι οποίες το ανθρώπινο μάτι αντιλαμβάνεται ως διαφορετικό χρώμα.
- Χαμηλά μήκη κύματος, περί τα 380 nm γίνονται αντιληπτά ως μπλε-βιολέ χρώμα, μακρά μήκη κύματος περί τα 700 nm γίνονται αντιληπτά ως κόκκινο.
- Το όλο πλήθος των ορατών κυμάτων ονομάζεται ορατό φάσμα φωτός.

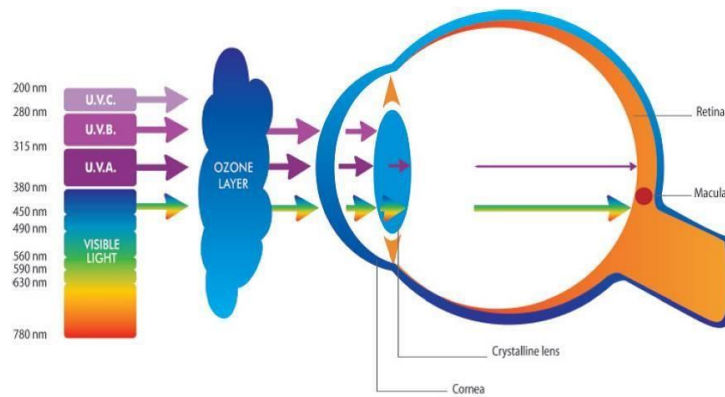
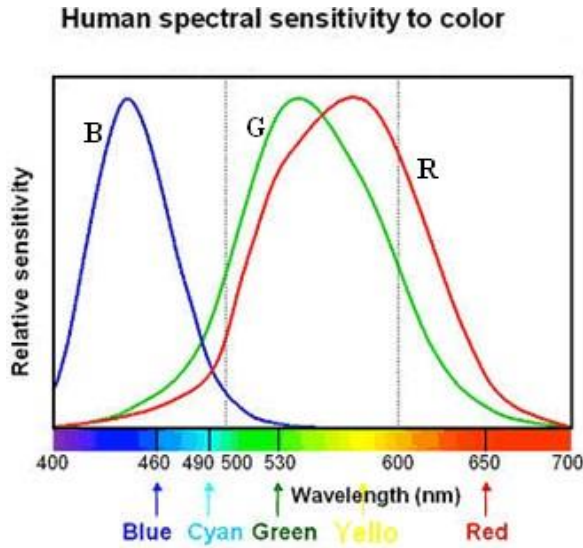


Πέρα από το ορατό φάσμα, κύματα με μικρότερα μήκη είναι το υπεριώδες, οι ακτίνες X και οι ακτίνες γ, σε μεγαλύτερα μήκη κύματος είναι το υπέρυθρο, μικροκύματα και τα ραδιοκύματα, κ.α. Αν το φως περάσει από ένα πρίσμα (ή μια σταγόνα νερού) τότε διαχωρίζεται στις διαφορετικές συχνότητες και βλέπουμε το φάσμα του (π.χ. ουράνιο τόξο).



Εικόνα 10 Χρώμα στο ανθρώπινο μάτι

Το ανθρώπινο μάτι ανιχνεύει το χρώμα με 2 ειδών αισθητήρες (200x200=8.000.000 χρώματα). Το σήμα μεταφέρεται από τους αισθητήρες μέσω του οπτικού νεύρου στο εγκέφαλο, όπου επεξεργάζεται και προκύπτει η σύνθετη αίσθηση των χρωμάτων, έτσι οι περισσότεροι άνθρωποι βλέπουν ~ 2.000.000 χρώματα και το μάτι βλέπει ~ 200 αποχρώσεις για κάθε χρώμα. Δηλ. ~ 200 x



Εικόνα 11 Κώνους (ευαίσθητοι στο χρώμα: κυρίως μπλέ, πράσινο, κόκκινο)

### 5.3 Η ιστορία της μέτρησης του χρώματος της μύρας

Ο J.W. Lovibond 1883 χρησιμοποιεί χρωματιστές διαφάνειες που έχουν σχέση με το χρώμα της μύρας για να προσδιοριστεί κατά προσέγγιση το χρώμα. Για δεκαετίες, η μύρα συγκρίνονταν με πρότυπο χρωματιστό γυαλί για να καθοριστεί το χρώμα Lovibond και εξακολουθούν να χρησιμοποιούν τον όρο «βαθμούς Lovibond». Με την πάροδο του χρόνου, οι περιορισμοί της μεθόδου του Lovibond είχαν αναγνωριστεί, οι οποίοι εξαρτιόντουσαν από την φυσιολογία του κάθε ατόμου, με αποτέλεσμα διακυμάνσεις στην αντίληψη των χρωμάτων από άτομο σε άτομο.

2	PALE LAGER	
3	MAIBOCK	
4	WEISSBIER	
6	PALE ALE	
8	SAISON	
10	ESB	
13	DOUBLE IPA	
17	DARK LAGER, AMBER ALE	
20	BROWN ALE, DUNKELS	
24	DOPPLEBOCK, PORTER	
29	STOUT	
35	BALTIC PORTER	
40+	IMPERIAL STOUT	

Πίνακας 6 Κλίμακα Lovibond

### 5.4 Μέθοδοι μετρήσεις του χρώματος της μύρας

**Γυαλάκια/Χρωματολόγιο:** «Βαθμοί Lovibond" ή "° L" κλίμακα είναι ένα μέτρο του χρώματος μιας ουσίας, συνήθως διαλύματα μύρας, ούισκι, ή ζάχαρη. Ο προσδιορισμός των βαθμών Lovibond λαμβάνει χώρα συγκρίνοντας το χρώμα της ουσίας σε μια σειρά από πορτοκαλί έως καφέ γυάλινων αντικειμενοφόρων πλακών, συνήθως με ένα χρωματομέτρο. Η κλίμακα επινοήθηκε από τον Joseph Williams Lovibond.

**Φασματοφωτόμετρο ASBC-EBC:** Οι μετρήσεις ASBC και EBC είναι ταυτόσημες (σήμερα γίνονται αμφότερες στο ίδιο μήκος κύματος και σε ίδιου μεγέθους κυψελίδα), αλλά η κλίμακα είναι διαφορετική. Ένα φωτόμετρο και ένα φασματοφωτόμετρο χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της απορρόφησης του φωτός στα 430 nm καθώς, περνά μέσα από 1 cm μύρας που περιέχεται σε μια κυψελίδα 1 cm επί 1 cm. Η απορρόφηση είναι ο λογάριθμος του λόγου της έντασης της δέσμης φωτός που εισέρχονται στο δείγμα με την ένταση που εξέρχεται. Η διαφορά αυτή πολλαπλασιάζεται με 12,7 στο σύστημα SRM και 25 στην EBC.

Για παράδειγμα, εάν η ένταση του φωτός είναι μία αποχωρούσα ένα εκατοστό η ένταση του φωτός που εισέρχεται η αναλογία είναι 100, η απορρόφηση είναι 0,5 και το SRM είναι 6,35. Ο συντελεστής κλίμακας προέρχεται από τον αρχικό ορισμό του SRM. Ο αριθμός SRM ήταν αρχικά και εξακολουθεί να είναι, όπως ορίζεται από την ένταση του χρώματος της μύρας σε ένα δείγμα χωρίς θολρότητα και έχει τα φασματικά χαρακτηριστικά της μέσης μύρας, είναι 10 φορές η απορρόφηση της μύρας, που μετράτε σε κυψελίδα 1/2 ίντσα με μονοχρωματικό φως σε 430 nm. Τα σύγχρονα φασματοφωτόμετρα χρησιμοποιούν κυψελίδες 1 cm αντί 1/2 ίντσας.

