

# DOKTORI ÉRTEKEZÉS

## **Vitaminnal dúsított sörök előállítása és tanulmányozása**

Nagymáté Emese

Budapest, 2008

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>1 BEVEZETÉS</b> .....	<b>5</b>
<b>2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b> .....	<b>7</b>
2.1 VITAMINOK HALHATATLANSÁGA .....	7
2.1.1 <i>C-vitamin</i> .....	7
2.1.2 <i>E-vitamin</i> .....	9
2.2 A KÜLÖNBÖZŐ ITALOK VITAMINTARTALMA.....	13
2.2.1 <i>Sör</i> .....	13
2.2.2 <i>Bor</i> .....	13
2.3.3 <i>Narancslé</i> .....	14
2.3 A SÖRGYÁRTÁS MŰVELETI LÉPÉSEI .....	15
2.4 A SÖRÉLESZTŐ.....	15
2.4.1 <i>A Saccharomyces cerevisiae anyagcseréje</i> .....	15
2.4.2 <i>A sörélesztő és a C-, illetve E-vitamin kapcsolata</i> .....	17
2.5 A SÖR MINŐSÉGI JELLEMZÉSE.....	19
2.5.1 <i>Analitikai paraméterek</i> .....	19
2.5.2 <i>Érzékszervi vizsgálat</i> .....	20
2.5.3 <i>A sör íz-stabilitása</i> .....	23
2.5.3.1 <i>Vitaminok és az ízstabilitás</i> .....	29
2.5.3.2 <i>A sörgyártás technológiai lépéseinek hatása az ízstabilitásra</i> .....	31
2.5.3.3 <i>Az ízstabilitás vizsgálata</i> .....	35
2.6 A VITAMINOK ANALITIKAI MEGHATÁROZÁSA .....	37
2.6.1 <i>Egyéb technikák</i> .....	37
2.6.2 <i>HPLC-s mérések</i> .....	39
2.7 AZ ESR TECHNIKA.....	40
<b>3 KÍSÉRLETI CÉLKITŰZÉS</b> .....	<b>44</b>
<b>4 KÍSÉRLETI RÉSZ</b> .....	<b>45</b>
4.1 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	45
4.1.1 <i>Felhasznált anyagok</i> .....	45
4.1.2 <i>Berendezések</i> .....	45
4.1.3 <i>Analitikai módszerek</i> .....	46
4.1.4 <i>Érzékszervi vizsgálatok</i> .....	52

4.1.5 Statisztikai elemzés .....	54
4.1.6 Mintaelőkészítések.....	54
<b>5 KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....</b>	<b>64</b>
5.1 A VITAMINOK STABILITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA SÖRBEN .....	64
5.1.1 C-vitaminnal dúsított sör .....	64
5.1.2 E-vitaminnal dúsított sör.....	67
5.1.3 Sörhöz történő együttes vitamin addíció.....	68
5.2 A VITAMINOK STABILITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA BORBAN ÉS NARANCSLÉBEN .....	70
5.2.1 C-vitaminnal dúsított bor és narancslé.....	70
5.2.2 E-vitaminnal dúsított bor és narancslé.....	73
5.2.3 Együttes vitamin addíció.....	74
5.3 A VITAMINOK HATÁSA A SÖR ÍZ-STABILITÁSÁRA.....	76
5.3.1 Vitamin addíció a sörléhez.....	76
5.3.2 Vitamin addíció a fermentáció végén .....	79
5.3.3 Vitamin addíció a késztermékhez.....	81
5.4 A VITAMINOK HATÁSA A SÖR ÉRZÉKSZERV TULAJDONSÁGAIRA.....	82
5.4.1 A sör tükrösségének műszeres vizsgálata .....	82
5.4.2 Habstabilitás-mérés.....	83
5.4.3 Érzékszervi vizsgálat.....	85
5.5 A VITAMINOK HATÁSA A SÖR ANALITIKAI PARAMÉTEREIRE.....	95
5.5.1 Az alkoholtartalom változása.....	95
5.5.2 Iso- $\alpha$ -sav tartalom.....	97
5.5.3 Diacetil és 2,3-pentándion tartalom.....	98
<b>6 ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>	<b>99</b>
6.1 AZ E-VITAMIN STABILITÁSA.....	99
6.1.1 Mérési módszer kidolgozása .....	99
6.1.2 Stabilitási vizsgálatok.....	99
6.2 A C-VITAMIN STABILITÁSA .....	100
6.2.1 Mérési módszer kidolgozása .....	100
6.2.2 Stabilitási vizsgálatok.....	100
6.3 A VITAMINADDÍCIÓ HATÁSA A SÖR ÍZ-STABILITÁSÁRA .....	101
6.4 A VITAMINADDÍCIÓ HATÁSA A SÖR ÉRZÉKSZERV TULAJDONSÁGAIRA .....	102
6.5 A VITAMINADDÍCIÓ HATÁSA A SÖR ANALITIKAI PARAMÉTEREIRE .....	102
<b>7 SUMMARY .....</b>	<b>104</b>

7.1 THE STABILITY OF VITAMIN E.....	104
7.1.1 <i>Elaboration a measuring technique</i> .....	104
7.1.2 <i>Stability experiments</i> .....	104
7.2 THE STABILITY OF VITAMIN C .....	105
7.2.1 <i>Elaboration a measuring method</i> .....	105
7.2.2 <i>Stability experiments</i> .....	105
7.3 THE EFFECT OF VITAMIN ADDITION ON THE FLAVOUR STABILITY OF BEER .....	106
7.4 THE EFFECT OF VITAMIN ADDITION ON THE SENSORY PARAMETERS OF BEER .....	107
7.5 THE EFFECT OF VITAMIN ADDITION ON THE ANALYTICAL PARAMETERS OF BEER.....	107
<b>8 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....</b>	<b>109</b>
<b>9 A TÁRGYKÖRREL KAPCSOLATOS SAJÁT IRODALOM .....</b>	<b>110</b>
<b>10 FELHASZNÁLT IRODALOM.....</b>	<b>111</b>

# 1 Bevezetés

Az egészségtudatos táplálkozás elterjedésével a különböző vitaminnal dúsított élelmiszerek előállítása az élelmiszeriparban egyre nagyobb teret hódít. Ezen élelmiszereknek, illetve vitamintartalmuknak jelentős szerepük van különböző betegségek megelőzésében és rehabilitációjában.

A sör jelentős mennyiségű antioxidánst és vitamint tartalmaz. Ide sorolhatók a fenolsavak, a melanoidinek, a xantohumul, a humulonok és lupulonok, a ferulasav, egyes maláta és élesztő eredetű vitaminok, valamint a komló bioaktív polifenoljai. A sörben megtalálható a B2 vitamin (riboflavin), a nikotinsavamid, a B6-vitamin, a pantoténsav, a folsav és a B12 vitamin is, ugyanakkor nem található benne se C-vitamin, se E-vitamin.

A sör vitaminnal való dúsítása két szempontból is jelentős. Az első a fogyasztóra gyakorolt élettani hatás. A Magyar Sörgyártók Szövetségének adatai szerint a magyarországi éves sörfogyasztás évek óta megközelítőleg 70 liter/fő körül alakul. Ekkora mértékű fogyasztás mellett nagy jelentőséggel bír a sör vitamintartalma, ami kedvező hatást gyakorolhat az emberi szervezetre.

A másik szempont a vitaminaddíció hatása a sör íz-stabilitására, illetve egyéb analitikai paramétereire, valamint érzékszervi tulajdonságaira. A sörhöz adagolt antioxidáns vitaminok befolyásolhatják a sör élettartamát, mivel a sör romlásáért oxidációs reakciók a felelősek. Az E- és a C-vitamin antioxidáns hatásuknak köszönhetően gátolhatják, illetve lassíthatják ezeket a folyamatokat. Ugyanakkor a vitaminaddíció befolyással lehet a fermentáció lefolyására, valamint az élesztő szaporodására, így megváltoztathatja az erjedés során keletkező termékek mennyiségét. Ezen kívül a vitaminaddíció a kész sör ízére is kihathat.

Összehasonlításként fontosnak találtam meghatározni a C- és az E-vitamin stabilitását más típusú italokban is, így például borban és narancslében. Ezek a vizsgálatok összehasonlítási alapot szolgáltatnak, valamint segítséget nyújthatnak abban, hogy mely egyéb italok esetében érdemes C- és E-vitamin dúsításos kísérleteket végezni.

Kutatómunkám fő célkitűzései:

1. Méréstechnika kidolgozása a C- és az E-vitamin sörben, borban és narancslében történő meghatározására.
2. A C- és az E-vitamin sörben, borban és narancslében való stabilitásának meghatározása, valamint a stabilitást befolyásoló tényezők tanulmányozása.

3. A vitaminaddíció érzékszervi és analitikai paraméterekre gyakorolt hatásának tanulmányozása fermentációs minták esetében
4. A vitaminaddíció érzékszervi és analitikai paraméterekre gyakorolt hatásának tanulmányozása késztermék minták esetében

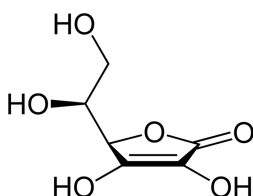
## 2 Irodalmi áttekintés

### 2.1 Vitaminok halhatatlansága

#### 2.1.1 C-vitamin

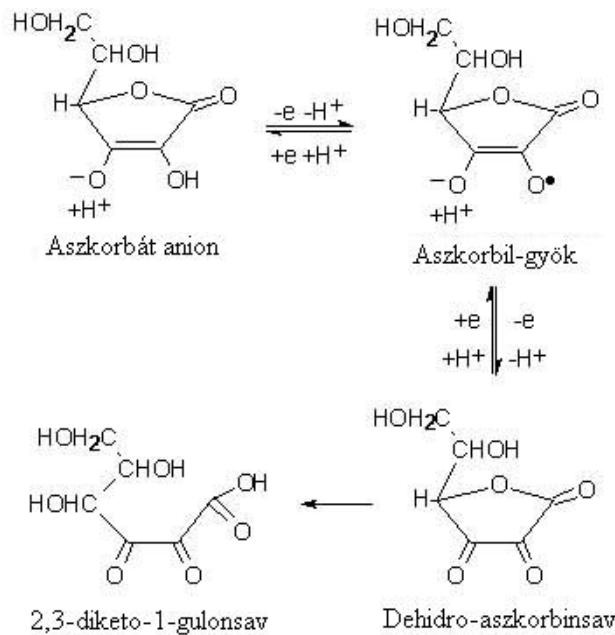
A C-vitamin aszkorbinsavként, illetve skorbut elleni vitaminként közismert. Vízoldható vitamin, szerkezete az 1. ábrán látható. Fiziológias pH értéken anionként van jelen, mivel a 3-as szénatomon levő hidroxil-csoport pKa értéke 4.2.

Az élővilágban csak az ember, az emberszabású majmok és a tengerimalac szervezete nem tudja előállítani. Legnagyobb koncentrációban az agyalapi mirigyben, a mellékvesében, a májban, az agyban és a vörösvértestekben fordul elő. A szemünkben mintegy húszszor több a C-vitamin, mint a vérünkben. Biokémiai működésének alapja a vegyület elektronleadó, illetve -felvevő képessége (Packer, 1997).



1. ábra Az aszkorbinsav szerkezete

A molekulában helyet foglaló HO-C=C-OH atomcsoport rendkívül könnyen oxidálódik, így erős redukálószer. Különböző oxidáns hatású anyagokkal (például peroxidok, szuperoxid, stb.) reakcióba lépve elektron, illetve hidrogén átadásával fejt ki redukáló hatását. Az oxidáció minden lépése megfordítható, így az aszkorbát forma visszaalakulhat. A részlegesen oxidált aszkorbinsav, a monoaszkorbil-gyök (AFR: Ascorbyl free radical), elektron donorként és elektron akceptorként is szerepelhet. Az AFR meglepően stabilis, EPR mérésekkel könnyen detektálható még 10 nM koncentrációban is. A második elektron leadásával dehidroaszkorbinsavvá (DHA) alakul, amely, ellentétben az aszkorbinsavval, nem tekinthető savnak. A DHA fiziológias pH értéken és hőmérsékleten instabil. A lakton gyűrű hidrolízisével 2,3-diketo-1-gulonsavvá alakul (Valko et al., 2006). Ez az utóbbi lépés a sejtekben feltehetően nem megfordítható (2. ábra).



**2. ábra Az aszkorbinsav oxidatív metabolizmusa (Valko et al., 2006)**

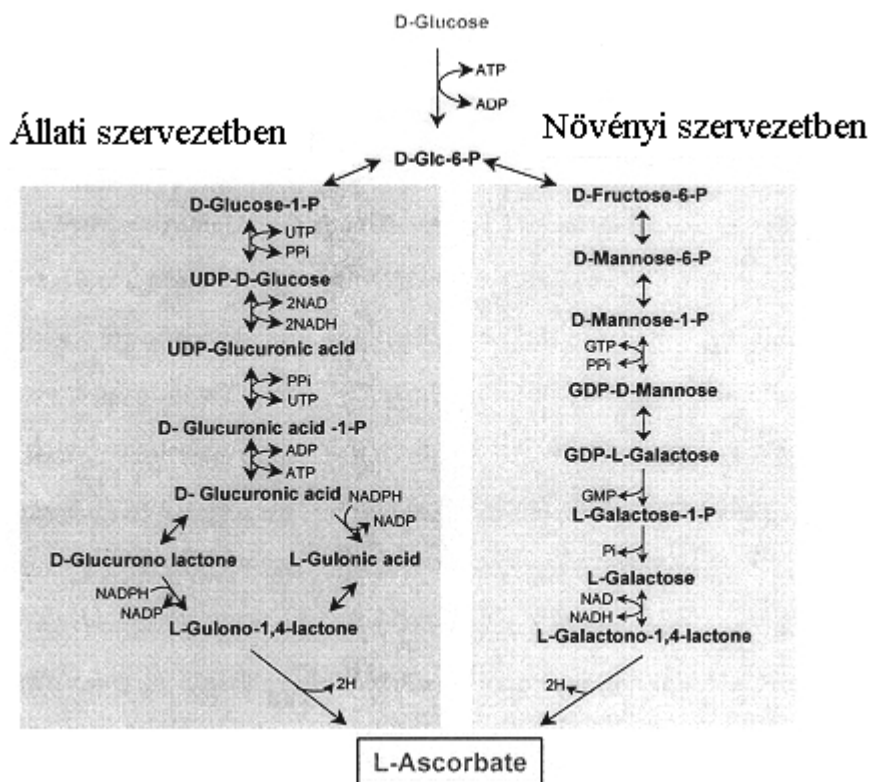
Fontos szerepet játszik a szervezetben a légzési folyamatok során keletkezett melléktermékek (például szuperoxid-ion) eltávolításában. A C-vitamin elektron-donorként szerepel a redoxi-reakciókban (Bendisch et al., 1986), így antioxidánsként alkalmazható. Vastartalmú anyagok jelenlétében azonban pro-oxidánsként szerepelhet, közvetve katalizálja a politelítetlen zsírsavak oxidatív degradációját (Halliwell et al., 1992), így segítheti és gátolhatja is a peroxidációs folyamatokat a kísérleti körülményektől függően. Az aszkorbinsav leginkább a vizes közegben fejti ki antioxidáns hatását azáltal, hogy megköti a szabadgyököket és az egyéb reaktív részecskéket (Carr et al., 2000). Csökkentheti az  $\alpha$ -tokoferol prooxidáns hatását, mivel visszaalakítja a tokoferoxil-gyököket  $\alpha$ -tokoferollá, így helyreállítva annak antioxidáns aktivitását (Carr et al., 2000).

Az aszkorbinsav szintézise hexózokból indul ki (Loewus, 1988). Bár két különböző reakcióút létezik (Foyer, 1993), a magasabbrendű növények elsődlegesen a D-glükózt D-mannózon és L-galaktózon keresztül alakítják át aszkorbáttá a 3. ábrán látható reakciólépésekkel (Wheeler et al., 1998).

A glükóz oxidációja végbemehet a 6-os C-atomon is, vagy az 1-es és a 6-os szénatomon is egyszerre. Ennek a reakciónak a terméke egy dikarbonsav lesz. Ha az oxidáció csak a 6-os szénatomot érinti, D-glükuronsav jön létre, amelynek aldehid-csoportja redukálódik a következő reakciólépésben. Az így létrejött L-gulonsav dehidratálódik és ciklizálódik, L-gulonolaktont képezve. Ez utóbbi vegyületet az L-gulonoxidáz oxidálja 3-keto-L-gulonolaktonná, ami aszkorbinsavvá rendeződik át (3. ábra). A C-vitamin szintézise ezen a reakcióúton játszódik le az állatokban.



A C-vitamin könnyen végbemenő oxidációja miatt a levegőn való tárolás, illetve a főzés jelentősen csökkenti az élelmiszerek C-vitamin tartalmát. Vízoldhatóságának köszönhetően a főzővíz kioldja a ételek aszkorbinsav tartalmát, így a forralásával és kiöntésével szintén vitaminvesztés lép fel. A savanyú és édes közeg jól viszont megőrzi az ételek C-vitamin tartalmát. A fémmedények közül a réz, a vas és az alumínium az, amely nem kedvez az étel C-vitamin tartalmának, ezért kerüljük az ezekben való ételtárolást. A C-vitamin bomlását a közegének a kémhatása is befolyásolja: pH = 4 felett könnyen bomlik (FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements, 1998a).

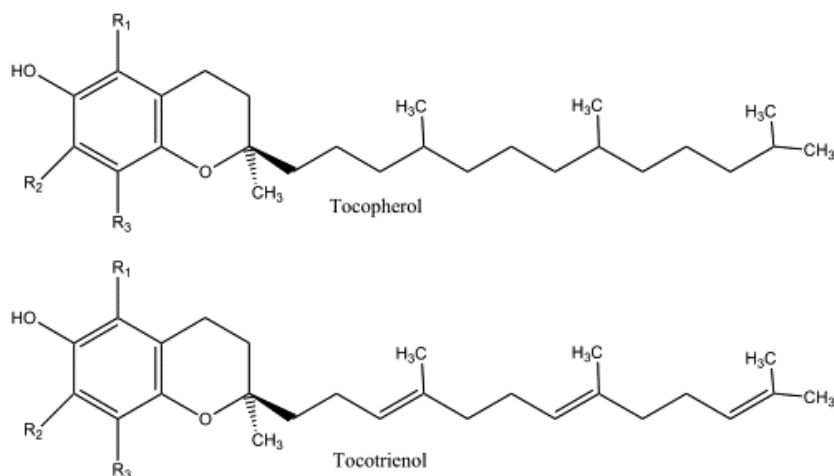


3. ábra Az L-aszkorbinsav bioszintézisének útja a növényekben és állatokban (Wheeler et al.,1998, Porro és Sauer, 2003)

## 2.1.2 E-vitamin

Maga az E-vitamin kifejezés egy nyolc molekulából álló vegyületcsaládra utal. Ezen vegyületek mindegyike tartalmaz egy alkoholos hidroxil-csoporttal szubsztituált kromanol gyűrűt, egy 12 szénatomból álló alifás oldalláncot (4. ábra). A gyűrű oldalláncot tartalmazó szénatomja R konfigurációjú. Az oldallánc két metilcsoportot tartalmaz középen, valamint a két szélén is található

kettő, vagy több metil szubsztituens. A láncközi kiralitáscentrumok szintén R konfigurációjúak. A négy különböző tokoferol vegyület esetén az oldallánc telített, míg a tokotrienolok esetében az oldallánc három kettős kötést is tartalmaz a metil-csoportokat tartalmazó szénatomokból kiindulva. A négy-négy különböző vegyületet  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , illetve  $\delta$ -jelöléssel különböztetik meg. Az  $\alpha$ -típus három, a  $\beta$  és a  $\gamma$ -típus kettő-kettő, a  $\delta$ -vegyület pedig csak egyetlen egy metil-csoportot tartalmaz a kromanol gyűrűn (Setiadi et al., 2002) (1. táblázat).



4. ábra Az E-vitamin vegyületcsalád molekulái (Setiadi et al., 2002)

1. táblázat Az E-vitamin vegyületeinek R-csoportjai (Setiadi et al., 2002)

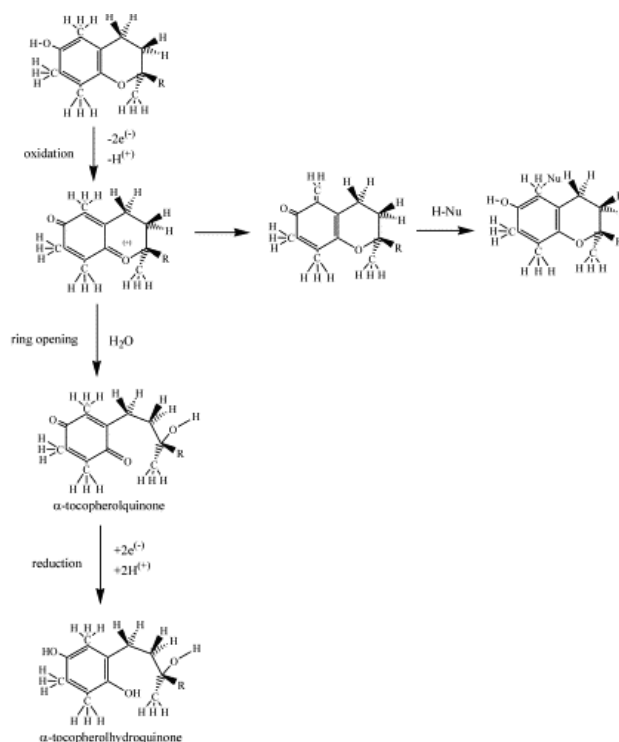
Az E-vitamin vegyületeinek R-csoportjai			
Vegyület-típus	R1	R2	R3
$\alpha$	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
$\beta$	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
$\gamma$	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
$\delta$	H	H	CH <sub>3</sub>

Jelenleg az E-vitamin leginkább tanulmányozott biológiai hatása a lipid-peroxidáció megakadályozása. Az  $\alpha$ -tokoferol forma a legaktívabb, a  $\delta$ -tokoferol pedig a legkevésbé aktív tokoferol a peroxil-gyökkel (LOO<sup>•</sup>) szemben ( $\alpha > \beta = \gamma > \delta$ ). Az E-vitamin antioxidáns aktivitásának

alapja, hogy a kromán gyűrű hidroxil-csoportjának hidrogénje könnyen semlegesíti a szabad gyököket. Ezzel a reakcióval egy stabilabb tokoferoxil-gyök keletkezik. A tokoferoxil-gyök újra tokoferollá alakulhat közvetlenül ubikinol vagy C-vitamin közreműködésével (Zhi-Hua et al., 2001).

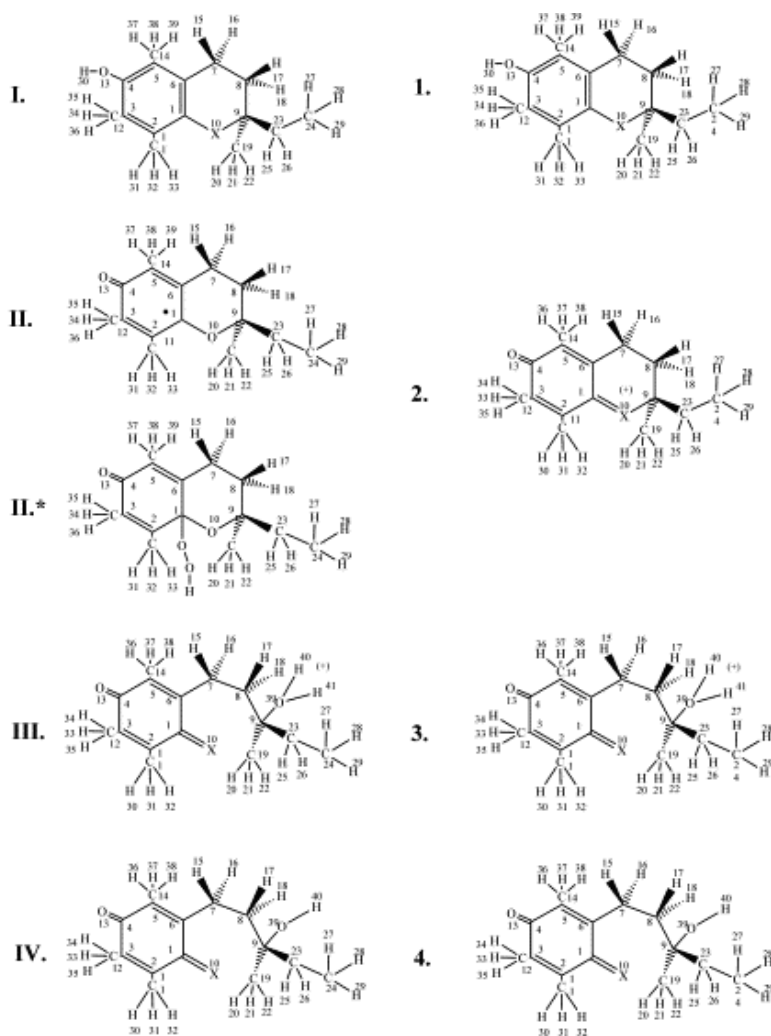
Előfordulhat, hogy a tokoferol inkább prooxidánsként lép fel, mint antioxidánsként abban az esetben, amikor nincsen jelen más antioxidáns anyag (pl. C-vitamin) ami a tokoferol-gyököt semlegesítené, és ha csak enyhe oxidatív stressz lép fel. Abban az esetben, amikor nagymértékű oxidatív stressz jön létre, a tokoferol-gyök inkább más gyököket semlegesít megelőzve a lipid-peroxidációt, még akkor is, ha más segéd-antioxidáns nincs is jelen (Kontush et al., 1996).

Az  $\alpha$ -tokoferol szabadgyökös oxidációs termékét Liebler et al. vizsgálta 1996-ban, és a kinoidális szerkeznél erősebben oxidált formát mutattak ki. Rosenau és Habicher 1995-ben ionos mechanizmust javasolt a reakciónak, amely kinoidális-szerkezetet eredményezett. Erős oxidációs körülmények között az E-vitamin erélyesebb oxidáción mehet keresztül, ami a tokoferol molekula irreverzibilis átalakulását jelenti. Az ilyen jellegű oxidáció számtalan epoxid vegyületet eredményezhet, amik még további reakciókban vehetnek részt. Mindazonáltal, az  $\alpha$ -tokoferol ionos mechanizmusú oxidációja kinoidális vagy hidrokinon szerkezetet eredményez. Ilyen mechanizmus látható az 5. ábrán. Ugyanakkor ebben az esetben számos mellékreakció is előfordulhat. Az 5. ábra bal oldali oszlopa mutatja a nem-destruktív lépéseket.



**5. ábra** Az  $\alpha$ -tokoferol nem-destruktív és destruktív ionos oxidációjának sematikus mechanizmusa (Setiadi et al., 2002)

A 6. ábra mutatja be az  $\alpha$ -tokoferol ionos, illetve a gyökös mechanizmusú oxidációjában részt vevő vegyületek, intermedierek és a keletkező termékek atomjainak számozását.



**6. ábra Az  $\alpha$ -tokoferol oxidációs reakcióiban részt vevő vegyületek, és atomjaik számozása (Setiadi et al., 2002)**

Az ionos mechanizmus során a 2-es és a 3-as számú intermedier vegyület, valamint a 4-essel jelzett termék molekula kinoidális szerkezetet tartalmaz. A gyökös mechanizmus során az I-es jelű molekula a reaktáns, a II-es és a II\*-jelű vegyületek az intermedier anyagok, a reakció terméke pedig a III-as és a IV-es jelet viseli. Látható, hogy 1=I, 3=III és 4=IV.

Setiadi és munkatársai (2002) a vizsgálatai alapján megállapította, hogy az  $\alpha$ -tokoferol oxidációja szabad gyökös mechanizmussal történik, míg a visszaalakulási, azaz a redukción lépés esetén az ionos reakciómechanizmus a valószínűbb.

Mivel az E-vitamin egy zsírolédkony antioxidáns vitamin, ami megvédi a sejtek membránját és a mitokondriumot, feltételezhető, hogy az E-vitamin erősíti az immunrendszert és hatásos a rák elleni védekezésben is.

A legfontosabb természetes E-vitamin források a növényi olajok, olajos magvak, gabonacsírák (2 evőkanál búzacsíra 40 mg E-vitamint tartalmaz), csonthéjas gyümölcsök, tojássárgája, levélzöldségek, máj, stb.

Az E-vitaminok könnyen oxidálódnak, ezért levegőn, napsugárzás hatására könnyen elvesztik hatásukat. Ezt használja ki az élelmiszeripar is, amikor zsiradékhoz E-vitamint ad az avasodás megelőzésére (FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements, 1998b).

## **2.2 A különböző italok vitamintartalma**

### **2.2.1 Sör**

Már az ókorban is fogyasztottak sört az emberek; már ekkor felismerték gyógyító erejét is. Hippokratész, Szent Hildegard és Paracelsus a sört gyógyszerként alkalmazta. A sör legnagyobb részét a víz alkotja (90-92%). A másik jelentős összetevője az etil-alkohol (3,5-6%), de mellette kis mennyiségben glicerin is található. A szárazanyag tartalom (3,5-5,5%) jelentős részét szénhidrátok adják. Ugyanakkor számos olyan vegyület is található a sörben, amely élesztő, maláta, vagy komló eredetű (Narziss, 1981; Bamforth, 2004).

A sör vitamintartalmának egyik forrása a maláta. Az árpa vitamintartalma a malátagyártás során megnő, mert a fejlődő növény különböző vitaminokat szintetizál, melyek egy része olyan hőstabil, hogy a kész sörben is megtalálható. A sörélesztő anyagcseréje során szintén keletkeznek vitaminok. A vitaminok közül a sörben megtalálható a riboflavin (B2-vitamin) (ennek mennyisége megközelíti a napi szükséges mennyiséget), a nikotinsav (B3-vitamin), a piridoxin (B6-vitamin), a pantoténsav (B5 vitamin), a folsav, valamint a biotin (Narziss, 1981; Goldammer, 2000; Bíró és Lindner, 1999; Bamforth, 2004) (2. táblázat).

### **2.2.2 Bor**

Az orvostudomány már több ezer évvel ezelőtt felfedezte a bor egészségre gyakorolt hatását. Időszámításunk előtt 450-ben Hippokratész bor fogyasztását javasolta lázcsillapítás gyanánt, de alkalmazták fertőtlenítésre, valamint sebkötözésre is. A bor egy természetes nyugtató, csökkenti a feszültséget. Normál étrend részeként a szervezetet energiával, kis mennyiségű ásványi anyaggal és

vitaminnal látja el, valamint segíti az emésztést, étvágynövelő hatású (Mattivi et al., 2000; Mercz és Kádár, 2001; Johnson, 2005; Kime, 2006).

A borok vitamintartalma erősen függ az adott bor fajtájától, illetve évjáratától is. Általánosságban elmondható, hogy minden bor említésre méltó mennyiséget tartalmaz az alábbi vitaminokból: riboflavin, tiamin, biotin, niacin, pantoténsav, piridoxin és folsav (Grossman, 1983; Bíró és Lindner, 1999; Mathé, 1999; Mattivi et al., 2000; Csapó és Csapóné-Kiss, 2004) (2. táblázat).

### 2.3.3 Narancslé

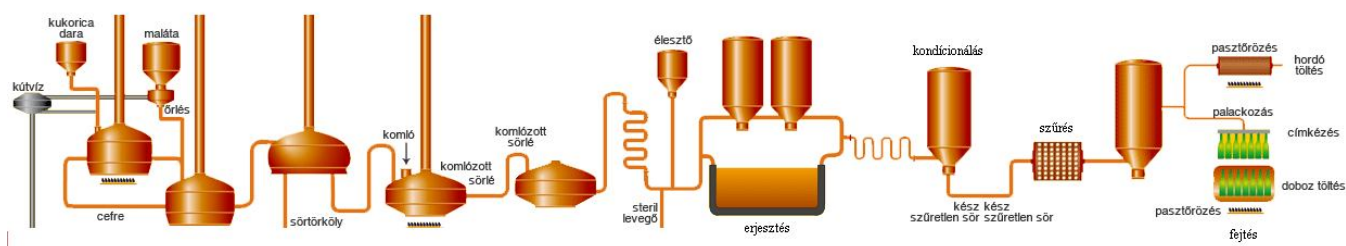
A narancslé kitűnő C-vitamin és kálium-forrás, valamint említésre méltó mennyiségű folátot és tiamint tartalmaz (Meléndez-Martínez et al., 2007; Rivas et al., 2007). Más gyümölcslevekkel összehasonlítva a narancslé gazdag fehérjében, A-vitaminban, B-vitaminokban, C-vitaminban (tízszer annyi C-vitamint tartalmaz, mint az almalé), kalciumban, vasban és káliumban. A narancslében található bioflavonoidok fontos antioxidánsok: meggátolják a C-vitamin bomlását és fokozzák a hatását. Mivel a narancslé gazdag antioxidáns forrás, az emberi szervezetben segít az oxidatív stressz leküzdésében (Bíró és Lindner, 1999; Tanács, 2005; Belitz et al., 2004; Franke et al., 2004; Elez-Martínez és Martín-Belloso, 2007).

A kereskedelemben kapható narancsleveget általában különböző vitaminokkal dúsítják. Ezek közül a legnépszerűbb az E-vitamin addíció.

**2. táblázat A különböző italokban található vitaminok (Mathé, 1999; Goldammer, 2000; Mattivi et al., 2000; Bamforth, 2004; Franke et al., 2004; Elez-Martínez és Martín-Belloso, 2007; Meléndez-Martínez et al., 2007; Rivas et al., 2007)**

Sör	Bor	Narancslé
Riboflavin (B2 vitamin)	Tiamin (B1 vitamin)	Piridoxin (B6 vitamin)
Niacin (B3 vitamin)	Riboflavin (B2 vitamin)	C vitamin
Piridoxin ( B6 vitamin)	Niacin (B3 vitamin)	Niacin (B3 vitamin)
Pantoténsav	Piridoxin (B6 vitamin)	Folsav
Folsav	Biotin (B12 vitamin)	Pantoténsav
Biotin (B12 vitamin)	Folsav	Biotin (B12 vitamin)
Tiamin ( B1 vitamin)	Pantoténsav	β-karotin
		E Vitamin
		Tiamin (B1 vitamin)
		Riboflavin (B2 vitamin)

## 2.3 A sörgyártás műveleti lépései



7. ábra A sörgyártás műveleti lépései

A sörgyártás fő nyersanyaga az árpa, amelyet vízben áztatnak és kicsíráztatnak. Csíráztatás után aszalással szárítják, majd csíráatlanítják. Ezen lépések során oldhatóvá válik az árpában levő fehérje, valamint a keményítőt cukorra bontó enzimek keletkezése is ekkor zajlik le. Az árpa csíráztatásával készült termék a maláta. Az őrölt malátához és az esetleges póanyagokhoz (kukoricadara) vizet adva képződik a cefre. A cefre melegítésével megtörténik a keményítő cukorra, a fehérjék vízoldható vegyületté való átalakulása. Ezután a cefrét a szűrőkádakba vezetve a sörlevet elválasztják a törkölytől. A kapott édes sörlehez forralás közben hozzáadagolják a komlót. A komlóforralás után eltávolítják a kicsapódott anyagokat, majd a sörlevet hőcserélővel lehűtik. A lehűlt sörlehez sörélesztőt (*Saccharomyces cerevisiae*) adva megindul a szabályozott hőmérsékletű erjedés. A leeredt sörből elveszik a leülepedett élesztőt, majd a sör az alacsonyabb hőmérsékletű kondicionáló tartályokba kerül. Az érlelési idő letelte után a sört szűrési segédanyagok segítségével megszűrik, majd tartályokba szivattyúzzák, ahonnan hordókba, üvegekbe, illetve dobozokba fejtik a kész terméket. A hordó- és doboztöltés esetén még a fejtés előtt megtörténik a pasztórizálás. Az üveges sörök pasztórizálására az üvegbe való töltés után kerül sor (Narziss, 1981; Lewis és Bamforth, 2006; Lewis és Young, 2002; Daniels, 2000).

## 2.4 A sörélesztő

### 2.4.1 A *Saccharomyces cerevisiae* anyagcseréje

A sörélesztő legfontosabb feladata, hogy a sörben található erjeszhető szénhidrátokat az anyagcseréje során szén-dioxiddá alakítsa. Emellett kiemelt fontosságú, hogy a sör érzékszervi

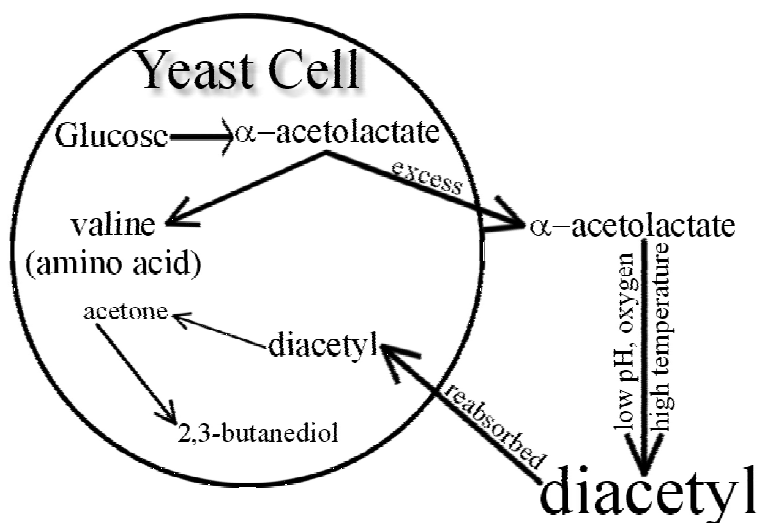
tulajdonságait pozitívan befolyásoló anyagcsere-termékei is megfelelő mennyiségben keletkezzenek. (Narziss, 1981).

A sörlemben található szénhidrátok közül a sörlesztő számára a glükóz, a fruktóz, a maltóz, a szacharóz, valamint a maltotrióz és a raffinóz az erjeszhető. (Narziss, 1981, Priest és Campbell, 1996). Nitrogénforrásként a sörlemben található aminosavakat hasznosítják az élesztősejtek, de a peptidek feldolgozására is képesek. (Rose és Harrison, 1970). Az élesztő számára jelentőséggel bírnak még egyes ásványi anyagok és növekedési faktorok (Farkas, 2007).

Az élesztősejtek az anyagcseréjük során a monoszacharidokat diffúzióval veszik fel, majd a szacharózt az invertáz enzim glükózzá és fruktózzá bontja le. A maltóznak és a maltotrióznak külön szállítórendszere van, a maltopermeáz, illetve a maltotriózpermeáz. A raffinóz esetében kiemelendő, hogy csak alsóerjesztésű élesztő képes monoszacharidokra bontani, mert azok rendelkeznek melibiáz enzimmal az invertáz mellett, így a felsőerjesztésű élesztők a melibiózt nem bontják le (Farkas, 2007).

A sörle aminosav és peptid tartalmának megfelelőnek kell lennie ahhoz, hogy az élesztőszaporodás, és így az erjesztés lefolyása megfelelő legyen. Az asszimilálható nitrogén tartalomban az aminosavak a legnagyobb jelentőségűek, így a sörlevek szabad-amino-nitrogén (FAN) tartalmát szokták meghatározni. Ha ez az érték túl alacsony, a fermentáció lefolyása nem lesz megfelelő (Farkas, 2007).

A kész sör minőségének szempontjából fontos, hogy a sörle megfelelő mennyiségű valint tartalmazzon. Amennyiben a sörle valin tartalma nem megfelelő, az élesztő saját maga szintetizálja azt, mely reakció során keletkezett egyik intermedier termék, az  $\alpha$ -acetolaktát, a sejtből kikerülve oxidatív dekarboxilezéssel diacetillé alakul (8. ábra) A diacetil ízlelési küszöbértéke igen alacsony, 0.12-0.15 mg/L. A késztermék minőségét meghatározóan rontja, ha annyi keletkezik a fickósörben, hogy azt a sörlesztő nem tudja lebontani az érlelés folyamán (Farkas, 2007).



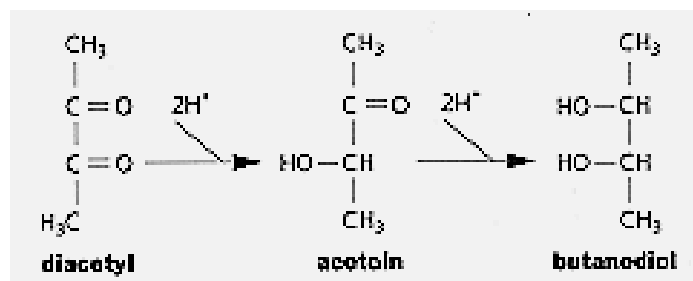
8. ábra. A diacetil képződése (Stueven, 2003)



Az élesztő lipidtartalma foszfolipidekből, szterinekből és trigliceridekből tevődik össze, mely vegyületek a fehérjékkel együtt képezik az élesztő sejtmembránját. A sejtmembrán szabályozza a különböző molekulák (tápanyagok és anyagcseretermékek) áramlását a sejt belsejébe, illetve onnan kifelé.

Az ásványi anyagok közül több szervesetlen ion is szükséges mikro- illetve makromólos koncentrációban. Nagy jelentőségűek a foszfátok, a kálium, a magnézium, a vas, a réz és a cink (Farkas, 2007).

