



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων

**«Φαινολικά συστατικά και ιχνοστοιχεία σε μπίρες από ελληνικές
μικροζυθοποιίες »**

Πτυχιακή Εργασία

Παπαντωνοπούλου Γεωργία



ΑΘΗΝΑ 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Νικόλαος Καλογερόπουλος (Επιβλέπων)
Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Τροφίμων και Περιβάλλοντος,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ανδριάννα Καλιώρα
Επίκουρη Καθηγήτρια, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Εμμανουήλ Δασενάκης
Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η Παπαντωνοπούλου Γεωργία,

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1)** Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2)** Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Ευχαριστίες

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε μετά από τη συνεργασία δύο εργαστηρίων, του Εργαστηρίου Χημείας, Βιοχημείας και Φυσικοχημείας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και του Εργαστηρίου Χημείας Περιβάλλοντος του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Πρώτα από όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της παρούσας εργασίας, Αναπληρωτή Καθηγητή κύριο Καλογερόπουλο Νικόλαο, για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγησή, το ενδιαφέρον του, την υπομονή αλλά και τη συμπαράστασή του σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου προς την Δρ Αικατερίνη Σακελλάρη και τον Δρ Καραβόλτσο Σωτήρη από το Εργαστήριο Χημείας Περιβάλλοντος για την πολύτιμη βοήθεια και συμπαράστασή τους, καθώς και για το άριστο κλίμα συνεργασίας κατά την πραγματοποίηση των αναλύσεων, αλλά και καθ' όλη τη μετέπειτα περίοδο, όπου ήταν πρόθυμοι να με βοηθήσουν σε ό, τι χρειαζόμουν. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Δασενάκη Εμμανουήλ, την Επίκουρη Καθηγήτρια Καλιώρα Ανδριάνα και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Καλογερόπουλο Νικόλαο για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή καθώς και για την ανάγνωση, το σχολιασμό και τις διορθώσεις της εργασίας αυτής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, τους φίλους μου αλλά και τις συμφοιτήτριες μου που ήταν δίπλα μου, με ενθάρρυναν και με εμπύχωναν όλο αυτό το διάστημα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη	8
Abstract	9
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο	ΕΙΣΑΓΩΓΗ10
1.1. Γενικά για τη Μπύρα.....	10
1.2. Ιστορία της μπύρας.....	11
1.3. Πρώτες ύλες.....	11
1.3.1. Νερό	12
1.3.2. Λυκίσκος	12
1.3.3. Κριθάρι	13
1.3.4. Μαγιά.....	14
1.4. Σύσταση της μπύρας.....	15
1.5. Διαδικασία παραγωγής της μπύρας.....	18
1.5.1. Παραγωγή βύνης.....	18
1.5.2. Άλεση της βύνης.....	19
1.5.3. Εκχύλιση – Διήθηση	19
1.5.4. Βρασμός.....	20
1.5.5. Ζύμωση.....	21
1.5.6. Ωρίμανση	21
1.5.7. Φιλτράρισμα-Αποθήκευση ζύθου στις δεξαμενές έτοιμου προϊόντος προς συσκευασία	22
1.5.8. Συσκευασία	22
1.5.9. Αποθήκευση	22
1.6. Είδη μπύρας.....	23
1.7. Ποιοτικά κριτήρια της μπύρας.....	28

2.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο	ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	30
2.1.	Γενικά		30
2.2.	Βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών.....		32
2.3.	Δράση Φαινολικών Συστατικών		34
3.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο	ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ	37
3.1.	Ορισμός και ιδιότητες των μετάλλων.....		37
3.2.	Πηγές ιχνοστοιχείων στη μύρα.....		38
3.3.	Θετικές- Αρνητικές Επιδράσεις των Ιχνοστοιχείων		39
3.3.1.	Ιχνοστοιχεία που επηρεάζουν την ποιότητα του αφρού και τη γεύση.....		39
3.3.2.	Ιχνοστοιχεία που έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου		40
3.3.3.	Ιχνοστοιχεία με επιβλαβή δράση -Τοξικότητα		42
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	44
4.1.	Ελεύθερες ρίζες – Οξειδωτικό στρες		44
4.2.	Αντιοξειδωτικά		45
4.3.	Αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών		47
4.4.	Αντιοξειδωτική δράση της μύρας.....		47
4.5.	Ευεργετικές επιδράσεις της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ-μύρας στην υγεία.		49
5.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ^ο	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	52
5.1.	Περιγραφή των δειγμάτων μύρας		52
5.2.	Επεξεργασία των δειγμάτων μύρας		52
6.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ^ο	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ-ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ.....	56
6.1.	Προσδιορισμός πολυφαινολών.....		56
6.1.1.	Εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE)		56
6.1.2.	Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με Αέρια Χρωματογραφία/ Φασματοσκοπία Μάζας (GC/ MS)		62
6.2.	Προσδιορισμός Ιχνοστοιχείων		65
6.2.1.	Υγρή Χώνευση δειγμάτων μύρας.....		66
6.2.2.	Προσδιορισμός ιχνοστοιχείων με Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS)		68
7.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ^ο	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	72
7.1.	Παραλαβή αφυδατωμένης μύρας		72
7.2.	Προσδιορισμός φαινολών στη μύρα.....		73

7.3.	Προσδιορισμός ολικών ιχνοστοιχείων στη μύρα.....	86
8.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 ^ο ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	97
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	100

Περίληψη

Η μύρα αποτελεί το δημοφιλέστερο αλκοολούχο ποτό ευρείας κατανάλωσης στον κόσμο. Τα τέσσερα κύρια συστατικά για την παραγωγή της μύρας είναι το νερό, η βύνη, ο λυκίσκος και η μαγιά και παράλληλα διαθέτει πλήθος ιχνοστοιχείων και φαινολικών συστατικών, βιταμίνες, υδατάνθρακες και αμινοξέα.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι ο προσδιορισμός των φαινολών και ιχνοστοιχείων που περιέχονται σε 30 δείγματα μύρας από ελληνικές μικροζυθοποιίες.

Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS) αφού πρώτα είχε προηγηθεί εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και οι συγκεντρώσεις του κυμάνθηκαν από 1535.8 $\mu\text{g/L}$ έως 23583.5 $\mu\text{g/L}$ με μέση τιμή τα 6861 $\mu\text{g/L}$. Παράλληλα, σύμφωνα με το άθροισμα των ολικών φαινολών που περιέχονται σε κάθε μία από τις 5 κατηγορίες φαινολών, βρέθηκε ότι οι απλές φαινόλες κυριαρχούν στα δείγματα της παρούσας μελέτης με ποσοστό ~51% του αθροίσματος των ολικών φαινολών, από το οποίο το 50.5% ανήκει σε μία μόνο απλή φαινόλη, την τυροσόλη. Η κατηγορία φαινολών που κυριαρχεί σε όλους τους τύπους μύρας και ζύμωσης είναι οι απλές φαινόλες ενώ αυτή με τη μικρότερη συγκέντρωση είναι τα φαινολικά οξέα. Η μελέτη συσχετίσεων μεταξύ των αποτελεσμάτων φαινολών έδειξε στατιστικά σημαντικούς συσχετισμούς Pearson (> 0.7 , $p < 0.001$) για τις περισσότερες απλές φαινόλες.

Το ολικό περιεχόμενο ιχνοστοιχείων των 30 δειγμάτων μύρας προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της Φασματομετρίας Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) αφού πρώτα είχε προηγηθεί η υγρή χώνευση τους και οι συγκεντρώσεις του κυμάνθηκαν από 538.26 $\mu\text{g/L}$ έως 7667.35 $\mu\text{g/L}$ με μέση τιμή 1961.80 $\mu\text{g/L}$. Η μέση πρόσληψη ιχνοστοιχείων από την κατανάλωση 1 φιάλης μύρας των 330mL βρίσκεται εντός των επιτρεπόμενων ορίων για τα τοξικά ιχνοστοιχεία και οι συγκεντρώσεις των προσλαμβανόμενων απαραίτητων ιχνοστοιχείων συμφωνούν με τις συνιστώμενες ημερήσιες προσλήψεις (DRA) τόσο για τους άντρες όσο και για τις γυναίκες. Η μελέτη συσχετίσεων μεταξύ των αποτελεσμάτων ολικών ιχνοστοιχείων έδειξε στατιστικά σημαντικούς συσχετισμούς Pearson (> 0.7 , $p < 0.01$) για τα περισσότερα ιχνοστοιχεία.

Λέξεις κλειδιά: μύρες, φαινολικά συστατικά, τοξικά ιχνοστοιχεία, απαραίτητα ιχνοστοιχεία, αντιοξειδωτικές δράσεις

Abstract

Beer is the most popular alcoholic beverage in the world. The four main ingredients used for beer production are water, malt, hops and yeast. Essentially, beer contains many trace elements and phenolic ingredients, vitamins, carbohydrates and amino acids.

The purpose of this thesis is to identify the phenols and trace elements contained in 30 beer samples from Greek brewers.

The total phenolic content was determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method after solid phase extraction (SPE) had taken place and its concentrations ranged from 1535.8 $\mu\text{g} / \text{L}$ to 23583.5 $\mu\text{g} / \text{L}$ with an average of 6861 $\mu\text{g} / \text{L}$. Simultaneously, according to the sum of the total phenols contained in each of the five classes of phenols, it was found that the simple phenols dominate the samples of the present study with a percentage of around 51%, 50.5% of which belongs to a single simple phenol, the tyrosol. The phenolic class that dominates all types of beer and fermentation are the simple phenols while the least concentrated are the phenolic acids. The study of correlations between phenolic effects showed statistically significant Pearson correlations (> 0.7 , $p < 0.001$) for the most simple phenols.

The total trace element content of the 30 beer samples was determined by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) method after their liquid digestion was preceded and its concentrations fluctuated from 538.26 $\mu\text{g} / \text{L}$ to 7667.35 $\mu\text{g} / \text{L}$ with an average of 1961.80 $\mu\text{g} / \text{L}$. The average intake of trace elements from the consumption of one 330 ml beer bottle is within the allowed limits for toxic trace elements, and the concentrations of intakes of the trace elements required are consistent with the recommended daily intakes (DRA) for both men and women. The study of correlations between total trace element results showed statistically significant Pearson correlations (> 0.7 , $p < 0.01$) for most trace elements.

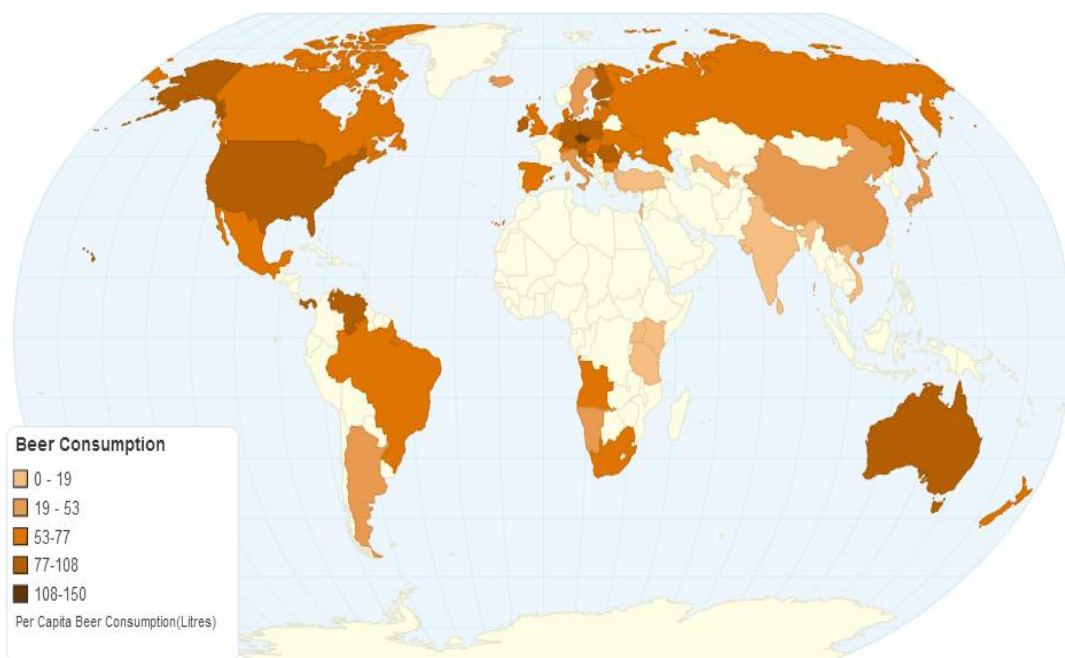
Keywords: *Beers, phenolic compounds, toxic trace elements, essential trace elements, antioxidant effects*

1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Γενικά για τη Μπύρα

Η μπύρα αποτελεί το δημοφιλέστερο αλκοολούχο ποτό ευρείας κατανάλωσης στον κόσμο και το τρίτο σε κατανάλωση ποτό μετά το νερό και το τσάι. Η συνολική κατανάλωση μπύρας στην Ελλάδα, περιλαμβάνοντας την εγχώρια παραγωγή και τις εισαγωγές, υπολογίζεται, σύμφωνα με στοιχεία της Ευρωπαϊκής Ένωσης Ζυθοποιών σε 3.850.000 εκατόλιτρα περίπου, που αντιστοιχεί μόλις στο 1.09% της κατανάλωσης μπύρας στην Ευρώπη των 28 κρατών (352.536.000 εκατόλιτρα). [1] Στην Ευρώπη η κατανάλωση της μπύρας είναι 39 λίτρα το χρόνο ανά άτομο. Στην Ελλάδα, η κατανάλωση της είναι χαμηλή στα 30 λίτρα ανά άτομο ετησίως και αυξάνεται στα 34 λίτρα την τουριστική περίοδο.



Εικόνα 1.1: Κατανάλωση μπύρας παγκοσμίως

Πηγή εικόνας : Beer Consumption by Country, ChartsBin.com, viewed 26th May, 2017, <<http://chartsbin.com/view/32595>>.

1.2. Ιστορία της μύρας

Η ζυθοποιία είναι μια ανθρώπινη δραστηριότητα που υπάρχει από την αρχή της διαβίωσης σε οικισμούς του πολιτισμού στη Νεολιθική περίοδο. Η μύρα, είναι προϊόν το οποίο, εκτιμάται τόσο για τις οργανοληπτικές του ιδιότητες όσο και για την εμπλοκή του στη θρησκεία, τη μαγειρική και την παράδοση. Κατά συνέπεια, η ιστορία της παραγωγής μύρας δεν είναι μόνο αποτέλεσμα επιστημονικής και τεχνολογικής προόδου, αλλά και η ιστορία των ίδιων των ανθρώπων, της οικονομίας, των τελετών και της καθημερινής τους ζωής.

Η παρασκευή της μύρας, έχει τις ρίζες της στους λαούς της εγγύς Ανατολής. Η πρώτη σαφής απόδειξη για την παραγωγή μύρας, προέρχεται από τους Σουμέριους και είναι μια ανάγλυφη αναπαράσταση που χρονολογείται περί το 3000-2800 π.Χ. Οι Βαβυλώνιοι, που διαδέχθηκαν τους Σουμέριους, επίσης παρασκεύαζαν μύρα από διάφορα δημητριακά.

Στους παλαιότερους χρόνους, η μύρα των ανατολικών λαών παρασκευαζόταν σχεδόν με τον ίδιο τρόπο που παρασκευάζεται και σήμερα, από κριθάρι και σπανιότερα από άλλα δημητριακά. Η προσθήκη λυκίσκου, σημαντική για τη βελτίωση της γεύσης, αλλά και για τη συντήρηση της μύρας, χρονολογείται περίπου από το 1000 π.Χ. Οι Αρχαίοι Έλληνες, ήρθαν σε επαφή με τη μύρα χάρη στους Αιγυπτίους και χρησιμοποιούσαν λυκίσκο στην παρασκευή της. Στην Αρχαία Ελλάδα, ωστόσο, τη θεωρούσαν ως ποτό των Βαρβάρων και κατώτερης ποιότητας από το κρασί. Αντίθετα, η μύρα ήταν περισσότερο ευπρόσδεκτη στους βορειότερους λαούς, όπως οι Θράκες, οι Σκύθες και οι Αρμένιοι, καθώς και στους Ίβηρες. [2]

1.3. Πρώτες ύλες

Το νερό, η βύνη, ο λυκίσκος και η μαγιά είναι τα τέσσερα κύρια συστατικά για την παρασκευή μύρας. Η ποιότητα και η καταλληλότητα αυτών των συστατικών έχει ζωτική σημασία για ένα εύγεστο και με ευεργετικές ιδιότητες προϊόν, όπως συμβαίνει

και με τη μαγειρική. Η προμήθεια των πρώτων υλών του ζυθοποιείου γίνεται με αυστηρά προκαθορισμένα κριτήρια ποιότητας. Τα κριτήρια αυτά ποικίλλουν τόσο όσο και οι διαφορετικοί τύποι μπίρας της αγοράς.

1.3.1. Νερό

Το νερό είναι το κύριο συστατικό της μπίρας (περίπου το 90%) και η ποιότητα του όταν χρησιμοποιείται για παρασκευή μπίρας καθορίζεται συχνά από τη νομοθεσία. Πρέπει να είναι πόσιμο, καθαρό και απαλλαγμένο από παθογόνα μικρόβια, μετά από μέτρησή του με χημικές και μικροβιολογικές μεθόδους ενώ, υπάρχουν επιπλέον απαιτήσεις ποιότητας για το νερό της ζυθοποιίας.

Η τιμή του pH είναι ιδιαίτερα σημαντική, διότι τα διάφορα στάδια της παραγωγής λαμβάνουν χώρα βέλτιστα μόνο σε καθορισμένες τιμές pH. Κατά τη διάρκεια της πολτοποίησης της βύνης απελευθερώνονται σημαντικές ποσότητες ιόντων, τα οποία αντιδρούν με ιόντα νερού προκαλώντας αλλαγές στην τιμή του pH με χαρακτηριστικό παράδειγμα το ασβέστιο και το μαγνήσιο που είναι υπεύθυνα για τη μείωση της τιμής pH.

Και άλλα μεταλλικά ιόντα επηρεάζουν τη διαδικασία παρασκευής της μπίρας ή τη γεύση της. Για παράδειγμα, τα θειικά άλατα μπορούν να προκαλέσουν ξηρή γεύση ενώ ο σίδηρος και το μαγγάνιο σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 0.2 mg/L επιδρούν αρνητικά στο χρώμα και τη γεύση. Επίσης, το ασβέστιο προστατεύει την α-αμυλάση από πρόωρη αδρανοποίηση κατά την πολτοποίηση ενώ ο ψευδάργυρος διεγείρει την ανάπτυξη ζυμομυκήτων και τη ζύμωση.

1.3.2. Λυκίσκος

Ο λυκίσκος (*Humulus lupulus* L.) δίνει στη μπίρα τη χαρακτηριστική πικράδα της και το άρωμα λυκίσκου. Παραδοσιακά, προστίθεται κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης λόγω της δράσης του ως συντηρητικό.

Από τεχνολογική άποψη, τρεις ομάδες ουσιών έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην ζυθοποιία : οι ρητίνες του λυκίσκου, τα βελτιωτικά γεύσης και οι πολυφαινόλες. Οι ρητίνες λυκίσκου αποτελούν περίπου το 10-20% του ξηρού βάρους του λυκίσκου και αντιπροσωπεύουν το άθροισμα όλων των πικρών ουσιών με τα κύρια συστατικά τα α- και β- οξέα. Οι ρητίνες του λυκίσκου ενισχύουν τη φυσιολογική πεπτικότητα, τη σταθερότητα του αφρού και τη βακτηριοστατική φύση του μούστου και της μπίρας. Ο λυκίσκος παρέχει περίπου το 0.4-2% επί ξηρού των αρωματικών συστατικών που περιλαμβάνουν και περισσότερες από 300 πτητικές ενώσεις που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα. Οι πολυφαινόλες (4-14% του ξηρού βάρους του λυκίσκου) επηρεάζουν την ποιότητα της μπίρας, με τις χαμηλού μοριακού βάρους πολυφαινόλες να παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες ενώ η ποσότητα και η σύνθεσή τους εξαρτάται από την ποικιλία του λυκίσκου, την περιοχή καλλιέργειας και τις κλιματολογικές συνθήκες.

1.3.3. Κριθάρι

Σε γενικές γραμμές, το κριθάρι (*Hordeum vulgare*) είναι - μετά το νερό - το δεύτερο πιο σημαντικό από άποψη ποσότητας συστατικό της μπίρας. Ευδοκιμεί ιδιαίτερα σε μέτρια κλίματα και σε γόνιμα αργιλώδη εδάφη, με καλή διάχυση του νερού. Από όλες τις καλλιεργούμενες ποικιλίες σιτηρών, το κριθάρι παρουσιάζει την καλύτερη προσαρμοστικότητα και μεγαλώνει καλά σε ψυχρές, βροχερές κλιματικές ζώνες με μεγάλες περιόδους ημέρας, όπως στις ξηρές και θερμές στέπες. Είναι η κύρια πηγή για τις βύνες ζυθοποιίας, οι οποίες αποτελούν την πιο σημαντική πρώτη ύλη για την παραγωγή μπίρας. Βύνη είναι το κριθάρι που έχει βλαστήσει και αποξηραθεί και είναι το βασικό συστατικό για την παραγωγή περισσότερης από το 90% της παγκόσμιας παραγωγής μπίρας. Κατά μέσο όρο για την παραγωγή 1 εκατόλιτρου μπίρας, χρησιμοποιούνται 15-20 κιλά βύνης που αποτελούν την κύρια πηγή πρωτεϊνών, λιπιδίων, υδατανθράκων και φαινολικών ενώσεων που περιέχονται στις μπίρες.

Σημαντική είναι η συμμετοχή του κριθαριού στην ανάπτυξη του χρώματος και του αρώματος της βύνης.

1.3.4. Μαγιά

Η μαγιά (μονοκύτταροι σακχαρομύκητες) είναι υπεύθυνη για τη διαδικασία της ζύμωσης και έχει θεμελιώδη ρόλο στην ποιότητα της μπίρας. Οι περισσότερες ζυθοποιίες χρησιμοποιούν προσεκτικά επιλεγμένα στελέχη που αποθηκεύονται και αναπτύσσονται μέχρι να χρησιμοποιηθούν μέσα στο ζυθοποιείο. Χρησιμοποιείται από τον ζυθοποιό πολλές φορές (συνήθως τέσσερις έως έξι) και λαμβάνεται από μία ζύμωση για να χρησιμεύσει στις επόμενες. Πολλές μεγάλες και μικρές ζυθοποιίες χρησιμοποιούν διάφορα στελέχη του *Saccharomyces cerevisiae* ή/και *Saccharomyces carlsbergensis* για την παραγωγή διαφορετικών μπυρών. Οι ζυθοποιοί γνωρίζουν πολύ καλά ότι οι ιδιότητες της μπίρας εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη μαγιά που χρησιμοποιήθηκε. Καθώς η μαγιά αναπτύσσεται και μεταβολίζει σχεδόν όλοι οι υδατάνθρακες (εξόζες, δισακχαρίτες και τρισακχαρίτες) μετατρέπονται σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Στα προϊόντα ζύμωσης περιλαμβάνονται και άλλες ενώσεις όπως ανώτερες αλκοόλες, οργανικά οξέα, εστέρες, αλδεΐδες, κετόνες και ενώσεις θείου οι οποίες διαδραματίζουν καίριο ρόλο στο οργανοληπτικό προφίλ της μπίρας. [3]



Εικόνα 1.2: Συστατικά της μπίρας : νερό, κριθάρι, λυκίσκος, μαγιά

1.4. Σύσταση της μπύρας

Αιθανόλη

Η αιθανόλη επιδρά με πολλούς τρόπους στην ποιότητα της μπύρας. Συμβάλλει άμεσα στην γεύση, μετριάζει την συνεισφορά των άλλων συστατικών στη γεύση, επηρεάζοντας την κατανομή τους μεταξύ του σώματος της μπύρας και του υπερκείμενου χώρου της. [3]

Η αιθανόλη επηρεάζει επίσης τις ιδιότητες αφρισμού της μπύρας, μειώνοντας την επιφανειακή τάση και βοηθώντας έτσι το σχηματισμό φυσαλίδων, ενώ επιπλέον ανταγωνίζεται άλλα τασιενεργά μόρια (κυρίως πρωτεΐνες) για τις θέσεις στην επιφάνεια των φυσαλίδων. Η δύναμη της μπύρας συνήθως καθορίζεται από τους αλκοολικούς βαθμούς της, δηλαδή την κατ'όγκο περιεχόμενη αλκοόλη (ABV), (cm^3 αιθανόλης ανά 100 cm^3 μπύρας). Μερικές φορές ο αλκοολικός τίτλος περιγράφεται και ως βάρος ανά όγκο. Αν και οι μπίρες παρουσιάζουν διαφορές στους αλκοολικούς βαθμούς, η συντριπτική πλειοψηφία βρίσκεται στην περιοχή 3-6%.

Διοξείδιο του άνθρακα

Το διοξείδιο του άνθρακα παράγεται παράλληλα με την αιθανόλη κατά τη διάρκεια της ζύμωσης της γλυκόζης από τον *Saccharomyces cerevisiae*. Παρέχει «λάμψη» στη μπίρα, δημιουργώντας μια ευχάριστη αίσθηση μέσω της αλληλεπίδρασής του με το τρίδυμο νεύρο και όπως και η αιθανόλη, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ποιότητα της μπύρας. Εκτός από την αίσθηση στο στόμα, το CO_2 καθορίζει την έκταση της παραγωγής αφρού και επηρεάζει τη μεταφορά των πτητικών ουσιών στην επιφάνεια της μπύρας.

Τα περισσότερα δοχεία ή μπουκάλια μπύρας περιέχουν μεταξύ 2.2-2.8 cm^3 CO_2 ανά mL μπύρας. Το διοξείδιο του άνθρακα που χρησιμοποιείται για τη συμπίεση της μπύρας, υπόκειται στις ίδιες αυστηρές διαδικασίες ελέγχου ποιότητας, όπως και οι άλλες πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή μπύρας.

Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες είναι τα πιο ευοξειδωτα συστατικά της μπύρας. Από τη μία πλευρά, αυτό είναι χρήσιμο γιατί οι ουσίες αυτές δρουν ως εκκαθαριστές δραστικών μορφών οξυγόνου και έτσι προστατεύουν τη μπύρα από το μπαγιάτεμα. Ωστόσο, μετά την οξειδωση τους αντιδρούν με πρωτεΐνες (αντίδραση Maillard) και σχηματίζουν αδιάλυτα σύμπλοκα, τα οποία προκαλούν μια αντιαισθητική θολερότητα. Σε γενικές γραμμές, οι ζυθοποιοί επιδιώκουν την όσο το δυνατόν περισσότερο απομάκρυνση των πολυφαινολών ώστε η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες να είναι μικρότερη από 100 mg/L, περιορίζοντας την συμβολή τους στην στυφή γεύση.

Άζωτο

Το άζωτο προστίθεται στην μπύρα σε μικρές ποσότητες (20 mg N₂ ανά λίτρο) για την βελτίωση της σταθερότητας του αφρού.

Νερό

Οι περισσότερες μπύρες περιέχουν 90-95% νερό, επομένως η σύστασή του είναι καθοριστικός παράγοντας της ποιότητας της μπύρας. Η ζυθοποιία απαιτεί πολύ περισσότερο νερό (5-20 φορές) από την ποσότητα που τελικά καταλήγει στην μπύρα. Το νερό δεν πρέπει να περιέχει τοξικά ή επικίνδυνα συστατικά και πρέπει να έχει σωστή αναλογία ιόντων. Οι ζυθοποιοί συχνά πρέπει να επεξεργασθούν όλη την ποσότητα νερού που χρησιμοποιείται στο ζυθοποιείο με διαδικασίες, όπως διήθηση μέσω ξυλάνθρακα και υπερδιήθηση.

Πρωτεΐνες

Η παρουσία πολυπεπτιδικού υλικού στην μπύρα είναι σημαντική επειδή συμβάλλει στη δημιουργία αφρού. Κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης, οι φυσικές πρωτεΐνες του κριθαριού υφίστανται σημαντική υποβάθμιση και αλλοίωση και αυτές που

βρίσκονται στο τελικό προϊόν έχουν ελάχιστη ομοιότητα με εκείνες που βρίσκονται στο κριθάρι.

