

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

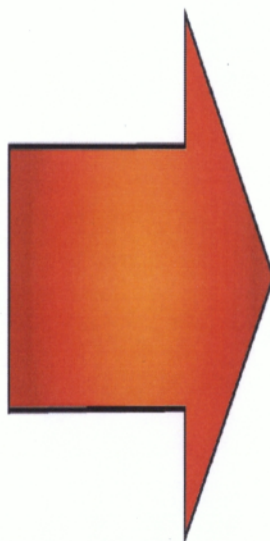
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΚΑΤΣΙΡΟΥΜΠΑ ΒΑΣΙΛΙΚΗ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΖΥΘΟΠΟΙΕΙΟΥ ΣΤΗΝ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΡΑΣΙΟΥ



ΚΑΛΑΜΑΤΑ, 2012

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή.....σελ.	3
Κεφάλαιο 1: Ζυθοποιείο.....	4
Γενικά.....	4
1.1: Η σημασία της βυνοποίησης.....	10
1.2: Η διαδικασία της βυνοποίησης.....	11
1.3: Ζυθοποίηση.....	12
Κεφάλαιο 2: Υπολείμματα ζυθοποιείου.....	16
2.1: Χαρακτηριστικά υπολειμμάτων ζυθοποιείου.....	17
2.2: Αλλοίωση και τεχνικές διατήρησης των υπολειμμάτων ζυθοποιείου.....	19
2.3: Πιθανές εφαρμογές υπολειμμάτων ζυθοποιείου.....	20
2.3.1: Ζωική διατροφή.....	20
2.3.2: Ανθρώπινη διατροφή.....	21
2.3.3: Παραγωγή ενέργειας.....	22
2.3.4: Παραγωγή ξυλάνθρακα.....	23
2.3.5: Κατασκευή χαρτιού.....	24
2.3.6: Απορρόφηση.....	24
Κεφάλαιο 3: Αξιοποίηση υπολειμμάτων ζυθοποιείου στην παραγωγή κρασιού.....	26
3.1: Στελέχη ζύμης και τα υποστρώματα της ζύμωσης.....	27
3.2: Ακίνητοποίηση.....	28

3.3: Προσδιορισμός ακινητοποιημένων κυττάρων.....	28
3.4: Ζυμώσεις γλεύκους σταφυλιών.....	28
3.5: Αποτελέσματα και συζητήσεις- Ακινητοποίηση και ζυμώσεις.....	29
3.6: Σημαντικά πτητικά υποπροϊόντα.....	32
3.7: Μικρές πτητικές ουσίες- ποιοτική σύνθεση.....	34
3.8: Μικρές πτητικές ουσίες-ποσοτική σύνθεση.....	34
Συμπεράσματα.....	37
Βιβλιογραφία.....	38

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σήμερα, υπάρχει μεγάλη κοινωνική και πολιτική πίεση για την ρύπανση του περιβάλλοντος που προκαλούν οι βιομηχανίες. Τα υπολείμματά τους μπορεί να είναι καταστροφικά για το περιβάλλον άλλα και για τον άνθρωπο και τα ζώα. Γι' αυτόν το λόγο όλες οι αναπτυγμένες και υπανάπτυκτες χώρες προσπαθούν να προσαρμοστούν σε αυτήν την πραγματικότητα με την τροποποίηση των διαδικασιών τους, έτσι ώστε τα κατάλοιπά τους, να μπορούν να ανακυκλωθούν και να μην δημιουργούνται προβλήματα. Με βάση λοιπόν αυτό οι περισσότερες μεγάλες εταιρείες δεν θεωρούν πλέον τα απόβλητά τους ως υπολείμματα, αλλά ως πρώτη ύλη για άλλες διαδικασίες.

Η βιομηχανία της ζυθοποιίας παράγει μεγάλες ποσότητες υποπροϊόντων και αποβλήτων τα οποία προέρχονται από υπολείμματα δημητριακών, υπολείμματα λυκίσκου και ζύμης. Αυτά μπορούν να ανακυκλωθούν και να επαναχρησιμοποιηθούν σε διαφορες διεργασίες. Στο μεγαλύτερο ποσοστό των υπολειμμάτων ζυθοποιείου περιέχονται υπολείμματα κριθαριού. Το κριθάρι σε κόκκους είναι πλούσιο σε άμυλο και πρωτεΐνες και είναι σημαντική πρώτη ύλη για την παραγωγή βύνης. Τα υπολείμματα του κριθαριού αντιστοιχούν κατά μέσο όρο στο 31% του αρχικού βάρους της βύνης. Βασικό πλεονέκτημα των υπολειμμάτων είναι ότι διατίθενται σε χαμηλό ή μηδενικό κόστος όλο το χρόνο και παράγονται σε μεγάλες ποσότητες, παρ' όλα αυτά όμως η χρησιμοποίησή τους παραμένει περιορισμένη. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ανθρώπινη διατροφή, στην ζωική διατροφή καθώς και σε άλλες εφαρμογές όπως για την ακινητοποίηση κυττάρων. Ειδικοί πρότειναν ότι είναι ένας αποδοτικός φορέας ακινητοποίησης λόγω της δυνατότητας επαναχρησιμοποίησης, της άφθονης διαθεσιμότητας και του αδρανές μη τοξικού χαρακτήρα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. Ζυθοποιείο

Γενικά

Ζυθοποιία είναι η επιστήμη που ασχολείται με την παραγωγή του ζύθου, δηλαδή της μπίρας. Η μπίρα, ή μπύρα και στην ελληνική ζύθος, αποτελεί ένα πολύ κοινό αλκοολούχο ποτό. Κύρια συστατικά της είναι το νερό, η βύνη και ο λυκίσκος, ενώ παράγεται μέσα από την διαδικασία της ζύμωσης. Παράγεται σε πολλές διαφορετικές παραλλαγές και κάθε ζυθοποιός είναι σε θέση να παρασκευάσει μπύρα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά.

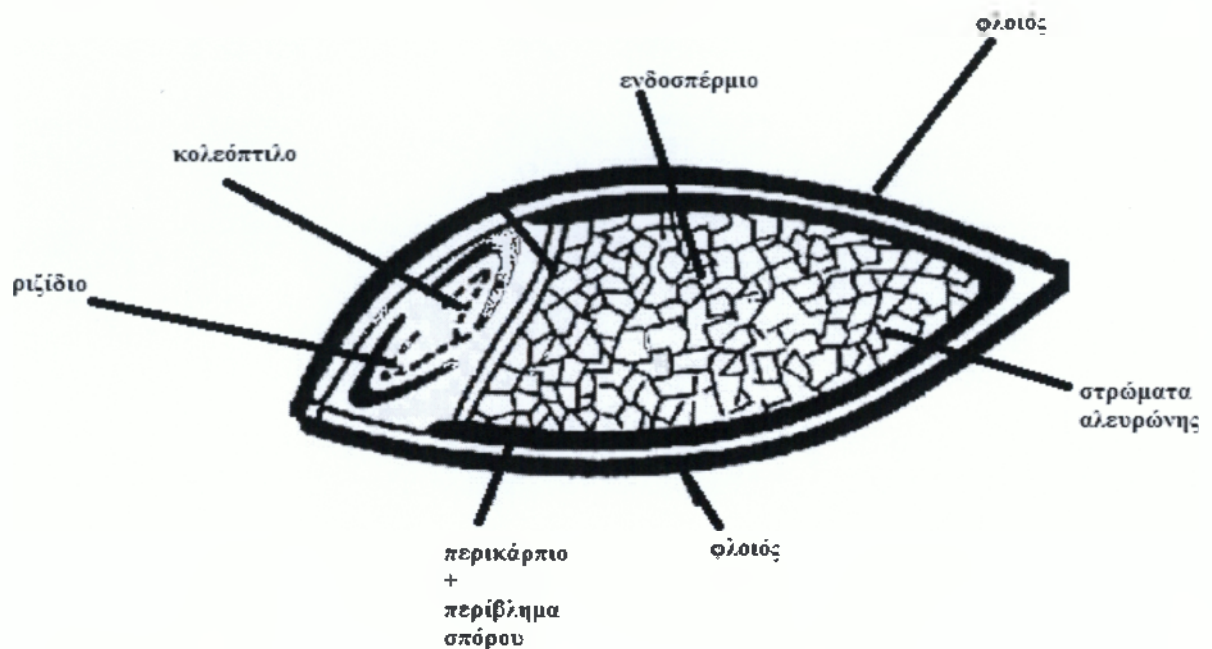
Οι βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή μπύρας είναι:

- Το νερό: χρησιμοποιείται πόσιμο νερό χαμηλής περιεκτικότητας σε άλατα. Διακρίνουμε το νερό που χρησιμοποιείται κατά την διαδικασία της βυνοποίησης και το νερό που χρησιμοποιείται κατά το βρασμό και τη ζύμωση. Μόνο το δεύτερο περιέχεται στην μπύρα που παράγεται τελικά. Το νερό κατά παράδοση παίζει κύριο ρόλο στην παραγωγή μπύρας. Οι κλασσικοί τύποι μπύρας Pilsner, Wiener, Munchner, Dortmunder δεν είναι νοητοί χωρίς το αντίστοιχο νερό της περιοχής. Το «σκληρό νερό» σχηματίζεται όταν το αρχικά «μαλακό» βρόχινο νερό κατά την διαδρομή του μέσω του υπεδάφους, εμπλουτίζεται με άλατα, κυρίως άλατα μετάλλων του ασβεστίου και μαγνησίου. Αυτά τα μέταλλα σχηματίζουν άλατα με ανθρακικό οξύ και δημιουργούν την ανθρακική σκληρότητα. Άλατα αυτών των μετάλλων με άλλα οξέα δημιουργούν την μη ανθρακική σκληρότητα και το άθροισμα των δύο σκληροτήτων μαζί, αποτελούν την ολική σκληρότητα. Η μη ανθρακική σκληρότητα δεν έχει μεγάλη σημασία για την ζυθοποίηση, αντίθετα με την ανθρακική σκληρότητα που έχει πάρα πολύ μεγάλη. Η σχέση μεταξύ σκληρότητας του νερού και ποιότητας μπύρας είναι πολύ πολύπλοκη. Η επίδραση της σκληρότητας του νερού είναι τόσο δυσάρεστη όσο πιο ανοιχτόχρωμη είναι και όσο πιο μεγάλη περιεκτικότητα λυκίσκου έχει η

μπύρα. Μια σκουρόχρωμη μπύρα με λίγο λυκίσκο, όπως η κλασική μπύρα του Μονάχου, μπορεί να ζυθοποιηθεί χωρίς πρόβλημα, με το νερό ου Μονάχου. Αντίθετα μία μπύρα του τύπου Pils, απαιτεί για την παραγωγή της πολύ μαλακό νερό. Σήμερα είναι πλέον τεχνικά δυνατόν από κάθε νερό, με οποιαδήποτε σκληρότητα να παρασκευασθεί ένα νερό με την επιθυμητή σκληρότητα [1].

- Το κριθάρι: χρησιμοποιείται δίστιχο κριθάρι, συνήθως φτωχό σε πρωτεΐνες και πλούσιο σε άμυλο. Ορισμένα είδη μπύρας είναι σύνηθες να χρησιμοποιούνται μαζί με το κριθάρι και αλλά δημητριακά, όπως σιτάρι, βρώμη ή σίκαλη. Άλλα είδη δεν περιέχουν καθόλου κριθάρι αλλά βασίζονται αποκλειστικά σε αλλά δημητριακά. Το κριθάρι αποτελείται από τρία κύρια μέρη: το έμβryo, το ενδοσπέρμιο, και τα καλύμματα. Το τελευταίο μπορεί να χωριστεί σε τρία κλάσματα: το τρίχωμα του σπόρου, τα μύχια στρώματα γύρω από την αλευρώνη που υπερκαλύπτουν το τρίχωμα του σπόρου και τα στρώματα του περικαρπίου, τα οποία με την σειρά τους καλύπτονται από τον φλοιό του (σχήμα 1) [1, 2].

Επειδή το περικάρπιο είναι κηρώδη και κάπως αδιάβροχο, και το τρίχωμα του σπόρου ενεργεί ως μια ημιδιαπερατή μεμβράνη, το περικάρπιο-σπόρος μέσω του τριχώματος καθορίζει ουσιαστικά το εξωτερικό και το εσωτερικό του πυρήνα. Ο φλοιός παρέχει εξωτερική προστασία του σιτηρού και είναι ένας πολύπλευρος, νεκρός ιστός που αποτελείται κυρίως από κυτταρικά τοιχώματα ξυλοκυτταρίνης, αλλά περιέχει και μικρές ποσότητες πρωτεϊνών ρητινών και ταννίνων [3].



Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση ενός πυρήνα κριθαριού σε κατά μήκος τομή [3].

- Λυκίσκος: αποτελεί φυτό και ως πρώτη ύλη για την μπίρα χρησιμοποιούνται μόνο τα θηλυκά άνθη του επειδή τα άνθη του μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο στην μη γονιμοποιημένη μορφή (εικ. 2). Σε αυτά περιέχονται ρητίνες, οι οποίες κατά το βρασμό αποδίδουν τις αρωματικές και γευστικές ουσίες της μπίρας. Επίσης ο λυκίσκος περιέχει τανίνες και οργανικά οξέα που δρουν ως συντηρητικά. Προστίθενται στη μύρα διότι:
 - i. Απομακρύνει πρωτεΐνες από το ζυθογλεύκος και βοηθάει στην διαύγαση της μύρας.
 - ii. Προσδίδει στην μύρα μία ευχάριστη πικράδα και άρωμα.
 - iii. Αυξάνει την συντήρηση της μύρας
 - iv. Βοηθάει στον σχηματισμό του αφρού

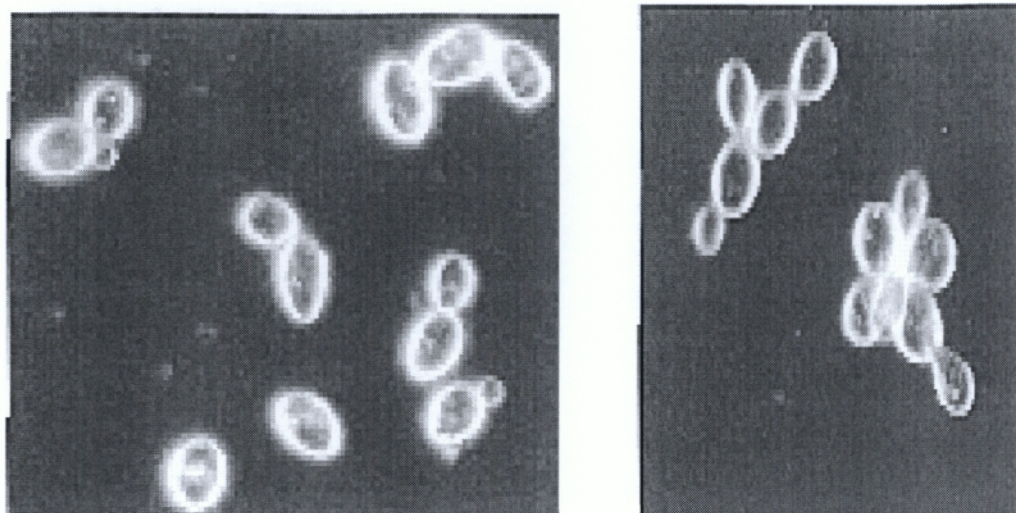
Ο λυκίσκος φύεται στην Γερμανία μόνο όμως σε περιοχές με ευνοϊκό κλίμα. Διακρίνεται ανάλογα με τον τόπο προέλευσής του. Τα είδη του λυκίσκου διαφέρουν εν μέρει

σημαντικά, στην ένταση (της πικρότητας και του αρώματος) πράγμα το οποίο πρέπει να προσεχθεί κατά την προσθήκη του. Προτιμάται η χρησιμοποίηση της μορφής του αλεσμένου λυκίσκου σε πέλλετς, αν και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε άλλες μορφές (ως ολόκληρα άνθη ή ως εκχύλισμα). Ο λυκίσκος σε κάθε μορφή του, είναι ευαίσθητος στις συνθήκες αποθήκευσής του. Πρέπει να διατηρείται σε δροσερό (0°C) και ξηρό μέρος διότι αλλιώς δεν χάνει μόνο την πικρική ικανότητά του αλλά μπορεί ακόμη και να καταστραφεί. Η σωστή διατήρηση του λυκίσκου γίνεται σε ψυγείο, μέσα σε κλειστά γυάλινα βάζα. Ιδιαίτερα απλή είναι η χρησιμοποίηση του λυκίσκου στη μορφή του εκχυλίσματος. Το εκχύλισμα περιέχει σε συμπυκνωμένη μορφή τις ενεργές ουσίες του λυκίσκου, έχει μεγάλη συντήρηση και η προσθήκη του μπορεί να γίνει με μεγάλη ακρίβεια [4].