A sör minősége szempontjából fontos anyagcsere-termékek közé tartoznak a magasabb rendű alkohokok, az ún. kozmaolajok, amelyek aminosavakból képződnek. Az aminosavak transzaminálással ketosavvá alakulnak, majd dekarboxilezéssel és egy azt követő redukciós lépéssel alkohollá. Az alifás alkohokok közül megemlítendő az n-propanol, az n-butanol, az izobutanol, és az amil-alkohol (2-metil-butanol). A söraroma fő hordozói az észterek (pl. etil-acetát, izoamil-acetát). A sejten belül az acetyl-Co-A vegyületek és az alkohokok kondenzációjával keletkeznek. Szintézisük összefügg az élesztő növekedésével, valamint a zsírsavak is befolyásolják a képződésüket. Az acetaldehid a főerjedés első 48 órájában keletkezik piruváttól. Képződését elősegíti a nagy élesztőadag, a magas erjesztési hőmérséklet és a nem megfelelő levegőztetés. A fő- és utóerjedés során a mennyisége csökken (Farkas, 2007) a 9. ábrán látható reakció alapján (Fix, 1993).



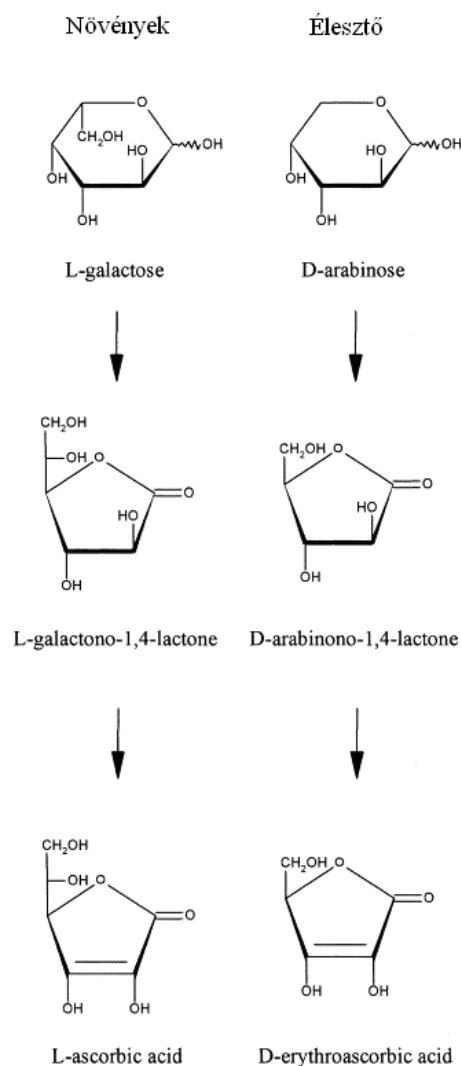
9. ábra A diacetyl élesztő általi redukciója (Fix, 1993)

#### 2.4.2 A sörélesztő és a C-, illetve E-vitamin kapcsolata

Számos tanulmány foglalkozik azzal a kérdéssel, hogy az élesztő alkalmas-e az emberi szervezet számára szükséges L-askorbinsav (L-AA) előállítására (Boudrant, 1990; Loewus, 1999). A régebbi közlemények állítása szerint az L-AA jelen van bizonyos élesztőkben, így például a sörgyártás során alkalmazott *Saccharomyces cerevisia*-ben is (Heick et al., 1969; Heick et al., 1972). Igaz, ezeket az állításokat a legújabb kutatások megkérdőjelezi (Nick et al., 1986; Running

et al., 1994). A két megfigyelés közti különbséget az is okozhatja, hogy az élesztőben, és más gombákban is megtalálható a D-eritroaszkorbinsav (D-EAA), ami a L-AA öt szénatomos, hasonló redoxi tulajdonságokkal rendelkező analóg vegyülete (Shao et al., 1993). A D-EAA-t szintén az aszorbát-oxidáz oxidálja (Loewus, 1999).

Hancock és munkatársai (2000) újrapvizsgálták a *S. cerevisiae* L-AA szintetizáló képességét. Megállapították, hogy a L-AA nem természetes terméke a *S. cerevisiae* anyagcseréjének, de a szintézisét kiválthatja olyan nem-fiziológiás szubsztrátok adagolása, amelyek L-aszkorbinsavvá alakulhatnak a D-EAA bioszintetikus reakcióiban résztvevő enzimek segítségével. Vizsgálatuk azt igazolta, hogy a *S. cerevisiae* sejtek nem képesek D-aldózból L-AA-t szintetizálni. Ugyanakkor az L-galaktózzal, vagy L-1,4-laktonokkal ellátott *S. cerevisiae* sejtekben L-AA felhalmozódást sikerült kimutatni. Ezek a vegyületek közvetlen prekursoraként szerepelnek az L-AA növényi bioszintézisében. (Isherwood et al., 1954; Wheeler et al., 1998). A 10. ábrán látható az L-AA növényi, és a D-EAA élesztő általi bioszintézisének összehasonlítása.



**10. ábra Az L-AA növényi, és a D-EAA élesztő általi bioszintézisének összehasonlítása (Hancock et al., 2000)**

Raspor és munkatársai (2005) tanulmányozták a Trolox adagolás élesztőre gyakorolt hatását. A Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilkromán-2-karboxilsav) az E-vitaminnal analóg vegyület, amely ugyanúgy antioxidáns tulajdonságot biztosító kromanol szerkezettel rendelkezik, mint a tokoferol, azonban a karboxil-csoportnak köszönhetően közepes vízoldékonysággal is rendelkezik. A vizsgálatok során a modell-szerkezet a *Saccharomyces cerevisiae* élesztő volt. Megemlítendő, hogy nagyfokú funkcionális azonosság található a *Saccharomyces cerevisiae* és az emberi oxidatív stressz elleni védekezésben (Walker, 1997).

Glükózban gazdag környezetben történő aerob növekedés során, számtalan antioxidáns hatású enzim, mint pl. SOD, kataláz, vagy peroxidáz csak nagyon alacsony koncentrációban, vagy egyáltalán nem volt jelen az élesztőkultúrában. A Troloxszal kezelt sejtek esetén az élesztő nagyobb hatékonysággal távolította el a szuperoxid aniont, illetve a hidrogén-peroxidot. Feltehetően mindkettő a sejten belül felhalmozódott Trolox gyök-megkötő képességének, vagy a serkentett antioxidáns-enzim képződésnek volt köszönhető.

Bronzetti munkatársaival (2001) hasonló tanulmányt készített az E-vitamin különböző, *S. cerevisiae* enzimatisz aktivitására gyakorolt hatásával kapcsolatban. A kataláz, a glutation-peroxidáz és a szuperoxid-diszmutáz aktivitása jelentősen megemelkedett az E-vitamin jelenlétében. Ez a hatás különösen alacsony E-vitamin koncentráció (100 µM) esetén volt kimutatható, míg magasabb koncentráció (1 mM) esetében az eredmények nem különböztek a kezeletlen minták enzimaktivitásától.

## **2.5 A sör minőségi jellemzése**

### **2.5.1 Analitikai paraméterek**

A sör analitikai vizsgálatára a Magyar Élelmiszerkönyv előírásai alapján több szabvány is ad részletes leírást (A szín meghatározása spektrofotometriás módszerrel: MSZ 8761-6, 2002; A pH-érték meghatározása MSZ 8761-7, 1993; A szén-dioxid-tartalom meghatározása titrálásos módszerrel MSZ 8761-9, 2002; Az alkohol-, az extrakttartalom és az erjedési fok meghatározása MSZ 8761-10, 2002). Ezen vizsgálati módszerek mellett a European Brewery Convention (EBC) és az American Society of Brewing Chemists (ASBC) is kiadott egy-egy eljárásgyűjteményt, amely a sör különböző gyártási stádiumában alkalmazott vizsgálati módszereket tartalmazza.

A sör készítése során a végterméken kívül a gyártásközi mintákat is vizsgálni kell. A termék minőségét több paraméterrel is lehet jellemezni, ezeket érdemes a gyártás több fázisában is nyomon követni. Ilyen paraméter például a szín, a pH, az extrakt- és alkoholtartalom, a keserűanyag-, és a vicinális diketon (diacetil és penándion)-tartalom.

A sör pH-ja 4,30-4,60 között változik. Az alacsonyabb pH előnyösebb az íz és a tartósság szempontjából. A túl magas pH hiányos erjedésre is utalhat (Bamforth, 2003).

A sör színe típusonként eltérő. A Magyar Élelmiszerkönyv 2-96-os irányelve alapján a világos sörök esetén <20 EBC egység, félbarna sörök esetében 20-45 EBC egység, míg barna sörök esetén >45 EBC egység az előírás.

A sör extrakttartalma a benne lévő összes oldott anyag mennyisége, amelyet répacukor tömegszázalékban %(m/m) adunk meg. A kész sör alkohol- és extrakttartalma attól függ, hogy milyen sűrű cefrét készítettek és mennyire erjesztették le. Normálisan leerjesztett sörnél az alkohol mennyisége az eredeti extrakttartalom 1/3 része. A sörök alkoholtartalma általában 2,5-5% közt ingadozik. Ezen érték felett már magas alkoholtartalmú sörökről beszélünk. A sörminőségeket az eredeti extrakttartalom alapján különböztetik meg: a termék előállítója „minőségi”, vagy „prémium” jelzővel illetheti azt a terméket, amelynek eredeti extrakttartalma >10.5% és/vagy a pótanyag tartalma < 15%. (Magyar Élelmiszerkönyv, 2-96 számú irányelv: Sör)

A sör keserűanyag tartalma EBC egységekben kifejezve szintén sörtípusonként eltérő: 15 – 50 mg/l között változik. Ebből körülbelül 1 – 4 mg/l mennyiséget az izomerálatlan  $\alpha$ -sav, 1 – 3 mg/l-t a hulupon, és a fennmaradó mennyiséget az iso- $\alpha$ -savak teszik ki (Narziss, 1981).

A vicinális diketonok az élesztő anyagcsere-termékei. A diacetil rontja a sör ízét az alacsony ízlelési küszöbértéke miatt. A pentádion csak nagyobb koncentrációban érzékelhető, így a jelentősége kisebb (Marsili, 2001).

## 2.5.2 Érzékszervi vizsgálat

A sör érzékszervi bírálatát a Magyar Élelmiszerkönyv előírásai alapján a MSZ 8761-4:1995 szabvány írja le részletesen.

A sör érzékszervi vizsgálata során három fő tulajdonságot kell vizsgálni: a külalakot, az illatot és az ízt.

A sörkóstolás során a sör felszolgálásának módja jelentős tényező, ez ugyanis megváltoztathatja a különböző tulajdonságokat. A legfontosabb, hogy sohasem szabad közvetlenül az üvegből, vagy a dobozból kóstolni. Erre a célra üvegedényzetet kell alkalmazni, amely tiszta, ugyanakkor mentes mindenféle mosószer-maradéktól, mivel ez csökkentené a habképződést és a habstabilitást. Szintén nagyon fontos a sör megfelelő hőmérséklete a kóstolás során. Túl hideg sörminta esetén nem lehet érezni a sör finomabb, kényesebb ízeit. A különböző sörtípusok esetén az

alábbi kóstolási hőmérsékletek javasoltak: világos lager sör esetén 7-10 °C, félbarna sörök esetén 10-13 °C, és a barna, testes sörök esetén 13-15,5 °C. A sörkóstolás során a habstabilitás az egyik vizsgált paraméter, ezért a sört olyan módon kell kitölteni a vizsgálati edénybe, hogy megfelelő hab keletkezzen a tetején. Ennek érdekében az üvegedényt fokozatosan távolítani kell az üveg szájától a töltés során. A hab mérete nagymértékben függ a vizsgált sör típusától is, de mindenképpen biztosítani kell, hogy a vizsgált minta 2-4 cm habbal rendelkezzen. A képződött hab két szempontból is fontos: lehetővé teszi, hogy a sör aromája és illatanyaga felszabaduljon, valamint megvédi a sört a lehetséges oxidációtól, ami ízromlást eredményezne (Marsili, 2001; Sör Érzékszervi bírálat MSZ 8761-4, 1995).

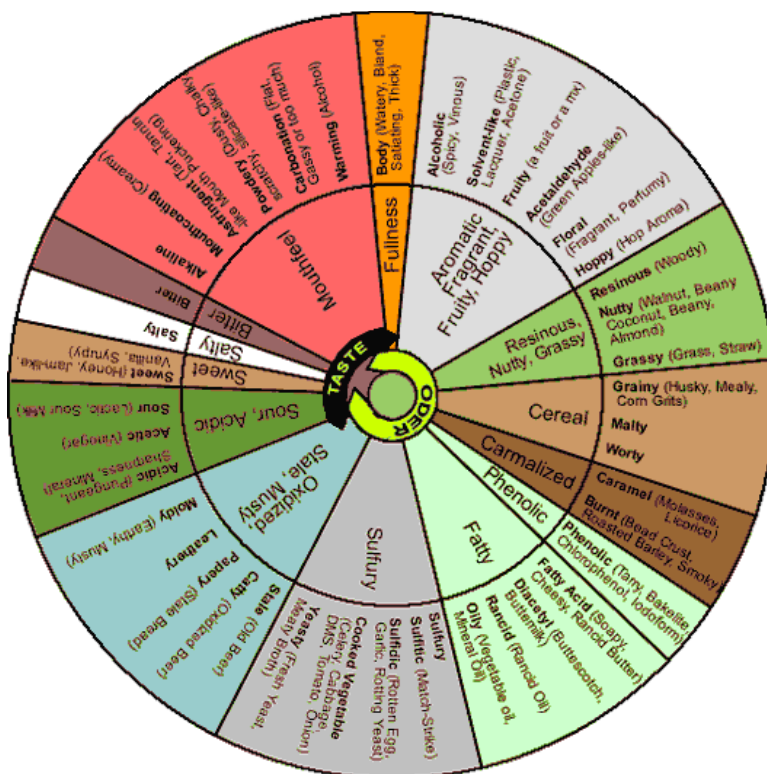
A sörkóstolás során az első lépés a külalak értékelése. Ez különböző szempontok alapján történik. Értékelésre kerül a habképződés és a habstabilitás, a sör színe, valamint a vizsgált minta „tükrössége”, azaz az oldat áttetszősége. A megfelelő hab nem esik össze túl gyorsan, valamint úgynevezett „Belga csipke” bevonatot kell hagynia az üvegen, miután összeesett. A szín és a tükrösség megítéléséhez szükséges, hogy a bírálók fehér háttér előtt, jól megvilágított helyiségben vizsgálják a mintákat. A szín esetében a sör típusának megfelelő színmélységnek kell lennie. A szokatlan jelenségeket, mint például a jelentősen nagy buborékokat, vagy az esetleges üledék jelenlétét szintén vizsgálni kell (Marsili, 2001; Jackson, 2007).

Az illat megítélése az egyik legvitathatóbb és legkritikusabb lépés a sörkóstolás során. Az első lépés a domináns összetevő, azaz a kezdeti aroma meghatározása, ami a minta kitöltése után felszabadul. A sörtípustól függően az alábbiak keveréke lehet: maláta, komló, tej-karamella vagy más erős illatok. Minden más nem odaillő szag, mint például a bakteriális fertőzést jelző főtt zöldség illat, a domináns összetevő mellett lesz érezhető. Ahogy a sör az üvegedényben leül, a domináns komponens utat enged a kevésbé telt másodlagos illatnak. Ennek az érzékelését a pohár óvatos forgatásával lehet elősegíteni. A másodlagos illat elillanása után érezhető a maradékszag, amit gyakran a sör „illat kézjegyének” is tekintenek. A leggyakoribb hiba, amit az illat alapján jelezni lehet, az úgynevezett fény-aroma jelenléte, ami a sör fény általi oxidációját jelzi.

A borkóstolással ellentétben a sör kóstolásánál le kell nyelni a vizsgált mintát, mert a keserű íz csak a nyelv leghátulján érezhető. A sör ízlelése során mind az íze, mind pedig a száj és a torok között kialakuló érzet (pl. fémesség, porszerű, stb.) is kiértékelésre kerül. A különböző minták kóstolása között kenyeret, vagy valamilyen sós kekszet kell fogyasztani a szápadlás íz-mentesítése érdekében (Marsili, 2001; Jackson, 2007).

A 11. ábrán az úgynevezett Meilgaard-féle sör-ízkerék látható, amely bemutatja a különböző ízeket és illatokat. 13 fő kategória különböztethető meg, és mindegyik számos jellemző összetevőt tartalmaz.

A 12. ábra egy lehetséges sör-pontozási lapot mutat be.



11. ábra A Meilgaard-féle sör-ízkerék (The Meilgaard Beer Flavour Wheel, 2006)

A vizsgálatot végző személy neve: \_\_\_\_\_ A sör sorszáma: \_\_\_\_\_

**Külsőalak:**

Tisztaság:	Teljesen áttetsző	Homályos	Zavaros
Habképződés:	Kitűnő	Jó	Rossz

**Illat:**

Komló: Fűves Fenyő Virágos Gyanta Fűszeres  
 Maláta: Diós Édes Szemcsés Pörkölt Karamell Csokoládé  
 Észter: Gyümölcsös  
 Zavaró aromák: Vaj Kénes Főtt zöltség Halas Olajos Klóros Fény-illat Oldószeres  
 Intenzitás: Alacsony Közepes Jó

**Íz:**

Test: Halovány Közepes Testes	Intenzitás: Alacsony Közepes Jó
Íz: Keserű Savanyú Édes Sós	Utóíz intenzitás: Rövid Közepes Hosszú
Szén-dioxid tartalom: Kevés Jó Túl sok	Ízhibák: Savanyú Ecetes Oldószeres Káposzt Kartonpapír Hamu íz
Karakter: Gyümölcsös Komlós Malátás	Más: Finom Krémes Száraz Édes
Keserűség: Nem keserű Jó Túl keserű	

Összesített vélemény:

Mínőség: Hibás Elfogadható Jó  
 Tetszett/Nem tetszett: (Nem tetszett) 1 2 3 4 5 (Tetszett)  
 Ithatóság: (Nem iható) 1 2 3 4 5 (Iható)

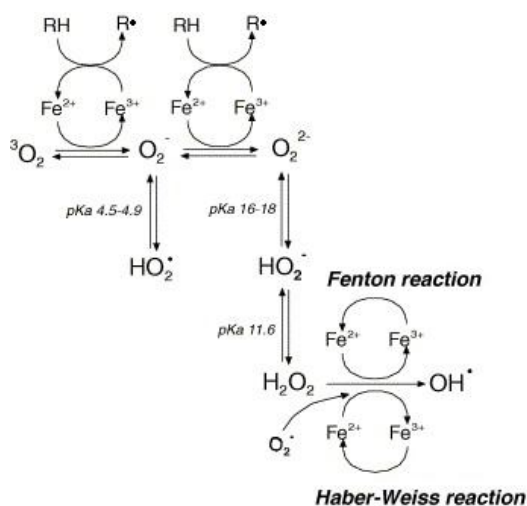
12. ábra A sörkóstolások során alkalmazott pontozási lap egy lehetséges változata (Beer drinking with taste, 2006)

### 2.5.3 A sör íz-stabilitása

Egy élelmiszeripari termék stabilitása a minőség szerves részét képezi. A sör stabilitása azt az „élettartamot” jelenti, amíg a sör íze és külalakja ugyanolyan, mint amikor a gyártás során palackozták. A stabilitás szó egy összefoglaló kifejezés: alatta különböző jelenségekről, folyamatokról beszélhetünk. A kolloidzavarosodás a sör molekuláinak Brown-féle mozgásából adódik, ami a diszperzitásfok durvulását okozza. Ezt az „öregedést” a magas tárolási hőmérséklet, illetve a mozgás fokozza, mivel e két tényező elősegíti a részecskék ütközését. Emellett a sörben lévő fehérjékből és polifenolokból különböző adszorpciós vegyületek is képződnek (De Clerck, 1994; O’Rourke, 2002a).

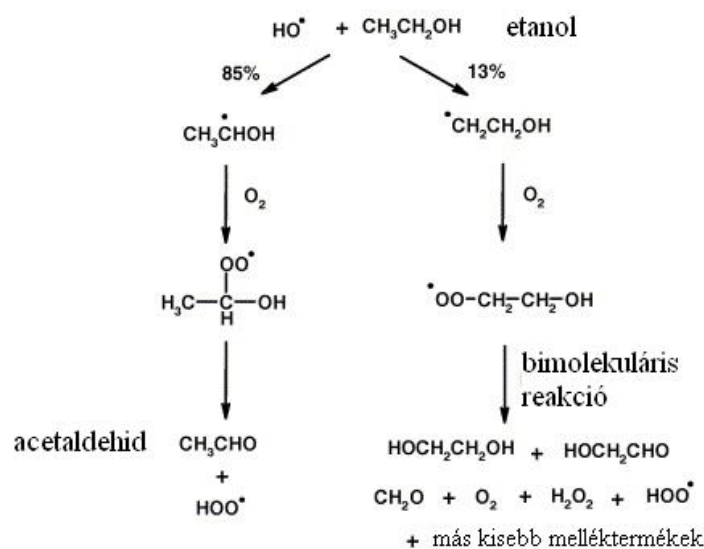
A stabilitáshoz tartozik még a sör mikrobiológiai stabilitása is. A mikrobiológiai tartósságot minden olyan mikroorganizmus veszélyezteti, amely képes a sörben szaporodni, zavarosodást okozni, vagy anyagcsere termékei révén a sört károsítani. Ilyen károsodást okozhatnak például a vadélesztők, a sörszarcina, vagy a tejsavbaktériumok.

A sör ízstabilitása azt jelenti, hogy a sör eredeti ízét, jellegét megtartja a fogyasztásáig. Újabb tanulmányok szerint az íz romlását különböző szabadgyökök, és az általuk előidézett oxidációs folyamatok indítják meg. A reaktív oxigén részecskék (ROS) jelentőségét a sör ízének romlásában először Bamforth és Parsons írta le 1985-ben. A sörben jelen levő  $\text{Fe}^{2+}$  segítségével az oxigén molekula egy elektron felvételével szuperoxid anionná alakul. A szuperoxid anion protonálódásával perhidroxil-gyök keletkezik. A reakció  $\text{pK}_a$  értéke 4,8, ami azt jelenti, hogy a sör pH értékén a szuperoxid-ionok nagy része perhidroxil formában van jelen. A szuperoxid anion ugyanakkor további redukciós reakcióra is képes. Ennek a reakciónak a peroxid anion a terméke, amely hidrogén-peroxiddá protonálódhat. A hidrogén-peroxid bomlásával hidroxil-gyökök jönnek létre (13. ábra). Ugyancsak hidroxil-gyököket eredményez a szuperoxid anion Haber-Weiss reakciója. Az ROS-ek reaktivitása a redukciós állapotukkal nő, azaz: szuperoxid anion < perhidroxil-gyök < hidroxil-gyök (Kaneda et al., 1989; Kaneda et al., 1992).



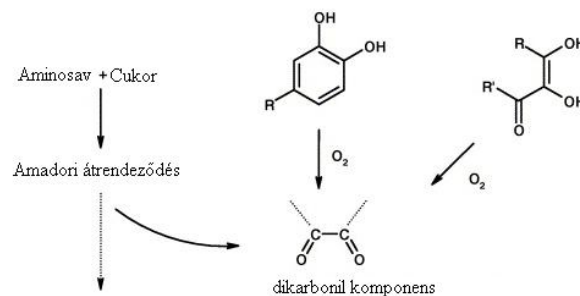
13. ábra A reaktív oxigén részecskék képződése sörben (Kaneda et al., 1989)

A hidroxil-gyökkel az oxidálható anyagok lépnek reakcióba. Itt szóba jöhetnek a sörben jelen levő főbb vegyületcsoportok, mint például a fehérjék, a szénhidrátok, vagy maga az etanol. A hidroxil-gyök és az etanol közti reakcióban létrejött 1-hidroxi-etil-gyök (14. ábra) a további reakciók szempontjából az egyik legfontosabb komponens (Andersen és Skibsted, 1998). Különösen fontos a zsírsavak és a hidroxil-savak oxidációja. Magát a romlott ízt főként az aldehidek, ketonok és észterek okozzák. Közülük talán az egyik legfontosabb a transz-2-nonenal, de érdemes megemlíteni a heptanalt, a hexanalt, a nikotinsav-etil-észtert és még számos vegyületet (Bravo et al., 2001; Lustig, 1993). Több tanulmány is kimutatta, hogy a kisebb nonenal tartalmú sörrel jobb íz-stabilitást eredményez (Drost et al., 1990; Noel és Collin, 1995).



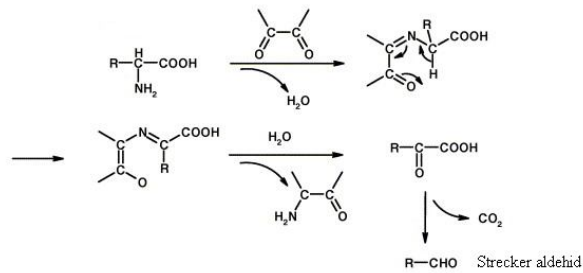
14. ábra Az etanol és a hidroxil-gyök reakciója (Andersen és Skibsted, 1998)

A sör öregedése folyamán többféle reakcióúton is keletkezhetnek karbonil komponensek. Ilyen reakció lehet a nagy szénatomszámú alkoholok oxidációja, vagy az aminosavak Strecker-degradációja (15. és 16. ábra), amely során a kezdeti transzaminálás eredményeként létrejött  $\alpha$ -ketosav dekarboxileződik, így a kiindulási aminosavnál egy szénatommal kisebb aldehid jön létre (Thum et al., 1995).



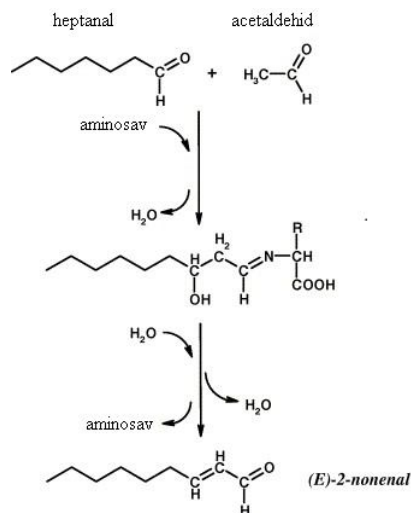
15. ábra A dikarbonil komponens képződése (Thum et al., 1995)





**16. ábra Az aminosavak Strecker-degradációja (Thum et al., 1995)**

Az aldol-kondenzáció (17. ábra) eredményeként szintén aldehidek jönnek létre. Ebben a reakcióban az aminosavak katalizátorként szerepelhetnek imin intermedier képzése révén. Ezen az úton jöhetnek létre az alacsony íz-küszöbértékű aldehidek azokból, a sörben egyébként benne levő, kevésbé íz-aktív aldehidekből, amelyek más reakcióutakon keletkeztek (Hashimoto és Kuroiwa, 1975).

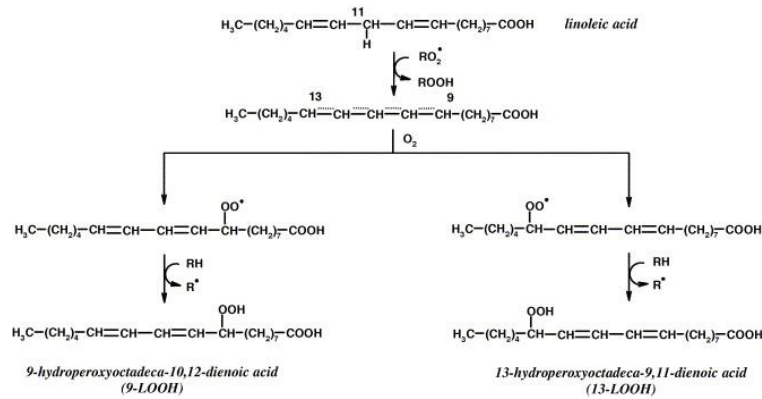


**17. ábra Az egyik legjelentősebb vegyület, a 2-nonenal keletkezése aldol-kondenzációval (Hashimoto és Kuroiwa, 1975).**

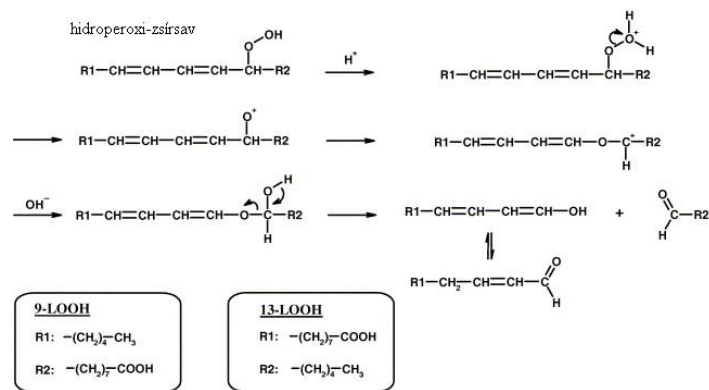
Hashimoto és Eshima 1979-ben megállapította, hogy az iso- $\alpha$ -savak illékony bomlási termékei különböző lánchosszúságú karbonil-vegyületek.

A sör öregedése folyamán kiemelt fontosságú a telítetlen zsírsavak oxidációja. A sörben és a sörlében egyedül a linolsav és a linolénsav található meg jelentősebb mennyiségben. Az oxidációs reakció többféle módon játszódhat le. Az autooxidáció első lépéseként egy szabadgyök elvesz egy hidrogén-atomot a zsírsav molekulától és egy pentadienil-gyök jön létre. Ez a gyök két hidroperoxid (LOOH) vegyület képzésével stabilizálódik (9-es és 13-as pozícióban). Mindkét forma megőrzi a

kiindulási konjugált rendszert (18. ábra) (Belitz et al., 2004). A létrejött hidroperoxi-sav további, különböző reakciómechanizmusú degradációs reakciókban vehet részt, mely során számos illékony vegyület szabadul fel. Ohloff 1978-ban ionos reakciómechanizmust (19. ábra) javasolt a 2-nonenal 9-LOOH-ból való keletkezésére.



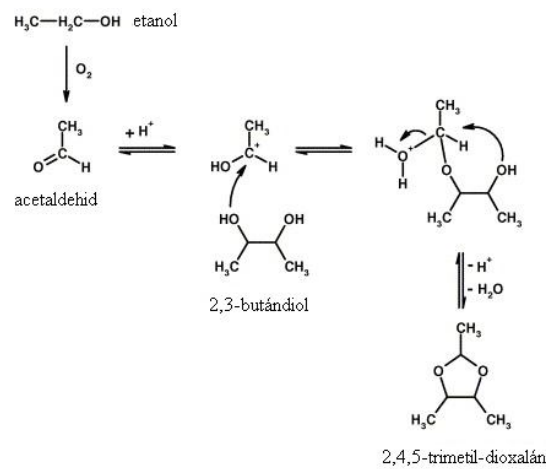
18. ábra 9-LOOH és 13-LOOH képződése linolsav autooxidációjával (Belitz és Grosch, 1999)



19. ábra A 9-LOOH és a 13-LOOH proton katalizált hasadása (Ohloff, 1978)

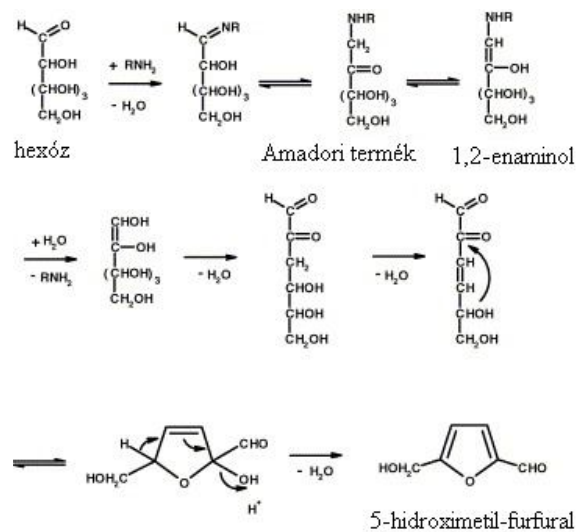
A zsírsavak enzimes bomlásakor a lipoxigenáz enzimek (LOX) oxidálják a zsírsavakat hidroperoxi-savakká, amelyek, szintén enzimatis úton, mono-, di-, illetve trihidroxi-savakká alakulhatnak át. Ez utóbbi vegyületek nem-enzimatis reakcióban karbonil vegyületeket hoznak létre (Kuroda et al., 2002).

A 2,3-butándiol egy aldehiddel való reakciójában ciklikus acetálok keletkeznek (20. ábra). Mennyiségük, különösen akkor, ha a sör oxigénnel érintkezik, a tárolás során emelkedik. A 2,4,5-trimetil-1,3-dioxalán maximális koncentrációja sörben 100 µg/L körüli érték (Vanderhaegen, 2004).



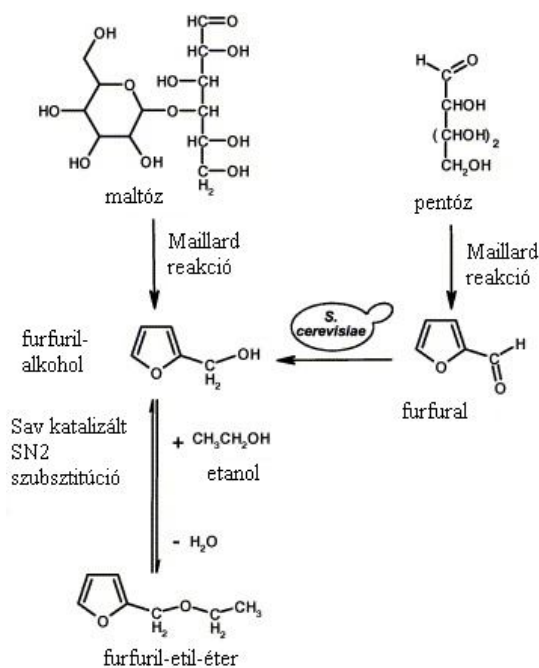
20. ábra 2,4,5-trimetil-dioxalán képződése sörben (Vanderhaegen, 2004)

A sör öregedése folyamán számos komponens képződik Maillard-reakcióval, amely rendszerint a redukáló cukrok és az aminosavak, vagy fehérjék között játszódik le (21. ábra). A Maillard reakció termékei (pl. furfural, 5-hidroximetil-furfural, stb.) általában az íz-küszöbérték alatt maradnak. Általában ezek az anyagok felelősek az édes, bor-szerű íz kialakulásáért. (Hofmann és Schieberle, 1997; Umano et al., 1995)



21. ábra Az 5-hidroximetil-furfural képződése Maillard reakcióval (Vanderhaegen et al., 2006)

A tárolás során néhány Maillard intermedier vegyület reakcióba léphet egyéb sörkomponensekkel, mely reakciók során újabb íz-rontó anyagok jönnek létre. Ilyen módon keletkezik a furfural-etil-éter (22. ábra). A sörgyártás során a furfural alkohol Maillard reakcióval keletkezik a sörlé forralása közben (Vanderhaegen et al., 2004).



**22. ábra A furfural-etil-éter képződése a sör tárolása során (Vanderhaegen et al., 2004a)**

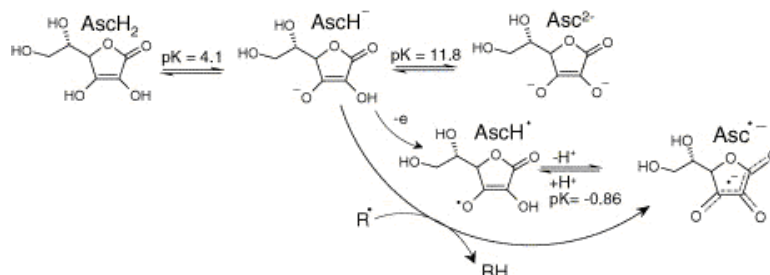
Az etanol és a sör szerves savjai között lejátszódó kondenzációs reakciókban különböző illékony észterek keletkezhetnek. A prekursor savak az iso- $\alpha$ -savak oxidációjával keletkeznek. Néhány észter, mint például az iso-amil-acetát hidrolizálhat, így rontva a sör ízét. (Williams és Wagner, 1979). Neven kimutatta 1997-ben, hogy a néhány észter az élesztősejtek fermentáció folyamán végbement autolízise folyamán kerülnek a sörbe.

Számottevő jelentőségű a polifenolok ROS-ek, vagy más szabadgyökök általi degradációja is. Az egyszerű polifenolok nagy molekulatömegű részecskékké polimerizálódnak, akár savkatalízis, vagy oxidatív reakció hatására (Gardner és McGuinness, 1977). Feltehetően első lépésként kinon, vagy szemikinon gyökké oxidálódnak, majd reakcióba lépnek más fenolos komponensekkel. A polimerizáción kívül a gyűrű felnyílása is egy lehetséges reakcióút a degradációra (Cilliers és Singleton, 1990). A tárolás során a polifenol polimerek reakcióba lépnek a fehérjékkel, és oldhatatlan komplexet, zavarosodást okoznak.

### 2.5.3.1 Vitaminok és az ízstabilitás

A sejteken belüli antioxidáns rendszer két fő részre osztható: enzimatis és nem-enzimatis részre. Antioxidáns enzim például a szuperoxid-diszmutáz (SOD), a szuperoxid-reduktáz, a kataláz, a peroxiredoxinok, a glutation-peroxidáz és más glutationnal kapcsolatos enzimek. A nem-enzimatis rész komponensei közé tartozik például a C- és az E-vitamin, a különböző szelén-tartalmú anyagok és az ubikinon (Nordberg és Arnér, 2001).

A C-vitamin nyújtja a leghatékonyabb védelmet a lipideknek a ROS-ekkel szemben vizes közeg esetén (Frei, 1991). Két ionizálható hidroxil-csoportot tartalmaz, így egy disavnak tekinthető ( $\text{AscH}_2$ ) (23. ábra). Fiziológiás pH értéken a C-vitamin 99.9%-a  $\text{AscH}^-$  formában van jelen, 0.05%-nyi a  $\text{AscH}_2$  és 0.004% a  $\text{Asc}^{2-}$  mennyisége. A C-vitamin antioxidáns hatását a  $\text{AscH}^-$  ionja okozza, amely antioxidáns donor, reakcióba lép a gyökös vegyületekkel és stabilis trikarbonil-aszkorbát szabad-gyököt képez ( $\text{AscH}^\cdot$ ). Ez utóbbi vegyület pK értéke -0.86, ami azt jelenti, hogy nincsen protonálódva, hanem  $\text{Asc}^{\cdot-}$  formában létezik (23. ábra). Az aszkorbinsav ROS-ekkel való oxidációs reakciójának a terméke a kevésbé reaktív szemidehidroaszkorbil-gyök ( $\text{Asc}^{\cdot-}$ ) (Cuzzocrea, 2004; Kasparova et al., 2005).

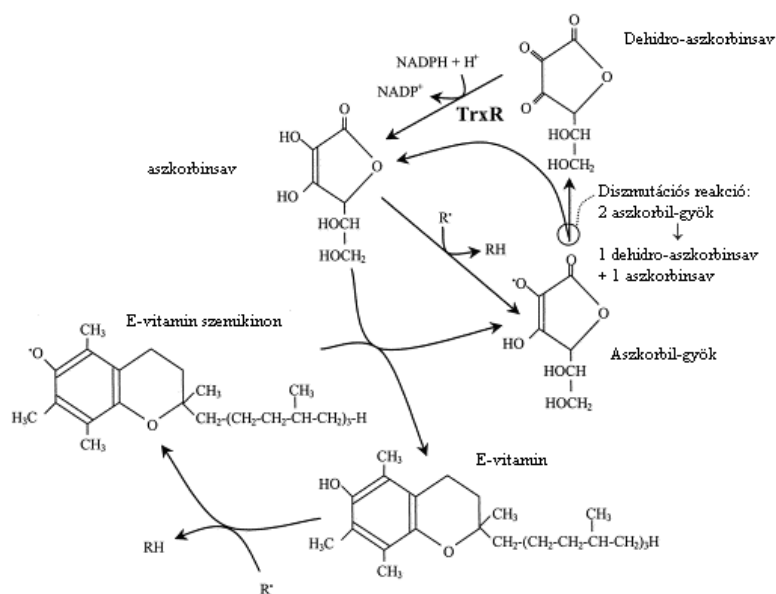


**23. ábra: Az aszkorbinsav lehetséges formái és gyökökkel való reakciói (Valko et al., 2006)**

Az E-vitamin, mivel zsíroléköny, a biológiai membránokban található meg. Maga a vegyület hidroxil-csoportot tartalmaz, amely reakcióba léphet a párosítatlan elektronokkal, így redukálni képes például a peroxil-gyököket, valamint reakcióba léphet az oxigénnel, a szuperoxid-ionnal, és a hidroxil-gyökkel (Kamal-Eldin és Appelqvist, 1996). Lényeges, hogy bár az  $\alpha$ -tokoferol a peroxi-gyököt hidrogén-peroxiddá tudja alakítani, de tovább nem. A reakció e szakaszától a glutation-peroxidáz, vagy a kataláz enzimek viszik tovább a redukciót a vízképződés irányába (Setiadi et al., 2003). A szabad gyökökkel való reakciójában E-vitamin-szemikinon keletkezik, amely visszalakul E-vitaminná egy redukciós lépés során, amelyben az aszkorbinsav a reakciópartner (Packer et al., 1979; Mukai et al., 1989). Ebben a reakcióban aszkorbil-szabad gyökök képződnek, amelyek egymással reakcióba lépve létrehoznak egy molekula aszkorbinsavat,

és egy molekula dehidro-aszkorbinsavat (24. ábra). Ez utóbbi vegyületet a tioredoxin-reduktáz enzim szintén aszkorbinsavvá redukálja (May et al., 1997). A szabad aszkorbil-gyökök - tioredoxin-reduktáz hatására történő- aszkorbinsavvá való közvetlen oxidációját May és munkatársai írták le (1998), de a katalízis mechanizmusa nem teljesen egyértelmű.