Λιπίδια

Η μπίρα περιέχει πολύ μικρή ποσότητα λιπιδίων, με αποτέλεσμα να αποτελεί ρόφημα χωρίς λιπαρά. Το γεγονός αυτό, είναι σημαντικό από αισθητική άποψη, καθώς τα λιπίδια επηρεάζουν αρνητικά τον αφρό της μπίρας. Μια άλλη δυσμενής επίδραση των λιπιδίων, είναι η ικανότητά τους να δρουν ως παράγοντες της μπαγιάτικης γεύσης της μπίρας. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το λινελαϊκό οξύ, αν και έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία των ανθρώπων, μπορούν να οξειδωθούν και τελικά να δώσουν καρβονυλικές ενώσεις που εντείνουν τον μπαγιάτικο χαρακτήρα της. Για το λόγο αυτό, οι ζυθοποιοί επιδιώκουν την παραμονή όσο το δυνατόν λιγότερων λιπιδίων κατά τη διαδικασία της ζυθοποίησης.

Υδατάνθρακες

Παρόλο που το μεγαλύτερο μέρος των σακχάρων που περιέχονται στο ζυθογλεύκος ζυμώνονται σε αιθανόλη, ορισμένοι υδατάνθρακες παραμένουν στην μπίρα. Οι υδατάνθρακες που επιβιώνουν στη μπίρα από το ζυθογλεύκος, είναι οι μη ζυμώσιμες δεξτρίνες και κάποιοι πολυσακχαρίτες. Οι δεξτρίνες προέρχονται από την αποικοδόμηση του αμύλου, ενώ οι πολυσακχαρίτες από τα κυτταρικά τοιχώματα του κριθαριού.

Βιταμίνες

Η μπίρα αποτελεί πολύτιμη πηγή υδατοδιαλυτών βιταμινών, κυρίως φυλλικού οξέος, ριβοφλαβίνης, παντοθενικού οξέος, πυριδοξίνης και νιασίνης. Αντίθετα, οι λιποδιαλυτές βιταμίνες δεν επιβιώνουν στη μπίρα και χάνονται με αδιάλυτα συστατικά κατά την επεξεργασία της.

Ιχνοστοιχεία

Η μπύρα είναι πλούσια σε μαγνήσιο και κάλιο, αλλά σχετικά φτωχή σε σίδηρο, ψευδάργυρο και ασβέστιο. Η παρουσία σιδήρου στη μπύρα αποφεύγεται σκόπιμα κατά τη ζυθοποίηση, λόγω της δράσης του ως προ-οξειδωτικού ενώ η παρουσία ψευδαργύρου είναι ιδιαίτερα επιθυμητή χάρη στη δράση του ως ενισχυτικό αφρού. Η μπύρα, επίσης, αποτελεί καλή πηγή πυριτίου και σχετικά καλή πηγή σεληνίου. Η ζύμη ζυθοποιίας, είναι πλούσια πηγή του λεγόμενου συντελεστή ανοχής γλυκόζης (glucose tolerance factor), ενός συμπλόκου που περιέχει χρώμιο, το οποίο μπορεί να βοηθήσει την ινσουλίνη στην ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης στο σώμα. [4]

Γεύσεις από το λυκίσκο

Ο λυκίσκος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή μπύρας, καθώς αποτελεί πηγή της πικρής γεύσης από τις ρητίνες που περιέχει και του αρώματος από τα αιθέρια έλαια του. Οι πιο σημαντικές ρητίνες του λυκίσκου που υπάρχουν στη μπύρα είναι τα α-οξέα, των οποίων η περιεκτικότητα εξαρτάται από την ποικιλία του λυκίσκου και από το περιβάλλον στο οποίο αναπτύχθηκε.

Υπάρχουν 3 διαφορετικά είδη α-οξέων στο λυκίσκο. Τα iso-α-οξέα είναι αυτά που προσδίδουν πικρή γεύση στη μπύρα, έχουν τασιενεργές ιδιότητες και κατά συνέπεια με την παρουσία τους σταθεροποιείται ο αφρός της μπύρας ενώ επιπρόσθετα αναστέλλουν την ανάπτυξη των Gram(+) βακτηρίων, προστατεύοντας την από μικροοργανισμούς.

1.5. Διαδικασία παραγωγής της μπύρας

Η παραγωγική διαδικασία της μπύρας ακολουθεί ορισμένα βασικά στάδια ανεξάρτητα από την χώρα καταγωγής της, τον τύπο της και το ανάλογο ζυθοποιείο. Τα βασικά στάδια είναι τα εξής:

1.5.1. Παραγωγή βύνης

Η διαδικασία της παραγωγής βύνης ξεκινάει από το κριθάρι το οποίο συλλέγεται, καθαρίζεται από σκόνες και ξένα υλικά για να μετατραπεί στην επεξεργάσιμη για τη μετέπειτα διαδικασία ζύμωσης, βύνη. Αρχικά, το κριθάρι διαβρέχεται με νερό και αφήνεται 4-6 μέρες να βλαστήσει. Κατά τη βλάστηση παράγονται ένζυμα που προκαλούν τη διάσπαση του αμύλου (α- αμυλάση και β- αμυλάση) καθώς και πρωτεάσες και κυτάσες. Όταν το μήκος του ριζιδίου φθάσει περίπου το μέγεθος του σπόρου, διοχετεύεται θερμός αέρας (φρύξη), που ξηραίνει τους σπόρους και σταματά τη βλάστηση. Οι ξηροί σπόροι του κριθαριού που έχουν βλαστήσει ονομάζονται βύνη. Η θερμοκρασία ξήρανσης επηρεάζει την ποιότητα της μύρας και καθορίζει το ιδιαίτερο χρώμα της. Οι ανοιχτού χρώματος ξανθές μύρες παράγονται από βύνη που θερμάνθηκε μέχρι τους 65-85°C, ενώ οι σκοτεινού χρώματος ή μαύρες μύρες από βύνη που θερμάνθηκε στους 105°C ή και περισσότερους.

1.5.2. Άλεση της βύνης

Με την διαδικασία της άλεσης, διαχωρίζεται ο φλοιός από τον σπόρο, ο οποίος σπάει σε μικρότερα κομμάτια και τελικά παραλαμβάνεται το αλεύρι.

1.5.3. Εκχύλιση – Διήθηση

Σε αυτό το στάδιο, η βύνη αναμιγνύεται με νερό και θερμαίνεται για καθορισμένο χρόνο σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες, έτσι ώστε να δράσουν τα ένζυμα που θα μετατρέψουν το άμυλο σε ζυμώσιμα σάκχαρα (σακχαροποίηση).

Υπάρχουν τρεις κύριοι τρόποι εκχύλισης: 1) η απλή εκχύλιση (infusion mashing), η οποία γίνεται μόνο σε μια καθορισμένη θερμοκρασία 2) η βαθμιαία εκχύλιση (step infusion mashing), κατά την οποία η θερμοκρασία αυξάνεται μία ή δύο φορές και 3) η πολύπλοκη εκχύλιση (decoction mashing) κατά την οποία μέρος του εκχυλίσματος αφαιρείται, βράζεται και ξαναεισάγεται στον εκχυλιστήρα. Με τον τελευταίο τρόπο εκχύλισης παράγονται οι μύρες τύπου Lager. Στην πολύπλοκη εκχύλιση, το μίγμα βύνης-νερού θερμαίνεται στους 50° C οπότε ενεργοποιούνται τα πρωτεολυτικά και κυτολυτικά ένζυμα της βύνης. Η πρωτεόλυση, είναι απαραίτητη για τη διάσπαση των

πρωτεϊνών σε αμινοξέα που θα καταναλώσουν οι ζύμες για να αναπτυχθούν. Με την κυτόλυση επιταχύνεται η μετέπειτα διήθηση. Παράλληλα, μέρος του εκχυλίσματος που βράζει, αφαιρείται. Μετά από 10 με 60 λεπτά η θερμοκρασία στο κυρίως εκχύλισμα αυξάνεται με την προσθήκη του θερμού εκχυλίσματος που είχε αφαιρεθεί. Το μίγμα αφήνεται στην θερμοκρασία που έχει αποκτήσει για 10 έως 60 λεπτά. Στη συνέχεια αυξάνεται πάλι η θερμοκρασία μέχρι τους 75° C. Σε αυτό το στάδιο, δραστηριοποιούνται τα αμυλολυτικά ένζυμα, α-αμυλάση και β-αμυλάση, τα οποία υδρολύουν το άμυλο σε ζυμώσιμα σάκχαρα. Όταν η επιθυμητή δραστηριότητα των ενζύμων ολοκληρωθεί, το εκχύλισμα θερμαίνεται για τελευταία φορά στους 75-77° C οπότε επέρχεται αδρανοποίηση των ενζύμων. Το εκχύλισμα οδηγείται σε δοχείο όπου θα γίνει η διήθηση, δηλαδή ο διαχωρισμός του υγρού (ζυθογλεύκος) από τα αδιάλυτα στερεά της βύνης. Τα στερεά υπολείμματα χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφές και το στάδιο αυτό πρέπει να πραγματοποιείται γρήγορα για να αποφευχθεί διάλυση των τανινών από το φλοιό και αύξηση του χρώματος από την οξείδωση.

1.5.4. Βρασμός

Ο βρασμός του ζυθογλεύκους γίνεται με πολλούς τρόπους και επιλογή του τρόπου θέρμανσης καθορίζεται από τον παραγωγό. Σε αυτό το στάδιο προστίθεται ο λυκίσκος, του οποίου τα συστατικά αλλάζουν χημική δομή λόγω της θέρμανσης. Ακόμη, προστίθενται διαυγαστικές ουσίες όπως οι κ-καραγενάνες, οι οποίες δημιουργούν ένα πλέγμα στο οποίο εγκλωβίζονται οι πρωτεΐνες και απομακρύνονται ευκολότερα από το ζυθογλεύκος με καθίζηση, μετά το βρασμό.

Οι λόγοι για τους οποίους γίνεται ο βρασμός είναι οι εξής:

- Εκχυλίζεται η ρητίνη από το λυκίσκο.
- Ισομερίζεται η χουμουλόνη (α-λουπουλικό οξύ) σε πιο ευδιάλυτη ισοχουμουλόνη.
- Εξατμίζονται τα περισσότερα-όχι όλα από τα πτητικά έλαια του λυκίσκου.

- Σταματάει κάθε πιθανή ενζυμική δράση.
- Αποστεριώνεται το ζυθογλεύκος και συμπυκνώνεται.
- Απομακρύνονται οι οσμές του σπόρου της βύνης.
- Το ζυθογλεύκος παίρνει σκουρότερο χρώμα.

Στο τέλος του βρασμού το ζυθογλεύκος διηθείται για να απομακρυνθούν τα φύλλα του λυκίσκου, αν αυτός προστέθηκε ολόκληρος. Διαφορετικά, εισάγεται αμέσως σε μεγάλα δοχεία όπου αφήνεται σε ηρεμία για 20 με 30 λεπτά για να καθιζάνει το ίζημα που αποτελείται από ρητίνες, πρωτεΐνες και ταννίνες. Το καθαρό ζυθογλεύκος ψύχεται στους 6-10° C, που είναι η κατάλληλη θερμοκρασία για ζύμωση. Αμέσως μετά, αερίζεται για να δημιουργηθεί ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη των ζυμών.

1.5.5. Ζύμωση

Στο κρύο ζυθογλεύκος που περιέχει οξυγόνο, ζυμώσιμα σάκχαρα και διάφορα θρεπτικά συστατικά, προστίθεται η ζύμη. Αυτή, καταναλώνει γρήγορα το οξυγόνο και ένα μέρος των θρεπτικών συστατικών, όπως φωσφόρο, νάτριο, μαγνήσιο και ψευδάργυρο. Η θερμοκρασία ζύμωσης διατηρείται στους 4-9°C για τις βυθοζύμες και στους 15-20°C για τις αφροζύμες και συνήθως διαρκεί 5-9 μέρες. Στο διάστημα αυτό, θεωρητικά, ο πληθυσμός της ζύμης διπλασιάζεται τρεις φορές περίπου και τελικά είναι 7 φορές μεγαλύτερος από αυτόν που είχε αρχικά προστεθεί. Όταν ο πολλαπλασιασμός τελειώσει, όλο το οξυγόνο έχει καταναλωθεί και τότε οι ζύμες αρχίζουν να αναπτύσσονται σε αναερόβιο περιβάλλον, οπότε παράγεται αλκοόλη και CO₂. Το παραγόμενο CO₂ συλλέγεται και καθαρίζεται και ξαναχρησιμοποιείται ή απελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα.

1.5.6. Ωρίμανση

Μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης απομακρύνονται οι ζύμες με διήθηση και το διαυγές διήθημα αποθηκεύεται υπό ψύξη για αρκετές εβδομάδες μέχρι να ωριμάσει. Η

ωρίμανση, είναι απαραίτητη για να βελτιωθούν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της μπύρας. Σ' αυτό το στάδιο, γίνεται μια δεύτερη αργή ζύμωση διάρκειας 2-3 εβδομάδων. Ένδειξη λήξης της ωρίμανσης αποτελεί η ελάττωση του διακετυλίου.

1.5.7. Φιλτράρισμα- Αποθήκευση ζύθου στις δεξαμενές έτοιμου προϊόντος προς συσκευασία

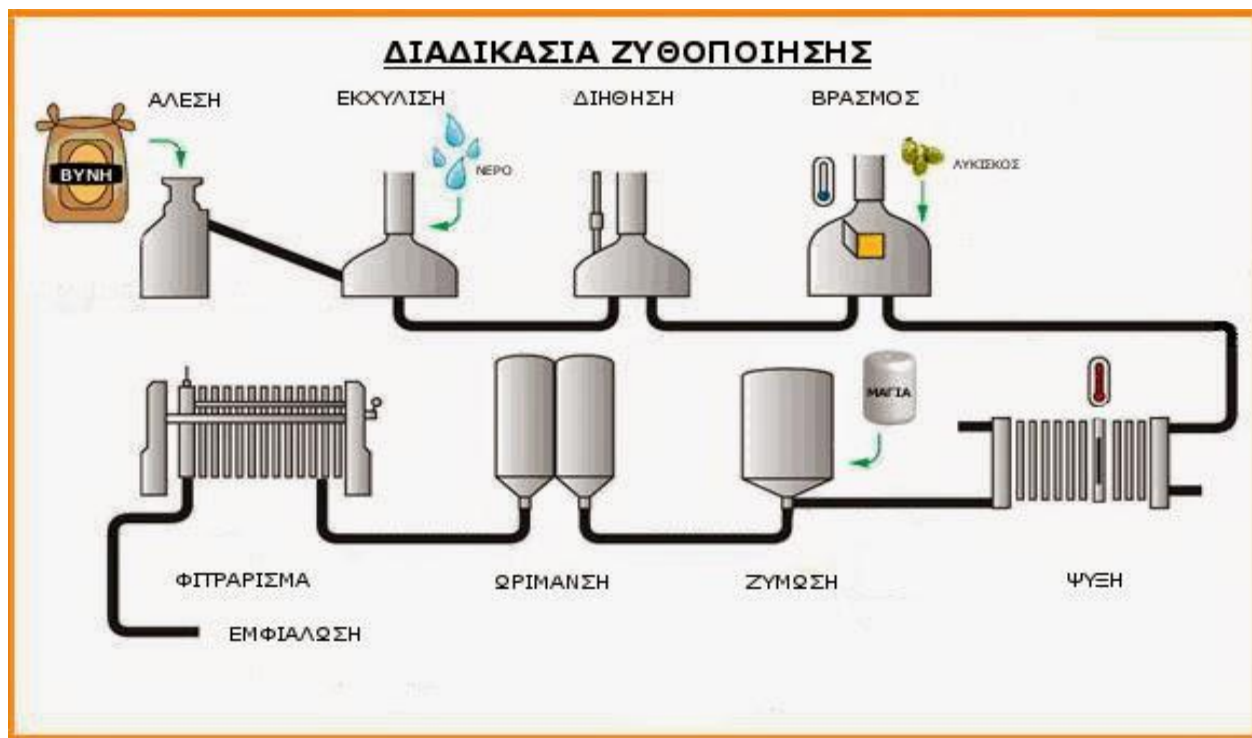
Μετά την ολοκλήρωση του σταδίου της ωρίμανσης, η μπύρα φιλτράρεται προκειμένου να απομακρυνθούν όλοι οι μικροοργανισμοί που πιθανώς μπορούν να αλλοιώσουν την γεύση της, να γίνει διαυγής και να σταθεροποιηθεί η γεύση και το χρώμα της.

1.5.8. Συσκευασία

Ακολουθεί εμφιάλωση η οποία περιλαμβάνει πλύσιμο φιαλών, έλεγχο καθαρότητας αυτών, πλήρωση φιαλών, σφράγιση φιαλών, παστερίωση, ετικετάρισμα, κιβωτοποίηση, παλετοποίηση. Εναλλακτικά μπορεί να γίνει πλήρωση βαρελιών, κατά την οποία πραγματοποιείται εσωτερικός και εξωτερικός καθαρισμός, πλήρωση και κλείσιμο των βαρελιών.

1.5.9. Αποθήκευση

Αποθήκευση των έτοιμων προϊόντων για την προώθηση τους στα δίκτυα διάθεσης για τον τελικό καταναλωτή.



Εικόνα 1.3: Στάδια παραγωγής μύρας

Πηγή εικόνας : http://www.beeroskopio.com/2014/06/blog-post_2608.html

1.6. Είδη μύρας

Υπάρχουν ποικίλα κριτήρια κατηγοριοποίησης της μύρας. Έτσι, οι μύρες μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τον τρόπο παραγωγής και τον τόπο προέλευσης τους, όπως επίσης και με βάση το χρώμα και την εμφάνισή τους σε ξανθιές, καστανές, χάλκινες, καφέ, κόκκινες, κεχριμπαρένιες, μαύρες, κρυστάλλινες, διαυγείς ή θολές. Ωστόσο, ο βασικότερος παράγοντας κατηγοριοποίησης τους, είναι το είδος της ζύμωσης κατά την παραγωγή τους. [5]

Με βάση το είδος της ζύμωσης συναντάμε μύρες που υφίστανται 3 είδη ζυμώσεων:

- Αυθόρμητη ζύμωση (spontaneous fermentation)
- Ζύμωση με αφροζύμες (top fermentation) και

- Ζύμωση με βυθοζύμες (bottom fermentation)

Αυθόρμητη ζύμωση

The lambic family

Αποτελεί την παλαιότερη μέθοδο παραγωγής μπίρας και καθιερώθηκε από τους πιο παραδοσιακούς παραγωγούς lambic, στην κοιλάδα Senne του Βελγίου. Η ζύμωση της μπίρας αυτής είναι φυσική, πραγματοποιείται με ανοικτά δοχεία και καθώς οι ζύμες, δεν έχουν επεξεργαστεί, αφήνουν αζύμωτα σάκχαρα και πτητικά συστατικά (εστέρες) στην μπίρα. Για αυτό το λόγο οι lambic μπίρες είναι φρουτώδεις, πλούσιες σε φαινολικά συστατικά και έχουν μεγάλη πολυπλοκότητα.

-Lambic: Παράγεται από αβυνοποίητο σιτάρι. Οι αβυνοποίητοι κόκκοι παράγουν ένα άσπρο κρεμώδη πολτό. Οι «παλιές» lambics των δύο, τριών ή περισσότερων καλοκαιριών ζύμωσης είναι πιο διαυγείς, με κάπως ροζ χρώμα και αρκετά πολύπλοκες. Η πραγματική lambic δεν είναι εύκολο να βρεθεί, καθώς οι περισσότερες αναμειγνύονται με άλλες lambic ή γίνεται σε αυτές προσθήκη άλλων συστατικών.

-Faro: Περιέχει μια lambic και ζάχαρη, καραμέλα ή μελάσα, με μπαχαρικά ή είναι αραιωμένη με νερό. Ως faro αναφέρονται επίσης και οι μπίρες που έχουν υποστεί αυθόρμητη ζύμωση και έχουν αναμειχθεί με γλυκές μπίρες από αφροζύμες.

-Gueuze: Είναι η ανάμιξη δύο lambics, μίας που έχει ωριμάσει για τουλάχιστον 3 χρόνια και μίας νεότερης. Με αυτόν τον τρόπο γίνεται μια δεύτερη ζύμωση μέσα στο μπουκάλι, η οποία παρέχει περισσότερο CO₂ και αλκοόλη στη μπίρα και το αποτέλεσμα της ανάμιξης αυτής είναι μια ξινή μπίρα, όμως υπάρχουν και γλυκότερες εκδοχές της.

-Fruit beers: Στην κατηγορία αυτή ανήκουν πολλές μπίρες, στις οποίες έχει προστεθεί μια ποσότητα φρούτων σαν επιπλέον συστατικό. Η μπίρα βάσης μπορεί να είναι μια lambic, αλλά είναι συνήθως μια gueuze ή μια απλή μπίρα από αφροζύμες. Τα πρόσθετα που χρησιμοποιούνται περισσότερο, είναι κεράσια και βατόμουρα, καθώς και ροδάκινα, μπανάνες, μήλα και μαύρες σταφίδες.

-Herb & Spice Beers: Μετά το λυκίσκο χρησιμοποιούνται διάφορα βότανα και μπαχαρικά με τον κορίανδρο και τις φλούδες πορτοκαλιού Curaçao να είναι τα πιο χρησιμοποιούμενα συστατικά για τις μπίρες.

-Honey beers: Το μέλι υφίσταται ζύμωση σε μεγάλο βαθμό, ωστόσο αφήνει ίχνη γεύσης και αρώματος στην παραγόμενη μπίρα.

Ζύμωση με Αφροζύμες

Μπίρες με σύνθετη γεύση και αρώματα. Σε αυτού του είδους τις μπίρες μετά τη ζύμωση, η μαγιά ανεβαίνει στην επιφάνειά τους (αφροζύμες). Είναι πιο αρωματικές, με πλούσια φρουτώδη γεύση μήλου, αχλαδιού, ανανά, μπανάνας, δαμάσκηνου και άλλες νότες όπως καραμέλα, κακάο, σοκολάτα και καφέ. Σε αυτή την κατηγορία, συναντάμε τις μοναστηριακές μπίρες και τις μπίρες διπλής ζύμωσης, που από πολλούς θεωρούνται ως το καλύτερο είδος μπίρας.

Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα παρακάτω είδη:

Red ale: Η παραδοσιακή βύνη Vienna της Βιέννης ευθύνεται για το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα αυτής της μπίρας. Έχουν γεύση ελαφρώς πικρή και παράγονται κυρίως στο Βέλγιο, τις ΗΠΑ και την Ιρλανδία.

Weisse: Οι μπίρες αυτές παρασκευάζονται κυρίως από σιτάρι (40%-70%) και οι περισσότερες δεν φιλτράρονται. Έτσι, περιέχουν υπολείμματα μαγιάς στη φιάλη τους, με αποτέλεσμα να έχουν θολερότητα και πλούσιο αφρό και έχουν αλκοολικό βαθμό περίπου 4,5 με 5,7%.

Trappist: Πρόκειται για τις λεγόμενες μοναστηριακές μπίρες, οι οποίες είναι υψηλής ζύμωσης και η ωρίμανση τους διαρκεί πάνω από 3 χρόνια. Σε αυτές τις μπίρες έχουν προστεθεί καραμελοποιημένα σάκχαρα, ενώ το τελικό στάδιο παραγωγής του γίνεται μέσα στην ίδια την φιάλη που έχουν παρασκευαστεί, όπου ακολουθεί μια δεύτερη ζύμωση (επαναζύμωση).

Stout: Οι μύρες αυτές είναι κατά βάση Ιρλανδικές καθώς πρωτοεμφανίστηκαν στην Ιρλανδία τον 18 αιώνα. Υπάρχουν τέσσερις τύποι Stout: Dry, Sweet, Double Stout και Imperial.

Strong golden ale: Οι μύρες αυτές έχουν αρώματα από ποικιλίες λυκίσκου, φρουτώδη γεύση και ξανθό χρώμα, καθώς επίσης και υψηλό αλκοολικό βαθμό περίπου 7-8,5%.

Abbey/Abbate: Οι μύρες αυτές παράγονται σύμφωνα με τα πρότυπα των μοναστηριακών μπυρών, χωρίς όμως να προέρχονται από τα 6 μοναστήρια που παράγουν τις Trappist μύρες.

Ζύμωση με Βυθοζύμες

Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει όλες τις μύρες χαμηλής ζύμωσης (που παράγονται με βυθοζύμες) και αποτελεί το 90% της παγκόσμιας παραγωγής μύρας. Είναι ξανθιές ή σκούρες με χαμηλή ένταση αρωμάτων και έχουν κύρια συστατικά τη βύνη, το λυκίσκο, τα μπαχαρικά, τα καρυκεύματα και τα εσπεριδοειδή. Οι βυθοζύμες λειτουργούν σε χαμηλότερες θερμοκρασίες από τις αφροζύμες και με πιο αργό ρυθμό, αποικοδομούν περισσότερα σάκχαρα αφήνοντας την μύρα καθαρότερη, με λιγότερα φρουτώδη χαρακτηριστικά, χωρίς μεγάλη πολυπλοκότητα.

Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα παρακάτω είδη:

Amber ή κοκκινόχρωμες lager: Μύρες με χαρακτηριστική γεύση καραμέλας και λυκίσκου.

Bocks: Αποτελούν μύρες με γεύσεις σοκολάτας, καραμέλας και βύνης, συνήθως είναι σκουρόχρωμες έως και πολύ σκούρες και έχουν περιεκτικότητα σε αλκοόλ 6,6%.

Dark ή dunkel lager: Έχουν χρώμα καστανό και καστανοκόκκινο με γεύση σοκολάτας ή καραμέλας.

Pilsener/pils: Είναι ξηρές και πικρές μύρες, συνήθως ανοιχτόχρωμες ή χρυσαφένιες με χαρακτηριστική γεύση λυκίσκου με πλούσιο άρωμα λουλουδιών. Είναι ο πιο

χαρακτηριστικός τύπος των lager με το 70% - 80% της παγκόσμιας παραγωγής μπίρας. Το όνομα τους το πήραν από το χωριό Pilsen της Τσεχίας, όπου παράχθηκαν για πρώτη φορά και περιέχουν αλκοόλ 4,8%-5,7%.

Rauchbier: Έχουν σκούρο χρώμα και έντονο χαρακτηριστικό άρωμα καπνού, αλλά και γεύση με μέτρια πικράδα. Το όνομα τους στα γερμανικά σημαίνει “καπνιστή μπίρα” και έχουν αλκοόλ 5,5%.

Υβρίδια

Οι υβριδικές μπίρες συνδυάζουν στοιχεία από τις ale και lager μπίρες.

Amazon Black: Οι μπίρες αυτές παρασκευάζονται στη Βραζιλία. Δημιουργήθηκαν από γυναίκες ιθαγενείς και βελτιώθηκαν αργότερα από εξερευνητές. Έχουν χρώμα πολύ σκούρο και για την παραγωγή τους χρησιμοποιούνται ψημένοι σπόροι δημητριακών, που παράγονται μετά από κάψιμο των χωραφιών τους.

Legales: Είναι υβρίδια που δημιουργούνται από ζύμες που είναι μίγμα αφροζυμών και βυθοζυμών.

-Cream Ale: Αποτελούν ελαφριές και ελαφρά γλυκές μπίρες και η πικράδα καθώς και το άρωμα του λυκίσκου είναι ανεπαίσθητα.

-Malt Liquor: Είναι μπίρες και όχι λικέρ επειδή δεν αποστάζονται μετά τη διαδικασία της ζύμωσης, αλλά ονομάζονται έτσι επειδή έχουν υψηλότερο ποσοστό αλκοόλ από τις κανονικές μπίρες. Το χρώμα τους είναι ωχρό ή σκούρο και καταναλώνονται περισσότερο για την «σπιρτάδα» την οποία διαθέτουν.

1.7. Ποιοτικά κριτήρια της μύρας

Μικροβιακή σταθερότητα

Η μικροβιακή σταθερότητα περιγράφει την ευαισθησία της μύρας στην μόλυνση της από μικροοργανισμούς. Η μύρα έχει αρκετές αντιμικροβιακές ιδιότητες:

- αναερόβιες συνθήκες (CO_2 που περιέχουν τα ποτά)
- χαμηλή τιμή pH (περίπου 4,5)
- περιεκτικότητα σε αλκοόλ (περίπου 5% κατ 'όγκο)
- πικρές ουσίες και έλαια του λυκίσκου
- έλλειψη εύπεπτων σακχάρων και αμινοξέων
- χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής

Η αποδυνάμωση των ιδιοτήτων αυτών μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι οργανισμοί που επιβαρύνουν την μύρα μπορούν να μειώσουν την ποιότητα του αρώματος και της γεύσης της και να προκαλέσουν ελαφρά θολερότητα και σχηματισμό ιζημάτων.