Όταν χρησιμοποιείται μια κυψελίδα του 1 cm, η εφαρμογή του νόμου Bouguer-Beer-Lambert δείχνει ότι ο πολλαπλασιαστής πρέπει να είναι 12,7 αντί για 10. Όταν η τιμή SRM για μια μύρα είναι μεγαλύτερη από περίπου 30, τότε το γραμμικό όριο καταγραφής ορισμένων μέσων προσεγγίζεται με κυψελίδες 1 cm. Σε τέτοιες περιπτώσεις, το δείγμα αραιώνεται με απιονισμένο νερό. Χρήση του νόμου του Beer Lambert δίνει και πάλι τον μαθηματικό ορισμό του SRM στη γενική περίπτωση ως εξής:  $SRM = 12.7 \times D \times A_{430}$

Το μήκος κύματος 430 nm αντιστοιχεί σε ένα βαθύ μπλε φως και επιλέχτηκε, όπως ήταν ο πολλαπλασιαστής, να κάνουν τις τιμές που καθορίζονται στο σύστημα SRM συγκρίσιμες με εκείνες που προσδιορίζονται με τη χρήση του συστήματος Lovibond, όταν εκδόθηκε το σύστημα SRM. Το SRM υιοθετήθηκε το 1950 από την Αμερικανική Εταιρεία Χημικών Ζυθοποιών, η οποία είχε αναγνωρίσει την ανάγκη για ένα όργανο μέτρησης με βάση το χρώμα, απαλλαγμένο από τις δυσκολίες του συστήματος Lovibond (είναι ακόμα σε χρήση σε πολλές βιομηχανίες) που στηρίζεται στην οπτική σύγκριση του δείγματος με χρωματισμένους δίσκους υάλου.

Οι τιμές χρώματος μύρας που μετρήθηκαν σε βαθμούς Lovibond ήταν, όπως προαναφέρθηκε, περίπου ίσοι με τιμές σε SRM.

Η σχέση μεταξύ του SRM και Lovibond (°L) είναι:  $SRM = 1.3546 \times ^\circ L - 0.76$

Το σύστημα μέτρησης χρώματος EBC είναι παρόμοια με το SRM. Οι μετρήσεις που λαμβάνονται στα 430 nm σε κυψελίδα του 1 cm, αλλά η μονάδα του χρώματος είναι 25 φορές ο συντελεστής της αραιώσης  $A_{430}$  σε αντίθεση με 12,7 φορές το  $A_{430}$  συντελεστής αραιώσης, έτσι ώστε:  $EBC = 25 \times D \times A_{430}$  αντιστοιχείς  $EBC = SRM \times 1.97$   $SRM = EBC \times 0.508$

Έτσι το EBC είναι περίπου δύο φορές το SRM και αυτό ισχύει σε οποιοδήποτε βάθος χρώματος. Η συμφωνία μεταξύ της SRM και Lovibond είναι σχεδόν γραμμική για τις ξανθές μύρες ( $10^\circ L \sim 12.7 SRM$ ), αλλά μη γραμμική για τις πιο σκοτεινές μύρες ή τα γλεύκη ( $40^\circ L \sim 53.4 SRM$ ). Και τα δύο συστήματα απαιτούν η μύρα να μην είναι θολή, πριν από τη μέτρηση στα 430 nm.

Στην SRM λαμβάνεται μία δεύτερη μέτρηση σε 700 nm. Εάν η απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος είναι μικρότερη από 0,039 φορές της απορρόφησης στα 430 nm, η μύρα θεωρείται πως δεν είναι θολή. Αν όχι, πρέπει να διηθηθεί ή να φυγοκεντρηθεί και η μέτρηση επαναλαμβάνεται.

Εάν η δοκιμή δεν γίνει αποδεκτή, λόγω θολερότητας, τότε η μύρα δεν έχει «μέσο φασματικό χαρακτηριστικό» και από τεχνική άποψη, δεν έχει τα χαρακτηριστικά που απαιτούνται για να μετρηθεί με τη μέθοδο SRM.

Στο EBC σύστημα η μύρα πρέπει να φιλτραριστεί, εάν η θολότητα της είναι περισσότερο από 1 EBC. Δεν γίνεται άλλη μέτρηση της απορρόφησης, εκτός από τα 430 nm.

Σημειώστε ότι η προηγούμενη αρχική έκδοση του EBC βασίστηκε στην απορρόφηση στα 530 nm, στην οποία δεν επιτρέπεται καμία άμεση μετατροπή μεταξύ των δύο συστημάτων, αλλά υπάρχουν όμως σύνθετες εξισώσεις για τη μετατροπή των τιμών.

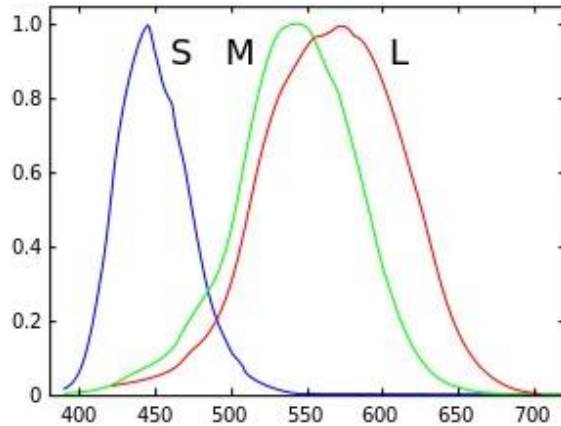
### **Τριχρωματικές τιμές - Tristimulus values**

Λόγω της μέτρησης του χρώματος της μύρας μόνο στα 430 nm από τις μεθόδους SRM/EBC, οι κλίμακες τους δεν αντιπροσωπεύουν το χρώμα της μύρας όπως αυτό γίνεται αντιληπτό από το ανθρώπινο μάτι.

Το ανθρώπινο μάτι έχει τρία είδη κυττάρων τα οποία ανιχνεύουν το φως, με φασματικές κορυφές ευαισθησίας σε βραχεία (S, 420 έως 440 nm), μεσαία (M, 530 - 540 nm), και μεγάλα (L, 560-580 nm) μήκη κύματος. Τα κύτταρα αυτά αποτελούν τη βάση της ανθρώπινης αντίληψης των χρωμάτων μεσοπρόθεσμα και σε συνθήκες υψηλής φωτεινότητας (σε πολύ αμυδρό φως, η έγχρωμη όραση μειώνεται και αναλαμβάνουν η χαμηλής φωτεινότητας, μονοχρωματικοί υποδοχείς "νυχτερινής όρασης"). Έτσι, οι τρεις παράμετροι, που αντιστοιχούν σε επίπεδα ερεθίσματος των τριών τύπων κυττάρων, μπορούν να περιγράψουν οποιαδήποτε αίσθηση του χρώματος. Έτσι σταθμίζοντας ένα συνολικό φάσμα φωτός που παρέχεται από τις ατομικές φασματικές ευαισθησίες των τριών τύπων κυττάρων, δίνεις τρεις ενεργές τιμές ερεθίσματος. Αυτές οι τρεις τιμές συνθέτουν μια τριχρωματική προδιαγραφή του αντικειμενικού χρώματος του φάσματος του φωτός (LMS color space).