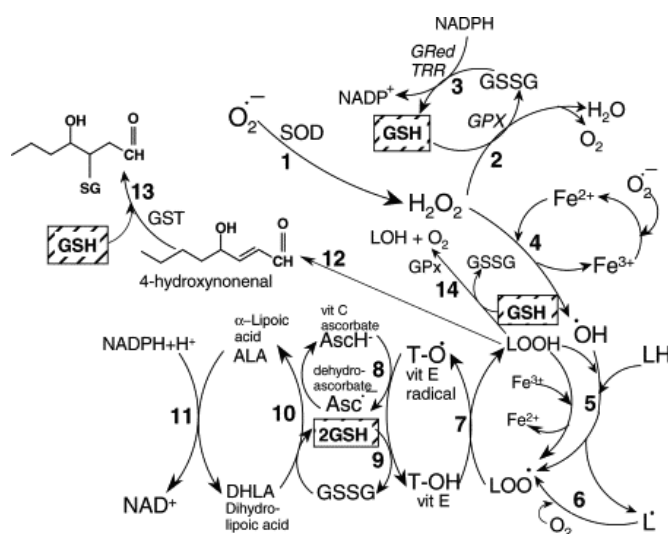
Az E-vitamin fő antioxidáns hatása a lipid peroxidáció megakadályozása (Pryor, 2000). A reakció során a tokoferol tokoferol-gyökké alakul azáltal, hogy átad egy hidrogént a lipid-, vagy a lipid-peroxil-gyöknek. A tokoferol-gyököt az aszkorbinsav alakítja vissza az eredeti formájába (Kojo, 2004).



**24. ábra A C-vitamin különböző alakjai és az E-vitamin közti kölcsönös hatás a tioredoxin-reduktáz enzimmel összefüggésben (Nordberg és Arnér, 2001)**

A 25. ábra mutatja be a szuperoxid anionból kiinduló reakciók összefoglalását, valamint a C- és az E-vitamin ezen reakciókban betöltött szerepét. Az 1. reakció során a szuperoxid a szuperoxid-diszmutáz segítségével hidrogén-peroxiddá alakul, amit a glutation-peroxidáz enzim köti meg a legeredményesebben, ami glutationt (GSH) igényel elektron donorként (2. reakció). Az oxidált glutation (GSSG) visszaredukálódik glutationná (GSH) a glutation-reduktáz enzim közreműködésével (3. reakció). A Fenton (4.) reakció során néhány fémion (pl. Fe<sup>2+</sup>) felbontja a hidrogén-peroxidot, és reaktív hidroxil-gyököket hoz létre, amely elektront von el a politelítetlen zsírsavaktól (LH), így lipid gyököt (L<sup>•</sup>) szabadít fel (5. reakció). A lipid-gyök (L<sup>•</sup>) reakcióba lép a molekuláris oxigénnel, így lipid-peroxil-gyök jön létre (LOO<sup>•</sup>) (6. reakció), amely a membrán belsejében az E-vitaminnal (TOH) reakcióba lép, így lipid-hidroperoxid és tokoferol-gyök (TO<sup>•</sup>) keletkezik (7. reakció). A 8. reakció során a C-vitamin regenerálja a tokoferolt. A reakcióban az

aszorbinsav monoaszorbát anionja vesz részt. A termékek között így az aszkorbil-gyök ( $\text{Asc}^{\cdot -}$ ) szerepel. Az E-vitamin regenerálását a glutation is elvégezheti (9. reakció). Az oxidált glutation és az aszkorbil-gyök ( $\text{Asc}^{\cdot -}$ ) visszaalakul glutationná, illetve aszkorbát monoanionná a dihidrolipoin sav (DHLA) segítségével, ami lipoinsavvá (ALA) alakul a reakció folyamán (10. reakció). A 11. reakció során a DHLA regenerálódik NADPH közreműködésével. A keletkezett lipid-peroxidok aldehidekké (pl. 4-hidroxi-nonenallá, 12. reakció), vagy alkoholokká és oxigén molekulává (14. reakció) alakulhatnak át. A keletkezett 4-hidroxi-nonenal glutatil-adduktot képezhet (GST: glutation-S-transzferáz) (13. reakció) (Valko et al., 2006).



**25. ábra** A különböző antioxidánsok reakcióútjai az oxidatív stressz során (Valko et al., 2006).

Stoyanovsky és munkatársai (1998) EPR segítségével tanulmányozták az aszkorbinsav és az  $\alpha$ -tokoferol 1-hidroxietil-gyökkel (HER) való reakcióját. Megállapították, hogy a HER jelenléte csökkentette mind a C-, mind pedig az E-vitamin mennyiségét. A vízoldható antioxidánsok megkímélhetik a sejtmembrán antioxidánsait a HER által okozott pusztulásuktól. Abban az esetben viszont, ha a HER lipid környezetben keletkezik (mint például a citokróm P450 aktív oldala), a gyök semlegesítését az  $\alpha$ -tokoferol végzi el.

### 2.5.3.2 A sörgyártás technológiai lépéseinek hatása az ízstabilitásra

A sörök ízének stabilitását számtalan tényező befolyásolja. Az íz-stabilitás ellenőrzése során a sör oldott oxigéntartalmának, pontosabban a redukálódott oxigén mennyiségének az ellenőrzése az egyik legfontosabb feladat. Ez az oxigén már nem mérhető oldott oxigénként, így az oldott oxigén szintjének hirtelen emelkedése akkor is problémát jelent, ha később visszaesik a normális

szintre. Ugyanis az itt eltűnt nagy mennyiségű oxigén reagált az oxidálható vegyületekkel, elindította a gyökös reakciókat.

Maga az oxidáció elkerülhetetlen, de a sörfőzési műveletek optimalizálásával, és a tárolási körülmények megfelelő megválasztásával meg lehet őrizni a sörben levő antioxidáns anyagokat, ezzel minimalizálva az oxidációt. A sörgyártás minden egyes területén található a sör ízstabilitását befolyásoló tényező és javítási lehetőség is (Meisel, 1996).

A malátagyártás során a csírázás közben létrejött linolsav és linolénsav a lipooxygenáz (LOX) enzim hatására oxigén jelenlétében hidroperoxisavakká alakulnak, amelyek aztán illékony alkanolokká, ketonokká bomlanak (Kretschmer, 1996). A fonnyasztás során végbemennek különböző enzimes reakciók is, amelyek pl. a transz-2-nonenal képződéséhez vezetnek. Magasabb aszalási hőmérséklet növeli mind a Maillard-reakció során keletkezett illékony furán vegyületek, mind a Srecker-aldehidek mennyiségét. A maláta őrlemény összetétele szintén befolyásolja az ízstabilitást: a nagy fehérjetartalmú malátából készült sörök öregedésre hajlamosabbak (Kube, 1997).

A főzőházi folyamatok során számos ízrontó anyag keletkezhet, mind enzimatis úton, mind pedig oxidációval. Ugyanakkor az enzimek szintjét igen nehéz szabályozni, mert malátafüggőek (Baxter, 1982; Kobayasi et al., 2000; Narziss és Sekin, 1974).

Takahasi 1997-ben megvizsgálta a becefrézési hőmérséklet hatását az íz-stabilitásra. Megállapította, hogy az öregedési hajlam a magasabb hőmérsékleten cefrézett sörök esetében volt a legkisebb. Az íz-stabilitás szempontjából –jó minőségű malátát feltételezve a 62°C-os becefrézési hőmérséklet ajánlott.

Szintén íz-stabilitást befolyásoló szerepű a sörfőzővíz vastartalma, mivel az oxigén redukciójához szükséges elektron elsősorban a sörlében található fémekből, például a redukált állapotú vasból származik.

A cefre pH-jának csökkentése gyengíti az oxidációs folyamatokat, emellett a legtöbb amilolitikus (kivéve az  $\alpha$ -amilázt), proteolitikus és sejtfalbontó enzimet aktiválja, a lipooxygenáz működésére viszont inhibitoriként hat.

A komlóforralás során a termikus terhelés hatására exponenciális növekedés következik be az öregedési komponensek mennyiségében. Az elgőzöltetés intenzívebbé tételével csökkenthető az illékony aromakomponensek koncentrációja. Liégeois és munkatársai (1999) kísérleteik alapján megállapították, hogy a komló redukáló aktivitása 30-szorosa a malátáénak.

A cefrőzés során bizonyos mértékig levegő, így oxigén is oldódik a vízben. Oldhatósága függ a hőmérséklettől és a keverés mértékétől, ezáltal a főzőházban az oxigénterhelés csökkentésére több gyakorlati lehetőség is létezik. Ide tartozik például a cefrésző és a máslóvíz oxigénmentesítése, az inert gázok alatt végzett őrlés, az alulról történő anyagbevezetés a főzőházi berendezésekbe, a

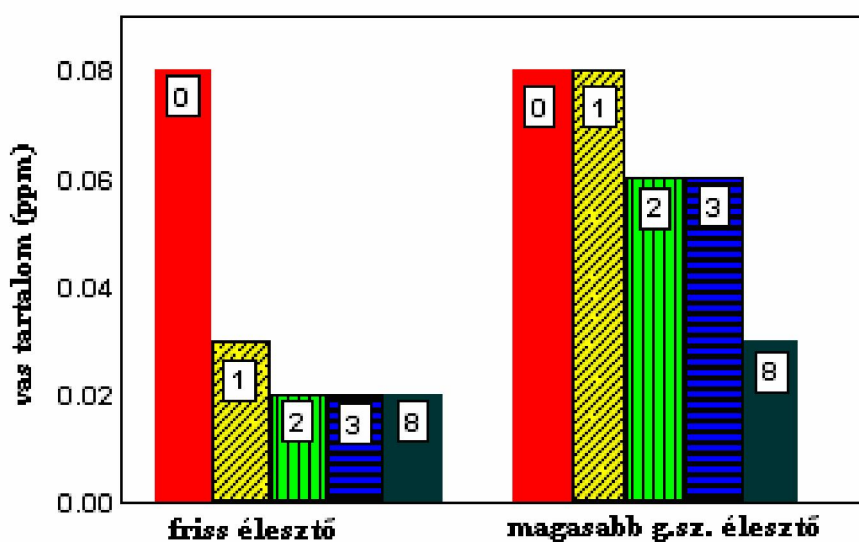


komlóforralás során belső vagy külső hőcserélő alkalmazása és szakaszos kevertetés, illetve a termikus terhelés csökkentése az örvénykádban.

Yanagi és munkatársai 1997-ben kimutatták, hogy az örvénykádban eltöltött idő az öregedési hajlamot jelentősen befolyásolja. Minél hosszabb a „forró-pihenő”, annál gyorsabb a hidroxil-gyököknek a képződése. Amennyiben az örvénykádban eltöltött idő 50 percről 30 percre csökkentjük, jelentős javulást érhetünk el a kész sör íz-stabilitásában (Back, 1997).

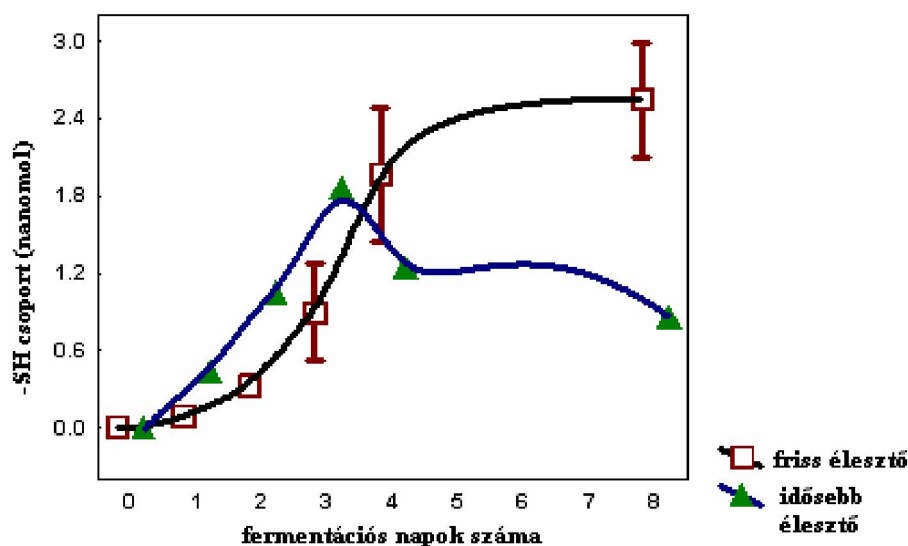
A fermentáció esetében az élesztőminőség kritikus szerepet játszik a végtermék íz-stabilitásának alakításában. Ismert, hogy a rossz élesztőkezelés lapos keserűséget, rossz habtartóságot, nem megfelelő fizikai-kémiai, mikrobiológiai és íz-stabilitást okoz. Az élesztő általában kedvezőtlen körülmények között – nagy nyomás, magas CO<sub>2</sub> koncentráció, a tápanyagok- és a növekedési faktorok hiánya - fejezi be az erjesztést. A megfelelően kezelt élesztő gyorsabb pH-csökkenést eredményez, amely a sör gyors tisztulását eredményezi, ugyanakkor a habpozitív, közepes molekulájú vegyületeket megőrzi. Ezzel egy időben a magas redukáló potenciál eredményeként jobb az íz-stabilitás tapasztalható (Yanagi et al, 1997).

Az élesztőminőséget a vas-felvételi aránnyal és az élesztő redukáló kapacitásával is lehet jellemezni, amit a tiol csoportok képződésével mérhetünk. A 26. ábrán látható, hogy a friss élesztő első napi vasszintjét a magasabb generációs számú élesztő csak a 8. napon éri el. (A függőleges tengelyen a sörlé vastartalma látható ppm-ben, a vízszintes tengelyen pedig a fermentációs napok.)



26. ábra A sörlé vastartalma a friss és a magasabb generációs számú élesztő alkalmazása esetén a fermentációs napok függvényében (Grimmer és Torline, 2003)

A 27. ábra a tiol-képződésre, azaz a redukáló kapacitásra vonatkozik. A sörlé tiol tartalma mindkét élesztő esetében eléggé különböző. A tioltartalom kezdeti növekedése magasabb generációs számú élesztő esetében nagyobb, de a fermentáció végére a szintje leesik. Friss élesztő alkalmazása esetén a tiolkoncentráció csökkenése nem tapasztalható. A kezdeti magasabb érték valószínűleg magából az élesztőből származik (Grimmer és Torline, 2003).



**27. ábra A sörlé tiol tartalma friss és magasabb generációs számú élesztő esetén a fermentációs napok függvényében (Grimmer és Torline, 2003)**

Az íz-stabilitás a fermentáció végére eléri a maximumát, azaz az íz-stabilitás kialakulása lényegében a fermentációban történik. Folyamatos ellenőrzés alkalmazásával jó íz-stabilitást érhető el a fermentáció végére. Ezen a területen a javítási lehetőségek: a megfelelő élesztő kezelés és szaporítás, az élesztőtörzs megfelelő kiválasztása, a több-sörfőzetes fermentorok megfelelő töltése, valamint a hőmérséklet ellenőrzése a fermentáció során.

A további folyamatok (fejtés) során arról kell gondoskodni, hogy a fermentáció során kialakult, maximumon levő ízstabilitás ne változzon (Grimmer és Torline, 2003).

Szűrés közben a minimális oxigén bejutás érdekében kerülni kell a levegő beáramlását a tartályok kiürítésekkor, oxigénmentes víz használatával légteleníteni kell a csővezetékeket. Javasolt, hogy a szűrőszivattyú előtt a folyadéknyomás magas legyen, hogy megelőzzük a szén-dioxid szökését és a levegő bejutását. Célszerű inert gázokat alkalmazni az ellennyomás létrehozásakor, csövek, tárolók öblítésekkor, légtelenítéskor. A terelőlemezek használata szintén fontos, hogy a nyomótartályokba érkező sörben ne keletkezzenek örvények a beáramláskor (Kunze, 1996).

A sör palackfejtése során a palackmosóban az öblítővíz oldott oxigén tartalma termikus terhelés hatására (alagútpasztörözésnél) reakcióképes hidroxil-gyökké alakulhat, így ez hatással lehet az íz-stabilitásra. Jelentőséggel bír a palackok töltés előtti megfelelő légtelenítése, valamint az üvegek nyakában lévő levegő eltávolítása.

Egyéb veszélyforrások is lehetnek. A szűrési segédanyagok például vasat tartalmazhatnak, vagy az alkalmazott szén-dioxid oxigénnel lehet szennyezett. Mindkettő ideális katalizátora a gyökképződésnek. A javítási lehetőségeknél felsorolhatjuk a D-víz oldott oxigéntartalmának a leszorítását, illetve a szűrőberendezések megfelelő kiválasztását, előkészítését és használatát (Grimmer és Torline, 2003).

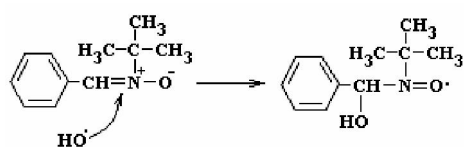
### 2.5.3.3 Az ízstabilitás vizsgálata

Az ízstabilitás meghatározására több módszert fejlesztettek ki. A kemilumineszcencia mérésén alapuló vizsgálat során összefüggés mutatható ki a kemilumineszcencia intenzitása és a sör öregedési fokozata között. Friss sör esetén tapasztalható a legkisebb kibocsátás. E mérési módszer hátránya, hogy az oxidációban részt vevő anyagoknak csak egy részét elemzi.

Az adszorpciós integrál (AI) spektrofotometriás meghatározásának előnye, hogy akkor is alkalmazható, amikor még friss a sör, ráadásul túlzottan munkaigényes mintaelőkészítést sem igényel. Nagyfokú korreláció tapasztalható a friss sör AI eredményei és az érzékszervi bírálatok pontszámai között (Klein et al., 1997; Oñate-jaén et al., 2006).

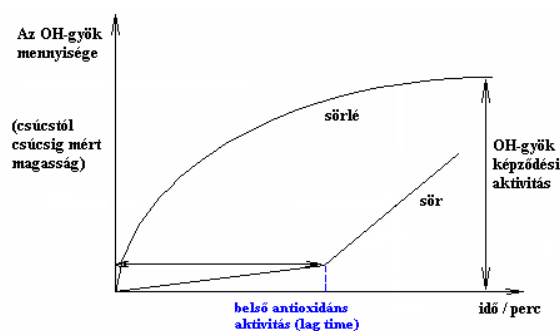
Sobiech és munkatársai 1998-ban egy elektrokémiai vizsgálatot javasoltak a sör öregedésének jellemzésére. Az íz-romlási reakcióban résztvevő vegyületeket voltammetriás módszerrel detektálták.

A sör ízstabilitásának gyors és megbízható meghatározása történhet Elektron Spin Rezonancia (ESR) vizsgálattal is. Az ízrontó anyagok képződéséhez vezető, oxigénből induló reakció gyorsan folytatódik a hidroxil-gyök képződéséig. A képződött hidroxil-gyök igen reaktív, milliszekundumokon belül elreagál, ezért nehéz detektálni. Ezt a problémát egy ún. gyök-csapda vegyület alkalmazásával lehet áthidalni. E reakció során egy másodlagos gyök keletkezik, amely néhány órán keresztül stabilis. Gyök-csapdaként alkalmazható a 28. ábrán látható N-tert-butil-fenilnitron vegyület. (Uchida és Ono, 2000a)



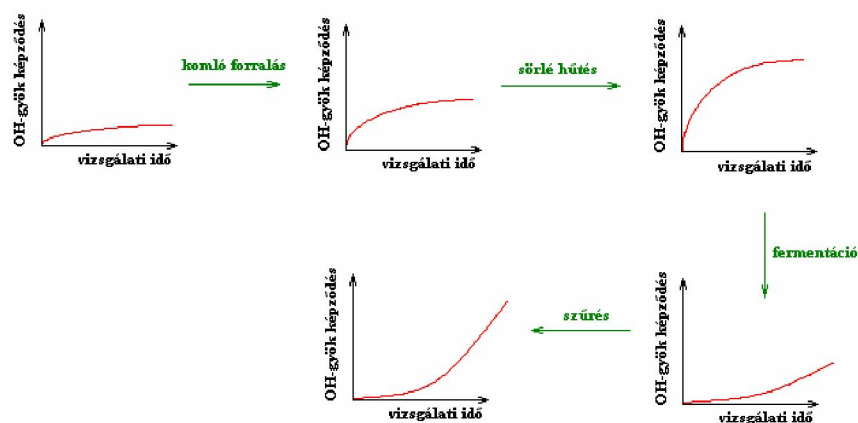
28. ábra N-tert-butil-fenilnitron és a hidroxil-gyök megkötésének mechanizmusa

Az egyik vizsgált paraméter az ún. lag time. Maga a kifejezés a sör természetes antioxidánsainak a kimerülési idejét jelenti percben mérve. A hidroxil-gyök képződés ezen periódus után indul meg. A mérés során szabályos időközönként történik a mintavétel és a gyökkoncentráció meghatározása. Az intenzitást az ESR spektrumon csúcstól csúcsig vett magasság értékben fejezzük ki. A mért lag time kapcsolatban van a sör élettartamával, íz-stabilitásával. Nagyobb lag time, azaz nagyobb belső antioxidáns aktivitás, alacsonyabb gyökkoncentrációt, ez pedig hosszabb élettartamot jelent. (Uchida és Ono, 2000a)



**29. ábra A lag time paraméter jelentése sör esetén (Uchida és Ono, 2000a)**

A 29. ábrán egy sörlé és egy sör minta paramétereit láthatjuk. A függőleges tengely a csúcstól csúcsig mért magasságot, azaz a képződött hidroxil-gyök mennyiségét mutatja, míg a vízszintes tengelyen a mérés kezdete óta eltelt idő található. Lag time-nak azt az időpontot nevezzük, amikor a hidroxil-gyök képződés ugrásszerűen megemelkedik. Sörlé esetében nem beszélhetünk lag time-ról, ugyanis ebben az esetben a hidroxil-gyök termelődése rögtön a mérés kezdete után megindul. A fermentáció során a hidroxil-gyök képződés lassan megváltozik: a lag time paraméter fokozatosan alakul ki arányban a fermentációs idővel. A fermentáció végén a sör viszonylag magas lag time idővel rendelkezik. Késztermékek esetében a hidroxil-gyök képződés szintén csak később indul meg, de látható, hogy ugyanakkor a vizsgálati időpontnál nagyobb mennyiségű hidroxil-gyök van jelen, mint a fermentáció esetében (30. ábra).



30. ábra A hidroxil-gyök képződésének görbéi a különböző technológiai lépéseknél (Uchida és Ono, 2000b)

## 2.6 A vitaminok analitikai meghatározása

Számos analitikai módszer található az irodalomban a C- és az E-vitamin meghatározásával kapcsolatban (Lásztity és Törley, 1987). Ezek között található spektrofotometriás módszer (Tütem et al., 1997), elektroforézises meghatározás (Klampfl et al., 2000; Sádecká és Polonský, 2000; Willetts et al., 1997) és voltametriás módszer (Downard et al., 1995) és HPLC-t alkalmazó eljárás is.

### 2.6.1 Egyéb technikák

Archana Jain és társai két flow injection rendszert írtak le 245 nm-es spektrofotometriás detektálással a C-vitamin meghatározására különböző italokban. Az aszkorbinsav-stabilizálására 6 µg/ml 2-merkaptóetanolt használtak (Jain et al., 1995).

A C-vitamin amperometriás meghatározására Matos és munkatársai áramlási cella és palládiummal módosított arany elektród alkalmazásával dolgoztak ki analitikai eljárást. Ez az eljárás alkalmas a sörben, gyümölcslevekben és a C-vitamin tablettákban jelen levő aszkorbinsav meghatározására. A módszer kombinálja a flow injection analysist az amperometriás detektálással. Munkaelektrodként palládium bevonattal ellátott arany mikroelektrodot alkalmaztak, ami érzéketlen volt a szennyező, zavaró hatásokra. Az aszkorbinsavtartalmat differenciál amperometriás módszerrel határozták meg. Az eljárás három lépéses: 1. minta és aszkorbinsav standard addíciója; 2. a tiszta minta vizsgálata; 3. enzimatikusan kezelt minta (*Cucumis sativus*-szal (azaz uborkával):

ez aszkorbát-oxidázban gazdag forrás). A kalibráció 0.18 - 1.8 mg/l között lineáris volt (Matos et al., 1998).

Chung és munkatársai ugyancsak flow injection technikát dolgoztak ki a teljes aszkorbinsav mennyiség meghatározására (Chung és Ingle, 1991).

Luque-Pérez, Ríos és Valcárcel 2000-ben egy fotokémiai és egy nem-fotokémiai reakciót használtak az aszkorbinsav meghatározására sörben. A nem-fotokémiai reakció egy redox reakción alapult, ami az aszkorbinsav és a Fe(III)-ionok között megy végbe. A keletkezett Fe(II) reakcióba lép az 1,10-fenantrolinnal, ami vörös színű  $\text{Fe}(\text{fen})_3^{2+}$  komplexet eredményez. Ezt a komplexet 512 nm-en spektrofotometriásan detektálni lehet. A fotokémiai reakció hasonló alapokon nyugszik, azzal a különbséggel, hogy látható fénnel való besugárással segítik a redox reakciót, ami az analízisnek nagyobb érzékenységet biztosít (Luque-Pérez et al., 2000).

Ugyanezt a reakciót alkalmazta Pelizzetti és Mentasti is az aszkorbinsav vizsgálata során (Pelizzetti és Mentasti, 1979).

Huang és munkatársai szintén redox reakciót alkalmaztak a C-vitamin meghatározására, és a keletkezett dehidro-aszkorbinsavat reagáltatták o-fenilén-diaminnal, mely reakció fluoreszkáló terméket eredményezett (Huang et al., 1995).

A Kubilay Güçlü és társai által 2005-ben kidolgozott eljárás az aszkorbinsav oxidációján alapul. Reagensnek Cu(II)-2,9-dimetil-1,10-fenantrolint (neokuproin (Nc)) használtak ammónium-acetát tartalmú, 7-es pH-jú közegben. Az abszorbanciát a képződött bis(Nc)-Cu(I) kelát biztosítja 450 nm-en. Ez a reagens sokkal szelektívebbnek bizonyult a hagyományos Fe(III)-1,10-fenantrolin reagensnél (Güçlü et al., 2005).

Roy, Conetta és Salpeter specifikus mikrofluorimetriás metódot automatizáltak az aszkorbinsav, a dehidro-aszkorbinsav, és teljes C-vitamin tartalom meghatározására különböző élelmiszerekben. Az eljárás során N-bróm-szukcinimidet használtak a C-vitamin oxidációjához. A C-vitamin szelektíven oxidálódik az N-bróm-szukcinimid által még mielőtt a többi zavaró komponens megtenné ezt, így ez az eljárás sokkal érzékenyebb és specifikusabb. A javasolt automata módszer egyszerű, gyors, megbízható, és elég érzékeny ahhoz, hogy  $2 \cdot 10^{-3}$  - 0.1 mg/ml aszkorbinsav mennyiséget detektálni tudjon (Roy et al., 1976).

Esma Tütem és társai az E-vitamin meghatározására Cu(II)-neokuproint használtak spektrofotometriás módszerrel (Tütem, et al., 1997). Az abszorpciót a Cu(I)-neokuproin biztosítja 450 nm-en. Ezt a módszert hasonlították össze az általánosabban elterjedt Fe(III)-batofenantrolinos módszerrel, amelynél ugyan kevésbé érzékeny, de az utóbbi eljárás speciálisan előkészített reagenseket igényel. A vizsgálandó mintákból az E-vitamint éterrel történt extrakcióval vonták ki.

## 2.6.2 HPLC-s mérések

A legtöbb meghatározási módszer erre a két vitaminra HPLC-t alkalmaz a mátrix többi komponensétől való elválasztásra. Ezen módszerekben alkalmazott mintaelőkészítési eljárások, illetve az alkalmazott detektálási technikák igen eltérőek.

Yuan és munkatársai Aminex HPX-87H (300x7.8 mm) kolonnát használtak a C-vitamin HPLC-s meghatározása során. Az eluens acetonitril és 0.005 M kénsav 16:84 arányú elegye volt, a detektáláshoz törésmutató, illetve diódasoros detektort alkalmaztak (Yuan és Chen, 1999).

Leubolt és Klein aszkorbinsav és szulfít sörben való meghatározásra dolgoztak ki HPLC-ECD eljárást. Két különböző munkaelektrodót használtak: platinát a szulfít mérés esetén, glassy carbon elektrodót az aszkorbinsav esetén. A kromatográfiai rendszer előtt csak egy hígítási lépésre volt szükség (Leubolt és Klein, 1993).

Speek és munkatársai az aszkorbinsav meghatározására dolgoztak ki egy HPLC-s módszert fluorimetriás detektálással. A mérés során az L-aszkorbinsavat enzimatikusan oxidálták dehidro-L-aszkorbinsavvá. Ez utóbbi o-fenilén-diaminnal a kinoxalin származékát képzí. Ezt a származékot választották el RP-HPLC-vel, és fluorimetrián detektálták (Speek et al., 1993).

Behrens és Madère az aszkorbinsav és a dehidro-aszkorbinsav meghatározásához elektrokémiai detektorral ellátott HPLC-t alkalmazott. Az aszkorbinsavat C18-as kolonnán választották el azután, hogy a mintából metafoszforsavval extrahálták. 20 µl hígított extraktumot injektáltak. A dehidro-aszkorbinsav mennyiségét azután határozták meg, hogy aszkorbinsavvá alakították. A reakciót DL-homociszteinnel végezték pH 7.0 - 7.2 között 25 °C-on 30 percig tartó reakcióval. A hígítás után 20 µl-es részletet injektáltak a teljes C-vitamin tartalom meghatározása érdekében. A dehidro-aszkorbinsav mennyiségét a két mérés különbsége adta (Behrens és Madère, 1987).

Wagner és McGarrity pulzáló amperometria és ion-kizárásos kromatográfia kombinált használatát alkalmazta aszkorbinsav és szulfít egymás melletti meghatározására. Ez a vizsgálat megpróbálta egymás mellett detektálni az aszkorbinsavat és a szulfít ionokat sör-mátrix esetében. A pulzáló amperometriás detektor platina munkaelektrodót használva sikertelennek bizonyult. Ugyanakkor jó elválasztást és kromatogramot sikerült elérni a két antioxidánsra nézve standard amperometriás cellát alkalmazva. Figyelemre méltóan jobb eredményt akkor sikerült elérni, amikor ez a standard cella pulzáló módban üzemelt, és a tisztítási ciklusok az analízis alatt folyamatosan megtörténtek (Wagner és McGarrity, 1991).

Iwase az élelmiszerek C-vitamin tartalmának HPLC-s meghatározása során a detektáláshoz elektrokémiai detektort alkalmazott. A beállított potenciál 400 mV volt Ag/AgCl referencia elektróddal szemben. A mobil fázis 0.2%-os foszforsav oldat volt. Mérés előtt L-metionin

segítségével stabilizálta a mintát. A módszer egyszerű, gyors, érzékeny és nagyon szelektív (Iwase, 2003).

Pellerin és Dumitrescu a C- és E-vitamin meghatározásakor az elválasztáshoz C18-as kolonnát használtak. A C-vitamin esetében az eluens 1% ecetsav/acetonitril (89:11 v/v) volt, az E-vitamin esetében pedig acetonitril/víz (95:5 v/v). A detektálás UV detektorral történt (Pellerin és Dumitrescu, 1980).

Belkner és társai az E-vitamin méréséhez Shimadzu SPD-M10AVP HPLC készüléket használtak diódasoros detektorral. Az elválasztás Nucleosil C-18 (250x4 mm, 5 $\mu$ m) kolonnával történt. Az alkalmazott eluens metanol/hexán 90/10 elegye, 1 mL/min áramlási sebességgel volt. A detektálás 290 nm-en történt (Belkner et al., 1998).

Epler és munkatársai az E-vitamin analitikai tanulmányozása során a tokoferol mennyiségét a folyadékkromatográfhoz csatlakoztatott fluoreszcenciás detektorral határozták meg. Gradiens elúciót alkalmaztak, amely acetonitrilt, metanolt és etil-acetátot tartalmazott (Epler et al., 1993).

Kálmán és munkatársai egy új és érzékeny eljárást fejlesztettek ki az  $\alpha$ -tokoferol meghatározására bébiételekben LC/APCI-MS módszerrel. A mintaelőkészítés első lépésben a mintákat elszappanosították a zsírtartalom eltávolítása érdekében. Emellett ezzel a lépéssel a tokoferol észtereket szabad tokoferollá alakították. A következő lépés folyadék-folyadék extrakció volt petróleummal. A mintákat SIM üzemmódban vizsgálták. A kalibráló görbe 1-40  $\mu$ g/ml között jó lineáris korrelációt mutatott. A detektálási határ 2.5 ng/ml volt (Kálmán et al., 2003).

## 2.7 Az ESR technika

Magát az ESR technikát már több mint 50 éve alkalmazzák a paramágneses részecskék vizsgálatára.

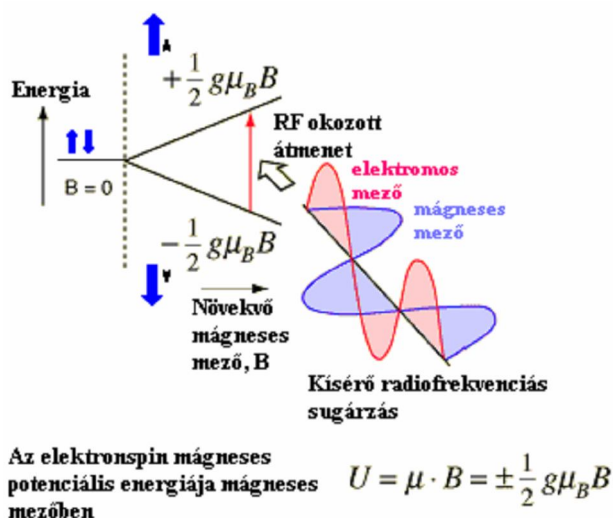
Ha egy elektronnyalábot mágneses téren vezetünk át, akkor az addig homogén nyaláb két részre fog oszlani. Az elektronoknak ezt a tulajdonságát az ún. spinkvantumszámmal jellemezhetjük, amely kétféle értéket vehet fel:  $\pm \frac{1}{2}$ . A szabad gyökök párosítatlan elektronja megkülönböztethetetlen a szabad elektrontól, tehát alkalmazhatjuk rá az elektron esetében tapasztaltakat.

Ameddig a gyök nem kerül külső mágneses térbe, addig a párosítatlan elektronjának a kétféle spin állapota azonos energiát képvisel. Amint a szabad gyök mágneses térbe kerül, ezek az energiaszintek felhasadnak. A kialakuló magasabb energiaszinten lévő elektron spinje a mágneses térerővel azonos irányba esik, míg az alacsonyabb energiaszinten lévő elektroné ellentétes irányú. Minél erősebb mágneses teret alkalmazunk, a felhasadás annál nagyobb mértékű. Megfelelő frekvenciájú sugárzást alkalmazva az alacsonyabb energiaszintről elektronok léphetnek át a



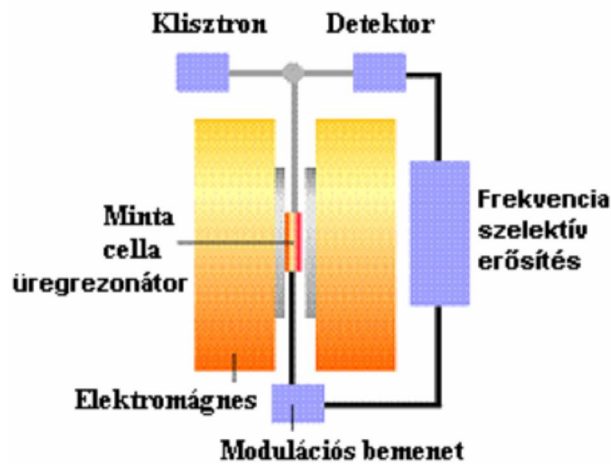
magasabb energiaszintre. Adott mágneses teret alkalmazva ez az átmenet a mikrohullámú sugárzás tartományába esik (Jeney-Nagymáté, 2004).

Az elektronátmenethez ezek alapján szükség van egy elektromágnesre és egy kísérő radiofrekvenciás sugárzásra, jelen esetben mikrohullámú sugárzásra. A 31. ábrán ezen kívül látható az elektronok energiájának az értéke, ahol a  $\pm \frac{1}{2}$  jelenti az elektron spinkvantumszámát, a „g” szabad elektron esetében 2 körüli érték,  $\mu_B$  az ún. Bohr-magneton, és a „B” a mágneses tér Gaussban. Innen levezethető, hogy az átmenet energiája  $g \cdot \mu_B \cdot B$ , ami  $h \cdot \nu$  (Planck állandó \* frekvencia) értékével egyenlő, tehát ismert az átmenethez szükséges mikrohullámú frekvencia (Webb, 2006).



31. ábra Az elektron energiaszintjei a mágneses térben (Jeney-Nagymáté, 2004)

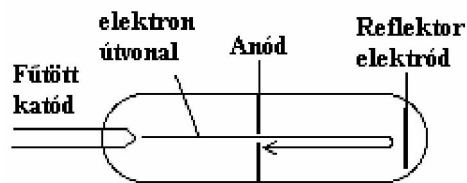
A 32. ábrán a készülék egyszerűsített blokkdiagramja látható. Az ESR spektrométer tartalmaz egy klisztron csövet, amely mikrohullámú sugárzást állít elő, egy elektromágneest, egy mintacellának megfelelő üregrezonátort, egy modulációs részt, frekvenciaszelektív erősítőt és egy detektor részt.



**32. ábra Az ESR készülék blokkdiagramja  
(Jeney-Nagymáté, 2004)**

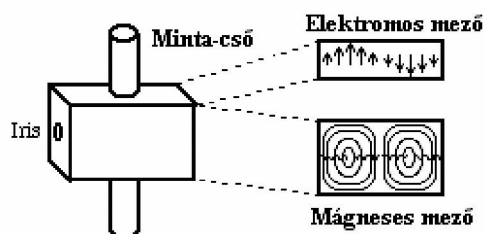
A klisztron által előállított mikrohullámú sugárzás bejut az üregrezonátorba, ahol a vizsgálandó minta található. Ez az üreg egy négyzetes fémdoboznak felel meg, amelynek a hossza pontosan egy hullámhossznyi. A minta a bejutó mikrohullámú sugárzás egy részét elnyeli, a többi pedig visszaverődik. A detektor diódája úgy van elhelyezve, hogy annak az árama arányos az üregből visszaverődő mikrohullám teljesítményével. Így elvileg a minta általi mikrohullám abszorpciót  $\mu\text{A}$ -ben mért áramerősség csökkenésként detektálhatjuk. A gyakorlatban azonban az egyenáramú mérések túl zajosak. Ennek a problémának a megoldására kis amplitúdójú mező modulációt alkalmaznak, azaz egy oszcilláló mágneses mező szuperponálódik az egyenáramú mezőre az üreg falaiba beépített kis tekercsek segítségével. Amikor a mező a rezonancia vonalhoz van közel, akkor oda-vissza lengéseket végez, a dióda váltóáramú komponensét alkotva. Ezt a váltóáramú komponenst felerősítve egy frekvenciaszelektív erősítőt alkalmazva a zaj nagy részben kiküszöbölhető. A detektált váltóáramú jel arányos a minta abszorpciójának a változásával.

A mikrohullámot előállító klisztron cső látható a 33. ábrán. Belsejében három elektród található: egy fűtött katód, ami elektronokat emittál, egy közepén furattal rendelkező anód, ami összegyűjti a kibocsátott elektronokat, valamint egy erősen negatív feszültségű reflektor elektród, ami az anód furatán átjutott elektronokat visszairányítja az anódhoz. Az elektronok mozgása az anód furata és a reflektor elektród között, majd visszafelé, oszcilláló elektromos mezőt hoz létre, ez pedig elektromágneses sugárzást. A kibocsátott mikrohullám frekvenciáját az anód és a reflektor elektród közti fizikai távolság változtatásával, illetve a reflektorfeszültség változtatásával lehet szabályozni.



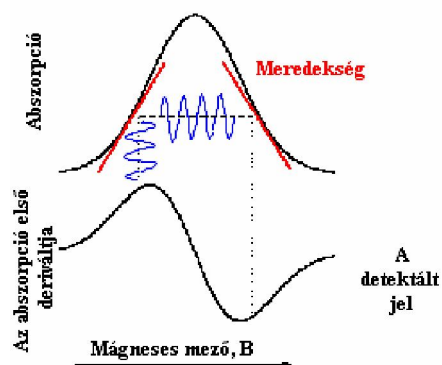
33. ábra A klisztron cső felépítése

A megfelelő frekvencia beállítása két szempontból is fontos: egyrészt a hullámhossznak az üregrezonátor méretével meg kell egyeznie, illetve az elektronátmenet is befolyásolja a korábbi képlet alapján. A 34. ábrán az üregrezonátor és a benne kialakuló állóhullám elektromos és mágneses mezője látható. Látható, hogy a minta arra a helyre kerül, ahol az elektromos mező csomósíkja van, de ugyanakkor ott található a mágneses mező maximuma.