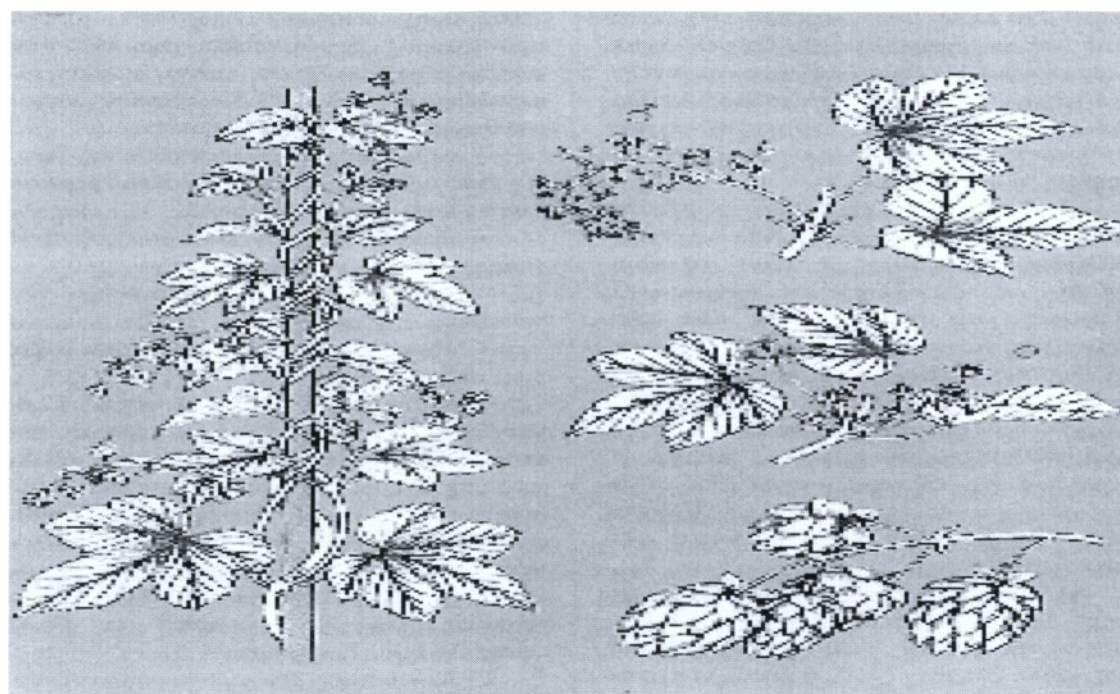
- Ζύμη (μαγιά): ως μαγιά μύρας χρησιμοποιούνται διάφορα είδη ζυμομυκήτων. Αυτά αναλαμβάνουν την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης, το μεταβολισμό δηλαδή των σακχάρων και την παραγωγή της αλκοόλης και του διοξειδίου του άνθρακα. Η επιλογή της ζύμης, σχετίζεται κάθε φορά με το είδος της μπίρας που θα παραχθεί. Οι ζύμες αυτές απατώνται συχνά στην φύση και χρησιμοποιούνται πολλαπλά από τον άνθρωπο, όπως για την παραγωγή ψωμιού, κρασιού, αποσταγμάτων. Το ζυθογλεύκος μπορεί να ζυμωθεί και από ζύμες αρτοποιίας, ή από ζύμες οινοποιίας, αλλά το αποτέλεσμα μιας τέτοιας ζύμωσης θα είναι διαφορετικό, από αυτό που θα έχουμε όταν θα χρησιμοποιηθούν ζύμες ζυθοποιίας: η ζύμωση θα έχει μία άλλη πορεία και θα σχηματισθούν άλλα δευτερεύοντα προϊόντα. Λογικά για την ζύμωση ζυθογλεύκου χρησιμοποιείται χωρίς καμία εξαίρεση πάντα ζύμη μύρας. Από αυτή την ζύμη μύρας υπάρχουν πάλι δύο διαφορετικοί τύποι, οι ζύμες αφρού και οι ζύμες βυθού. Οι ζύμες αφρού, είναι η πρωταρχική μορφή της ζύμης της μύρας. Οι ζύμες πολλαπλασιάζονται κυρίως με διαίρεση κυττάρων, από ένα κύτταρο ζύμης σχηματίζονται 2 καινούρια, από αυτά πάλι τέσσερα, οκτώ και ούτο καθ'εξής. Οι αφοζύμες μετά την διαίρεσή τους παραμένουν μαζί σε χαλαρά συνδεδεμένες ομάδες, κρέμονται κατά κάποιον τρόπο η μία από την άλλη (εικ.1). Αυτές οι ομάδες δημιουργούν αντίσταση στις μικρές φυσαλίδες του CO₂ που ανέρχονται και έτσι οι ζύμες μεταφέρονται στην επιφάνεια και κινούνται επάνω στον αφρό, ως ένα λερωμένο

καφετί χρώμα –εξ αυτού και το όνομα ζύμωση αφρού και αφροζύμες. Μπορεί να παραχθεί ακόμα και σε θερμοκρασίες ζύμωσης 15-20°C, μία κανονική μύρα, έτσι η ζυθοποίηση με αφροζύμες απαιτεί λίγες εγκαταστάσεις ψύξης και είναι δυνατόν χωρίς μεγάλα τεχνικά μέσα, οι ζυθοποιήσεις να γίνονται καθ' όλη την διάρκεια του έτους. Σε αντίθεση με τις ζύμες αφρού, στις ζύμες βυθού παράγονται κατά την διαίρεση των κυττάρων εντελώς μεμονωμένα νέα κύτταρα και έτσι αυτά δεν φέρουν μεγάλη αντίσταση στις μικρές φυσαλίδες του CO₂ και δεν μεταφέρονται προς τα επάνω αλλά καθιζάνουν στον πυθμένα του δοχείου ζύμωσης, εξ ου και το όνομα βυθοζύμες. Οι βυθοζύμες απαιτούν πολύ χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης που κατά την διάρκεια της ωρίμανσης φθάνουν και μέχρι τους 0°C. Έτσι παλαιότερα οι μύρες με βυθοζύμες μπορούσαν να παραχθούν μόνο το χειμώνα. Με την εφεύρεση της ψυκτικής μηχανής αυτό έγινε δυνατόν και για όλη την διάρκεια του έτους. Οι χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης και ωρίμανσης καθιστούν δυνατόν οι μύρες που παράγονται με βυθοζύμες να δεσμεύουν πολύ περισσότερο διοξείδιο του άνθρακα από αυτές που έχουν παραχθεί με αφροζύμες και έτσι αυτές να διακρίνονται για μεγαλύτερη φρεσκάδα. Η ωρίμανση διαρκεί περισσότερο αλλά η διάρκεια ζωής της μύρας είναι μεγαλύτερη. Σήμερα η ζυθοποίηση γίνεται κυρίως με βυθοζύμες –στην Γερμανία το 84% της παραγωγής της μύρας γίνεται με ζύμες που ανήκουν σ' αυτήν την οικογένεια.

Παρά το γεγονός πως η παραγωγή της μπίρας μπορεί να εμφανίζει διάφορες παραλλαγές στην τεχνική, η σύγχρονη ζυθοποιία περιλαμβάνει τέσσερα βασικά και απαραίτητα στάδια όπου είναι η βυνοποίηση, ο βρασμός, η ζύμωση και η μετακόμιση. Το τελικό στάδιο αποτελεί η εμφιάλωση της παραγόμενης μύρας [5].



Εικόνα 1. Φωτογραφίες ζυμών στο μικροσκόπιο. Αριστερά ζύμες βυθού (*Saccharomyces carlsbergensis*). Δεξιά ζύμες αφρού (*Saccharomyces cerevisiae*). Φαίνεται καθαρά ότι οι ζύμες αφρού, σχηματίζουν μεγαλύτερες ομάδες κυττάρων, συνδεδεμένων μεταξύ τους [5].



Εικόνα 2. Λυκίσκος. Δεξιά στην εικόνα επάνω και το μέσον απεικονίζονται τα αρσενικά και τα θηλυκά άνθη του λυκίσκου. Δεξιά στην εικόνα κάτω, απεικονίζονται ώριμες θηλυκές ταξιανθίες έτοιμες για συγκομιδή [4].

1.1 Η σημασία της βυνοποίησης

Η βύνη είναι η βασική πρώτη ύλη για την παραγωγή μπίρας και ίσως έτσι είναι αυτή πλατιά γνωστή. Πέρα από αυτό υπάρχει γενική ασάφεια, του τι ακριβώς είναι η βύνη.

Η βύνη παράγεται κυρίως από το κριθάρι (βύνη κριθαριού) αλλά και το σιτάρι μπορεί να βυνοποιηθεί (βύνη σιταριού). Θεωρητικά και τα άλλα δημητριακά θα μπορούσαν να βυνοποιηθούν. Δοκιμές όμως έδειξαν ότι για διάφορους λόγους από τα άλλα δημητριακά δεν μπορούν να παραχθούν κατάλληλες βύνες. Γιατί η βύνη από κριθάρι, είναι η κύρια πρώτη ύλη μυθοποίησης.

Μη βυνοποιημένο κριθάρι δεν θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί κατ' ευθείαν για την παραγωγή αλκοολούχων ποτών, διότι η ζύμη παράγει αλκοόλη μόνο από ζυμώσιμα σάκχαρα. Το κριθάρι όμως περιέχει ελάχιστες ποσότητες ζυμώσιμων σακχάρων, αντίθετα περιέχει μεγάλες ποσότητες άμυλου (μη ζυμώσιμο σάκχαρο). Το άμυλο από χημικής σύστασης είναι μια μεγαλομοριακή ένωση που αποτελείται από μόρια γλυκόζης (ζυμώσιμο σάκχαρο).

Στον κόκκο του κριθαριού το άμυλο αποτελεί την κύρια αποθησαυριστική ουσία για την ανάπτυξη του εμβρύου, αλλά δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως έχει. Πρέπει πρώτα με την βοήθεια ενζύμων να αποικοδομηθεί. Τα ένζυμα είναι πρωτεϊνικές ενώσεις οι οποίες καταλύουν αντιδράσεις χωρίς αυτά τα ίδια να λαμβάνουν μέρος στις αντιδράσεις αυτές.

Κατά την βλάστηση του κριθαριού σχηματίζονται τέτοια ένζυμα τα οποία αποικοδομούν το άμυλο και άλλες μεγαλομοριακές ενώσεις σε μικροβιακές. Έτσι εξασφαλίζεται η τροφοδότηση του εμβρύου με θρεπτικές ουσίες και αναπτύσσεται το ριζίδιο και το βλαστίδιο.

Κατά την διαδικασία της βυνοποίησης όταν έχουν σχηματισθεί αρκετά τέτοια ένζυμα, σταματάμε με ξήρανση και φρύξη την βλάστηση, την διεργασία ανάπτυξης.

Ανάλογα με τον τρόπο και τον τύπο της μπίρας που θα παραχθεί, η βύνη λαμβάνει περισσότερο ή λιγότερο έντονο χρωματισμό. Η ξήρανση πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή ώστε να διατηρηθούν τα ένζυμα ενεργά. τα ένζυμα αυτά παίζουν κύριο ρόλο στην πολτοποίηση [6].

1.2 Η διαδικασία της βυνοποίησης

Καταρχάς στο βυνοποιείο τα σιτηρά καθαρίζονται. Σκόνη, ξένες ύλες και σπασμένοι κόκκοι διαχωρίζονται. Μετά αρχίζει η πραγματική βυνοποίηση, και το κριθάρι φέρεται για βλάστηση. Ο κόκκος του κριθαριού όμως για να βλαστήσει χρειάζεται όπως όλα τα σιτηρά, νερό [4]. Σε δεξαμενές διαβροχής (μεγάλες κυλινδρικές δεξαμενές), που περιέχουν όπως μαρτυρά και το όνομα τους μεγάλη περιεκτικότητα νερού, τοποθετείται το κριθάρι και αφήνεται να μουλιάσει για 2 με 3 μέρες περίπου. Μόλις περάσουν γίνεται ένας ποιοτικός διαχωρισμός, στον οποίο αφαιρούνται οι κόκκοι που επιπλέουν και συγκεντρώνονται οι μουλιασμένοι κόκκοι με το ζητούμενο ποσοστό υγρασίας, ώστε να μεταφερθούν στα δοχεία βλάστησης. Εκεί σε σταθερές και ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας ο κόκκος αναπτύσσεται για να δημιουργήσει την πράσινη βύνη, που σημειωτέον έχει διπλάσιο μήκος από τον αρχικό σπόρο. Το βήμα εκβλάστησης που περιγράφουμε χρειάζεται 7 έως 10 μέρες για να ολοκληρωθεί. Ακολουθεί η ξήρανση της πράσινης βύνης που ονομάζεται διαφορετικά φρύξη. Η θερμοκρασία στη φάση φρύξης, που κρατάει μία μέρα, κυμαίνεται από 85-105°C και στο τέλος της το ποσοστό νερού στη ξηρή βύνη είναι 2-3% σε σύγκριση με την αρχική πράσινη βύνη που έφτανε το 45%. Στο σημείο αυτό υπάρχει μια ακόμα προσθήκη ανάλογα με το τύπο βύνης που θέλουμε να παραλάβουμε, δηλαδή πολλές φορές οι βύνες υφίστανται μια επιπλέον κατεργασία καβουρντίσματος και με αυτό τον τρόπο παραλαμβάνουμε τις καστανές και σκούρες βύνες για την παραγωγή αντίστοιχων μυρών. Μάλιστα όσο πιο έντονο είναι αυτό το καβούρντισμα τόσο πιο βαθιά και σκούρα είναι τα χρώματα της παραγόμενης μύρας [6].

Μετά το στάδιο της φρύξης με ή χωρίς επιπλέον επεξεργασία έρχεται η στίλβωση της βύνης, που δεν είναι τίποτα άλλο από μια φάση καθαρισμού για να γίνει η άλεση και στη συνέχεια ο βρασμός της θρυμματισμένης βύνης με κατεργασμένο νερό.