Σταθερότητα γεύσης

Η γεύση και το άρωμα της μύρας δεν είναι σταθερά και μπορεί να υποβαθμισθούν λόγω απώλειας των αρωματικών της ουσιών και της ανάπτυξης μιας μπαγιάτικης γεύσης. Ο κύριος λόγος, είναι η αναπόφευκτη επιμόλυνση με οξυγόνο, η οποία επιφέρει αλλαγές στην γεύση της μύρας μέσα σε λίγες ημέρες μετά την πλήρωση της και οι αλλαγές αυτές διαρκούν για αρκετά χρόνια.

Κολλοειδής σταθερότητα

Η κολλοειδής σταθερότητα (θολερότητα) περιγράφει την καθίζηση των προϊόντων αμαύρωσης των πρωτεϊνών, μετά την πλήρωση και την ωρίμανση της μύρας. Η αστάθεια αυτή, εξαρτάται από την περιεκτικότητα της μύρας σε οξυγόνο, τη θερμοκρασία, το φως και την παρουσία μεταλλικών ιόντων.

Σταθερότητα του αφρού

Ο αφρός, είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού της τεχνολογίας και της γαστρονομίας. Η επιλογή της βύνης, η μειωμένη ένταση βρασμού και η διαχείριση της μαγιάς επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη σταθερότητα του αφρού. Επιπλέον, ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στην καθαριότητα των γυάλινων φιαλών, καθώς, υπολείμματα λιπαρών υλών ή κατάλοιπα καθαρισμού και απολύμανσης μειώνουν τη σταθερότητα του αφρού. [6]

2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

2.1. Γενικά

Τι είναι οι πολυφαινόλες;

Οι πολυφαινόλες είναι μια ποικιλόμορφη τάξη δευτερογενών μεταβολιτών των φυτών και χαρακτηρίζονται από μια δομή πολυφαινόλης, δηλαδή έχουν αρκετές υδροξυλομάδες σε δύο ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους με έξι άτομα άνθρακα. Καταχρηστικά, ο όρος πολυφαινόλες χρησιμοποιείται και σε ενώσεις όπως τα φαινολικά οξέα, που έχουν μια υδροξυλομάδα. Είναι ευρέως διαδεδομένα φυσικά συστατικά τροφών φυτικής προέλευσης όπως τα φρούτα, τα λαχανικά, τα δημητριακά, η σοκολάτα και ποτά όπως το τσάι, ο καφές, το κρασί και η μπύρα. Η στιφή και πικρή γεύση των τροφίμων και των ποτών εξαρτάται σημαντικά από την περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες. [7]

Στην πλειοψηφία τους, οι πολυφαινόλες εμφανίζονται συζευγμένες με υδατάνθρακες μέσω των υδροξυλίων τους. Τα σάκχαρα αυτά, μπορεί να είναι μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες ή ολιγοσακχαρίτες. Παραδείγματα τέτοιων σακχάρων, είναι η γαλακτόζη, η ξυλόζη, η αραβινόζη, η ραμνόζη, τα γλυκουρονικά και τα γαλακτουρονικά οξέα κ.α. Το σάκχαρο που εμφανίζεται συχνότερα είναι η γλυκόζη. Οι φυσικές πολυφαινόλες, μπορεί να κυμαίνονται από απλά μόρια, όπως τα φαινολικά οξέα, έως εξαιρετικά πολυμερισμένες ενώσεις, όπως οι τανίνες.

Η μπύρα, διαθέτει φαινολικά συστατικά τα οποία προέρχονται από τη βύνη και το λυκίσκο και παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία καθώς ανήκουν στις τάξεις των απλών φαινολών, των παραγώγων του βενζοϊκού και του κινναμωμικού οξέος, των κουμαρινών, των κατεχινών, των δι- και τρι- ολιγομερών προανθοκυανιδινών, των πρενυλιομένων χαλκονών και των φλαβονοειδών. Η σύνθεση και τα επίπεδα των φαινολικών ενώσεων της μπύρας ποικίλουν έντονα και εξαρτώνται από τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται, από τη διαδικασία παρασκευής και τον τύπο της ενώ επίσης

μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Τα ποσά των πολυφαινολών που μετρούνται συχνά σε μία μπύρα αντιπροσωπεύουν τις ελεύθερες ενώσεις, αν και οι περισσότερες από τις ενώσεις που εμφανίζονται, βρίσκονται σε δεσμευμένη μορφή και επομένως, οι αναφερόμενες τιμές αποκλίνουν από τα πραγματικά επίπεδα τους. [8]

Οι πολυφαινόλες μπορούν να χωριστούν σε κατηγορίες ανάλογα με τη δομή τους και τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων που περιέχουν. Οι κύριες ομάδες τους είναι τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή, τα στιλβένια και οι ταννίνες. [9]

1) Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα αποτελούνται από δύο υποομάδες: τα υδροξυβενζοϊκά και τα υδροξυκιναμικά οξέα. Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα, περιλαμβάνουν το γαλλικό, το p-υδροξυβενζοϊκό, το πρωτοκατεχικό, το βανιλλικό και το συριγγικό οξύ. Τα υδροξυκιναμικά οξέα, είναι αρωματικές ενώσεις με μία πλευρική αλυσίδα τριών ατόμων άνθρακα, με το καφεϊκό, το φερουλικό, το p-κουμαρικό και το σιναπικό οξύ να είναι τα συνηθέστερα. Οι κύριες πηγές φαινολικών οξέων είναι το βατόμουρο, το μούρο, το αχλάδι, το κεράσι, το μήλο, το πορτοκάλι, το γκρέιπφρουτ, ο χυμός κερασιού, μήλου, λεμονιού, το ροδάκινο, η πατάτα, το μαρούλι, το σπανάκι, το τσάι, ο καφές και ο μηλίτης.

2) Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι η πιο άφθονη κατηγορία πολυφαινολών στην δίαιτα του ανθρώπου και αντιπροσωπεύουν πάνω από το ήμισυ των οκτώ χιλιάδων φαινολικών ενώσεων, που έχουν βρεθεί. Αποτελούν ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, που αποτελούνται από δεκαπέντε άτομα άνθρακα και χωρίζονται κυρίως σε δύο κατηγορίες α) τις ανθοκυανίνες, οι οποίες είναι γλυκοζυλιωμένα παράγωγα της ανθοκυανιδίνης και είναι παρούσες σε πολύχρωμα λουλούδια και φρούτα και β) τις ανθοξανθίνες, μια ομάδα άχρωμων ενώσεων, οι οποίες χωρίζονται περαιτέρω σε διάφορες κατηγορίες, όπως οι φλαβόνες, οι φλαβανόλες, οι φλαβονόλες, οι ισοφλαβόνες και οι γλυκοζίτες

τους. Βρίσκονται κυρίως στα βατόμουρα, στη μαύρη σταφίδα, στα σταφύλια, στις φράουλες, στα κεράσια, στα δαμάσκηνα, στο cranberry και στο ρόδι.

3)Ταννίνες

Οι ταννίνες, είναι μία ομάδα υδατοδιαλυτών πολυφαινολών , σχετικά υψηλού μοριακού βάρους, οι οποίες βρίσκονται σε σύμπλοκα με αλκαλοειδή, πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες. Υποδιαίρονται σε υδρολυόμενες ταννίνες, που είναι εστέρες του γαλλικού οξέος και σε συμπυκνωμένες ταννίνες, οι οποίες είναι πολυμερή των μονομερών της πολυυδροξυφλαβαν-3-όλης. Βρίσκονται στα σταφύλια, στο χυμό μήλου, στις φράουλες, στα βατόμουρα, στο ρόδι, στα καρύδια, στο ροδάκινο, στις ελιές, στα δαμάσκηνα, στα ρεβίθια, στις φακές, στα φασόλια, στο κόκκινο ή λευκό κρασί, στο κακάο, στη σοκολάτα, στο τσάι, στον μηλίτη, στον καφέ και στα άγουρα φρούτα.

4)Στιλβένια

Τα στιλβένια χαρακτηρίζονται δομικά από την παρουσία ενός πυρήνα 1,2-διφαινυλαιθυλενίου με ομάδες υδροξυλίου υποκατεστημένες επί των αρωματικών δακτυλίων και συναντώνται με τη μορφή μονομερών ή ολιγομερών. Η πιο γνωστή ένωση είναι η trans-ρεσβερατρόλη, Οι κυριότερες διατροφικές πηγές των στιλβενίων αποτελούν τα σταφύλια, το κρασί, η σόγια, τα φιστίκια και τα προϊόντα φιστικιού.

2.2. Βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών

Η βιοδιαθεσιμότητα ορίζεται ως το ποσοστό ενός μακρο- ή μικρο- θρεπτικού συστατικού που διατίθεται στον οργανισμό, μεταβολίζεται στα όργανα μέσω ποικίλων βιοχημικών οδών και τελικά αποβάλλεται. Επομένως, δεν είναι μόνο σημαντικό να γνωρίζουμε την ποσότητα ενός θρεπτικού συστατικού σε συγκεκριμένα τρόφιμα ή διατροφικά συμπληρώματα, αλλά και το ποσό στο οποίο είναι βιοδιαθέσιμο.

Οι πολυφαινόλες είναι τα πιο άφθονα αντιοξειδωτικά στη διατροφή του ανθρώπου. Δείχνουν μια σημαντική δομική ποικιλομορφία, η οποία επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη

βιοδιαθεσιμότητά τους. Οι περισσότερες πολυφαινόλες υπάρχουν στα τρόφιμα με τη μορφή εστέρων, γλυκοζιτών ή πολυμερών που δεν μπορούν να απορροφηθούν στη φυσική τους μορφή. Πριν από την απορρόφηση τους, οι ενώσεις αυτές, πρέπει να υδρολυθούν είτε από τα εντερικά ένζυμα είτε από την μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου και κατά τη διάρκεια της απορρόφησης τους, οι πολυφαινόλες υφίστανται εκτενή τροποποίηση. Κατά συνέπεια, φθάνοντας στο αίμα και στους ιστούς, είναι σε διαφορετικές μορφές από εκείνες που υπάρχουν στα τρόφιμα και είναι πολύ δύσκολο να εντοπιστούν όλοι οι μεταβολίτες τους και να αξιολογηθεί η βιολογική τους δραστηριότητα. [10]

Η χημική δομή των πολυφαινολών, καθορίζει το ρυθμό, την έκταση της απορρόφησης τους και τη φύση των μεταβολιτών που κυκλοφορούν στο πλάσμα, περισσότερο από τη συγκέντρωσή τους. Η βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών, διαφέρει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ τους, καθώς οι πιο άφθονες πολυφαινόλες δεν είναι απαραίτητα εκείνες που οδηγούν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις των δραστικών μεταβολιτών στους ιστούς στόχους και μπορεί επίσης να επηρεαστεί από τις διαφορές στη δομή του κυτταρικού τοιχώματος, στη θέση των γλυκοζιτών στα κύτταρα και στη σύνδεση των φαινολικών ενώσεων στα τρόφιμα.

Οι πολυφαινόλες που απορροφώνται, μεταβολίζονται στο συκώτι και εκκρίνονται στη χολή και φτάνουν στο κόλον σε διαφορετική χημική μορφή, όπως γλυκουρονικά, ενώ οι πολυφαινόλες που δεν απορροφώνται στο στομάχι ή στο λεπτό έντερο και μεταφέρονται στο κόλον, δεν αλλάζουν χημική δομή. Το κόλον, έχει σημαντική μικροχλωρίδα, η οποία έχει πιθανές καταλυτικές και υδρολυτικές ιδιότητες για τη διάσπαση των πολυφαινολών σε απλούστερες ενώσεις, όπως φαινολικά οξέα. [9]

Ο κύριος στόχος των μελετών βιοδιαθεσιμότητας είναι ο καθορισμός των πολυφαινολών που απορροφώνται καλύτερα από τις υπόλοιπες, των ενεργών μεταβολιτών και των πολυφαινολών που οδηγούν στο σχηματισμό των ενεργών μεταβολιτών. Ποικίλες μελέτες βιοδιαθεσιμότητας έχουν αποδείξει, ότι οι ισοφλαβόνες και τα φαινολικά οξέα όπως το καφεϊκό οξύ και το γαλλικό οξύ αποτελούν τις πιο καλά

απορροφούμενες πολυφαινόλες και ακολουθούν οι κατεχίνες, οι φλαβανόνες, και οι γλυκοζίτες της κερκετίνης ενώ οι λιγότερο απορροφούμενες πολυφαινόλες, είναι οι μεγάλου μοριακού βάρους προανθοκυανιδίνες, οι κατεχίνες τσαγιού, και οι ανθοκυανίνες. [11]

2.3. Δράση Φαινολικών Συστατικών

Οι κυριότεροι τρόποι δράσης των πολυφαινολών είναι οι ακόλουθοι :

1) Αντιαθηρωματική Δράση

Αποτρέπουν την παραγωγή ουσιών υπεύθυνων για τη δημιουργία αθηρωματικών πλακών, όπως οι μεγαλοπρωτεΐνάσες (MMP) και ο αυξητικός παράγοντας

2) Αντιφλεγμονώδης Δράση

Επιστημονικά δεδομένα, συνδέουν την προστατευτική δράση των φαινολικών ουσιών έναντι των αθηροσκλήρωσης μέσω της καθυστέρησης ή της αποτροπής της φλεγμονώδους διαδικασίας. Η αντιφλεγμονώδης δράση τους εκδηλώνεται μέσω αναστολής της προσκόλλησης των λεμφοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μέσω της ρύθμισης της παραγωγής κυτοκινών, της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης και της απελευθέρωσης χημειοκινών.

3) Αντιοξειδωτική Δράση

Ο αντιοξειδωτικός τους ρόλος είναι πολυδιάστατος καθώς από τη μία δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και προστατεύουν το ενδοθήλιο από το οξειδωτικό στρες και από την άλλη αποτρέπουν την οξείδωση της LDL, που συνεπάγεται την οξείδωση των μακροφάγων και τη δημιουργία των αφρωδών κυττάρων (foam cells), βασικών κυττάρων της αθηρωματικής πλάκας. Οι πολυφαινόλες παρεμβαίνουν και διακόπτουν/αναστέλλουν την οξείδωση μέσω ελευθέρων ριζών με τους εξής τρόπους:

- Αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται στον οργανισμό και τις εξουδετερώνουν. Μέσω αυτής της πορείας καθίστανται οι ίδιες ελεύθερες ρίζες, οι οποίες όμως είναι πολύ σταθερές λόγω της πολυφαινολικής δομής, η οποία μέσω συντονισμού σταθεροποιείται σημαντικά.
- Δρουν ως δεσμευτές μεταλλικών ιόντων, τα οποία πολύ συχνά είναι οι εκκινητές μιας οξειδωσης. Αυτό γίνεται μέσω της δημιουργίας χηλικού συμπλόκου με το μεταλλικό ιόν.
- Αναγεννούν ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό του οργανισμού, τη βιταμίνη E. [7]

4) Αντιμικροβιακή δράση

Οι πολυφαινόλες όπως τα φαινολικά οξέα, τα στιλβένια, οι ταννίνες, οι ισοφλαβόνες οι κατεχίνες, έχει αναφερθεί ότι αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη πολλών μυκήτων, ζυμών, ιών και βακτηρίων, όπως *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus* ή *Chlamydia pneumoniae*, *Vibrio cholerae* και του εντεροτοξικογόνου *E coli*. Αυτή η αντιμικροβιακή δράση των πολυφαινολών, μπορεί να χρησιμεύσει στην επεξεργασία τροφίμων για την αύξηση της διάρκειας της ζωής τους.

5) Επίδραση στην πέψη των μακροθρεπτικών συστατικών

Φαινολικά συστατικά συνδέονται και καταβυθίζουν πρωτεΐνες (μεταξύ αυτών πρωτεΐνες και υδρολυτικά ένζυμα που εμπλέκονται στην πέψη λιπών και υδατανθράκων) με αποτέλεσμα τη καθυστέρηση της απορρόφησης τους.

6) Επίδραση στην απορρόφηση μεταλλικών κατιόντων

Τα φλαβονοειδή κυρίως, παρεμποδίζουν την απορρόφηση ιόντων που συμβάλλουν στη δημιουργία ελεύθερων ριζών (Fe, Cu, Zn, Na, Al), μέσω σχηματισμού σταθερών συμπλόκων.

7) Φαινολικά συστατικά και ενδοθηλιακή λειτουργία

Βελτιώνουν την λειτουργία του αρτηριακού ενδοθηλίου, αυξάνοντας την ελαστικότητά του μέσω της αύξησης της παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου (NO).

8) Φαινολικά συστατικά και λειτουργία αιμοπεταλίων

Τα φαινολικά συστατικά βελτιώνουν την λειτουργία των αιμοπεταλίων, αποτρέποντας την έκκριση από αυτά φλεγμονωδών παραγόντων και εμποδίζοντας τη συσσωμάτωσή τους, μέσω της αναστολής ενζύμων, όπως η κυκλοοξυγονάση.

9) Φαινολικά Συστατικά και Λιπίδια Αίματος

Μελέτες δείχνουν ότι τα φαινολικά συστατικά μειώνουν την ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, αυξάνουν τη HDL και μειώνουν την LDL αποτρέποντας τη δημιουργία αθηρωματικών πλακών.

10) Επίδραση των φαινολικών συστατικών στα γονίδια

Τα φαινολικά συστατικά, όταν δρουν μακροπρόθεσμα επηρεάζουν κάποια γονίδια εντός των κυττάρων των αρτηριών, ώστε αυτά να κωδικοποιήσουν αυξημένη ή μειωμένη παραγωγή ουσιών, που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο. [12]

11) Ευεργετική δράση σε εκφυλιστικές ασθένειες

Φαινολικά συστατικά όπως τα φλαβονοειδή, οι κατεχίνες και τα παράγωγά τους, θεωρούνται ως θεραπευτικοί παράγοντες σε μελέτες επί των εκφυλιστικών ασθενειών και διαδικασιών γήρανσης του εγκεφάλου, και χρησιμεύουν ως νευροπροστατευτικοί παράγοντες σε προοδευτικές νευροεκφυλιστικές διαταραχές όπως οι ασθένειες Parkinson και Alzheimer. Πολύ πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η Μεσογειακή διατροφή μπορεί να βοηθήσει στη διατήρηση του όγκου εγκεφάλου σε ηλικιωμένους. [13]

3.1. Ορισμός και ιδιότητες των μετάλλων

Η διάκριση των χημικών στοιχείων μέταλλα και σε αμέταλλα βασίζεται στη διαφοροποίηση τους ως προς τις χημικές και φυσικές τους ιδιότητες. Ως μέταλλο, ορίζεται κάθε υλικό, που λαμβάνεται από μεταλλεύματα με τη χρήση διαφόρων μεταλλουργικών μεθόδων, σχηματίζει μεταλλικό δεσμό και κατά κανόνα εμφανίζει τις παρακάτω κοινές ιδιότητες:

- 1) Είναι στερεό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, εκτός από τον υδράργυρο (Hg), ο οποίος βρίσκεται σε υγρή κατάσταση.
- 2) Έχει χαρακτηριστική μεταλλική λάμψη.
- 3) Παρουσιάζει αργυρόλευκο χρωματισμό, με εξαιρέσεις τον χρυσό (Au) που είναι κίτρινος και το χαλκό (Cu) που είναι ερυθρός.
- 4) Έχει σχετικά υψηλή πυκνότητα.
- 5) Έχει σχετικά υψηλό σημείο τήξεως.
- 6) Αποτελεί καλό αγωγό της θερμότητας και του ηλεκτρισμού.
- 7) Μας δίνει τη δυνατότητα να το μορφοποιήσουμε όπως εμείς θέλουμε χωρίς να το θερμάνουμε, καθώς διαθέτει πλαστικότητα.
- 8) Είναι ελατό, δηλαδή μετατρέπεται σε ελάσματα και όγκιμο καθώς μορφοποιείται εύκολα σε σύρματα.
- 9) Έχει κρυσταλλική δομή.

3.2. Πηγές ιχνοστοιχείων στη μύρα

Η μύρα είναι το προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης των εκχυλισμάτων βυνοποιημένων σιτηρών, συνήθως της βύνης του κριθαριού, στο οποίο προστίθεται ο λυκίσκος. Όλα τα φυσικά συστατικά που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή της μύρας, δηλαδή το νερό, το κριθάρι, ο λυκίσκος και η μαγιά, είναι οι κύριες πηγές ενδογενών ιχνοστοιχείων στη μύρα. Η σύσταση της μύρας σε ιχνοστοιχεία, συνήθως αντανακλά τη σύνθεση των συστατικών της και αναφέρεται στις διεργασίες ζυθοποιίας που έχουν λάβει χώρα. Κατά συνέπεια, το περιεχόμενο των ιχνοστοιχείων της μύρας είναι μεταβλητό και εξαρτάται από την ποιότητα των υποστρωμάτων που λαμβάνονται, τον τύπο της παραγόμενης μύρας και τη χώρα προέλευσης της.

Ιχνοστοιχεία που ανιχνεύονται στην μύρα μπορεί να προέρχονται και από πολλές άλλες συμπληρωματικές ουσίες που προστίθενται κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης για τον έλεγχο της ζύμωσης και των διαδικασιών ωρίμανσης που λαμβάνουν χώρα. Μια άλλη εξωγενής πηγή ιχνοστοιχείων στη μύρα, μπορεί να είναι η επιμόλυνση του εξοπλισμού ζυθοποίησης, για παράδειγμα από σωλήνες, γραμμές διακίνησης υγρών, δεξαμενές, καθώς και βυτία, βαρέλια, δοχεία, στα οποία το τελικό προϊόν διατηρείται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της μεταφοράς. Επίσης, η χρησιμοποίηση μετρίως όξινων υγρών μπορεί να συμβάλει σε μεγάλο βαθμό στην μετανάστευση μεταλλικών ιόντων, ειδικά σε δοχεία, βυτία και βαρέλια από αλουμίνιο. Η επιβάρυνση του εσωτερικού του δοχείου της μύρας και η αλληλεπίδραση του ποτού με τα δοχεία, συνήθως οδηγούν σε αύξηση των συγκεντρώσεων ιχνοστοιχείων όπως Al, Co, Cr, Cu, Fe ή Ni. Στην περίπτωση του Al, μπορεί να σημειωθεί, ότι όσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια της αποθήκευσης μύρας, τόσο υψηλότερες είναι οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στη μύρα. Τέλος, όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία αποθήκευσης, τόσο ταχύτερος είναι ο ρυθμός διάβρωσης του δοχείου, ανεξάρτητα από την επίστρωσή του, και τόσο υψηλότερη είναι η συσσώρευση των ιχνοστοιχείων στη μύρα. [14]

3.3. Θετικές- Αρνητικές Επιδράσεις των Ιχνοστοιχείων

Η αξιολόγηση της συνολικής σύνθεσης της μύρας σε ιχνοστοιχεία έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τους ζυθοποιούς και τους καταναλωτές. Αυτό συμβαίνει, καθώς ανάλογα με τη συγκέντρωση και τον τύπο τους μπορούν να έχουν ευεργετική ή τοξική δράση στο ανθρώπινο σώμα και μπορούν επίσης να έχουν επίδραση στη διαδικασία παρασκευής και την ποιότητα της μύρας, επηρεάζοντας τη σταθερότητα της γεύσης ή το σχηματισμό θολώματος. Έτσι, ορισμένα ιχνοστοιχεία μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα του αφρού και τη γεύση (Cu, Fe, Mn), άλλα είναι ζωτικής σημασίας και έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου (Fe, Zn, Cr) ενώ ορισμένα, μπορούν να είναι επιβλαβή πάνω από μια ορισμένη συγκέντρωση ακόμα και όταν βρίσκονται σε ίχνη της τάξης του εκατομμυριοστού του γραμμαρίου (Al, Cd, Hg, Pb).

3.3.1. Ιχνοστοιχεία που επηρεάζουν την ποιότητα του αφρού και τη γεύση

Σίδηρος

Ο σίδηρος βρίσκεται στη μύρα υπό μορφή απλών ιόντων ή οργανικών συμπλόκων. Τα ιόντα σιδήρου σε μεγάλες συγκεντρώσεις, μπορεί να προκαλέσουν μεταλλικές και δυσάρεστες γεύσεις στη μύρα, καθώς και σκούρα χρώματα λόγω ενώσεων με φαινολικές ενώσεις από τη βύνη και το λυκίσκο. Η αρνητική δράση των υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων σιδήρου, παρεμποδίζει τη δράση της μαγιάς, την πρόληψη της πλήρους σακχαροποίησης και την θολερότητα στη μύρα. Επομένως, η συγκέντρωση του σιδήρου στη μύρα ασκεί καταλυτική δράση στις διεργασίες οξείδωσης/αναγωγής που συμβαίνουν και είναι υπεύθυνες για την αερόβια ωρίμανση και τη σταθερότητα της γεύσης κατά την αποθήκευση.

Χαλκός

Τα ιόντα χαλκού, συμβάλλουν στην ποιότητα της μύρας και στην ενίσχυση της γεύσης χάρη στην καταλυτική δράση τους στις διεργασίες οξείδωσης/αναγωγής. Σε

πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, είναι τοξικά και προκαλούν μεταλλάξεις σε ζυμομύκητες στους οποίους συσσωρεύονται, καθώς επίσης προκαλούν και μη αναστρέψιμη θολερότητα στη μύρα.

Μαγγάνιο

Το μαγγάνιο, το οποίο υπάρχει σε ίχνη στα αλκοολούχα ποτά συμβάλλει στη σωστή ανάπτυξη των ζυμομυκήτων. Όπως ο χαλκός και ο σίδηρος, τα ιόντα μαγγανίου είναι καταλύτες οξείδωσης / αναγωγής και σε σημαντικές ποσότητες, έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στη γεύση και στην κολλοειδή σταθερότητα της μύρας.

3.3.2. Ιχνοστοιχεία που έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου

Σίδηρος

Το κύριο όφελος μιας διατροφής υψηλής σε σίδηρο, είναι ο σχηματισμός της αιμοσφαιρίνης, η οποία είναι μεταφορέας του οξυγόνου σε όλο το σώμα και δίνει το σκούρο κόκκινο χρώμα στο αίμα. Επίσης, ένα από τα πιο σημαντικά οφέλη του σιδήρου για την υγεία, είναι ότι ενεργεί ως φορέας οξυγόνου και βοηθά στη μεταφορά οξυγόνου από το ένα κύτταρο στο άλλο. Αυτή είναι μια κρίσιμη λειτουργία του σιδήρου, καθώς το οξυγόνο απαιτείται από κάθε μέρος του σώματος για να εκτελέσει τις συνήθεις λειτουργίες του. Επιπλέον, αποτελεί στοιχείο ζωτικής σημασίας για την μυϊκή υγεία και βρίσκεται στη μυοσφαιρίνη, μια πρωτεΐνη των μυών, η οποία μεταφέρει το οξυγόνο από την αιμοσφαιρίνη και διαχέεται σε όλα τα μυϊκά κύτταρα, επομένως, απαιτείται για τη συστολή των μυών. Τέλος, είναι πολύ σημαντικός για την υγεία του εγκεφάλου, καθώς ο εγκέφαλος μας χρησιμοποιεί περίπου το 20% του οξυγόνου στο αίμα μας και ο σίδηρος βοηθά τη παροχή οξυγόνου στο αίμα.

Ψευδάργυρος

Ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητος για τη φυσιολογική κυτταρική διαίρεση και λειτουργία και εντοπίζεται στην α-μακροσφαιρίνη, μια σημαντική πρωτεΐνη του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπου. Επιπλέον, είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη των παιδιών και την ωρίμανση των αναπαραγωγικών τους οργάνων στην εφηβεία όπως επίσης και για την παραγωγή του σπέρματος στον άνδρα και των ωαρίων στη γυναίκα. Παράλληλα, ο ψευδάργυρος βοηθά στην απομάκρυνση τοξικών μετάλλων από το σώμα, όπως το κάδμιο και ο μόλυβδος και είναι σημαντικός για τη διατήρηση της όρασης, της γεύσης και της οσμής, καθώς και για την απελευθέρωση της ινσουλίνης και την απορρόφηση και το μεταβολισμό της βιταμίνης Α.

Χρώμιο

Το χρώμιο, ανάλογα με το σθένος του, έχει τόσο ωφέλιμες όσο και δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Αν και απαντάται σε εννέα σθένη, τα οποία κυμαίνονται από -2 έως 6, μόνο το τρισθενές (III) και το εξασθενές (VI) χρώμιο έχουν ιδιαίτερη σημασία.