34. ábra Az üregrezonátor, és a benne kialakuló mágneses, illetve elektromos mező (Jeney-Nagymáté, 2004)

A detektorban található dióda áramának váltóáramú komponense a minta abszorpciójának a változásával arányos, és nem magával az abszorpcióval, így a detektált jel nem az abszorpciós görbe lesz, hanem annak első deriváltja (35. ábra). Ennek az az előnye, hogy az első derivált spektrum látszólagos felbontása sokkal jobb, mint az abszorpciós spektrumé. Az abszorbeált energia nagyságát az abszorpciós görbe területe adná, de mivel ezt nem tudjuk mérni, az első derivált jelének csúcstól csúcsig vett magasságát használjuk intenzitás adatként.



35. ábra Az ESR készülék jele az abszorpció első deriváltja (Jeney-Nagymáté, 2004)

### 3 Kísérleti célkitűzés

- A szakirodalomban nem található olyan tanulmány, amelyet a sör antioxidáns vitaminnal való dúsításával kapcsolatban végeztek volna. A szakirodalomban található E- és C-vitamin vizsgálati módszerek vagy más élelmiszerre vonatkoznak, vagy bonyolult mintaelőkészítést igényelnek, esetleg az alkalmazott detektálási módszer nem feltétlenül érhető el egy átlagos laboratórium számára. Első célkitűzésem a C- és az E-vitamin sörben történő meghatározására alkalmas olyan módszer kidolgozása, amely a napi laboratóriumi munka során gyorsan, könnyen és megbízhatóan alkalmazható.
- Munkám következő céljaként a C- és az E-vitamin sörben való stabilitásának meghatározását tűztem ki, valamint e két antioxidáns vitamin stabilitását befolyásoló egyéb tényezők hatását tanulmányoztam.
- A sörhöz hozzáadott antioxidáns vitaminok hatással vannak a sör élettartamára is, mivel a sör romlását általában oxidációs folyamatok okozzák. Dolgozatom következő fejezetében tanulmányoztam, hogy az E- illetve a C-vitamin addíciójának hatására hogyan változik meg a sör íz-stabilitását jelző lag time paraméter értéke, illetve az egyes vitaminok addíciója mely technológiai lépésnél javasolt.
- A vitaminaddíció hatására nem csupán a sör élettartama változhat meg, hanem egyéb, érzékszervi tulajdonságai, illetve analitikai paraméterei is. Munkám következő célja a vitaminnal dúsított sör érzékszervi és analitikai vizsgálata volt.

## 4 Kísérleti rész

### 4.1 Anyagok és módszerek

#### 4.1.1 Felhasznált anyagok

DL- $\alpha$ -Tocoferol (ROTH, >96%)

Metanol (Merck, HPLC-grade)

Etanol (Merck, HPLC-grade)

L-(+)-ascorbinsav (Fluka, min. 99.7%)

Kálium-dihidrogén-foszfát (Reanal)

Orto-foszforsav (Merck, 85%)

N-tert-butil-fenilnitron (PBN) standard (CSIR Biosciences)

4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-piperidiniloxi (4-Hydroxy-TEMPO) (FLUKA)

Ipari sörlé

Kereskedelmi forgalomból származó sörök

#### 4.1.2 Berendezések

HPLC, Agilent Series 1100

E-scan spectrometer, Bruker BioSpin GmbH

Scaba söranalizátor

GC-ECD, Agilent

Spektrofotométer, Shimadzu UV-1601

Haffman zavarosságmérő (nefelométer)

Habstabilitásmérő, NIBEM-T (Haffman)

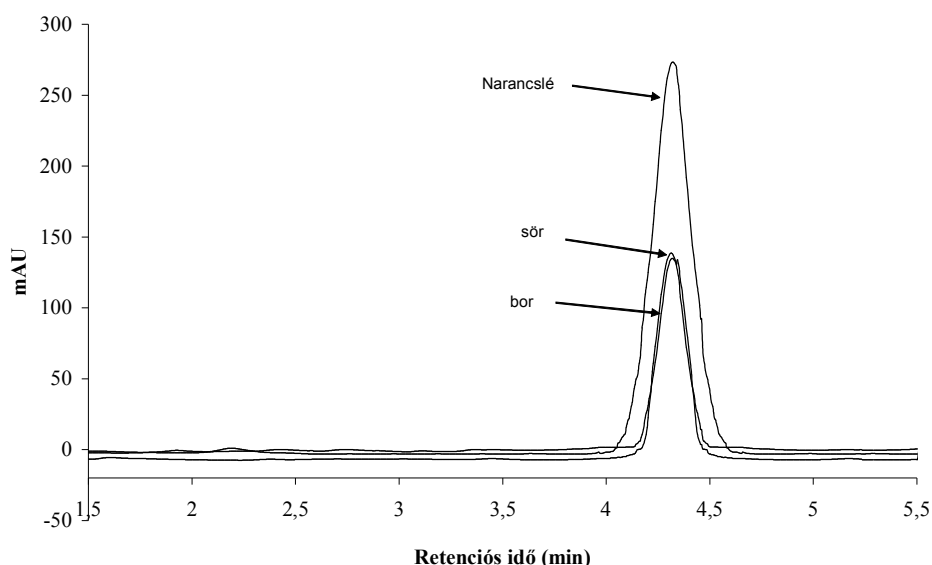
### 4.1.3 Analitikai módszerek

#### 4.1.3.1 C-vitamin tartalom meghatározása HPLC-vel

Készülék:	Agilent Series 1100 detektor: UV-detektor
Oszlop:	PHENOMENEX Luna C18 kolonna (150 x 4.60 mm, 5 µm)
Eluens:	990 mL vízben oldott 0,5076g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> és 10 mL metanol keveréke
A kolonnatér hőmérséklete:	22°C
Áramlási sebesség:	0,5 mL/min
Injektált térfogat:	10 µL (sör és bor vizsgálatok), illetve 5 µL (narancslé vizsgálatok),
Detektálási hullámhossz:	254 nm.

Mivel a C-vitamin vízoldékony vitamin, így az előzetes mintaelőkészítési vizsgálatok közül az extrakció tanulmányozását kihagytam. Megvizsgáltam, hogy a centrifugált, nem centrifugált, vízhez, sörhöz (magas, közepes és alacsony alkoholtartalommal) addicionált C-vitamin milyen visszanyeréssel mérhető közvetlen injektálást alkalmazva. Tapasztalataim szerint a mérési hibán belül nincsen szignifikáns eltérés a mátrix hatására, ezért a továbbiakban nem alkalmaztam mintaelőkészítést a HPLC mérés előtt. A vizsgált minták injektálása közvetlenül az oszlopra történt.

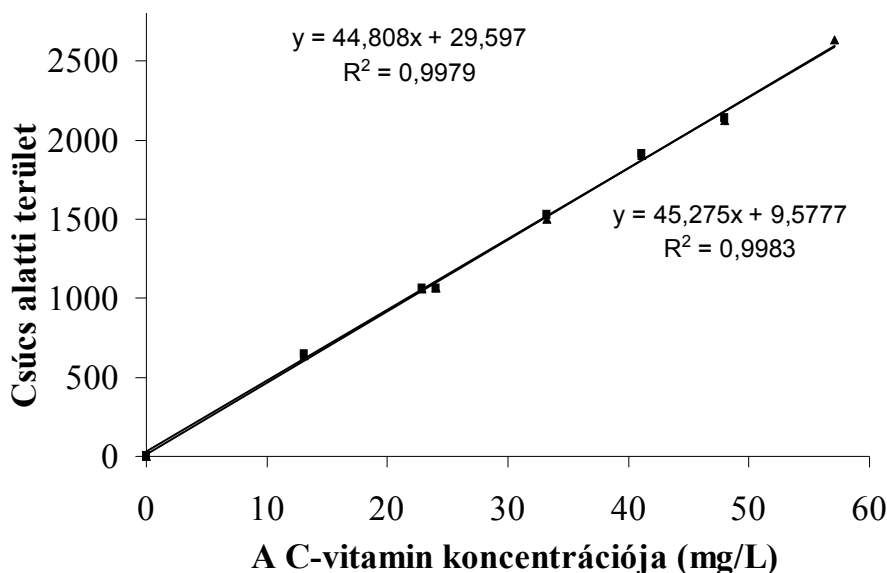
A készülék kalibrálásához 5 különböző hígítást készítettem sörrel, borral és narancslével a C-vitamin vizes törzsoldatából a 0 – 60 mg/L hozzáadott koncentráció tartományban. A kromatogram a 36.ábrán látható. A retenció idő 4.30 perc volt. A C-vitamin törzsoldattal kapcsolatban fontos megjegyezni, hogy minden esetben frissen kell készíteni az esetleges bomlás miatt.



**36. ábra A C-vitamin kromatogramja narancslében, borban és sörben**

A különböző koncentrációk és a megfelelő csúcs alatti területek között szintén jó korreláció volt tapasztalható. Az  $R^2$  értéke 0,99-nél magasabb volt (37. ábra), ami jó linearitást és homogenitást jelez ebben a koncentráció tartományban. A sör és a bor mátrix esetében kapott kalibrálási görbék között nem volt szignifikáns különbség. Narancslé esetében a kalibráló egyenes meredeksége megegyezett a sör, illetve a bor esetében tapasztalttal, de ebben az esetben a kiindulási minta is tartalmazott már 27.4 mg/L C-vitamint.

A mérési eljárás ellenőrzése során a kimutatási határ 4  $\mu\text{g/L}$  volt, a lineáris tartomány 350 mg/L koncentrációig tartott. A tanulmányozott kiindulási sör és bor mintákban nem lehetett C-vitamint kimutatni.



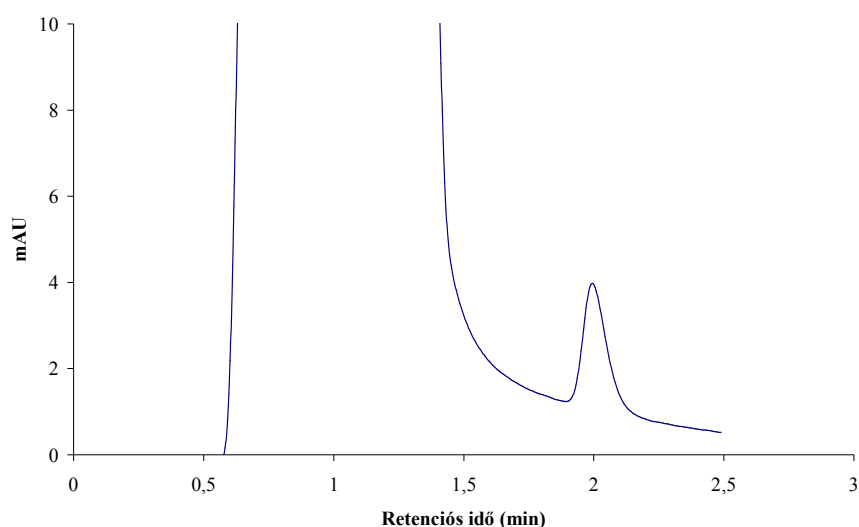
**37. ábra A C-vitamin kalibrációs egyenese sörben és borban**

#### 4.1.3.2 E-vitamin tartalom meghatározása HPLC-vel

Készülék:	Agilent Series 1100 detektor: UV-detektor
Oszlop:	AGILENT ZORBAX Eclipse XDB-C8 kolonna (150 x 4.60 mm, 5 $\mu$ m).
Eluens:	100% methanol
A kolonnatér hőmérséklete:	35°C
Áramlási sebesség:	1,5 mL/min
Injektált térfogat:	20 $\mu$ L
Detektálási hullámhossz:	290 nm.

A módszerbeállítás során arra kerestem a választ, hogy a centrifugált, nem centrifugált, abszolút etanolhoz addíciónált, sörhöz (magas, közepes és alacsony alkoholtartalommal) addíciónált E-vitamin milyen visszanyeréssel mérhető hexános extrakciót, illetve közvetlen injektálást alkalmazva. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a mérési hibán belül nincsen szignifikáns eltérés sem a mátrix, sem az extrakció hatására, ezért a továbbiakban nem alkalmaztam mintaelőkészítést a HPLC mérés előtt. A vizsgált minták injektálása közvetlenül az oszlopra történt.

A készülék kalibrálásához 7 különböző vizes higítást készítettem az E-vitamin alkoholos törzsoldatából sörrrel, borral és narancslével a 0 – 12 mg/L hozzáadott koncentráció tartományban. Az E-vitamin egyetlen csúcsot adott a kromatogramon. A retenciós idő 2,0 perc volt (38. ábra).

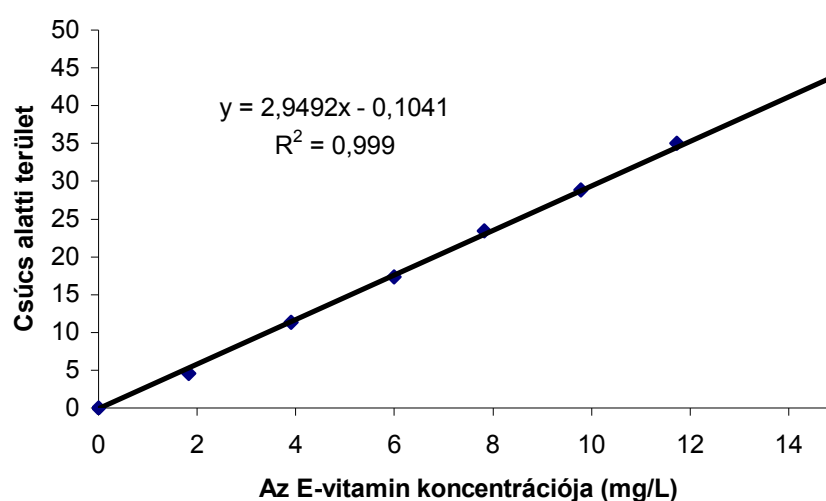


**38. ábra** Az E-vitamin kromatogramja sörrben



A különböző koncentrációk és a vizsgálatukkor kapott csúcs alatti területek között jó korreláció volt tapasztalható. Az  $R^2$  értéke 0,99-nél magasabb volt (39. ábra), ami jó linearitást jelez, valamint bizonyítja, hogy az E-vitamin homogén módon oldódik vizes oldatban ebben a koncentráció tartományban. Mivel azonban a 6mg/L E-vitamin koncentráció feletti minták esetében az oldat szemmel láthatóan nem volt tükörtiszta, így a sör E-vitaminnal való dúsítása esetén 5mg/L a javasolt maximális koncentráció.

A mérési eljárás ellenőrzése során a kimutatási határ 90  $\mu\text{g/L}$  volt, a lineáris tartomány 20 mg/L koncentrációig tartott. A tanulmányozott kiindulási sör és bor mintákban nem lehetett E-vitamint kimutatni.



39. ábra Az E-vitamin kalibrációs egyenese sörben

#### 4.1.3.3 A sör tükrösségének mérése

Mivel a C-vitamin vízoldható vitamin, így az adalékolt minták zavarosságát nem befolyásolja. Ugyanakkor az E-vitamin zsíroidékony lévén képes a sörnek ezt a tulajdonságát megváltoztatni korlátozott oldhatósága révén.

Öt különböző E-vitamin koncentráció esetében végeztem el a méréseket. A vizsgált koncentráció tartomány 0 – 15 mg/L volt. A sörminták előkészítése, azaz a vitamin addíció után 50 mL mintát gázmentesítettem 5 percig tartó ultrahangfürdős kezeléssel. A gázmentesített minták abszorbanciáját 430 és 700 nm-en mértem, a tükros sör minőségi specifikációja alapján, mely szerint a 700 nm-en mért abszorbanciának kisebbnek kell lennie, mint a 430 nm-en mért abszorbancia 0.08-szorosa. A mérés alapján megállapítható az a maximális E-vitamin koncentráció, amely alkalmazása a tükrösség szempontjából még megfelelő sörminőséget eredményez.

#### 4.1.3.4 A sör habstabilitásának mérése

Minden egyes tanulmányozott vitamin-koncentrációjú sörmintából mérési sorozatonként egy-egy üveg mintát készítettem. A mintákat zárt edényben, 4 °C-on tároltam 3 órán át. A sört egy hengeres üvegedénybe öntöttem, majd szén-dioxidot vezettem a mintába, hogy a képződött hab mennyisége elérje az edény peremét. A hideg sörminta habjának a felezési idejét (az az idő másodpercekben mérve, amely alatt a hab a kezdeti térfogatának a felére esik össze) NIBEM-T habstabilitás mérővel határoztam meg (European Brewery Convention. Analytica – EBC, 2004). Minden minta habstabilitását ötször határoztam meg, majd kiszámítottam az egyes mintákra vonatkozó átlagértékeket.

#### 4.1.3.5 Íz-stabilitás meghatározása ESR spektrométerrel

Az ESR vizsgálat során alkalmazott pontos vizsgálati eljárás Uchida és Ono publikációjában olvasható (Uchida és Ono, 2000a; Uchida és Ono, 2000b; Uchida és Ono, 1996; Uchida et al., 1996). 5 g, előzetesen 7500 g-n 10 percig centrifugált sörmintát mértem be egy barna mintásüvegbe, majd 0.1 mL 2.55 M koncentrációjú, 50%-os etanollal készült PBN oldatot adtam hozzá. Az üveg tartalmát homogenizáltam. A mintásüveget ezután a spektrométer 60 °C-ra beállított termosztátjába helyeztem. A spektrométer a mérés során adott időközönként a minta egy kis részletét a mintacellába felszívja, majd az ESR spektrumot meghatározza. A képződött OH-gyök mennyiségét a spektrum csúcstól csúcsig mért magasságával jellemeztem. A csúcstól csúcsig mért magasságokat Origin programmal a vizsgálati idő függvényében ábrázolva, a kapott görbére két egyenest lehet illeszteni. Az illesztett egyenesek metszéspontja szolgáltatja a lag time értékét (Uchida és Ono, 2000b).

A spektrométer beállított paraméterei az alábbiak voltak. Mágneses mező:  $335 \pm 10$  mT; hőmérséklet: szobahőmérséklet (körülbelül 20 °C); power: 5 mW, response: 1 sec; moduláció: 0.1 mT; áramlási idő: 8 min (Uchida és Ono, 1996). A készülék beállításait naponta ellenőriztem 3  $\mu$ M és 4  $\mu$ M Tempol oldat vizsgálatával.

#### 4.1.3.6 A sör színének meghatározása

A sörök színének meghatározását spektrofotometriás módszerrel végeztem az EBC színmeghatározási eljárás szerint. A módszer lényege, hogy nem kell a színmérést sok

hullámhosszon elvégezni, elég az abszorbanciát 430 nm-en meghatározni (European Brewery Convention. Analytica – EBC, 1999). A kapott abszorbancia értéket 25-tel megszorozva a szín értékét EBC egységekben kaptam meg. A vizsgált barna sör esetében az abszorbancia mérése előtt egy tízszeres hígítást alkalmaztam, így a számítás során ezzel a faktorial is korrigáltam a mért abszorbanciát.

#### **4.1.3.7 A sör alkoholtartalmának meghatározása**

A sörminták alkoholtartalmát Scaba típusú söranalizátorral határoztam meg. A termosztált, szénsavmentesített minta perisztaltikus szivattyú segítségével bejut a mérőcellába, ahol a készülék meghatározza a minta sűrűségét és a mintával egyensúlyban levő gőz alkoholtartalmát. Ezekből az értékekből a készülék saját szoftvere kiszámítja a sör paramétereit, többek között a sör minta alkoholtartalmát is. A készülék kalibrálása 0%-os, 3.5%-os és 7.0%-os alkohol-oldatokkal történt.

#### **4.1.3.8 A sör diacetil és 2,3-pentándion tartalmának meghatározása**

A sörminták diacetil és 2,3-pentándion tartalmát ECD detektorral (150°C) ellátott Agilent típusú gázkromatográfjal határoztam meg (kolonna: CP-Wax 52 C.B., 50 m x 0,32 mm, a kolonnatér hőmérséklete 75 – 120 °C). A kalibrálást 0 – 200 µg/L tartományban 5 ponton végeztem el. A szénsavmentesített mintát 3 órán át 60 °C-on termosztáltam, utána került sor a gázkromatográfiás mérésre. A készülék beállítása az EBC 9.24.2. módszer alapján történt.

#### **4.1.3.9 A iso- $\alpha$ -sav tartalmának meghatározása**

A sörminták iso- $\alpha$ -sav tartalmát spektrofotométerrel határoztam meg, az EBC 9.8. módszer előírásai alapján. A gázmentesített sörmintákat sósav hozzáadagolása után iso-oktánnal extraháltam, majd az iso-oktános fázis abszorbanciáját 275 nm-en meghatároztam. A kapott abszorbancia értéket 50-nel megszorozva kaptam meg a sörminták keserű-értékét. A kalibrálást 0 – 40 mg/L-es tartományban 5 ponton végeztem el.

#### 4.1.4 Érzékszervi vizsgálatok

Az érzékszervi vizsgálatokban, három különböző érzékszervi bírálati csoportban, csoportonként 90 – 135 önkéntes vett részt. Csoportonként 2, illetve 3 különböző sör vizsgálata történt. Az 1. csoportban 90 önkéntes vizsgálta az 1-es és a 2-es mintákat, a 2. csoportban 90 önkéntes vizsgálta a 3-as és a 4-es mintákat. A 3. csoportban 135 önkéntes vizsgálta az 5-ös, 6-os és a 7-es mintákat. A különböző minták E- és C-vitamin koncentrációja és pH értéke a 3.táblázatban látható.

A mintákat a kóstolók elkülönített, fehér fényel megvilágított fülkékben értékelték. A vizsgált mintákat 3 számjegyből álló véletlenszerű számmal láttam el, és közvetlenül a hűtőből ( $10 \pm 1$  °C) szolgáltam fel üvegpoharakban. A kóstolók a mintákkal együtt a tálcán megkapták a kérdőívet is (40.ábra) Minden egyes kóstoló 10 – 11 mintát értékelt egy kóstolás alkalmával. A minták közti öblítés érdekében kekszet és ásványvizet készítettem ki a kóstolóknak.

Az önkéntesek a sör tükrösségét, habját, ízét és az összbenyomást értékelték egy 9 pontos skálán (1=„egyáltalán nem jó”, 5=„semleges”, 9=„nagyon jó”). Négy demográfiai és sörhöz való viszonytal kapcsolatos kérdés is szerepelt a kérdőíven.

**3.táblázat A vizsgált sörminták hozzáadott vitamin-tartalma és pH értéke**

A minta sorszáma	Hozzáadott C-vitamin (mg/L)	Hozzáadott E-vitamin (mg/L)	A sörminták vitamin addíció előtti pH értékei a különböző sör típusok esetén						
			Matrix 1.	Matrix 2.	Matrix 3.	Matrix 4.	Matrix 5.	Matrix 6.	Matrix 7.
1.	0	0	4.17	4.21	4.35	4.41	4.43	4.34	4.59
2.	0	1	4.17	4.21	4.35	4.41	4.43	4.34	4.59
3.	0	3	4.17	4.21	4.35	4.41	4.43	4.34	4.59
4.	0	5	4.17	4.21	4.35	4.41	4.43	4.34	4.59
5.	10	0	4.12	4.15	4.27	4.36	4.37	4.38	4.50
6.	10	1	4.12	4.15	4.27	4.36	4.37	4.38	4.50
7.	10	3	4.12	4.15	4.27	4.36	4.37	4.38	4.50
8.	10	5	4.12	4.15	4.27	4.36	4.37	4.38	4.50
9.	10	0	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
10.	10	1	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
11.	10	3	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
12.	10	5	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
13.	30	0	4.06	4.11	4.23	4.32	4.32	4.32	4.46
14.	30	1	4.06	4.11	4.23	4.32	4.32	4.32	4.46
15.	30	3	4.06	4.11	4.23	4.32	4.32	4.32	4.46
16.	30	5	4.06	4.11	4.23	4.32	4.32	4.32	4.46
17.	30	0	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
18.	30	1	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
19.	30	3	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
20.	30	5	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
21.	50	0	4.01	4.07	4.19	4.27	4.28	4.28	4.40
22.	50	1	4.01	4.07	4.19	4.27	4.28	4.28	4.40
23.	50	3	4.01	4.07	4.19	4.27	4.28	4.28	4.40
24.	50	5	4.01	4.07	4.19	4.27	4.28	4.28	4.40
25.	50	0	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
26.	50	1	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
27.	50	3	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98
28.	50	5	3.02	3.05	2.99	3.01	2.97	3.04	2.98

A minta kódja \_\_\_\_\_

1. Kérem, válaszoljon a következő kérdésekre!

Nem:           Nő           Férfi  
Életkor:  
Szereti a sört? Igen           Nem  
Milyen gyakran iszik sört?   Heti egyszer, vagy többször  
                                  Havonta 1-3 alkalommal  
                                  Évente 1-6 alkalommal  
                                  Soha

2. Értékelje a sormintákat az alábbiakban felsorolt szempontok alapján! A választ karikázással jelölje meg! A minták kóstolása között öblítse ki a száját vízzel!

Külsőalak (tükrösség)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Egyáltalán nem tetszett				Átlagosnak mondható				Nagyon tetszett
Hab	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Egyáltalán nem tetszett				Átlagosnak mondható				Nagyon tetszett
Íz	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Egyáltalán nem tetszett				Átlagosnak mondható				Nagyon tetszett
Összbenyomás	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Egyáltalán nem tetszett				Átlagosnak mondható				Nagyon tetszett

Az íz leírása:

#### 40. ábra A kóstolók által kitöltött kérdőív

### 4.1.5 Statisztikai elemzés

Az értékelés során a párhuzamos vizsgálatok eredményeinek átlagát az LSD (least significant differences) módszerrel hasonlítottam össze, 5% szignifikancia szintet alkalmazva (Sváb, 1981), valamint meghatároztam a vizsgált paraméterek szórását.

### 4.1.6 Mintaelőkészítések

#### 4.1.6.1 A C-vitamin sörben, borban és narancslében való stabilitásának vizsgálata

C-vitamin törzsoldat: 0.0348 g aszkorbinsavat oldottam 25 mL HPLC-minőségű vízben. A C-vitamin törzsoldatot minden esetben frissen kell készíteni az esetleges bomlás miatt. E-vitamin törzsoldat: 0.0102 g  $\alpha$ -tokoferol 50 mL absz. etanolban oldva.

Minden minta tanulmányozásakor három párhuzamos minta előkészítése és vizsgálata történt.

A vizsgálathoz ebben az esetben is három különböző alkoholtartalmú (3.0%, 5.2% és 7.3%) sört használtam, valamint a tanulmányozott bor és narancslé minta megegyezett az E-vitamin esetében leírtakkal. Ebben az esetben csak egy tárolási hőmérsékletet tanulmányoztam a C-vitamin esetleges bomlása miatt, így a mintákat 4 °C-on (hűtőszekrényben) tároltam. A vizsgált mintákat tartalmazó üvegcséket alumínium fóliával ebben az esetben is betakartam.

A C-vitamin különböző alkoholtartalmak mellett mérhető stabilitásának tanulmányozásakor 1-1 mL sörmintát mértem ki mindegyik sör típusból 8-8 fiolába. Minden nap 1-1 fiolához 25 µL C-vitamin törzsoldatot adtam. A C-vitamin koncentráció meghatározását a 8. napon végeztem el. Ekkor az első napon készített minta 7 napos volt, a 2. napon készült minta 6 napos, stb.

Amikor a különböző hozzáadott C-vitamin mennyiség stabilitása volt a vizsgálat tárgya, 1 mL mintát mértem ki a borból, a narancsléből és a közepes alkoholtartalmú sörből 5-5 fiolába. Ezután 7.5, 15, 22.5, 30, és 37.5 µL C-vitamin törzsoldatot adtam a mintákhoz. A minták C-vitamin tartalmát 5 héten keresztül vizsgáltam.

Az E-vitaminnak a C-vitamin stabilitására való hatásának vizsgálatakor 72 fiolát készítettem 1-1 mL sör mintával. A 72 fiolát 9 csoportra bontottam, így minden csoport 8 fiolát tartalmazott. A fiolák vitamintartalma a 4. táblázatban található. A minták vitaminnal való dúsítása egy-egy nap eltéréssel történt, ugyanúgy, mint az előbbieken említett esetben. A C-vitamin tartalom meghatározása ebben az esetben is a 8. napon történt. Ebben az esetben viszont két tárolási hőmérsékletet alkalmaztam (az E-vitamin jelenléte miatt), így a minták felét 20°C-on (szobahőmérsékleten), a másik felét pedig a hűtőszekrényben 4 °C-on tároltam.

**4. táblázat A C-vitamin stabilitásvizsgálata során tanulmányozott sörminták és a tárolási hőmérséklet adatai**

<b>A csoport sorszám</b>	<b>A sörminta alkoholtartalma (%)</b>	<b>Hozzáadott C-vitamin koncentráció (mg/L)</b>	<b>Hozzáadott E-vitamin koncentráció (mg/L)</b>	<b>Tárolási hőmérséklet (°C)</b>
1.	3.0	34.8	0	4
2.	3.0	34.8	4.1	4
3.	3.0	34.8	4.1	20
4.	5.2	34.8	0	4
5.	5.2	34.8	4.1	4
6.	5.2	34.8	4.1	20
7.	7.3	34.8	0	4
8.	7.3	34.8	4.1	4
9.	7.3	34.8	4.1	20

A C- és az E-vitamin additív hatását is tanulmányoztam mindhárom ital esetében, de a mintákat csak 4°C-on tároltam. 1-1 mL mintát mértem ki a borból és a narancsléből 2-2 fiolába. Ezután az egyik fiolához 20 µL E-vitamin törzsoldatot és 25 µL C-vitamin törzsoldatot adtam, a másik fiolához pedig csak 25 µL C-vitamin törzsoldatot. A minták vitamintartalmát 5 héten keresztül heti egy alkalommal határoztam meg.

Tanulmányoztam a pH C-vitamin stabilitására gyakorolt hatását is. A sör esetében 5 különböző pH értéket alkalmaztam: 1.99; 2.48; 3.04; 3.47 és 3.96. Azért választottam ezeket a pH értékeket, mert 4-es pH felett a C-vitamin bomlik, és a 2-es pH érték pedig túl alacsony a sörminta esetén. A vizsgálat során 5 mL sörminta pH értékét állítottam be a kívánt értékre tömény foszforsav oldat adagolásával. Ezután 125 µL C-vitamin törzsoldatot adtam a mintákhoz, majd a kapott oldatokkal 2-2 fiolát töltöttem meg. Az egyik fiolát szobahőmérsékleten, a másikat pedig hűtőszekrényben tároltam. A mintákat az első, a hetedik és a kilencedik napon analizáltam.

A C-vitamin stabilitását különböző koncentrációk esetén alacsony pH-n, körülbelül, de pontosan 3-as pH értéken is tanulmányoztam. 10 mL foszforsavas mintát készítettem a borból, a narancsléből és a közepes alkoholtartalmú sörből. A minták eredeti pH értéke az előbbi sorrendben 3.29, 3.67 és 4.32 volt. Ezeket a pH értékeket módosítottam tömény foszforsav adagolásával. Az új pH értékek 2.97, 3.04 illetve 3.08-as értékek lettek. Mindegyik savas italból 1-1 mL mintát mértem ki 5-5 fiolába. Ezután 7.5, 15, 22.5, 30, és 37.5 µL C-vitamin törzsoldatot adtam a fiolákhoz. A minták C-vitamin tartalmát 5 héten keresztül vizsgáltam.

#### **4.1.6.2 Az E-vitamin sörben, borban és narancslében való stabilitásának vizsgálata**

E-vitamin törzsoldat: 0.0102 g  $\alpha$ -tokoferol 50 mL absz. etanolban oldva. C-vitamin törzsoldat: 0.0274 g aszkorbinsav 25 mL HPLC-minőségű vízben oldva. A C-vitamin törzsoldatot minden esetben frissen kell készíteni az esetleges bomlás miatt.

Minden minta esetében három párhuzamos minta előkészítése és vizsgálata történt.

A vizsgálatához három különböző alkoholtartalmú (3.0%, 5.2% és 7.3%) sört használtam. A bor minta egy 2004-es évjáratú száraz fehérbor (Olaszrizling) volt. A narancsléminta eredetileg 3 mg/L E-vitamint és 20 mg/L C-vitamint tartalmazott. Két különböző tárolási hőmérsékletet tanulmányoztam: 4 °C (hűtőszekrényben tárolt minták), és 20 °C (szobahőmérséklet). A vizsgált mintákat tartalmazó zárt fiolákat alumínium fóliával betakartam, hogy a fény vitamin-károsító hatását csökkentsem.



Amikor az eltérő alkoholtartalom hatásának összehasonlítása volt a vizsgálat célja, 1-1 mL mintát mértem ki mindegyik vizsgált sör típusból 16 fiolába. Minden nap 2-2 fiolához 20 µL E-vitamin törzsoldatot adtam. E két üvegcsé közül az egyiket hűtőszekrényben, a másikat pedig szobahőmérsékleten tároltam. Ezeket a lépéseket mindegyik sör típusal elvégeztem. Az E-vitamin tartalom meghatározását a 8. napon végeztem, így az első napon készített minta 7 napos volt, a 2. napon készített 6 napos, stb.

Amikor az E-vitamin stabilitását az adagolt koncentráció függvényében tanulmányoztam, 1-1 mL mintát mértem ki a bor, a narancslé és a közepes alkoholtartalmú sör mintából 5-5 üvegcsébe. Ezután 4, 8, 12, 16 és 20 µL E-vitamin törzsoldatot adtam a kimért mintákhoz. A mintákat hűtőszekrényben tároltam, és 10 héten keresztül vizsgáltam. Az E-vitamin koncentrációját heti egy alkalommal határoztam meg.

A C-vitaminnak az E-vitamin stabilitására való hatásának vizsgálatokor 96 fiolát készítettem 1-1 mL sör mintával. A 96 fiolát 12 csoportra bontottam, így minden csoport 8 fiolát tartalmazott. A fiolák vitamintartalma a 5. táblázatban található. A minták vitaminnal való dúsítása egy-egy nap eltéréssel történt, ugyanúgy, mint az előbbieken említett esetben. Az E-vitamin tartalom meghatározása ebben az esetben is a 8. napon történt.

**5. táblázat Az E-vitamin stabilitásvizsgálata során tanulmányozott sörminták és a tárolási hőmérséklet adatai**

<b>A minta sorszám</b>	<b>A sör minta alkoholtartalma (%)</b>	<b>Tárolási hőmérséklet (°C)</b>	<b>Hozzáadott E-vitamin koncentráció (mg/L)</b>	<b>Hozzáadott C-vitamin koncentráció (mg/L)</b>
1.	3.0	20	3	0
2.	3.0	4	3	0
3.	3.0	20	3	30
4.	3.0	4	3	30
5.	5.2	20	3	0
6.	5.2	4	3	0
7.	5.2	20	3	30
8.	5.2	4	3	30
9.	7.3	20	3	0
10.	7.3	4	3	0
11.	7.3	20	3	30
12.	7.3	4	3	30

E két vitamin additív hatásának a tanulmányozását bor és narancslé esetében is elvégeztem, de a vizsgált mintákat ekkor csak a hűtőszekrényben tároltam. 1-1 mL mintát mértem ki a borból és a narancsléből 5-5 fiolába. Ezután 12 µL E-vitamin törzsoldatot és 30 µL C-vitamin törzsoldatot

adtam a mintákhoz. A minták E-vitamin tartalmát 10 héten keresztül heti egy alkalommal határoztam meg.

#### **4.1.6.3 A vitaminaddíció íz-stabilitásra gyakorolt hatásának tanulmányozása három különböző technológiai szakasz alkalmazásával**

Törzsoldatok: 0.916 g/L koncentrációjú E-vitamin oldatot készítettem absz.etanollal, és 9.007 g/L koncentrációjú C-vitamin oldatot készítettem HPLC-minőségű víz felhasználásával.

Minden minta esetében három párhuzamos minta előkészítése és vizsgálata történt.

Késztermék vizsgálata esetén az eredeti sör-minta pH értéke 4.31 volt. Ezt a mintát két részre osztottam, és az egyik feléhez tömény foszforsavat adtam. Így ennek a mintának a pH értéke 2.99 lett. A törzsoldatokból 55-220  $\mu$ L mintákat adtam 50 mL sörmintákhoz, amelyeket 60 mL-es barna SUPELCO üvegekbe mértem ki, így a 6.táblázatban látható oldatokat hoztam létre. Az előkészített minták vizsgálata másnap történt. A lag time vizsgálat kezdetéig a mintákat 0°C-on tároltam.

Amikor a vitamin addíció fermentáció végi sörhöz történt, az eredeti pH érték 4.34 volt. A minta feléhez ebben az esetben is foszforsavat adtam, amíg a pH érték 2.98-ra nem csökkent. A törzsoldatokból 0.1-0.4 mL mintarészleteket mértem be 100 mL-es csavaros tetejű Schott üvegekbe, amelyek 90-90 mL fermentált sörmintát tartalmaztak. Az így kapott koncentrációk szintén a 6.táblázatban láthatók. Az így elkészített mintákat alumínium fóliával letakartam, és 4 °C-os hűtőszekrénybe helyeztem őket 7 napra. A tárolási hőmérséklet és idő megválasztásának az oka, hogy a kondicionálási idő minimum egy hét és ennek az eljárásnak a hőmérséklete 4 °C alatti. Miután a kondicionálási idő (a 7 nap) letelt, a mintákat centrifugáltam, az oldat tisztáját egy üres centrifugacsőbe dekantáltam és lefagyasztottam a reakciósebességek csökkentése érdekében. A mintákat másnap analizáltam. A vizsgálat előtt a mintákat szobahőmérsékletű vízfürdőbe állítottam, és felolvasztottam. Amikor a minták teljesen felolvadtak, 0 °C-os vízfürdőbe helyeztem őket a lag time vizsgálat kezdetéig.

**6. táblázat Az íz-stabilitási vizsgálatok során tanulmányozott sörminták adatai**

A minta sorszám	A csoport megnevezése	Hozzáadott E-vitamin (mg/L)	Hozzáadott C-vitamin (mg/L)	pH érték
1	Referencia sör	0	0	Eredeti
2	No.1.	1	0	Eredeti
3	No.2.	2	0	Eredeti
4	No.3.	3	0	Eredeti
5	No.4.	4	0	Eredeti
6	No.1.	0	10	Eredeti
7	No.2.	0	20	Eredeti
8	No.3.	0	30	Eredeti
9	No.4.	0	40	Eredeti
10	No.1.	0	10	~ 3
11	No.2.	0	20	~ 3
12	No.3.	0	30	~ 3
13	No.4.	0	40	~ 3
14	No.1.	1	10	Eredeti
15	No.2.	2	20	Eredeti
16	No.3.	3	30	Eredeti
17	No.4.	4	40	Eredeti
18	No.1.	1	10	~ 3
19	No.2.	2	20	~ 3
20	No.3.	3	30	~ 3
21	No.4.	4	40	~ 3

A vizsgálatot hűtés utáni sörlével is elvégeztem. Az eredeti sörlé pH-ja 5.12 volt. A minta feléhez foszforsavat adtam, így a kapott pH érték 3.08 lett. A vizsgálatához 100 mL-es csavaros tetejű Schott üvegeket készítettem elő, és a kupak közepén egy nyílás volt, amelybe visszacsapó szelepet szereltek. 90-90 mL sörlévet mértem be ezekbe a Schott üvegekbe, ezután 1.29 g sörélesztőt adtam minden mintához (az élesztő konzisztenciája így 60% lett). A törzsoldatokból 0.1-0.4 mL mintarészletet mértem be. A kapott koncentrációk a 6.táblázatban láthatók. Az így

elkészített mintákat alumínium fóliával letakartam, és 10 °C-os hűtőszekrénybe helyeztem őket 10 napra. A tárolási hőmérséklet és idő megválasztásának az oka, hogy a fermentációs idő körülbelül 10 nap és ennek az eljárásnak a hőmérséklete 6-10 °C. A fermentációs idő letelte után a mintákat centrifugáltam, az oldat tisztáját egy üres centrifugacsőbe dekantáltam és lefagyasztottam. A mintákat másnap analizáltam. A vizsgálat előtt a mintákat szobahőmérsékletű vízfürdőbe állítottam, és felolvasztottam. Amikor a minták teljesen felolvadtak, 0 °C-os vízfürdőbe helyeztem őket a lag time vizsgálat kezdetéig.

#### 4.1.6.4 Az érzékszervi, és a hozzá kapcsolódó vizsgálatok esetén

C-vitamin törzsoldat: 0.5009 g C-vitamint oldottam fel 100 mL HPLC-minőségű vízben. E-vitamin törzsoldat: 0.1247 g E-vitamint oldottam fel 25 mL absz. etanolban. A C-vitamin törzsoldatot az esetleges bomlás miatt mindig frissen kell készíteni.