Κατά το στάδιο της συνεύρεσης του νερού και της βύνης δρουν διάφορα ένζυμα και διασπούν τα συστατικά της βύνης σε σάκχαρα και πρωτεΐνες. Αυτό το μείγμα μεταφέρεται σε λέβητες ψησίματος στους 78 βαθμούς κελσίου και σχηματίζει το ζυθογλεύκος. Σε αυτό το ζυθογλεύκος που βράζει προστίθεται σε διαφορετικά στάδια ο λυκίσκος (σε ποσότητες ανάλογα με την πικράδα που θέλουμε να δώσουμε στη μύρα).

Μόλις τελειώσει ο χρόνος βρασμού που ποικίλει και εξαρτάται από την επιθυμητή πυκνότητα της μύρας το ζυθογλεύκος μεταφέρεται μέσα από αντλίες σε αναδευτήρες για την απομάκρυνση των στερεών υπολειμμάτων και εναλλάκτες ροής για την απόκτηση της κατάλληλης θερμοκρασίας. Αυτό είναι απαραίτητο γιατί ο βρασμός γίνεται σε υψηλές θερμοκρασίας και για να προστεθούν οι ζύμες και να αρχίσει το επόμενο βασικό στάδιο που είναι η ζυθοποίηση θα πρέπει να πέσουν οι θερμοκρασίες συγκεκριμένα για τις βυθοζύμες στους 6-9 βαθμούς κελσίου και για τις αφροζύμες στους 18-21 βαθμούς.

1.3 Ζυθοποίηση

Κατά το βρασμό και την παραλαβή του ζυθογλεύκους μετατράπηκαν τα σάκχαρα της βύνης σε ζυμώσιμα. Επομένως το παραπάνω ζυθογλεύκος μεταφέρεται στις δεξαμενές ζύμωσης όπου προστίθεται η μαγιά για να ξεκινήσει η ζύμωση.

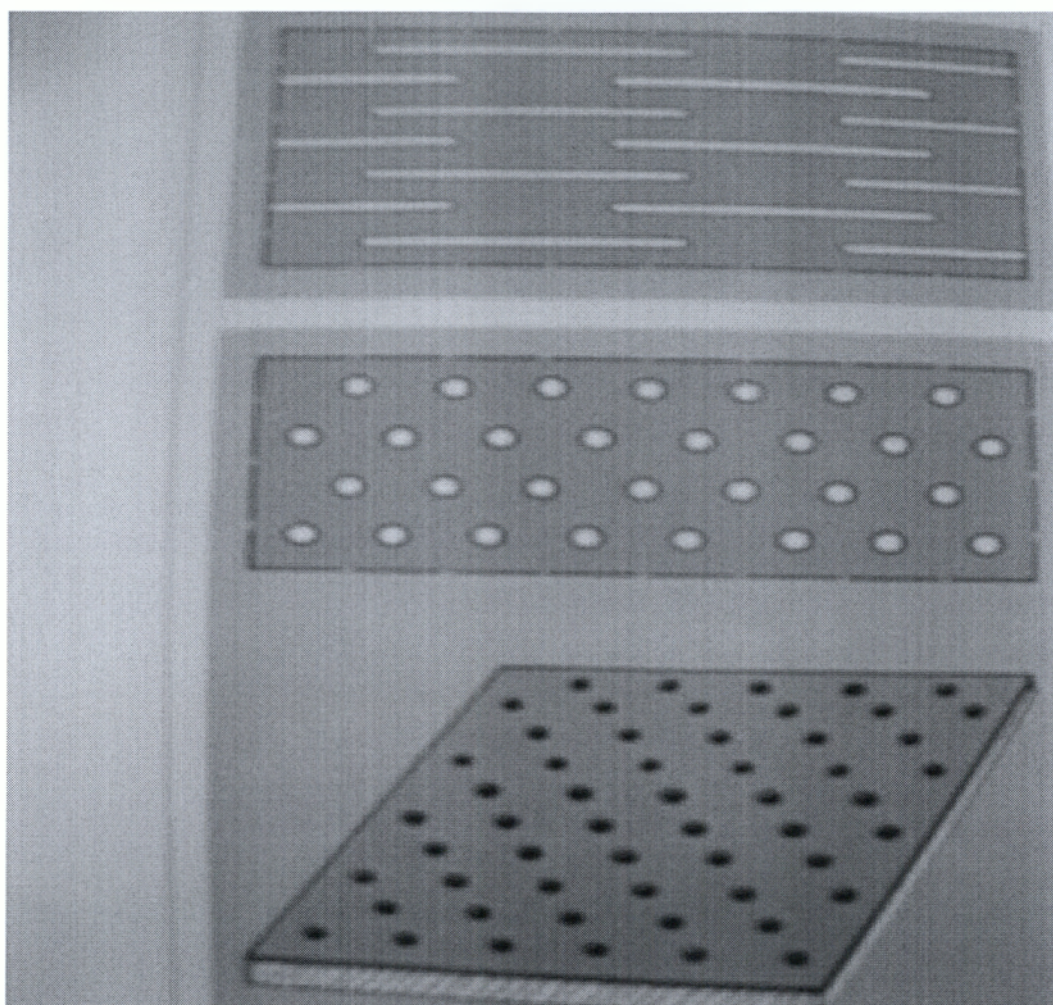
Ανεξάρτητα από το είδος μαγιάς που θα επιλέξουμε (όπως αναφέραμε υπάρχουν δυο κατηγορίες οι μαγιές που δρουν στην επιφάνεια και αντίθετα αυτές που λειτουργούν στο πάτο της δεξαμενής), η δουλειά τους είναι να μετατρέπουν τα σάκχαρα σε αλκοόλη και διοξείδιο του άνθρακα για να παραλάβουμε την μύρα.

Οι δεξαμενές που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι κυρίως ανοξείδωτες με κωνικό πάτο και κυλινδρική κορυφή. Ο κωνικός πάτος που έχει άνοιγμα περίπου 60 μοιρών επιτρέπει την συλλογή των στερεών υπολειμμάτων και της ζύμης (στην περίπτωση των βυθοζυμών) στην κορυφή του και από εκεί την εύκολη απομάκρυνση τους. Παλιότερα χρησιμοποιούσαν ξύλινες δεξαμενές ή ανοιχτές. Μπορούμε και σήμερα να συναντήσουμε κάποιες ανοιχτές δεξαμενές κυρίως σε ζυθοεστιατόρια της Ευρώπης αλλά σε αυτή τη περίπτωση χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή στην διατήρηση της μύρας που έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο.

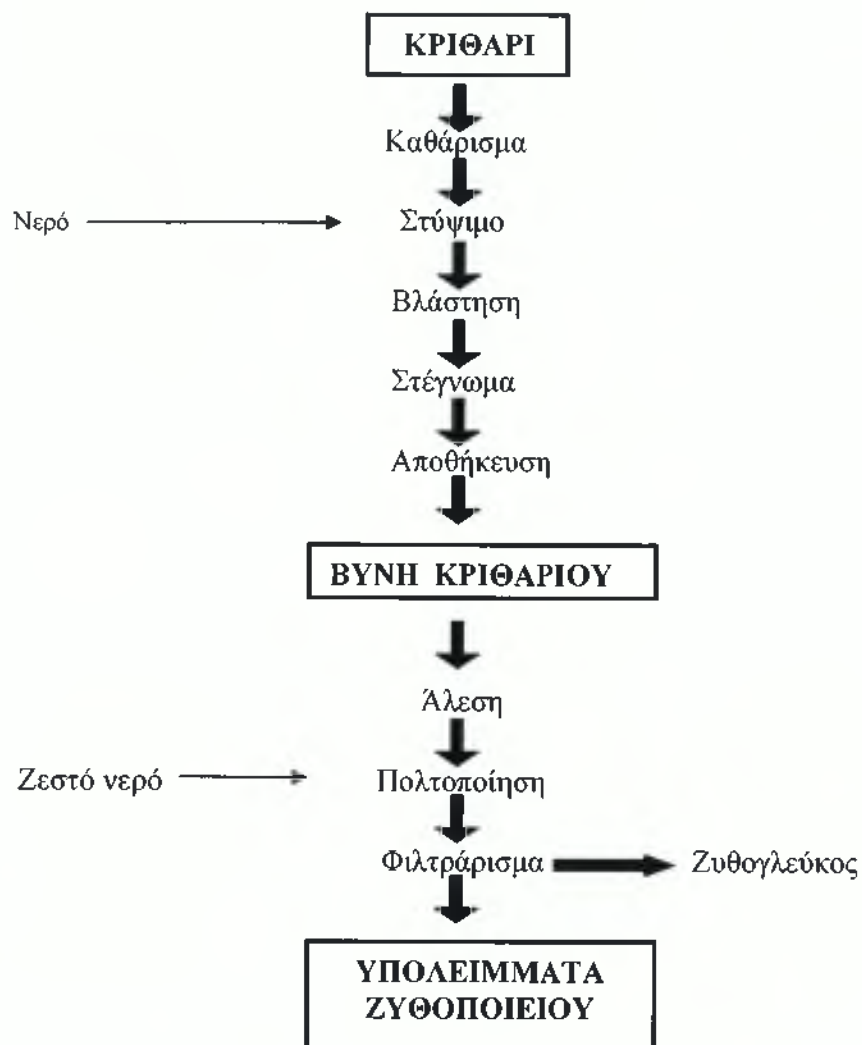
Σε γενικές γραμμές η ζύμωση με τη βοήθεια βυθοζυμών κρατάει 8-12 ημέρες, ενώ στη περίπτωση που συμμετέχουν αφροζύμες οι μέρες μειώνονται σε 2-5. Μετά το τέλος της ζυθοποίησης λαμβάνει χώρα η περίοδος ωρίμανσης που γίνεται μέσα στις δεξαμενές σε

χαμηλές θερμοκρασίες περίπου 0 – 2 βαθμούς κελσίου για 4 έως 8 βδομάδες (ανάλογα με το τύπου της μύρας ξανθιές ή σκούρες, γενικά οι ξανθιές θέλουν λιγότερο χρόνο από τις σκουρόχρωμες). Την περίοδο αυτή οι μύρες εξελίσσονται, μαλακώνουν και καθαρίζουν.

Μόλις περάσει ο χρόνος ξεκούρασης στις δεξαμενές τη σκυτάλη έχει η διαύγαση της μύρας ή αλλιώς το φιλτράρισμα. Είναι πολύ σημαντικό στάδιο και χρειάζεται προσοχή, γιατί από τη μια, από αυτό εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό η σταθεροποίηση και η λαμπερή εικόνα της μύρας στο ποτήρι και από την άλλη θα πρέπει να έχει την σωστή ισορροπία για να μην χάνονται πολλά από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της μύρας που την κάνουν να ξεχωρίζει. Υπάρχουν λοιπόν πολλά είδη φίλτρων όπως και τρόποι φιλτραρίσματος τα πιο συνηθισμένα είναι αυτά που γίνονται με μια ειδική σκόνη που ονομάζεται γη διατόμου ή με εκείνα που χρησιμοποιούν κάποιες πλάκες με συγκεκριμένους πόρους που απομακρύνουν τα ανεπιθύμητα σωματίδια (εικ.3). Στην συνέχεια ακολουθεί εμφιάλωση και αποθήκευση αφού πρώτα γίνει παστερίωση για την θανάτωση διαφόρων μικροοργανισμών. Η διαδικασία που ακολουθείται μέχρι την απόκτηση υπολειμμάτων ζυθοποιείου, φαίνεται και στο σχήμα 2 που ακολουθεί.



Εικόνα 3. Επάνω, μια επιφάνεια ρυθμιζόμενου πυθμένα, όπως αυτός χρησιμοποιείται σήμερα, σχεδόν αποκλειστικά στα ζυθοποιεία. Στο μέσο φαίνεται η διάταξη που έχουν οι τρύπες σε έναν ρυθμιζόμενο πυθμένα που χρησιμοποιεί ο ερασιτέχνης ζυθοποιός. Κάτω φαίνεται ένας πλήρης συναρμολογημένος ρυθμιζόμενος πυθμένας [7].



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας για την απόκτηση υπολειμμάτων από φυσικό κριθάρι [8].

Κεφάλαιο 2

Υπολείμματα ζυθοποιείου

Τα υπολείμματα ζυθοποιείου είναι το κύριο υποπροϊόν της παραγωγής βύνης, που αντιπροσωπεύουν περίπου το 85% του συνόλου από τα προϊόντα που παράγονται. Είναι ένα λιγνοκυτταρινούχο υλικό που περιέχει περίπου 17% κυτταρίνη, 28% μη κυτταρικούς πολυσακχαρίτες, κυρίως αραβοξυλάνες και 28% λιγνίνη [8]. Είναι ένα στερεό απόβλητο γεωργικών προϊόντων που παράγεται μετά το στάδιο της πολτοποίησης. Είναι διαθέσιμα σε μεγάλες ποσότητες στην διάρκεια του έτους, αλλά η κύρια εφαρμογή τους έχει περιοριστεί σε ζωοτροφές. Παρ' όλα αυτά, εξαιτίας της πλούσιας περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνη και φυτικές ίνες, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθούν και ως ένα ελκυστικό συμπλήρωμα στην ανθρώπινη διατροφή.

Σήμερα, υπάρχει μεγάλη πολιτική και κοινωνική πίεση για την μείωση της ρύπανσης που προκαλούν οι βιομηχανικές δραστηριότητες. Σχεδόν όλες οι αναπτυγμένες και υπανάπτυκτες χώρες προσπαθούν να προσαρμοστούν σε αυτήν την πραγματικότητα με την τροποποίηση των διαδικασιών τους, έτσι ώστε τα κατάλοιπά τους, να μπορούν να ανακυκλωθούν. Κατά συνέπεια οι περισσότερες μεγάλες εταιρείες δεν θεωρούν πλέον τα απόβλητά τους ως υπολείμματα, αλλά ως πρώτη ύλη για άλλες διαδικασίες. Η βιομηχανία της ζυθοποιίας παράγει σχετικά μεγάλες ποσότητες υποπροϊόντων και αποβλήτων: υπολείμματα δημητριακών, λυκίσκου και μαγιάς. Ωστόσο, καθώς τα περισσότερα από αυτά είναι γεωργικά προϊόντα, μπορούν εύκολα να ανακυκλωθούν και να επαναχρησιμοποιηθούν. Έτσι, σε σύγκριση με άλλους κλάδους, ο τομέας της ζυθοποιίας έχει την τάση να είναι πιο φιλικός προς το περιβάλλον [9].

Συμφώνα με τον Townsley (1979) [10] τα κατάλοιπα σιτηρών αντιστοιχούν κατά μέσο όρο στο 31% του αρχικού βάρους της βύνης, που αντιπροσωπεύουν περίπου 20 κιλά ανά 100 λίτρα μύρας. Είναι διαθέσιμα σε χαμηλό ή μηδενικό κόστος όλο το χρόνο, και παράγονται σε μεγάλες ποσότητες, όχι μόνο από μεγάλες, αλλά και από μικρές ζυθοποιίες.