Το τρισθενές χρώμιο θεωρείται βασικό ιχνοστοιχείο στην ανθρώπινη διατροφή, χρησιμοποιείται ευρέως σε συμπληρώματα διατροφής για ανθρώπους και ζώα και είναι απαραίτητο για τη διατήρηση του φυσιολογικού μεταβολισμού της γλυκόζης. Σε περιπτώσεις ανεπάρκειας του τρισθενούς χρωμίου στους ανθρώπους, παρατηρείται διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη, γλυκοζουρία, υπεργλυκαιμία και αυξημένη κυκλοφορία ινσουλίνης και γλυκαγόνης. Αντίθετα, το εξασθενές χρώμιο, έχει χαρακτηριστεί ως καρκινογόνο για τον άνθρωπο. [15]

3.3.3. Ιχνοστοιχεία με επιβλαβή δράση - Τοξικότητα

Τοξικότητα είναι η ικανότητα των ιχνοστοιχείων να επηρεάζουν τις ζωτικές λειτουργίες ενός βιολογικού συστήματος ή ενός ζωντανού οργανισμού. Με βάση το ρόλο τους στους ζωντανούς οργανισμούς τα στοιχεία ταξινομούνται στα: [16]

-Στοιχεία βιοχημικώς χρήσιμα (H, B, C, N, O, F, Na, Mg, Si, P, S, Cl, K, Ca, Cr, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Br, I)

-Στοιχεία με πιθανή βιοχημική σημασία (Al, Ti, As, Sn, Pb, Cd)

-Στοιχεία πιθανώς μη βιοχημικώς χρήσιμα (He, Li, Be, Ne, Ar, Sc, Ga, Ge, Se, Kr, Rb, Sr, Y, Ir, Pt, Au, Hg, Tl, Bi, Po, At, R, Fr, Ac, Th, Pa, U)

Μόλυβδος

Η παρουσία του μολύβδου και των ενώσεων του στον αέρα, το έδαφος και το νερό, είναι το αποτέλεσμα των ανθρώπινων δραστηριοτήτων, όπως η καύση ορυκτών καυσίμων και η εξόρυξη. Ο μόλυβδος μπορεί να επηρεάσει κάθε όργανο και σύστημα του ανθρωπίνου σώματος και μακροχρόνια έκθεση των ενηλίκων, μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη λειτουργία του νευρικού συστήματος, αδυναμία στα δάχτυλα, τους καρπούς ή τους αστραγάλους, μικρές αυξήσεις της αρτηριακής πίεσης και αναιμία. Η έκθεση σε υψηλά επίπεδα μολύβδου, μπορεί να βλάψει σοβαρά τον εγκέφαλο και τα νεφρά και τελικά να προκαλέσει το θάνατο. Τέλος, στις έγκυες γυναίκες, τα υψηλά επίπεδα έκθεσης μπορεί να προκαλέσουν αποβολή και στους άνδρες μπορεί να βλάψουν τα όργανα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή σπέρματος.

Υδράργυρος

Ο υδράργυρος συνδυάζεται με άλλα στοιχεία για να σχηματίσει οργανικές και ανόργανες ενώσεις υδραργύρου. Ο μεταλλικός υδράργυρος στο έδαφος και το νερό μετατρέπεται από μικροοργανισμούς σε μεθυλϋδράργυρο, ένωση με υψηλή τοξικότητα και την ικανότητα να βιοσυσσωρεύεται.

Το νευρικό σύστημα είναι πολύ ευαίσθητο σε όλες τις μορφές του Hg και έκθεση σε υψηλά επίπεδα, μπορεί να προκαλέσει μόνιμη βλάβη στον εγκέφαλο, τα νεφρά και την ανάπτυξη των εμβρύων ενώ, επιπτώσεις στη λειτουργία του εγκεφάλου μπορεί να οδηγήσουν σε ευερεθιστότητα, τρόμο, προβλήματα στην όραση ή την ακοή και σε προβλήματα μνήμης. Τέλος, βραχυπρόθεσμη έκθεση σε υψηλά επίπεδα ατμών υδραργύρου μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους πνεύμονες, ναυτία, έμετο, διάρροια, αύξηση της αρτηριακής πίεσης ή της καρδιακής συχνότητας, δερματικά εξανθήματα και ερεθισμό των ματιών.

Κάδμιο

Το κάδμιο είναι ένα πολύ τοξικό μέταλλο και όταν απορροφάται από τον άνθρωπο, συσσωρεύεται στο εσωτερικό του σώματος και παραμένει επί μακρόν. Ο άνθρωπος, μπορεί να εκτεθεί στο κάδμιο κυρίως μέσω της εισπνοής και της κατάποσης και μπορεί να υποφέρει από οξείες και χρόνιες δηλητηριάσεις.

Το κάδμιο και οι ενώσεις του είναι καρκινογόνα για τον άνθρωπο. Επιπλέον, σοβαρή βλάβη στους πνεύμονες μπορεί να συμβεί μέσω της εισπνοής υψηλών ποσοτήτων καδμίου. Η μακροχρόνια έκθεση σε χαμηλά επίπεδα καδμίου, οδηγεί σε συσσώρευσή του στα νεφρά και πιθανή νεφρική νόσο, βλάβη στους πνεύμονες και σε εύθραυστα οστά (ασθένεια Itai-Itai). [16]

4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

4.1. Ελεύθερες ρίζες – Οξειδωτικό στρες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή ομάδες ατόμων που διαθέτουν ένα ή περισσότερα μονήρη (ασύζευκτα) ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα, γεγονός που τις καθιστά ιδιαιτέρως δραστικές.

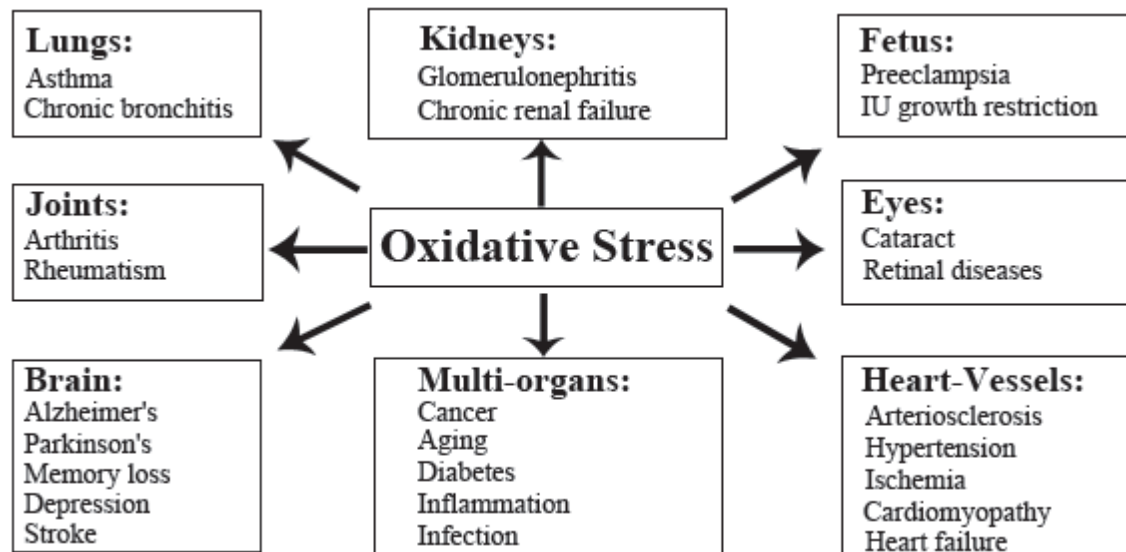
Τα κυριότερα είδη ελευθέρων ριζών που παράγονται κατά τις λειτουργίες των ζωντανών οργανισμών είναι οι:

- Δραστικές μορφές οξυγόνου (*Reactive Oxygen species (ROS)*): Οι ελεύθερες ρίζες που περιέχουν στο μόριο τους οξυγόνο (O).
- Δραστικές μορφές αζώτου (*Reactive Nitrogen Species (RNS)*): Οι ελεύθερες ρίζες που περιέχουν στο μόριό τους άζωτο (N).

Οι ελεύθερες ρίζες αποσπούν ηλεκτρόνια (οξειδωση) από άλλες ενώσεις που βρίσκονται στο μικροπεριβάλλον τους, σχηματίζοντας νέες ελεύθερες ρίζες, δημιουργώντας έτσι μια αλυσιδωτή αντίδραση που μπορεί να οδηγήσει στη καταστροφή σημαντικών βιομορίων του κυττάρου (λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA, υδατάνθρακες). Η επαφή των ελευθέρων ριζών με τα βιομόρια μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρική καταστροφή και συναφείς διαταραχές σε κυτταρικό επίπεδο. Με την πάροδο του χρόνου οι ελεύθερες ρίζες συσσωρεύονται και οδηγούν στην οξειδωτική καταπόνηση του οργανισμού (οξειδωτικό stress) προκαλώντας παθολογικές καταστάσεις. [17]

Οξειδωτικό stress, ονομάζεται η οξειδωτική κατάσταση που προκύπτει από την ανισορροπία ανάμεσα στην δημιουργία των ελευθέρων ριζών και στις αντιοξειδωτικές άμυνες του οργανισμού. Στην περίπτωση αυτή, οι ελεύθερες ρίζες υπερισχύουν και μπορεί να προκαλέσουν υπεροξείδωση των λιπιδίων της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, μετουσίωση πρωτεϊνών και καταστροφή του DNA του κυττάρου. Αποτέλεσμα του οξειδωτικού stress, είναι η εκδήλωση διάφορων χρόνιων νοσημάτων,

όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο καρκίνος και οι νόσοι Alzheimer και Parkinson. [18]
Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, έρευνες σε παγκόσμιο επίπεδο και σε διαφορετικούς πληθυσμούς, έχουν δείξει ότι το μεγαλύτερο ποσοστό σε χρόνιες ασθένειες σχετίζεται με τις δραστικές μορφές οξυγόνου (*ROS*), οι οποίες καταστρέφουν πολλά χρήσιμα κύτταρα στο ανθρώπινο σώμα και μειώνουν ή αδρανοποιούν την ικανότητά τους να λειτουργούν σωστά. Έτσι, είναι απαραίτητη η πρόσληψη αντιοξειδωτικών συστατικών μέσω της διατροφής, προκειμένου να αντιμετωπισθεί η δράση των δραστικών μορφών οξυγόνου (*ROS*). [19]



Εικόνα 4.1: Ασθένειες που επάγονται από το οξειδωτικό στρες στον άνθρωπο

4.2. Αντιοξειδωτικά

Η δημιουργία ελευθέρων ριζών καθώς και δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου (*ROS/RNS*) είναι διαδικασία συνεχής και αναπόφευκτη με την πάροδο της ηλικίας. Ο σχηματισμός τους γίνεται τόσο ενδοκυττάρια όσο και εξωκυττάρια, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, προκαλώντας βλάβες σε όλα τα κυτταρικά συστατικά και κυρίως σε σημαντικά βιομόρια. Έτσι λοιπόν, όλοι οι οργανισμοί προκειμένου να

προστατευτούν από αυτή την διαδικασία ανέπτυξαν αμυντικούς μηχανισμούς ενζυμικούς ή όχι. (αντιοξειδωτικές ουσίες).

Ως αντιοξειδωτικά ορίζονται οι ουσίες οι οποίες μπορούν να παρεμποδίσουν το σχηματισμό ή τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών προστατεύοντας τον οργανισμό από την επιβλαβή τους δράση. [20]

Οι κύριες λειτουργίες των αντιοξειδωτικών είναι:

- Απομάκρυνση του οξυγόνου.
- Απομάκρυνση ιόντων με καταλυτικές αντιδράσεις.
- Απομάκρυνση των ενδιάμεσων μιας οξειδωτικής διαδικασίας.
- Δέσμευση των αρχικών ελευθέρων ριζών.
- Τερματισμός των αλυσιδωτών αντιδράσεων.

Τα αντιοξειδωτικά, έχουν μελετηθεί εκτενώς στην επίδραση της καταπολέμησης χρόνιων και εκφυλιστικών νοσημάτων όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις και η γήρανση ενώ πλήθος επιδημιολογικών μελετών έχει αποδείξει την ύπαρξη μιας αντίστροφης συσχέτισης ανάμεσα σε διατροφές πλούσιες σε φρούτα και σε λαχανικά και στις παραπάνω ασθένειες. Εκτός από τις ευεργετικές τους δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες που χρησιμοποιούνται ευρύτατα για την συντήρηση των τροφίμων, προστατεύοντας τα από την φθορά, την τάγγιση ή τον αποχρωματισμό που μπορεί να λάβει χώρα κατά την οξείδωση. [21] Για να χρησιμοποιηθεί μια ουσία ως αντιοξειδωτικό σε τρόφιμα πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες:

- Να είναι αποτελεσματική σε πολύ μικρή συγκέντρωση.
- Να μην έχει καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.
- Να μην προσδίδει στο τρόφιμο δυσάρεστη γεύση και οσμή.

- Να είναι έστω και ελάχιστα λιποδιαλυτή.
- Να είναι όσο γίνεται σταθερή στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου. [21]

4.3. Αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινόλων

Οι πολυφαινόλες αποτελούν την κύρια κατηγορία αντιοξειδωτικών ουσιών, οι οποίες λαμβάνονται με τη διατροφή. Οι ενώσεις αυτές, παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην πρόληψη παθολογικών καταστάσεων όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα και ο καρκίνος, γεγονός που οφείλεται στην ικανότητα τους να δρουν ως «δεσμευτές» ελευθέρων ριζών. Ο μηχανισμός δέσμευσης των ελευθέρων ριζών από τις πολυφαινόλες πραγματοποιείται με δύο τρόπους, πιο συγκεκριμένα μέσω μιας άμεσης διαδικασίας μεταφοράς υδρογόνου και μέσω μιας συζευγμένης μεταφοράς πρωτονίου και ηλεκτρονίου.

1. $R^\bullet + PPH \rightarrow RH + PP^\bullet$
2. $R^\bullet + PPH \rightarrow R^- + PPH^+ \rightarrow RH + PP^\bullet$

Όπου, PPH = πολυφαινόλες

$R^\bullet$ = δραστική ελεύθερη ρίζα [πχ.υπεροξειδικό ανιόν ($O_2^\bullet$), υδροξυλική ρίζα ($HO^\bullet$)]

$PP^\bullet$ = φαινοξυ-ρίζα, ελεύθερη ρίζα πολυφαινόλης

4.4. Αντιοξειδωτική δράση της μπύρας

Η μπύρα αποτελεί ένα φυσικό ποτό με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ και αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική ικανότητα. Τα περισσότερα αντιοξειδωτικά της προέρχονται κυρίως από τα δύο φυσικά συστατικά που χρησιμοποιούνται στη

ζυθοποιία, το κριθάρι (βύνη) και το λυκίσκο, σε αναλογία περίπου 70-80% από το κριθάρι και 20-30% από τον λυκίσκο. Η αντιοξειδωτική ισχύς της μύρας εξαρτάται από το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο αυτών των δύο συστατικών και από μια σειρά παραμέτρων που εμπλέκονται στη ζυθοποίηση, όπως η ποικιλία του κριθαριού που θα χρησιμοποιηθεί, η διαδικασία παραγωγής της βύνης, η θερμοκρασία και το pH κατά την άλεση και το βρασμό, όπως επίσης και από την ποικιλία του λυκίσκου που προστίθενται κατά το βρασμό του ζυθογλεύκους και τη ζύμωση της ζύμης. [22]

Οι κύριες αντιοξειδωτικές ενώσεις στην μύρα είναι οι φαινολικές ενώσεις και τα προϊόντα των αντιδράσεων Maillard. Επιπλέον, υπάρχουν κάποια πρόσθετα, όπως η βιταμίνη C, η οποία ενσωματώνεται εξωγενώς στην μύρα κατά την παρασκευή της και συνεισφέρει στην αντιοξειδωτική της ικανότητα. Οι κοινές πολυφαινόλες της μύρας περιλαμβάνουν τις φλαβονόλες, τα φαινολικά οξέα, τις κατεχίνες, τις προκυανιδίνες, τις τανίνες και τις χαλκόνες. Οι περισσότερες από τις πολυφαινόλες της μύρας προέρχονται από το κριθάρι και περιλαμβάνουν τα φαινολικά οξέα που προέρχονται από την τυροσίνη και την τυραμίνη, τους εστέρες και τους γλυκοζίτες τους, τις ανθοκυανίνες, τις προανθοκυανιδίνες, τις λιγνάνες και τις ουσίες που σχετίζονται με την λιγνίνη. Ωστόσο, ένα μικρό ποσοστό των πολυφαινολών της μύρας προέρχεται από το λυκίσκο ανάλογα με την ποικιλία, τη γεωγραφική προέλευση, τη φρεσκάδα, τη διαδικασία συγκομιδής του και τον τρόπο με τον οποίο ο κώνος λυκίσκου είναι συσκευασμένος. Παράλληλα, οι ενώσεις Maillard προέρχονται από την θερμική επεξεργασία της βύνης και από τις διαδικασίες εκχύλισης και βρασμού. Αυτές οι ενώσεις, και ιδιαίτερα οι μελανοϊδίνες, επηρεάζουν το χρώμα, το άρωμα και τη γεύση που χαρακτηρίζει ορισμένους ειδικούς τύπους μύρας ενώ επιπλέον επηρεάζουν την αντιοξειδωτική της ικανότητα.

Ποικίλες μελέτες έχουν αποδείξει, ότι τα αντιοξειδωτικά της μύρας, έχουν την ικανότητα να «δεσμεύουν» τις ελεύθερες ρίζες και να περιορίζουν την οξειδωτική βλάβη του DNA. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί, ότι η μύρα έχει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από το λευκό κρασί, αλλά μικρότερη από το κόκκινο κρασί ενώ μπορεί να

συγκριθεί με αυτή του χυμού φρούτων. Το χρώμα των μπυρών χρησιμεύει ως δείκτης της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας καθώς, οι πιο σκουρόχρωμες, αυτές με ζωηρό χρώμα και οι κόκκινες μπύρες περιέχουν το υψηλότερο ποσοστό αντιοξειδωτικών. Τέλος, πλήθος μελετών έδειξε, ότι οι ale μπύρες περιέχουν περισσότερα αντιοξειδωτικά από τις lager και τις μπύρες χωρίς αλκοόλ ενώ τα αντιοξειδωτικά της μπύρας χωρίς αλκοόλ είναι πολύ λιγότερα από αυτά της lager. [23]

4.5. Ευεργετικές επιδράσεις της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ-μπύρας στην υγεία.

Η μπύρα αποτελεί ένα ποτό με σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ που περιέχει πολύτιμες βιταμίνες και αντιοξειδωτικά που προέρχονται από τις πρώτες ύλες της. Πλήθος ερευνών, έχει δείξει ότι η μέτρια κατανάλωση μπύρας έχει ευεργετικά αποτελέσματα σε πολλές πτυχές της υγείας των ανθρώπων και παίζει σημαντικό ρόλο στην ποιότητα της ζωής τους. Οι σχέσεις δόσης-αποτελέσματος, δηλαδή η σχέση μεταξύ της ποσότητας προσλαμβανόμενου αλκοόλ και της εμφάνισης νοσημάτων ή θνησιμότητας, φαίνεται να σχηματίζουν καμπύλη σχήματος U- ή J-. Έτσι, όταν η κατανάλωση αλκοόλ είναι πολύ μικρή ή πολύ μεγάλη, δεν υπάρχουν οφέλη και αυξάνονται οι πιθανότητες βλαβών ή εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων, ενώ η μέτρια κατανάλωση μπύρας επιδρά ευεργετικά σε ποικίλους τομείς όπως:

Καρδιαγγειακά νοσήματα

Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ μειώνει τον κίνδυνο υπέρτασης, μεταβολικού συνδρόμου και στεφανιαίας νόσου, τα οποία σχετίζονται με την εμφάνιση κάποιας καρδιαγγειακής ασθένειας. Έχει υποστηριχτεί, ότι η δράση της αιθανόλης στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι η πιο σημαντική λόγω της συνεχώς αυξανόμενης συχνότητας εμφάνισης καρδιαγγειακών ασθενειών. Η μπύρα συγκεκριμένα δρα ευεργετικά μέσω της αύξησης της HDL, της ελάττωσης της συσσώρευσης της χοληστερόλης στα αγγεία, της μείωσης

της τάσης των αιμοπεταλίων να συσσωματώνονται σε θρόμβους και της αύξησης του ινωδογόνου. [24]

Επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα

Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ έχει αποδειχθεί, ότι οδηγεί στην αύξηση των επιπέδων της HDL χοληστερόλης στο αίμα, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την αύξησή τους με την κατανάλωση ενός ποτηριού μύρας. Παράλληλα, τα υψηλά επίπεδα της "καλής χοληστερόλης" σχετίζονται με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. [25]

Θρόμβωση

Το αλκοόλ, σύμφωνα με πλήθος μελετών, συμβάλλει αποτελεσματικά στην αραιώση του αίματος και στην μείωση της τάσης σχηματισμού θρόμβων. Πιο συγκεκριμένα, η μέτρια κατανάλωση μύρας, συνδέεται με ευνοϊκές αλλαγές στο λιπιδαιμικό προφίλ του αίματος. [26]

Ινσουλινοαντίσταση - Σακχαρώδης Διαβήτης

Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της ινσουλινοαντίστασης και να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη. Η αντίσταση στην ινσουλίνη συνδέεται επίσης με καρδιαγγειακές παθήσεις, γεγονός το οποίο συνδέει τη μέτρια κατανάλωση αλκοόλ με τον μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου. [27]

Έλκος

Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ έχει αποδειχθεί ότι έχει μία αντίστροφη σχέση με το ελικοβακτήριο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*), γεγονός που υποδηλώνει ότι η κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να διευκολύνει την εξάλειψη της χρόνιας αυτής λοίμωξης. [28]

Αίσθημα ευεξίας 'well-being'

Έχει αποδειχθεί ότι σε μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, ο καταναλωτής αποκτά το «αίσθημα well-being», δηλαδή μειώνεται το άγχος του και αυξάνεται η αυτοπεποίθηση του. [29]

Εγκεφαλικές ασθένειες (Εγκεφαλικό, Άνοια, Νόσος Parkinson)

Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ στην μέση ηλικία, έχει παρατηρηθεί ότι οδηγεί σε καλύτερη γνωσιακή λειτουργία στην μετέπειτα ζωή. Η περιεκτικότητα της μπύρας σε κάλιο, μαγνήσιο και φυτικές ίνες επιδρά ευεργετικά στον εγκέφαλο, μειώνοντας τον κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου λόγω των επιδράσεων της στην αρτηριακή πίεση και στην ενδοθηλιακή λειτουργία. [24]

5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5.1. Περιγραφή των δειγμάτων μύρας

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία εξετάστηκαν τριάντα (30) δείγματα μύρας που προέρχονται από ελληνικές μικροζυθοποιίες από ποικίλες περιοχές της Ελλάδας όπως Χίος, Ρόδος, Σαντορίνη, Κέρκυρα, Τήνος, Θεσσαλία, Φθιώτιδα και Εύβοια. Οι μύρες που εξετάστηκαν είναι 11 ale, 10 lager, 5 pilsner, 2 porter, 1 weiss και 1 κρασί από κριθάρι, οι οποίες ήταν εμφιαλωμένες σε γυάλινες ή PET φιάλες και η περιεκτικότητά τους σε αλκοόλ κυμάνθηκε μεταξύ 4,5 και 7,5%.

5.2. Επεξεργασία των δειγμάτων μύρας

Αρχικά, 100 mL δείγματος μύρας τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων Elmasonic S 60, ώστε να απομακρυνθεί το διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Στην συνέχεια τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ειδικό περιστροφικό εξατμιστήρα (Rotary Evaporator) για την απομάκρυνση της αλκοόλης (αιθανόλης), με ταυτόχρονο έλεγχο του έντονου αφρισμού. Στο τέλος αυτής της κατεργασίας τα δείγματα είχαν συμπυκνωθεί περίπου στο μισό του αρχικού τους όγκου. Έπειτα, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένα πλαστικά δοχεία, καταψύχθηκαν σε βαθιά ψύξη στους -80°C και στην συνέχεια λυοφιλιώθηκαν. Μετά το πέρας της λυοφιλίωσης, τα δείγματα ζυγίστηκαν ξανά.

Λυοφιλίωση (*freeze drying*)

Υλικά-Όργανα

- Συσκευή λυοφιλίωσης HetoLyolab 3000 (Heto-Hiltten, Allerød, Denmark)
- Ζυγός ακριβείας
- Δείγματα μύρας

Αναλυτική πορεία

Η λυοφιλίωση είναι μία μέθοδος αφυδάτωσης των τροφίμων σε ήπιες συνθήκες, που ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο καταστροφής των ευαίσθητων συστατικών του δείγματος. Αποτελεί μία μέθοδο ξήρανσης, κατά την οποία το υπό ξήρανση δείγμα παγώνει και το νερό, το οποίο βρίσκεται σε μορφή πάγου, απομακρύνεται, αρχικά με εξάχνωση και στη συνέχεια με εκρόφηση.

Η λυοφιλίωση, πλεονεκτεί των υπολοίπων μεθόδων αφυδάτωσης καθώς παρέχει τη δυνατότητα αφυδάτωσης χωρίς τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών και αύξησης της διάρκειας ζωής των τροφίμων, με την προϋπόθεση ότι τα αφυδατωμένα προϊόντα αποθηκεύονται σε σφραγισμένη συσκευασία προστατευμένα από την υγρασία, το φως και το οξυγόνο. Παράλληλα, συμβάλλει στη συντήρηση των χαρακτηριστικών της δομής και της εμφάνισης των προϊόντων, αφού η συρρίκνωση που λαμβάνει χώρα είναι αμελητέα και τέλος στη διατήρηση των πτητικών αρωματικών και θρεπτικών τους συστατικών. Τέλος, η απομάκρυνση του πάγου με εξάχνωση δημιουργεί μόνο μικρούς πόρους στο προϊόν με αποτέλεσμα, η επανυδάτωση του να γίνεται εύκολα και σε μικρό χρόνο.

Η μέθοδος της ξήρανσης των τροφίμων με λυοφιλίωση, συνίσταται στην κατάψυξη του υπό ξήρανση υλικού και κατόπιν εξάχνωση του σχηματισθέντος πάγου μέσα στο κατεψυγμένο υλικό, ώστε να προκύψει το αφυδατωμένο προϊόν. Η κλίση της τάσης των ατμών που είναι απαραίτητη για την εξάχνωση, επιτυγχάνεται με την διατήρηση ορισμένης ολικής πίεσης στον θάλαμο της ξήρανσης. Οι δημιουργούμενοι υδρατμοί απάγονται με ένα σύστημα συμπύκνωσης (ψυχρή παγίδα). Η πίεση του θαλάμου ξήρανσης που εφαρμόστηκε, ήταν μικρότερη του 1 mbar και η θερμοκρασία στην ψυχρή παγίδα -50°C. Η όλη διαδικασία διήρκεσε 72 ώρες. Με την διαδικασία αυτή υπολογίζεται το % περιεχόμενο νερό των δειγμάτων καθώς και το σύνολο των στερεών.