A vizsgálat során többféle sört tanulmányoztam. A vizsgált sör-minták tulajdonságai a 6. táblázatban láthatóak. Az 1-es, a 2-es és a 3-as minta nagy mennyiségű pótanyaggal (kukoricadara, árpa, vagy izocukor felhasználásával) készült. Ezekben az esetekben a maláta 20-30%-át helyettesítették ezekkel az anyagokkal. A 4-es, az 5-ös és a 6-os sör-minták eredeti extrakt-tartalma magasabb volt (legalább 12%) az előző sörök extrakt-tartalmához (körülbelül 10.5%) képest. A 7-es minta egy magas alkoholtartalommal rendelkező barna sör volt. Az azonos típushoz tartozó sörminták ugyanabból a gyártási tételből származtak, így azonos minőségi jellemzőkkel (szén-dioxid és oxigén tartalom) rendelkeztek.

**7. táblázat Az érzékszervi vizsgálatok során tanulmányozott sör típusok adatai**

	<b>A sör-minta alkoholtartalma (%)</b>	<b>A sör-minta színe (EBC egység)</b>
Matrix 1.	3.0	4.5
Matrix 2.	4.4	5.1
Matrix 3.	4.6	5.7
Matrix 4.	4.7	5.7
Matrix 5.	5.2	6.1
Matrix 6.	6.5	8.1
Matrix 7.	7.3	113

Minden egyes sör típusból 52 mintát készítettem egy kóstolás során, és az elemzést ötször megismételtem. 25 minta esetében nem történt vitamin addíció: ezek a minták számítottak a referencia mintáknak. Ezeket a referencia mintákat mindegyik kóstoló megvizsgálta. A maradék 27 minta készítése az alábbiak szerint történt. Mindegyik bontatlan üveges sörmintát hűtőszekrényben tároltam  $10 \pm 1$  °C-on. Az E-vitamin törzsoldatból 10–50 µL-es részleteket, illetve a C-vitamin törzsoldatból 100-500 µL-es részleteket adagoltam a kóstolók üveg poharaiba. Közvetlenül a minta vizsgálata előtt 50 mL hideg, eredeti sörmintát öntöttem óvatosan ezekbe az üveg poharakba, így kialakítva a 3. táblázatban látható koncentráció viszonyokat. Legfeljebb 1 perc telt el a vitamin addíció és az érzékszervi vizsgálat kezdete között. Egy 500 mL-es üvegben levő eredeti sörmintából 9 vitaminnal dúsított mintát készítettem 2 percen belül, így ezek a minták megközelítően azonos mennyiségű szén-dioxidot és oxigént tartalmaztak.

A vitaminnal dúsított sörminták érzékszervi vizsgálatát a C-vitamin bomlása miatt alkalmazott alacsonyabb pH-értéken is elvégeztem. A 3-as pH körüli értéket ebben az esetben is tömény foszforsav addíciójával értem el. Ezen savas minták esetében az előzőekben említett 50 mL-es eredeti sör-mintákat ezekből a savas "sör-oldatokból" mértem ki.

#### **4.1.6.5 Mintaelőkészítés a vitamin addíciónak a sör analitikai paramétereire gyakorolt hatásának tanulmányozásakor**

Az E-vitamin törzsoldat készítésekor 0.1125 g E-vitamint oldottam fel 25 mL absz. etanolban. A C-vitamin törzsoldathoz 4.5027 g C-vitamint oldottam fel 100 mL HPLC-tisztaságú vízben.

Minden minta tanulmányozásakor három párhuzamos minta előkészítése és vizsgálata történt.

A vizsgálat során alkalmazott sörlé eredeti pH értéke 5.14 volt. Ezt a sörlé mintát két részre osztottam, és az egyik részlet pH-ját 3.02-re állítottam be tömény foszforsav oldat segítségével.

A vizsgálathoz 500 mL-es Schott üvegeket és a közepén lyukkal rendelkező csavaros kupakokat alkalmaztam. Ezekbe a lyukakba visszacsapó szelepet helyeztem. Az üvegekbe 450 mL hűtött sörlevet töltöttem, majd 6.43 g sörélesztőt adtam a mintákhoz (az élesztő konzisztenciája így 60% lett). (A savas minták esetében a 450 mL-t a savanyított sörléből mértem ki.) A fent említett törzsoldatokból 0.1-0.5 mL-es részleteket mértem be a sörlevekhez. Az így kialakult vitaminkoncentrációk a 8. táblázatban láthatók.

**8. táblázat Az analitikai paraméterek vizsgálatakor  
tanulmányozott minták adatai**

<b>A minta sorszáma</b>	<b>Hozzáadott C-vitamin (mg/L)</b>	<b>Hozzáadott E-vitamin (mg/L)</b>	<b>Beállított pH érték (vit.addíció előtt)</b>
1.	0	0	5.12
2.	0	0	3.02
3.	0	1	5.12
4.	0	3	5.12
5.	0	5	5.12
6.	10	0	5.12
7.	10	1	5.12
8.	10	3	5.12
9.	10	5	5.12
10.	10	0	3.02
11.	10	1	3.02
12.	10	3	3.02
13.	10	5	3.02
14.	30	0	5.12
15.	30	1	5.12
16.	30	3	5.12
17.	30	5	5.12
18.	30	0	3.02
19.	30	1	3.02
20.	30	3	3.02
21.	30	5	3.02
22.	50	0	5.12
23.	50	1	5.12
24.	50	3	5.12
25.	50	5	5.12
26.	50	0	3.02
27.	50	1	3.02
28.	50	3	3.02
29.	50	5	3.02

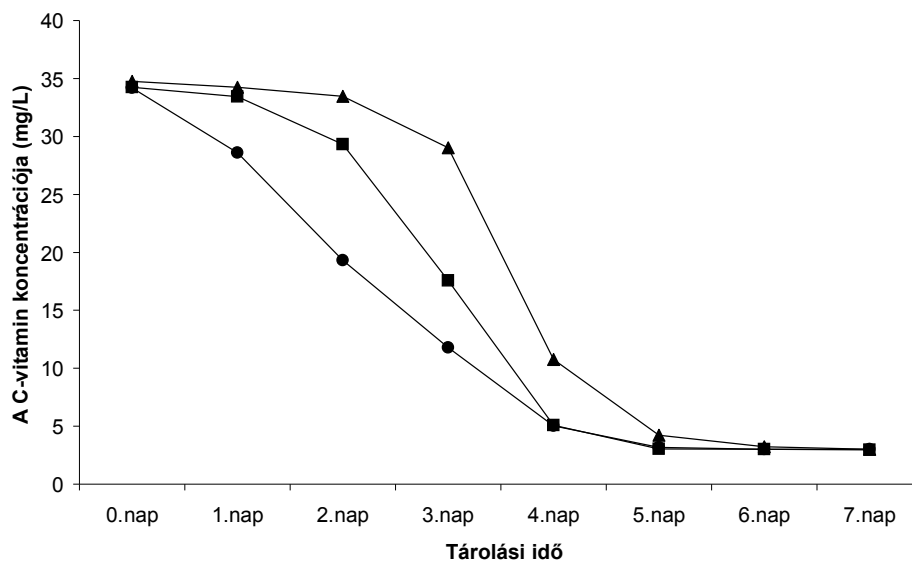
Az így elkészített mintákat alumínium fóliával betakartam, majd 10 °C-ra állított hűtőszekrényben tároltam 10 napig. Ez az időtartam és hőmérséklet felel meg egy átlagos sör fermentációs idejének és hőmérsékletének. A 10 nap fermentációs idő letelte után a Schott üvegek kupakját zárt kupakra cseréltem, és a mintákat 4 °C-on tároltam további hét napig (ez a tipikus kondicionálási időtartam). A hét nap elteltével minden egyes minta 100 mL-éből meghatároztam a minták alkoholtartalmát. A sörminták iso- $\alpha$ -sav, E- és C-vitamin koncentrációját, valamint a végső pH értékeit a minták 150 mL-es részletéből határoztam meg. A diacetil és a pentándion mennyiségét a sörökben 200 mL mintarészlet felhasználásával határoztam meg. Ezen vizsgálatok után a minták maradék részletét 3100g-n centrifugáltam, és a leülepedett élesztőt 5 mL metanollal extraháltam. Az így kapott metanos oldat E-vitamin tartalmát határoztam meg.

## 5 Kísérleti eredmények és értékelésük

### 5.1 A vitaminok stabilitásának meghatározása sörben

#### 5.1.1 C-vitaminnal dúsított sör

A C-vitamin stabilitása a különböző alkoholtartalmú sörökben eltérő. Ahogyan az a 41. ábrán látható, a C-vitamin mennyiségében jelentős csökkenés tapasztalható mindegyik vizsgált sör esetében, de a vitamin koncentrációjának csökkenési üteme a minta alkoholtartalmától függ. A bomlási görbe gradiense a legmagasabb alkoholtartalom esetében a legnagyobb, de míg az alacsony és a közepes alkoholtartalmú sörök esetében a vitamin tartalom hirtelen csökkenése a második, illetve a harmadik napon következik be, addig ebben az esetben ez a csökkenés a negyedik napon tapasztalható. A C-vitamin koncentrációja a hetedik napon minden esetben már csak 3 mg/L volt, függetlenül az alkoholtartalomtól.



41. ábra A C-vitamin különböző alkoholtartalmú sörökben mért bomlási görbéje.

—●— : 3.0% alkohol, —■— : 5.2% alkohol, —▲— : 7.3% alkohol

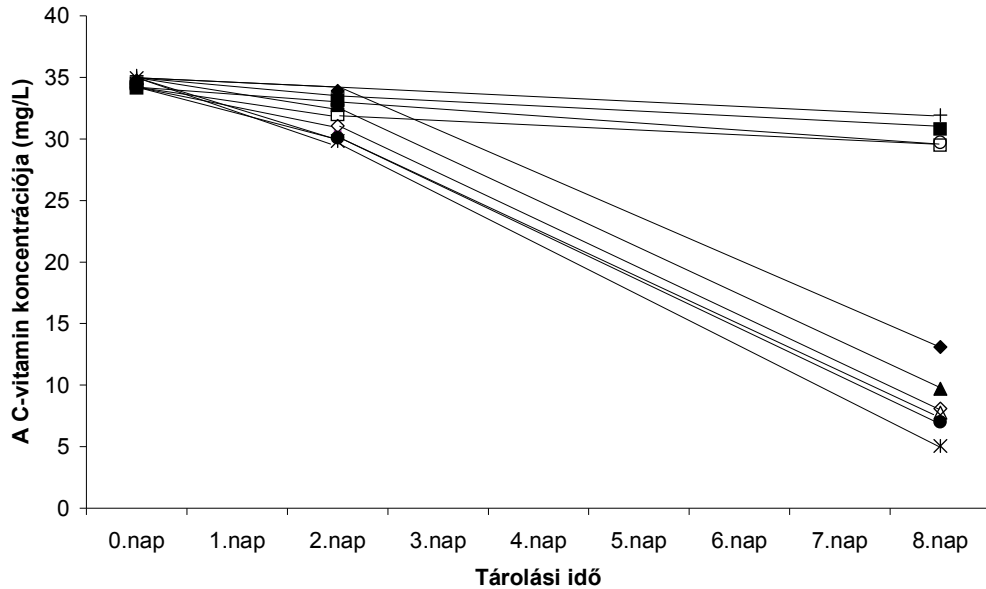
A különböző adagolt koncentrációk viselkedésének tanulmányozásakor az előzőekben említett csökkenés minden koncentráció esetében mérhető. Minden vizsgált koncentráció esetében a tárolási idő függvényében ábrázolt koncentráció értékekre egy elsőrendű exponenciális görbét lehet illeszteni. Az illesztett görbe  $t_1$  paramétere a növekvő C-vitamin koncentrációval csökken, azaz a vitamin mennyiségének a csökkenése gyorsabb nagyobb koncentrációk esetében. (lásd 9. táblázat)



**9. táblázat A C-vitamin illesztett bomlási görbéjének paraméterei eredeti pH-jú sör esetén**

A vizsgált minta	Hozzáadott C-vitamin (mg/L)	Az illesztett exponenciális bomlási görbe paraméterei					A C-vitamin mennyiségének felezési ideje (hét)	A C-vitamin koncentrációja az ötödik héten (mg/L)
		$y = y_0 + A_1 * e^{-(x-x_0)/t_1}$						
		$y_0$	$x_0$	$A_1$	$t_1$	$\chi^2$		
Sör (5.2% alkohol tartalommal)	10	<0.01	<0.01	10.40±0.18	0.86±0.03	0.03	0.55	0.02
	20	<0.01	<0.01	21.21±0.18	0.72±0.02	0.03	0.55	0.07
	30	<0.01	<0.01	32.74±0.64	0.62±0.03	0.38	0.50	0.11
	40	<0.01	<0.01	41.73±0.86	0.58±0.04	0.70	0.50	0.17
	50	<0.01	<0.01	51.78±0.94	0.52±0.03	0.83	0.45	0.20

Tanulmányoztam a pH-nak a C-vitamin stabilitására gyakorolt hatását. A 20 °C-on tárolt minták esetében az előzőekben bemutatottal azonos eredmény kapható, azaz a pH-csökkentése nem változtatja meg a C-vitamin stabilitását, ugyanúgy jelentős csökkenés tapasztalható a C-vitamin mennyiségében. Ugyanakkor a C-vitamin bomlása kisebb pH értéken lassult, a 8.napon mérhető aszkorbinsav tartalom megemelkedett a pH csökkentésével. A 4 °C-on tárolt minták esetében egy pH határérték tapasztalható. (42.ábra) 3.96-os pH érték alatt a minták C-vitamin tartalmának a csökkenése mindössze 12±2.0% hűtött tárolás esetén, viszont e pH érték felett nincs kimutatható különbség a tárolási hőmérsékletek között, a C-vitamin mennyiségének a csökkenése 81±6% a tárolási hőmérséklettől függetlenül. A kísérleti eredmények alapján kapott, a C-vitamin bomlására vonatkozó „küszöb” pH-érték megfelelt az irodalomban talált vizes oldatnak megfelelő pH-értéknek.



**42. ábra** A C-vitamin mennyisége a tárolási idő függvényében sör esetén, különböző pH-t és tárolási hőmérsékletet alkalmazva.

+ : pH=1.99, 4°C, ◆ : pH=1.99, 20°C, ■ : pH=2.48, 4°C, ▲ : pH=2.48, 20°C, ⊖ : pH=3.04, 4°C, △ : pH=3.04, 20°C, ⊞ : pH=3.47, 4°C, ● : pH=3.47, 20°C, ◇ : pH=3.96, 4°C, \* : pH=3.96, 20°C

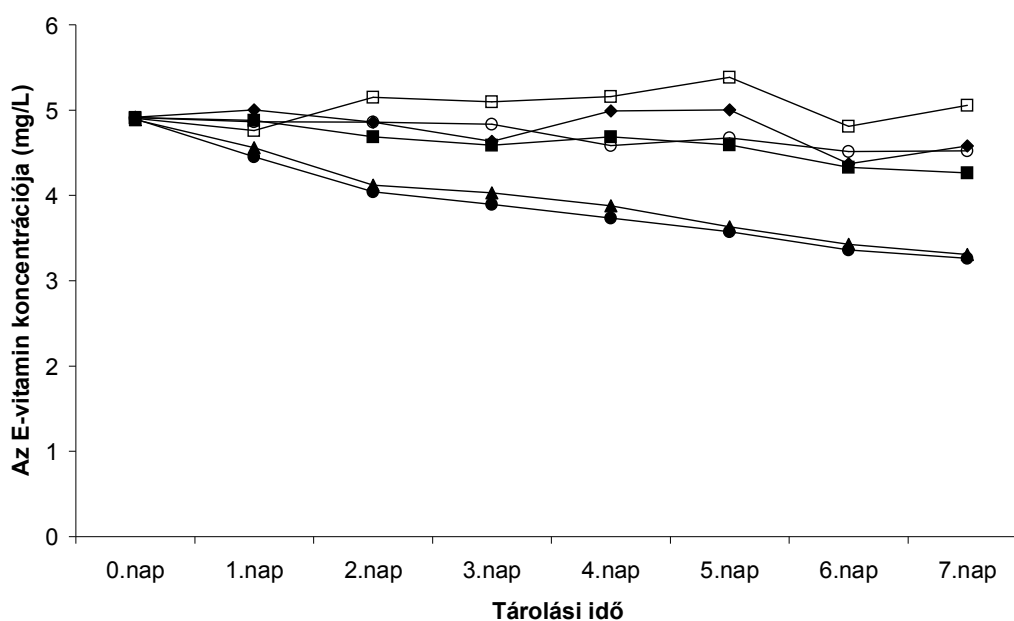
A C-vitamin stabilitásának koncentráció-függését alacsonyabb pH-értéken is meghatároztam. Ebben az esetben lineáris összefüggés van a tárolási idő és a C-vitamin koncentráció között. Mint az a 10.táblázatban látható, a fogyási görbe gradiense nő az emelkedő C-vitamin tartalommal, így a leggyorsabb C-vitamin bomlás az 50 mg/L-es tanulmányozott koncentrációnál tapasztalható.

**10.táblázat** Az illesztett lineáris C-vitamin bomlási görbe paraméterei alacsony pH (körülbelül, de pontosan 3-as pH érték) értékre beállított sör esetén

A vizsgált minta	Hozzáadott C-vitamin (mg/L)	Az illesztett lineáris bomlási görbe paraméterei			A C-vitamin mennyiségének felezési ideje (hét)	A C-vitamin koncentrációja az ötödik héten (mg/L)
		y = A + B* x				
		A	B	R <sup>2</sup>		
Sör (5.2% alkohol tartalommal)	10	10.30±0.39	-2.01±0.13	0.98	2.30	0.86
	20	21.01±0.49	-3.97±0.17	0.99	2.40	2.04
	30	33.57±1.08	-5.87±0.36	0.98	2.90	6.10
	40	40.27±0.53	-6.52±0.18	0.99	3.00	8.21
	50	50.64±0.64	-8.43±0.21	0.99	3.00	9.01

### 5.1.2 E-vitaminnal dúsított sör

Minden vizsgált minta esetében az E-vitamin tartalom lassú csökkenése figyelhető meg a tárolási idő függvényében. Mindazonáltal, a különböző alkoholtartalmú sörök vizsgálatakor jelentős eltérés mutatható ki az E-vitamin stabilitásában (43. ábra). Alacsony alkoholtartalmú sör tanulmányozásakor a tárolási hőmérséklet nem befolyásolja az  $\alpha$ -tokoferol viselkedését: koncentrációjának a csökkenése  $12\pm 2\%$  volt a hetedik napon. A közepes és a magas alkoholtartalmú minták E-vitaminnal való dúsításakor azonban a különböző tárolási hőmérsékletek alkalmazásakor eltérő  $\alpha$ -tokoferol koncentrációk alakulnak ki. Ezekben az esetekben a szobahőmérsékleten tárolt mintákban az E-vitamin kevésbé stabil ( $19\pm 3\%$ -os csökkenés), mint a hűtőszekrényben tárolt minták vizsgálatakor (a koncentráció csökkenése ekkor  $11\pm 2\%$  volt). A stabilitásbeli különbségeknek egy lehetséges magyarázata az E-vitamin oldhatóságában rejlik. Alacsony alkoholtartalom esetében az E-vitamin oldhatósága elég alacsony, de a sörben jelenlevő egyéb komponensek micellát, vagy kolloidális részecskét hozhatnak létre a tokoferol molekulát körbevéve. Ez a kolloidális állapot stabilizálhatja a sörben a E-vitamint, így csökkenhet a reaktivitása is. A magasabb hőmérséklet növeli a reakciók sebességét, így a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolt minták E-vitamin tartalma rövidebb idő alatt csökken le.



43. ábra A hozzáadott E-vitamin koncentrációja a tárolási idő függvényében különböző alkoholtartalmú sörök esetében, különböző tárolási hőmérsékleteket alkalmazva.

◆: alacsony alkoholtartalmú sör,  $20^{\circ}\text{C}$ , ■: alacsony alkoholtartalmú sör,  $4^{\circ}\text{C}$ , ▲: közepes alkoholtartalmú sör,  $20^{\circ}\text{C}$ , ○: közepes alkoholtartalmú sör,  $4^{\circ}\text{C}$ , ●: magas alkoholtartalmú sör,  $20^{\circ}\text{C}$ , □: magas alkoholtartalmú sör,  $4^{\circ}\text{C}$

Az E-vitamin stabilitásának koncentrációfüggését is tanulmányoztam. Ahogyan az a 11. táblázatban látható, minden vizsgált koncentráció esetében lassú koncentráció csökkenés tapasztalható az idő függvényében, de a különböző koncentrációkhoz tartozó bomlási görbék különböző gradiensekkel rendelkeznek: nagyobb E-vitamin koncentráció esetében a gradiens nagyobb értékű.

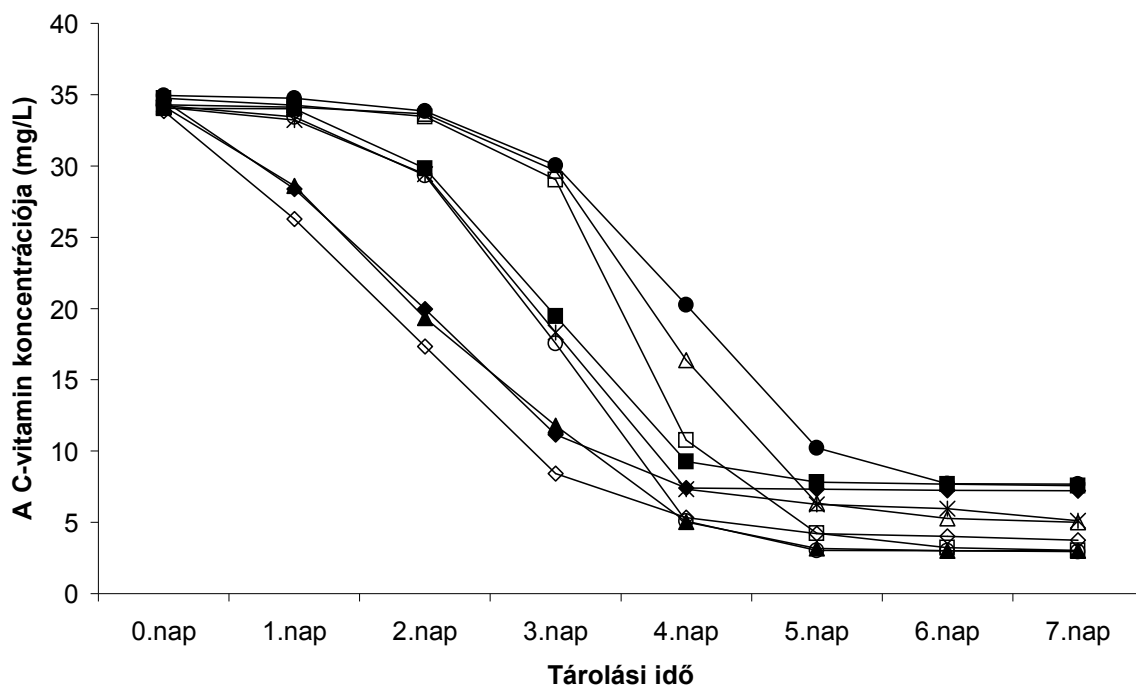
**11. táblázat Az E-vitamin stabilitási adatai sörben, különböző hozzáadott koncentrációk esetén**

A vizsgált minta	Hozzáadott E-vitamin (mg/L)	Az E-vitamin mennyiségének felezési ideje (hét)	Az E-vitamin bomlási görbájének gradiense (mg/L/hét)	Az E-vitamin koncentrációja a tizenkettedik héten (mg/L)
	1	3.51	0.13	<0.01
Sör (5.2% alkohol tartalommal)	2	3.84	0.21	<0.01
	3	5.13	0.24	<0.01
	4	5.55	0.33	<0.01
	5	5.91	0.40	0.12

### 5.1.3 Sörhöz történő együttes vitamin addíció

A kísérleti eredmények alapján az E-vitamin jelenléte befolyásolja a C-vitamin stabilitását (44.ábra), valamint a koncentráció változásának ütemét is lelassítja. A fogyási görbe gradiensét befolyásolja a minta alkoholtartalma és a tárolási hőmérséklet is. Az E-vitamin jelenléte esetén a 4 °C-on tárolt minták aszkorbinsav tartalma lassabban csökken, mint azoké a mintáké, amelyek ugyanolyan vitamin tartalommal rendelkeznek, de a tárolási hőmérsékletük 20 °C. Ugyanakkor még ezek a szobahőmérsékleten tárolt minták is alacsonyabb fogyási gradiensekkel rendelkeznek, mint az E-vitamin nélküli minták. Ez azt jelenti, hogy az E-vitamin elősegíti a C-vitamin stabilizálását akár még szobahőmérsékleten is (a legjobb eredmények azonban 4 °C-os tárolási hőmérséklet alkalmazásakor kaphatók). Ennek ellenére az E-vitamin addíció nem küszöböli ki az alkoholtartalmú minták viselkedései közti különbségeket, azaz az aszkorbinsav mennyiségének hirtelen csökkenése ugyanazon a napon észlelhető, mint abban az esetben, amikor csak a C-vitamin

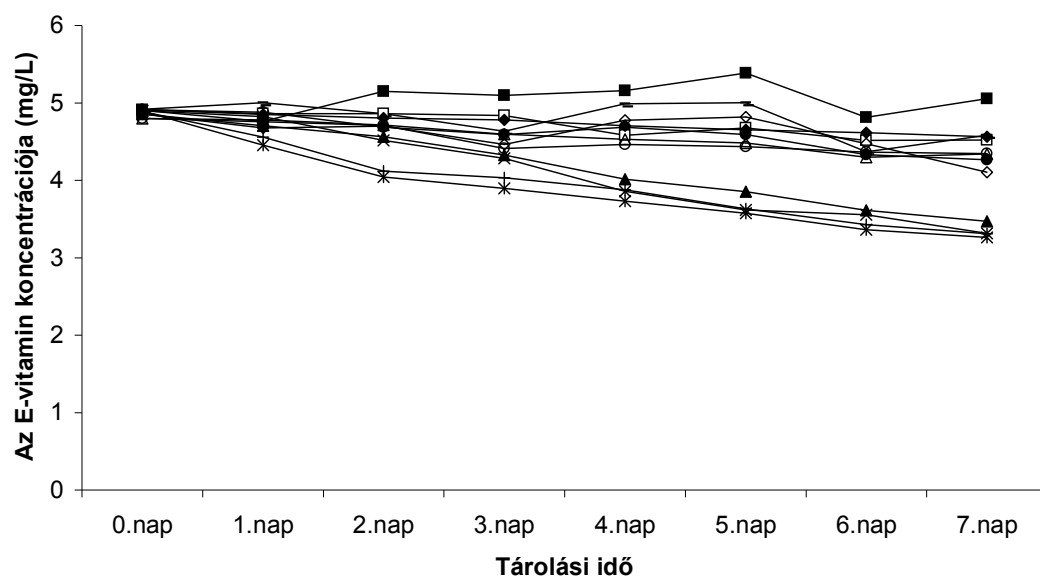
van jelen a mintákban. A C-vitamin koncentrációja a hetedik napon 3, 5, illetve 7.5 mg/L volt a tárolási hőmérséklettől, és a sörhöz adagolt vitamintartalomtól függően.



**44. ábra A C-vitamin bomlási görbéje E-vitamin jelenlétében, illetve E-vitamin nélkül, különböző alkoholtartalmú sörökben, különböző tárolási hőmérsékleteket alkalmazva**

◇: 3.0% alkohol, csak C-vitamin van jelen, 4°C ▲: 3.0% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 20°C, ◆: 3.0% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 4°C, ⊖: 5.2% alkohol, csak C-vitamin van jelen, 4°C ✱: 5.2% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 20°C ■: 5.2% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 4°C ⊕: 7.3% alkohol, csak C-vitamin van jelen, 4°C △: 7.3% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 20°C ●: 7.3% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 4°C

Tanulmányoztam a C-vitaminnak az E-vitamin stabilitására gyakorolt hatását. Az eredmények alapján az E-vitamin mennyiségét nem befolyásolta a C-vitamin jelenléte (45. ábra). Azok a minták, amelyek mindkét vitamint tartalmazzák, ugyanolyan E-vitamin fogyási görbével rendelkeznek, mint azok a minták, amelyek csak E-vitamint tartalmaznak. A legnagyobb csökkenést (20±2%) a szobahőmérsékleten tárolt közepes és magas alkoholtartalmú minták esetében mértem. A többi minta esetében az E-vitamin tartalom fogyása 10±3% volt.



**45. ábra** Az E-vitamin bomlási görbéje C-vitamin jelenlétében, illetve C-vitamin nélkül, különböző alkoholtartalmú sörökben, különböző tárolási hőmérsékleteket alkalmazva

—: 3.0% alkohol, csak E-vitamin van jelen, 20°C —: 3.0% alkohol, csak E-vitamin van jelen, 4°C —: 3.0% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 20°C —: 3.0% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 4°C —: 5.2% alkohol, csak E-vitamin van jelen, 20°C —: 5.2% alkohol, csak E-vitamin van jelen, 4°C —: 5.2% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 20°C —: 5.2% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 4°C —: 7.3% alkohol, csak E-vitamin van jelen, 20°C —: 7.3% alkohol, csak E-vitamin van jelen, 4°C —: 7.3% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 20°C —: 7.3% alkohol, C- és E-vitamin is jelen van, 4°C

## 5.2 A vitaminok stabilitásának meghatározása borban és narancslében

### 5.2.1 C-vitaminnal dúsított bor és narancslé

A 12. és a 13. táblázat a C-vitamin bomlási görbét mutatja be eredeti, illetve alacsonyabb pH-értékű bor és narancslé esetén, feltüntetve a hozzáadott vitamin felezési idejét, illetve a C-vitamin koncentrációt 5 hét eltarthatóság esetén.

A borhoz adagolt különböző vitamin koncentrációk esetén a leggyorsabb C-vitamin bomlás a 30 mg/L-es minta esetében tapasztalható (12. táblázat). E koncentráció érték esetében a legkisebb

a bomlási görbe  $t_1$  paramétere. Narancslé esetében a C-vitamin bomlásának a sebessége csökken a növekvő C-vitamin tartalommal, így a bomlás sebessége a legnagyobb koncentráció esetében a legkisebb.

**12. táblázat A C-vitamin illesztett bomlási görbéinek paraméterei eredeti, változatlan pH-jú bor és narancslé esetén**

A vizsgált minta	Hozzáadott C-vitamin (mg/L)	Az illesztett exponenciális bomlási görbe paraméterei					A C-vitamin mennyiségének felezési ideje (hét)	A C-vitamin koncentrációja az ötödik héten (mg/L)
		$y = y_0 + A_1 \cdot e^{-(x-x_0)/t_1}$						
		$y_0$	$x_0$	$A_1$	$t_1$	$\chi^2$		
Bor	10	<0.01	<0.01	9.89±0.32	0.95±0.07	0.10	0.60	0.36
	20	<0.01	<0.01	19.69±0.48	0.83±0.05	0.22	0.55	0.40
	30	<0.01	<0.01	30.22±0.67	0.70±0.04	0.43	0.55	0.78
	40	<0.01	<0.01	39.44±0.81	0.93±0.04	0.65	0.60	0.80
	50	<0.01	<0.01	46.10±1.38	1.28±0.08	1.94	1.00	4.11
Narancslé	10	<0.01	<0.01	38.75±0.38	0.75±0.02	0.14	0.60	0.05
	20	<0.01	<0.01	48.94±1.66	0.89±0.07	1.72	0.60	0.13
	30	<0.01	<0.01	58.84±1.27	0.94±0.05	1.59	0.60	1.15
	40	<0.01	<0.01	63.74±0.75	0.94±0.03	0.55	0.65	4.83
	50	<0.01	<0.01	81.16±1.18	0.99±0.03	1.38	0.65	6.14

A fenti mérések alapján elmondható, hogy a C-vitamin stabilitása – a három vizsgált mintát összehasonlítva - a sörben a legkisebb. Öt hét elteltével, három kiindulási minta esetében még lehetséges jelentős mennyiségű aszkorbinsavat kimutatni: 50 mg/L kiindulási C-vitamin koncentrációjú bor, illetve 40 és 50 mg/L-es kiindulási C-vitamin koncentrációjú narancslé esetén. A C-vitamin hosszabb élettartama a borban feltehetően annak köszönhető, hogy a bor változatos antioxidáns tartalommal rendelkezik, mint például az antocianidok, vagy más komponensek jelenléte is okozhatja a megnövekedett stabilitást azáltal, hogy kölcsönhatásba lépnek a C-vitaminnal. Narancslé esetében a minta eredeti C-vitamin tartalma is befolyásolhatja a bomlási görbét.

A C-vitamin stabilitását különböző koncentrációk esetében alacsonyabb pH-értékeken is tanulmányoztam. A bor és a narancslé esetében a tárolási idő függvényében ábrázolt C-vitamin koncentráció adatokra elsőrendű exponenciális görbét lehet illeszteni. Bor esetén (13.táblázat) az exponenciális görbe  $t_1$  paramétere emelkedik a növekvő C-vitamin tartalommal, azaz a bomlás sebessége nagyobb a kisebb koncentrációk esetén. Narancslé vizsgálata esetén a bomlás sebessége

nő az emelkedő C-vitamin koncentrációval, így a legnagyobb bomlási sebesség az 50 mg/L C-vitamin koncentrációnál kapható.

**13.táblázat C-vitamin bomlási görbék paraméterei alacsony pH értékre (körülbelül, de pontosan pH 3) beállított bor és narancslé esetén**

A vizsgált minta	Hozzáadott C-vitamin (mg/L)	Az illesztett exponenciális bomlási görbe paraméterei					A C-vitamin mennyiségének felezési ideje (hét)	A C-vitamin koncentrációja az ötödik héten (mg/L)
		$y_0$	$x_0$	$A_1$	$t_1$	$\chi^2$		
Bor	10	<0.01	<0.01	13.51±0.32	0.84±0.04	0.10	0.55	0.46
	20	<0.01	<0.01	24.28±0.65	1.00±0.05	0.42	0.60	0.66
	30	<0.01	<0.01	35.25±0.51	1.18±0.03	0.26	0.80	0.86
	40	<0.01	<0.01	39.37±1.23	1.21±0.07	0.52	1.10	4.82
	50	<0.01	<0.01	48.25±0.57	1.26±0.03	0.33	1.25	10.65
Narancslé	10	<0.01	<0.01	38.35±0.91	0.96±0.05	0.82	0.50	0.06
	20	<0.01	<0.01	47.53±0.48	0.87±0.01	0.22	0.50	0.27
	30	<0.01	<0.01	58.25±1.31	0.81±0.05	0.70	0.50	0.97
	40	<0.01	<0.01	67.48±1.80	0.78±0.05	1.14	0.65	6.40
	50	<0.01	<0.01	78.04±1.49	0.72±0.04	1.19	0.75	10.25

A mérési adatokat statisztika módszerrel (Sváb, 1981) megvizsgálva kimutatható, hogy alacsonyabb pH értéket (pH 3.0) alkalmazva, az 50 mg/L-es C-vitamin koncentráció esetén nincs szignifikáns különbség az egyes italfajták ötödik héten mért C-vitamin tartalma között. E koncentráció alatt a C-vitamin stabilitása a sörben a legnagyobb: a C-vitamin tartalom felezési ideje jelentősen nagyobb, mint a másik két vizsgált italfajta esetén. Ugyanezt igazolja az egyes italfajták ötödik héten mért C-vitamin tartalma is: a legmagasabb koncentráció az alacsony pH-jú sör esetében mérhető.

Ha az eredeti és az alacsonyabb pH-jú mintákat hasonlítjuk össze, akkor látható, hogy az alacsonyabb pH érték növeli az ötödik hét végén mért C-vitamin koncentrációt.



## 5.2.2 E-vitaminnal dúsított bor és narancslé

A mérési eredmények alapján a bor esetében az E-vitamin tartalom lassú csökkenése figyelhető meg, de a sörben mért értékekkel ellentétben, nem tapasztalható jelentős különbség a bomlási görbék gradiensei között. (14. táblázat) Az E-vitamin stabilitása sokkal nagyobb borban, mint a sörben. Ennek a magyarázata az lehet, hogy a bor maga is számos antioxidáns anyagot tartalmaz. A mérési adatok alapján azonban nem érdemes E-vitaminnal dúsított bort készíteni, mivel a bor élettartama sokkal hosszabb, mint ennek a vitaminnak a borban mérhető élettartama.

Narancslé esetében mérhető a legnagyobb E-vitamin koncentráció csökkenés a három vizsgált italfajta közül. (14. táblázat) A bomlási görbe gradiense növekedik az emelkedő E-vitamin koncentrációval, de a statisztikai számítások alapján ez a növekvő tendencia kisebb mértékű, mint a sör esetében tapasztalható. Ez a jelenlevő egyéb olyan komponenseknek is köszönhető, melyek reakcióba léphetnek az E-vitaminnal, illetve a minta eredeti E-vitamin tartalma is befolyásolhatja a bomlási görbét.

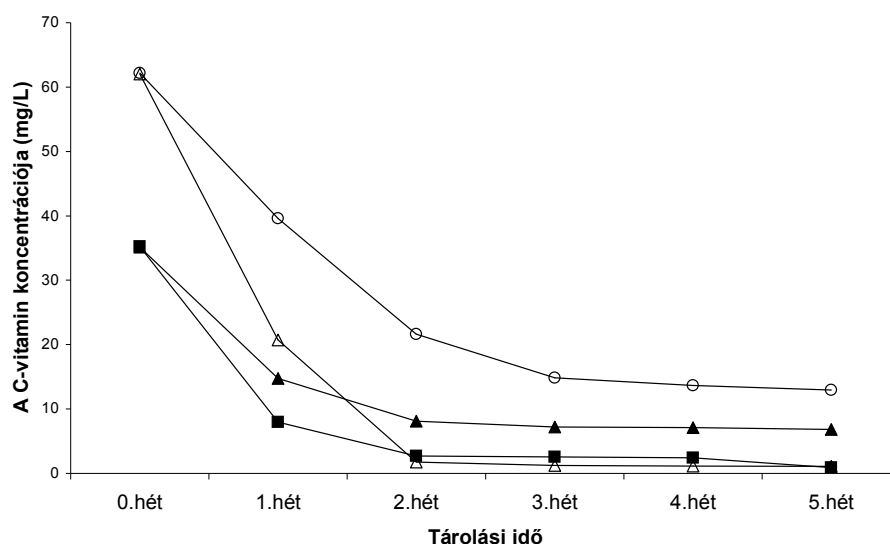
A kapott stabilitási adatok a minták növekvő alkoholtartalmának megfelelő módon alakulnak. A narancslé nem tartalmaz alkoholt, a sör 5%, a bor pedig körülbelül 12% alkoholtartalmú. Minél nagyobb a minta alkoholtartalma, annál stabilisabb a hozzáadott E-vitamin. A stabilitás különböző koncentráció-függése különböző bomlási reakciókinetikára utalhat. A bomlási görbék gradiensei közti különbség a sör és a narancslé esetében feltehetően a különböző reakciókinetikának és az E-vitamin eltérő oldékonyságának köszönhető. Bor esetében a stabilitási adatok (és a bomlási reakció sebessége) függetlenek az E-vitamin koncentrációjától.

**14. táblázat Az E-vitamin stabilitási adatai borban és narancslében, különböző hozzáadott koncentrációk esetén**

A vizsgált minta	Hozzáadott E-vitamin (mg/L)	Az E-vitamin mennyiségének felezési ideje (hét)	Az E-vitamin bomlási görbéjének gradiense (mg/L/hét)	Az E-vitamin koncentrációja a tizenkettedik héten (mg/L)
Bor	1	5.51	0.12	0.15
	2	6.46	0.13	0.26
	3	9.14	0.15	0.90
	4	10.82	0.17	1.58
	5	11.18	0.17	2.04
Narancslé	1	3.82	0.47	<0.01
	2	4.10	0.54	<0.01
	3	4.04	0.72	<0.01
	4	4.22	0.80	<0.01
	5	4.65	0.87	<0.01

### 5.2.3 Együttes vitamin addíció

A 46. ábrán látható, hogy a bor és a narancslé esetében különbségek találhatók a minták C-vitamin tartalmában attól függően, hogy a mintához történt-e E-vitamin addíció is.