2.1 Χαρακτηριστικά υπολειμμάτων ζυθοποιείου

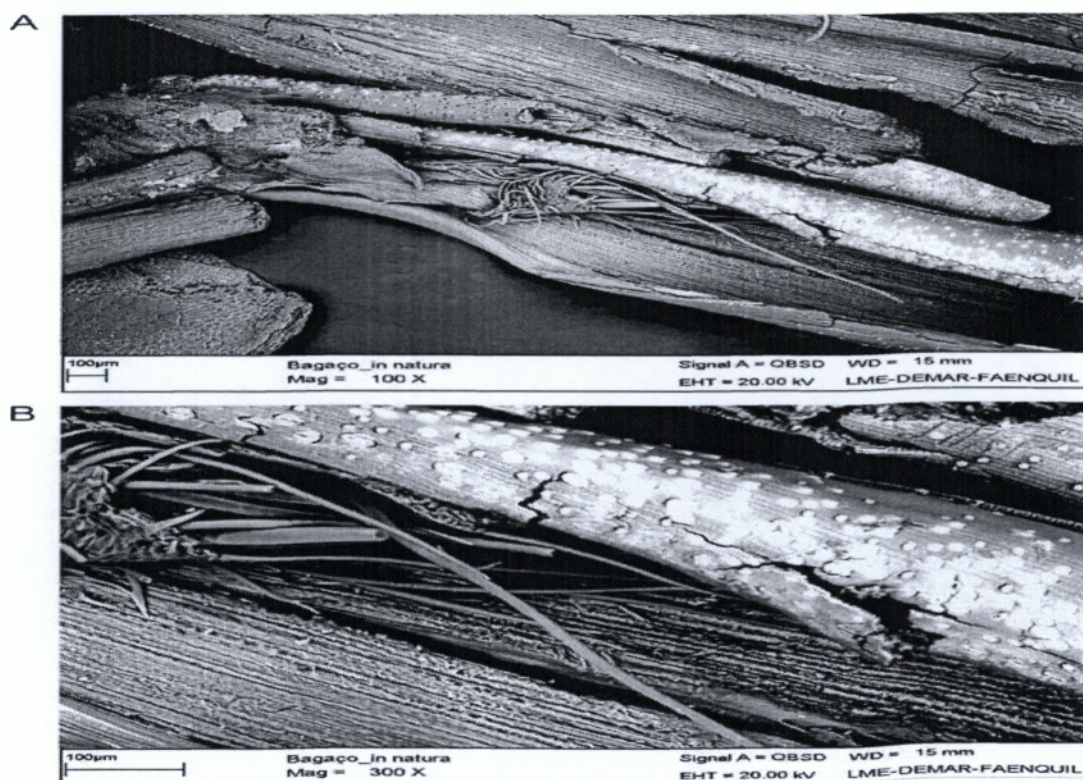
Τα κύρια συστατικά των υπολειμμάτων ζυθοποιείου είναι τα τείχη του φλοιού-περικάρπιου-σπόρου, που είναι πλούσια σε κυτταρίνη και μη κυτταρινικούς πολυσακχαρίτες, λιγνίνη και μπορεί να περιέχουν πρωτεΐνες και λιπίδια. Ο φλοιός περιέχει επίσης σημαντικές ποσότητες διοξειδίου του πυριτίου και ένα μεγάλο μέρος των πολυφαινολικών συστατικών του σπόρου κριθαριού [11]. Σύμφωνα με τον Kunze (1996) [2], το 25% των ανόργανων στοιχείων που περιέχονται στο κριθάρι είναι παρόντες ως πυριτικά άλατα. Η εικ. 2.1 δείχνει την εμφάνιση ενός σωματιδίου υπολείμματος με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Τα φωτεινά σημεία στο εξωτερικό τμήμα του φλοιού είναι πυριτικά άλατα.

Η χημική σύνθεση των υπολειμμάτων ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία του κριθαριού, την εποχή της συγκομιδής, τις συνθήκες βυνοποίησης και πολτοποίησης, το είδος και η ποιότητα των πρόσθετων που προστίθενται κατά την διαδικασία παρασκευής [12,13] αλλά σε γενικές γραμμές, τα υπολείμματα ζυθοποιείου θεωρούνται ως λιγνοκυτταρινούχα υλικά πλούσια σε πρωτεΐνες και φυτικές ίνες, οι οποίες αντιπροσωπεύουν περίπου το 20 και το 70% της σύνθεσής του αντίστοιχα.

Μικροσκοπική εξέταση δείχνει την παρουσία πολλών ινώδων ιστών από τα επιφανειακά στρώματα του αρχικού σπόρου κριθαριού (εικ.4). Τα κύρια συστατικά αυτών των ινώδων ιστών είναι αραβοξυλάνη, λιγνίνη (ένα πολυφαινολικό μακρομόριο) και κυτταρίνη (ένα γραμμικό ομοπολυμερές μονάδων γλυκόζης). Δόκιμες έδειξαν ότι οι πρωτεΐνες και οι φυτικές ίνες είναι ιδιαίτερα συγκεντρωμένες στα κατάλοιπα των κόκκων επειδή το μεγαλύτερο μέρος του άμυλου του κριθαριού αφαιρείται κατά την διάρκεια της πολτοποίησης [14].

Ανόργανα άλατα, βιταμίνες και αμινοξέα, επίσης, βρεθήκαν σε υπολείμματα ζυθοποιείου. Τα μεταλλικά στοιχεία περιλαμβάνουν το ασβέστιο, κοβάλτιο, χαλκό, σίδηρο, μαγνήσιο, μαγγάνιο, φωσφόρο, κάλιο, σελήνιο, νάτριο και θείο, όλα σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από 0.5% [12,15]. Οι βιταμίνες περιλαμβάνουν (ppm): βιοτίνη (0,1), θειαμίνη (0,7), χολίνη (1800), φολικό οξύ (0.2), νιασίνη (44), παντοθενικό

οξύ (8,5), ριβοφλαμίνη (1,5), θειαμίνη (0.7) και πυριδοξίνη (0.7). Οι πρωτεΐνες που περιλαμβάνονται είναι οι εξής: λεύκινη, βαλίνη, αλανίνη, σερίνη, γλυκίνη, γλουταμινικό οξύ και ασπαρτικό οξύ σε μεγαλύτερα ποσά και τυροσίνη, προλίνη, θρεονίνη, αργινίνη, λυσίνη σε μικρότερα ποσά. Κυστίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη και τρυπτοφάνη, μπορεί να είναι παρούσες [12,16].



Εικόνα 4. Σωματίδια υπολειμμάτων σιτηρών ζυθοποιείου με μικροσκόπιο σάρωσης. (A) Μεγέθυνση 100 φορές. (B) Μεγέθυνση 300 φορές

2.2 Αλλοίωση και τεχνικές διατήρησης υπολειμμάτων ζυθοποιείου

Χρησιμοποιήθηκαν υγρά κατάλοιπα ζυθοποιίας από μια ηθμολεκάνη που περιείχε 77-81% (w/w) νερό [12,17]. Λόγω της υψηλής υγρασίας και της περιεκτικότητας σε ζυμώσιμα σάκχαρα, τα υπολείμματα είναι ένα πολύ ασταθές υλικό και πιθανόν να επιδεινωθεί ραγδαία, λόγω της μικροβιακής δραστηριότητας. Μετά την αποθήκευση σε gannysacks (σακουλες) για 30 ημέρες, οι Sodhi et al. (1985) [18] βρήκαν οκτώ στελέχη του μύκητα *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* και *Phisopus*. Διάφορες μέθοδοι έχουν προταθεί ώστε να παραταθεί ο χρόνος αποθήκευσης των υπολειμμάτων. Μείγματα γαλακτικού, μυρμηκικού, οξικού ή βενζοϊκού οξέος με νερό και υπολείμματα συσκευαστήκαν σε πλαστικά δοχεία ώστε να βοηθηθούν για τρεις μήνες το καλοκαίρι προστατεύοντας ταυτόχρονα την θρεπτική αξία και την ποιότητα των υπολειμμάτων. Από τα οξέα, το βενζοϊκό και το μυρμηκικό ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικά [19]. Το σορβικό κάλιο είναι επίσης αποτελεσματικό για την διατήρηση πίεσης των υπολειμμάτων.

Η ξήρανση είναι μια πιθανή εναλλακτική λύση για την διατήρηση των υπολειμμάτων ζυθοποιείου, με το πλεονέκτημα ότι μειώνει επίσης τον όγκο των προϊόντων και ως εκ τούτου μειώνει τα έξοδα μεταφοράς και αποθήκευσης [13]. Η παραδοσιακή διαδικασία ξήρανσης των υπολειμμάτων βασίζεται άμεσα στην χρήση περιστροφικού τυμπάνου στεγνωτήρα, μια διαδικασία που θεωρείται ιδιαίτερα ενεργότερα. Τρεις μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την διατήρηση υπολειμμάτων ζυθοποιού είναι: λυοφιλίωση, πυριατήριο και πάγωμα, όπως αξιολογήθηκαν από τους [20]. Η κατάψυξη είναι ακατάλληλη, διότι πρέπει να αποθηκεύονται μεγάλες ποσότητες και μπορεί να συμβούν αλλαγές στο περιεχόμενο της αραβινόζης. Η διατήρηση με ξήρανση σε φούρνο ή λυοφιλίωση μειώνει τον όγκο του προϊόντος και δεν μεταβάλλει την σύνθεση του. Ωστόσο, η λυοφιλίωση είναι οικονομικά μη αποδεκτή. Ο φούρνος ξήρανσης των υπολειμμάτων πρέπει να διεξάγεται σε θερμοκρασίες κάτω των 60°C, διότι σε υψηλότερες δημιουργούνται δυσάρεστες γεύσεις [21,22]. Σε κλίβανο αποξήρανσης, μπορεί να υπάρχει κίνδυνος η θερμοκρασία του κόκκου κοντά στη έξοδο του στεγνωτήρα να αυξηθεί οδηγώντας σε ψήσιμο ή καύση των ξηρών κόκκων. Επιπλέον, ο καπνός που προκύπτει από τις στοίβες του στεγνωτήρα προκαλεί προβλήματα ρύπανσης

και οσμές [12]. Μια εναλλακτική μέθοδος ξήρανσης που θα μπορούσε να εξοικονομήσει ενέργεια είναι η χρήση υπέρθερμου ατμού [23,24] με ισχυρά επιπλέον πλεονεκτήματα συμπεριλαμβανομένης της μείωσης των περιβαλλοντικών επιπτώσεων, την βελτίωση αποδοτικότητας της ξήρανσης, την εξάλειψη του κίνδυνου πυρκαγιάς ή έκρηξης και την βελτιωμένη ανάκτηση πολύτιμων οργανικών ενώσεων.

2.3 Πιθανές εφαρμογές υπολειμμάτων ζυθοποιείου

Αν και τα υπολείμματα ζυθοποιείου είναι το κύριο υποπροϊόν παρασκευής βύνης, έχει δοθεί ελάχιστη προσοχή ως εμπορεύσιμο αγαθό και η διάθεση του είναι συχνά ένα περιβαλλοντικό πρόβλημα. Παρ' όλα αυτά, λόγω της χημικής του σύνθεσης μπορεί να έχει αξία ως πρώτη ύλη στην ζωική και ανθρώπινη διατροφή καθώς και για την παράγωγη ενέργειας.

2.3.1 Ζωική διατροφή

Μέχρι σήμερα, η κύρια εφαρμογή των υπολειμμάτων είναι οι ζωοτροφές (κυρίως για τα βοοειδή) λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε πρωτεΐνες και φυτικές ίνες. Ως ζωοτροφές, τα υπολείμματα ζυθοποιείου μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε ως υγρό υπόλειμμα, λίγο μετά το διαχωρισμό του ζυθογλεύκος σε ηθμό ή ως ένα αποξηραμένο υλικό [10, 25].

Συμφωνά με τον Huίge (1994) [12] τα υπολείμματα είναι ένα εξαιρετικό συστατικό των ζωοτρόφων για τα μηρυκαστικά, δεδομένου ότι μπορεί να συνδυαστεί με φθηνές πηγές αζώτου, όπως η σούρια και να παρέχει όλα τα αμινοξέα. Εκτός από την υψηλή διατροφική τους αξία, τα υπολείμματα αναφέρεται ότι προωθούν την αύξηση της παραγωγής γάλακτος [26]. Τα υπολείμματα όταν εντάχτηκαν στην διατροφή των αγελάδων, αυξήθηκε η απόδοση της παραγωγής γάλακτος, της συνολικής περιεκτικότητας σε στερεά και το λίπος του γάλακτος. Από την άλλη πλευρά, δεν επηρεάστηκαν το πλάσμα του αίματος, οι συγκεντρώσεις γλυκόζης, ολικής πρωτεΐνης, αλβουμίνης, σούριας, τριγλυκεριδίων, χοληστερόλης, φωσφολιπιδίων, νατρίου, καλίου,

ασβεστίου, φωσφόρου και μαγνησίου [26].

Τα υπολείμματα ζυθοποιείου παρέχουν πρωτεΐνες, φυτικές ίνες και ενέργεια και η κατανάλωσή τους έχει μελετηθεί για μια σειρά ζώων, συμπεριλαμβανομένων των πουλερικών, χοίρων και ψαριών (πίνακας 1). Συμφωνά με τους συγγραφείς Kaur και Saxena (2004) [27], τα υπολείμματα ζυθοποιείου αξιολογούνται ως υποκατάστατα για το πίτουρο ρυζιού σε μια διατροφή ψαριών και παρατηρήθηκε ότι τα ψάρια που τρέφονται με μια διατροφή που περιέχει πίτουρο ρυζιού και 30% υπολείμματα σιτηρών είχαν μια ανώτερη αύξηση του σωματικού βάρους τους σε σύγκριση με τα ψάρια που τρέφονται με πίτουρο ρυζιού μόνο. Συμφωνά με αυτούς τους συγγραφείς η καλύτερη απόδοση της ανάπτυξης οφείλεται στην αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και αμινοξέα που παρέχονται από τα υπολείμματα σιτηρών ζυθοποιείου.

Πίνακας 1. Φάσμα ζώων που ερευνάται για την κατανάλωση υπολειμμάτων ζυθοποιείου.

ΖΩΑ	ΑΝΑΦΟΡΕΣ
Αρουραίοι	[28, 29, 30, 31]
Hamsters	[32]
Κοτόπουλα	[33, 34, 35]
Αγελάδες	[26, 36]
Ψάρια	[27, 37]
Χοίροι	[38]

2.3.2 Ανθρώπινη διατροφή

Λόγο του σχετικά χαμηλού κόστους και υψηλής θρεπτικής αξίας, τα υπολείμματα έχουν

αξιολογηθεί για την παρασκευή νιφάδων ολικής αλέσεως, ψωμί, μπισκότα και σνακ. Ωστόσο τα υπολείμματα είναι πολύ κοκκώδη για απευθείας προσθήκη στα τρόφιμα και πρέπει πρώτα να μετατραπεί σε αλεύρι [28, 39, 40].