Πίνακας 5.1 : Δείγματα μπύρας που εξετάστηκαν

No.	Ζύμωση	Τύπος	Διήθηση	Παστερίωση	Αλκοόλη (%v/v)	Ξηρό υπόλειμμα (%w/v)	Άλλες λεπτομέρειες
1	Αφροζύμωτη	Ale	Όχι	Όχι	4.9	6.22	
2	Αφροζύμωτη	Ale	Ναι	M/Δ	5.0	5.58	Μέλι,εσπεριδοειδή,σιτάρι
3	Αφροζύμωτη	Ale	M/Δ	M/Δ	5.3	5.56	Σκουρόχρωμη
4	Αφροζύμωτη	Ale	Ναι	Όχι	6.5	4.45	Μέλι
5	Αφροζύμωτη	Ale	M/Δ	M/Δ	4.5	5.04	
6	Αφροζύμωτη	Ale	Όχι	Όχι	6.5	4.75	Ανοιχτόχρωμη Indian ale
7	Αφροζύμωτη	Ale	M/Δ	M/Δ	5.3	2.95	Σκουρόχρωμη
8	Αφροζύμωτη	Ale	M/Δ	M/Δ	6.0	5.10	
9	Αφροζύμωτη	Ale	Ναι	Όχι	7.0	6.23	
10	Αφροζύμωτη	Ale	Όχι	Όχι	5.5	6.13	
11	Αφροζύμωτη	Ale	Όχι	Όχι	5.4	7.45	Σιτηρά
12	Βυθοζύμωτη	Lager	M/Δ	M/Δ	5.0	2.69	
13	Βυθοζύμωτη	Lager	Ναι	Όχι	4.9	3.31	
14	Βυθοζύμωτη	Lager	Όχι	M/Δ	6.3	4.85	
15	Βυθοζύμωτη	Lager	Ναι	M/Δ	5.0	5.04	Σκουρόχρωμη,μέλι,σιτάρι
16	Βυθοζύμωτη	Lager	N/A	N/A	5.0	3.83	
17	Βυθοζύμωτη	Lager	No	No	5.0	5.12	Σκουρόχρωμη
18	Βυθοζύμωτη	Lager	N/A	N/A	5.0	3.95	
19	Βυθοζύμωτη	Lager	N/A	N/A	4.8	3.47	Σκουρόχρωμη
20	Βυθοζύμωτη	Lager	N/A	N/A	5.0	3.35	Σιτηρά
21	Βυθοζύμωτη	Lager	M/Δ	M/Δ	4.5	3.04	
22	Βυθοζύμωτη	Pilsner	M/Δ	M/Δ	5.2	2.60	
23	Βυθοζύμωτη	Pilsner	Ναι	Όχι	5.0	4.14	
24	Βυθοζύμωτη	Pilsner	Όχι	Όχι	5.0	3.19	
25	Βυθοζύμωτη	Pilsner	Ναι	Όχι	5.0	4.30	
26	Βυθοζύμωτη	Pilsner	Ναι	Όχι	5.0	4.33	
27	Αφροζύμωτη	Porter	Όχι	Όχι	6.2	6.55	Καπνιστή,σκουρόχρωμη
28	Αφροζύμωτη	Porter	Ναι	Όχι	5.5	4.56	Σκουρόχρωμη
29	Αφροζύμωτη	Weiss	Όχι	M/Δ	5.4	3.20	Σιτάρι
30	Αφροζύμωτη	Barley wine	M/Δ	M/Δ	7.5	6.18	Μέλι

M/Δ : Μη Διαθέσιμο

Συντήρηση των δειγμάτων μύρας

Τα λυοφιλωμένα δείγματα μυρών μεταφέρθηκαν σε σωλήνες Falcon, σφραγίστηκαν με parafilm και φυλάχθηκαν σε βαθιά ψύξη στους -40°C μέχρι να αναλυθούν. Παράλληλα φυλάχθηκαν σε ψύξη στους 4°C , υγρά δείγματα μυρών μετά την απομάκρυνση του CO_2 .

Εικόνα 5.1: Αναδιαλυμένα δείγματα αφυδατωμένων μυρών προς ανάλυση.



6. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ-ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

6.1. Προσδιορισμός πολυφαινολών

6.1.1. Εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE)

Η αρχή της SPE περιλαμβάνει την κατανομή των εκχυλιζόμενων συστατικών ανάμεσα σε 2 φάσεις : τη στερεή φάση, η οποία αποτελεί το προσροφητικό υλικό και την υγρή που αποτελεί το δείγμα με όλες τις παρεμποδίζουσες ουσίες. Οι προσδιοριζόμενες ενώσεις πρέπει να εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια με τις ομάδες της στερεάς φάσης προκειμένου να πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός τους.

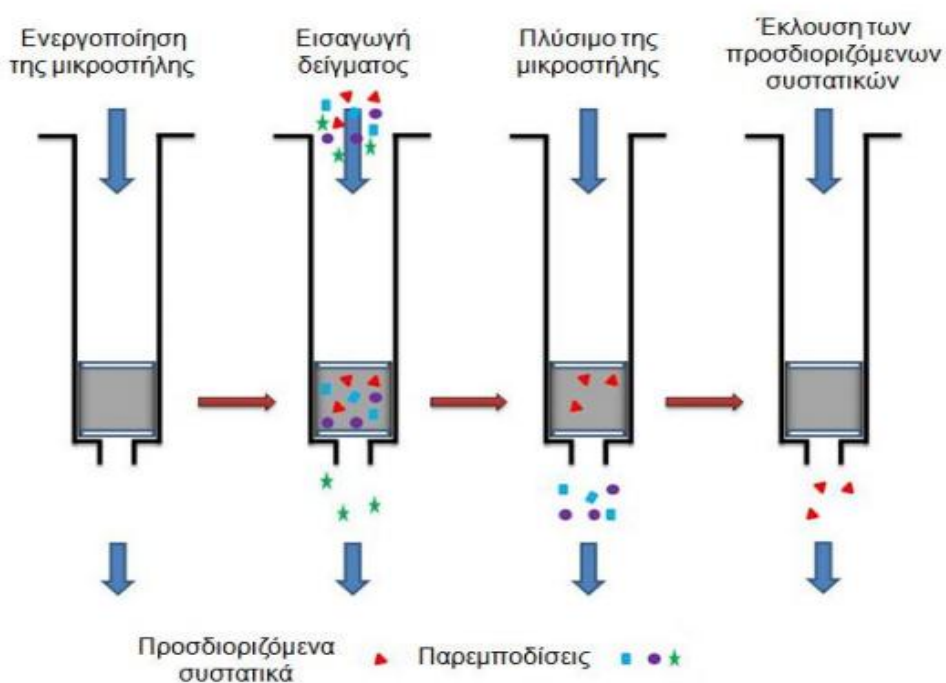
Κατά την εκχύλιση στερεάς φάσης, η παραλαβή των ενώσεων από το στερεό υπόστρωμα γίνεται με την επιλογή κατάλληλων διαλυτών. Παράλληλα, οι διαμοριακές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ των προσδιοριζόμενων συστατικών, των ενεργών ομάδων στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού και της υγρής φάσης του υποστρώματος του δείγματος ή του διαλύτη, είναι υπεύθυνες για τους διάφορους μηχανισμούς συγκράτησης και έκλουσης των ενώσεων.

Η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) αποτελείται από τα εξής τέσσερα στάδια:

1. Ενεργοποίηση του προσροφητικού της μικροστήλης με κατάλληλο διαλύτη.
2. Εισαγωγή του δείγματος στη μικροστήλη, κατά την οποία το διάλυμα του δείγματος εισέρχεται στο προσροφητικό υλικό το οποίο συγκρατεί τόσο τα προς προσδιορισμό συστατικά, όσο και τις ανεπιθύμητες παρεμποδίζουσες ουσίες.

3. Έκπλυση των μικροστηλών, με σκοπό την απομάκρυνση των ανεπιθύμητων συστατικών του υποστρώματος του δείγματος που έχουν συγκρατηθεί πάνω στη μικροστήλη.

4. Έκλουση των συστατικών που ενδιαφέρει ο προσδιορισμός τους, χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο διαλύτη. [30]



Εικόνα 6.1: Στάδια εκχύλισης στερεάς φάσης

Πηγή εικόνας : <http://www.intechopen.com/books/chromatography-the-most-versatile-method-of-chemical-analysis/current-trends-in-sample-treatment-techniques-for-environmental-and-food-analysis> (Φεβρουάριος 2014)

Υλικά και Αντιδραστήρια

- Στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE): Isolute C8 (EC), 500mg, 3mL

- Οξικός αιθυλεστέρας (EtOAc)
- Μεθανόλη (MeOH) αναλυτικής καθαρότητας
- Απιονισμένο νερό
- Λυοφιλωμένα δείγματα μπουρών

Όργανα

- Συσκευή πολλών θέσεων SPE
- Αναδευτήρας Vortex
- Φυγοκεντρικός εξατμιστής κενού (speed vacuum, LABCONCO), "speed vac"

Πειραματική Πορεία

Προετοιμασία του δείγματος:

-Το λυοφιλωμένο δείγμα μύρας αποψύχεται από τους - 40 °C και γίνεται ανασύσταση 1 ml μύρας με απεσταγμένο νερό βάσει της υπολογισθείσας από την λυοφιλίωση περιεκτικότητας στερεών (mg/mL)

Προετοιμασία της στήλης:

- Η στήλη C8 τοποθετείται στη συσκευή SPE

-Γίνεται καθαρισμός και ενεργοποίηση της στήλης με τη χρήση οργανικών διαλυτών (3mL EtOAc και 3mL MeOH) οι οποίοι απομακρύνονται με εφαρμογή ελαττωμένης πίεσης.

-Ακολουθεί εξισορρόπηση της στήλης με υπερκαθαρό (HPLC grade) απιονισμένο νερό (5mL), αφού το δείγμα που τοποθετούμε στη συνέχεια στη στήλη είναι διαλυμένο σε νερό. Το νερό απομακρύνεται με εφαρμογή ελαττωμένης πίεσης και η στήλη είναι έτοιμη για χρήση όταν το νερό φθάσει οριακά στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού καθώς δεν αφήνουμε τη στήλη να στεγνώσει.

Ανάλυση δείγματος:

1. Το αναδιαλυμένο δείγμα (0.5mL) τοποθετείται στη στήλη με πιπέτα ακριβείας, αφού πρώτα γίνει αραιώση 1:1 με απεσταγμένο νερό.
2. Αφήνεται να διέλθει εξ ολοκλήρου από τη στήλη με τη βαρύτητα.
3. Εφαρμόζεται στη συσκευή ελαττωμένη πίεση μέσω αντλίας κενού ώστε να στεγνώσει η στήλη και να απομακρυνθούν όλα τα μη προσροφημένα συστατικά, τα οποία συλλέγονται σε γυάλινους σωλήνες και απορρίπτονται.
4. Τοποθετείται νέος σωλήνας συλλογής και προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας (3mL) προκειμένου να παραληφθούν τα πολυφαινολικά συστατικά.
5. Η διέλευση του οξικού αιθυλεστέρα από τη στήλη γίνεται αρχικά με την επίδραση της βαρύτητας και στη συνέχεια με εφαρμογή ελαττωμένης πίεσης (αντλία κενού).
6. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη που περιέχει τα φαινολικά συστατικά σε speed vac και αναδιάλυση σε μεθανόλη (0.5mL).

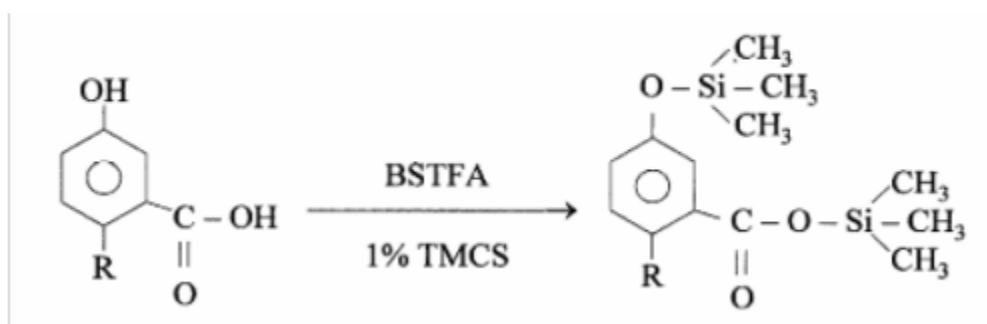


Εικόνα 6.2 : Συσκευή πολλών θέσεων SPE

Προετοιμασία των δειγμάτων για προσδιορισμό απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία-φασματογραφία μάζας (GC-MS)

Αντίδραση σιλυλίωσης

Οι πολυφαινόλες αποτελούν πολικές μη πτητικές ενώσεις, οι οποίες θα παρέμεναν στη στήλη του αέριου χρωματογράφου. Για να μπορέσουν να προσδιορισθούν με την αντίδραση σιλυλίωσης, καθίσταται δυνατή η μετατροπή των πολυφαινολών σε πτητικά τριμεθυλοσιλυλαιθερικά παράγωγα. Η αντίδραση αυτή, περιλαμβάνει τη μετατροπή των $-OH$ σε αιθερομάδες σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



Το αντιδραστήριο σιλυλίωσης είναι το BSTFA, το οποίο χρησιμοποιείται για την παρασκευή πτητικών παραγώγων αλκοολών, αμινών, καρβοξυλικών οξέων, στεροειδών και στερολών. Ο διαλύτης και τα δείγματα που θα χρησιμοποιηθούν στην αντίδραση θα πρέπει να είναι τελείως απαλλαγμένα από υγρασία καθώς τα αντιδραστήρια σιλυλίωσης αντιδρούν με το νερό. Για την αποφυγή παρεμποδίσεων και παραπροϊόντων από την παρουσία υγρασίας και διαλυτών, η παραγωγοποίηση γίνεται στο στερεό υπόλειμμα που προκύπτει μετά την πλήρη απομάκρυνση όλων των διαλυτών κάτω από αδρανές ρεύμα αζώτου ή με χρήση SpeedVac.

Υλικά- Αντιδραστήρια

- Μεθανολικά εκχυλίσματα των δειγμάτων μπυρών
- Εσωτερικό πρότυπο 3-(4-υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλη (19.2 µg/mL)
- Αντιδραστήριο σilyλίωσης (BSTFA, (bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide, δις-τριμεθυλσιλυλ-τριφθοροακεταμίδιο) σε πυριδίνη

Όργανα

- Φυγοκεντρική συσκευή ξήρανσης κενού Speedvac (CentriVac Concentrator, LABCONCO)
- Φιαλίδια (GC vials)
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ρυθμιζόμενες πιπέτες 100-1000 µL και 10-100 µL
- Υδατόλουτρο
- Πώματα για φιαλίδια GC
- Εργαλείο για τη σφράγιση των vials

Πειραματική πορεία:

1. Αρχικά μεταφέρονται 100µL του μεθανολικού διαλύματος των φαινολικών που παραλήφθηκαν από την εκχύλιση SPE σε κατάλληλα φιαλίδια (vials) για σilyλίωση.
2. Στο κάθε vial προστίθενται 50 µl εσωτερικού προτύπου 3-(4-υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλης (Internal Standard).
3. Στη συνέχεια, τα vials τοποθετούνται στον εξατμιστήρα Speed Vac για εξάτμιση του διαλύτη (MeOH) μέχρι ξηρού.
4. Μετά το πέρας της εξάτμισης, στο δείγμα προστίθενται 250 µL σilyλιωτικού αντιδραστηρίου BSTFA και οι πολυφαινόλες μετατρέπονται στους τριμεθυλσιλυλαιθέρες (TMS) τους.

5. Τέλος, τα φιαλίδια με το μίγμα πολυφαινολών και σιλυλιωτικού αντιδραστηρίου σφραγίζονται και τοποθετούνται σε υδρόλουτρο για 20 λεπτά στους 70 °C, ώστε να ολοκληρωθεί η αντίδραση σιλυλίωσης.
6. Τα δείγματα αναλύονται με GC/ MS.

6.1.2. Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με Αέρια Χρωματογραφία/ Φασματοσκοπία Μάζας (GC/ MS)

Όργανα και αντιδραστήρια

- Vials με σιλυλιωμένα μεθανολικά εκχυλίσματα μπυρών
- Συσκευή αέριας χρωματογραφίας της Agilent (Wallbronn, Germany) HP series 6890 N εφοδιασμένη με ανιχνευτή HP 5973 MS (EI, ηλεκτρονικού ιονισμού 70 eV), εισαγωγέα split-splitless και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7683.

Πειραματική Πορεία

Ο διαχωρισμός των πολυφαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων έγινε με αέρια χρωματογραφία, ενώ η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός τους έγινε με φασματογράφο μάζας με την τεχνική της εκλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (SIM Selective Ion Monitoring). Οι συνθήκες της αέριας χρωματογραφίας ήταν οι εξής:

- Η θερμοκρασία του εισαγωγέα τέθηκε στους 250°C
- Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς του δείγματος από την αεριοχρωματογραφική στήλη στον ανιχνευτή MSD (MSD transfer line) τέθηκε στους 300°C
- Ο όγκος εισαγωγής του δείγματος ήταν 1 μL

- Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε υψηλής καθαρότητας (99.999%) He με ροή 0.6 mL/min
- Η αναλογία αραίωσης του δείγματος με το φέρον αέριο (split ratio) ήταν 20 / 1
- Η αεριοχρωματογραφική στήλη που χρησιμοποιήθηκε για τον διαχωρισμό ήταν η τριχοειδής στήλη HP-5 MS με επικάλυψη 5% phenyl–95% methyl siloxane, μήκους 30 m, με εσωτερική διάμετρο 0,25 mm και πάχος εσωτερικής επίστρωσης 0.25 μm
- Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου του αεριοχρωματογράφου το οποίο εφαρμόστηκε για το διαχωρισμό ήταν : αρχικά 70°C για 5 min, 70 – 130°C με ρυθμό ανόδου 15°C/min, 130 – 160°C με ρυθμό ανόδου 4°C/min και παραμονή για 15 min, άνοδος από 160 – 300°C με ρυθμό 10°C/min και παραμονή στην τελική θερμοκρασία για 15 min.

Η ανίχνευση των φαινολικών συστατικών βασίστηκε στην παρουσία στο δείγμα τριών χαρακτηριστικών ιόντων για κάθε συστατικό, σε χρόνο κατακράτησης (RT) $\pm$ 0.05 min του αναμενόμενου χρόνου κατακράτησης των συστατικών από πρότυπα διαλύματα.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου, το οποίο, στην προκειμένη περίπτωση είναι η 3-(4-υδροξυ-φαινυλο)-1-προπανόλη και ένωση αυτή δεν περιέχεται στα υπό ανάλυση δείγματα, ενώ η κορυφή της είναι ευδιάκριτη και ικανή να διαχωρίζεται από τα άλλα συστατικά. Ο προσδιορισμός αυτός, βασίζεται σε ένα από τα τρία ιόντα, το οποίο ορίζεται ως ιόν στόχος (target), ενώ η παρουσία του συστατικού επιβεβαιώνεται από τους λόγους της έντασης απόκρισης των άλλων 2 ιόντων (qualifiers) προς την ένταση απόκρισης του ιόντος στόχου στο δείγμα. Μια σειρά προτύπων διαλυμάτων – μιγμάτων των συστατικών που προσδιορίζονται – οδήγησε στην κατασκευή μιας καμπύλης αναφοράς για κάθε συστατικό. Οι ποσοτικοί υπολογισμοί για τα φαινολικά συστατικά που εξετάστηκαν βασίστηκαν στα ιόντα στόχους (target ions), ενώ χρησιμοποιήθηκαν και 1-2 ιόντα επιβεβαίωσης (qualifier ions), των οποίων η αναλογία σημάτων επιβεβαιώνει ή

απορρίπτει την υπόθεση ταυτοποίησης του κάθε συστατικού. (Πίνακας 6.1) Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε μg συστατικών / L μύρας.



Εικόνα 6.3 : Συσκευή αέριας χρωματογραφίας

Πίνακας 6.1: Ιόντα στόχοι και ιόντα επιβεβαίωσης για τους τριμεθυλοσιλυλαιθέρες (TMS) απλών πολυφαινολών

Φαινόλες	Ιόν στόχος (m/z)	Ιόντα επιβεβαίωσης (m/z ⁺)
Παρα-υδρόξυ-βενζοϊκό οξύ	267	223,193
Ομοβανιλική αλκοόλη	326	267,311
Παρα-υδρόξυ-φαινυλοξικό	252	296,281
Πρωτοκατεχικό οξύ	193	355,370
Συρρινγγικό οξύ	327	342,312
Βανιλικό οξύ	297	267,312
Τυροσόλη	179	267,282
Βανιλίνη	194	209
Κινναμωμικό οξύ	205	220
Καφεϊκό οξύ	396	219,381
Παρα-κουμαρικό οξύ	308	293,219
Φερουλικό οξύ	338	323,308
Φλορετικό οξύ	192	310
Σιναπικό οξύ	368	353,338
Ρεσβερατρόλη	444	445,443
Χρυσίνη	383	355,474
Επικατεχίνη	368	355,474
Ναριγκενίνη	473	296
Κατεχίνη	368	355,474
Καμφερόλη	559	560
Κερκετίνη	647	559,575

6.2. Προσδιορισμός Ιχνοστοιχείων

Αρχικά, το διοξείδιο του άνθρακα απομακρύνθηκε από τα δείγματα της μύρας μέσω υπερήχων και διαβίβασης αερίου N₂. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των ιχνοστοιχείων των δειγμάτων με φασματομετρία επαγωγικά

συζευγμένου πλάσματος με ανιχνευτή φασματογράφο μάζας (ICP-MS, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) αφού πρώτα προηγήθηκε υγρή χώνευση των δειγμάτων.

6.2.1. Υγρή Χώνευση δειγμάτων μύρας

Η υγρή χώνευση πραγματοποιείται με οξέα ή μίγματα οξέων και οξειδωτικών αντιδραστηρίων σε έντονες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης. Το οξύ, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την υγρή χώνευση των δειγμάτων μύρας είναι το νιτρικό οξύ (HNO_3).

Υλικά-Όργανα

- Θερμαντική πλάκα
- Οβίδες από καθαρό τεφλόν
- Υάλινα σιφώνια των 20 mL
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 10 ml
- Ποτήρι ζέσεως
- Πλαστικά σταγονόμετρα
- Ογκομετρικές φιάλες 25 mL
- Σταγονομετρικά φιαλίδια
- HNO_3 65% (Merck, Darmstadt, Germany)
- H_2O_2 30% (Merck, Darmstadt, Germany)
- Απιονισμένο νερό 18.2 MΩ cm (Millipore, Bedford, MA, USA)
- Δείγματα μύρας

Πειραματική Πορεία

-Τα υλικά και τα σκεύη που χρησιμοποιούνται κατά τον προσδιορισμό καθαρίζονται διεξοδικά (παραμονή για 48 h) με νιτρικό οξύ (HNO_3) 2N και στη συνέχεια εκπλένονται επανειλημμένως με απιονισμένο νερό 18.2 MΩ cm.

-Τα δοχεία Teflon, γεμίζονται με πυκνό νιτρικό οξύ (HNO_3) και αφήνονται για 1 νύχτα επί της θερμαντικής πλάκας σε θερμοκρασία $\sim 80^\circ\text{C}$, ώστε να εξασφαλίζεται διαρκής αναρροή στο εσωτερικό τους, προκειμένου να καθαριστούν μεταξύ διαδοχικών χωνεύσεων. Έπειτα εκπλένονται διεξοδικά με απιονισμένο νερό 18.2 MΩ cm.

- Αρχικά με υάλινο σιφώνιο των 20 mL παραλαμβάνονται 20 mL δείγματος μπύρας και τοποθετούνται σε δοχείο Teflon.
- Το δοχείο τοποθετείται στην πλάκα και το περιεχόμενό του εξατμίζεται μέχρι όγκου περίπου 1 mL.
- Στη συνέχεια, στο δοχείο προστίθενται 5 mL πυκνού νιτρικού οξέος HNO_3 65% και ακολουθεί παραμονή για ~ 10 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- Τα δοχεία τοποθετούνται και πάλι στη θερμαντική πλάκα και ακολουθεί εξάτμιση του περιεχομένου τους μέχρι όγκου περίπου 1 mL.
- Ακολουθεί σταδιακή προσθήκη υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2 30%) και εξάτμιση μέχρι πλήρους καύσης της οργανικής ύλης και αποχρωματισμού του δείγματος.
- Τα δείγματα εξατμίζονται σχεδόν μέχρι ξηρού.
- Τέλος, το δείγμα αραιώνεται σε τελικό όγκο 10 mL με απιονισμένο νερό και αποθηκεύεται σε σταγονομετρικά φιαλίδια.



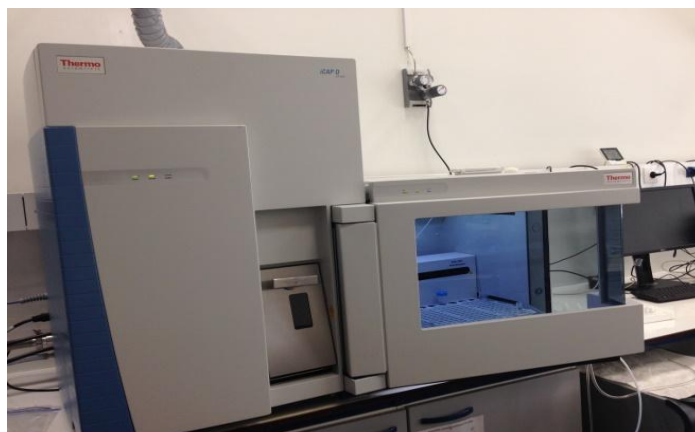
Εικόνα 6.4 : Χώνευση δειγμάτων

6.2.2. Προσδιορισμός ιχνοστοιχείων με Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS)

Ο προσδιορισμός των ιχνοστοιχείων των δειγμάτων ζύθων πραγματοποιήθηκε με Φασματομετρία Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος με ανιχνευτή Φασματογράφο Μάζας (ICP-MS, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) σε όργανο Thermo Scientific ICAPQc (Waltham, MA USA), (Εικόνα 6.5).

Τα δύο κύρια τμήματα ενός οργάνου ICP-MS είναι:

- Η πηγή επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP)
- Το φασματόμετρο μαζών (MS)



Εικόνα 6.5: Συσσκευή ICP-OES, Thermo Scientific ICAPQc (Waltham, MAUSA).

Αναλυτική πορεία

Η φασματομετρία μάζας με πηγή επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP - MS) αποτελεί μια σχετικά νέα τεχνική για τον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων, κυρίως σε διάλυμα. Η τεχνική αυτή εισήχθη στο εμπόριο το 1983 και έχει κερδίσει τη γενική αποδοχή σε πολλούς τύπους εργαστηρίων. [31] Το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα αποτελεί πηγή ιονισμού πολύ υψηλής θερμοκρασίας (5000-10000 K.), για τη παραγωγή θετικά φορτισμένων ιόντων τα οποία στη συνέχεια διαχωρίζονται και ποσοτικοποιούνται μέσω της καταγραφής της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος που αντιστοιχεί στο λόγο μάζας προς φορτίο. Η λειτουργία της τεχνικής ICP-MS γίνεται στα εξής βήματα: α. εισαγωγή του δείγματος (στερεού ή υγρού) στο σύστημα του πλάσματος και ιοντισμός, μέσω ρεύματος αερίου αργού για μεταφορά, β. διαχωρισμός των παραγόμενων ιόντων με βάση το λόγο μάζα/φορτίο σε φασματόμετρο μαζών, γ. μέτρηση της σχετικής έντασης που αντιστοιχεί σε κάθε λόγο m/z σε ηλεκτρονικό πολλαπλασιαστή ανιχνευτή. [32]

Η τεχνική ICP-MS αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες τεχνικές ανίχνευσης και προσδιορισμού στοιχείων, καθώς παρέχει τη δυνατότητα πολυστοιχειακών αναλύσεων, με μεγάλη ευαισθησία, εκλεκτικότητα και ακρίβεια, σε μικρούς χρόνους ανάλυσης. Παράλληλα επιτυγχάνονται χαμηλά όρια ανίχνευσης και η μεγάλη γραμμική αναλυτική

περιοχή αποτελεί βασικό πλεονέκτημα της τεχνικής ICP-MS. Επιπλέον, επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση στοιχείων για ένα ευρύ πεδίο συγκεντρώσεων, κάνοντας εφικτό τον προσδιορισμό συστατικών του ίδιου δείγματος χωρίς αραιώση, με διαφορά συγκέντρωσης μέχρι και 8 τάξεων μεγέθους. Τέλος, παρέχει τη δυνατότητα παρακολούθησης των ισοτόπων των στοιχείων. [33]

Τα απαερωμένα δείγματα μύρας χωνεύτηκαν με υπερκάθαρο πυκνό νιτρικό οξύ (HNO_3 65%) (Merck, Darmstadt, Germany) και μετέπειτα ακολούθησε προσθήκη υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2 30%). [34-37]

Για τον προσδιορισμό των ιχνοστοιχείων As, Ba, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Rb, Sr, V και Zn τα χωνευμένα δείγματα μύρας αναλύθηκαν με το Thermo Scientific ICAP Qc (Waltham, MA USA) μέσω φασματομετρίας μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS).

Προσδιορισμός ιχνοστοιχείων

Οι μετρήσεις των ιχνοστοιχείων As, Ba, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Rb, Sr, V και Zn διεξήχθησαν σε single collision cell mode, με διάκριση κινητικής ενέργειας (KED) χρησιμοποιώντας καθαρό He. Οι επαγόμενες από τη μήτρα παρεμποδίσεις σημάτων διορθώθηκαν με εσωτερικά πρότυπα (^{45}Sc , ^{103}Rh).