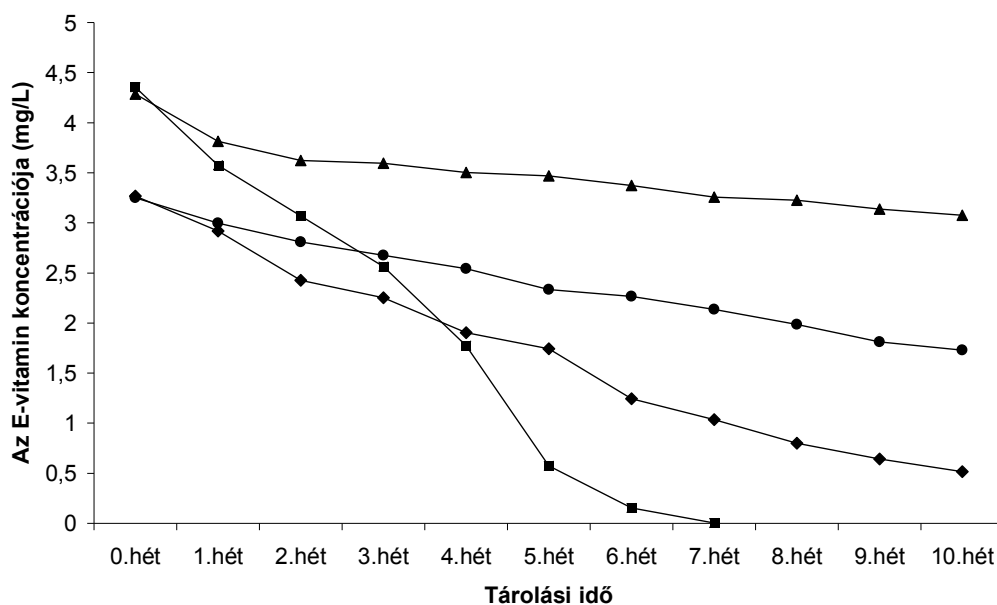


**46. ábra A C-vitamin bomlási görbéje borban és narancslében E-vitamin mellett, illetve E-vitamin nélkül**

■: csak C-vitamin van jelen, bor ▲: C- és E-vitamin együtt van jelen, bor △: csak C-vitamin van jelen, narancslé ○: C- és E-vitamin együtt van jelen, narancslé

Abban az esetben, amikor a mintákhoz E-vitamin addíció nem történik, a C-vitamin koncentrációja 1-2 mg/L-es értékre esik le már a második héten. Ha viszont mindkét vitamin jelen van a mintákban, akkor ugyan szintén tapasztalható az aszkorbinsav mennyiségének a csökkenése, de ez jelentősen kisebb mértékű: az ötödik hét végén a C-vitamin koncentrációja borban 7 mg/L, narancslében pedig 13 mg/L volt. Az eredmények azt mutatják, hogy az E-vitamin stabilizálja a C-vitamint ezekben az italokban egy adott határ-koncentráció értéken. Igaz, annak kijelentéséhez, hogy az E-vitamin javítja a C-vitamin stabilitását ezekben a mátrixokban további mérések szükségesek hosszabb tárolási időt alkalmazva.

E két italfajta esetében az E-vitamin tartalom is különbségeket mutat a C-vitamin jelenlététől függően. (47. ábra) Amíg bor esetén az aszkorbinsav jelenléte felgyorsítja az E-vitamin mennyiségének a csökkenését, addig a narancslé esetén éppen az ellenkező hatás tapasztalható. Ekkor csak kismértékű csökkenés ( $21 \pm 2\%$ ) mutatható ki a tokoferol tartalomban, ha C-vitamin adagolás is történik a mintához. Amikor azonban a narancslé mintának csak az eredeti C-vitamin tartalma van jelen, az E-vitamin szinte teljes mennyisége eltűnik hat hét alatt.



**47. ábra Az E-vitamin bomlási görbéje borban és narancslében C-vitamin mellett, illetve C-vitamin nélkül**

- : csak E-vitamin van jelen, narancslé ◆: C- és E-vitamin együtt van jelen, bor
- : csak E-vitamin van jelen, bor ▲: C- és E-vitamin együtt van jelen, narancslé

## **5.3 A vitaminok hatása a sör íz-stabilitására**

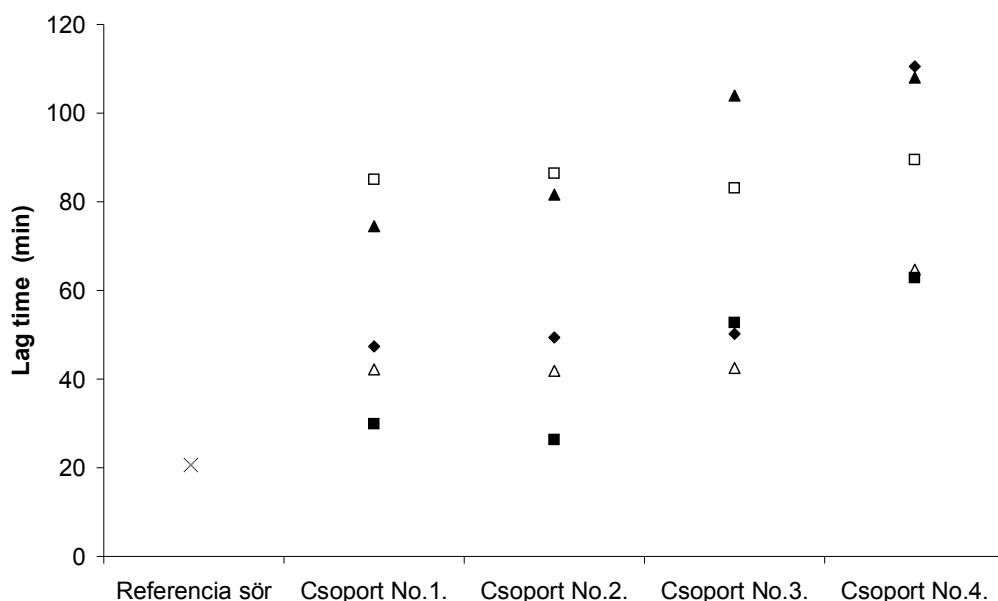
### **5.3.1 Vitamin addíció a sörléhez**

A 48. ábrán látható csoportok különböző vitamin koncentrációkat jelölnek. Az egyes csoportokba tartozó minták vitamintartalmát a mintaelőkészítésekénél feltüntetett 6. táblázat tartalmazza.

#### **5.3.1.1 C-vitaminnal dúsított sörlé**

Abban az esetben, amikor a sörléhez csak C-vitamin addíció történik, az első két tanulmányozott koncentráció (10 mg/L és 20 mg/L C-vitamin) esetében csak kismértékű javulás tapasztalható a lag time értékében. (48. ábra) Azonban amikor a C-vitamin koncentrációja 30 mg/L értékű, vagy a fölötti volt, akkor a lag time értékének a növekvése sokkal dinamikusabb, és maga a lag time paraméter közepes értéket képvisel.

Alacsonyabb pH érték (pH 3) beállítása ebben a technológiai szakaszban jelentős hatást gyakorol a lag time értékére. Amikor a vizsgált minták pH-ját erre az alacsonyabb értékre állítottam be, és csak C-vitamin addíció történik a mintákhoz, már az első vizsgált koncentráció (10 mg/L C-vitamin) esetén jelentős növekedés mérhető a lag time paraméter értékében. A magasabb hozzáadott koncentrációk esetén a lag time értéke további növekedést mutat. A 30 mg/L-es és az annál magasabb C-vitamin koncentráció esetén a lag time paraméter értéke 100 perc fölötti. (48. ábra)



**48. ábra A lag time paraméter átlagos értékei sörléhez történt különböző koncentrációjú vitamin addíció esetén, különböző pH-kat alkalmazva**

◆: Csak E-vitamin addíció ■: Csak C-vitamin addíció, eredeti pH ▲ Csak C-vitamin addíció, alacsony pH △: C- és E-vitamin együttes addíciója, eredeti pH □: C- és E-vitamin együttes addíciója, alacsony pH

### 5.3.1.2 E-vitaminnal dúsított sörlé

Abban az esetben, amikor csak E-vitaminnal való dúsítás történik, az 1-3 mg/L-es E-vitamin koncentráció tartományban lassú emelkedés mérhető a lag time értékében. A 4 mg/L-es E-vitamin koncentráció esetén egy jelentős ugrás tapasztalható: ennél a koncentráció értéknél a lag time értéke szintén 100 perc feletti érték. (48. ábra)

### 5.3.1.3 Együttes vitamin addíció

Amikor a vizsgált sörléhez mindkét vitamin addíciója történik, az egyes vitaminok egyedi hatásainak kombinációja tapasztalható, azaz a C-vitamin jelenléte lecsökkenti az E-vitamin hatását. Az első három tanulmányozott koncentráció esetén (1, 2 és 3 mg/L koncentrációjú E-vitamin és mellette 10, 20, illetve 30 mg/L C-vitamin) szinte ugyanazt a hatást lehet tapasztalni (48. ábra), mint amikor csak az E-vitamin egyedüli addíciója történt, de a lag time értéke ebben az esetben

alacsonyabb. A lag time értékében bekövetkezett hirtelen emelkedés a 4 mg/L E-vitamin és 40 mg/L C- vitamin koncentráció esetében mérhető, de ez az emelkedés is kisebb mértékű, mint ha csak az E-vitamin lenne jelen.

Abban az esetben, amikor az együttes vitamin addíciót alacsony pH értéken végezzük el, már az első vizsgált koncentráció-páros (1 mg/L E-vitamin és 10 mg/L C-vitamin) esetében hirtelen emelkedés mutatható ki a lag time értékében (48.ábra). Ettől a koncentráció értéktől kezdve, a lag time növekedési tendenciája ugyanaz, mint az eredeti pH-n történt együttes vitamin addíció esetében tapasztalható. A második és a harmadik vizsgált koncentráció ugyanazt a lag time értéket mutatja, mint az első koncentráció, majd a negyedik minta esetében (4 mg/L E-vitamin és 40 mg/L C-vitamin) a lag time értékében kismértékű emelkedés tapasztalható.

#### **5.3.1.4 A lag time értékét befolyásoló egyéb tényezők**

A kísérletek során három fő paramétert vizsgáltam, ami a lag time értékét befolyásolhatja.

A sör pH értéke fontos tényező ebből a szempontból, mert a szuperoxid anion protonálódni képes. Ebben a reakcióban perhidroxil gyök keletkezik, ami sokkal nagyobb reaktivitással rendelkezik, mint a szuperoxid anion. Ha a sör kisebb pH-jú, a perhidroxil-gyök mennyisége nagyobb lesz, mint amennyi az eredeti pH értéken lenne (Kaneda et al., 1989; Kaneda et al., 1992). Emellett a peroxid anion is protonálódhat hidrogén-peroxidot képezve, ami pedig a bomlása révén a hidroxil-gyökök mennyiségét növeli. Emiatt az alacsonyabb pH-jú söröknek kisebb lag time értékkel kellene rendelkezniük. Ennek ellenére abban az esetben, ha a C-vitamin addíció alacsonyabb pH értéken történik, a lag time értéke növekedett, azaz az aszkorbinsav antioxidáns hatása erősebbnek bizonyult a pH-csökkentés hatásánál.

A másik fontos paraméter az E-vitamin törzsoldat alkohol-tartalma. A hidroxil-gyökök nem-szelektív módon reakcióba léphetnek a sörben lévő alkohollal, mivel maga az etanol egy jó gyök-fogó vegyület. Az így létrejött hidroxil-etil-gyök az oxigénnel reakcióba lépve másodlagos gyököket tud létrehozni. Ezekből a másodlagos gyökökből az aldehidekkel való bimolekulás reakciókban perhidroxil-gyökök keletkezhetnek (Andersen és Skibsted, 1998). Mivel a perhidroxil-gyökök kisebb reaktivitással rendelkeznek, mint a kiindulási hidroxil-gyök, az E-vitamin etanol tartalma befolyásolhatja a lag time értékét. Azonban ezzel a hatással a méréseim során nem kellett számolnom, mert a minta alkoholtartalmának ezúton való növelése maximum 0.4% pont volt. Ezt támasztotta alá az a tapasztalat is, hogy a minták növekvő alkohol tartalma nem növeli meg a lag time értékét számottevő mértékben.

Az oxigén aktiválásában az átmeneti fémionok elektron-donorként vesznek részt. Az antioxidáns aktivitás azonban a reaktív oxigén részecskék és szabadgyökök megkötésén alapul.

Másik lehetőség, hogy egy esetleges kelátképzővel az aktiválásban részt vevő átmeneti fémionokat megkötve csökkenjen a létrejövő aktív oxigén részecskék száma (Lie et al., 1975). A foszforsav, amit a munkám során a minták pH-jának csökkentésére használtam, jó kelát-képző vegyület. Ennek ellenére munkám során nem tapasztaltam, hogy a lag time értékére észrevehető hatást gyakorolt volna. Minden egyes savas minta ugyanazzal a foszforsav tartalommal rendelkezett, ugyanazt a kezelést kapta a pH-csökkentés érdekében, így a köztük levő különbségek a vitamin tartalomnak köszönhetők.

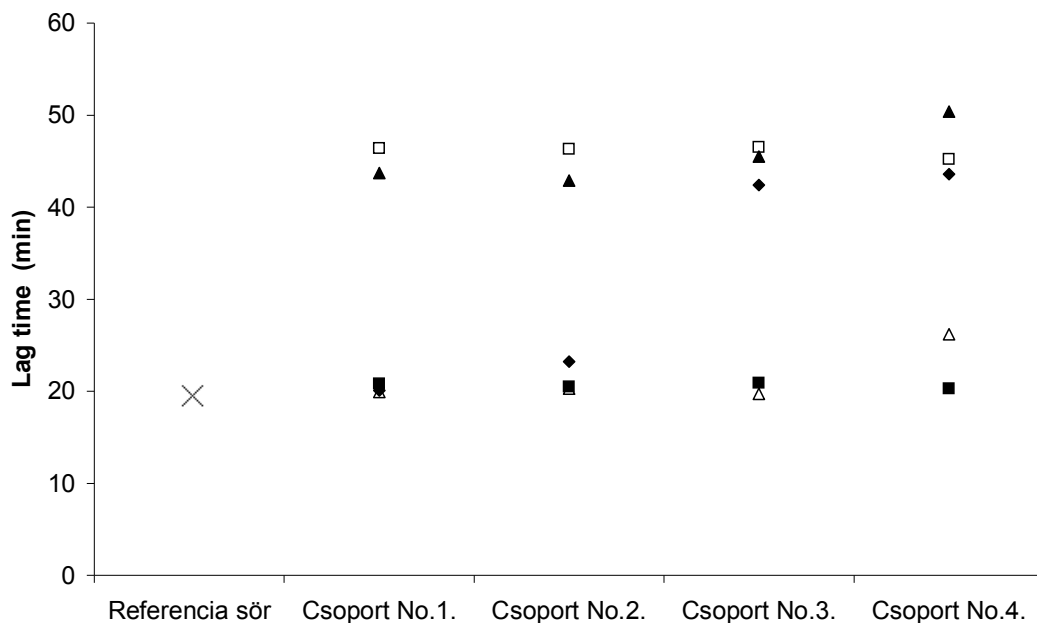
### **5.3.2 Vitamin addíció a fermentáció végén**

A 49. ábrán látható csoportok különböző vitamin koncentrációkat jelölnek. Az egyes csoportokba tartozó fermentált sör minták vitamintartalmát a mintaelőkészítéseknel feltüntetett 6. táblázat tartalmazza.

#### **5.3.2.1 C-vitaminnal dúsított fermentált sör**

A C-vitamin addíció ebben az esetben nem változtatja meg a minta lag time értékét, az aszkorbinsavas minták ugyanakkora lag time értékkel rendelkeztek, mint a referencia, vitamin-adagolás nélküli minták (49. ábra).

Ugyanakkor a pH csökkentése jelentős mértékben befolyásolta a lag time értékét az ebben a technológiai lépésben alkalmazott vitamin addíció esetén. A megsavanyított, alacsonyabb pH-jú minták esetében a C-vitamin addíció hatására már az első tanulmányozott koncentráció (10 mg/L C-vitamin) esetében jelentős emelkedés tapasztalható a lag time értékében. Ezután a hirtelen emelkedés után lassú, a C-vitamin koncentrációjától függő növekedés tapasztalható a lag time paraméter értékében. (49. ábra)



**49. ábra A lag time paraméter átlagos értékei fermentáció végi sörhöz történt különböző koncentrációjú vitamin addíció esetén, különböző pH-kat alkalmazva**

- ◆ : Csak E-vitamin addíció ■ : Csak C-vitamin addíció, eredeti pH ▲ Csak C-vitamin addíció, alacsony pH △: C- és E-vitamin együttes addíciója, eredeti pH
- : C- és E-vitamin együttes addíciója, alacsony pH

### 5.3.2.2 E-vitaminnal dúsított fermentált sör

Abban az esetben, amikor a fermentáció végén levő sör E-vitaminnal való dúsítása történt, a hozzáadott vitamin koncentrációjának függvényében a lag time paraméter értéke emelkedő tendenciát mutatott. Az 1 mg/L-es E-vitamin koncentráció esetében csak kismértékű javulás mutatható ki a vizsgált paraméterben a referencia mintához képest, azonban nagyobb koncentrációjú E-vitamin addíció esetén a lag time növekedése nagyobb mértékű. Ez a növekedési tendencia a 3mg/L-es E-vitamin koncentráció után lelassult. E koncentráció érték fölött a növekvő E-vitamin tartalom esetén csak lassú emelkedés mutatható ki a lag time paraméter értékében. (49. ábra)



### 5.3.2.3 Együttes vitamin addíció

Amikor a vizsgált fermentáció végi mintához mindkét vitamin addíciója történt, a C-vitamin jelenléte lelassítja az E-vitamin bomlási sebességét. A 4 mg/L-es hozzáadott E-vitamin koncentráció esetén (ekkor a C-vitamin koncentrációja a mintában 40 mg/L) a lag time parameter enyhe javulása tapasztalható, szemben az E-vitamin addíció esetében említett 2 mg/L-es E-vitamin koncentráció értékkel.

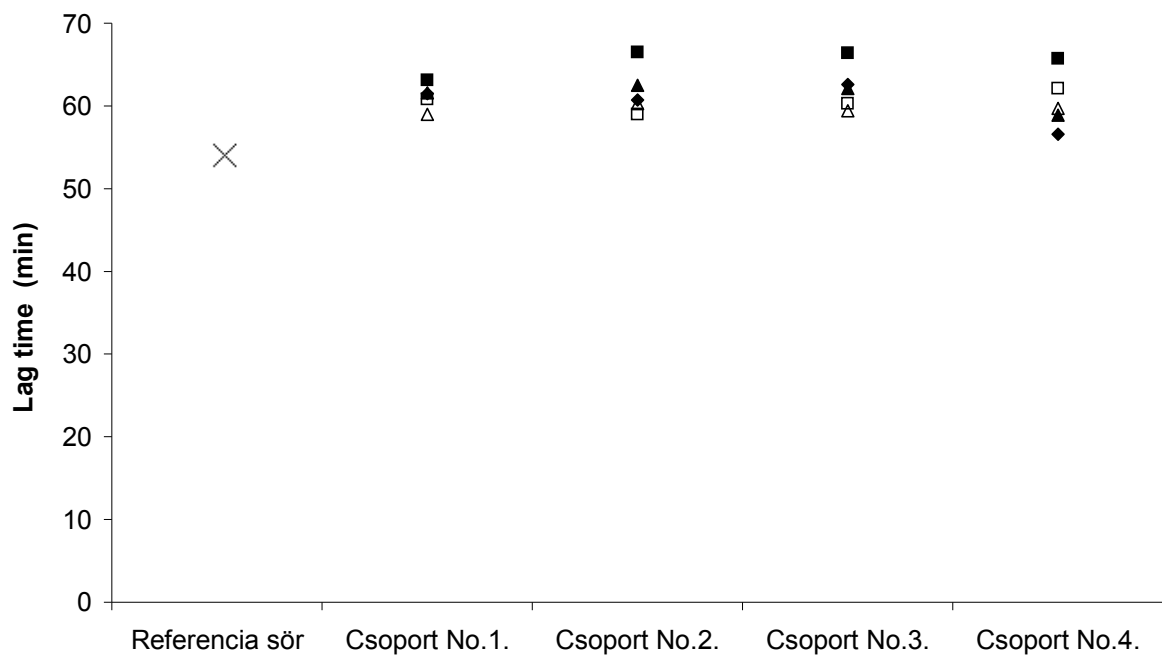
Az együttes vitamin addíciót alacsonyabb pH értéken alkalmazva, a lag time értékének szempontjából ebben az esetben is kedvező hatású a pH csökkentése. Már az első tanulmányozott vitamin koncentráció páros esetén (1 mg/L E-vitamin és 10 mg/L C-vitamin) a lag time jelentősen magasabb értékkel rendelkezett a referencia mintához képest, és értéke a vitamin koncentrációtól független. (49. ábra)

### 5.3.3 Vitamin addíció a késztermékhez

A 50.ábrán látható csoportok különböző vitamin koncentrációkat jelölnek. Az egyes csoportokba tartozó minták vitamin tartalmát a mintaelőkészítéseknel feltüntetett 6.táblázat tartalmazza.

A késztermékhez történt vitamin addíció esetében az egyes vitaminadagolások között nem mutatható ki jelentős különbség (50.ábra): a lag time növekedése 10% körüli érték függetlenül a vitaminok koncentrációjától. Egyedül a C-vitaminnal való dúsítás esetén mutatható ki 20%-os javulás a lag time paraméter értékében. Ugyanakkor az alacsonyabb pH érték beállítása esetén ez a hatás nem tapasztalható, azaz ebben az esetben a sav adagolása nem javítja a C-vitamin antioxidáns hatását.

Az E- és C-vitamin közti, előző bekezdésekben említett additív hatás szintén nem mutatható ki ebben az esetben. A lag time értéke szinte ugyanakkora együttes vitamin addíció esetén, mint amikor csak E-vitamin adagolás történik. (50.ábra)



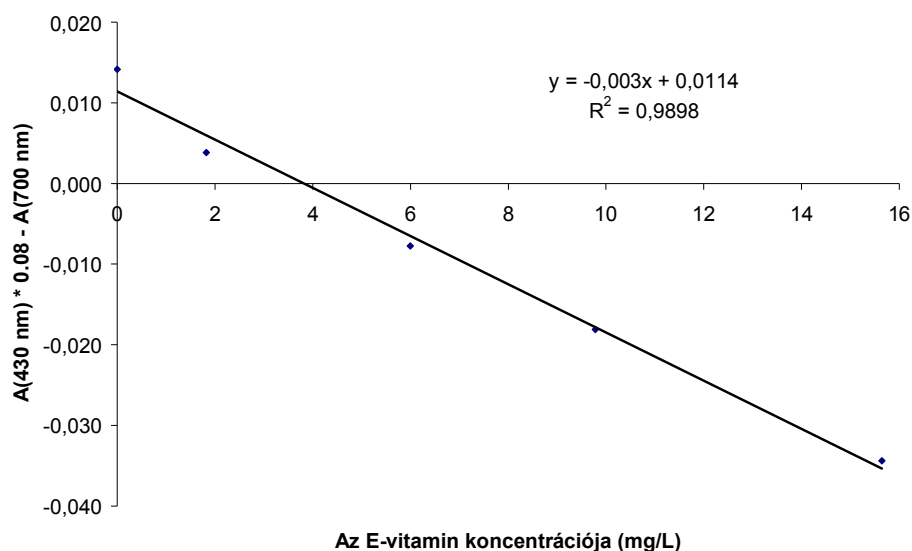
**50. ábra A lag time paraméter átlagos értékei késztermék mintához történt különböző koncentrációjú vitamin addíció esetén, különböző pH-kat alkalmazva**

- ◆ : Csak E-vitamin addíció ■ : Csak C-vitamin addíció, eredeti pH ▲ Csak C-vitamin addíció, alacsony pH △: C- és E-vitamin együttes addíciója, eredeti pH □: C- és E-vitamin együttes addíciója, alacsony pH

## 5.4 A vitaminok hatása a sör érzékszervi tulajdonságaira

### 5.4.1 A sör tükrösségének műszeres vizsgálata

A sör tükrösségét öt különböző E-vitamin koncentráció esetében tanulmányoztam. Az áttetsző, tükrös sör minőségi feltételét alkalmazva, mely szerint a 700 nm-en mért abszorbanciának kisebbnek kell lennie, mint a 430 nm-en mért abszorbancia 0.08-szorosa, az E-vitamin koncentrációra egy határérték állapítható meg. (51. ábra) Ez alapján az E-vitamin sörhöz adagolható maximális koncentrációja 3.8 mg/L abban az esetben, ha tükrös sör előállítása a cél.



**51. ábra A tükrös sör maximális E-vitamin koncentrációjának meghatározása spektrofotometriásan**

#### 5.4.2 Habstabilitás-mérés

A habstabilitási mérési eredmények a 15. táblázatban láthatóak. Az oszlopokon belül a különböző felső indexű számmal, illetve a sorokon belül a különböző felső indexű betűvel rendelkező minták vizsgálati eredményei szignifikánsan különböznek egymástól. Az eredmények alapján elmondható, hogy a vitamin addíció nem változtatja meg jelentősen a kiindulási referencia sörminta habstabilitási értékét, ugyanakkor az alacsonyabb pH-jú sörminták jelentősen rosszabb habstabilitással rendelkeznek. Az alacsonyabb habstabilitási érték oka lehet a lipid-kötő fehérjék pH érzékenysége (Cooper et al., 2002). Mindemellett az iso- $\alpha$ -savak is disszociálatlan formában vannak ezen az alacsonyabb pH értéken. Ezek a komponensek fontos szerepet játszanak a sör habjának stabilizálásában a maláta eredetű hidrofób polipeptidekkel való összekapcsolódásával (Bamforth, 1985). A különböző alkoholtartalom esetén azonban különbség mutatható ki már a kiindulási söröknél is. A 3.0% alkoholtartalmú sör (Matrix 1.) habstabilitása a legrosszabb. Magasabb alkoholtartalmak esetén viszont már nincs kimutatható különbség a kiindulási minták habstabilitásai között.

15. táblázat A referencia, és a vitaminnal dúsított sör-minták átlagos habstabilitási értékei

A minta sorszám	Habstabilitás (sec)						
	Matrix 1.	Matrix 2.	Matrix 3.	Matrix 4.	Matrix 5.	Matrix 6.	Matrix 7.
1.	142 <sup>1,A</sup>	188 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	195 <sup>1,B</sup>	191 <sup>1,B</sup>	189 <sup>1,B</sup>	195 <sup>1,B</sup>
2.	139 <sup>1,A</sup>	184 <sup>1,B</sup>	182 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>	193 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>
3.	145 <sup>1,A</sup>	191 <sup>1,B</sup>	185 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>
4.	143 <sup>1,A</sup>	187 <sup>1,B</sup>	193 <sup>1,B</sup>	188 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>
5.	147 <sup>1,A</sup>	183 <sup>1,B</sup>	185 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	189 <sup>1,B</sup>
6.	138 <sup>1,A</sup>	185 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>	191 <sup>1,B</sup>	188 <sup>1,B</sup>	186 <sup>1,B</sup>
7.	139 <sup>1,A</sup>	192 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	196 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	189 <sup>1,B</sup>	193 <sup>1,B</sup>
8.	144 <sup>1,A</sup>	186 <sup>1,B</sup>	195 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	186 <sup>1,B</sup>	195 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>
9.	112 <sup>2,A</sup>	158 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	165 <sup>2,B</sup>	161 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	165 <sup>2,B</sup>
10.	110 <sup>2,A</sup>	155 <sup>2,B</sup>	152 <sup>2,B</sup>	155 <sup>2,B</sup>	158 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>
11.	118 <sup>2,A</sup>	154 <sup>2,B</sup>	161 <sup>2,B</sup>	161 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>	161 <sup>2,B</sup>
12.	116 <sup>2,A</sup>	162 <sup>2,B</sup>	154 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>	156 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>
13.	143 <sup>1,A</sup>	185 <sup>1,B</sup>	185 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	188 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>
14.	138 <sup>1,A</sup>	188 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	189 <sup>1,B</sup>	186 <sup>1,B</sup>
15.	137 <sup>1,A</sup>	192 <sup>1,B</sup>	189 <sup>1,B</sup>	193 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>	193 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>
16.	142 <sup>1,A</sup>	187 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	196 <sup>1,B</sup>
17.	114 <sup>2,A</sup>	155 <sup>2,B</sup>	154 <sup>2,B</sup>	162 <sup>2,B</sup>	156 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	161 <sup>2,B</sup>
18.	111 <sup>2,A</sup>	157 <sup>2,B</sup>	158 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>
19.	118 <sup>2,A</sup>	160 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	156 <sup>2,B</sup>	161 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>
20.	117 <sup>2,A</sup>	161 <sup>2,B</sup>	156 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>
21.	145 <sup>1,A</sup>	186 <sup>1,B</sup>	184 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	186 <sup>1,B</sup>
22.	139 <sup>1,A</sup>	187 <sup>1,B</sup>	189 <sup>1,B</sup>	195 <sup>1,B</sup>	188 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>
23.	140 <sup>1,A</sup>	185 <sup>1,B</sup>	194 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	192 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>
24.	143 <sup>1,A</sup>	192 <sup>1,B</sup>	187 <sup>1,B</sup>	195 <sup>1,B</sup>	190 <sup>1,B</sup>	191 <sup>1,B</sup>	189 <sup>1,B</sup>
25.	117 <sup>2,A</sup>	160 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>	158 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	158 <sup>2,B</sup>
26.	113 <sup>2,A</sup>	157 <sup>2,B</sup>	155 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	156 <sup>2,B</sup>	158 <sup>2,B</sup>	162 <sup>2,B</sup>
27.	116 <sup>2,A</sup>	158 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>	156 <sup>2,B</sup>	159 <sup>2,B</sup>	158 <sup>2,B</sup>	157 <sup>2,B</sup>
28.	115 <sup>2,A</sup>	162 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>	158 <sup>2,B</sup>	162 <sup>2,B</sup>	160 <sup>2,B</sup>	161 <sup>2,B</sup>

<sup>1-2</sup>: Az oszlopon belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-B</sup>: A soron belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

### 5.4.3 Érzékszervi vizsgálat

A foszforsavval savanyított minták az első kóstolási csoport esetén olyan alacsony íz megfelelőségi pontot kaptak a savanyú ízük miatt, hogy ezeknek a mintáknak a vizsgálatát a második és a harmadik csoportból kihagytam.

#### 5.4.3.1 A vizsgáló panel jellemzése

A kóstolási folyamatban összesen 315 önkéntes kóstoló vett részt három csoportba bontva. A résztvevők elsősorban (87%) férfiak voltak. Életkor tekintetében a többség (68%) a 45-50 év közötti korosztályból került ki. A kóstolók 95%-a szereti, és iszik is sört. A résztvevők 76%-a hetente egyszer iszik sört, 23%-uk a havi 1-3 alkalmat jelölt meg, a legkevesebben (1%) pedig évente csupán 1-6 alkalommal fogyaszt sört. A sörfogyasztási kérdéssel kapcsolatban senki sem választotta a “soha nem iszom” választ.

#### 5.4.3.2 A tükrösségi pontszám változása

A 16.táblázatban az oszlopokon belül a különböző felső indexű számmal, illetve a sorokon belül a különböző felső indexű betűvel rendelkező minták vizsgálati eredményei szignifikánsan különböznek egymástól.

Az eredeti, kiindulási minták tükrösségi pontja 4.6 és 8.6 között változott a 9 pontos pontozási listán. Amikor a minta alkohol tartalma alacsony (Matrix1. és 2.), a tükrösségi pontszám a medián értéke (4.5) körül ingadozik. Abban az esetben, ha az alkohol tartalom magasabb, a minták ezen pontszáma a maximális érték körül van (16.táblázat). Az eredmények alapján az 1. és a 2. vizsgált sörmátrix esetében közepes pontszám tapasztalható.

Ahogy az a 16. táblázatban látható, amikor a kiindulási sör tükrösségi pontszáma a medián körüli érték (Matrix1. és 2), a vitamin addíció nem változtatja meg jelentősen a sörnek ezt a tulajdonságát. A vitaminnal dúsított minták áttetszőségi pontszáma ugyanaz, mint a kiindulási sörmintáé. Az első kóstolási csoportban a foszforsavas minták ugyanazt a tükrösségi pontszámot kapták, mint az azonos vitamin-tartalommal rendelkező eredeti pH-jú minták. Ez alapján elmondható, hogy a foszforsav jelenléte nem befolyásolja a sör tükrösségét.

Ha a kiindulási sörminta tükrösségi pontszáma a harmadik kvartilis (a minta háromnegyedét választja el a maradék egynegyedétől) fölött van (Matrix 3-7.), a 3 és az 5 mg/L E-vitamin koncentrációjú minták (3-4., 7-8., 15-16., 23-24. minta) homályosabbak a kiindulási mintánál. Ez

alól az egyetlen kivétel a barna sör (Matrix 7.) minta, ugyanis ebben az esetben nem mutatható ki szemmel látható különbség az egyes minták tükrössége között. Ez a jelenség két tényvel magyarázható. Mivel az E-vitamin zsírolékony vitamin, az oldékonysága a minta növekvő alkoholtartalmával növekszik. Ha ez a hatás jelentős lenne, akkor a 6. sörminta (Matrix 6.) esetében sem lenne kimutatható különbség a vitaminnal dúsított és az eredeti minta között, mivel ez a sör is magas alkoholtartalmú. Ennek ellenére ezek a minták különböző tükrösségi pontszámokat kaptak, különösen a magas E-vitamin tartalmú minták kaptak alacsonyabb pontszámot a referencia sörhöz képest. A másik fontos paraméter, hogy a barna sör esetében feltehetően a sötét szín miatt szemmel nehezebben érzékelhető a minta homályosodása, mint világos közeg esetén.

Ezzel szemben az aszkorbinsav addíciója nem változtatja meg a sör tükrösségét, ugyanis a C-vitaminnal dúsított minták a vitaminkoncentrációtól függetlenül ugyanazzal a pontszámmal rendelkeztek, mint a referencia kiindulási minta. (16. táblázat)

A kóstolás során kapott vitamin határérték-koncentráció a tükrösség tekintetében megegyezik az oldhatóság és a spektrofotometriás mérés alapján számított értékkel, azaz a C-vitamin nem befolyásolja a sörnek ezt a tulajdonságát, az E-vitamin pedig 3 mg/L-es koncentráció érték felett szemmel is látható zavarosodást okoz. Azonban ha a kiindulási sörminta külalakja nem tökéletes, azaz nem teljesen tükrös a kiindulási sör, a vitamin addíció nem okoz észrevehető változást a minta tükrösségében. Ha viszont a kiindulási minta teljesen áttetsző, a tükrössége leromlik az E-vitamin addíció hatására, ha az az előzőekben említett koncentráció érték feletti.

16. táblázat A referencia, és a vitaminnal dúsított sör-minták átlagos tükrösségi pontszámai  
9-es skálán

A minta sorszáma	A minta adatai			Tükrösségi pontok						
	C-vit. mg/L	E-vit. mg/L	pH	Matrix 1.	Matrix 2.	Matrix 3.	Matrix 4.	Matrix 5.	Matrix 6.	Matrix 7.
1.	0	0	>4	5.6 <sup>1,A</sup>	4.6 <sup>1,A</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,A</sup>	6.6 <sup>1,A</sup>	8.4 <sup>1,B</sup>
2.	0	1	>4	4.6 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>1,A</sup>	5.0 <sup>2,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,B</sup>	5.6 <sup>1,A</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>
3.	0	3	>4	4.6 <sup>1,A</sup>	4.0 <sup>1,A</sup>	8.2 <sup>1,B</sup>	4.6 <sup>2,A</sup>	8.8 <sup>1,B</sup>	5.6 <sup>1,A</sup>	8.4 <sup>1,B</sup>
4.	0	5	>4	4.6 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>1,B</sup>	3.6 <sup>2,B</sup>	4.2 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	6.0 <sup>1,C</sup>	8.4 <sup>1,D</sup>
5.	10	0	>4	3.6 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>1,A</sup>	7.8 <sup>3,B</sup>	8.4 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>1,C</sup>	5.2 <sup>1,D</sup>	8.4 <sup>1,B</sup>
6.	10	1	>4	4.0 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>1,A</sup>	6.8 <sup>1,B</sup>	8.2 <sup>1,B</sup>	7.8 <sup>1,B</sup>	5.8 <sup>1,B</sup>	8.4 <sup>1,B</sup>
7.	10	3	>4	5.0 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>1,A</sup>	4.0 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	6.8 <sup>1,A</sup>	5.4 <sup>1,A</sup>	8.8 <sup>1,B</sup>
8.	10	5	>4	4.2 <sup>1,A</sup>	3.8 <sup>1,A</sup>	2.8 <sup>4,B</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	5.6 <sup>2,C</sup>	5.6 <sup>1,C</sup>	8.4 <sup>1,D</sup>
9.	10	0	~3	4.8 <sup>1,A</sup>	3.8 <sup>1,A</sup>					
10.	10	1	~3	5.0 <sup>1,A</sup>	3.2 <sup>1,B</sup>					
11.	10	3	~3	4.4 <sup>1,A</sup>	3.8 <sup>1,A</sup>					
12.	10	5	~3	3.8 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>1,A</sup>					
13.	30	0	>4	4.2 <sup>1,A</sup>	3.0 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,C</sup>	8.6 <sup>1,C</sup>	8.8 <sup>1,C</sup>	4.4 <sup>2,A</sup>	7.8 <sup>1,C</sup>
14.	30	1	>4	4.0 <sup>1,A</sup>	6.8 <sup>2,B</sup>	4.6 <sup>2,A</sup>	8.6 <sup>1,C</sup>	8.8 <sup>1,C</sup>	4.6 <sup>2,A</sup>	8.8 <sup>1,C</sup>
15.	30	3	>4	5.0 <sup>1,A</sup>	3.8 <sup>1,B</sup>	3.4 <sup>2,B</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	7.8 <sup>1,C</sup>	4.4 <sup>2,A</sup>	8.4 <sup>1,C</sup>
16.	30	5	>4	3.8 <sup>1,A</sup>	4.0 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	5.6 <sup>2,B</sup>	4.6 <sup>2,A</sup>	8.8 <sup>1,A</sup>
17.	30	0	~3	3.6 <sup>1,A</sup>	7.0 <sup>2,B</sup>					
18.	30	1	~3	4.6 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>1,A</sup>					
19.	30	3	~3	2.8 <sup>2,A</sup>	4.2 <sup>1,B</sup>					
20.	30	5	~3	4.8 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>1,A</sup>					
21.	50	0	>4	7.6 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,A</sup>	8.2 <sup>1,A</sup>	8.8 <sup>1,A</sup>	4.0 <sup>2,B</sup>	8.4 <sup>1,A</sup>
22.	50	1	>4	4.0 <sup>1,A</sup>	4.0 <sup>1,A</sup>	8.0 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>	8.8 <sup>1,B</sup>	4.0 <sup>2,A</sup>	8.8 <sup>1,B</sup>
23.	50	3	>4	4.2 <sup>1,A</sup>	3.8 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>2,A</sup>	4.8 <sup>2,A</sup>	5.4 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,C</sup>
24.	50	5	>4	3.6 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>1,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	6.0 <sup>3,B</sup>	6.8 <sup>1,B</sup>	5.2 <sup>1,B</sup>	8.8 <sup>1,C</sup>
25.	50	0	~3	5.0 <sup>1,A</sup>	3.8 <sup>1,A</sup>					
26.	50	1	~3	4.6 <sup>1,A</sup>	3.2 <sup>1,A</sup>					
27.	50	3	~3	4.8 <sup>1,A</sup>	4.0 <sup>1,A</sup>					
28.	50	5	~3	4.0 <sup>1,A</sup>	4.4 <sup>1,A</sup>					

<sup>1-4</sup>: Az oszlopon belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup>: A soron belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

### 5.4.3.3 A hab pontszámának változása

A 17. táblázatban az oszlopokon belül a különböző felső indexű számmal, illetve a sorokon belül a különböző felső indexű betűvel rendelkező minták vizsgálati eredményei szignifikánsan különböznek egymástól.

A kiindulási referencia minták hab-pontszámai 3.8 és 8.6 közötti értékek voltak. A 3.8-as érték körüli alacsony pontszámokat az alacsony alkoholtartalmú minták kapták (Matrix 1. és 2.). Ahogyan az a 17. táblázatban látható, nem mutatható ki szabályosság a hab-pontszám értékek és az addicionált vitamin koncentráció között. A minták között találhatóak a referencia minta pontszámától eltérő hab-pontszámú minták, de előfordulásuk független mind a vitamin koncentrációtól, mind pedig a minta alkoholtartalmától. Egyedül a barna sör esetében (Matrix 7.) mutatható ki, hogy az összes minta ugyanolyan pontszámmal rendelkezik.

A kóstolás megkezdése előtt a kóstolókat tájékoztattam a vizsgálat sorrendjéről, hogy feltétlenül az összes minta hab és a tükrösség pontszámának megállapításával kell kezdeni a sörminták bírálatát. Azonban elképzelhető, hogy a vizsgálat során erről elfelejtkeztek. A hab-pontszámok esetében a szabályosság hiánya valószínűleg azzal magyarázható, hogy azok a minták, amelyeknek ezt a tulajdonságát később határozták meg, kisebb habbal rendelkeztek. Mivel a 3.csoportban szereplő barna sör különlegesnek számít, és különbözött a többi sörmintától, a kóstolók ennek a sör-típusnak az értékelésével kezdték a bírálatot.