Ένα υψηλό σε πρωτεΐνη αλεύρι που παρασκευάζεται από υπολείμματα σιτηρών ζυθοποιείου είχε ενσωματωθεί επιτυχώς σε μια σειρά από προϊόντα αρτοποιίας όπως ψωμί, τηγανίτες, μπισκότα, μεικτά δημητριακά, κέικ, κρέπες κλπ [10,12]. Παρ όλα αυτά, υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί στην χρήση των αλεύρων ως πρόσθετη πρωτεΐνη ή μερική αντικατάσταση για άλευρα που χρησιμοποιούνται σήμερα, λόγο του χρώματος και της γεύσης του. Τα υπολείμματα έχουν καστανό χρώμα όταν είναι υγρά κι έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε προϊόντα όπως, τα ανοιχτόχρωμα μπισκότα, κέικ, ψωμί ή μακαρόνια τα οποία είναι κατασκευασμένα εξ' ολοκλήρου από αλεύρι ολικής αλέσεως. Επιπλέον λόγο των αλλαγών στην γεύση και των φυσικών ιδιοτήτων (πχ υφή) των τελικών προϊόντων, μόνο σχετικά μικρές ποσότητες μπορούν να ενσωματωθούν (5-10) [10, 28].

Τα κατάλοιπα σιτηρών ζυθοποιείου βελτιώνουν την θρεπτική αξία του ψωμιού [28]. Η προσθήκη του 10% καταλοίπων αυξάνει την πρωτεΐνη και το απαραίτητο αμινοξύ κατά 50 και 10% αντίστοιχα και διπλασιάζει την περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες σε σύγκριση με τα παραδοσιακά ψωμιά χωρίς κατάλοιπα σιτηρών. Επιπλέον, το ψωμί αυτό έχει 7% περίπου λιγότερες θερμίδες από το παραδοσιακό ψωμί. Η θερμιδική πυκνότητα των κατάλοιπων σιτηρών ζυθοποιείου είναι περίπου το μισό των περισσότερων σιτηρών [12]. Ορισμένες ιδιότητες του αλεύρου με κατάλοιπα σιτηρών σε τρόφιμα παρατίθενται στον πίνακα 2.2.

2.3.3 Παράγωγή ενέργειας

Άλλη προτεινόμενη χρήση των κατάλοιπων σιτηρών ζυθοποιείου είναι η παραγωγή ενέργειας, είτε μέσω της άμεσης καύσης ή με ζύμωση για την παραγωγή βιοαερίου (μείγμα μεθανίου 60-70%, διοξείδιο του άνθρακα και μικρά ποσοστά μονοξειδίου του υδρογόνου, αζώτου και άνθρακα) [41,42].

Μια εναλλακτική δυνατότητα για την παραγωγή ενέργειας από κατάλοιπα σιτηρών, είναι μέσω της αναερόβιας ζύμωσης, η οποία είναι αποτελεσματική μόνο εάν διαιρείται σε υδρευτική και μεθανογενή κοιλότητα.

2.3.4. Παραγωγή ξυλάνθρακα

Πρόσφατα οι Okamoto et al. (2002) [43] ανέπτυξαν μια διαδικασία για την παραγωγή τούβλων από κάρβουνο υπολειμμάτων ζυθοποιείου, αξιολογώντας τις φυσικές και χημικές ιδιότητές του. Κατά την διαδικασία αυτή τα υπολείμματα ζυθοποιείου (67% περιεκτικότητα σε νερό) ήταν αποξηραμένα, πιεσμένα και απανθρακωμένα σε ατμόσφαιρα χαμηλού οξυγόνου. Τα τούβλα αυτά που παράχθηκαν με αυτόν τον τρόπο, περιέχουν διάφορα μέταλλα όπως το ασβέστιο, το μαγνήσιο και το φώσφορο και είχαν μια υψηλή θερμιδική αξία (27MJ/kg), η οποία συγκρίνεται ευνοϊκά με την θερμιδική αξία των κάρβουνων που παράγονται από άλλες πρώτες ύλες (πίνακας 2). Οι Sato et al. (2001) [44], αξιολόγησαν τις φυσικές ιδιότητες και τις ιδιότητες καύσης του κάρβουνου που παράγεται από υπολείμματα ζυθοποιείου. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, το κάρβουνο από υπολείμματα ζυθοποιείου περιέχει 81% δεσμευμένο άνθρακα και 12% τέφρα (που αποτελείται μεταξύ άλλων από P 47%, Ca 22%, Mg 14%, Si 13%).

Πίνακας 2. Η θερμογόνο αξία των κάρβουνων που παράγονται από διάφορες πρώτες ύλες.

Πρώτες ύλες	Θερμογόνοι άνθρακες αξία (MJ/kg)	Αναφορές
Ξύλο	25,5	[45]
Υπολείμματα ζυθοποιείου	27,0	[43]
Ζαχαροκάλαμο	29,3	[45]
Υπολείμματα σταφυλιών	30,0	[46]
Υπολείμματα ελαιολάδου	31,0	[46]
Κέλυφος φουντουκιού	32,0	[47]

2.3.5 Κατασκευή χαρτιού

Η ινώδης φύση των υπολειμμάτων ζυθοποιείου οδήγησε στην έρευνά τους ως πρώτη ύλη για την παραγωγή χαρτιού [9]. Υπολείμματα ζυθοποιείου χρησιμοποιήθηκαν για την προετοιμασία χαρτοπετσετών, επαγγελματικών καρτών και σουβέρ όπως επίσης αναφέρθηκαν και για την ανάθεση προϊόντων άριστης ποιότητας.

2.3.6 Απορρόφηση

Η απορρόφηση είναι μια διαδικασία που πρέπει να είναι γρήγορη, αποτελεσματική και να χρησιμοποιούνται φτηνά προσροφητικά ώστε να ανταγωνίζονται άλλες τεχνικές. Λόγω του χαμηλού κόστους και της εύκολης πρόσβασης, τα υπολείμματα ζυθοποιείου έχουν δοκιμαστεί ως προσροφητικά για διάφορους τύπους ενώσεων. Η πυρόλυση των υπολειμμάτων σιτηρών χρησιμοποιείται ως προσροφητικό για την αφαίρεση των πτητικών οργανικών ενώσεων από τα αέρια απόβλητα [48]. Η ικανότητα απορρόφησης των πτητικών οργανικών ενώσεων μέσω της πυρόλυσης υπολειμμάτων ζυθοποιείου ήταν παρόμοια με εκείνη του ξυλάνθρακα του κέλφους της καρύδας. Τα υπολείμματα ζυθοποιείου προσροφούν κάδμιο και μόλυβδο από υδατικά διαλύματα [49] με μέγιστη ικανότητα απορρόφησης των 17,3 και 35,5 mg/g, αντίστοιχα. Η επεξεργασία των υπολειμμάτων ζυθοποιείου με NaOH ενίσχυσε σημαντικά την προσρόφηση μεταλλικού νερού σε σύγκριση με τα ασβεστομένα υπολείμματα. Τα υπολείμματα ζυθοποιείου αφαιρούν επίσης με επιτυχία το χρώμιο από ένα υδατικό διάλυμα, με μέγιστη δυναμικότητα ρόφησης 18,94 mg/g [50]. Η ικανότητα ρόφησης των υπολειμμάτων ζυθοποιείου για το κάδμιο, τον μόλυβδο και το χρώμιο συγκρίνεται ευνοϊκά με τις αναφερθείσες τιμές για άλλες εταιρείες χαμηλού κόστους βιολογικών υλικών (πίνακας 3). Η χρωστική Acid orange 7 (AO7) είναι ένα μονοαζωικό οξύ που χρησιμοποιείται σήμερα στην κατασκευή χαρτιού και στην κλωστοϋφαντουργία, η παρουσία της οποίας στα λύματά τους προκαλεί περιβαλλοντικά προβλήματα. Αφαιρείται μέσω των υπολειμμάτων ζυθοποιείου με μέγιστη δυναμικότητα προσρόφησης των 30,5 mg AO7/g BSG (υπολείμματα ζυθοποιείου), στους 30,8°C. Το υψηλό επίπεδο της αφαίρεσης του χρώματος (90%) επιτεύχθηκε με χαμηλό χρόνο επαφής μεταξύ

προσροφητικού/χρωστικής (1 ώρα) και δεν απαιτήσε καμία προηγούμενη επεξεργασία των υπολειμμάτων ζυθοποιείου (πχ. άλεση ή κοσκίνιμα, αποτέφρωση ή χημική τροποποίηση).

Πίνακας 3. Ικανότητα προσρόφησης ορισμένων βιολογικών υλικών χαμηλού κόστους για το κάδμιο, το χρώμιο και τον μόλυβδο [8].

Ιόν	Υλικό	Ικανότητα Ρόφησης
Κάδμιο	Κέλυφος	11,1
	Φλοιός πεύκου	14,2
	Δέντρο Φτέρη	16,3
	Υπολ. Ζυθοποιείου	17,3
Χρώμιο	Πίτουρο Σιταριού	21,0
	Υπολ. Ζαχαροκάλαμου	13,4
	Πολτός Ζαχαρότευτλων	17,2
	Κέλυφος Φουντουκιού	17,7
Μόλυβδος	Υπολ. Ζυθοποιείου	18,9
	Κέλυφος Καρύδας	26,5
	Βρύα Τύρφης	30,7
	Υπολ. Ζυθοποιείου	35,5

Κεφάλαιο 3

Αξιοποίηση υπολειμμάτων ζυθοποιείου στην παράγωγη κρασιού

Επανειλημμένες ζυμώσεις παρτίδας κρασιού διεξήχθησαν με ακινητοποιημένα κύτταρα ζύμης σε υπολείμματα ζυθοποιείου, καθώς και ελευθέρα κύτταρα στους 25, 20, 15 και 10°C. Η λειτουργική σταθερότητα του βιοκαταλυτών ήταν καλή και δεν παρατηρήθηκε μείωση της δραστηριότητάς τους ακόμα και στους 10°C. Η αιθανόλη και το κρασί είχαν υψηλή παραγωγικότητα και δεν αποδεικνύουν την καταλληλότητα του βιοκαταλύτη για χαμηλή θερμοκρασία οινοποίησης. Η αλληλεπίδραση της ακινησίας και η θερμοκρασία ήταν στατιστικά σημαντική στις περισσότερες περιπτώσεις. Από ακινητοποιημένα κύτταρα παράχθηκαν κρασιά με υψηλή περιεκτικότητα σε οξικό αιθυλεστέρα και εστέρες, καθώς και πτητικά λιπαρά οξέα, σε θερμοκρασίες 15 και 10 °C ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε για τα ελευθέρα κύτταρα σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Ίδιες ποσότητες από ανώτερες αλκοόλες παράχθηκαν από ακινητοποιημένα και ελευθέρα κύτταρα. Οι ποσότητες αυτές μειώθηκαν δραματικά με την πτώση της θερμοκρασίας. Οίνοι που παράγονται από ακινητοποιημένα κύτταρα σε χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης (10-15°C) χαρακτηρίζονται από μια δυνητικά καλύτερη γεύση λόγω αναλογίας εστέρων σε αλκοόλες.

Η ακινητοποίηση των κυττάρων σε αλκοολική ζύμωση έχει μελετηθεί εκτενώς κατά την διάρκεια των τριών τελευταίων δεκαετιών, λόγω των τεχνικών και οικονομικών πλεονεκτημάτων τους έναντι των συστημάτων ελεύθερων κυττάρων [51,52,53,54,55]. Ωστόσο για την εφαρμογή στην βιομηχανία κρασιού, η έρευνα είναι απαραίτητη για να ανακαλύψει ένα υπόστρωμα ακινητοποίησης που ικανοποιεί την καθαρότητα στην ποιότητα των τροφίμων, το χαμηλό κόστος και ένα τελικό προϊόν με βελτιωμένο άρωμα και γεύση. Σωματίδια από διάφορα συνθετικά ή φυσικά υλικά, οργανικά και ανόργανα, χρησιμοποιήθηκαν ως υποστρώματα για την ακινητοποίηση των κυττάρων σε ζυμώσεις κρασιού [56,57].

Πρόσφατα, απόβλητα ζυθοποιείου, ένα παραπροϊόν της βιομηχανίας ζύθου, χρησιμοποιήθηκαν ως φορέας, μετά από επεξεργασία με οξύ και αλκάλια, προκειμένου

να ακινητοποιηθούν κύτταρα ζύμης για την παράγωγη πεκτινάσης [58]. Ο Branyik και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν το εν λόγω υπόστρωμα για τη συνεχή πρωτογενή ζύμωση της μύρας [59] και πρότειναν ότι είναι ένας πολύ αποδοτικός φορέας ακινητοποίησης λόγω του υψηλού δυναμικού της ζύμης, την εύκολη προετοιμασία, την επαναχρησιμοποίηση, τη διαθεσιμότητα και τον αδρανή μη τοξικό χαρακτήρα.

Το άρωμα του κρασιού είναι το αποτέλεσμα ενός συνδυασμού στοιχείων που δίνουν σε κάθε κρασί τον διακριτικό χαρακτήρα του. Έχει αποδειχτεί ότι το κύριο μέρος των αρωματικών συστατικών παράγεται κατά την ζύμωση. Οι ενώσεις αυτές είναι αιθυλεστέρας, ανώτερες αλκοόλες, λιπαρά οξέα, αλδεϋδες και κετόνες [60]. Ένας από τους σημαντικότερους και καλά μελετημένους παράγοντες που επηρεάζουν το άρωμα του κρασιού είναι η θερμοκρασία. Παραγωγοί αναγνωρίζουν ότι οι οίνοι που παράγονται σε χαμηλές θερμοκρασίες έχουν περισσότερο φρουτώδες άρωμα λόγω της αύξησης της σύνθεσης και της μειωμένης υδρόλυσης των εστέρων [61,62]. Πολλοί συγγραφείς έχουν αναφερθεί στη συνδυασμένη επίδραση της θερμοκρασίας και της ακινητοποίησης για τον σχηματισμό μεγάλων πτητικών ουσιών που παράγονται κατά την διάρκεια της ζύμωσης του κρασιού [63,64,65].

3.1 Στελέχη ζύμης και τα υποστρώματα της ζύμωσης

Τα ψυχρό-ανθεκτικά και ανθεκτικά στην αλκοόλη στελέχη ζύμης, VIS-ANTO-1 (συλλογή ζύμης της ομάδας της βιοτεχνολογίας τροφίμων, Πανεπιστημίου Πατρών, Ελλάδα) των μυκήτων *Saccharomyces cerevisiae*, είχε καλλιεργηθεί σε ένα ημί-συνθετικό υπόστρωμα που περιείχε γλυκόζη (20g/l), εκχύλισμα μαγιάς (4g/l), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1g/l), KH_2PO_4 (1g/l) και $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5g/l). Το υπόστρωμα της γλυκόζης από την παραπάνω σύνθεση των θρεπτικών αλάτων επίσης χρησιμοποιήθηκε για την ακινητοποίηση των κυττάρων, όπου το αντίστοιχο ποσό της γλυκόζης ήταν 120 g/l. Το στέλεχος καλλιεργήθηκε σε στατικές φιάλες κάτω από ημι-αερόβιες συνθήκες στους 25°C για 24 ώρες και χωρίστηκε με φυγοκέντριση σε 1310g για 10 λεπτά. Το γλεύκος σταφυλιών ήταν ποικιλίας Ροδίτη και η αρχική πυκνότητα ήταν 11,8 °Be. Όλα τα υποστρώματα αποστειρώθηκαν στους 121°C για 20 λεπτά.