Τα όρια ανίχνευσης σε $\mu\text{g/L}$ (limits of detection, LOD) για το κοβάλτιο (Co) και το καίσιο (Cs) ήταν 0.001, για το βάριο (Ba), κάδμιο (Cd), βανάδιο (V), χρώμιο (Cr), χαλκό (Cu), μαγγάνιο (Mn), νικέλιο (Ni), μόλυβδο (Pb), ρουβίδιο (Rb) και το στρόντιο (Sr) ήταν 0.01, για το αρσενικό (As) ήταν 0.02, για τον ψευδάργυρο (Zn) ήταν 0.05 και για τον σίδηρο (Fe) 0.15. [38] Για τους στατιστικούς υπολογισμούς, οι τιμές κάτω από το όριο ανίχνευσης θεωρήθηκαν ίσες με το αντίστοιχο όριο ανίχνευσης διαιρούμενο με το 2.

Η διασφάλιση της ποιότητας της μεθόδου εξασφαλίστηκε με δοκιμές ανάκτησης μέσω της ανάλυσης δειγμάτων στα οποία είχαν προστεθεί γνωστές ποσότητες ιχνοστοιχείων

και η αποτελεσματικότητα της ανάκτησης για την ανάλυση του δείγματος είχε εύρος $\pm$ 25% για όλα τα στοιχεία.

7. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7^ο

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

7.1. Παραλαβή αφυδατωμένης μπύρας

Η παραλαβή του στερεού υπολείμματος πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο της λυοφιλίωσης και η απόδοση σε στερεό υπόλειμμα που υπολογίστηκε παρουσιάζεται στον Πίνακα .

Πίνακας 7.1 : Απόδοση σε στερεό υπόλειμμα (mg/mL)

ΔΕΙΓΜΑ	Ξηρό Υπόλειμμα (mg/mL)
1	65.4
2	62.2
3	26.9
4	26.0
5	33.1
6	48.5
7	32.0
8	55.8
9	50.4
10	55.6
11	38.4
12	41.4
13	44.5
14	45.6
15	50.4
16	47.5
17	29.5
18	51.0
19	31.9
20	51.2
21	39.5
22	34.6
23	33.4
24	43.0
25	62.2
26	43.3
27	30.4
28	61.3
29	61.8
30	40.6
Μέση τιμή	44.6
Διάμεση τιμή	43.9
Μέγιστο	65.4
Ελάχιστο	26.0

Από τις τιμές του Πίνακα 7.1 παρατηρούμε ότι η απόδοση σε στερεό υπόλειμμα κυμάνθηκε από 26.0 έως 74.4 mg/mL, με μέσο όρο τα 44.6 mg/mL. Η μπίρα Νο 4 είχε την μικρότερη απόδοση σε στερεό υπόλειμμα (26.0 mg/mL) ενώ η μπίρα Νο 1 την μεγαλύτερη (65.4 mg/mL).

7.2. Προσδιορισμός φαινολών στη μπίρα

Η μπίρα αποτελεί το δημοφιλέστερο αλκοολούχο ποτό ευρείας κατανάλωσης στον κόσμο και διαθέτει φαινολικά συστατικά τα οποία προέρχονται από τη βύνη και το λυκίσκο, τα οποία αποτελούν την κύρια πηγή αντιοξειδωτικών της.

Στις 30 μπίρες της παρούσας εργασίας, προσδιορίστηκε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.3 εκφρασμένα σε $\mu\text{g/L}$ μπίρας. Στα δείγματα, είχε προηγηθεί εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και τα αποτελέσματα της διαδικασίας ανάκτησης από πρότυπα διαλύματα πολυφαινολών, τα οποία υπέστησαν την ίδια επεξεργασία με τα δείγματα μπίρας παρατίθενται στον Πίνακα 7.2.

Όλα τα δείγματα περιείχαν σημαντικές ποσότητες ολικών φαινολών, οι οποίες κυμάνθηκαν από 1535.8 $\mu\text{g/L}$ έως 23583.5 $\mu\text{g/L}$ με μέση τιμή 6861 $\mu\text{g/L}$. Η μπίρα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολών ήταν η μπίρα Νο 27 και αυτή με τη μικρότερη συγκέντρωση ήταν η μπίρα Νο 5.

Οι 21 φαινόλες που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS) κατατάσσονται σε 5 κατηγορίες. Αυτές είναι 1) τα φαινολικά οξέα, στα οποία ανήκουν το παρα-υδρόξυ-βενζοϊκό οξύ, η ομοβανιλική αλκοόλη, το παρα-υδρόξυ-φαινυλοξικό οξύ, το πρωτοκατεχικό οξύ, το συρρινγγικό οξύ και το βανιλικό οξύ

2) οι απλές φαινόλες, στις οποίες ανήκουν η τυροσόλη και η βανιλίνη 3) τα υδροξυκινναμωμικά οξέα, στα οποία ανήκουν το κινναμωμικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το παρα-κουμαρικό οξύ, το φερουλικό οξύ, το φλορετικό οξύ και το σιναπικό οξύ 4) τα στυλβένια στα οποία ανήκει η ρεσβερατρόλη και 5) τα φλαβονοειδή στα οποία ανήκουν η χρυσίνη, η επικατεχίνη, η ναριγκενίνη, η κατεχίνη, η καμφερόλη και η κερκετίνη.

Το άθροισμα των φαινολών (Πίνακας 7.6) που περιέχονται σε κάθε κατηγορία κυμάνθηκε για τα φαινολικά οξέα από 219.09 $\mu\text{g/L}$ έως 1959.15 $\mu\text{g/L}$ και η μέση τιμή ήταν 631.23 $\mu\text{g/L}$, για τις απλές φαινόλες από 455.69 $\mu\text{g/L}$ έως 14796.44 $\mu\text{g/L}$ και η μέση τιμή ήταν 3487.92 $\mu\text{g/L}$, για τα υδροξυκινναμωμικά οξέα από 250.25 $\mu\text{g/L}$ έως 8850.49 $\mu\text{g/L}$ και η μέση τιμή ήταν 1414.34 $\mu\text{g/L}$, για τα στυλβένια από 0.0 έως 130.35 $\mu\text{g/L}$ και η μέση τιμή ήταν 8.69 $\mu\text{g/L}$ και για τα φλαβονοειδή από 172.81 $\mu\text{g/L}$ έως 5685.36 $\mu\text{g/L}$ και η μέση τιμή ήταν 1394.65 $\mu\text{g/L}$.

Έτσι, προκύπτει ότι η κατηγορία φαινολών που κυριαρχεί στα δείγματα της παρούσας μελέτης είναι οι απλές φαινόλες με ποσοστό $\sim 51\%$ του αθροίσματος των φαινολών. Στη συνέχεια, ακολουθούν τα υδροξυκινναμωμικά οξέα με ποσοστό $\sim 21\%$, τα φλαβονοειδή με ποσοστό $\sim 20\%$, τα φαινολικά οξέα με ποσοστό $\sim 9\%$ και τέλος τα στυλβένια με ποσοστό $<1\%$.

Αξιοσημείωτη είναι η συγκέντρωση της τυροσόλης στα δείγματα μπίρας, καθώς η μέση τιμή της ήταν 3465.19 $\mu\text{g/L}$, η οποία αποτελεί το 50.5% του αθροίσματος των φαινολών. Η σημαντικά αυξημένη τιμή της οφείλεται στο γεγονός ότι η μαγιά, η οποία είναι ένα από τα τέσσερα κύρια συστατικά της μπίρας και είναι υπεύθυνη για τη διαδικασία της ζύμωσης, αποτελείται συνήθως από στελέχη του *Saccharomyces Cerevisiae*, τα οποία παράγουν μεγάλες ποσότητες αλκοολών συντήξεως όπως η τυροσόλη. Αυτή η φαινολική ένωση, που βρίσκεται άφθονη στο ελαιόλαδο και είναι γνωστή για τις υψηλές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, μπορεί να αποφέρει σημαντικά οφέλη στην υγεία των ανθρώπων και έχει σημαντικές εφαρμογές στην παρασκευή τροφίμων και ποτών, συμπεριλαμβανομένης της παρασκευής μπίρας, συνεισφέροντας στις γεύσεις και τα αρώματα της. [39]

Στον Πίνακα 7.7 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των κατηγοριών φαινολών για τους διαφόρους τύπους μύρας. Αναλυτικότερα, οι 11 ale μύρες παρουσίασαν τη μεγαλύτερη μέση τιμή στις απλές φαινόλες η οποία ήταν 3246.9 $\mu\text{g/L}$ μύρας, ακολούθησαν τα φλαβονοειδή με μέση τιμή 1241.5 $\mu\text{g/L}$, τα υδροξυκινναμωμικά οξέα με 1178.0 $\mu\text{g/L}$ και τέλος τα φαινολικά οξέα με 584.0 $\mu\text{g/L}$ μύρας. Παράλληλα, οι 10 lager μύρες παρουσίασαν τη μεγαλύτερη μέση τιμή στις απλές φαινόλες η οποία ήταν 2787.6 $\mu\text{g/L}$ μύρας, ακολούθησαν τα υδροξυκινναμωμικά οξέα με μέση τιμή 2019.7 $\mu\text{g/L}$, τα φλαβονοειδή με 1032.3 $\mu\text{g/L}$ και τέλος τα φαινολικά οξέα με 623.7 $\mu\text{g/L}$ μύρας. Τέλος, για τις 5 pilsner μύρες παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μέση τιμή στις απλές φαινόλες η οποία ήταν 3026.0 $\mu\text{g/L}$ μύρας, ακολούθησαν τα φλαβονοειδή με μέση τιμή 1563.9 $\mu\text{g/L}$, τα υδροξυκινναμωμικά οξέα με 1209.0 $\mu\text{g/L}$ και τέλος τα φαινολικά οξέα με 682.2 $\mu\text{g/L}$ μύρας.

Αντίστοιχα, στον Πίνακα 7.7 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των κατηγοριών φαινολών για τους διαφόρους τύπους ζύμωσης. Πιο αναλυτικά, οι 15 αφροζύμωτες μύρες παρουσίασαν τη μεγαλύτερη με διαφορά μέση τιμή στις απλές φαινόλες η οποία ήταν 4099.0 $\mu\text{g/L}$ μύρας, ακολούθησαν τα φλαβονοειδή με μέση τιμή 1579.8 $\mu\text{g/L}$, τα υδροξυκινναμωμικά οξέα με 1079.2 $\mu\text{g/L}$ και τέλος τα φαινολικά οξέα με 619.3 $\mu\text{g/L}$ μύρας. Παράλληλα, οι 15 βυθοζύμωτες μύρες επίσης παρουσίασαν τη μεγαλύτερη μέση τιμή στις απλές φαινόλες η οποία ήταν 2876.9 $\mu\text{g/L}$ μύρας, ακολούθησαν τα υδροξυκινναμωμικά οξέα με μέση τιμή 1749.5 $\mu\text{g/L}$, τα φλαβονοειδή με 1209.5 $\mu\text{g/L}$ και τέλος τα φαινολικά οξέα με 643.2 $\mu\text{g/L}$ μύρας.

Έτσι, προκύπτει ότι η κατηγορία φαινολών που κυριαρχεί σε όλους τους τύπους μύρας και ζύμωσης είναι οι απλές φαινόλες ενώ η κατηγορία φαινολών με τη μικρότερη συγκέντρωση είναι τα φαινολικά οξέα. Ωστόσο, η μέση τιμή των συγκεντρώσεων των υδροξυκινναμωμικών οξέων και των φλαβονοειδών ποικίλλει. Αναλυτικότερα, η μέση τιμή της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων είναι σχεδόν διπλάσια από αυτή των φλαβονοειδών στις lager μύρες, παρόμοια στις ale μύρες και μικρότερη στις pilsner. Επιπλέον, η μέση τιμή της συγκέντρωσης των

υδροξυκινναμωμικών οξέων είναι μικρότερη από αυτή των φλαβονοειδών στις αφροζύμωτες μύρες ενώ είναι μεγαλύτερη στις βυθοζύμωτες μύρες.

Οι μετρούμενες συγκεντρώσεις των υπό εξέταση φαινολών βρίσκονται στο εύρος εκείνων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Πίνακας 7.8).

Η μέση συγκέντρωση ολικών φαινολών στα 30 δείγματα ήταν 6861 $\mu\text{g/L}$ μύρας. Επομένως, με την κατανάλωση μίας φιάλης των 330mL προσλαμβάνονται κατά μέσο όρο $2264.13\mu\text{g} = 2.26\text{ mg}$ φαινολών.

Στην Εικόνα 7.1 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της ανάλυσης ομαδοποίησης, η οποία δείχνει την οργάνωση των δειγμάτων-δεδομένων σε συστάδες (clusters), με βάση κάποιο κριτήριο ομοιότητας των δειγμάτων. Σύμφωνα με αυτή, προκύπτει ότι ορισμένα δείγματα μύρας όπως τα δείγματα με αριθμό 27 και 28 φαίνεται να διαφοροποιούνται με βάση τον τύπο μύρας στον οποίο ανήκουν, καθώς αποτελούν τις μοναδικές Porter μύρες της μελέτης, οι οποίες είναι πολύ σκούρες μύρες και το άρωμα τους περιέχει συνήθως ήπιες μυρωδιές από καβουρδισμένους σπόρους, σοκολάτα και ζαχαρωτά.

Παράλληλα, από μελέτη συσχετίσεων μεταξύ των αποτελεσμάτων φαινολών προέκυψαν στατιστικά σημαντικοί συσχετισμοί Pearson (> 0.7 , $p < 0.001$) για τις περισσότερες φαινόλες (Πίνακας 7.4). Αναλυτικότερα, καλύτερες συσχετίσεις παρατηρήθηκαν ανάμεσα στο παρα-υδρόξυ-βενζοϊκό, το παρα-υδρόξυ-φαινυλοξικό, το βανιλικό, το παρα-κουμαρικό, το φερουλικό, το καφεϊκό και το σιναπικό οξύ και στο παρα-υδρόξυ-φαινυλοξικό με τη χρυσίνη. Επιπλέον, στατιστικά σημαντικοί συσχετισμοί βρέθηκαν ανάμεσα στο φλορετικό οξύ και την κερκετίνη, στο βανιλικό οξύ, το συρινγγικό, το φερουλικό, το καφεϊκό και το σιναπικό οξύ και στο πρωτοκατεχικό οξύ, τη ρεσβερατρόλη και τη χρυσίνη. Επίσης, το συρινγγικό οξύ συσχετίστηκε σημαντικά με το φερουλικό, το καφεϊκό και το σιναπικό οξύ και το παρα-κουμαρικό συσχετίστηκε με το φερουλικό και το σιναπικό οξύ. Τέλος, καλύτερες συσχετίσεις παρατηρήθηκαν ανάμεσα στο φερουλικό, το καφεϊκό και το σιναπικό οξύ, στο καφεϊκό με το σιναπικό οξύ, στη ρεσβερατρόλη με τη χρυσίνη, στην επικατεχίνη με την κατεχίνη και στην καμφερόλη με την κερκετίνη.

Η σύνθεση και τα επίπεδα των φαινολικών ενώσεων της μύρας ποικίλουν έντονα και τα ποσά των πολυφαινολών που μετρούνται αντιπροσωπεύουν τις ελεύθερες ενώσεις, αν και οι περισσότερες από τις ενώσεις που εμφανίζονται, βρίσκονται σε δεσμευμένη μορφή και επομένως, οι αναφερόμενες τιμές αποκλίνουν από τα πραγματικά επίπεδα τους. [8] Επιπλέον, μερικές από τις φαινόλες που υπάρχουν στις μύρες αποτελούν σημαντικό παράγοντα της αντιοξειδωτικής της ικανότητας, η οποία θα μπορούσε με τη σειρά της να εξηγήσει τα ευεργετικά αποτελέσματα της μέτριας κατανάλωσης μύρας για την υγεία του ανθρώπου, παρόλο που είναι λιγότερο γνωστά από τα ευεργετικά αποτελέσματα της κατανάλωσης οίνου. [40]

Πίνακας 7.2 : Ποσοστά (%) ανάκτησης φαινολών από πρότυπα διαλύματα

Φαινόλες	Ποσοστά ανάκτησης (%)
Βανιλίνη	58.6
Κινναμωμικό οξύ	94.7
Τυροσόλη	76.4
Παρα-υδρόξυ-βενζοϊκό οξύ	100.2
Παρα-υδρόξυ-φαινυλοξικό οξύ	107.0
Ομοβανιλική αλκοόλη	81.7
Φλορετικό οξύ	107.5
Βανιλικό οξύ	99.3
Πρωτοκατεχικό οξύ	87.4
Συρινγγικό οξύ	119.0
Παρα-κουμαρικό οξύ	104.9
Φερουλικό οξύ	105.2
Καφεϊκό οξύ	75.6
Σιναπικό οξύ	65.2
Ρεσβερατρόλη	97.9
Χρυσίνη	128.0
Επικατεχίνη	20.8
Ναριγκενίνη	119.9
Κατεχίνη	27.4
Καμφερόλη	70.8
Κερκετίνη	51.8

Πίνακας 7.3 : Συγκεντρώσεις πολυφαινολών (μg/L) σε διαφορετικούς τύπους ελληνικών ζύθων που εξετάστηκαν.

Αριθμός μπύρας	Τύπος ζύμωσης	Τύπος μπύρας	Αλκοολικοί βαθμοί	Παρα- υδρόξυ- βενζοϊκό οξύ	Ομοβανιλική αλκοόλη	Παρα-υδρόξυ- φαινυλοξικό οξύ	Πρωτοκατεχικό οξύ	Συρρινγγικό οξύ	Βανιλικό οξύ	Τυροσόλη	Βανιλίνη
1	Αφροζύμωτη	Ale	4.9	144.9	0.0	226.2	44.1	12.4	95.4	2387	0.0
2	Αφροζύμωτη	Ale	5	67.3	14.2	129.8	46.4	114.0	238.4	11105	39.0
3	Αφροζύμωτη	Ale	5.3	107.9	0.0	305.2	37.2	80.3	200.7	874	38.9
4	Αφροζύμωτη	Ale	6.5	43.3	5.6	95.2	29.0	46.8	97.3	572	12.3
5	Αφροζύμωτη	Ale	4.5	30.5	3.9	77.8	20.2	28.9	57.9	432	23.7
6	Αφροζύμωτη	Ale	6.5	78.3	0.0	221.9	63.5	109.2	115.4	1163	37.5
7	Αφροζύμωτη	Ale	5.3	68.3	9.8	210.6	29.0	143.3	176.6	1606	24.7
8	Αφροζύμωτη	Ale	6	82.4	0.0	371.5	28.5	131.2	98.2	9054	25.8
9	Αφροζύμωτη	Ale	7	130.4	16.4	377.4	72.7	114.9	244.6	4441	20.8
10	Αφροζύμωτη	Ale	5.5	123.8	12.0	302.8	147.4	63.7	110.1	1393	2.4
11	Αφροζύμωτη	Ale	5.4	45.4	6.2	102.3	27.8	56.1	130.9	2449	14.4
12	Βυθοζύμωτη	Lager	5	98.0	13.6	262.6	27.3	43.1	128.7	2137	18.8
13	Βυθοζύμωτη	Lager	4.9	40.3	0.0	268.4	20.4	10.4	82.4	2341	0.0
14	Βυθοζύμωτη	Lager	6.3	44.7	5.7	144.8	22.2	92.9	147.2	1647	43.6
15	Βυθοζύμωτη	Lager	5	41.8	10.3	237.4	27.0	53.4	128.3	4239	14.8
16	Βυθοζύμωτη	Lager	5	53.9	0.0	111.4	41.0	31.1	125.5	2427	25.1
17	Βυθοζύμωτη	Lager	5	51.7	0.0	286.4	28.5	132.3	132.2	4652	22.1
18	Βυθοζύμωτη	Lager	5	112.0	0.0	293.0	0.0	152.9	192.9	2706	85.6
19	Βυθοζύμωτη	Lager	4.8	275.5	0.0	613.0	70.4	440.4	559.7	3300	0.0
20	Βυθοζύμωτη	Lager	5	38.4	0.0	107.1	26.5	45.8	108.7	2815.2	3.8
21	Βυθοζύμωτη	Lager	4.5	22.8	0.0	88.8	15.9	31.8	96.2	1387.2	10.9
22	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5.2	92.2	30.3	163.9	0.0	156.4	433.8	1509	46.9
23	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	99.2	14.2	265.0	114.1	175.7	263.6	5156	19.8
24	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	62.5	14.6	454.7	59.8	113.4	147.7	6423	41.3
25	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	38.1	0.0	100.1	32.4	71.3	118.7	1252.8	19.7
26	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	52.9	0.0	113.6	36.1	68.2	118.7	808.8	0.0
27	Αφροζύμωτη	Porter	6.2	194.6	14.2	888.3	194.5	95.7	212.4	14755	41.4
28	Αφροζύμωτη	Porter	5.5	50.3	6.5	98.5	29.5	57.5	114.5	777.6	10.0
29	Αφροζύμωτη	Weiss	5.4	52.6	8.5	194.2	64.6	112.5	146.7	1890	38.8
30	Αφροζύμωτη	Barley wine	7.5	61.8	14.8	87.5	37.1	39.1	89.6	8256	0.0

Αριθμός μπύρας	Τύπος ζύμωσης	Τύπος μπύρας	Κινναμωμ κό οξύ	Καφεϊκό οξύ	Παρα- κουμαρικ ό οξύ	Φερουλικ ό οξύ	Φλορετικό οξύ	Σινναπικό οξύ	Ρεσβερα ρόλη	Χρυσίη	Επικατεχίν η	Ναριγκενί νη	Κατεχίνη	Καμφερόλ η	Κερκετίνη
1	Αφροζύμωτη	Ale	476.6	377.3	326.2	548.7	0.0	141.5	41.3	471.6	603.6	0.0	1450.0	391.6	0.0
2	Αφροζύμωτη	Ale	106.5	97.9	37.6	87.3	24.0	121.9	0.0	15.1	20.7	0.0	180.3	8.9	37.5
3	Αφροζύμωτη	Ale	220.5	170.8	419.2	805.2	31.5	274.1	0.0	0.0	311.8	0.0	583.4	20.2	0.0
4	Αφροζύμωτη	Ale	128.7	67.9	170.8	386.4	11.0	105.3	8.0	0.0	136.8	67.0	236.9	780.0	275.6
5	Αφροζύμωτη	Ale	161.9	34.0	119.4	230.4	5.7	48.2	4.1	0.0	61.2	17.9	91.6	86.7	0.0
6	Αφροζύμωτη	Ale	67.3	147.4	310.5	536.3	0.0	92.7	36.0	0.0	882.4	0.0	1721.5	0.0	0.0
7	Αφροζύμωτη	Ale	33.9	89.6	90.0	294.0	0.0	248.9	2.0	27.4	206.4	5.8	390.4	142.9	51.0
8	Αφροζύμωτη	Ale	84.7	125.6	331.9	474.2	6.0	87.9	0.0	64.1	0.0	0.0	0.0	167.6	0.0
9	Αφροζύμωτη	Ale	170.0	110.0	312.5	515.6	2.3	116.4	0.0	43.6	121.5	0.0	445.8	177.5	53.0
10	Αφροζύμωτη	Ale	333.0	366.9	462.2	682.0	24.1	178.7	19.7	111.8	739.6	0.0	1348.7	307.2	115.7
11	Αφροζύμωτη	Ale	86.6	76.2	215.0	439.2	11.8	98.8	1.9	107.4	211.4	0.0	344.5	21.2	0.0
12	Βυθοζύμωτη	Lager	795.4	273.7	338.2	400.1	0.0	145.8	0.0	405.3	656.3	0.0	1264.5	101.3	0.0
13	Βυθοζύμωτη	Lager	129.4	156.1	210.0	330.6	0.0	66.7	0.0	142.4	161.6	0.0	748.4	12.5	0.0
14	Βυθοζύμωτη	Lager	131.4	105.0	250.6	491.6	0.0	94.5	4.7	95.7	376.4	0.0	688.8	9.5	0.0
15	Βυθοζύμωτη	Lager	237.6	71.8	218.9	403.0	0.0	88.9	0.0	0.0	130.4	0.0	152.4	0.0	0.0
16	Βυθοζύμωτη	Lager	65.9	120.2	356.6	722.1	0.0	208.7	0.0	70.4	272.2	98.0	573.1	122.9	0.0
17	Βυθοζύμωτη	Lager	124.4	308.7	183.2	313.0	0.0	95.7	0.0	0.0	248.3	0.0	321.2	17.1	0.0
18	Βυθοζύμωτη	Lager	571.9	167.2	886.7	834.7	0.0	184.4	0.0	0.0	171.6	0.0	673.6	67.5	0.0
19	Βυθοζύμωτη	Lager	568.6	4104.2	1090.1	2220.1	60.4	807.0	0.0	612.8	607.0	0.0	797.4	372.6	0.0
20	Βυθοζύμωτη	Lager	68.0	45.8	168.9	358.4	0.0	65.2	0.0	0.0	0.0	22.4	61.6	88.9	0.0
21	Βυθοζύμωτη	Lager	59.5	47.5	121.4	267.7	0.0	61.9	0.0	0.0	55.4	0.0	77.5	46.4	0.0
22	Βυθοζύμωτη	Pilsner	157.9	156.8	622.5	883.9	0.0	245.7	0.0	0.0	136.2	0.0	419.9	36.1	0.0
23	Βυθοζύμωτη	Pilsner	205.1	225.5	76.2	662.8	0.0	227.2	0.0	194.8	1417.8	0.0	1731.1	376.1	0.0
24	Βυθοζύμωτη	Pilsner	139.9	136.0	192.6	423.7	0.0	132.4	0.0	94.8	483.2	0.0	612.4	20.2	0.0
25	Βυθοζύμωτη	Pilsner	107.2	49.3	123.9	301.1	0.0	76.7	0.0	0.0	300.6	29.8	362.2	162.5	0.0
26	Βυθοζύμωτη	Pilsner	117.0	113.7	276.9	312.6	0.0	78.7	0.0	0.0	185.8	0.0	326.1	734.7	195.3
27	Αφροζύμωτη	Porter	228.6	256.5	580.5	654.9	26.8	121.5	130.4	2350.8	296.0	50.1	788.1	1703.3	497.1
28	Αφροζύμωτη	Porter	16.5	32.4	27.7	27.7	129.9	16.0	12.5	0.0	48.4	112.5	177.9	1674.1	943.1
29	Αφροζύμωτη	Weiss	70.0	114.7	24.3	38.1	14.5	120.3	0.0	46.7	221.3	96.1	577.1	67.9	105.7
30	Αφροζύμωτη	Barley	161.5	61.4	151.7	268.1	13.0	72.6	0.0	0.0	55.5	0.0	119.4	109.0	0.0

Πίνακας 7.4: Συσχέτιση Pearson για τις φαινόλες που προσδιορίστηκαν στις ελληνικές μύρες

	Βανιλίνη	Κινναμωμικό οξύ	Τυροσόλη	π-ΟΗ βενζοϊκό οξύ	π-ΟΗ φαινυλοξικό οξύ	Ομοβανιλική αλκοόλη	Φλορετικό οξύ	Βανιλικό οξύ	Πρωτοκατεχικό οξύ	Συρινγγικό οξύ	Π-κουμαρικό οξύ	Φερουλικό οξύ	Καφεϊκό οξύ	Σιναπικό οξύ	Ρεσβερατρόλη	Χρυσίνη	Επικατεχίνη	Ναριγκενίνη	Κατεχίνη	Καμφερόλη	Κερκετίνη
Βανιλίνη	1.000																				
Κινναμωμικό	0.069	1.000																			
Τυροσόλη	0.170	-0.015	1.000																		
π-ΟΗ βενζοϊκό	0.030	0.608*	0.311	1.000																	
ΟΗ	0.193	0.363	0.582*	0.778*	1.000																
Ομοβανιλική	0.191	0.041	0.319	0.118	0.142	1.000															
Φλορετικό οξύ	-	-0.019	0.004	0.271	0.127	-0.009	1.000														
Βανιλικό οξύ	0.186	0.306	0.136	0.700*	0.443	0.368	0.218	1.000													
Πρωτοκατεχικό	-	0.091	0.495	0.549	0.675*	0.257	0.156	0.164	1.000												
Συρινγγικό οξύ	0.175	0.282	0.145	0.684*	0.498	0.076	0.232	0.859*	0.178	1.000											
Π-κουμαρικό	0.266	0.627*	0.058	0.781*	0.575*	-0.028	0.086	0.648*	0.162	0.612*	1.000										
Φερουλικό οξύ	0.031	0.515	-0.007	0.807*	0.527	-0.055	0.130	0.778*	0.209	0.770*	0.876*	1.000									
Καφεϊκό οξύ	-	0.457	0.010	0.746*	0.457	-0.155	0.330	0.718*	0.170	0.824*	0.661*	0.854*	1.000								
Σιναπικό οξύ	-	0.459	-0.032	0.764*	0.445	-0.001	0.215	0.833*	0.168	0.855*	0.709*	0.912*	0.905*	1.000							
Ρεσβερατρόλη	0.106	0.080	0.493	0.440	0.627*	0.099	0.136	-0.013	0.702	-0.074	0.213	0.067	-0.015	-	1.000						
Χρυσίνη	0.065	0.278	0.594*	0.612*	0.791*	0.153	0.142	0.226	0.705	0.154	0.369	0.281	0.241	0.188	0.892*	1.000					
Επικατεχίνη	-	0.373	-0.077	0.386	0.258	0.079	-0.094	0.220	0.493	0.291	0.153	0.359	0.255	0.339	0.154	0.168	1.000				
Ναριγκενίνη	0.005	-0.310	-0.101	-0.164	-0.121	-0.081	0.485	-0.172	0.104	-0.187	-0.230	-0.236	-0.127	-	0.174	0.115	-0.211	1.000			
Κατεχίνη	0.050	0.468	-0.093	0.442	0.299	0.058	-0.114	0.144	0.484	0.152	0.251	0.318	0.175	0.254	0.311	0.258	0.911*	-0.181	1.000		
Καμφερόλη	-	-0.034	0.238	0.295	0.352	0.063	0.645*	0.023	0.479	-0.008	0.061	-0.015	0.057	-	0.642*	0.600*	-0.013	0.533	0.011	1.000	
Κερκετίνη	-	-0.188	0.083	0.055	0.129	0.087	0.789*	-0.083	0.277	-0.109	-0.120	-0.217	-0.086	-	0.430	0.330	-0.168	0.649*	-0.128	0.910*	1.000