Οι τρεις παράμετροι, S, M, L, μπορούν να αντιστοιχιστούν με τη χρήση ενός τρισδιάστατου χώρου, που ονομάζεται χρωματικός χώρος LMS, ο οποίος είναι ένας από τους πολλούς χρωματικούς χώρους που έχουν επινοηθεί για να βοηθούν στην ποσοτικοποίηση της ανθρώπινης έγχρωμης όρασης. Ένας χάρτης χρωματικού χώρου αναπαριστά μια σειρά από φυσικά χρώματα που παράγονται (από μικτό φως, χρωστικές ουσίες, κ.λπ.) σε μια αντικειμενική περιγραφή των χρωματικών αισθήσεων, που ανιχνεύονται από το μάτι, συνήθως σε όρους από τριχρωματικές τιμές, αλλά όχι συνήθως στο χώρο LMS, που ορίζεται από την φασματική ευαισθησία των κυττάρων. Οι τριχρωματικές τιμές των χρωματικών χώρων (π.χ. κατά CIE) σχετίζονται με το χρωματικό χώρο που μπορεί να γίνει αντιληπτός ως ποσότητα από τα τρία βασικά χρώματα σε ένα τριχρωματικό αθροιστικό μοντέλο. Σε ορισμένους χρωματικούς χώρους,

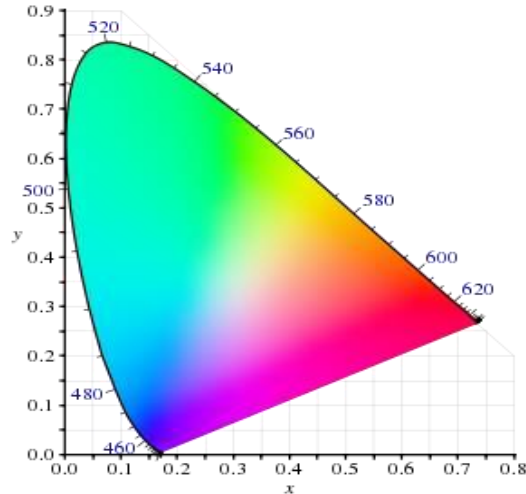
συμπεριλαμβανομένων των χώρων LMS και CIE XYZ, τα βασικά χρώματα που χρησιμοποιούνται δεν είναι πραγματικά χρώματα, με την έννοια ότι δεν μπορεί να παραχθούν με κάποιο φάσμα του φωτός.



*Εικόνα 12 Normalized responsivity spectra of human cone cells, S, M, and L types*

Σύμφωνα με τη μέθοδος CIE που αναπτύχθηκε το 1931, οι χρωματικοί χώροι είναι οι πρώτοι που ορίζονται ως ποσοτικές σχέσεις μεταξύ του φυσικού καθαρού χρώματος (δηλαδή μήκη κύματος) στο ηλεκτρομαγνητικό ορατό φάσμα και τη φυσιολογική αντίληψη χρωμάτων στην ανθρώπινη έγχρωμη όραση. Οι μαθηματικές σχέσεις που ορίζουν τους χώρους αυτών των χρωμάτων είναι βασικά εργαλεία για τη διαχείριση του χρώματος. Επιτρέπουν σε κάποιον να μεταφράσει διαφορετικές φυσικές αντιδράσεις σε ορατή ακτινοβολία, σε μελάνια χρώματος, φωτεινές οθόνες και συσκευές εγγραφής, όπως ψηφιακές φωτογραφικές μηχανές, σε μια καθολική αντίδραση ανθρώπινης έγχρωμης όρασης. Ο χρωματικός χώρος CIE 1931 RGB και ο χρωματικός χώρος CIE 1931 XYZ δημιουργήθηκαν από τη Διεθνή Επιτροπή Φωτισμού (CIE) το 1931. Ο χρωματικός χώρος CIE XYZ προήλθε από μια σειρά πειραμάτων που έγιναν στα τέλη του 1920 από τον William David Wright και τον John Guild. Τα πειραματικά τους αποτελέσματα συνδυάστηκαν σε προδιαγραφές του χρωματικού χώρου CIE RGB, από το οποίο προήλθε ο χρωματικός χώρος CIE XYZ.

Ο χρωματικός χώρος CIE XYZ περιλαμβάνει όλες τις αισθήσεις των χρωμάτων που ένας μέσος άνθρωπος μπορεί να βιώσει. Χρησιμοποιείται ως ένα πρότυπο αναφοράς έναντι του οποίου έχουν καθοριστεί πολλοί άλλοι χώροι χρωμάτων.



Εικόνα 13 The CIE 1931 color space chromaticity diagram

### 5.5 Οι σημασία των X, Y και Z

Όταν κρίνουμε τη σχετική φωτεινότητα των διαφορετικών χρωμάτων σε καλά φωτισμένες περιπτώσεις, οι άνθρωποι τείνουν να αντιλαμβάνονται το φως μέσα στα πράσινα μέρη του φάσματος ως φωτεινότερο από το κόκκινο ή το μπλε φως της ίσης ισχύος. Η λειτουργία της φωτεινότητας που περιγράφει την αντιληπτή λαμπρότητα των διαφορετικών μηκών κύματος είναι συνεπώς χονδρικά ανάλογη με την φασματική ευαισθησία των Μ κυττάρων . Το μοντέλο CIE εκμεταλλεύεται αυτό το γεγονός, με τον καθορισμό του Y ως φωτεινότητα, του Z το οποίο είναι σχεδόν ίσο με τη μπλε διέγερση ή την απόκριση του S κυττάρου και το X είναι ένα μίγμα (γραμμικός συνδυασμός) των καμπυλών απόκρισης κυττάρων κώνου, που είναι μη αρνητικές. Οι τιμές κατά CIE XYZ είναι ανάλογες, αλλά όχι ίδιες με, τις τιμές του LMS (αντιδράσεις από τους κώνους του ανθρώπινου ματιού). Ο καθορισμός του Y ως φωτεινότητα, έχει το χρήσιμο αποτέλεσμα ότι για οποιαδήποτε δεδομένη τιμή Y, το επίπεδο XZ θα περιλαμβάνει όλους τους πιθανούς χρωματισμούς σε αυτή τη φωτεινότητα.

### 5.6 Το χρώμα της μύρας σήμερα

Όταν η μύρα παρουσιάζεται σε φιάλες πυριτίου ή διανέμεται σε ποτήρι το χρώμα της μεταφέρει σημαντικά μηνύματα στον καταναλωτή. Οι καταναλωτές συχνά συνδυάζουν το σκούρο χρώμα με ισχυρότερη γεύση, υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ και μεγαλύτερη βαρύτητα. Έτσι το ανοιχτό χρώμα μεταφέρει την αντίθετη εντύπωση στον καταναλωτή.

Το σταθερό χρώμα της μύρας είναι σημαντικό κριτήριο ποιότητας. Το χρώμα προκύπτει κυρίως από την επιλογή των πρώτων υλών που επιλέγονται , δηλαδή, βύνες και πρόσθετα. Η



αναλογία του χρώματος από το βρασμό είναι σχετικά μεγαλύτερη σε απαλές μύρες παρά σε σκουρόχρωμες μύρες. Το χρώμα μπορεί να μειωθεί κάπως κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, με αποτέλεσμα το φαινόμενο να είναι μεγαλύτερο με τις σκούρες μύρες από ό, τι με τις ωχρές.

Το χρώμα μπορεί τελικά να προσαρμοστεί σε μια ακριβή προδιαγραφή με την προσθήκη π.χ., καραμελοχρώματος ή χρωματιστά εκχυλίσματα βύνης, συνήθως μετά την αραίωση. Επίσης το χρώμα τις μύρας σκουραίνει καθώς ωριμάζει η μύρα.

Το χρώμα που προκύπτει από τις πρώτες ύλες είναι κυρίως αποτέλεσμα της αντίδρασης Maillard (το όνομα της αντίδρασης προήλθε από ένα Γάλλο χημικό που περιέγραψε το φαινόμενο για πρώτη φορά), επίσης, η αντίδραση μπορεί να ονομαστεί μη ενζυμική ή μη οξειδωτικό καφέ. Στα τρόφιμα, αυτό είναι θερμική αντίδραση μεταξύ σακχάρων και αμινοξέων για την παραγωγή πολύχρωμων και αρωματικών ενώσεων. Κρούστα ψωμιού και το χρώμα του φρυγανισμένου ψωμιού είναι ίσως τα πιο κοινά παραδείγματα αυτής της αντίδρασης και δείχνουν σαφώς ότι η πιο έντονη θερμότητα αποδίδει πιο έντονο καφέ χρώμα ευρέως. Αυτά τα χρωματισμένα προϊόντα ονομάζονται μελανοειδής χρωστικές ουσίες οπου είναι υδατοδιαλυτές και έχουν αρκετά υψηλό μοριακό βάρος που προκύπτει από συμπυκνώσεις και πολυμερισμούς. Ωστόσο, η χημική τους δομή είναι άγνωστη.