17. táblázat A referencia, és a vitaminnal dúsított sör-minták átlagos hab-pontszám értékei

9-es skálán

A minta sorszáma	A minta adatai			Hab pontszámok						
	C-vit. mg/L	E-vit. mg/L	pH	Matrix 1.	Matrix 2.	Matrix 3.	Matrix 4.	Matrix 5.	Matrix 6.	Matrix 7.
1.	0	0	>4	3.8 <sup>1,A</sup>	4.8 <sup>1,A</sup>	8.2 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>	7.8 <sup>1,B</sup>	5.6 <sup>1,C</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>
2.	0	1	>4	6.0 <sup>2,A</sup>	2.8 <sup>2,B</sup>	6.4 <sup>2,A</sup>	3.2 <sup>2,B</sup>	5.0 <sup>1,A</sup>	3.8 <sup>2,C</sup>	8.4 <sup>1,D</sup>
3.	0	3	>4	6.2 <sup>2,A</sup>	2.8 <sup>2,B</sup>	7.0 <sup>2,A</sup>	3.4 <sup>2,B</sup>	6.6 <sup>1,A</sup>	4.4 <sup>1,C</sup>	8.4 <sup>1,D</sup>
4.	0	5	>4	3.4 <sup>1,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	5.4 <sup>2,B</sup>	3.2 <sup>2,A</sup>	5.6 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>2,A</sup>	7.6 <sup>1,C</sup>
5.	10	0	>4	2.8 <sup>1,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	4.6 <sup>3,B</sup>	3.4 <sup>2,A</sup>	8.0 <sup>1,C</sup>	4.0 <sup>2,B</sup>	8.4 <sup>1,C</sup>
6.	10	1	>4	3.4 <sup>1,A</sup>	2.6 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>3,B</sup>	5.0 <sup>3,A</sup>	6.8 <sup>1,C</sup>	3.8 <sup>2,A</sup>	8.0 <sup>1,C</sup>
7.	10	3	>4	6.0 <sup>2,A</sup>	3.2 <sup>1,B</sup>	3.6 <sup>4,B</sup>	3.4 <sup>2,B</sup>	5.0 <sup>1,A</sup>	4.2 <sup>1,B</sup>	8.2 <sup>1,C</sup>
8.	10	5	>4	2.8 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>4,A</sup>	4.0 <sup>2,A</sup>	7.0 <sup>1,B</sup>	3.4 <sup>2,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>
9.	10	0	~3	3.0 <sup>1,A</sup>	5.2 <sup>1,B</sup>					
10.	10	1	~3	3.2 <sup>1,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>					
11.	10	3	~3	1.8 <sup>3,A</sup>	3.4 <sup>2,B</sup>					
12.	10	5	~3	2.8 <sup>1,A</sup>	2.6 <sup>2,A</sup>					
13.	30	0	>4	3.6 <sup>1,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	5.6 <sup>5,B</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	7.6 <sup>1,C</sup>	3.6 <sup>2,A</sup>	8.4 <sup>1,C</sup>
14.	30	1	>4	3.0 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>1,A</sup>	3.2 <sup>4,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	7.0 <sup>1,B</sup>	3.2 <sup>2,A</sup>	8.4 <sup>1,B</sup>
15.	30	3	>4	2.0 <sup>3,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	3.4 <sup>4,B</sup>	3.2 <sup>2,B</sup>	7.2 <sup>1,C</sup>	3.4 <sup>2,B</sup>	7.0 <sup>1,C</sup>
16.	30	5	>4	2.4 <sup>1,A</sup>	2.4 <sup>2,A</sup>	2.8 <sup>6,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	7.0 <sup>1,B</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>
17.	30	0	~3	2.6 <sup>1,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>					
18.	30	1	~3	3.6 <sup>1,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>					
19.	30	3	~3	2.4 <sup>1,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>					
20.	30	5	~3	2.8 <sup>1,A</sup>	2.4 <sup>2,A</sup>					
21.	50	0	>4	6.6 <sup>2,A</sup>	3.0 <sup>2,B</sup>	5.8 <sup>2,C</sup>	5.8 <sup>3,A</sup>	6.4 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>2,A</sup>	8.0 <sup>1,D</sup>
22.	50	1	>4	2.6 <sup>1,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	5.4 <sup>2,B</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	7.0 <sup>1,B</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	8.4 <sup>1,C</sup>
23.	50	3	>4	1.8 <sup>1,A</sup>	2.2 <sup>2,A</sup>	3.6 <sup>4,B</sup>	3.0 <sup>2,B</sup>	5.4 <sup>1,B</sup>	3.4 <sup>2,B</sup>	7.6 <sup>1,C</sup>
24.	50	5	>4	3.6 <sup>1,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	3.0 <sup>4,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	6.4 <sup>1,B</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	8.4 <sup>1,B</sup>
25.	50	0	~3	2.2 <sup>3,A</sup>	3.4 <sup>1,A</sup>					
26.	50	1	~3	2.8 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>1,A</sup>					
27.	50	3	~3	2.4 <sup>1,A</sup>	2.0 <sup>2,A</sup>					
28.	50	5	~3	2.0 <sup>3,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>					

<sup>1-6</sup>: Az oszlopon belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup>: A soron belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

#### 5.4.3.4 Az íz-pontszámának változása

A 18. táblázatban az oszlopokon belül a különböző felső indexű számmal, illetve a sorokon belül a különböző felső indexű betűvel rendelkező minták vizsgálati eredményei szignifikánsan különböznek egymástól.

A kiindulás, referencia minták átlagos íz-pontszáma a 9 pontos skálán 5.4 és 8.8 között ingadozott, azaz a pontszámok a medián fölött voltak. (18. táblázat) Az 1-es és a 3-as sör esetében közepes íz-pontszámot jelöltek be a kóstolók. E két sörtípusnál kedvezőbb volt a 6-os és a 7-es sör pontszáma, melyek a harmadik kvartilis körül voltak. A többi kiindulási minta íz-pontszáma megközelítette a maximális értéket.

A foszforsavval savanyított minták esetén az íz-pontszám 1.4 és 2.2 közötti érték volt, ami alacsony megfelelést jelez. Ezt az eredményt a minták erősen savas íze okozza, emiatt a második és a harmadik kóstolási csoportban ezek a savas minták már nem szerepeltek.

Abban az esetben, amikor csak E-vitamin addíció történik a mintákhoz, az egyes sörfajták íz-pontszámai között különbségek figyelhetők meg. A minták 71.4%-a esetében az E-vitamin addíciója vagy nem változtatta meg, vagy javította az íz-pontszámot. (18. táblázat) Ez a hatás leginkább a magas alkoholtartalmú (Matrix 4-7.) minták esetében figyelhető meg, és független az E-vitamin koncentrációjától. Az alacsonyabb alkoholtartalmú minták (Matrix 1-3.) esetében a magas E-vitamin koncentráció (4.minta) viszont íz-romlást okoz. Ennek az oka valószínűleg az alacsony alkoholtartalmú sörök lágyabb íze, mely esetén az ízben bekövetkezett változást könnyebb észlelni, mint egy testesebb íz esetében.

C-vitamin addíciója esetén az íz-pontszámok vagy javultak, vagy változatlan értéken maradtak a minták 52.4%-a esetében. (18. táblázat) Ha a kiindulási minta íz-pontszáma a medián értéke körül van (ez az 1-es és a 3-as sörmátrix esetében volt tapasztalható), akkor a C-vitamin addíció nem változtatja meg, vagy javítja a pontszámot. Ha azonban a kiindulási minta pontszáma a maximális értéket megközelíti, a C-vitamin addíció hatására kis mértékben csökken az értéke. Ez a hatás a magas C-vitamin koncentrációk esetében (24.minta) a legszembetűnőbb. A 6-os sörmátrix esetében a kiindulási minta pontszáma a harmadik kvartilis körül volt. A C-vitamin addíció pontszám-csökkentő hatása ebben az esetben is észlelhető, de kisebb mértékű, mint a maximális kiindulási pontszámú minták esetében.

Együttes vitamin addíció esetében az 1, és a 3 mg/L-es E-vitamin koncentráció nem változtatja meg az íz-pontszámot, ha 10, illetve 30 mg/L C-vitamin koncentráció mellett kerül alkalmazásra. (6-7., és 14-15. minta) (18. táblázat) Azonban 5 mg/L E-vitamin koncentráció mellett az íz-pontszám csökken, hiába történik egyidejűleg C-vitamin addíció is, de ez a hatás csak alacsony alkoholtartalom esetében észlelhető. Ha az E-vitamin koncentráció állandó, és a kiindulási

minta pontszáma a medián körül van, akkor az emelkedő C-vitamin koncentráció rontja az értékét. Ha azonban a kiindulási pontszám a harmadik kvartilis körüli érték (Matrix 6. és 7.), csak az 50 mg/L-es C-vitamin koncentráció csökkenti le a pontszámot. Amennyiben maximális kiindulási pontszámú mintáról van szó, a C-vitamin addíciója nem változtatja meg az íz-pontszám értékét.

Az íz véleményezésére adott pontszám tekintetében a barna sör igen különböző mintamátrix a többi mintához képest. A kiindulási pontszáma a harmadik kvartilis körül volt, de az összes vitaminnal dúsított minta a kiindulási mintánál magasabb pontszámot kapott. (18. táblázat) Ez azt jelzi, hogy a kóstolók jelentős része nem kedveli a barna sör édeskés ízét, de a vitamin addíció hatására az íz kedvező irányba változik. Mivel e vizsgálat során nem sörgyári érzékszervi minősítés történt, hanem a fogyasztók általi vizsgálat, jelentőséggel bír az a tény, hogy azok a fogyasztók, akik eddig esetleg a barna sört amiatt nem fogyasztották szívesen, mert nem kedvelték az eredeti ízét, a vitaminaddíció hatására megváltoztatták véleményüket.

**18. táblázat A referencia, és a vitaminnal dúsított sör-minták átlagos  
íz-pontszám értékei 9-es skálán**

A minta sorszáma	A minta adatai			Az íz jellemzésére adott pontszámok						
	C-vit. mg/L	E-vit. mg/L	pH	Matrix 1.	Matrix 2.	Matrix 3.	Matrix 4.	Matrix 5.	Matrix 6.	Matrix 7.
1.	0	0	>4	5.4 <sup>1,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>	5.6 <sup>1,A</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>	8.8 <sup>1,B</sup>	6.6 <sup>1,C</sup>	6.2 <sup>1,C</sup>
2.	0	1	>4	5.0 <sup>1,A</sup>	5.6 <sup>2,A</sup>	6.4 <sup>1,A</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,B</sup>	6.4 <sup>1,C</sup>	8.8 <sup>2,B</sup>
3.	0	3	>4	6.0 <sup>1,A</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	7.0 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	8.2 <sup>1,B</sup>	6.4 <sup>1,A</sup>	8.2 <sup>2,B</sup>
4.	0	5	>4	3.2 <sup>1,A</sup>	3.0 <sup>3,A</sup>	5.6 <sup>1,B</sup>	6.8 <sup>3,B</sup>	8.2 <sup>1,C</sup>	5.0 <sup>2,B</sup>	8.0 <sup>1,C</sup>
5.	10	0	>4	6.0 <sup>1,A</sup>	7.2 <sup>1,B</sup>	8.2 <sup>4,C</sup>	7.8 <sup>2,C</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>	6.0 <sup>1,A</sup>	8.2 <sup>2,C</sup>
6.	10	1	>4	2.8 <sup>2,A</sup>	7.0 <sup>1,B</sup>	8.2 <sup>4,B</sup>	7.0 <sup>3,B</sup>	7.4 <sup>2,B</sup>	6.2 <sup>1,C</sup>	8.9 <sup>2,D</sup>
7.	10	3	>4	6.6 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>3,B</sup>	8.2 <sup>4,C</sup>	5.8 <sup>2,A</sup>	7.0 <sup>2,A</sup>	6.0 <sup>1,A</sup>	8.6 <sup>2,C</sup>
8.	10	5	>4	3.6 <sup>1,A</sup>	3.4 <sup>3,A</sup>	4.8 <sup>1,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>	7.0 <sup>2,B</sup>	4.4 <sup>2,C</sup>	8.4 <sup>2,B</sup>
9.	10	0	~3	2.0 <sup>2,A</sup>	2.2 <sup>3,A</sup>					
10.	10	1	~3	1.8 <sup>2,A</sup>	2.0 <sup>3,A</sup>					
11.	10	3	~3	1.6 <sup>3,A</sup>	2.2 <sup>3,A</sup>					
12.	10	5	~3	1.8 <sup>2,A</sup>	2.2 <sup>3,A</sup>					
13.	30	0	>4	7.0 <sup>1,A</sup>	7.0 <sup>1,A</sup>	6.0 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,A</sup>	7.4 <sup>2,A</sup>	6.4 <sup>1,A</sup>	8.8 <sup>2,C</sup>
14.	30	1	>4	3.0 <sup>2,A</sup>	5.4 <sup>2,B</sup>	7.8 <sup>2,C</sup>	6.6 <sup>3,D</sup>	8.0 <sup>1,C</sup>	6.4 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>2,C</sup>
15.	30	3	>4	2.8 <sup>2,A</sup>	3.4 <sup>3,A</sup>	5.4 <sup>1,B</sup>	4.8 <sup>2,B</sup>	7.2 <sup>2,C</sup>	6.2 <sup>1,B</sup>	8.2 <sup>2,C</sup>
16.	30	5	>4	3.6 <sup>1,A</sup>	5.2 <sup>2,B</sup>	3.4 <sup>5,A</sup>	5.2 <sup>2,B</sup>	7.8 <sup>2,C</sup>	6.2 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>2,D</sup>
17.	30	0	~3	1.4 <sup>3,A</sup>	2.0 <sup>3,A</sup>					
18.	30	1	~3	1.8 <sup>2,A</sup>	1.8 <sup>4,A</sup>					
19.	30	3	~3	1.4 <sup>3,A</sup>	1.8 <sup>4,A</sup>					
20.	30	5	~3	1.8 <sup>2,A</sup>	1.8 <sup>4,A</sup>					
21.	50	0	>4	6.2 <sup>1,A</sup>	6.2 <sup>2,A</sup>	7.8 <sup>2,B</sup>	7.0 <sup>3,A</sup>	7.4 <sup>2,A</sup>	4.6 <sup>2,C</sup>	8.4 <sup>2,B</sup>
22.	50	1	>4	3.0 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>2,B</sup>	5.0 <sup>1,B</sup>	8.4 <sup>1,C</sup>	7.4 <sup>2,C</sup>	4.4 <sup>2,B</sup>	8.0 <sup>2,C</sup>
23.	50	3	>4	2.8 <sup>2,A</sup>	5.0 <sup>2,B</sup>	6.4 <sup>1,B</sup>	5.8 <sup>2,B</sup>	7.0 <sup>2,C</sup>	4.6 <sup>2,B</sup>	7.8 <sup>1,C</sup>
24.	50	5	>4	3.2 <sup>1,A</sup>	5.2 <sup>2,B</sup>	3.4 <sup>5,A</sup>	4.2 <sup>2,A</sup>	6.6 <sup>2,B</sup>	4.6 <sup>2,B</sup>	8.8 <sup>2,C</sup>
25.	50	0	~3	1.8 <sup>2,A</sup>	1.6 <sup>4,A</sup>					
26.	50	1	~3	2.0 <sup>2,A</sup>	1.8 <sup>4,A</sup>					
27.	50	3	~3	1.6 <sup>3,A</sup>	1.8 <sup>4,A</sup>					
28.	50	5	~3	1.4 <sup>3,A</sup>	1.6 <sup>4,A</sup>					

<sup>1-5</sup>: Az oszlopon belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup>: A soron belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

### 5.4.3.5 Az összbenyomás pontszámának változása

A 19. táblázatban az oszlopokon belül a különböző felső indexű számmal, illetve a sorokon belül a különböző felső indexű betűvel rendelkező minták vizsgálati eredményei szignifikánsan különböznek egymástól.

A kiindulási sörminták összbenyomással kapcsolatos pontszáma a 9 pontos skálán 6.4 és 8.6 pont között ingadozott. A kóstolások során 4 minta-mátrix (Matrix 1., 5., 6. és 7.) kiindulási mintája rendelkezett a harmadik kvartilis körüli pontszámmal, a többi minta maximális pontszámot kapott, amely nagyfokú megfelelést jelez. (19. táblázat)

Az előző fejezetben említett okok miatt a foszforsavval savanyított minták összbenyomás-pontszáma 1.0 és 3.0 között ingadozott.

Abban az esetben, amikor csak E-vitamin addíció történik a mintákhoz, és a kiindulási minta összbenyomásra kapott pontszáma a harmadik kvartilis körül van, két különböző hatás tapasztalható. (19. táblázat) Kis alkoholtartalom esetében a pontszám értéke csökken a növekvő tokoferol tartalommal. Azonban ha az alkoholtartalom 5.2% feletti, minden egyes vitaminkoncentráció esetében ugyanaz az összbenyomás tapasztalható. Ha az eredeti, kiindulási minta pontszáma a maximum környékén van, 5 mg/L-es E-vitamin koncentráció esetében tapasztalható csak romlás a pontszám értékében.

C-vitamin addíció esetén a harmadik kvartilis körüli eredeti pontszámmal rendelkező mátrixok esetében a vitamin addíció nem változtatja meg a pontszám értékét. Azonban, ha az eredeti pontszám a maximális érték körül van (Matrix 2., 3. és 4.), 30 mg/L-es C-vitamin koncentráció (13-20. minta) esetében csökkenés tapasztalható e pontszám értékében. (19. táblázat)

Abban az esetben, amikor együttes vitamin addíció történik, különböző tendenciák figyelhetők meg. Alacsony alkoholtartalmú sör-mátrix esetén ha a C-vitamin koncentrációja állandó, az összbenyomás-pontszám értéke nem változik az E-vitamin koncentráció növekedésével. (19. táblázat) Azonban 4.7%-nál magasabb alkoholtartalom esetén, ha a C-vitamin koncentrációja alacsony értékű és állandó, az összbenyomásra kapott pontszám értéke csökken 3 mg/L-es E-vitamin koncentráció felett. Ugyanakkor, ha a C-vitamin koncentrációja 30 mg/L vagy ennél magasabb, az E-vitamin addíció hatására nem változik meg a pontszám értéke. Ha az E-vitamin koncentrációja állandó, és a minta alkoholtartalma 4.7% feletti, a C-vitamin addíció hatására szintén nem változik meg a pontszám értéke, bár néhány esetben javulást is tapasztaltak a kóstolók. Azonban ennél alacsonyabb alkoholtartalom esetén az összbenyomás-pontszám értéke csökken, vagy változatlan értékű marad a növekvő koncentrációjú C-vitamin addíció hatására.

A fentiek alól az egyetlen kivétel ebben az esetben is a barna sör. A barna sör esetén ugyanis minden minta ugyanakkora összbenyomás-pontszám értékkel rendelkezik. (19. táblázat)

**19. táblázat A referencia, és a vitaminnal dúsított sör-minták  
átlagos összbenyomás-pontszám értékei 9-es skálán**

A minta sorszáma	A minta adatai			Az íz jellemzésére adott pontszámok						
	C-vit. mg/L	E-vit. mg/L	pH	Matrix 1.	Matrix 2.	Matrix 3.	Matrix 4.	Matrix 5.	Matrix 6.	Matrix 7.
1.	0	0	>4	6.4 <sup>1,A</sup>	8.2 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>1,B</sup>	7.6 <sup>1,A</sup>	6.4 <sup>1,A</sup>	7.0 <sup>1,A</sup>
2.	0	1	>4	5.6 <sup>1,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>	6.0 <sup>1,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>	8.0 <sup>1,B</sup>	6.4 <sup>1,C</sup>	8.2 <sup>1,B</sup>
3.	0	3	>4	5.2 <sup>2,A</sup>	7.4 <sup>1,B</sup>	7.8 <sup>1,B</sup>	7.4 <sup>1,B</sup>	7.8 <sup>1,B</sup>	6.2 <sup>1,C</sup>	8.0 <sup>1,B</sup>
4.	0	5	>4	2.8 <sup>3,A</sup>	3.0 <sup>2,A</sup>	5.8 <sup>2,B</sup>	6.6 <sup>3,B</sup>	6.2 <sup>1,B</sup>	5.0 <sup>1,B</sup>	7.8 <sup>1,C</sup>
5.	10	0	>4	5.4 <sup>1,A</sup>	7.8 <sup>1,B</sup>	8.8 <sup>1,B</sup>	7.0 <sup>3,C</sup>	7.2 <sup>1,C</sup>	6.2 <sup>1,A</sup>	7.6 <sup>1,C</sup>
6.	10	1	>4	5.2 <sup>1,A</sup>	7.4 <sup>1,B</sup>	8.2 <sup>1,B</sup>	7.8 <sup>1,B</sup>	7.0 <sup>1,B</sup>	5.8 <sup>1,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>
7.	10	3	>4	5.0 <sup>1,A</sup>	2.8 <sup>2,B</sup>	7.2 <sup>1,C</sup>	4.8 <sup>2,A</sup>	5.2 <sup>2,A</sup>	5.8 <sup>1,A</sup>	8.6 <sup>1,D</sup>
8.	10	5	>4	3.2 <sup>3,A</sup>	1.8 <sup>2,B</sup>	4.4 <sup>2,A</sup>	4.0 <sup>2,A</sup>	5.4 <sup>2,C</sup>	4.4 <sup>2,A</sup>	7.8 <sup>1,C</sup>
9.	10	0	~3	2.0 <sup>3,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>					
10.	10	1	~3	2.6 <sup>3,A</sup>	2.6 <sup>2,A</sup>					
11.	10	3	~3	2.8 <sup>3,A</sup>	1.6 <sup>4,B</sup>					
12.	10	5	~3	1.6 <sup>3,A</sup>	1.0 <sup>5,A</sup>					
13.	30	0	>4	5.8 <sup>1,A</sup>	6.2 <sup>6,A</sup>	6.4 <sup>1,A</sup>	6.6 <sup>3,A</sup>	7.6 <sup>1,B</sup>	5.4 <sup>1,A</sup>	7.4 <sup>1,A</sup>
14.	30	1	>4	3.0 <sup>3,A</sup>	7.0 <sup>6,B</sup>	7.4 <sup>1,B</sup>	7.2 <sup>3,B</sup>	6.2 <sup>1,B</sup>	5.2 <sup>1,C</sup>	8.4 <sup>1,D</sup>
15.	30	3	>4	3.4 <sup>3,A</sup>	3.2 <sup>2,A</sup>	5.4 <sup>2,B</sup>	5.4 <sup>3,B</sup>	7.0 <sup>1,C</sup>	5.4 <sup>1,B</sup>	7.2 <sup>1,C</sup>
16.	30	5	>4	2.8 <sup>3,A</sup>	2.8 <sup>2,A</sup>	4.6 <sup>2,A</sup>	4.6 <sup>3,B</sup>	6.8 <sup>1,C</sup>	5.2 <sup>1,B</sup>	8.4 <sup>1,C</sup>
17.	30	0	~3	1.4 <sup>4,A</sup>	2.2 <sup>2,B</sup>					
18.	30	1	~3	3.0 <sup>3,A</sup>	1.2 <sup>4,B</sup>					
19.	30	3	~3	2.2 <sup>3,A</sup>	2.0 <sup>2,A</sup>					
20.	30	5	~3	1.2 <sup>4,A</sup>	1.6 <sup>4,A</sup>					
21.	50	0	>4	6.4 <sup>1,A</sup>	3.6 <sup>2,B</sup>	5.8 <sup>2,A</sup>	6.6 <sup>3,A</sup>	8.4 <sup>1,C</sup>	5.8 <sup>1,A</sup>	8.0 <sup>1,A</sup>
22.	50	1	>4	2.0 <sup>3,A</sup>	4.8 <sup>3,B</sup>	6.4 <sup>2,C</sup>	6.6 <sup>3,C</sup>	7.8 <sup>1,D</sup>	5.2 <sup>1,B</sup>	7.8 <sup>1,C</sup>
23.	50	3	>4	2.6 <sup>3,A</sup>	4.6 <sup>2,B</sup>	6.0 <sup>2,C</sup>	6.0 <sup>3,C</sup>	7.2 <sup>1,C</sup>	5.0 <sup>1,B</sup>	7.0 <sup>1,C</sup>
24.	50	5	>4	1.8 <sup>3,A</sup>	4.0 <sup>2,B</sup>	3.8 <sup>3,B</sup>	6.4 <sup>3,C</sup>	7.4 <sup>1,C</sup>	5.4 <sup>1,B</sup>	8.6 <sup>1,D</sup>
25.	50	0	~3	1.6 <sup>3,A</sup>	2.4 <sup>2,A</sup>					
26.	50	1	~3	2.4 <sup>3,A</sup>	1.8 <sup>2,A</sup>					
27.	50	3	~3	1.4 <sup>4,A</sup>	1.8 <sup>2,A</sup>					
28.	50	5	~3	2.2 <sup>3,A</sup>	1.2 <sup>4,B</sup>					

<sup>1-6</sup>: Az oszlopon belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup>: A soron belüli különböző felső index szignifikánsan különböző értékeket jelez ( $P < 0.05$ ).

## 5.5 A vitaminok hatása a sör analitikai paramétereire

### 5.5.1 Az alkoholtartalom változása

Az E-vitamin addíciója során az alkoholtartalom vizsgálatakor figyelembe kell venni az E-vitamin törzsoldat etanol-tartalmát is, mivel ezúton növekedik a minta alkoholtartalma. A százalékos alkoholtartalomnak a hozzáadott E-vitamin etanol-tartalmának köszönhető változása 0.02 – 0.1% között van az E-vitamin koncentrációtól függően.

Abban az esetben, amikor a sörmintákhoz E-vitamin addíció történik, a minta alkoholtartalma a hozzáadott E-vitamin koncentrációjától függő mértékben megemelkedik. (20. táblázat) Azonban ez az alkoholtartalom növekedés nagyobb mértékű, mint amekkora az E-vitamin törzsoldat etanol-tartalma miatt várható, azaz az E-vitamin befolyásolja az élesztő alkohol-fermentációját. (20. táblázat)

C-vitamin addíció esetén a minták alkoholtartalma még magasabb, mint az E-vitamin addíció esetében tapasztalt. Ez feltehetően az alacsonyabb pH értéknek köszönhető (maga a C-vitamin is csökkenti valamelyest a minták pH értékét), ugyanis az alacsonyabb pH érték kedvez az élesztő szaporodásának. (20. táblázat)

Együttes vitamin-addíció esetében az alkoholtartalom még magasabb a két vitamin együttes hatásának köszönhetően. A legmagasabb alkoholtartalom a foszforsavas minták esetében mérhető, ahol az alacsony pH érték hatása még jelentősebb. (20. táblázat)

**20. táblázat A vizsgált sörminták analitikai paramétereit**

Kiindulási C-vitamin konc. (mg/L)	Kiindulási E-vitamin konc. (mg/L)	Kiindulási pH	Alkohol- tartalom (%)	iso- $\alpha$ -sav tartalom (mg/L)	Diacetil tartalom ( $\mu$ g/L)	2,3- pentándion tartalom ( $\mu$ g/L)	Végső E-vitamin konc. (mg/L)	Végső C-vitamin konc. (mg/L)	Végső pH érték
0	0	5.12	6.45	33.2	162	172	0	0	4.41
0	0	3.02	7.39	25.4	75	73	0	0	2.91
0	1	5.12	6.50	34.8	163	174	0.62	0	4.39
0	3	5.12	6.59	35.2	163	171	1.14	0	4.42
0	5	5.12	6.65	36.9	162	173	2.38	0	4.40
10	0	5.12	6.53	31.1	178	187	0	0.62	4.35
10	1	5.12	6.62	31.8	177	187	0.58	0.58	4.33
10	3	5.12	6.73	32.0	181	188	1.07	0.60	4.35
10	5	5.12	6.81	32.7	179	190	2.27	0.57	4.32
10	0	3.02	7.21	25.8	82	79	0	5.59	2.85
10	1	3.02	7.28	26.3	80	80	0.59	5.57	2.83
10	3	3.02	7.34	26.8	82	80	1.09	5.61	2.85
10	5	3.02	7.39	27.1	81	81	2.26	5.62	2.81
30	0	5.12	6.62	30.4	191	197	0	1.59	4.21
30	1	5.12	6.76	31.1	193	195	0.55	1.56	4.19
30	3	5.12	6.89	31.8	192	198	1.13	1.49	4.23
30	5	5.12	6.95	32.6	193	198	2.32	1.52	4.20
30	0	3.02	7.29	25.9	94	96	0	18.85	2.72
30	1	3.02	7.34	26.3	94	97	0.61	18.88	2.74
30	3	3.02	7.39	26.8	96	98	1.10	18.91	2.70
30	5	3.02	7.44	27.5	95	98	2.33	18.79	2.71
50	0	5.12	6.87	28.8	202	207	0	1.85	4.03
50	1	5.12	6.94	29.6	203	206	0.57	1.87	4.06
50	3	5.12	7.00	30.1	204	209	1.15	1.82	4.04
50	5	5.12	7.11	32.0	202	208	2.28	1.83	4.02
50	0	3.02	7.37	25.7	143	154	0	29.59	2.64
50	1	3.02	7.44	26.2	146	155	0.59	29.65	2.61
50	3	3.02	7.49	27.2	144	153	1.08	29.61	2.63
50	5	3.02	7.53	27.8	144	156	2.35	29.54	2.65



### 5.5.2 Iso- $\alpha$ -sav tartalom

Az iso- $\alpha$ - és  $\beta$ -savak a sör keserű ízéért felelős vegyületei közé tartoznak, valamint befolyásolják a habstabilitást is (O'Rourke, 2003).

A csupán E-vitaminnal dúsított minták esetében az iso- $\alpha$ -sav tartalmuk magasabb a referencia minta (1.számú minta, 8. táblázat) iso- $\alpha$ -sav tartalmánál, és a minták növekvő E-vitamin tartalmával emelkedő iso- $\alpha$ -sav tartalom mutatható ki. (20. táblázat) Ez feltehetően azzal magyarázható, hogy mivel az E-vitamin zsíroldékony, így szívesen adszorbeálódik az élesztő felületén, ezzel lecsökkentve az iso- $\alpha$ -sav számára elérhető szabad helyeket az élesztő felszínén. Emiatt az oldat iso- $\alpha$ -sav tartalma megnő. Az E-vitamin adszorpcióját a vizsgálatok is igazolják: mindegyik minta kevesebb E-vitamint tartalmazott, mint amekkora a hozzáadott mennyiség volt. Mindemellett az 5 mL-es metanolos élesztő extraktumok vizsgálatával kimutatható volt a hiányzó E-vitamin mennyiség.

A C-vitaminnal való dúsítás során az iso- $\alpha$ -sav koncentrációja alacsonyabb, mint a referencia minta esetében mérhető érték. (20. táblázat) Az eltérés mértéke a C-vitamin koncentrációjától függ: minél nagyobb az adagolt koncentráció, annál nagyobb az eltérés. A C-vitamin által létrehozott alacsonyabb pH érték elősegíti az élesztő növekedését (O'Rourke, 2002b), a nagyobb élesztő felület pedig több olyan helyet tartalmaz, ahova az iso- $\alpha$ -savak adszorbeálódhatnak (O'Rourke, 2003), így csökkentve a sörben mérhető koncentrációjukat. Ugyanakkor a tárolási idő alatt a C-vitamin szinte teljes mennyisége elbomlott.

Együttes vitamin addíció esetén a két vitamin együttes hatása mutatható ki. (20. táblázat) Az iso- $\alpha$ -savak koncentrációja az aszkorbinsav által okozott pH csökkenés miatt csökken, de ez a jelenség kisebb mértékű, mint amikor csak a C-vitamin van jelen, mivel az E-vitamin az ellenkező irányba befolyásolja az iso- $\alpha$ -sav koncentrációjának a változását.

Ahogy a 20. táblázatban is látható, a foszforsavas minták alacsonyabb iso- $\alpha$ -sav tartalommal rendelkeznek, mint az eredeti pH-jú minták. Ennek a magyarázata szintén az alacsonyabb pH élesztő szaporodására gyakorolt kedvező hatása. Ha a foszforsav mellett csak a C-vitamin addíciója történik, a pH érték ugyan csökken a savas referencia mintával (2.számú minta, 8. táblázat) összehasonlítva, de ennek a hatása az iso- $\alpha$ -sav koncentrációjában nem mutatható ki. Alacsonyabb pH-n történt együttes vitamin addíció esetén az iso- $\alpha$ -sav tartalom a vártnál magasabb a 2.számú savas referencia minta esetében, de az alacsonyabb pH értéknek köszönhetően, az eltérés alacsonyabb, mint az eredeti pH-jú minták esetén.

### 5.5.3 Diacetil és 2,3-pentándion tartalom

A főerjedés során az alkohol mellett más, a sör ízére nézve kellemetlen vegyületek is képződnek, melyek a meleg érlelés folyamán lebontásra kerülnek, vagy távoznak a folyadékából. A legismertebb ilyen vegyület a diacetil, melynek édeskés illata a vajkaramellára hasonlít – már nagyon alacsony koncentrációban is érezhető a sörben.

A sör diacetil és 2,3-pentándion tartalma a vitaminaddíció hatására azonos módon változik.

A 20. táblázat adatai alapján alacsonyabb pH esetén a sör diacetil és 2,3-pentándion tartalma alacsonyabb, mint az eredeti pH-jú minták esetében mérhető érték.

Az E-vitamin addíciója esetén e két vicinális diketon koncentrációja nem változik a referencia minta diacetil és 2,3-pentándion tartalmához képest. Azonban a C-vitaminnal dúsított minták esetén e két vegyület koncentrációja magasabb a referencia minta esetén mérhető értéknél, és mennyiségük az emelkedő aszkorbinsav tartalommal együtt emelkedik. (20. táblázat) Mivel a tárolási idő végére a C-vitaminak szinte teljes mennyisége elbomlik, és a pH változás pontosan ellenkező hatást fejt ki, a vicinális diketonok megnövekedett mennyisége feltehetően a C-vitamin egyik bomlástermékének tulajdonítható.

Együttes vitamin addíció esetén ebben az esetben is együttes hatás mutatható ki, azaz a diacetil és a 2,3-pentándion mennyisége magasabb, mint a referencia minta esetében mérhető érték. (20. táblázat) Mivel azok a minták, amelyek mindkét vitamint tartalmazták ugyanakkora vicinális diketon tartalommal rendelkeztek, mint a csak C-vitaminnal dúsított minták, elmondható, hogy az E-vitamin jelenléte nem változtatja meg az aszkorbinsav hatását.

A foszforsavval savanyított minták esetében e két vicinális diketon sörben levő mennyisége alacsonyabb, mint az eredeti pH-jú referencia minta esetében mérhető érték, de magasabb, mint a foszforsavas referencia minta (2.számú minta, 8. táblázat) vicinális diketon tartalma. (20. táblázat) Ez az alacsonyabb pH és a C-vitamin addíciójának együttes hatásából ered, és ezt a hatást az E-vitamin jelenléte ebben az esetben sem befolyásolja. Ugyanakkor a savas minták esetében, ha a C-vitamin koncentrációja 50 mg/L-nél magasabb, a két tanulmányozott vicinális diketon mennyisége jelentősen megemelkedik. (20. táblázat)

## 6 Összefoglalás

Az egészségtudatos táplálkozás elterjedésével az úgynevezett funkcionális, vagy vitaminnal dúsított élelmiszerek előállítása az élelmiszergyártásban egyre inkább vezető helyre kerül. Ezen élelmiszereknek jelentős szerepük van a szív- és érrendszeri, a daganatos, az emésztőszervi és a csontbetegségek megelőzésében és rehabilitációjában.

Sörrel kapcsolatosan még nem végeztek vitamin-dúsításos kísérleteket, ezért kutatómunkám fő célja a két leggyakoribb antioxidáns vitamin, az E- és a C-vitaminok sörben való stabilitásának meghatározása, illetve ennek a két vitaminnak a sör egyéb, analitikai és érzékszervi tulajdonságaira gyakorolt hatásának tanulmányozása volt. A stabilitás vizsgálatokat elvégeztem borral és narancslével is, kontrollmintaként.

### 6.1 Az E-vitamin stabilitása

#### 6.1.1 Mérési módszer kidolgozása

Mérési módszerként HPLC technikát választottam UV-detektor alkalmazásával. A cél egy olyan mérési metodika kidolgozása volt, amely a mindennapos laboratóriumi gyakorlatban könnyen, gyorsan alkalmazható és reprodukálható mérési eredményeket biztosít. A dolgozatomban szereplő mérési módszer nem igényel mintaelőkészítést, és alkalmas az E-vitamin meghatározására sörben, borban és narancslében.

#### 6.1.2 Stabilitási vizsgálatok

Az E-vitamin stabilitási vizsgálatait több különböző koncentráció esetén is elvégeztem. Mindegyik mintánál, minden koncentráció esetében az E-vitamin mennyiségének a csökkenése mutatható ki, de különböző mértékben. Sör esetén az emelkedő E-vitamin tartalommal növekedik a bomlási görbe gradiense is. Ugyanez igaz a narancslére is, azzal a különbséggel, hogy itt a növekedés kisebb mértékű. Bor esetén a bomlási görbe gradiensének nincsen koncentráció függése.

Az E-vitamin stabilitása a minta alkoholtartalmától függ: a legjobb stabilitás az alacsony alkoholtartalmú sör esetében mutatható ki. A narancslé ugyanakkor nem tartalmaz alkoholt, az E-vitamin stabilitása mégis ebben a minta-mátrixban a legkisebb.

Együttes vitamin addíció esetén az emberi szervezetben a két tanulmányozott vitaminnak egymást erősítő hatása van, ugyanakkor egymás stabilitását a sörben nem befolyásolják kimutatható mértékben. A C-vitamin addíciója növeli az E-vitamin borban mérhető fogyási sebességét. Narancslé esetén az ellenkező hatás tapasztalható: a hozzáadott C-vitamin növeli az E-vitamin stabilitását ebben az italban.

Ezek alapján elmondható, hogy az  $\alpha$ -tokoferol stabilnak mondható sörben, illetve narancslében a megfelelő eltarthatósági időt alkalmazva. Magasabb E-vitamin koncentrációt (5 mg/L) alkalmazva sör esetében a 12 hetes eltarthatósági idő mondható helyesnek. Narancslé esetén szintén magas E-vitamin tartalom (4, illetve 5 mg/L) a javasolt 8 hetes eltarthatósági idővel. A vizsgálatok alapján azonban nincsen értelme E-vitaminnal dúsított bort létrehozni, mivel a bor élettartama sokkal hosszabb, mint az esetlegesen hozzáadagolt E-vitaminé.

## 6.2 A C-vitamin stabilitása

### 6.2.1 Mérési módszer kidolgozása

Méséri módszerként ebben az esetben is HPLC technikát választottam UV-detektor alkalmazásával. A cél szintén egy olyan mérési metodika kidolgozása volt, amely könnyen, gyorsan alkalmazható, valamint reprodukálható mérési eredményeket biztosít. A dolgozatomban szereplő C-vitamin mérési módszer nem igényel mintaelőkészítést, és alkalmas C-vitamin meghatározására sörben, borban és narancslében.

### 6.2.2 Stabilitási vizsgálatok

A C-vitamin stabilitásának koncentrációfüggését szintén tanulmányoztam. Az eredeti pH-jú minták vizsgálatakor mindegyik minta C-vitamin tartalma exponenciálisan csökkent. Sör és narancslé esetében a bomlás sebessége a nagyobb koncentrációknál a legnagyobb, míg a bor tanulmányozásakor a C-vitamin maximális fogyási sebessége a 30 mg/L-es aszkorbinsav koncentrációnál tapasztalható. Alacsonyabb pH beállításakor a sör vizsgálata során a bomlási görbe lineáris, és a fogyás sebessége a magasabb koncentrációk esetén a legnagyobb. Bor és narancslé tanulmányozásakor a fogyási görbe exponenciális: bor esetében az alacsonyabb koncentrációk

esetén tapasztalható a gyorsabb bomlás, a narancslé vitaminnal való dúsításakor viszont a magasabb koncentrációk tartományában.

A C-vitamin stabilitása az E-vitaminéhoz hasonlóan függ a sörminta alkoholtartalmától. A minták hetedik napon mért aszkorbinsav koncentrációja ugyan azonos, de a fogyás üteme különböző. A leggyorsabb csökkenés a legmagasabb alkoholtartalom esetében tapasztalható. Narancslé esetében a legjobb stabilitási adatok a 40 és az 50 mg/L-es C-vitamin koncentrációknál tapasztalható, így ezeket a koncentrációértékeket alkalmazva a termék élettartama megfelel a C-vitamin élettartamának.

Együttes vitamin addíció esetén az E-vitamin addíciója növeli a C-vitamin ötödik héten mérhető koncentrációját, azaz lelassítja az aszkorbinsav bomlását. Ennek ellenére a C-vitamin élettartama így sem közelíti meg a bor élettartamát, azonban a sör és narancslé esetében így már megfelelő stabilitás kapható a vitaminnal dúsított termék előállításához.

A C-vitamin stabilitását a közeg pH-ja és a tárolási hőmérséklet szintén befolyásolja. pH = 4.0 felett a C-vitamin bomlása nagymértékű függetlenül a tárolási hőmérséklettől. Ezen pH érték alatt az alacsonyabb tárolási hőmérséklet elősegíti a C-vitamin stabilizálását sörben. A bomlás alacsonyabb pH-n mért koncentrációfüggése alapján elmondható, hogy a legjobb stabilitási adatok a három vizsgált italajt között a sör esetében mérhetőek. Ugyanakkor az alacsonyabb pH érték (pH = 3) mindegyik minta-mátrix esetében növeli a C-vitamin ötödik héten mérhető koncentrációját. A C-vitamin alacsonyabb pH-jú sörben mérhető élettartama megfelel a sör élettartamának, de az alacsonyabb pH érték befolyásolja a minta ízét, valamint az alkalmazott alacsony tárolási hőmérséklet általában a kereskedelmi forgalomban nem megvalósítható.