* Σημαντική συσχέτιση σε επίπεδο 0.001

Πίνακας 7.5 : Μέσες, διάμεσες, ελάχιστες και μέγιστες τιμές (μg/L) κατηγοριών φαινολών

<i>Κατηγορίες φαινολών</i>	<i>Μέση τιμή</i>	<i>Διάμεση τιμή</i>	<i>Ελάχιστη τιμή</i>	<i>Μέγιστη τιμή</i>
Φαινολικά Οξέα				
p-υδροξύ-βενζοϊκό οξύ	80.19	62.17	22.79	275.55
Ομοβανιλική αλκοόλη	6.69	5.63	0.00	30.25
p-υδροξύ-φαινυλοξικό οξύ	239.98	216.29	77.78	888.25
Πρωτοκατεχικό οξύ	46.44	30.91	0.00	194.46
Συριγλικό οξύ	94.16	75.77	10.44	440.41
Βανιλικό οξύ	163.78	128.47	57.86	559.73
Απλές Φαινόλες				
Τυροσόλη	3465.19	2364.00	432.00	14755.00
Βανιλίνη	22.73	20.31	0.00	85.58
Υδροξυκιναμωμικά Οξέα				
Κιναμωμικό οξύ	194.18	130.40	16.53	795.39
Καφεϊκό οξύ	273.66	117.43	32.42	4104.25
Παρα-κουμαρικό οξύ	289.87	216.96	24.25	1090.12
Φερουλικό οξύ	497.12	413.31	27.66	2220.14
Φλορετικό οξύ	12.03	0.00	0.00	129.87
Σιναπτικό οξύ	147.48	110.89	16.04	807.00
Σπλβένια				
Ρεσβερατρόλη	8.69	—	0.00	130.35
Φλαβονοειδή				
Χρυσίνη	161.82	21.25	0.00	2350.77
Επικατεχίνη	303.98	208.92	0.00	1417.79
Ναριγκενίνη	16.66	0.00	0.00	112.51
Κατεχίνη	575.52	432.83	0.00	1731.07
Καμφερόλη	260.88	95.10	0.00	1703.30
Κερκετίνη	75.80	0.00	0.00	943.06

Πίνακας 7.6 : Άθροισμα διαφόρων τύπων φαινολών (μg/L) στα δείγματα μπύρας

Αριθμός μπύρας	Συνολικές φαινόλες	Φαινολικά οξέα	Απλές φαινόλες	Υδροξυκιναμωμικά οξέα	Στιλβένα (Ρεσβερατρόλη)	Φλαβονοειδή
1	7738.4	523.1	2387.0	1870.3	41.3	2916.7
2	12454.3	610.2	11144.0	475.1	0.0	262.5
3	4480.7	731.3	912.9	1921.2	0.0	915.3
4	3000.4	317.2	584.3	870.1	8.0	1496.4
5	1535.8	219.1	455.7	599.6	4.1	257.4
6	5583.0	588.4	1200.5	1154.1	36.0	2604.0
7	3799.6	637.6	1630.7	756.3	2.0	823.9
8	11133.6	711.8	9079.8	1110.4	0.0	231.6
9	7433.5	956.4	4461.8	1226.8	0.0	841.4
10	6729.1	759.8	1395.4	2046.9	19.7	2622.9
11	4446.2	368.8	2463.4	927.5	1.9	684.6
12	7109.8	573.4	2155.8	1953.2	0.0	2427.4
13	4720.7	421.9	2341.0	892.9	0.0	1064.9
14	4396.1	457.4	1690.6	1072.9	4.7	1170.5
15	6054.9	498.1	4253.8	1020.2	0.0	282.9
16	5425.0	363.0	2452.1	1473.4	0.0	1136.5
17	6916.7	631.1	4674.1	1024.9	0.0	586.6
18	7100.0	750.8	2791.6	2644.9	0.0	912.7
19	16499.4	1959.1	3300.0	8850.5	0.0	2389.8
20	4024.5	326.5	2819.0	706.3	0.0	172.8
21	2390.8	255.5	1398.1	558.0	0.0	179.2
22	5091.5	876.7	1555.9	2066.8	0.0	592.1
23	11224.2	931.9	5175.8	1396.8	0.0	3719.7
24	9552.2	852.7	6464.3	1024.6	0.0	1210.6
25	3146.2	360.5	1272.5	658.1	0.0	855.1
26	3343.8	389.5	808.8	898.8	0.0	1441.9
27	23583.5	1599.6	14796.4	1868.9	130.4	5685.4
28	3420.1	356.7	787.6	250.3	12.5	2956.0
29	3898.8	579.0	1928.8	381.9	0.0	1114.9
30	9598.0	329.8	8256.0	728.2	0.0	283.9
Ελάχιστη	1535.8	219.09	455.69	250.25	0.00	172.81
Μέγιστη	23583.5	1959.15	14796.44	8850.49	130.35	5685.36
Μέση	6861.0	631.23	3487.92	1414.34	8.69	1394.65
Διάμεση	5504.0	576.19	2364.00	1024.75	0.00	990.08

Πίνακας 7.7: Συγκεντρώσεις κατηγοριών φαινολών για διαφόρους τύπους μύρας και ζύμωσης

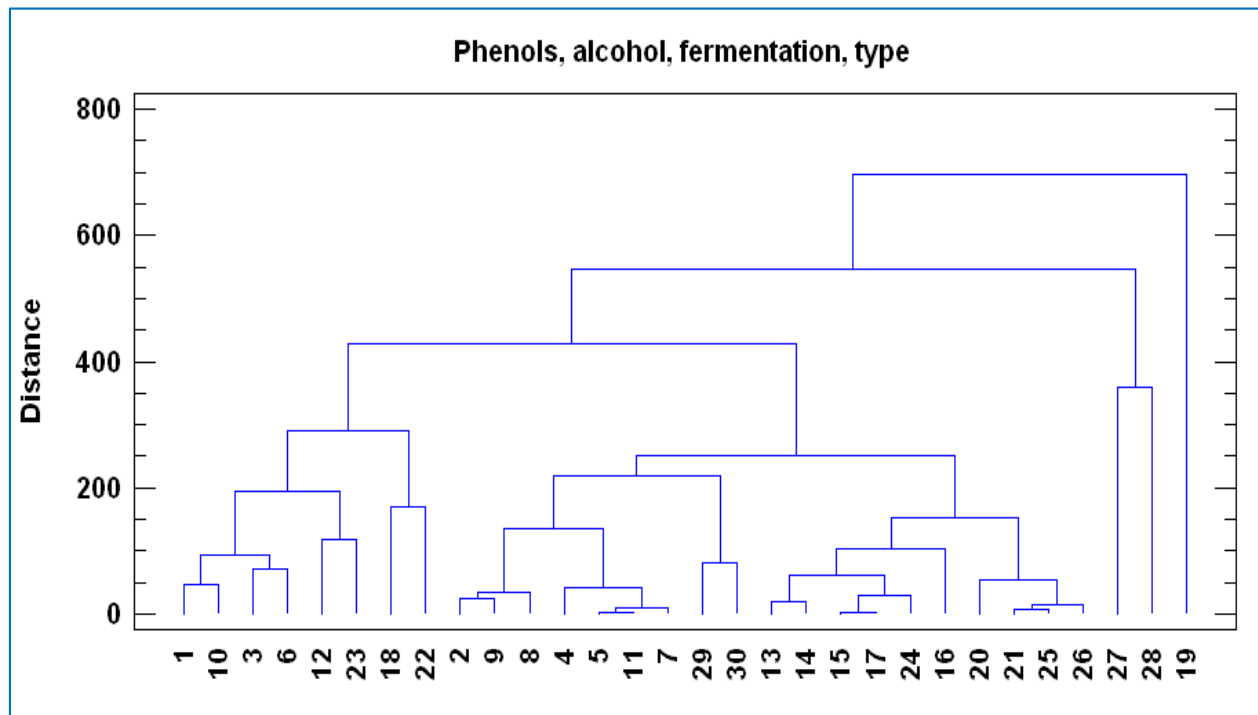
Τύπος Μύρας		Κατηγορίες φαινολών					Άθροισμα φαινολών
		Φαινολικά Οξέα	Απλές Φαινόλες	Υδροξυκινναμωμικά Οξέα	Στιλβένια	Φλαβονοειδή	
Ale	Min	219.1	455.7	475.1	0.0	231.6	1535.8
	Max	956.4	11144.0	2046.9	41.3	2916.7	12454.3
	Μέση τιμή	584.0	3246.9	1178.0	10.3	1241.5	6212.2
	Διάμεση τιμή	610.2	1630.7	1110.4	2.0	841.4	5583.0
Lager	Min	255.5	1398.1	558.0	0.0	172.8	2390.8
	Max	1959.1	4674.1	8850.5	4.7	2427.4	16499.4
	Μέση τιμή	623.7	2787.6	2019.7	0.5	1032.3	6463.8
	Διάμεση τιμή	477.7	2621.9	1048.9	0.0	988.8	5740.0
Pilsner	Min	360.5	808.8	658.1	0.0	592.1	3146.2
	Max	931.9	6464.3	2066.8	0.0	3719.7	11224.2
	Μέση τιμή	682.2	3026.0	1209.0	0.0	1563.9	6471.6
	Διάμεση τιμή	852.7	2805.3	1024.6	0.0	1210.6	5091.5
Είδος Ζύμωσης							
Άφροζύμωτη	Min	219.1	455.7	250.3	0.0	231.6	1535.8
	Max	1599.6	14796.4	2046.9	130.4	5685.4	23583.5
	Μέση τιμή	619.3	4099.0	1079.2	17.1	1579.8	7255.7
	Διάμεση τιμή	588.4	1928.8	927.5	2.0	915.3	5583.0
Βυθοζύμωτη	Min	255.5	808.8	558.0	0.0	172.8	2390.8
	Max	1959.1	6464.3	8850.5	4.7	3719.7	16499.4
	Μέση τιμή	643.2	2876.9	1749.5	0.3	1209.5	6466.4
	Διάμεση τιμή	498.1	2452.1	1024.9	0.0	1064.9	5425.0

Πίνακας 7.8 : Συγκεντρώσεις φαινολών (mg/L) σε μύρες από τη βιβλιογραφία

Κατηγορίες φαινολών	mg/L μύρας
Απλές φαινόλες	
Τυροσόλη	≥ 40
Φαινολικά Οξέα	
Παρα-υδρόξυ-βενζοϊκό οξύ	>1.1
Ομοβανιλική αλκοόλη	0.05
Πρωτοκατεχικό οξύ	>0.3
Συρριγγικό οξύ	>0.5
Κινναμωμικά Οξέα	
Παρα-κουμαρικό οξύ	≥ 0.9
Καφεϊκό οξύ	≥ 0.3
Φερουλικό οξύ	≥ 6.5
Κινναμωμικό οξύ	Δεν προσδιορίστηκε
Σιναπικό οξύ	≥ 0.25
Φλαβονοειδή	
Κατεχίνη	> 5.4
Επικατεχίνη	>1.1
Καμφερόλη	16.4
Κερκετίνη	> 10

Πηγή : Estruch, R.; Urpi-Sarda, M.; Chiva, G.; Romero, E.S.; Covas, M.I.; Salas-Salvadó, J.; Wärnberg, J.; Lamuela-Raventós, R.M. Cerveza, Dieta Mediterránea y Enfermedad Cardiovascular; Centro de Información Cerveza y Salud: Madrid, Spain, 2011; pp. 1–81.

Εικόνα 7.1 : Δενδρόγραμμα που προέκυψε με τη χρήση του κριτηρίου μέσης σύνδεσης (average linkage criterion) μεταξύ των ομάδων των 21 φαινολών που προσδιορίστηκαν στα δείγματα μύρας



7.3. Προσδιορισμός ολικών ιχνοστοιχείων στη μύρα

Στατιστική ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε μονόδρομη ανάλυση ANOVA και ανάλυση κύριας συνιστώσας (PCA) χρησιμοποιώντας το IBM SPSS Statistics 24. Τιμή $p < 0.05$ (επίπεδο εμπιστοσύνης 95%) θεωρήθηκε ότι υποδεικνύει σημαντική διαφορά στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων.

Αποτελέσματα - Συζήτηση

Η μύρα αποτελεί ένα αλκοολούχο ποτό πλούσιο σε ιχνοστοιχεία, τα οποία ανάλογα με τη συγκέντρωση και τον τύπο τους μπορούν να έχουν ευεργετική ή τοξική δράση στο ανθρώπινο σώμα και μπορούν επίσης να έχουν επίδραση στη διαδικασία παρασκευής και την ποιότητα της μύρας. Στην παρούσα εργασία, προσδιορίστηκε το ολικό περιεχόμενο ιχνοστοιχείων από 30 μύρες με τη μέθοδο της Φασματομετρίας Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7 εκφρασμένα σε $\mu\text{g/L}$ μύρας.

Όλα τα δείγματα περιείχαν σημαντικές ποσότητες ιχνοστοιχείων, οι οποίες κυμάνθηκαν από $538.26 \mu\text{g/L}$ έως $7667.35 \mu\text{g/L}$ με μέση τιμή $1961.80 \mu\text{g/L}$. Η μύρα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ιχνοστοιχείων ήταν η μύρα No 26 και αυτή με τη μικρότερη συγκέντρωση ήταν η μύρα No 12.

Αναλυτικότερα, τα ιχνοστοιχεία που βρέθηκαν στα δείγματα μύρας και θεωρούνται τοξικά για τον ανθρώπινο οργανισμό [41-42] είναι ο μόλυβδος (Pb), ο οποίος είχε συγκεντρώσεις οι οποίες κυμάνθηκαν από $0.39\text{-}11 \mu\text{g/L}$ και το κάδμιο (Cd) με συγκεντρώσεις που κυμάνθηκαν από $<0.01\text{-}1.0 \mu\text{g/L}$. Η επιμόλυνση των πρώτων υλών με μέταλλα και οι τεχνολογικές διεργασίες που πραγματοποιούνται, αποτελούν πιθανές πηγές αυτών των μετάλλων στις μύρες. [43]

Παράλληλα, τα ιχνοστοιχεία που έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία των ανθρώπων όπως το χρώμιο (Cr), το οποίο είναι απαραίτητο για τη διατήρηση του φυσιολογικού μεταβολισμού της γλυκόζης και ο ψευδάργυρος (Zn,) ο οποίος βοηθά στην απομάκρυνση τοξικών μετάλλων από το σώμα, όπως το κάδμιο και ο μόλυβδος, παρουσίασαν συγκεντρώσεις οι οποίες κυμάνθηκαν από 1.7-48 $\mu\text{g/L}$ και <0.05 -105 $\mu\text{g/L}$, αντίστοιχα. Ο σίδηρος (Fe), ο οποίος είναι υπεύθυνος για την ποιότητα της μπίρας και τη σταθερότητα της γεύσης της [44] και έχει επίσης ευεργετική επίδραση στην υγεία των ανθρώπων, βρέθηκε να κυμαίνεται μεταξύ 58 και 566 $\mu\text{g/L}$, υπερβαίνοντας το μέγιστο προτεινόμενο όριο 0.05 mg/L . [45]

Τα επίπεδα μαγγανίου (Mn), το οποίο είναι υπεύθυνο για τη γεύση και τη σταθερότητά της μπίρας [44] και επηρεάζεται κυρίως από τις πρώτες ύλες των δημητριακών από τα οποία παράγεται, [43] βρέθηκε να κυμαίνεται μεταξύ 44-384 $\mu\text{g/L}$ ενώ το αρσενικό (As) του οποίου οι πηγές μπορεί να είναι φυσικές ή ανθρωπογενείς λόγω της ευρείας κατανομής του στο περιβάλλον κυμαίνονταν μεταξύ $<0,02$ και 16 $\mu\text{g/L}$. Παράλληλα, ο χαλκός (Cu) που προέρχεται τόσο από πρώτες ύλες όσο και από ουσίες που προστέθηκαν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής μπίρας κυμάνθηκε από $<0,01$ έως 84 $\mu\text{g/L}$, με μερικά από τα εξεταζόμενα δείγματα να υπερβαίνουν τα 0.05 mg/L τιμή που αποτελεί τη μέγιστη προτεινόμενη όσον αφορά τον ποιοτικό έλεγχο. [45]

Τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία είχαν συγκεντρώσεις οι οποίες κυμαίνονται μεταξύ <0.01 - 76 $\mu\text{g/L}$ για το βανάδιο (V), 0.001 - 1.1 $\mu\text{g/L}$ για το κοβάλτιο (Co), 3.1 - 40 $\mu\text{g/L}$ για το νικέλιο (Ni), 91 - 519 $\mu\text{g/L}$ για το ρουβίδιο (Rb), 58 - 1313 $\mu\text{g/L}$ για το στρόντιο (Sr), 0.15 – 1.9 $\mu\text{g/L}$ για το καίσιο (Cs) και 11 - 57 $\mu\text{g/L}$ για το βάριο (Ba).

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές (για το επίπεδο εμπιστοσύνης 95%) όσον αφορά τις μέσες τιμές συγκέντρωσης στοιχείων στους διάφορους τύπους μπίρας (ale, lager, pilsner, porter), με εξαίρεση το αρσενικό (As), το βάριο (Ba), το μαγγάνιο (Mn), το νικέλιο (Ni), τον μόλυβδο (Pb) και τον ψευδάργυρο (Zn).

Η μέση πρόσληψη ιχνοστοιχείων από την κατανάλωση 1 φιάλης μύρας των 330mL βρίσκεται εντός των επιτρεπόμενων ορίων για τα τοξικά ιχνοστοιχεία. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά τα τοξικά ιχνοστοιχεία, με την κατανάλωση 330ml μύρας λαμβάνονται 2.57 μg αρσενικού (As) και 0.03 μg καδμίου (Cd) ποσότητα, η οποία συμφωνεί με την αναγωγή της προσωρινής ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης (PTWI) τους ανά ημέρα (Πίνακας 7.9), δηλαδή με τα 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους / 7 ημέρες=2.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους για το αρσενικό (As) και τα 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους / 7 ημέρες= 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους για το κάδμιο (Cd). Επιπλέον, λαμβάνονται 0.38 μg μολύβδου (Pb) τα οποία συμφωνούν με την αναγωγή της προσωρινής ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης (PTWI) του ανά ημέρα, δηλαδή με τα 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους / 7 ημέρες =3.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους που καθορίστηκε το 2004 από την επιτροπή JECFA και αποσύρθηκε το 2011 καθώς κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν ήταν δυνατόν να δημιουργηθεί μία νέα προσωρινή ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη (PTWI) που να θεωρείται προστατευτική για την υγεία. [46] Η μέση αυτή πρόσληψη ιχνοστοιχείων με την κατανάλωση 330mL μύρας, εάν θεωρηθεί ως μέσο βάρος ατόμων τα 70kg αντιστοιχεί στο 1.71% της προσωρινής ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης για το αρσενικό (As), στο 0.04% για το κάδμιο (Cd) και στο 0.15% για το μόλυβδο (Pb).

Όσο αφορά τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία, με κατανάλωση 330mL μύρας τα άτομα λαμβάνουν 67.69 μg σιδήρου (Fe) και 9.86 μg ψευδαργύρου (Zn), συγκεντρώσεις που συμφωνούν με τις συνιστώμενες ημερήσιες προσλήψεις (DRA) (Πίνακας 7.10) των 10000 μg για τους άνδρες και των 15000 μg για τις γυναίκες για τον σίδηρο (Fe) και των 15000 μg για τους άνδρες και 12000 μg για τις γυναίκες για τον ψευδάργυρο (Zn). Επιπλέον, λαμβάνονται 30.7 μg χρωμίου (Cr), τιμή η οποία είναι σύμφωνη με την αντίστοιχη συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη (DRA) των 35 μg για τους άνδρες και αυξημένη σε σχέση με την συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη (DRA) των 25 μg για τις γυναίκες.

Επιπρόσθετα, η συνήθης συγκέντρωση ιχνοστοιχείων στα 330mL μύρας σύμφωνα με τον Πίνακα 7.12 είναι $<0.04 \cdot 0.33 = <0.01\text{mg} = <10\mu\text{g}$ για το χρώμιο (Cr) η οποία συγκρινόμενη με την συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη (DRA) των 35μg για τους άνδρες και των 25μg για τις γυναίκες αντιπροσωπεύει το 28.6% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 40% για τις γυναίκες. Ομοίως, για το σίδηρο (Fe) τα 0.003-0.1mg/330mL μύρας αντιστοιχούν στο 0.03-1% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 0.02-0.7% για τις γυναίκες και για τον ψευδάργυρο (Zn) τα 0.003-0.49 mg/330mL μύρας αντιστοιχούν στο 0.02-3.3% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 0.03-4.1% για τις γυναίκες.

Στην Ελλάδα η μέση κατανάλωση μύρας είναι 30L=30000mL το χρόνο ανά άτομο, ποσότητα η οποία αντιστοιχεί σε 82 mL την ημέρα. Επομένως, η συνήθης συγκέντρωση ιχνοστοιχείων στα 82mL μύρας σύμφωνα με τον Πίνακα είναι $<0.04 \cdot 0.082 = <0.003\text{mg} = <3\mu\text{g}$ για το χρώμιο (Cr) η οποία συγκρινόμενη με την συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη (DRA) των 35μg για τους άνδρες και των 25μg για τις γυναίκες αντιπροσωπεύει το 8.6% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 12% για τις γυναίκες. Ομοίως, για το σίδηρο (Fe) τα 0.001-0.02mg/82mL μύρας αντιστοιχούν στο 0.01-0.2% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 0.006-0.13% για τις γυναίκες και για τον ψευδάργυρο (Zn) τα 0.001-0.12 mg/82mL μύρας αντιστοιχούν στο 0.006-0.8% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 0.008-1% για τις γυναίκες.

Οι μετρούμενες συγκεντρώσεις των υπό εξέταση ιχνοστοιχείων βρίσκονται στο εύρος εκείνων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Ωστόσο, σε συγκεκριμένα στοιχεία όπως το αρσενικό (As), το νικέλιο (Ni) και ο ψευδάργυρος (Zn) οι συγκεντρώσεις ήταν σχετικά χαμηλές σε σύγκριση με εκείνες των περισσότερων μελετών (Πίνακας 7.14). Στατιστικά σημαντικοί συσχετισμοί Pearson ($> 0,7$, $p < 0,01$) υπολογίστηκαν για το

αρσενικό (As), το σίδηρο (Fe) και το βανάδιο (V), για το κοβάλτιο (Co) και το χρώμιο (Cr) και επίσης για το νικέλιο (Ni) και τον ψευδάργυρο (Zn) (Πίνακας 7.15).

Ορισμένα δείγματα μπύρας όπως τα δείγματα με αριθμό 15, 17, 18, 30 φαίνεται να διαφοροποιούνται με βάση το περιεχόμενο των ιχνοστοιχείων τους σύμφωνα με την ανάλυση ομαδοποίησης που πραγματοποιείται και δείχνει την οργάνωση των δειγμάτων-δεδομένων σε συστάδες (clusters), με βάση κάποιο κριτήριο ομοιότητας (Εικόνα 7.2). Όσον αφορά τη θρεπτική αξία των ιχνοστοιχείων στον ανθρώπινο οργανισμό, έχει προταθεί ότι η κατανάλωση μπύρας με μέτρο και σύνεση μπορεί να αποτελέσει πολύτιμη πηγή πρόσληψής τους.[47]

Πίνακας 7.9 : Προσωρινή ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη (PTWI) τοξικών ιχνοστοιχείων σε $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους

Τοξικά Ιχνοστοιχεία	PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake)
Μόλυβδος (Pb)	(25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους (JEFCA, 2004)
Κάδμιο (Cd)	7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους (JEFCA, 2004)
Αρσενικό (As)	15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους (JEFCA, 2004)

Πίνακας 7.10 : Συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη απαραίτητων ιχνοστοιχείων

Απαραίτητα Ιχνοστοιχεία	RDA (Recommended daily allowance)	
	Άνδρες	Γυναίκες
Χρώμιο (Cr)	35 μg	25 μg
Σίδηρος (Fe)	10mg	15mg
Ψευδάργυρος (Zn)	15mg	12mg

Πηγή: Food and Nutrition Board (<http://www.nutrition.org.uk>)

Πίνακας 7.11 : Μέση πρόσληψη ιχνοστοιχείων (μg) με την κατανάλωση 0.33L μπύρας

Ιχνοστοιχεία	Μέση πρόσληψη
Αργίλιο (Al)	283.6
Βόριο (V)	21.28
Χρώμιο (Cr)	30.7
Μαγγάνιο (Mn)	61.02
Σίδηρος (Fe)	67.69
Κοβάλτιο (Co)	0.28
Νικέλιο (Ni)	4.35
Χαλκός (Cu)	12.87
Ψευδάργυρος (Zn)	9.86
Αρσενικό (As)	2.57
Ρουβίδιο (Rb)	82.73
Στρόντιο (Sr)	59.63
Κάδμιο (Cd)	0.03
Καίσιο (Cs)	0.18
Βανάδιο (Ba)	10.13
Μόλυβδος (Pb)	0.38

Πίνακας 7.12 : Συνήθεις συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων στη μπύρα

Ιχνοστοιχεία	Συγκεντρώσεις στη μπύρα (mg/L)
Ψευδάργυρος (Zn)	0.01–1.48
Σίδηρος (Fe)	0.01–0.3
Χρώμιο (Cr)	<0.04
Χαλκός (Cu)	0.01–1.55
Βανάδιο (Ba)	0.03–0.15
Μαγγάνιο (Mn)	0.03–0.2
Κοβάλτιο (Co)	0.01–0.11
Νικέλιο (Ni)	0.03–0.2
Μόλυβδος (Pb)	Αμελητέα ποσότητα
Αρσενικό (As)	0.02–0.05
Κάδμιο (Cd)	0.03–0.68

Πίνακας 7.13 : Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων (μg/L) σε διαφορετικούς τύπους ελληνικών ζύθων.