Περιέχουν δακτυλίους πυραζίνης και midazole και έχουν υψηλή απορροφητικότητα UV (που παρέχει μια μέθοδο παρακολούθησης των πρώτων σταδίων της αντίδρασης Maillard) καθώς και απορρόφηση στο ορατό εύρος (χρώμα). Παράλληλα μαζί με τις χρωστικές ουσίες σχηματίζονται και αρωματικές ενώσεις και όλα αυτά διαχωρίζονται μεταξύ τους μέσω του μοριακού τους βάρους.

## 5.7 Αντίδραση Maillard

Μερικές φορές είναι γνωστό ως «μη ενζυματικό καφέ», αυτό είναι στην πραγματικότητα μια σειρά χημικών αντιδράσεων που οδηγούν σε καφέ χρώμα όταν το φαγητό θερμαίνεται. Τα βασικά αντιδραστήρια είναι τα αναγωγικά σάκχαρα και οι ενώσεις που περιέχουν μια ελεύθερη αμινομάδα, π.χ. αμινοξέα, πρωτεΐνες και αμίνες. Υπάρχουν πολλές ενδιάμεσες αντιδράσεις και προϊόντα που περιλαμβάνουν όχι μόνο χρώμα, αλλά και αρωματικές ενώσεις και αντιοξειδωτικά. Τα αντιοξειδωτικά παράγονται κυρίως σε υψηλότερες τιμές pH και όταν η αναλογία αμινοξέων προς ζάχαρη είναι υψηλή. Μερικά από τα προϊόντα της αντίδρασης Maillard μπορεί στην πραγματικότητα να προάγουν οξειδωτικές αντιδράσεις και όπου τα προϊόντα της αντίδρασης περιλαμβάνουν Strecker aldehydes, πυραζίνες, πυρόλες και furfurals. Μεταξύ των προσφερόμενων γεύσεων είναι ο καβουρδισμένος καφές, οι ξηροί καρποί, το ψωμί και τα δημητριακά. Οι πυρόλες ειδικότερα μπορούν να συνεισφέρουν πικράδα. . Άλλες αντιδράσεις τύπου Maillard συμβαίνουν μεταξύ των αμινο-ενώσεων και ουσιών εκτός από σάκχαρα που

έχουν ελεύθερη καρβονυλομάδα. Αυτά τα περιλαμβάνουν το ασκορβικό οξύ και μόρια που παράγονται κατά την οξειδωση των λιπιδίων.

Τα πρώτα προϊόντα της αντίδρασης Maillard είναι άχρωμα, αλλά όταν μεγαλώνουν σταδιακά γίνονται χρωματισμένα. Μερικές από αυτές τις έγχρωμες ενώσεις έχουν χαμηλό μοριακό βάρος, αλλά άλλες είναι πολύ μεγαλύτερες, όπου συμπεριλαμβάνονται και τα σύμπλοκα που παράγονται από τις θερμικές αντιδράσεις των μικρότερων ενώσεων και πρωτεϊνών.

Τα ακριβή γεγονότα σε οποιαδήποτε διαδικασία που βασίζεται στο Maillard εξαρτώνται από την αναλογία των διαφόρων προδρόμων ουσιών, τη θερμοκρασία, το pH, τη δραστηριότητα νερού και τον διαθέσιμο χρόνο. Μέταλλα, οξυγόνο και αναστολείς όπως τοθειώδες επίσης επηρεάζουν. Η γεύση που αναπτύσσεται διαφέρει ανάλογα με το χρόνο και την ένταση της θέρμανσης. Για παράδειγμα, η υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα δίνει διαφορετικό αποτέλεσμα από ότι σε χαμηλή θερμοκρασία για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Τα σάκχαρα πεντόζης αντιδρούν ταχύτερα από ό,τι οι εξόζες, που με τη σειρά τους αντιδρούν ταχύτερα από τους δισακχαρίτες όπως η μαλτόζη και η λακτόζη. Όσον αφορά τις αμινο ενώσεις, η λυσίνη και η γλυκίνη είναι πολύ περισσότερο αντιδραστικό από ότι είναι η κυστεΐνη, για παράδειγμα. Η γεύση εξαρτάται επίσης από το αμινο οξύ. Για παράδειγμα, η κυστεΐνη αποδίδει κρεμώδη χαρακτήρα, η μεθειονίνη δίνει γεύση πατάτα, ενώ η προλίνη δίνει γεύση ψωμιού.

Καθώς το νερό παράγεται κατά την αντίδραση Maillard, η αντίδραση εμφανίζεται δυσκολότερα όταν η δραστηριότητα του νερού είναι υψηλή. Και έτσι, είναι πολύ πιο σημαντικό σε μεταγενέστερα στάδια της ωρίμανσης και της σκλήρυνσης, και μάλλον λιγότερο σημαντικό στην αρχή της θανάτωσης και κατά τη διάρκεια βρασμού του μούστου.

Το χρώμα της βύνης δεν επιτυγχάνεται απλά με την εφαρμογή έντονης θερμότητας στη βύνη δηλαδή δεν θα έχουμε ένα σκουρόχρωμο χρώμα ούτε ανοιχτόχρωμο σε χαμηλότερη θερμοκρασία. Στις βύνες το στάδιο της βλάστησης επεξεργάζεται, για την αύξηση της συγκέντρωσης σακχάρων (χαμηλού μοριακού βάρους) και των αμινοξέα στη βύνη.

Στο κλίβανο αυτό γίνεται, με το ζεστό αλλά παρατεταμένο στάδιο πρώιμης ξήρανσης έτσι ώστε η διάσπαση των υποστρωμάτων υψηλού μοριακού βάρους να συνεχίζεται ενώ η δράση του εμβρύου επιβραδύνεται ή να σταματά με θερμότητα και με την ξήρανση. Αυτό συσσωρεύει αντιδραστήρια (σάκχαρα και αμινοξέα) πριν από την εφαρμογή έντονης θερμότητας όπου προάγει την αντίδραση Maillard και ως εκ τούτου το χρώμα βύνης. Εάν το παρατεταμένο στάδιο πρώιμης ξήρανσης γίνεται με λίγη ξήρανση, δηλαδή υπάρχει “stewing” στο φούρνο ή σε ένα drum roaster, τότε αυτή η κατανομή του ενδοσπερμίου συνεχίζεται έτσι ώστε να πραγματοποιείται μίνι-πολτοποίηση μέσα σε κάθε πυρήνα.

Όταν η βύνη έχει ξηραθεί το ενδοσπέρμιο κρυσταλλώνεται για να δώσει κρυσταλλική βύνη και η ένταση της θέρμανσης καθορίζει το χρώμα του ενδοσπερμίου (σαν καραμέλα).

Οι κρυσταλλικές βύνες έχουν διαφορετική επίδραση στο χρώμα και στη γεύση τους, ενώ τελευταία έχει ιδιαίτερα ελκυστικές κοκκινωπές αποχρώσεις. Το κριθάρι που προορίζεται για την παραγωγή έγχρωμης βύνης δεν είναι απαραίτητο να είναι άριστης ποιότητας, επειδή η παραγωγή έγχρωμης βύνης έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή απώλεια βύνης, και το υψηλό άζωτο όπου μπορεί να εξυπηρετεί καλύτερα το σχηματισμό χρωμάτων. Η θεραπεία με γιβερελίνη της βλαστικής κριθής ευνοεί τον σχηματισμό χρώματος. Αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί εάν είναι απαραίτητο με την εφαρμογή του βρωμικού καλίου

Το χρώμα του κόκκου εξάγεται ουσιαστικά κατά την πολτοποίηση επειδή τα μελανοειδοί είναι υδατοδιαλυτά . Το χρώμα αραιώνεται, σε σχέση με την αρχική βαρύτητα, χρησιμοποιώντας στερεά πρόσθετα, π.χ. ρύζι ή καλαμπόκι. Το pH πολτοποίησης επηρεάζει την εκχύλιση και έτσι αυτές οι αντιδράσεις που επηρεάζουν το pH πολτού επηρεάζουν επίσης το χρώμα του μούστου. Γενικά, το υψηλότερο pH από το κανονικό ευνοεί περισσότερη την εξαγωγή χρώματος από τις πρώτες ύλες και επίσης προωθεί τη συνέχιση των εκδηλώσεων Maillard.