### **6.3 A vitaminaddíció hatása a sör íz-stabilitására**

A különböző technológiai lépéseknél történt vitaminaddíció hatását összehasonlítva elmondható, hogy a legmagasabb lag time értékek abban az esetben tapasztalhatóak, ha a vitamin hozzáadása a hűtés utáni sörléhez történik. Ha a sörminta pH értéke az eredeti, azaz sav hozzáadása nem történik, valamint az E-vitamin koncentrációja 4 mg/L értéknél magasabb, 100 percnél nagyobb lag time értékek mérhetőek. Ugyanakkora lag time érhető el 30 mg/L-nél nagyobb C-vitamin koncentráció esetén is, de ekkor a minta pH-ját le kell csökkenteni. A fermentáció végén történő vitamin addíció néhány esetben javítja a lag time értékét, azonban a késztermékhez való vitamin adagolás nem befolyásolja e paraméter értékét.

Az eredeti pH érték alkalmazása esetén a C-vitamin kevésbé befolyásolja a lag time értékét, mint az E-vitamin. Ha a két vitamin addíciója egyszerre történik, a hatásaik összegződnek, azaz a C-vitamin jelenléte lecsökkenti az E-vitamin hatását.

Ha a vitamin addícióval a lag time értékének a növelése a cél és nem pedig a fogyasztó szervezetének vitaminnal való ellátása, az egyes vitaminok külön-külön történő addíciója a javasolt. E-vitamin addíciója esetén az eredeti pH értékű sörlé a javasolt technológiai szakasz az addíció véghezvitelére, C-vitamin esetében viszont a csökkentett pH értékű sörlé.

#### **6.4 A vitaminaddíció hatása a sör érzékszervi tulajdonságaira**

A vizsgálataim során a fogyasztók ugyanazt a kritikus, 4mg/L-es E-vitamin koncentrációt jelezték a sör tükrösségével kapcsolatban, amelyet a vitaminnal dúsított minták spektrofotometriás vizsgálata is kimutatott.

A négy vizsgált és pontozott jellemző alapján elmondható, hogy abban az esetben, ha csak E-vitamin addíció történik, az alkohol tartalomnak 4.7% fölött kell lennie, és a javasolt E-vitamin koncentráció 3 mg/L. Ha viszont C-vitaminnal dúsított sör előállítása a cél, a C-vitamin koncentrációja maximum 30 mg/L lehet az alkoholtartalomtól függetlenül.

Együttes vitamin addíció esetén az alkoholtartalomnak szintén 4.7% felett kell lennie, és a fogyasztók által legjobbnak talált koncentrációk: 3 mg/L E-vitamin és mellette 30 mg/L C-vitamin értékek.

Vitamin addícióra a legjobb sör-típus a barna sör, mivel e típus esetében szinte mindegyik vitamin koncentráció, illetve koncentráció kombináció megfelelt a fogyasztók elvárásainak.

#### **6.5 A vitaminaddíció hatása a sör analitikai paramétereire**

Az analitikai eredmények alapján elmondható, hogy a vitaminaddíció, illetve a pH módosítása jelentős hatással bír a vizsgált paraméterekre. Az E-vitamin addíciója hatására megváltozik mind az alkoholtartalom, mind pedig az iso- $\alpha$ -sav tartalom is. Mindkét paraméter a növekvő E-vitamin tartalom hatására növekvő tendenciát mutat. Az E-vitamin befolyásolja az élesztő fermentációját, valamint maga a vitamin adszorbeálódik az élesztő felületén. Ugyanakkor az E-vitamin addíciója nem befolyásolja a sör diacetil és 2,3-pentándion tartalmát.

A C-vitamin hatása az általa okozott savas kémhatásnak köszönhető. Az eredeti, kiindulási pH-n a C-vitamin nem stabil sörben, de kisebb pH értéken viszont igen. Kiseb pH értéken a vicinális diketonok redukciója és az élesztő szaporodása azonban nagyobb mértékű. Az élesztő növekvő mennyisége miatt a minta alkoholtartalma szintén megemelkedik, és a nagyobb

mennyiségű élesztő több iso- $\alpha$ -savat képes adszorbeálni, így lecsökkentve a vizsgált komponens sörben mérhető tartalmát.

A savas minták esetében ugyanazok a hatások tapasztalhatók, mint a C-vitamin addíciója esetében. Együttes vitamin addíció esetén a két vitamin hatása ebben az esetben is összegződik, azaz az alkoholtartalom még magasabb a két vitamin együttes hatásának köszönhetően, valamint az iso- $\alpha$ -savak koncentrációja csökken, de ez a jelenség kisebb mértékű, mint amikor csak a C-vitamin van jelen.

## 7 Summary

There has been an increasing interest in fortified vitamin beverages to promote healthy life styles. This new market has the potential to be used in the brewing industry to research and to develop a new product.

In the past, there is no comprehensive research found in connection with beer's vitamin fortification. Therefore, this research is focused to study all possibilities on vitamin E and C to be applied in the beer industry. The results will also determine the effect of these vitamins as analytical and main parameters for beer application. The research was also experimented on wine and orange juice as practical samples.

### 7.1 The stability of vitamin E

#### 7.1.1 Elaboration a measuring technique

The HPLC technique has been chosen to work with UV detection. The main target was on elaboration and measuring techniques that can be applied easily and quickly during the daily lab routine that provides efficient results. The technique applied on this research can be used to analyse the stability of vitamin E in beer, wine and orange juice.

#### 7.1.2 Stability experiments

The stability of vitamin E applied at different concentrations was examined. In case of each sample and at each concentration, a decline was detected in the amount of vitamin E, but the tendency of the reduction was different. In case of beer the gradient of the decline curve grows with the growing amount of vitamin E. The same effect is observable for orange juice, but the growing tendency of the gradients is lower. In case of wine the gradient is independent from the concentration of vitamin E.

The stability of vitamin E has depends on the alcohol content of beer; therefore, the best results were in case of low alcohol content. Orange juice does not contain any alcohol; although, the stability of vitamin E was the lowest.



When these vitamins are added together, there is a joint effect in the human body as result. But, in beer they do not influence the stability of each other. In addition, vitamin C increased the decay of vitamin E in wine. An opposed effect was observed in orange juice. Thus, addition of vitamin C helps to stabilize vitamin E.

The basis of this data can be stated that  $\alpha$ -tocopherol is probably stable in beer and may be in orange juice using the correct shelf-life. By using higher concentration in regular beer samples, the shelf-life (twelve weeks) is correct. Consequently, at the end of this period remarkable amount of vitamin E can be detected in sample. In case of orange juice, high added vitamin concentration is also proposed to a shelf-life of eight-ten weeks. Focusing on the measured decay curves in wine, there is no chance to make a wine enriched with vitamin E, because of the long shelf-life of wine by comparing that time when vitamin E is present.

## **7.2 The stability of vitamin C**

### 7.2.1 Elaboration a measuring method

The HPLC technique has also been chosen to work with UV detection. The target of this research was elaboration and measuring techniques, that can be applied easily and quickly without any sample preparation steps that provides efficient results. The technique applied during this process can be used to analyse the stability of vitamin C in beer, wine and orange juice.

### 7.2.2 Stability experiments

The stability of vitamin C using different concentrations was also examined. In case of samples with original pH value an exponential decay curve was observed. In case of beer and orange juice the rate of the decay is the highest at the highest vitamin C concentration. When wine is the matrix for vitamin addition, the maximum rate of the deterioration can be detected at 30 mg/L vitamin C concentration.

In case of beer with low pH value the decay curve has a linear tendency, and the rate of the decay is the highest at the highest vitamin C concentration. But in case of wine and orange juice spiked with phosphoric acid the decay curve shows exponential tendency. The faster decay can be

observed at lower concentrations in wine, but in case of orange juice the decline is the fastest at the highest vitamin C concentration.

It was established, that the stability of vitamin C depends on the alcohol content of the beer. All the samples had the same vitamin C amount on the seventh day, only the tendency of the decay was different: the highest rate of decay is observable at the highest alcohol content. The different vitamin C concentrations in different beverages behaved in different way. In spite of that, it can be established, that there is no meaning to produce a beer or wine enriched only with this vitamin (if the presence of vitamin C is the target), because the shelf-life of these beverages is too long in comparison the period while vitamin C was present in the sample. In case of orange juice, the best results has got at 40 and 50 mg/L added ascorbic acid concentration, and using these concentrations, the lifetime of vitamin C suits to the shelf life of this product.

When these vitamins are added at the same time, the addition of Vitamin E increase the concentration of vitamin C measured on the fifth week. In spite of that, the period while vitamin C was present in the sample did not suit the shelf life of wine. In case of beer and orange juice vitamin E addition is a good way to preserve the vitamin C content during storage.

The effect of pH and storage temperature on the stability of ascorbic acid was also researched. Over pH value of 4.0, vitamin C had a significant decay independently from the storage temperature. Under this pH limit, low storage temperature helped to stabilize this vitamin in beer. Examining samples spiked with different vitamin C concentrations at lower pH that can be established, that the best results has got in case of beer. This lower pH value (pH = 3) increased the concentration of ascorbic acid measured at the end of the fifth week in case of each examined beverages. The lifetime of vitamin C at lower pH was appropriate to the shelf life of beer, but this lower pH value can change the flavour of the beer and low storage temperature is sometimes unrealizable.

### **7.3 The effect of vitamin addition on the flavour stability of beer**

Comparing the different technological stages for vitamin addition, it can be established that the best lag time values were measured when the vitamins were added to the wort after cooling. If vitamin E concentration was higher than 4 mg/L at original pH or vitamin C concentration was higher than 30 mg/L at lower pH, the lag time was higher than 100 minutes. Vitamin addition at the end of fermentation increases the lag time in some cases, but adding vitamin is not recommended in the case of packaged beer.

In the case of original pH ascorbic acid always had a smaller effect on the value of lag time than vitamin E. If these vitamins were added together, their effects were combined so the presence of ascorbic acid reduces the effect of vitamin E.

On the grounds of these facts it can be stated that if the growth of the lag time is the target, individual vitamin addition is the right way to do it. The best results were received when only vitamin E was added to the wort at original pH, or when vitamin C was added to the wort samples separately at a lower pH value.

#### **7.4 The effect of vitamin addition on the sensory parameters of beer**

Under the conditions of the current research, consumers found the same critical vitamin E concentration (4 mg/L) on the ground of clarity scores as the spectrophotometer.

Based on the four examined scores it can be stated that if vitamin E is the only vitamin added, the alcohol content of the beer must be above 4.7% and the proposed vitamin E concentration is 3 mg/L. If the aim of the production is ascorbic acid enriched beer, the suggested vitamin C concentration is maximum 30 mg/L regardless of alcohol content.

If beer is enriched with these two examined vitamins together, the suggested alcohol content should be above 4.7%, and the best consumer acceptability will be at 3 mg/L vitamin E and 30 mg/L vitamin C concentrations.

Adding vitamins is recommended mostly in case of brown beer because tasting of this type of beer, almost every vitamin concentration and combination met the consumers' requirements at each examined parameter.

#### **7.5 The effect of vitamin addition on the analytical parameters of beer**

The results of the analyses show that vitamin addition and pH modification did have an impact on the examined parameters. Vitamin E addition changed both the alcohol and the iso- $\alpha$ -acid content of the samples. Both of these parameters increased as the vitamin E content increased. Vitamin E influenced the alcoholic yeast fermentation and was adsorbed on the surface of the yeast. The addition of this vitamin did not change the amount of diacetyl and 2,3-pentandione.

The effect of ascorbic acid was due to its acidic character. Vitamin C was not stable in beer samples at the normal (original) pH value, but is more stable at lower pH values. At the low pH values tested, the reduction of vicinal diketones and the yeast growth improved. Because of the

increased amount of yeast, the alcohol content of the samples also increased and the larger volume of yeast mass adsorbed more iso- $\alpha$ -acid on its surface.

In the case of the acidic samples, the changes in the examined parameters were due to the low pH. These changes were the same as was experienced in case of ascorbic acid addition. When vitamin E and C were added together to the samples their effect combined, so the alcohol content is higher, and the iso- $\alpha$ -acid content is lower than in case of the reference sample, but the differences between the samples are smaller than in case of individual vitamin C addition.

## 8 Új tudományos eredmények

- Új mérési módszert (mintaelőkészítés nélküli vizsgálat) dolgoztam ki a C-vitamin és az E-vitamin sörben, borban és narancslében való meghatározására, mely eljárás nem igényel mintaelőkészítést, így könnyen és gyorsan alkalmazható a napi laboratóriumi munka során.
- Megállapítottam hogy a vitamin-addicionált italok minőségjellemzője, a C- és az E-vitamin stabilitása sörben, illetve kontroll mintaként borban és narancslében is meghatározható, valamint a stabilitás koncentráció függése, a különböző tárolási hőmérsékletek és a pH érték stabilitást befolyásoló hatása is értékelhető. Megállapítottam, hogy mindkét vitamin mennyisége csökken a tárolás során, de a bomlás sebessége függ a hozzáadott vitamin koncentrációtól. Az E- és C-vitamin sörben mérhető stabilitása függ a minta alkoholtartalmától is: kis alkoholtartalom esetén nagyobb a stabilitás. Megállapítottam, hogy a C-vitamin stabilitása a pH csökkentésével, illetve az E-vitamin egyidejű addíciójával növelhető.
- Megvizsgáltam, hogy a sörgyártás melyik lépése a legalkalmasabb a két vizsgált vitamin addíciójára, és megállapítottam, hogy az addíció hatással van a sör élettartamára és a sör íz-stabilitására. Igazoltam, hogy a hűtés utáni sörléhez való adagolás a legalkalmasabb technológiai lépés a vitamin addícióra, valamint megállapítottam, hogy a C-vitamin addíciója esetén a csökkentett pH érték alkalmas a lag time növeléséhez.
- Igazoltam, hogy a vitaminaddíció során a sör érzékszervi tulajdonságai is megváltoznak, így amennyiben tükrös sör előállítása a cél, a maximális E-vitamin koncentráció 4 mg/L lehet. Ha a sörhöz E-vitamin addíció történik (akár C-vitaminnal együtt), az alkoholtartalomnak 4.7%-nál magasabbnak kell lennie, és az E-vitamin javasolt koncentrációja 3 mg/L. C-vitamin esetében az alkoholtartalomnak nincsen szerepe az érzékszervi jellemzésnél, a vitamin javasolt koncentrációja 30 mg/L. Az E- és a C-vitamin addíciójára a barna sör a legalkalmasabb sör-mátrix.
- Az analitikai eredmények alapján megállapítottam, hogy az E-vitamin addíciójának hatására nő a minta alkohol és iso- $\alpha$ -sav tartalma. A C-vitamin jelenlétében csökken a sör vicinális diketon és iso- $\alpha$ -sav tartalma, viszont az alkoholtartalom emelkedik. Együttes vitamin addíció esetén a két vitamin hatása összegződik.

## 9 A tárgykörrel kapcsolatos saját irodalom

### Publikációk:

1. Emese Jeney-Nagymate, Peter Fodor. Examination of the effect of vitamin E and C addition on the beer's ESR lag time parameter. *Journal of the Institute of Brewing*, 2007, 113, 28-33.
2. Emese Jeney-Nagymate, Peter Fodor. Stability of vitamin C in different beverages. *British Food Journal*, 2008, 110(3), 296-309.
3. Emese Jeney-Nagymate, Peter Fodor. Sensory evaluation of beer enriched with antioxidant vitamins. *Journal of the American Society of Brewing Chemist*, 2008, 66(1), 20-28.
4. Emese Jeney-Nagymate, Peter Fodor. Analytical properties of vitamin enriched beer. *Master Brewers Association of America Technical Quarterly*, 2007, 44(3), 179-182.

### Előadás:

1. Jeneyné Nagymáté Emese: Elektron Spin Rezonancia: Íz-stabilitás meghatározása, Söripari Műszaki Napok, Budapest, 2004.

### Poszter:

1. Emese Jeney-Nagymate, Peter Fodor: Examination of the possibility of making a beer enriched with vitamin E, 7th International Conference on Food, Szeged, 2006
2. Emese Jeney-Nagymate, Peter Fodor: Alcoholic beverages as functional food, First International Congress on Food Safety, Budapest, 2006
3. Emese Jeney-Nagymate, Peter Fodor: Effect of the ascorbic acid on the ESR parameters of beer, First European Chemistry Congress, Budapest, 2006

## 10 Felhasznált irodalom

- Andersen, M. L., Skibsted, L. H. (1998). Electron spin resonance spin trapping identification of radicals formed during aerobic forced aging of beer. *J. Agr. Food Chem.* 46. 1272-1275.
- Back, W., Foster, C. (1997). Neue Forschungserkenntnisse zur Verbesserung der Geschmacksstabilität. *Brauwelt.* 38. 1677-1690.
- Bamforth, C.W. (1985). The foaming properties of beer. *J. Inst. Brew.* 91. 370-383.
- Bamforth, C.W. (2003). *Beer: Tap Into the Art and Science of Brewing.* Oxford University Press
- Bamforth, C.W. (2004). The composition of beer in relation to nutrition and Health. *Beer Health and Nutrition.* Backwell Science, Oxford. 106 -107.
- Baxter, E.D. (1982). Lipoxidases in malting and mashing. *J. Inst. Brew.* 88. 390-396.
- Beer drinking with taste: (2006). <http://www.tastebeer.com.au/beer/141>
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P., Burghagen, M.M. (2004). *Food Chemistry.* Springer; 3rd revised ed. edition
- Belkner, J., Stender, H., Kühn, H. (1998). The rabbit 15-Lipoxygenase preferentially oxygenates LDL cholesterol esters, and this reaction does not require Vitamin E. *J. biol. Chem.* 273. 23225-23232.
- Bendisch, A., Machlin, L.J., O. Scandurra. (1986). The antioxidant role of vitamin C. *Adv. Free Rad. Biol. Med.* 2. 419-444.
- Bíró, Gy., Lindner, K. (1999). *Tápanyagátlázat.* Medicina Kiadó, Budapest
- Boudrant, J. (1990). Microbial processes for ascorbic acid biosynthesis: a review. *Enzym. Microb. Technol.* 12. 322-329.

- Bravo, A., Sanchez, B., Scherer, E., Rangel-Andao, R. (2001) Highly sensitive chemical indices of beer aging. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Budapest. Fachverlag Hans Carl: Nurnberg, Germany, CD ROM, Contribution 595–601
- Brehens, W.A., Madere, R. (1987). A highly sensitive high-performance liquid chromatography method for the estimation of ascorbic and dehydroascorbic acid in tissues, biological fluids and foods. *Anal. Biochem.* 165. 102-107.
- Bronzetti, G., Cini, M., Andreoli, E., Caltavuturo, L., Panunzio, M., Della Croce, C. (2001). Protective effects of vitamins and selenium compounds in yeast, *Mutat. Res.* 496. 105–115.
- Carr, A.C., Zhu, B.Z., Frei, B. (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E), *Circ. Res.* 87. 349–354.
- Chung, H.K., Ingle, J.D. (1991). Kinetic fluorometric FIA determination of total ascorbic acid, based on use of two serial injection valves. *Talanta.* 38(4). 355-357.
- Cilliers, J.J.L., Singleton, V.L. (1990). Autoxidative phenolic ring-opening under alkaline conditions as a model for natural polyphenols in food, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38. 1797–1798.
- Cooper, D.J., Husband, F.A., Mills, E.N.C., Wilde, P.J. (2002). Role of beer lipid-binding proteins in preventing lipid destabilization of foam. *J. Agric. Food Chem.* 50. 7645-7650.
- Cuzzocrea, S., Thiernemann, C., Salvemini, D. (2004). Potential therapeutic effect of antioxidant therapy in shock and inflammation, *Curr. Med. Chem.* 11. 1147–1162.
- Csapó, J., Csapóné-Kiss, Zs. (2004). *Élelmiszer kémia. Mezőgazda Kft., Budapest*
- Daniels, R. (2000): *Designing Great Beers: The Ultimate Guide to Brewing Classic Beer Styles.* Brewers Publications
- De Clerck, J. (1994). *A Textbook of Brewing.* Siebel Institute External
- Downard, A.J., Roddick, A.D., Bond, A.M. (1995). Covalent modification of carbon electrodes for voltammetric differentiation of dopamine and ascorbic acid *Analytica Chimica Acta.* 317(1-3). 303-310.



Drost, B., van den Berg, R., Freijee, D., van de Velde, E., Hollemens, M.(1990). Flavour-stability. J. Am. Soc. Brew. Chem. 48. 124-131.

Elez-Martinez, P., Martin-Belloso, O. (2007). Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. Food Chemistry 102(1). 201-209.

Epler, K.S., Ziegler, R.G., Craft, N.E. (1993). Liquid chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in food. J. Chromat. 619. 37-48.

European Brewery Convention. Analytica – EBC (1999). Verlag Hans Carl. Nürnberg, Germany, Method 9.6.

European Brewery Convention. Analytica – EBC (1999). Verlag Hans Carl. Nürnberg, Germany, Method 9.24.2.

European Brewery Convention. Analytica – EBC (2004). Verlag Hans Carl. Nürnberg, Germany, Method 9.8.

European Brewery Convention. Analytica – EBC (2004). Verlag Hans Carl. Nürnberg, Germany, Method 9.42.

FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements. (1998a) Vitamin C. Bangkok, Thailand, Food and Nutrition Division FAO, Rome. 73-80.

FAO/WHO expert consultation on human vitamin and mineral requirements. (1998b) Vitamin E. Bangkok, Thailand, Food and Nutrition Division FAO, Rome. 121-128.

Farkas, G. (2007). Új technológiai lehetőségek alkoholszegény sörök előállítására. Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem. Budapest.

Fix, G. (1993). Diacetyl: Formation, Reduction, and Control Republished from BrewingTechniques' July/August

Foyer, C. (1993). Antioxidants in Higher Plants: Ascorbic acid. CRC Press, Boca Raton, 31-58.

- Franke, S.I.R., Ckless, K., Silveira, J.D., Rubensam, G., Brendel, M., Erdtmann, B., Henriques, J.A.P. (2004). Study of antioxidant and mutagenic activity of different orange juices. *Food Chemistry* 88(1) 45-55.
- Frei, B. (1991). Ascorbic acid protects lipids in human plasma and low-density lipoprotein against oxidative damage. *Am. J. Clin. Nutr.* 54. 113–118.
- Gardner R.J., McGuinness, J.D. (1977). Complex phenols in brewing: a critical survey, *MBAA Technical Quarterly* 14. 250–260.
- Goldammer, T. (2000). *The Brewers' Handbook*. Apex Pub Publishing
- Grimmer, H., Torline, P. (2003) Consistency to the consumer. *Proc. Conv. Inst. Guild Brew.* 9th Victoria falls, Zambia
- Grossman, H.J. (1983): *Grossman's Guide to Wines, Beers, and Spirits*. Wiley Publishing 7th edition
- Güçlü, K., Sözgen, K., Tütem, E., Özyürek, M., Apak, R. (2005). Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)–neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals. *Talanta*. 65(5). 1226-1232.
- Halliwell, B., Evans, P.J., Cecchini, R. (1992) Oxidative damage to lipids and  $\alpha_1$ -antiproteinase by phenylbutazone in the presence of haem proteins: protection by ascorbic acid. *Biochemical Pharmacology* 44(5). 981-984.
- Hancock, R.D., Galpin, J.R., Viola, R. (2000). Biosynthesis of L-ascorbic acid (vitamin C) by *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Letters*. 186(2). 245-250.
- Hashimoto, N., Eshima, T. (1979) Oxidative degradation of isohumulones in relation to flavour stability of beer. *Journal of the Institute of Brewing* 85. 136–140.
- Hashimoto, N., Kuroiwa, Y. (1975) Proposed pathways for the formation of volatile aldehydes during storage of bottled beer. *Proceedings of the American Society of Brewing Chemists.* 33. 104–111.
- Heick, H.M.C., Stewart, H.B., Graff, G.L.A., Humpers, J.E.C. (1969). The occurrence of ascorbic acid in the yeast *Lypomyces starkeyi*. *Can. J. Biochem.* 47. 751–752.

- Heick, H.M.C., Graff, G.L.A., Humpers, J.E.C. (1972). The occurrence of ascorbic acid among the yeasts. *Can. J. Microbiol.* 18. 597–600.
- Hofman, T., Schieberle, P. (1997). Identification of potent aroma compounds in thermally treated mixtures of glucose/cysteine and rhamnose/cysteine using aroma extract dilution techniques, *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 45. 898–906.
- Huang, H., Cai, R., Du, Y., Zeng, Y. (1995). Flow-injection stopped-flow spectrofluorimetric kinetic determination of total ascorbic acid based on an enzyme-linked coupled reaction. *Analytica Chimica Acta.* 309(1-3). 271-275.
- Isherwood, F.A., Chen, Y.T., Mapson, L.W. (1954). Synthesis of L-ascorbic acid in plants and animals. *Biochemistry* 56. 1–15.
- Iwase, H. (2003). Routine high-performance liquid chromatographic determination of ascorbic acid in foods using L-methionine for the pre-analysis sample stabilization. *Talanta.* 60. 1011-1021.
- Jackson, M. (2007). *Beer eyewitness companions.* Dorling Kindersley Publishing
- Jain, A., Chaurasia, A., Verma, K.K. (1995). Determination of ascorbic acid in soft drinks, preserved fruit juices and pharmaceuticals by flow injection spectrophotometry: Matrix absorbance correction by treatment with sodium hydroxide: *Talanta.* 42(6). 779-787.
- Jeney-Nagymáté, E. (2004). *Elektron Spin Rezonancia: Íz-stabilitás meghatározása. Söripari Műszaki Napok*
- Johnson, H. (2005). *A bor története.* Park Könyvkiadó
- Kalman, A., Mujahid, C., Mottier, P., Heudi, O. (2003). Determination of  $\alpha$ -tocopherol in infant foods by liquid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 17(7). 723-727.
- Kamal-Eldin, A., Appelqvist, L. (1996) The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 31. 671–701.
- Kaneda, H., Kano, Y., Koshino, S., Ohyanishiguchi, H. (1992). Behavior and role of iron ions in beer deterioration. *J. Agr. Food Chem.* 40. 2102-2107.

Kaneda, H., Kano, Y., Osawa, T., Kawakishi, S., Kamada, K. (1989). The role of free radicals in beer oxidation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 47. 49-53.

Kime, G.: (2006) A bor titkai: A bor világa egy bennfentes szemével. Scolar Kiadó

Kasparova, S., Brezova, V., Valko, M., Horecky, J., Mlynarik, V., Liptaj, T., Vancova, O., Ulicna, O., Dobrota, D. (2005). Study of the oxidative stress in a rat model of chronic brain hypoperfusion, *Neurochem. Int.* 46. 601–611.

Klampfl, C.W., Buchberger, W., Haddad, P.R. (2000): Determination of organic acids in food samples by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 881(1-2). 357-364.

Klein, H., Krammer, R. (1997). Früherkennung der geschmacklichen Instabilität des Bieres. *Proc. EBC Congr. Österreichische Brau AG, Linz.* 580-582.

Kobayasi, N., Kaneda, H., Kuroda, H., Kobayasi, M., Kurihara, T., Watari, J., Shinotsuka, K. (2000) Simultaneous determination of mono-, di-, and trihydroxyoctadecenoic acids in beer and wort. *J. Inst. Brew.* 106. 107-110.

Kojo, S. (2004). Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress, *Curr. Med. Chem.* 11. 1041–1064.

Kontush, A., Finckh, B., Karten, B., Kohlschutter, A., Beisiegel, U. (1996). Antioxidant and prooxidant activity of alpha-tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *Journal of Lipid Research.* 37. 1436-1448.

Kretschmer, H. (1996). Dissertation, Technische Universität München

Kube, H. (1997). Einsatz von feinstvermahlen Malzmehlfractionen im Sudhaus und deren Auswirkungen auf die Würze- und Bierqualität. Diplomarbeit. Technische Universität. München.

Kunze, W. (1996). Technologie und Mälzer. VLB Berlin, Verlagsabteilung

Kuroda, H., Kobayashi, N., Kaneda, H., Watari, J., Takashio, M. (2002). Characterization of factors that transform linoleic acid into di- and trihydroxyoctadecenoic acids in mash. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 93. 73–77.

Lásztity, R., Törley, D.(1987): Az élelmiszeranalítika elméleti alapjai. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó

Leubolt, R., Klein, H. (1993). Determination of sulphite and ascorbic acid by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of chromatography* 640(1-2). 271-277.

Lewis, M.J., Bamforth, C.W. (2006): *Essays in Brewing Science*. Springer Publishing

Lewis, M.J., Young, T.W. (2002): *Brewing*. Springer Publishing

Lie, S., Haukeli, A. D., Jacobson, T. (1975). The effect of chelators in brewery fermentation. *Proc. EBC Congr., Nizza*, 601-614.

Liebler, D.C., Burr, J.A., Philips, L., Ham, A.J.L. (1996) Gas chromatography-mass spectrometry analysis of vitamin E and its oxidation products. *Anal. Biochem.* 236. 27–34.

Liégerois, S., Lermusieau, G., Collins, S. (1999) Flavour and flavour stability. EBC Sub-group Meeting, Nancy

Loewus, F.A. (1988). *The Biochemistry of Plants: Ascorbic acid and its metabolic products*. Vol. 14. Academic Press, New York, 85-107.

Loewus, F.A. (1999) Biosynthesis and metabolism of ascorbic acid in plants and of analogues of ascorbic acid in fungi. *Phytochemistry*. 52. 193–210.

Luque-Pérez, E., Ríos, A., Valcárcel, M. (2000): Flow injection spectrophotometric determination of ascorbic acid in soft drinks and beer. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 366. 857-862.

Lustig, S., Miedaner, H., Narziss, L. (1993) Untersuchungen flüchtiger Aromastoffe bei der Bieralterung mittels multidimensionaler Gaschromatographie, *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*. 445–452.

Magyar Élelmiszerkönyv, 2-96 irányelv, Sör

Marsili, R. (2001): *Flavor, Fragrance & Odor Analysis (Food Science and Technology)*. CRC Publication

Mathé, G. (1999). Red wine, green tea and vitamins: Do their antioxidants play a role in immunologic protection against cancer or even AIDS? *Biomedecine & Pharmacotherapy* 53(4). 165-167.

Matos, R.C., Augelli, M.A., Pedrotti, J.J., Lago, C.L., Angnes, L. (1998): Amperometric differential determination of ascorbic acid in beverages and Vitamin C tablets using a flow cell containing an array of gold microelectrodes modified with palladium. *Electroanalysis*. 10(13). 887-890.

Mattivi, F., Monetti, A., Vrhovek, U., Tonon, D., Andrés-Lacueva, C. (2000) High-performance liquid chromatographic determination of the riboflavin concentration in white wines for predicting their resistance to light. *Journal of Chromatography A* 888(1-2). 121-127.

May, J.M., Mendiratta, S., Hill, K.E., Burk, R.F. (1997). Reduction of dehydroascorbate to ascorbate by the selenoenzyme thioredoxin reductase. *J. Biol. Chem.* 272. 22607–22610.

Meisel, R. (1996) Flavour stability-A broader perspective. Presented at the Hungarian Brewers Society Meeting, 2-16.

Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M., Heredia, F.J. (2007). Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. *Food Chemistry* 101(1). 177-184.

Mercz, Á., Kádár, Gy. (2001) *Borászati kislexikon*. Mezőgazda Kiadó

MSZ 8761-4:1995. Sör. Érzékszervi bírálat

MSZ 8761-6:2002. Sör. A szín meghatározása spektrofotometriás módszerrel

MSZ 8761-7:1993. Sör. A pH-érték meghatározása

MSZ 8761-9:2002. Sör. A szén-dioxid-tartalom meghatározása titrálásos módszerrel (referencia-módszer)

MSZ 8761-10:2002. Sör. Az alkohol-, az extrakttartalom és az erjedési fok meghatározása

- Mukai, K., Nishimura, M., Ishizu, K., Kitamura, Y. (1989). Kinetic study of the reaction of vitamin C with vitamin E radicals (tocopheroxyls) in solution. *Biochim. Biophys. Acta* 991. 276–279.
- Narziss, L. (1981), *A sörgyártás (Abriss der Bierbrauerei)*, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Narziss, L., Sekin, Y. (1974) Variation of polyphenol oxidase during the malting and brewing process. *Brauwissenschaft*. 27. 277-284.
- Neven, H. (1997). Evolution of top fermented beer esters during bottle conditioning and storage: chemical versus enzymatic hydrolysis. *Dissertationes de Agricultura* 333, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium.
- Nick, J.A., Leung, C.T., Loewus, F.A. (1986). Isolation and identification of erythroascorbic acid in *Saccharomyces cerevisiae* and *Lypomyces starkeyi*. *Plant Sci*. 46. 181–187.
- Noel, S., Collin, S. (1995) Trans-2-nonenal degradation products during mashing. *Proceedings of the European Brewing Convention Congress, Brussels*. IRL Press: Oxford, 483-490.
- Nordberg, J., Arnér, E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine* 31(11). 1287-1312.
- Ohloff, G. (1978). Recent developments in the field of naturally-occurring aroma components, *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* 35. 431–527.
- Oñate-jaén, A., Bellido-milla, D., Hernández-artiga, M.P. (2006). Spectrophotometric methods to differentiate beers and evaluate beer ageing. *Food Chemistry: Analytical, Nutritional and Clinical Methods*. 97(2). 361-369.
- O'Rourke, T. (2002a): Colloidal stabilisation of beer. *Brewer-International*. 1. 23-25.
- O'Rourke, T. (2002b). Technical summary 2: The function of wort boiling. *Brewer-International* 2. 17-19.
- O'Rourke, T. (2003). Technical summary: Hops and hop products. *Brewer-International* 3. 21-25.
- Packer, L. (1997). *Vitamin C in health and disease (Antioxidants in health and disease, Vol 5)* CRC Publisher

- Pelizzetti, E., Mentasti, E. (1979). Simultaneous kinetic determination of uric acid ascorbic acid mixtures. *Analytica Chimica Acta*. 108. 441-443.
- Pellerin, F., Dumitrescu, D. (1980). Dosage des vitamines lipo et hydrosolubles dans les preparations polyvitaminees par chromatographie liquide haute performance. *Talanta*. 27(3). 243-251.
- Porro, D., Sauer, M. (2003). Ascorbic acid production from yeast  
<http://www.freepatentsonline.com/6630330.html>
- Priest, F.G., Campbell, I. (1996) *Brewing Microbiology*. London: Chapman & Hall
- Pryor, W.A. (2002). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials, *Free Rad. Biol. Med.* 28. 141–164.
- Raspor, P., Plesničar, S., Gazdag, Z., Pesti, M., Miklavčič, M., Lah, B., Logar-Marinsek, R., Poljšak, B. (2005) Cell Biology in the Ukraine: Prevention of intracellular oxidation in yeast: the role of vitamin E analogue, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylkroman-2-carboxyl acid). *Cell Biology International*. 29(1.) 57-63.
- Rivas, A., Rodrigo, D., Company, B., Sampedro, F., Rodrigo, M. (2007). Effects of pulsed electric fields on water-soluble vitamins and ACE inhibitory peptides added to a mixed orange juice and milk beverage. *Food Chemistry* 104(4). 1550-1559.
- Rose, A.H., Harrison, J.S. (1970) *The Yeasts*. Volume 1, 2, 3. London and New York: Academic Press.
- Rosenau, T., Habicher, W.B. (1995) *Tetrahedron* 51. 7919–7926.
- Roy, R.B., Conetta, A., Salpeter, J. (1976). Automated fluorometric method for determination of total vitamin C in food products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 59. 1244-50.
- Running, J.A., Huss, R.J., Olsen, P.T. (1994). Heterotrophic production of ascorbic acid by microalgae. *J. Appl. Phycol.* 6. 99–104.
- Sádecká, J., Polonský, J. (2000). Electrophoretic methods in the analysis of beverages *Journal of Chromatography A*. 880(1-2). 243-279.



Setiadi, D.H., Chass, G.A., Torday, L.L., Varro, A., Papp, J.Gy. (2002). Vitamin E models. Shortened sidechain models of  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  and  $\delta$  tocopherol and tocotrienol—a density functional Journal of Molecular Structure: Theochem 637(1-3). Pages 11-26.

Setiadi, D.H., Chass, G.A., Torday, L.L., Varro, A., Papp, J.Gy. (2003). Vitamin E models. Can the anti-oxidant and pro-oxidant dichotomy of  $\alpha$ -tocopherol be related to ionic ring closing and radical ring opening redox reactions? Journal of Molecular Structure: Theochem 620(2-3). 93-106.

Shao, Y.Y., Seib, P.A., Kramer, K.J., Van Galen, D.A. (1993) Synthesis and properties of D-erythroascorbic acid and its vitamin C activity in tobacco hornworm (*Manduca sexta*). J. Agric. Food Chem. 41. 1391–1396.

Sobiech, R.M., Neumann, R., Wabner, D. (1998). Automated voltammetric determination of reducing compounds, Electroanalysis 10. 969–975.

Speck, A.J., Schrijver, J., Schreurs, W.H.P. (1983). Fluorometric determination of total vitamin C in whole blood by high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization. J. Chrom. B. 305. 53-60.

Stoyanovsky, D.A., Wu, D., Cederbaum, A.I. (1998). Interaction of 1-Hydroxyethyl Radical With Glutathione, Ascorbic Acid and  $\alpha$ -Tocopherol. Free Radical Biology and Medicine. 24(1). 132-138.

Stueven, R. (2003). Technical Note: Down With Diacetyl, or Banish Buttery Butanedione! Green Bay Packers newsletter

Sváb, J. (1981). Biometriai módszerek a kutatásban. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó.

Takahasi, Y. (1997). Pilotversuche über der Einfluss der verschiedenen Maischparameter auf die Eigenschaften der Würze und des Bieres unter besonderer Berücksichtigung der Geschmackstabilität. Dissertation, Technische Universität. München

Tanács, L. (2005). Élelmiszer-ipari nyersanyagismeret. Szaktudás Kiadó Ház Zrt.

The Meilgaard Beer Flavour Wheel (2006).

<http://www.beerandpoetry.com/Beer/guide/flavorwheel.asp>

Thum, B., Miedaner, H., Narziss, L., Black, W., (1995). Bildung von Alterundscarbonylen – mögliche Mechanismen und Bedeutung bei der Bierlagerung, Proceedings of the European Brewery Convention Congress. 491–498.

Tütem, E., Apak, R., Günaydi, E., Sözgen, K. (1997): Spectrophotometric determination of vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) using copper(II)-neocuproine reagent. *Talanta*. 44(2). 249-255.

Uchida, M., Ono, M. (1996). Improvement for oxidative flavour stability of beer – Role of the OH-radical in beer oxidation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 54. 198-204.

Uchida, M., Ono, M. (2000a). Technological approach to improve beer flavour stability: Adjustment of wort aeration in modern fermentation systems using the electron spin resonance method, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 58. 30-37.

Uchida, M., Ono, M. (2000b) Technological approach to improve beer flavour stability: Analysis of the effect of brewing processes on beer flavour stability by the electron spin resonance method. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 58. 8-13.

Uchida, M., Suga, S., Ono, M. (1996). Improvement for the oxidative flavour stability of beer – Rapid prediction method for beer flavour stability by Electron Spin Resonance Spectroscopy. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 54. 205-211.

Umamo, K., Hagi, Y., Nakahara, K., Shyoji, A., Shibamoto, T. (1995). Volatile chemicals formed in the headspace of a heated d-glucose/l-cysteine Maillard model system, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43. 2212–2218.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160(1). 1-40.

Vanderhaegen, B. (2004) Flavor stability of beer – essential role of furfuryl ethyl ether in staling. *Dissertationes de agricultura* 618, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium.

Vanderhaegen, B., Neven, H., Daenen, L., Verstrepen, K.J., Verachtert, H., Derdelinckx, G. (2004) Furfuryl ethyl ether: Important aging flavor and a new marker for the storage conditions of beer, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52. 1661–1668.

Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H., Derdelinckx, G. (2006) The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chem.* 95. 357-381.

- Wagner, H. P., McGarrity, M. J. (1991). The use of pulsed amperometry combined with ion-exclusion chromatography for the simultaneous analysis of ascorbic acid and sulfite. *J-Chromatogr.* 546(1-2). 119-24.
- Walker, G. (1997). *Yeast physiology and biotechnology*, School of molecular and life sciences, University of Albartay Dundee, John Wiley & Sons
- Webb, G.A. (2006). *Modern Magnetic Resonance*. Springer Publishing
- Wheeler, G.L., Jones, M.A., Smirnoff, N. (1998). The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature* 393. 365-369.
- Willetts, M., Clarkson, P., Cooke, M. (1997). The use of capillary zone electrophoresis to determine lactate, pyruvate and other organic acids in neonatal urine *Early Human Development.* 49(1). 76-77.
- Williams, R.S., Wagner, H.P. (1979). Contribution of hop bitter substances to beer staling mechanisms, *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 37. 13–19.
- Yanagi, K., Ishibashi, Y., Kondo, H., Oka, K., Uchida, M. (1997) Neue Methoden zur Beurteilung von Geschmackstabilität, Schaumeigenschaften und- stabilität von Bier. *Brauwelt.* 21/22. 841-859.
- Yuan, J.P., Chen, F. (1999). Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section: Simultaneous separation and determination of sugars, ascorbic acid and furanic compounds by HPLC—dual detection. *Food Chemistry.* 64(3). 423-427.
- Zhi-Hua, C., Bo, Z., Li, Y., Long-Min, W., Zhong-Li, L. (2001). Antioxidant activity of green tea polyphenols against lipid peroxidation initiated by lipid-soluble radicals. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* 1835 – 1839.