3.2 Ακίνητοποίηση

Υπολείμματα ζυθοποιείου ελήφθησαν από την Αθηναϊκή Ζυθοποιία Α.Ε (Τμήμα Αθηνών, Ελλάδα) και χρησιμοποιήθηκαν μετά από εξαντλητικό πλύσιμο με νερό βρύσης. Διακόσια γραμμάρια υγρών υπολειμμάτων ζυθοποιείου ήταν τοποθετημένα σε έναν γυάλινο-πύργο βιοαντιδραστήρα [64] και αποστειρώνονται στους 121°C για 20 λεπτά. Η ακίνητοποίηση των κυττάρων ακολουθήθηκε με την προσθήκη 600ml από το ημισυνθετικό μέσο (το οποίο περιείχε 120g/l γλυκόζη) στο οποίο είχαν διασπαρεί κύτταρα *S. Cerevisiae* ξηρού βάρους 12gr. Ζυμώθηκε για περίπου 6-8 ώρες, μέχρι η πυκνότητα του υγρού που είχε υποστεί ζύμωση να καταλήξει σε τελική τιμή 0-1 °Be. Το υπερκείμενο υγρό μεταγγίστηκε και το υπόστρωμα πλύθηκε δύο φορές με 300ml από το ημί-συνθετικό υπόστρωμα. Ο παρασκευασμένος βιοκαταλύτης χρησιμοποιήθηκε άμεσα σε ζυμώσεις και σε συμπυκνωμένο γλεύκος σταφυλιών.

3.3 Προσδιορισμός ακίνητοποιημένων κυττάρων

Δείγματα των 10g υγρών υπολειμμάτων ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και ομογενοποιούνται για 4 λεπτά σε ομογενοποιητή με 90ml διάλυμα Ringer. Μετά από κατάλληλη αραιώση των ομογενοποιημένων, τα κύτταρα της μαγιάς απαριθμούνται χρησιμοποιώντας ένα βελτιωμένο αιμοσφαιριόμετρο. Ο ακίνητοποιημένος πληθυσμός κυττάρων ήταν στο επίπεδο των 10g κυττάρων/g υγρού βάρους μεταφορέα που αντιστοιχεί σε 0,33g ακίνητοποιημένα κύτταρα/g ξηρού βάρους μεταφορέα.

3.4 Ζυμώσεις γλεύκους σταφυλιών

Δέκα διαδοχικές ζυμώσεις των 600ml συμπυκνωμένου γλεύκους σταφυλιών που έχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις ζάχαρης, διεξήχθησαν χρησιμοποιώντας τον προαναφερόμενο βιοκαταλύτη στους 30°C. Στο τέλος της ζύμωσης κάθε παρτίδας το υπόστρωμα πλένεται με 30ml συμπυκνωμένου γλεύκους σταφυλιών για την απομάκρυνση των ελεύθερων κυττάρων και υπολείμματα σακχάρων. Τα υγρά που έχουν υποστεί ζύμωση αναλύθηκαν με αιθανόλη, σάκχαρα και μεγάλα πτητικά υποπροϊόντα.

Ζύμωση επαναλαμβανόμενων παρτίδων των φυσικών γλεύκων σταφυλιών θα πρέπει να ακολουθείται σε θερμοκρασίες 25, 20, 15 και 10°C (τρεις παρτίδες σε κάθε θερμοκρασία). Η ζύμωση ελέγχθηκε με την μέτρηση της πυκνότητας Baume και σταμάτησε όταν έφτασε η τιμή του να είναι 0-0,5. Στο τέλος της ζύμωσης κάθε παρτίδας, τα παραγόμενα κρασιά φυγοκεντρώνται σε 1310g για 10 λεπτά και φυλάσσονται σε χαμηλή θερμοκρασία μέχρι περαιτέρω χρήση. Το υπόστρωμα πλύθηκε με 300 ml γλεύκους νωπών σταφυλιών και ο βιοκαταλύτης χρησιμοποιήθηκε για την επόμενη παρτίδα ζύμωσης. Επίσης πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές ζυμώσεις, χρησιμοποιώντας ελεύθερα κύτταρα ζύμης ως μάρτυρες με την ίδια αρχική συγκέντρωση μαγιάς. Το εμβόλιο χρησιμοποιήθηκε σε ζύμωση ελεύθερων κυττάρων που ελήφθησαν από την προηγούμενη παρτίδα που διεξήχθη η ζύμωση [66].

3.5 Αποτελέσματα και συζητήσεις - Ακίνητοποίηση και ζυμώσεις

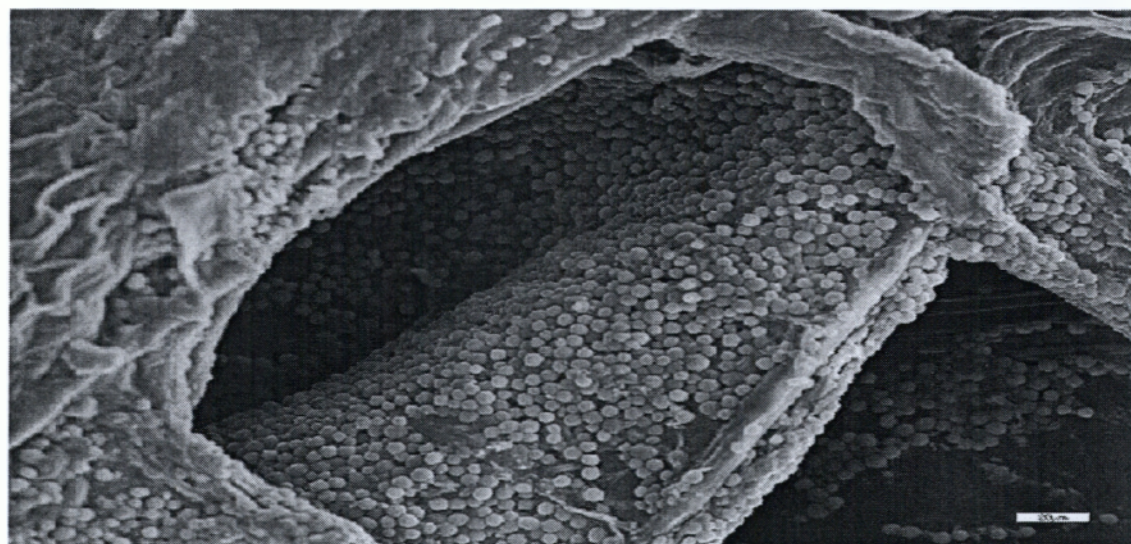
Τα υπολείμματα ζυθοποιείου καλύπτουν πολλές από τις προϋποθέσεις για μια οικονομικά αποδοτική βιομηχανική ακίνητοποίηση, όπως το χαμηλό κόστος, ο βαθμός καθαρότητας των τροφίμων, είναι αδρανή υπό συνθήκες ζύμωσης και έχουν εύκολη προετοιμασία. Έχουν χρησιμοποιηθεί πρόσφατα σε μια τροποποιημένη μορφή (διεργασίες με οξύ και αλκάλια), για την πρωτογενή ζύμωση της μύρας. Ωστόσο, σύμφωνα με τον Branyik et al. (2001) [67], η τροποποιημένη μορφή υπολειμμάτων δεν μπορεί να υποστηρίξει την προσκόλληση των κυττάρων και δεν μπορεί να λειτουργήσει ως προωθητής της αλκοολικής ζύμωσης υπό τους όρους της παρτίδας. Ο βιοκαταλύτης χάνει τη λειτουργική σταθερότητά του και οδηγεί σε αργή ζύμωση μετά από μερικές παρτίδες. Έτσι, οι ερευνητές προχώρησαν σε μια έρευνα βήμα-βήμα των ακατέργαστων υπολειμμάτων (χωρίς χημικές διεργασίες) για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά του για τις διαδοχικές ζυμώσεις του γλεύκους σταφυλιών, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε χαμηλές θερμοκρασίες, όσον αφορά την παραγωγικότητα και τον σχηματισμό των πτητικών υποπροϊόντων. Αυτοί είναι παράγοντες που σχετίζονται άμεσα με την εμπορική εφαρμογή και την αποδοχή των καταναλωτών. Επιπλέον, επιχειρήθηκε σύγκριση με τις παραδοσιακές ζυμώσεις.

Για να επιβεβαιωθεί ότι η ακινητοποίηση των κυττάρων Visanto-I για τα ακατέργαστα υπολείμματα είναι δυνατή και ότι ο ακινητοποιημένος βιοκαταλύτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη παραγωγή οίνου, πραγματοποιήθηκαν 10 διαδοχικές ζυμώσεις του συμπυκνωμένου γλεύκους σταφυλιών διαφόρου περιεκτικότητας σε ζάχαρη.

Η ζύμωση κάποιες φορές ήταν χαμηλή και σταθερή από παρτίδα σε παρτίδα, που κυμαίνεται από 13,5 έως 35,5 ώρες, ανάλογα με τη αρχική περιεκτικότητα σε σάκχαρο. Η παραγωγικότητα της αιθανόλης ήταν πολύ υψηλή (πίνακας 4). Στην συνέχεια ο ίδιος βιοκαταλύτης χρησιμοποιήθηκε σε διαδοχικές ζυμώσεις των φυσικών γλεύκων σταφυλιών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε χαμηλές θερμοκρασίες. Η λειτουργική σταθερότητα του ακινητοποιημένου βιοκαταλύτη διατηρήθηκε ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες. Οι χρόνοι των ζυμώσεων κυμάνθηκαν από 2 ημέρες στο 25°C έως 5 ημέρες στους 10°C, που είναι αισθητά χαμηλότερες από εκείνες της ελεύθερης ζύμωσης κυττάρων (πίνακας 4). Αυτό οδήγησε λουπόν σε σημαντικές διαφοροποιήσεις στην παραγωγή αιθανόλης και κρασιού μεταξύ των ακινητοποιημένων κυττάρων και των ελεύθερων, που ήταν πιο έντονη σε χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης (15 και 10°C). Και στις δύο περιπτώσεις περιεκτικότητας σε αιθανόλη, η συνολική και πτητική οξύτητα των οίνων ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων. Υπολείμματα σακχάρων βρέθηκαν σε χαμηλά επίπεδα σε όλους τους οίνους, κάτι που δείχνει τη δυνατότητα για ξηρό κρασί. Η επιτυχής ακινητοποίηση της ζύμης σε υπολείμματα ζυθοποιείου επιβεβαιώθηκε επίσης από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Η εικόνα 6 δείχνει τη μορφολογία της επιφάνειας υπολειμμάτων σιτηρών μετά την προσκόλληση των κυττάρων και το σχηματισμό βιοφίλμ ζύμης. Οι τοπικές συσσωρεύσεις βιομάζας, παρατηρήθηκαν στην επιφάνεια του μεταφορέα, ενώ άλλες μεγάλες ζώνες δεν αποικίστηκαν από κύτταρα ζύμης. Παρόμοιες ηλεκτρονικές μικρογραφίες ελήφθησαν για την τροποποίηση υπολειμμάτων ζυθοποιείου από άλλους ερευνητές [68].

Πίνακας 4. Φυσικοχημικοί παράμετροι διαδοχικών ζυμώσεων συμπυκνωμένου και φυσικού γλεύκους σταφυλιών, χρησιμοποιώντας ακινητοποιημένα και ελεύθερα κύτταρα σε υπολείμματα ζυθοποιείου σε διαφορετικές θερμοκρασίες [66]

Μοίστος σταφυλιών	Θερμοκρασία (°C)	Παρίδα Αρχική	Χρόνος ζύμωσης (h)	Υπολείμματα σακχάρων (% w/v)	Αιθανόλη (% v/v)	Παραγωγικότητα αιθανόλης (g/λίτρο)	Παραγωγικότητα κροσίου (g/λίτρο)	Πηκτική οξύτητα (g/l)	Ολική οξύτητα (g/l)	
Ακινητοποιημένα κύτταρα										
Συμπυκνωμένο	30	1 3	77	135 ± 0.7	2.9 ± 1.1	6.6 ± 0.1	922 ± 4.2			
Συμπυκνωμένο	30	4 6	106	215 ± 0.5	2.7 ± 2.1	10.0 ± 0.2	882 ± 5.9			
Συμπυκνωμένο	30	7 10	125	355 ± 0.5	2.4 ± 0.9	12.4 ± 0.3	557 ± 1.0			
Φρεσκο	25	11 13	118	450 ± 2.8	7.0 ± 2.8	11.6 ± 0.1	482 ± 2.8	294 ± 18.5	0.28 ± 0.07	6.8 ± 0.5
Φρεσκο	20	14 16	118	64.2 ± 5.9	8.8 ± 3.1	11.7 ± 0.2	344 ± 2.5	307 ± 18.1	0.26 ± 0.04	6.3 ± 0.3
Φρεσκο	15	17 19	118	100.0 ± 4.2	5.9 ± 1.3	11.8 ± 0.2	225 ± 0.8	132 ± 5.6	0.20 ± 0.05	6.1 ± 0.2
Φρεσκο	10	20 22	118	118.5 ± 1.4	5.0 ± 1.4	11.7 ± 0.1	185 ± 0.4	111 ± 1.3	0.22 ± 0.06	5.9 ± 0.3
Ελεύθερα κύτταρα										
Φρεσκο	25	1 3	118	70.5 ± 1.8	6.6 ± 1.7	11.7 ± 0.1	30.5 ± 2.1	205 ± 30.5	0.88 ± 0.09	6.6 ± 0.4
Φρεσκο	20	4 6	118	120.5 ± 2.3	6.9 ± 2.2	11.4 ± 0.2	184 ± 0.6	120 ± 5.1	0.73 ± 0.07	6.5 ± 0.3
Φρεσκο	15	7 9	118	188.0 ± 5.7	6.4 ± 1.5	11.5 ± 0.1	11.0 ± 0.5	77 ± 3.2	0.84 ± 0.07	6.4 ± 0.3
Φρεσκο	10	10 12	118	624.5 ± 10.5	9.8 ± 3.4	11.2 ± 0.3	3.3 ± 0.4	23 ± 1.1	0.93 ± 0.03	6.2 ± 0.4



Εικόνα 6. Ηλεκτρονική μικρογραφία που δείχνει την μορφολογία των υπολειμμάτων ζυθοποιείου μετά την ακινητοποίηση των κυττάρων Visanto-1 [66].

3.6 Σημαντικά πτητικά υποπροϊόντα

Η ακεταλδεϋδη είναι από τις πιο σημαντικές καρβονυλικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά την διάσπαση των σακχάρων από τις ζύμες και αποτελεί περισσότερο από το 90% της συνολικής περιεκτικότητας κρασιού σε αλδεϋδες. Σε χαμηλά επίπεδα, δίνει ένα ευχάριστο φρουτώδες άρωμα, αλλά σε υψηλές συγκεντρώσεις διαθέτει μία πικάντικη ερεθιστική μυρωδιά, η οποία είναι ανεπιθύμητη για τους επιτραπέζιους οίνους [61, 62]. Η αλληλεπίδραση του είδους της ζύμωσης (ελεύθερα ή ακινητοποιημένα κύτταρα) με τη θερμοκρασία είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στο τελικό περιεχόμενο της ακεταλδεϋδης (πίνακας 3.7.1). Η συνδυασμένη χρήση ακινητοποιημένων κυττάρων και χαμηλών θερμοκρασιών είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή μικρών ποσοτήτων της ουσίας αυτής, ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε στην περίπτωση των ζυμώσεων με ελεύθερα κύτταρα. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί στο παρελθόν από άλλους ερευνητές [65, 69]. Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν μπορεί να αντανakλούν την επίδραση της θερμοκρασίας και της ακινητοποίησης για την δραστηριότητα της πυροσταφυλικής δεκαρβοξυλάσης και της αλκοολικής αφυδρογονάσης, που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση της ακεταλδεϋδης από τις ζύμες. Γενικά, η συγκέντρωση της ακεταλδεϋδης ήταν σε επίπεδα παρόμοια με εκείνα που βρέθηκαν στα εμπορικά κρασιά και κάτω από το όριο οσμής (100mg/l).