Αυτό μπορεί να είναι δραματικό σε υψηλό πολτοποιημένο pH με, π.χ., υψηλό χρώμα παραλαβής κατά τη διάρκεια του βρασμού. Το χαμηλό pH πολτού και μούστου βοηθά στη διατήρηση του χρώματος . Το χρώμα των έντονα χρωματισμένων βύνων ή των καβουρδισμένων υλικών όπως το ψητό κριθάρι μπορεί να εξαχθεί εντελώς σε ένα κανονικό πολτό, επειδή δεν μπορούν να αλεσθούν πολύ λεπτά (για την προώθηση της εξαγωγής), ώστε να μην εμποδίσουν την απορροή. Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε μεταβλητότητα του χρώματος του μούστου.

Είναι επομένως δυνατό να εξαχθούν τέτοια υλικά αλέσματος κατά τη διαδικασία επιλέγοντας την καλύτερη θερμοκρασία και pH (και τα δύο υψηλά) για εξαγωγή και δημιουργία χρώματος. Αυτό το εκχύλισμα μπορεί να αναμιχθεί στο προϊόν, ακόμη και μέχρι τα κελάρια φινιρίσματος, για να δημιουργήσει την τελική καφέ ή μαύρη μύρα.

Το βράσιμο στο βραστήρα είναι επίσης μια πηγή χρώματος στο μούστο και στη μύρα, όπου και εδώ επίσης η αντίδραση Maillard είναι υπεύθυνη επειδή η θερμότητα οδηγεί στην αντίδραση μεταξύ σακχάρων και αμινοξέων. Το αποτέλεσμα, ωστόσο, λόγω του μικρού χρόνου θα έχει μικρή επίδραση. Παρ' όλα αυτά, το pH του μούστου είναι σημαντικό και έτσι οι συνθήκες αλλάζουν το pH (π.χ., προσθήκες όπως γύψος,  $\text{CaSO}_4$  ή εάν τα διττανθρακικά ιόντα επιβιώσουν μέσα στον βραστήρα) πιθανώς θα επηρεάσουν αυτές τις αντιδράσεις. Η προσθήκη διοξειδίου του θείου, συχνά με τη μορφή KMS (μετα-διθειώδες κάλιο), θα σταματήσει τα πρώτα στάδια του σχηματισμού μελανοειδίνης δεσμεύοντας ομάδες αλδεϋδης και έτσι δρα ως λευκαντικό.

Η ανάκτηση του χρώματος στο βρασμό μπορεί επίσης να αυξηθεί εάν εισέλθει σημαντικό οξυγόνο καθώς ο μούστος εισέρχεται στον βραστήρα, ή εάν ο πυκνός μούστος παγιδεύεται πάνω σε επιφάνειες θέρμανσης όπου μπορεί στη συνέχεια να καεί ή και να καραμελωθεί. Επειδή η αντίδραση Maillard είναι μη οξειδωτική, η χρωματική επίδραση του οξυγόνου είναι πιθανότατα

στις αντιδράσεις που περιλαμβάνουν τις πολυφαινόλες που υπάρχουν για να σχηματίσουν phlobarphenes. Αυτή η αντίδραση μπορεί να είναι ενζυμική ή να καταλύεται από ένζυμο.

### **5.8 Οξείδωση πολυφαινόλης**

Γνωστή ως ενζυματικό καφέτιασμα (enzymatic browning), όπου προκύπτει από την οξείδωση των πολυφαινολών σε ο-κινόνες από ένζυμο όπως η πολυφαινόλη οξειδάση και υπεροξειδάση. Γνωστά παραδείγματα είναι το καφέτιασμα στις φέτες μήλου και η παρασκευή μαύρου τσαγιού από πράσινο τσάι.

Ενώ η θέρμανση ενισχύει τη μη ενζυματική αμαύρωση (nonenzymatic browning καφετιασμα), το αντίθετο ισχύει για την ενζυμική αμαύρωση, καθώς η θερμότητα απενεργοποιεί τα ένζυμα. Ο αποκλεισμός οξυγόνου θα αποτρέψει επίσης την ενζυμική αντίδραση αλλά όχι τη μη ενζυμική αντίδραση.

Τα πιο σημαντικά ένζυμα που εμπλέκονται σε αυτήν την αντίδραση είναι οι υπεροξειδάσες. Ενώ η οξείδωση πολυφαινόλης υπάρχει στο κριθάρι, όπου το επίπεδο της είναι εξαιρετικά ευαίσθητο στη θερμότητα, μειώνεται προοδευτικά κατά τη βλάστηση και καταστρέφεται εξ ολοκλήρου στην καύση και κατά την έναρξη της πολτοποίησης.

Αντιθέτως, οι υπεροξειδάσες, εκ των οποίων υπάρχουν πολλές, είναι εξαιρετικά ανθεκτικές στη θερμότητα και υπάρχουν σε πολύ υψηλά επίπεδα στη βύνη. Έχουν πολύ υψηλή συγγένεια με το υπεροξείδιο του υδρογόνου και θα χρησιμοποιήσουν πολύ χαμηλά επίπεδα για την οξείδωση των πολυφαινολών. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου σχηματίζεται από την αντίδραση οξυγόνου με ενώσεις θειόλης στο πολτό, για παράδειγμα, τις σουλφυδρυλ ομάδες που βρίσκονται στις πρωτεΐνες του gel. Με τη σειρά του, μέσω αυτής της αντίδρασης οι πρωτεΐνες αυτές κολλούν μεταξύ τους ως μέρος του σχηματισμού teig που οδηγεί σε επιβράδυνση του διαχωρισμού του γλεύκου. Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι η οξείδωση της πολυφαινόλης μπορεί επίσης να συμβεί μη ενζυματικά, μέσω του παράγοντα ενεργοποιημένων μορφών οξυγόνου, αλλά η καταλύομενη από ένζυμο οδό είναι πιο σημαντική.

### **5.9 Αλλαγές στο χρώμα της μύρας, στη συγκέντρωση πολυφαινόλης και στη μείωση της ισχύος**

Παρατηρήθηκε σχεδόν γραμμική αύξηση για δείγματα αποθηκευμένα στους 40 °C απουσία οξυγόνου. Ο σχηματισμός έγχρωμων προϊόντων Maillard σε αυτές τις συνθήκες αποθήκευσης είναι η κυρίαρχη αιτία. Όμως στη παρουσία οξυγόνου η αύξηση του χρώματος ήταν ταχεία κατά τις πρώτες ημέρες. Αυτό οφείλεται κυρίως στην οξείδωση και την επακόλουθη αποδόμηση των πολυφαινολών. Αυτή η αποικοδόμηση επιβεβαιώνεται από τη μείωση των φλαβονοειδών και τη σταθερή συνολική συγκέντρωση πολυφαινόλης. Η ανάλυση για τη συνολική συγκέντρωση πολυφαινόλης βασίζεται στη μέτρηση της συνολικής ποσότητας πυρήνων

φαινόλης και κατά συνέπεια ο πολυμερισμός δεν επηρεάζει τον προσδιορισμό. Αντίθετα, ο προσδιορισμός φλαβονοειδών μετρά την ποσότητα των φλαβονοειδών δομών ανεξάρτητα από τον βαθμό πολυμερισμού τους και εκφράζει τη συγκέντρωση σε όρους ισοδύναμων κατεχινών(catechin). Κατά τη γήρανση, παρατηρήθηκε μείωση του αριθμού των φλαβονοειδών δομών. Σύμφωνα με την πιο αποδεκτή θεωρία , οι οξειδωτικοί μηχανισμοί προκαλούν πολυμερισμό των φλαβονοειδών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης μύρας, γεγονός που εξηγεί ότι η συγκέντρωση μειώνεται .