Αριθμός μπύρας	Τύπος ζύμωσης	Τύπος μπύρας	Αλκοολικοί βαθμοί	Al	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Rb	Sr	Cd	Cs	Ba	Pb
1	Αφροζύμωτη	Ale	4.9	48.2	0.250	5.51	377	107	0.150	12.1	25.8	66.3	0.975	314	198	0.012	1.45	53.6	0.633
2	Αφροζύμωτη	Ale	5	39.4	6.40	3.63	79.3	179	0.150	11.7	0.005	49.2	1.95	222	292	0.039	0.350	16.9	0.550
3	Αφροζύμωτη	Ale	5.3	376	105	108	157	267	0.001	18.1	73.1	20.9	13.7	170	135	1.01	0.350	41.7	0.612
4	Αφροζύμωτη	Ale	6.5	368	0.650	21.8	173	66.0	0.500	9.76	55.7	10.3	0.010	227	136	0.024	0.350	36.5	0.736
5	Αφροζύμωτη	Ale	4.5	149	0.005	13.6	145	81.0	1.10	9.51	26.6	1.45	1.43	133	102	0.005	0.150	20.5	0.467
6	Αφροζύμωτη	Ale	6.5	144	0.600	7.83	270	78.0	0.750	10.5	34.2	27.9	0.455	254	151	0.034	0.600	25.9	0.705
7	Αφροζύμωτη	Ale	5.3	201	137	124	177	357	0.700	16.7	70.8	50.2	11.2	203	137	0.267	0.600	46.7	1.68
8	Αφροζύμωτη	Ale	6	1133	37.2	40.6	349	186	0.500	14.1	59.1	27.2	5.33	259	241	0.055	0.600	44.0	1.03
9	Αφροζύμωτη	Ale	7	214	0.005	7.40	178	114	0.300	14.1	41.0	2.01	0.975	234	93.7	0.008	0.200	26.3	0.615
10	Αφροζύμωτη	Ale	5.5	350	0.800	24.9	153	104	0.500	15.9	35.2	43.7	1.95	274	68.1	0.033	0.250	18.3	0.963
11	Αφροζύμωτη	Ale	5.4	604	0.850	46.8	221	222	0.600	39.5	43.2	87.6	1.50	308	110	0.026	0.350	15.7	0.840
12	Βυθοζύμωτη	Lager	5	101	32.7	7.54	56.9	58.5	0.650	5.10	5.56	16.4	1.95	183	58.4	0.024	0.400	10.7	0.487
13	Βυθοζύμωτη	Lager	4.9	118	25.4	19.4	43.9	106	0.500	7.50	64.5	11.4	2.93	167	79.1	0.050	0.250	15.4	0.394
14	Βυθοζύμωτη	Lager	6.3	43.8	0.300	21.8	129	78.0	0.001	13.6	13.9	6.15	3.90	422	103	0.008	1.00	15.4	0.539
15	Βυθοζύμωτη	Lager	5	96.3	133	41.3	135	566	0.001	9.23	50.7	6.15	24.4	210	232	0.013	0.600	56.0	1.05
16	Βυθοζύμωτη	Lager	5	4354	81.1	135	225	168	1.30	13.0	84.0	43.1	13.2	194	188	1.01	0.400	31.1	0.612
17	Βυθοζύμωτη	Lager	5	3343	382	45.7	265	838	0.750	9.19	54.3	0.025	45.8	519	291	0.021	1.95	55.7	1.47
18	Βυθοζύμωτη	Lager	5	52.5	452	5.08	120	302	0.850	3.07	46.9	8.00	23.9	209	81.4	0.031	0.200	17.8	0.738
19	Βυθοζύμωτη	Lager	4.8	96.3	43.8	13.4	125	137	0.150	9.43	34.7	6.80	9.75	283	84.5	0.017	0.500	25.6	0.539
20	Βυθοζύμωτη	Lager	5	136	20.4	26.8	220	127	0.300	15.7	30.1	14.6	3.90	441	102	0.097	0.450	35.9	1.41
21	Βυθοζύμωτη	Lager	4.5	1798	19.2	23.9	174	131	5.50	6.34	40.0	15.9	10.7	90.9	105	0.055	0.200	14.8	0.768
22	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5.2	48.1	50.4	34.9	116	86.0	0.100	4.23	8.53	7.55	6.31	364	101	0.053	0.200	15.6	0.643

23	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	74.4	0.250	1.74	128	74.0	0.001	8.46	8.69	21.5	1.43	178	81.5	0.062	0.300	19.0	1.41
24	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	2135	102	27.0	158	229	1.40	6.34	61.8	2.05	13.7	392	241	0.018	0.800	31.5	11.4
25	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	52.5	53.1	1799	188	325	6.20	12.7	32.7	63.9	7.28	132	62.9	0.176	0.150	32.1	0.975
26	Βυθοζύμωτη	Pilsner	5	6875	0.750	8.48	196	182	0.450	14.0	34.2	16.2	1.50	196	88.7	0.038	0.350	52.6	0.768
27	Αφροζύμωτη	Porter	6.2	1667	1.10	98.2	384	338	0.750	35.6	33.1	78.9	0.975	302	197	0.060	1.40	57.2	1.16
28	Αφροζύμωτη	Porter	5.5	319	1.15	25.4	226	149	0.500	9.76	31.2	37.0	1.43	203	213	0.051	0.550	50.3	1.07
29	Αφροζύμωτη	Weiss	5.4	219	0.100	6.89	248	97.0	0.050	18.8	18.9	49.4	0.010	187	136	0.049	0.500	15.4	0.612
30	Αφροζύμωτη	Barley wine	7.5	626	247	46.5	133	407	0.900	22.0	52.9	105	22.0	253	1312	0.166	0.950	24.0	0.563
Ελάχιστη τιμή				39.40	0.01	1.74	43.90	58.50	0.001	3.07	0.01	0.03	0.01	90.9	58.4	0.01	0.15	10.65	0.39
Μέγιστη τιμή				6875.45	452.25	1799.23	383.90	838.00	6.200	39.50	84.04	105.40	45.83	519.4	1312.5	1.01	1.95	57.20	11.44
Μέση τιμή				859.40	64.49	93.05	184.93	205.13	0.853	13.20	39.03	29.89	7.81	250.7	180.7	0.12	0.55	30.72	1.18
Διάμεση τιμή				207.80	19.75	24.40	173.53	142.50	0.500	11.90	34.93	18.63	3.41	224.5	122.4	0.04	0.40	26.10	0.74

Πίνακας 7.14 : Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων (µg/L) σε μύρες όπως αναφέρονται στη βιβλιογραφία

Προέλευση της μύρας	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cs	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Rb	V	Zn
Αμερική ^a	88	307	0.04	0.29	59	0.39	5.58	489	250	673	0.33		153	853
Βέλγιο ^a	80	423	0.21	0.80	70	0.46	633	4073	350	111	0.94		200	987
Βραζιλία ^{a,b}							38.0-155		110-348		13.0-32.9			52.7-226
Βρετανία ^a	60	268	0.02	0.22	43	0.21	3.49	554	140	504	1.20		312	194
Κίνα ^a	39	930	0.01	0.13	38	0.21	365	252	140	779	052		93	145
Τσεχία ^a	24	155	0.01	0.10	42	0.81	532	198	100	547	0.54		69	234
Ολλανδία ^a	55	89	0.02	0.20	33	0.24	476	487	90	345	0.25		160	1073
Αιθιοπία ^c			1.4				36.8		95.4		6.0			1521
Γερμανία ^a	74	219	0.02	0.18	51	0.36	400	579	130	445	0.34		487	162
Ιρλανδία ^a	61	240	0.03	0.19	27	0.17	232	850	200	330	0.32		246	357
Ιταλία ^e	8.10-15.4		<0.0025-0.21								<0.009-2.07			
Ιταλία ^a	91	304	0.02	0.21	71	16.2	521	843	110	667	0.77		365	159
Μεξικό ^a	93	262	0.06	0.22	32	0.68	677	332	100	431	0.31		294	189
Νορβηγία ^{*,e}							7-49	35-175	32-142					
Πολωνία ^f	2.2-13		0.02-0.53	0.08-0.57	3.8-45	0.12-0.83	29-150	45-530	53-470	3.8-200	1.4-6.0	88-410	8.0-55	4.0-120
Πολωνία ^g							72-114	208-345	70-165					
Πορτογαλία ^h					<0.87-16.4									
Ρουμανία ^{*,i}	0.6-8.7	5.2-75.7	<0.001-0.4		20.3-442		25.9-73.6	212-4216	4.2-232	<0.001-187	<0.001-12.6			<0.001-704
Ισπανία ^{*,j}		14-68						57-1065	31-304					1-975
Βενεζουέλα ^{*,k}					10-104		10-69	10-39	10-142					10-87
Ελλάδα [*] (παρούσα μελέτη)	5.8 <0.02-16	31 11-57	0.12 <0.01-1.0	0.48 0.001-1.1	24 1.7-48	0.55 0.15-1.9	39 <0.01-84	205 58-566	185 44-384	13 3.1-40	1.2 0.39-11	251 91-519	25 <0.01-76	30 <0.05-105

* Μέσες τιμές ** Αγορασμένα

^aRodrigo et al., 2016

^oNascentes et al., 2005

^cEticha and Hymete, 2014

^qDonadini et al., 2008

^eAsfaw and Wibetoe, 2005

^lWyrzykowska et al., 2001

^gPohl and Prusisz, 2010

ⁿVieira et al., 2014

^lVoica et al., 2015

^jAlcázar et al., 2002

^kMarcano et al., 2010

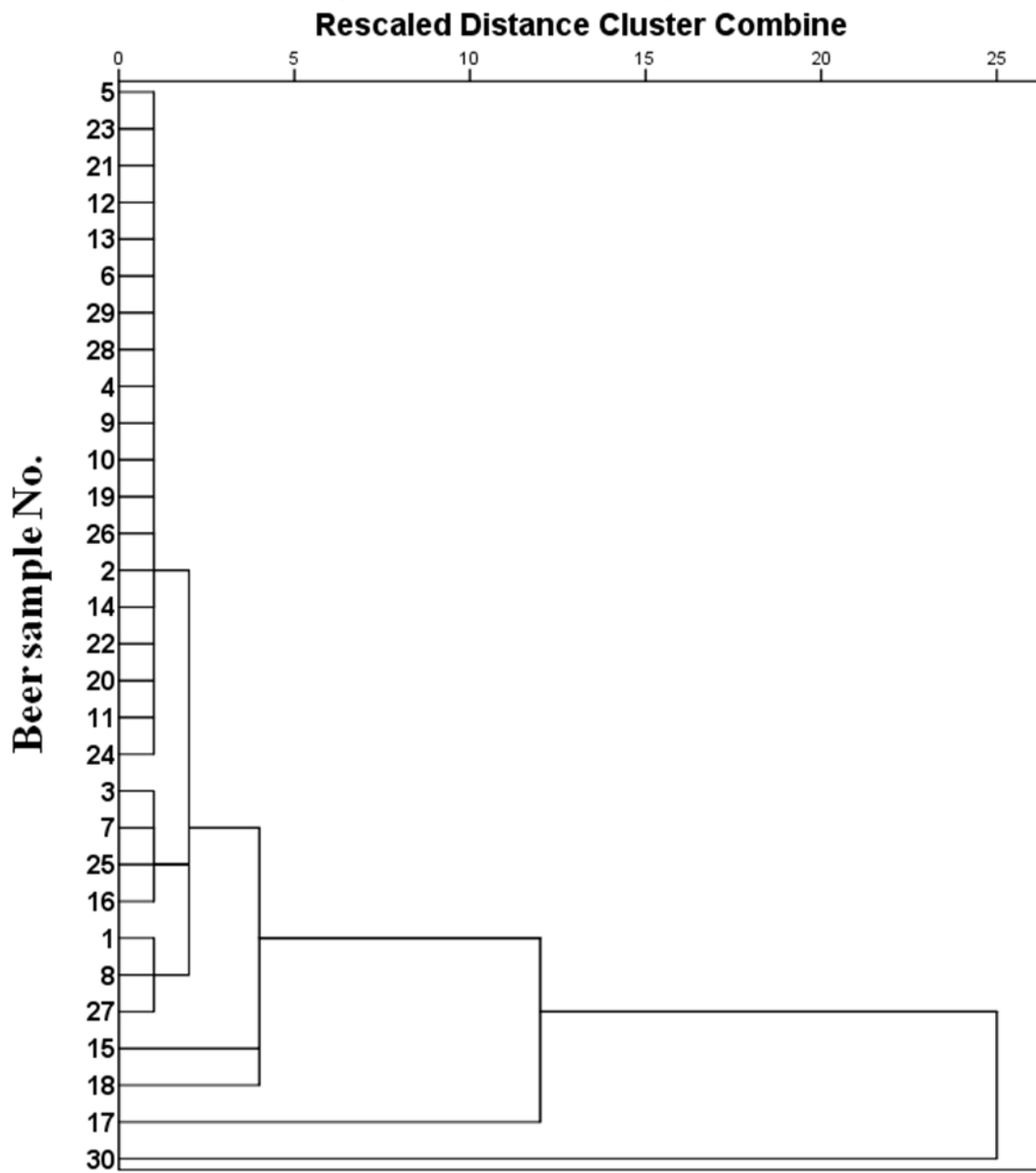
Πίνακας 7.15 : Συσχετίσεις Pearson για τα ιχνοστοιχεία που προσδιορίστηκαν στις ελληνικές μύρες

	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cs	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Rb	Sr	V	Zn
As	1.000														
Ba	0.288	1.000													
Cd	0.169	0.129	1.000												
Co	0.159	-0.086	0.099	1.000											
Cr	0.197	0.309	0.630**	0.408*	1.000										
Cs	0.446*	0.559**	-0.118	-0.089	0.036	1.000									
Cu	0.442*	0.373*	0.553**	0.324	0.473	0.081	1.000								
Fe	0.868**	0.543**	0.072	0.118	0.369	0.567**	0.392*	1.000							
Mn	-0.058	0.616**	0.019	0.126	0.228	0.557**	0.146	0.163	1.000						
Ni	-0.196	0.175	0.123	-0.056	0.354	0.227	0.111	0.139	0.453*	1.000					
Pb	0.155	0.097	-0.085	0.347	-0.005	0.162	0.226	0.107	-0.001	-0.132	1.000				
Rb	0.317	0.212	-0.229	-0.253	-0.160	0.646**	-0.062	0.306	0.264	0.128	0.316	1.000			
Sr	0.366*	0.083	0.050	-0.015	0.046	0.350	0.180	0.386*	0.015	0.213	0.038	0.107	1.000		
V	0.884**	0.145	0.105	0.171	0.112	0.310	0.382*	0.720**	-0.108	-0.203	0.098	0.223	0.355	1.000	
Zn	-0.156	0.076	0.128	0.136	0.463*	0.204	0.010	0.104	0.368*	0.720**	- 0.172	- 0.107	0.508**	- 0.083	1.000

* Σημαντική συσχέτιση σε επίπεδο 0.05 (2-tailed)

** Σημαντική συσχέτιση σε επίπεδο 0.01 (2-tailed)

Εικόνα 7.2 : Δενδρόγραμμα με τη χρήση του κριτηρίου μέσης σύνδεσης (average linkage) μεταξύ των ομάδων των 15 ιχνοστοιχείων που προσδιορίστηκαν



8. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, προσδιορίστηκε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και το ολικό περιεχόμενο ιχνοστοιχείων από τριάντα (30) δείγματα μύρας που προέρχονται από ελληνικές μικροζυθοποιίες από ποικίλες περιοχές της Ελλάδας όπως Χίος, Ρόδος, Σαντορίνη, Κέρκυρα, Τήνος, Θεσσαλία, Φθιώτιδα και Εύβοια.

Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολών στα δείγματα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS) αφού πρώτα είχε προηγηθεί εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Όσον αφορά το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, όλα τα δείγματα περιείχαν σημαντικές ποσότητες ολικών φαινολών, οι οποίες κυμάνθηκαν από 1535.8 $\mu\text{g/L}$ έως 23583.5 $\mu\text{g/L}$ με μέση τιμή τα 6861 $\mu\text{g/L}$, συγκέντρωση από την οποία προκύπτει ότι με την κατανάλωση μίας φιάλης μύρας των 330mL, προσλαμβάνονται κατά μέσο όρο 2.26 mg πολυφαινολών. Παράλληλα, σύμφωνα με το άθροισμα των ολικών φαινολών που περιέχονται σε κάθε μία από τις 5 κατηγορίες φαινολών, βρέθηκε ότι οι απλές φαινόλες κυριαρχούν στα δείγματα της παρούσας μελέτης με ποσοστό ~ 51% του αθροίσματος των ολικών φαινολών, από το οποίο το 50.5% ανήκει σε μία μόνο απλή φαινόλη, την τυροσόλη. Η κατηγορία φαινολών που κυριαρχεί σε όλους τους τύπους μύρας και ζύμωσης είναι οι απλές φαινόλες ενώ αυτή με τη μικρότερη συγκέντρωση είναι τα φαινολικά οξέα. Ωστόσο, η μέση τιμή των συγκεντρώσεων των υδροξυκινναμωμικών οξέων και των φλαβονοειδών ποικίλλει καθώς, η μέση τιμή της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων είναι σχεδόν διπλάσια από αυτή των φλαβονοειδών στις *lager* μύρες, παρόμοια στις *ale* μύρες και μικρότερη στις *pilsner*, ενώ η μέση τιμή της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων είναι μικρότερη από αυτή των φλαβονοειδών στις αφροζύμωτες μύρες και είναι μεγαλύτερη στις βυθοζύμωτες μύρες. Επιπλέον, η μελέτη συσχετίσεων μεταξύ των αποτελεσμάτων απλών φαινολών έδειξε στατιστικά σημαντικούς συσχετισμούς Pearson (> 0.7 , $p < 0.001$) για τις περισσότερες απλές φαινόλες και από τα αποτελέσματα της ανάλυσης ομαδοποίησης παρατηρήθηκε ότι

ορισμένα δείγματα μύρας διαφοροποιούνται με βάση τον τύπο μύρας στον οποίο ανήκουν.

Επίσης, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του ολικού περιεχομένου ιχνοστοιχείων των 30 δειγμάτων μύρας με τη μέθοδο της Φασματομετρίας Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) αφού πρώτα είχε προηγηθεί η υγρή χώνευση τους. Από τη μέθοδο αυτή, προέκυψε ότι όλα τα δείγματα περιείχαν σημαντικές ποσότητες ιχνοστοιχείων, οι οποίες κυμάνθηκαν από 538.26 $\mu\text{g/L}$ έως 7667.35 $\mu\text{g/L}$ με μέση τιμή 1961.80 $\mu\text{g/L}$. Παράλληλα, η μέση πρόσληψη ιχνοστοιχείων από την κατανάλωση 1 φιάλης μύρας των 330mL βρέθηκε ότι βρίσκεται εντός των επιτρεπόμενων ορίων για τα τοξικά ιχνοστοιχεία, καθώς λαμβάνονται 2.57 μg αρσενικού (As), 0.03 μg καδμίου (Cd) και 0.38 μg μολύβδου (Pb), η οποία εάν θεωρηθεί ως μέσο βάρος ατόμων τα 70kg αντιστοιχεί στο 1.71% της προσωρινής ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης για το αρσενικό (As), στο 0.04% για το κάδμιο (Cd) και στο 0.15% για το μόλυβδο (Pb). Όσο αφορά τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία, με κατανάλωση 330mL μύρας τα άτομα λαμβάνουν 67.69 μg σιδήρου (Fe), 9.86 μg ψευδαργύρου (Zn) και 30.7 μg χρωμίου (Cr), συγκεντρώσεις που συμφωνούν με τις συνιστώμενες ημερήσιες προσλήψεις (DRA) τόσο για τους άντρες όσο και για τις γυναίκες. Τέλος, η συνήθης συγκέντρωση χρωμίου (Cr) στα 82mL μύρας που προκύπτουν από τη μέση κατανάλωση 30L μύρας το χρόνο ανά άτομο, αντιπροσωπεύει το 8.6% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 12% για τις γυναίκες. Ομοίως, η συνήθης συγκέντρωση σιδήρου (Fe) αντιστοιχεί στο 0.01-0.2% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 0.006-0.13% για τις γυναίκες και η συνήθης συγκέντρωση ψευδαργύρου (Zn) αντιστοιχεί στο 0.006-0.8% της μέσης συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης για τους άνδρες και το 0.008-1% για τις γυναίκες. Η μελέτη συσχετίσεων μεταξύ των αποτελεσμάτων ολικών ιχνοστοιχείων έδειξε στατιστικά σημαντικούς συσχετισμούς Pearson (> 0.7 , $p < 0.01$) για τα περισσότερα ιχνοστοιχεία και σύμφωνα με την ανάλυση ομαδοποίησης που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι ορισμένα δείγματα μύρας διαφοροποιούνται με βάση το περιεχόμενο των ιχνοστοιχείων τους.

Οι μετρούμενες συγκεντρώσεις των υπό εξέταση φαινολών και ιχνοστοιχείων βρίσκονται στο εύρος εκείνων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Συμπερασματικά, πλήθος ερευνών, έχει δείξει ότι η μέτρια κατανάλωση μπύρας (2-3 μονάδες/ ημέρα για έναν υγιή άντρα και 1-2 μονάδες/ημέρα για μία υγιή γυναίκα (1 μονάδα= 12γρ αλκοόλ)) έχει ευεργετικά αποτελέσματα σε πολλές πτυχές της υγείας των ανθρώπων και παίζει σημαντικό ρόλο στην ποιότητα της ζωής τους. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας πτυχιακής εργασίας, η μπύρα αποτελεί σημαντική πηγή αντιοξειδωτικών στοιχείων, απαραίτητων ιχνοστοιχείων και περιέχει αμελητέες ποσότητες τοξικών ιχνοστοιχείων, όταν εντάσσεται σε ένα υγιεινό πρόγραμμα διατροφής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. <http://expohellas.analyst.gr/uncategorized/2015-to-panorama-tis-ellinikis-agoras-biras/> (2015) *Το πανόραμα της Ελληνικής αγοράς μπύρας*.
2. Eblinger, H.M., *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*. A Comprehensive History of Beer Brewing. 2009: Wiley-VCH.
3. Preedy, V.R., *Beer in Health and Disease Prevention*. Beer Composition: An Overview. Vol. 20. 2009: Elsevier. 210-225.
4. Bamforth, C.W., *Beer Health and Nutrition*. Vol. 4. 2004: Blackwell Company. 71-76.
5. Verhoef, B., *The Complete Encyclopedia of Beer*, ed. G. Books. 2000.
6. Preedy, V.R., *Beer in Health and Disease Prevention*. Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. Vol. 1. 2009: Elsevier. 14-15.
7. Χίου, *Σημειώσεις φροντιστηρίου Φυσικοχημείας και Βιοχημείας τροφίμων*. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. 2003.
8. Preedy, V.R., *Beer in Health and Disease Prevention*. Phenolic Compounds in Beer. Vol. 12. 2009: Elsevier. 124-144.
9. T. Ozcan, A.A.-B., L. Yilmaz-Ersan, B. Delikanli, *Phenolics in Human Health*. International Journal of Chemical Engineering and Applications, 2014. 5: p. 393-394.
10. D'Archivio M, F.C., Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R., *Polyphenols, dietary sources and bioavailability*. Ann Ist Super Sanita, 2007. 43(4): p. 348-61.
11. Claudine Manach, G.W., Christine Morand, Augustin Scalbert, Christian Rémésy, *Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies* 1,2,3. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005. 81: p. 2305-2425.
12. Stoclet, J.C., et al., *Vascular protection by dietary polyphenols*. Eur J Pharmacol, 2004. 500(1-3): p. 299-313.
13. Luciano, M., *Mediterranean-type diet and brain structural change from 73 to 76 years in a Scottish cohort*. Neurology, 2017. 88(5): p. 449-455.
14. Preedy, V.R., *Beer in Health and Disease Prevention*. Metals in Beer. Vol. 33. 2009: Elsevier. 349.
15. Elsa Vieira, M.E.S., Marta Kozior, M. Lourdes Bastos, *Quantification of Total and Hexavalent Chromium in Lager Beers: Variability between Styles and Estimation of Daily Intake of Chromium from Beer*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014. 62: p. 9195-9200.
16. Goldhaber, S.B., *Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity*. Regul Toxicol Pharmacol, 2003. 38(2): p. 232-42.
17. V. Lobo, A.P., A. Phatak, N. Chandra, *Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health*. 2010.
18. Pham-Huy L.A, H.H., Pham-Huy C, *Free radicals, antioxidants in disease and health*. International journal of medical science, 2008. 4(2): p. 89-96.
19. Packer, L., *Antioxidants in Disease Mechanisms and Therapy*. 1st ed. Vol. 38. 1996, New York: Academic Press. 707.

20. Krause, *Krause's food, nutrition, and diet therapy.*, ed. S.E.-S. L. Kathleen Mahan. 2000: W.B. Saunders.
21. Μπόσκου, Δ., *Χημεία Τροφίμων* Δ' Έκδοση ed. 1997: Εκδόσεις Γαρταγάνη.
22. Preedy, V.R., *Beer in Health and Disease Prevention*. What Contribution Is Beer to the Intake of Antioxidants in the Diet? Vol. 42. 2009: Elsevier. 441-458.
23. Preedy, V.R., *Beer in Health and Disease Prevention*. The Antioxidant Capacity of Beer: Relationships Between Assays of Antioxidant Capacity, Color and Other Alcoholic and Non-alcoholic Beverages Vol. 46. 2009: Elsevier. 475-482.
24. Bamforth, C.W., *Beer Health and Nutrition*. 2004: Blackwell Company. 120-154.
25. McConnell MV, V.I., Wu LL *Effects of a single daily alcoholic beverage on lipid and haemostatic markers of cardiovascular risk*. American Journal of Cardiology, 1997. 80 (9): p. 1226-1228.
26. Romeo J, G.-C.M., Wärnberg J, Díaz LE and Marcos A., *Effects in moderate beer consumption on blood lipid profile in healthy Spanish adults*. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Disease, 2008. 18(5): p. 365-372.
27. Konrat C, M.L., Cacés E, *Alcohol intake and fasting insulin in French men and women. The D.E.S.I.R. study*. Diabetes and Metabolism, 2002. 28: p. 116-123.
28. Brenner, H., et al., *Relation of smoking and alcohol and coffee consumption to active Helicobacter pylori infection: cross sectional study*. BMJ, 1997. 315(7121): p. 1489-92.
29. French MT, Z., *The health benefits of moderate drinking revisited: Alcohol use and self-reported health status*. American Journal of Health Promotion, 2007. 21(6): p. 484- 491.
30. Παπαδογιάννης Ι.Ν., Σ.Β.Φ., *Ενόργανη Χημική Ανάλυση*. 2001, Θεσσαλονίκη: Πήγασος.
31. Ruth E. Wolf, P.D., Research Chemist, *What is ICP-MS - USGS?* 2005.
32. Rosen LA, H.G., *Inductively coupled plasma mass spectrometry and electrospray mass spectrometry for speciation analysis: applications and instrumentation*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. Vol. 59. 2003. 135-146.
33. G.Stephanou, *Introduction to Modern Mass Spectrometry*. Environmental Analytical Chemistry Course. 2006.
34. Matsushige I., d.O.E., *Determination of trace elements in Brazilian beers by ICP-AES*. Food Chemistry, 1993. 17: p. 205-207.
35. Svendsen R., W.L., *Speciation of Cu, Fe and Mn in beer using ion exchange separation and size-exclusion chromatography in combination with electrothermal atomic absorption spectrometry*. Analyst, 2000. 125: p. 1933-1937.
36. Pohl P., B.P., *Chemical fractionation of Cu, Fe and Mn in canned Polish beers*. Journal of Food Composition and Analysis, 2010. 23: p. 86-94.
37. Mahmood N., P.N., *Elemental fingerprint profile of beer samples constructed using 14 elements determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS): multivariation analysis and potential application to forensic sample comparison*. 2012. 402: p. 861-869 Analytical and Bioanalytical Chemistry.
38. USEPA., U.S.E.P.A., *Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants (App. B, Part 136, Definition and Procedures for the Determination of the Method Detection Limit): U.S. Code of Federal Regulations* 1997: p. 265-267.

39. Adam A. Banach, B.G.O., *Enhancing the Yields of Phenolic Compounds during Fermentation Using Saccharomyces cerevisiae Strain 96581*. Food and Nutrition Sciences, 2014. 5: p. 2063-2070.
40. Gómez-Cordovés, B.B.A.P.-N.C., *Phenolics and related substances in alcohol-free beers*. European Food Research and Technology, 2000. 210: p. 419-423.
41. Onianwa P.C., A.A.O., Idowu O.E., Ogabiela E.E., *Copper and zinc contents of Nigerian foods and estimates of the adult dietary intakes*. Food Chemistry. Vol. 72. 2001. 89.
42. Garcia, E.M., et al., *Chromium levels in potable water, fruit juices and soft drinks: influence on dietary intake*. Sci Total Environ, 1999. 241(1-3): p. 143-50.
43. Voica C., M.D.A., Feher I., *Metal content and stable isotope determination in some commercial beers from Romanian markets*. Journal of Chemistry, 2015: p. 1-10.
44. Pohl, P., *Determination and fractionation of metals in beer: a review*. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2008. 25(6): p. 693-703.
45. Weessler, H.E., *Quality Control*, in *Handbook of Brewing*, W.A. Hardwick, Editor. 1995, Marcel Dekker: New York, USA. p. 587-642.
46. WHO, *Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) - LEAD*. World Health Organization (WHO), 2010.
47. Bamforth, *Nutritional aspects of beer – a review*. Nutritional Research, 2002. 22: p. 227-237.