Μελετήθηκαν επίσης ακινητοποιημένα κύτταρα που παράγουν σημαντικά μεγάλες ποσότητες οξικού αιθυλεστέρα σε σχέση με τα ελεύθερα κύτταρα σε κάθε θερμοκρασία. Αυτές συμβάλλουν θετικά στο άρωμα του κρασιού, επειδή είναι πάνω από το όριο (12,3mg/l) και τη χαμηλότερη τιμή από αυτή που θεωρείται ότι έχει αρνητικό αντίκτυπο στο άρωμα [61,62]. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί σε μελέτες με ακινητοποιημένα κύτταρα σε διάφορα υποστηρίγματα [63]. Η σύνθεση του οξικού εστέρα σε *S. cerevisiae* γίνεται μέσω μιας ενδοκυτταρικής κατάλυσης από το ένζυμο αλκοολική ακετυλοτρανσφεράση (AAT), η δραστηριότητα της οποίας καταστέλλεται έντονα υπό αερόβιες συνθήκες ή με την προσθήκη ακόρεστων λιπαρών οξέων. Όταν η θερμοκρασία πέφτει στους 10°C οδηγεί σε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης αιθυλεστέρα, τόσο για ακινητοποιημένα κύτταρα όσο και για ελεύθερα. Ωστόσο, η επίδραση αυτού του παράγοντα δεν ήταν πολύ ισχυρή (πίνακας 6).

Προπανόλη, ισοβουτανόλη και αμυλική αλκοόλη ήταν οι πιο άφθονες ανώτερες αλκοόλες που βρέθηκαν στα κρασιά. Οι οσμές τους είναι μάλλον δυσάρεστες και οι περισσότεροι συγγραφείς προτείνουν ότι συμβάλλουν περισσότερο στην ένταση της μυρωδιάς του κρασιού από την ποιότητά του [60, 61, 62]. Προπανόλη παράχθηκε σε παρόμοια ποσά τόσο από ακινητοποιημένα κύτταρα όσο και από ελεύθερα στις θερμοκρασίες των 25, 20 και 15°C. Σημαντικά υψηλότερα ποσά είχαν παραχθεί από τον σταθεροποιημένο βιοκαταλύτη σε 10°C. Παρατηρήθηκε μια ισχυρή αλληλεπίδραση μεταξύ του τύπου της ζύμωσης και της θερμοκρασίας που επηρεάζουν την συγκέντρωση ισοβουτανόλης. Το αποτέλεσμα ήταν περισσότερο έντονο για τα ακινητοποιημένα κύτταρα, τα οποία παράχθηκαν στους 10°C. Παρατηρήθηκε επίσης μια αξιοσημείωτη μείωση της αμυλικής αλκοόλης με την μείωση της θερμοκρασίας τόσο από τα ακινητοποιημένα όσο κι από τα ελεύθερα κύτταρα. Το ύψος τους ήταν παρόμοιο σε κάθε θερμοκρασία. Όσον αφορά τις ζυμώσεις με συμπυκνωμένο γλεύκος σταφυλιών, αυξάνοντας το περιεχόμενο των αρχικών σακχάρων είχε σημαντική επίδραση στην παραγόμενη ποσότητα όλων των πτητικών ουσιών.

Πίνακας 6. Σημαντικά πτητικά υποπροϊόντα που προέρχονται από διαδοχικές ζυμώσεις φυσικού και συμπυκνωμένου γλεύκους σταφυλιών σε υπολείμματα ζυθοποιείου σε διαφορετικές θερμοκρασίες [66].

Μούστος σταφυλιών	Θερμοκρασία (°C)	Παράγωγα	Αρχική συγκέντρωση (°Bx)	Ακεταλδεΐδη (mg/l)	Αθυλστεράς (mg)	Προπανόλη (mg/l)	Ισοβουτανόλη mg/l	Αμυλική αλκοόλη (mg/l)	Ολικές πτητικές ουσίες (mg/l)
Ακινητοποιημένα κύτταρα									
Συμπυκνωμένος	30	1 3	7.7	21.2 ± 2.1a	16.4 ± 2.4a	22.1 ± 1.6a	23.4 ± 3.5a	98.0 ± 11.2a	181.1 ± 17.9a
Συμπυκνωμένος	30	4 6	10.6	40.8 ± 2.7b	30.2 ± 2.0b	26.2 ± 1.5b	34.5 ± 2.4a	127.4 ± 7.6b	259.1 ± 8.5b
Συμπυκνωμένος	30	7 10	12.5	56.4 ± 3.3c	44.8 ± 1.4c	32.6 ± 1.6c	63.8 ± 9.9b	137.8 ± 5.5b	335.4 ± 16.3c
Φυσικός	25	11 13	11.8	39.0 ± 3.1	43.2 ± 6.9	34.4 ± 3.2	81.0 ± 3.5	140.1 ± 6.7	327.7 ± 17.3
Φυσικός	20	14 16	11.8	34.9 ± 2.5	53.0 ± 7.3	25.2 ± 2.9	49.1 ± 2.7	149.8 ± 9.5	312.1 ± 16.1
Φυσικός	15	17 19	11.8	30.4 ± 1.4	37.5 ± 5.1	25.5 ± 3.3	35.0 ± 5.2	137.3 ± 7.5	266.7 ± 21.6
Φυσικός	10	20 22	11.8	25.1 ± 1.6	36.0 ± 4.1	43.4 ± 3.9	20.6 ± 1.3	80.8 ± 1.2	205.9 ± 4.6
Ελεύθερα κύτταρα									
Φυσικός	25	1 3	11.8	38.8 ± 2.8	27.2 ± 5.2	30.1 ± 1.8	25.2 ± 3.8	152.7 ± 8.1	261.1 ± 9.8
Φυσικός	20	4 6	11.8	36.6 ± 1.5	34.3 ± 3.5	25.1 ± 3.2	24.1 ± 2.6	144.3 ± 6.7	254.6 ± 5.4
Φυσικός	15	7 9	11.8	38.2 ± 3.0	25.3 ± 5.0	28.2 ± 3.7	21.5 ± 2.2	115.5 ± 4.5	228.7 ± 14.9
Φυσικός	10	10 12	11.8	40.5 ± 3.5	17.3 ± 4.0	29.5 ± 2.7	12.5 ± 2.4	80.6 ± 2.3	180.4 ± 13.5
F-ratio	Τύπος ζύμωσης (Z)			35.42	76.38	9.10	403.34	1.99	64.80
	Θερμοκρασία (T)			6.32	5.67	22.85	142.24	141.17	64.43
	Z x T			11.40	2.61	7.87	67.48	7.42	2.35

3.7 Μικρές πτητικές ουσίες-ποιοτική σύνθεση

Πραγματοποιήθηκε λεπτομερής έρευνα δευτερευόντων συστατικών των οίνων που παράχθηκαν από ελεύθερα ή ακινητοποιημένα κύτταρα. Ένας μεγάλος αριθμός πτητικών ουσιών, εντοπίστηκε σε όλα τα κρασιά, τα περισσότερα απ' αυτά με υψηλό βαθμό βεβαιότητας. Η πλειοψηφία των συστατικών ήταν αιθυλικοί αστέρες λιπαρών οξέων και οξικοί εστέρες σε ανώτερες αλκοόλες. Βρίσκονται συνήθως στα περισσότερα κρασιά και είναι υπεύθυνα για το φρουτώδη χαρακτήρα του αρώματος του κρασιού. Ανώτερες αλκοόλες, πτητικά λιπαρά οξέα και εστέρες βρέθηκαν σε αφθονία. Επίσης εντοπίστηκαν ίχνη των καρβονυλικών ενώσεων. Τέλος σε δείγματα κρασιού έχουν ανιχνευτεί μια σειρά από διάφορες ενώσεις, ορισμένες ομάδες των οποίων είναι γνωστό ότι συμβάλλουν στην πολυπλοκότητα του αρώματος του κρασιού, όπως ακετάλες και τερπενοειδή.

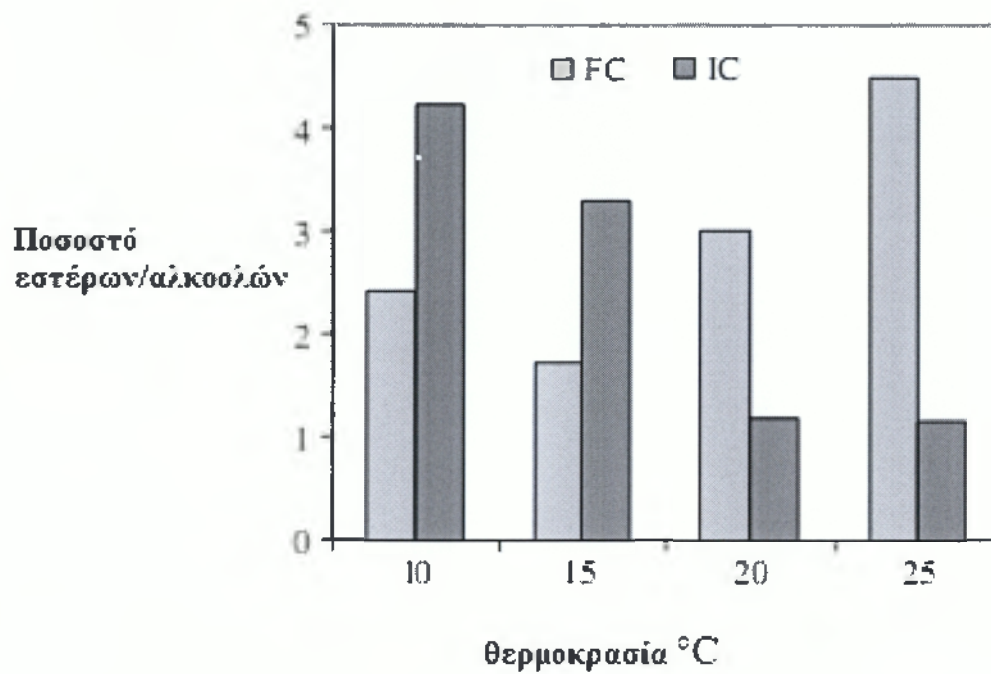
Τα κρασιά που παράγονται είτε από ελεύθερα είτε από ακινητοποιημένα κύτταρα σε απόβλητα ζυθοποιείου περιέχουν σχεδόν τον ίδιο αριθμό και το είδος των πτητικών ενώσεων. Τα περισσότερα από αυτά δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο ποιοτικό προφίλ του αρώματος των κρασιών. Αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες [64, 69, 70]. Ωστόσο οι διαφορές που προκύπτουν από την οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων, αποδόθηκαν σε ποσοτικές διαφορές των πτητικών ενώσεων που προκαλούνται από το διαφορετικό μεταβολισμό της μαγιάς, λόγω της συνδυασμένης επίδρασης της ακινησίας και της θερμοκρασίας. Έτσι, το επόμενο βήμα ήταν ο καθορισμός των σχετικών συγκεντρώσεων των τριών πιο σημαντικών ομάδων πτητικών ουσιών που παράγονται από την μαγιά (εστέρες, αλκοόλες και οξέα).

3.8 Μικρές πτητικές ουσίες-ποσοτική σύνθεση

Οι κύριοι εστέρες που παράγονται είτε από ελεύθερα είτε από ακινητοποιημένα κύτταρα, ήταν το εξανοϊκό, το οκτανοϊκό, το δεκανοϊκό και το δωδεκανοϊκό οξύ. Οι κύριοι οξικοί εστέρες ήταν εκείνοι της αμυλικής αλκοόλης και της 2-phenylethanol. Η αλληλεπίδραση της θερμοκρασίας με το είδος της ζύμωσης [ακινητοποιημένα (IC) ή ελεύθερα (FC) κύτταρα], καθώς και οι κύριες επιδράσεις στο συνολικό περιεχόμενο των εστέρων ήταν

ιδιαίτερα σημαντικές. Στις περισσότερες περιπτώσεις, με FC παράγονται κρασιά με υψηλότερο ποσό εστέρων στις θερμοκρασίες των 25 και 20°C. Πτώση της θερμοκρασίας έως 15°C οδήγησε σε σημαντική μείωση του ποσού των εστέρων που προέρχονται από την FC. Περαιτέρω πτώση της θερμοκρασίας φάνηκε να μην έχει καμία σημαντική επίπτωση στη συνολική συγκέντρωση των εστέρων. Το αντίθετο παρατηρήθηκε για IC. Μείωση της θερμοκρασίας στους 15°C είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεγαλύτερων ποσών των εστέρων από την IC (2,5 φορές υψηλότερη από ότι η FC). Περαιτέρω μείωση της θερμοκρασίας στους 10°C οδήγησε σε μικρή μείωση του ποσού των αιθυλεστέρων [69]. Τα λιπαρά οξέα είναι τα μόνα οξέα που εξετάστηκαν για πιθανές επιπτώσεις στην γεύση των κρασιών επειδή έχουν χαμηλές τιμές ορίου οσμής, πιθανόν υψηλές συγκεντρώσεις σε κρασιά και αρκετή αστάθεια σε θερμοκρασίες δωματίου [61]. Η σχετική συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων που παράχθηκαν από την IC, αυξήθηκε με μείωση της θερμοκρασίας. Σε χαμηλές θερμοκρασίες (15-10°C), το ποσό αυτό ήταν περίπου διπλάσιο από αυτό που παράγεται σε υψηλές θερμοκρασίες (25-20°C). Το αντίθετο παρατηρήθηκε στην περίπτωση της FC [69].

Εκτός από τις μεγάλες αλκοόλες, που έχουν ήδη μελετηθεί, λίγες ακόμα έχουν επίσης ανιχνευθεί και προσδιορίστηκαν στον αέριο υπερκείμενο χώρο του κρασιού. Ωστόσο η πλειοψηφία απ' αυτές ήταν παρούσες σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Η 2-Phenylethanol ήταν η μόνη εξαίρεση. Η συνολική περιεκτικότητα σε αλκοόλη επηρεάστηκε σημαντικά από την αλληλεπίδραση της ακινησίας και της θερμοκρασίας. Μειώθηκε με τη μείωση της θερμοκρασίας σε ζυμώσεις του τύπου FC όπως ήταν αναμενόμενο, ενώ για ζυμώσεις του τύπου IC, οι συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών αυξήθηκαν σε θερμοκρασίες από 25°C σε 15°C και στη συνέχεια μειώθηκαν σημαντικά στους 10°C [61,69]. Η αύξηση αυτή οφείλεται αποκλειστικά στην 2-Phenylethanol [61]. Τέλος οι οίνοι που παράγονται από την ζύμωση IC χαρακτηρίζονται από καλύτερα ποσοστά από αυτά που παράγονται από την FC, σε χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης και έχουν δυνητικά καλύτερο φρουτώδες άρωμα (σχήμα 2).