Επιπλέον, η αυξημένη στυπτικότητα ορισμένων ηλικιωμένων δειγμάτων μύρας σχετίζεται με την αποδόμηση της πολυφαινόλης. Λόγω της οξείδωσης των αντιοξειδωτικών μορίων όπως οι πολυφαινόλες και ταθειώδη άλατα και, η μειωμένη ισχύς της μύρας μειώθηκε, ειδικά τις πρώτες ημέρες στους 40 °C στην παρουσία του αέρα στον κεντρικό χώρο.

### **5.10 Θερμόλυση των σακχάρων**

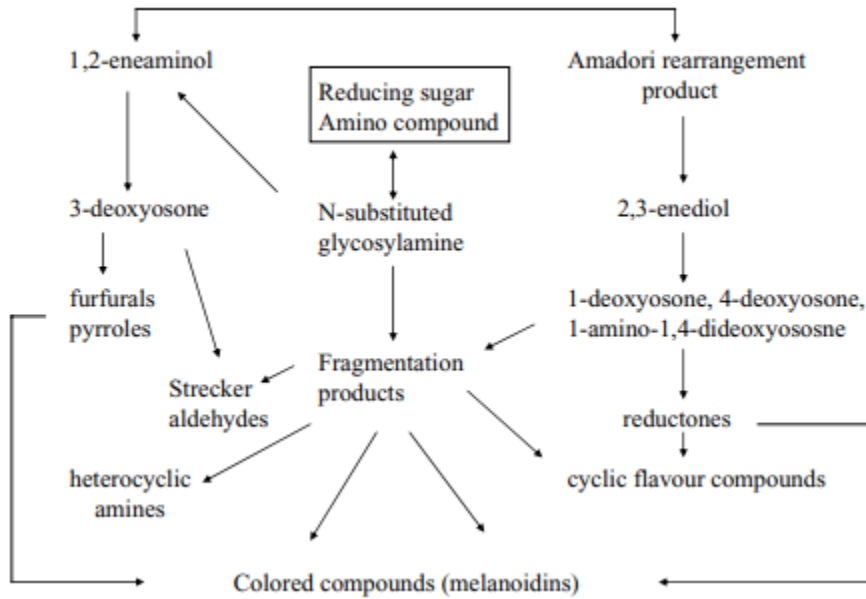
Αυτά τα σύμπλοκα έχουν κοκκινωπό καφέ χρώμα, αλλά αυτό το χρώμα μπορεί να αντιστραφεί εν μέρει κατά τη ζύμωση από τις εξαιρετικά μειωμένες συνθήκες που υπάρχουν εκεί. Παρομοίως, η απλή καύση ή η καραμελοποίηση των σακχάρων δεν περιλαμβάνει ενώσεις που περιέχουν άζωτο, αν και τα άλατα αμμωνίου είναι καταλυτικά στο σχηματισμό καραμέλας.

Η θερμόλυση των σακχάρων περιλαμβάνει εκτεταμένες δομικές αλλαγές με αφυδάτωση, σχηματισμό δακτυλίου (κυκλοποίηση), συμπύκνωση και πολυμερισμό, σχηματίζοντας πολλές διαφορετικές ενώσεις δακτυλίου. Ως αποτέλεσμα, σχηματίζονται εξαιρετικά γευστικά και χρωματιστά προϊόντα. Απλές αρωματικές ενώσεις συχνά προκύπτουν, π.χ. μαλτόλη, ισομαλτόλη και υδροξυ-μεθυλ φουρφουράλη (μεταξύ πολλών άλλων). Τα πρώτα στάδια της αντίδρασης Maillard είναι γνωστά. Οι βασικές απαιτήσεις είναι νερό, θερμότητα, πρωτοταγείς αμίνες (π.χ. αμινοξέα, πεπτίδια ή ακόμη και πρωτεΐνες) και ενώσεις με καρβονυλομάδες (π.χ. αναγωγικά σάκχαρα). Τα σάκχαρα της πεντόζης, όπως η ξυλόζη και η αραβινόζη, αντιδρούν στην αντίδραση Maillard πιο εύκολα από ότι οι εξόζες, με τη σειρά τους, είναι πιο αντιδραστικές από τους δισακχαρίτες.

Τα σάκχαρα αλδόζης, όπως η γλυκόζη (και, πιο αργά, τα σάκχαρα κετόζης όπως η φρουκτόζη) στην ανοικτή τους αλυσίδα ή σε μορφή ελεύθερου καρβονυλίου, συμπυκνώνονται (δηλαδή, με την απομάκρυνση του νερού) με αμινοξέα για να σχηματίσουν δευτεροταγείς αμίνες (π.χ. γλυκοσυλαμίνες και, σε περίσσεια σακχάρου, διγλυκοσαλαμίνες). Οι γλυκοσυλαμίνες υποβάλλονται σε αναδιάταξη Amadori για να σχηματίσει 1-αμινο-2-κετο-σάκχαρα ή κετοσαμίνες.

Η υδρόλυση τέτοιων ενώσεων αποδίδει 3-δεοξυοσόνες (π.χ. 3-δεοξυσιλουλόζη από διφρουκτόζηγλυκίνη) και μεθυλ-α-δικαρβονυλ ενώσεις. Και οι δύο αυτοί τύποι ενώσεων, αντιδρούν περαιτέρω με αμίνες, π.χ. συμπεριλαμβανομένων των αμινοξέων, είναι η αιτία των χρωστικών μελανοειδίνης που έχουν (μεταξύ άλλων δομών) δακτύλιοι πυραζίνης και

ιμιδαζόλης. Υπάρχει επίσης παραγωγή reductones,, που είναι ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες, και έτσι η αναγωγική ισχύς των χρωματιστών είναι πολύ μεγαλύτερη από τα ωχρά/ανοικτόχρωμα



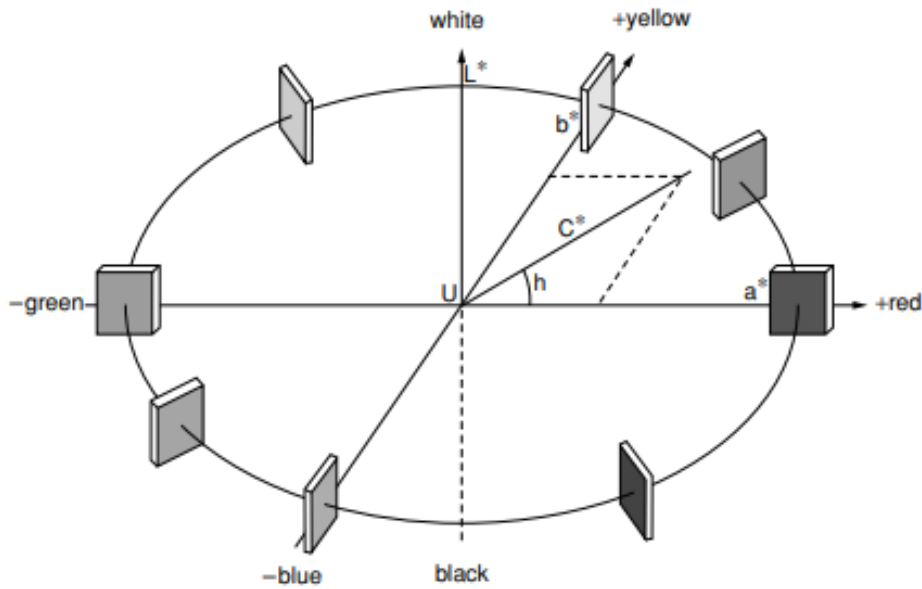
Εικόνα 14 Η αντίδραση του Maillard

Μία τέτοια αντίδραση με δικαρβονλικές ενώσεις και αμινοξέα είναι η αποικοδόμηση Strecker στην οποία τα αμινοξέα αντιδρούν με δικαρβονύλια για να σχηματίσουν αλδεΐδες (γευστικές ενώσεις) που αντιστοιχεί σε κάθε αμινοξύ (συν CO<sub>2</sub>) και κετόζη ή αλδοζίνη-αμίνη ή αμινοκετόνη που αντιστοιχεί στο αντιδραστήριο σακχάρου. Αυτές, με τη σειρά τους, μπορούν να

κυκλοποιηθούν και να συμπυκνωθούν για να σχηματίσουν νιτρογόνες πυραζίνες, πυρόλες και υποκατεστημένες πυριδίνες με μεγάλη ποικιλία δομών και (με ενώσεις που περιέχουν θείο) θειαζόλες. Αυτά έχουν έντονη γεύση. Στην αντίδραση Maillard τα συστατικά με αμινοξέα και ζάχαρη καταστρέφονται τελικά και επομένως δεν είναι διαθέσιμα για τη διατροφή των ζυμών. Το χρώμα της μύρας συνήθως μετράτε με δύο βασικές και με μία προηγμένη μέθοδο ως εξής:

- (1) **Φασματοφωτομετρία:** Σε αυτή τη μέθοδο η απορρόφηση ενός δείγματος μύρας μετριέται στα 430 nm. Το δείγμα πρέπει να αποσαφηνιστεί απόλυτα, ειδικά όταν είναι με μούστο, επειδή η θολότητα προκαλεί εξαιρετικά υψηλές μετρήσεις. Επίσης, η απορρόφηση ανάγνωσης σε ένα μόνο μήκος κύματος αποτυγχάνει να μεταδώσει την πολυπλοκότητα του χρώματος.
- (2) **Μέθοδοι σύγκρισης:** Σε αυτήν την περίπτωση, το χρώμα της μύρας συγκρίνεται με το μάτι σαν κάποια τυπική πηγή χρώματος. Το tintometer Lovibond, για παράδειγμα, προβάλλει σε μια μικρή οθόνη το χρώμα της μύρας και το χρώμα των τυπικών έγχρωμων γυαλιών. Ο παρατηρητής κάνει τον πλησιέστερο αγώνα. Και οι δύο μέθοδοι λειτουργούν αρκετά καλά σε μια στενή ζώνη προϊόντων και χρωμάτων, ειδικά εκείνων με τα οποία ο παρατηρητής είναι εξοικειωμένος. Ωστόσο, και οι δύο μέθοδοι έχουν κακή αναπαραγωγιμότητα όταν πρέπει να ληφθεί υπόψη ένα ευρύτερο φάσμα προϊόντων. Αυτά περιλαμβάνουν προβλήματα καταλληλότητας των προτύπων χρωμάτων και τα αποτελέσματα των αραιώσεων των πολύχρωμων μυρών. Έτσι, συμβαίνει συχνά δύο μύρες με διαφορετικό χρώμα η ποιότητα μπορεί να αποδώσουν παρόμοιες μετρήσεις όταν μετρηθεί με αυτούς τους τρόπους.
- (3) **Μέθοδος CIE-L \* a \* b \*(CIE-L\*a\*b\* method):** Αυτή η μέθοδος αναπτύχθηκε για να ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι το χρώμα έχει τρεις ιδιότητες (και επομένως η μέθοδος είναι συχνά αποκαλούμενη μέθοδος τριμήνου): απόχρωση (χρώμα, π.χ. κόκκινο, κίτρινο κ.λπ.), τιμή (φωτεινότητα ή θολότητα) και χρώμα ή χρωματικότητα (ένταση, ζωντάνια ή λαμπρότητα). Η μέθοδος βασίζεται σε τρεις τιμές (L \*, a \*, b \*), που προκύπτει μαθηματικά από το φάσμα απορρόφησης της μύρας στο ορατό εύρος, την ευαισθησία του ανθρώπινου ματιού σε διάφορα μέρη αυτού του φάσματος και την επίδραση του φωτός στο οποίο βλέπει το χρώμα. Αυτές οι τιμές μπορούν στη συνέχεια να χρησιμοποιηθούν για τον εντοπισμό ενός χρώματος, που απαριθμείται έτσι, σε έναν τρισδιάστατο χώρο (εικόνα 21) όπως μια σφαίρα. Ο ισημερινός μιας τέτοιας σφαίρας αντιπροσωπεύει την απόχρωση ή το χρώμα. Οι βόρειοι και νότιοι πόλοι αντιπροσωπεύουν την τιμή του χρώματος σε κλίμακα λευκού έως μαύρου αντίστοιχα και το μήκος της ακτίνας αντιπροσωπεύει το χρώμα ή τη χρωματικότητα (ζωντάνια του χρώματος). Σημειώστε ότι η τιμή L \* κυμαίνεται από μαύρο (0) έως λευκό (100). Η τιμή \* καθορίζει το χρώμα στην κόκκινη-πράσινη διάσταση και μπορεί να είναι αρνητική ή θετική τιμή b \* που ορίζει τον άξονα του κίτρινου προς μπλε και επειδή οι μύρες δεν περιέχουν μπλε τόνους, αυτή η τιμή είναι πάντα θετική. Οι χρωματικές διαφορές μεταξύ δύο ζύθων μπορούν στη συνέχεια να

οριστούν ως η απόσταση στο διάστημα μεταξύ των δύο σημείων εντός της σφαίρας που περιγράφουν το χρώμα τους. Με αυτήν τη μέθοδο επιτυγχάνεται μια καλή αντιστοιχία μεταξύ του χρώματος όπως γίνεται αντιληπτό από το ανθρώπινο μάτι και της αριθμητικής τιμής της μεθόδου ποιοτικού ελέγχου (QC), και οι πληροφορίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ρυθμιστεί με ακρίβεια το τελικό χρώμα.



Εικόνα 15 Χρωματικός χώρος



## Συμπέρασμα

Χρόνο με το χρόνο ο λυκίσκος αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο από τους ειδικούς ως αναντικατάστατο συστατικό για τη παραγωγή του ζύθου τόσο της πικράδας και του αρώματος όσο και για την σταθεροποίηση στον αφρό που προσφέρει στο τελικό προϊόν λόγω των α-οξέων. Η πικράδα είναι ένα από τα πιο σημαντικά ποιοτικά χαρακτηριστικά του ζύθου, συμβάλλοντας αναμφισβήτητα στην τυπική γεύση του. Όμως κατά την παλαίωσή του, ο λυκίσκος επηρεάζεται αρκετά με μη επιθυμητά χαρακτηριστικά λόγω της οξειδωσης κατά την αποθήκευση που έχει άμεση επίπτωση στη διάρκεια ζωής οδηγώντας σε οσμή τυριού. Καθώς ο ζύθος παλαιώνεται υφίσταται αρκετές δυσάρεστες αλλαγές ανάλογα με τις συνθήκες αποθήκευσής του, , όπως απώλεια πικράδας των α-οξέων και β-οξέων .Οι περισσότερες από αυτές τις αλλαγές σχετίζονται με επιδείνωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, ειδικά στη γεύση ή το άρωμά του ζύθου. Για το λόγο αυτό, χρήσιμο είναι να περιορίζεται η παλαίωση του ζύθου για να αποφεύγονται αυτά τα δυσάρεστα αποτελέσματα.