Σχήμα 2. Ποσοστό των συνολικών εστέρων (εξαιρείται ο οξικός αιθυλεστέρας) στο σύνολο των αλκοολών (περιλαμβάνονται οι μεγάλες αλκοόλες) σε οίνους που παράγονται από ελεύθερα ακινητοποιημένα κύτταρα σε απόβλητα ζυθοποιείου σε διάφορες θερμοκρασίες [66].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αυξανόμενες προσπάθειες κατευθύνονται προς την επαναχρησιμοποίηση των αγροβιομηχανικών υποπροϊόντων, τόσο από οικονομική όσο κι από περιβαλλοντική άποψη. Τα υπολείμματα ζυθοποιείου είναι ένα άφθονο υποπροϊόν που μπορεί να ληφθεί από εταιρείες ζυθοποιίας παγκοσμίως. Ωστόσο, παρ' όλες τις πιθανές εφαρμογές που περιγράφονται, η χρήση τους εξακολουθεί να είναι περιορισμένη. Ουσιαστικά χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφές ή απλά ως εναπόθεση στη γη. Υπολείμματα σιτηρών παράγονται σε μεγάλες ποσότητες στη διάρκεια του έτους. Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει για την ανακύκλωση των υπολειμμάτων σιτηρών στη διαδικασία παρασκευής. Λόγω της μεγάλης συνεχούς προμήθειας, το σχετικά χαμηλό κόστος και την δυνητική θρεπτική αξία, τα υπολείμματα ζυθοποιείου μπορεί να θεωρηθούν ως ένα ελκυστικό συμπλήρωμα για την ανθρώπινη διατροφή. Από τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι τα ανεπεξέργαστα κατάλοιπα ζυθοποιείου, το κύριο υποπροϊόν της παραγωγής βύνης, είναι ένα ενδιαφέρον υπόστρωμα για την ακινητοποίηση των κυττάρων που θα χρησιμοποιηθούν στην οινοποίηση. Η κινητική και λειτουργική σταθερότητα της ζύμωσης ήταν περισσότερο από ικανοποιητική. Επιπλέον, τα ανεπεξέργαστα κατάλοιπα είναι ένα φθηνό, άφθονο υπόστρωμα και δε χρειάζεται περισσότερη επεξεργασία για να χρησιμοποιηθεί ως μέσο υποστήριξης ακινητοποίησης ζύμης, οδηγώντας έτσι στη βελτίωση των οικονομικών της όλης διαδικασίας. Όλα αυτά σε συνδυασμό με τον καλύτερο αρωματικό χαρακτήρα των παραγόμενων οίνων, καθιστούν τα ανεπεξέργαστα κατάλοιπα ζυθοποιείου ως ένα πολλά υποσχόμενο προϊόν για την παρασκευή βιοκαταλυτών για οινοποίηση σε χαμηλές θερμοκρασίες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wolfgang Vogel, Μύρα ζυθοποίηση, συνταγές..., Εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα, σελ. 53-54.
2. Kunze W., 1996, in: Mieth, H.O. (Ed.), Technology Brewing and Malting- International Edition. VLB, Berlin. 726 p.
3. Lewis M. J., and Young T. W. (1995). Barley. Brewing. Chapman and Hall, London, pp. 36-37.
4. Wolfgang Vogel, Μύρα ζυθοποίηση, συνταγές..., Εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα, σελ. 45-48.
5. Wolfgang Vogel, Μύρα ζυθοποίηση, συνταγές..., Εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα, σελ. 48-52.
6. Wolfgang Vogel, Μύρα ζυθοποίηση, συνταγές..., Εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα, σελ. 35-38
7. Wolfgang Vogel, Μύρα ζυθοποίηση, συνταγές..., Εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα, σελ. 98.
8. Mussatto S.I., Dragone G. and Roberto I.C., 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. Journal of Cereal Science, 43, 1-14.
9. Ishiwaki N., Murayama H., Awayama H., Kanauchi O., Sato T., 2000. Development of high value uses of spent grain by fractionation technology. MBAA Technical Quarterly 37, 261-265.
10. Townsley P.M., 1979. Preparation of commercial products from brewer's spent waste grain and trub. MBAA Technical Quarterly 16, 130-134.
11. Macleod A.M., 1979. The psysiology of malting, in: Pollock, J.R.A. (Ed.),

- Brewing Science, vol. 1. Academic Press, New York, pp. 145-232.
12. Huige N.J., 1994. Brewery by-products and effluents, in: Hardwick, W.A. (Ed.), Handbook of Brewing. Marcel Dekker, New York, pp. 501-550.
 13. Santos M., Jimenez J.J., Bartolome B., Gomez-Cordoves C., del Nozal, M.J., 2003. Variability of brewers' spent grain within a brewery. Food Chemistry 80, 17-21.
 14. Kissel L.T., Prentice N., 1979. Protein and fiber enrichment of cookie flour with brewers' spent grain. Cereal Chemistry 56, 261-266.
 15. Pomeranz Y., Dikeman E., 1976. From barley to beer-a mineral study. Brewers Digest 51, 30-32.
 16. Mariani E., 1953. Chromatographic examination of the amino acids of beer and spent grains. Brasserie et Malterie de Belgique 3, 50-53.
 17. Russ W., Mortel H., Meyer-Pittroff R., 2005. Application of spent grains to increase porosity in bricks. Construction and Building Materials 19, 117-126.
 18. Sodhi H.S., Garcha H.S., Kiran U., 1985. Screening of mycoflora of spent-up brewers' grains for aflatoxin production. Journal of Research (Punjab Agricultural University) 22, 331-336.
 19. Al-Hadithi A.N., Muhsen A.A., Yaser A.A., 1985. Study of the possibility of using some organic acids as preservatives for brewery by-products. Journal of Agriculture and Water Resources Research 4, 229-242.
 20. Bartolome B., Santos M., Jimenez J.J., del Nozal M.J., Gomez-Cordoves C., 2002. Pentoses and hydroxycinnamic acids in brewers' spent grain. Journal of Cereal Science 36, 51-58.
 21. Hernandez A.M., Rodriguez J.L., Lopez B., Zcquera O.L., 1999. Caracterizacion quimica y funcional del afrecho de malta. Alimentaria May, 105-107.
 22. Prentice N., D' Appolonia B.L., 1977. High-fiber bread containing brewers' spent

- grain. *Cereal Chemistry* 54, 1084-1095.
23. Tang Z., Cenkowski S., Muir W.E., 2004. Modelling the superheated-steam drying of a fixed bed of brewers' spent grain. *Biosystems Engineering* 87, 67-77.
 24. Tang Z., Cenkowski S., Izydorczyk M., 2005. Thin-layer drying of spent grains in superheated steam. *Journal of Food Engineering* 67, 457-465.
 25. Ozturk S., Ozboy O., Cavidoglu I., Koksel H., 2002. Effects of brewers' spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. *Journal of the Institute of Brewing* 108, 23-27.
 26. Belibasakis N.G., Tsirgogianni D., 1996. Effects of wet brewers spent grains on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows in hot weather. *Animal Feed Science and Technology* 57, 175-181.
 27. Kaur V.I., Saxena P.K., 2004. Incorporation of brewery waste in supplementary feed and its impact on growth in some carps. *Bioresource Technology* 91, 101-104.
 28. Hassona H.Z., 1993. High fibre bread containing brewer's spent grains and its effect on lipid metabolism in rats. *Die Nahrung* 37, 576-582.
 29. Kanauchi O., Agata K., 1997. Protein and dietary fiber-rich new foodstuff from brewers' spent grain increased excretion of feces and jejunum mucosal protein content in rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 61, 29-33.
 30. McIntosh G.H., Jorgensen L., Royle P., 1993. The potential of an insoluble dietary fiber-rich source from barley to protect from DMH-induced intestinal tumours in rats. *Nutrition and Cancer – An International Journal* 19, 213-221.
 31. McIntosh G.H., Leleu R.K., Royle P.J., Young G.P., 1996. A comparative study of the influence of differing barley brans on DMH-induced intestinal tumours in male Sprague-Dawley rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 11, 113-119.

32. Zhang J.X., Bergman F., Hallmans G., Johansson G., Ludin E., Stenling R., Theander O., Westerlund E., 1990. The influence of barley fibre on bile composition, gallstone formation, serum cholesterol and intestinal morphology in hamsters. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 98, 568-574.
33. Gondwe T.N.P., Mtimuni, J.P., Safalaoh A.C.L., 1999. Evaluation of brewery by-products replacing vitamin premix in broiler finisher diets. *Indian Journal of Animal Sciences* 69, 347-349.
34. Kratzer F.H., Earl L., 1980. The feeding value of the protein of brewers' dried grains for chicks. *Poultry Science* 59, 2361-2364.
35. McIntosh G.H., Newman R.K., Newman C.W., 1995. Barley foods and insoluble dietary fiber-rich source from barley to protect from DMH-induced intestinal tumours in rats. *Nutrition and Cancer-An International Journal* 19, 213-221.
36. Batajoo K.K., Shaver R.D., 1994. Impact of nonfiber carbohydrate on intake, digestion and milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77, 1580-1588.
37. Musinic L.A., Thompson K.R., Morris A., Webster C.D., Rouse D.B., Manomaitis L., 2004. Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and brewers' grains with yeast in practical diets for Australian red claw crayfish *cherax quadricarinatus*. *Aquaculture* 230, 359-376.
38. Dung N.N.X., Manh L.H., Uden P., 2002. Tropical fibre sources for pigs- digestibility, digesta retention and estimation of fibre digestibility in vitro. *Animal Feed Science and Technology* 102, 109-124.
39. Miranda M.Z., Grossmann M.V.E., Prudencioferreira S.H., Nabeshima E.H., 1994b. Utilization of brewer spent grain (BSG) for production of snacks with fiber 2. Sensory analysis of snacks. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 37, 9-21.

40. Ozturk S., Ozboy O., Cavidoglu I., Koksel H., 2002. Effects of brewers' spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. *Journal of the Institute of Brewing* 108, 23-27.
41. Ezeonu F.C., Okaka A.N.C., 1996. Process kinetics and digestion efficiency of anaerobic batch fermentation of brewers' spent grains (BSG). *Process Biochemistry* 31, 7-12.
42. Okamoto H., Kitagawa Y., Minowa T., 1999. Thermal-catalytic conversion of high moisture spent grains to a gaseous fuel. *MBAA Technical Quarterly* 36, 239-241.
43. Okamoto H., Sato K., Yagi N., Inoue M., Yamasaki S., Ishida S., Shibata J., 2002. Development of production process of charcoal bricks from spent grain. *Kagaku Kogaku Ronbunshu* 28, 137-142.
44. Sato K., Yagi N., Okamoto H., Inoue M., Ajiri T., Shibata J., 2001. Physical property and burning property of spent grain charcoal. *Shigen to Sozai* 117, 587-590.
45. Ffoulkes D., Elliot R., Preston T.R., 1980. Feasibility of using pressed sugar cane stalk for the production of charcoal. *Tropical Animal Production* 5, 125-129.
46. Ensinar J.M., Beltran F.J., Bernalte A., Biro A. and Gonzales J.F. (1996). Pyrolysis of two agricultural residues: olive and grape bagasse. Influence of particle size and temperature. *Biomass and Bioenergy* 11, 397-409.
47. Demirbas A. (1999). Properties of charcoal derived from hazelnut shell and the production of briquettes using pyrolytic oil. *Energy*, 24, 141-150.
48. Chiang P.C., Chang P. and You J.H. (1992). Innovative technology for controlling VOC emissions. *Journal of Hazardous Materials*, 31, 19-28.
49. Low K.S., Lee C.K. and Liew S.C. (2000). Sorption of cadmium and lead from aqueous solutions by spent grain. *Process Biochemistry*, 36, 59-64.

50. Low K.S., Lee C.K., and Low C.H. (2001). Sorption of chromium (VI) by spent grain under batch conditions. *Journal of Applied Polymer Science*, 82, 2128-2134.
51. Dervakos A.G., and Webb C. (1991). On the merits of viable-cell immobilization. *Biotechnology Advances*, 9, 559-612.
52. Lu Z. X., Lu F. X., Bie X. M., and Fujimura T. (2002). Immobilization of yeast cells with polymeric carrier cross-linked using radiation technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2798-2801.
53. Sakurai A., Nishida Y., Saito H., and Sakakibara M. (2000). Ethanol production by repeated batch culture using yeast cells immobilized within porous cellulose carriers. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90, 526-529.
54. Shido S., Takata S., Taguchi H., and Yoshimura N. (2001). Development of a novel carrier using natural zeolite and continuous ethanol fermentation with immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in a bioreactor. *Biotechnology Letters*, 23, 2001-2004.
55. Sree N. K., Sridhar M., Suresh K., Banat I. M., and Rao L. V. (2000). High alcohol production by repeated batch fermentation using an immobilized osmotolerant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 24, 222-226.
56. Divies C., Cachon R., Cavin J.F., and Prevost H. (1994). Theme 4: immobilized cell technology in wine production. *Critical Reviews in Biotechnology*, 14(2), 135-153.
57. Kourkoutas Y., Bekatorou A., Banat M.I., Marchant R., and Koutinas A. A. (2004). Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*, 21, 377-397.
58. Almeida C., Branyik T., Moradas-Ferreira P., and Teixeira J., (2003). Continuous production of pectinase by immobilized yeast cells on spent grains. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(6), 513-518.

59. Branyik T., Vicente A. A., Cruz J. M., and Teixeira J. A. (2004). Continuous primary fermentation of beer with yeast immobilized on spent grains – the effect of operational conditions. *Journal of American Society of Brewing Chemists*, 62(1), 29-34.
60. Nykanen L., and Suomalainen H. (1983). *Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages*. Holland: D. Reidel Publishing Company. Official journal of the European Communities. (1990). L272 (pp.1-192).
61. Etievant X.P. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483-533). New York: Marcel Dekker.
62. Jackson S. R. (1994). *Wine science. Principles and applications*. San Diego: Academic Press.
63. Bakoyianis V., Kana K., Kaliafas A., and Koutinas A. A. (1993). Low-temperature continuous wine making by kissiris-supported biocatalyst: volatile by products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 465-468.
64. Tsakiris A., Sipsas V., Bekatorou A., Mallouchos A., and Koutinas A. A. (2004). Red wine making by immobilized cells and influence on volatile composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1357-1363.
65. Kourkoutas Y., Kanellaki M., Koutinas A.A., and Tzia C. (2005). Effect of fermentation conditions and immobilization supports on the wine making. *Journal of Food Engineering*, 69, 115-123.
66. Mallouchos A., Loukatos P., Bekatorou A., Koutinas A., and Komaitis M. (2007). Ambient and low temperature winemaking by immobilized cells on brewer's spent grains: Effect on volatile composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 104, 918-927.
67. Branyik T., Vicente A. A., Machado Cruz J. M., and Teixeira J. A. (2001). Spent grains-a new support for brewing yeast immobilization. *Biotechnology Letters*, 23, 1073-1078.

68. Branyik T., Vicente A. A., Oliveira R., and Teixeira J. (2004). Physicochemical surface properties of brewing yeast influencing their immobilization onto spent grains in a continuous reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(1), 84-93.
69. Mallouchos A., Skandamis P., Loukatos P., Komaitis M., Koutinas A., and Kanellaki M. (2003). Volatile compounds of wines produced by cells immobilized on grape skins. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 51, 3060-3066.
70. Kourkoutas Y., Komaitis M., Koutinas A. A., Kaliafas A., Kanellaki M., Marchant R., et al., (2003). Wine production using yeast immobilized on quince biocatalyst at temperatures between 30 and 0°C. *Food Chemistry*, 82, 353-360.