Όσον αφορά το χρώμα στη μύρα, είναι ένα σημαντικό κριτήριο ποιότητας. Το χρώμα προκύπτει κυρίως από την επιλογή των πρώτων υλών που επιλέγονται, δηλαδή, βύνες και πρόσθετα. Η αναλογία του χρώματος από το βρασμό είναι σχετικά μεγαλύτερη σε απαλές μύρες παρά σε σκουρόχρωμες μύρες. Το χρώμα μπορεί να μειωθεί κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, με αποτέλεσμα το φαινόμενο να είναι εντονότερο στις σκουρόχρωμες μύρες από ότι με τις ανοιχτόχρωμες. Το χρώμα που προκύπτει από τις πρώτες ύλες είναι κυρίως αποτέλεσμα της αντίδρασης Maillard όπου τα μελανοειδή που προκύπτουν από την αντίδραση είναι υδατοδιαλυτά και έχουν αρκετά υψηλό μοριακό βάρος που προκύπτει από συμπυκνώσεις και πολυμερισμούς.

## Βιβλιογραφία

1. Yumei Liu, Xiao-Hong Gu, Jian Tang & Kuifang Liu (2007) Antioxidant Activities of Hops (*Humulus Lupulus*) and Their Products, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 65:2, 116-121
2. Motoyuki Tagasgira, Motoshi Watanabe & Nobuo Uemitsu (1995) Antioxidative Activity of Hop Bitter Acids and Their Analogues, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 59:4, 740-742
3. Jan F. Stevens, Cristobal L. Miranda, Donald R. Buhler & Max L. Deinzer (1998) Chemistry and Biology of Hop Flavonoids, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 56:4, 136-145
4. Nils Rettberg, Martin Biendl & Leif-Alexander Garbe (2018) Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools—A Review , *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76:1, 1-20
5. Michael Moir (2000) Hops—A Millennium Review, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 58:4, 131-146
6. Philippe Perpète, Laurent Mélotte, Stéphane Dupire & Sonia Collin (1998) Varietal Discrimination of Hop Pellets by Essential Oil Analysis I. Comparison of Fresh Samples, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 56:3, 104-108
7. Guillaume Lermusieau & Sonia Collin (2001) Varietal Discrimination of Hop Pellets. II. Comparison between Fresh and Aged Samples, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 59:1, 39-43
8. Laura Tedone, Lada Staskova, DanDan Yan, Simon Whittock, Robert Shellie & Anthony Koutoulis (2020): Hop (*Humulus lupulus* L.) Volatiles Variation During Storage, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*,
9. Michael J. Lewis and Charles W. Bamforth (2006) *Essays in Brewing Science*, University of California–Davis Davis, California, USA
10. Patrick L. Ting and Patricia M. Aron (2020) *Deep Hops Excerpt: Chapter 4. Hop Chemistry—The Science of Hops*, American Society of Brewing Chemists
11. Wilson, Erica Georgina (2012) Contributions to the quality control of two crops of economic importance: hops and yerba mate
12. Junguang Hao, R.A. Speers, Heliang Fan, Yang Deng & Ziru Dai (2020): A Review of Cyclic and Oxidative Bitter Derivatives of Alpha, Iso-Alpha and Beta-Hop Acids, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*
13. Νεραντζης. Η , Ταταρίδης.Π και Κεχαγιά.Δ (2014), *Τεχνολογίες Βύνης & Ζύθου*, Τει Αθήνας, Αθήνα ,Ελλάδα

14. M.verzele and D. DE keukeleire (1991) Chemistry And Analysis Of Hop And Beer Bitter Acids, Belgium
15. Forster, A., and Schmidt, R. Characterisation and classification of hop varieties. *Brauwelt Int.* 1994/II:108–124, 1994.
16. Nickerson, G. B., and Likens, S. T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. *J. Chromatogr.* 21:1–5, 1966.
17. Peacock, V. E., and Deinzer, M. L. Structures of humulene diepoxides found in hop and beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 47:4–6, 1989.
18. Peacock, V. E., and McCarty, P. Varietal identification of hops and hop pellets. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 29:81–85, 1992.
19. Perpète, P., Mélotte, L., Dupire, S., and Collin, S. Varietal discrimination of hop pellets by essential oil analysis. I. Comparison of fresh samples. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 56:104–108, 1998.
20. Stevens, R. The chemistry of hop constituents. *Chem. Rev.* 61:19–71, 1966.
21. Tressl, R., Engel, K.-H., Kossa, M., and Köppler, H. Characterisation of tricyclic sesquiterpenes in hop (*Humulus lupulus*, var. *Hersbrucker Spät*). *J. Agric. Food Chem.* 31:892–897, 1983.
22. Biendl, M., and C. Pinzl. 2013. Hops and Health: Uses, Effects, History. Wolnzach: German Hop Museum.
23. Almaguer, C., C. Schönberger, M. Gastl, E. K. Arendt, and T. Becker. 2014. “*Humulus lupulus* – A Story that Begg to be Told.” *Journal of the Institute of Brewing* 120: 289–314.
24. Chadwick, L. R., G. F. Pauli, and N. R. Farnsworth. 2006. “The Pharmacognosy of *Humulus lupulus* l. (Hops) with an Emphasis on Estrogenic Properties.” *Phytomedicine* 13: 119–131. 10.1016/j.phymed.2004.07.006
25. DeGrandi-Hoffman, G., F. Ahumada, G. Probasco, and L. Schantz. 2012. “The Effects of Beta Acids From Hops (*Humulus lupulus*) on Mortality of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae).” *Experimental and Applied Acarology* 58
26. Delyser, D. Y., and W. J. Kasper. 1994. “Hopped Beer: The Case for Cultivation.” *Economic Botany* 48
27. Hampton, R., E. Small, and A. Haunold. 2001. “Habitat and Variability of *Humulus lupulus* var. *lupuloides* in Upper Midwestern North America: A Critical Source of American Hop Germplasm.” *Journal of the Torrey Botanical Society* 128
28. Haunold, A. 1993. “Agronomic and Quality Characteristics of Native North American Hops.” *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 51
29. Kerner von Marilaun, A. 1894–1895. *The Natural History of Plants; Their Forms, Growth, Reproduction, and Distribution.* 4 vols. London: Blackie
30. Koetter, U., and M. Biendl. 2010. “Hops (*Humulus lupulus*): A Review of its Historic and Medicinal Uses.” *HerbalGram* 87
31. Lawrence, M. 1990. *The Encircling Hop: A History of Hops and Brewing.* Sittingbourne: SAWD Books.
32. Moir, M. 2000. “Hops – A Millennium Review.” *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 58

33. M. Collins, D. R. J. Laws, J. D. McGinness, and J. A. Elvidge, *J. Chem. Soc. (C)*, 1971, 3814–3818.
34. M. Uchiyama and M. Mihara, *Anal. Biochem.*, 86, 271–278 (1978)
35. K. Chiba, T. Takakuwa, M. Tada, and T. Yoshii, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 1769–1772 (1992).
36. Daniel, O., Meier, M. S., Schlatter, J., and Frischknecht, P. Selected phenolic compounds in cultivated plants: Ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides. *Environ. Health Perspect.* 107(Suppl. 1):109–114, 1999.
37. Emmons, C. L., Peterson, D. M., and Paul, G. L. Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L. extracts) 2. In vitro antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 47:4894–4898, 1999.
38. Gerhauser, C., Alt, A., Heiss, E., Gamal-Eldeen, A., Klimo, K., Knauff, J., Neumann, I., Scherf, H.-R., Frank, N., Bartsch, H., and Becker, H. Cancer chemopreventive activity of xanthohumol, a natural product derived from hop. *Mol. Cancer Ther.* 1:959–969, 2002.
39. Henderson, M. C., Miranda, C. L., Stevens, J. F., Deinzer, M. L., and Bühler, D. R. In vitro inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops, *Humulus lupulus*. *Xenobiotica* 30:235–251, 2000.
40. Moir, M. Hop—A millennium review. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 58:131–146, 2000.