

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**Az ásványi anyag tartalom tanulmányozása a sörgyártás  
műveleti lépései során**

Hegyesné Vecseri Beáta

Budapest, 2004

**A doktori iskola**

**megnevezése:** Élelmiszertudományi Doktori Iskola

**tudományága:** Élelmiszertudományok

**vezetője:** Dr. Fekete András, DSc  
egyetemi tanár  
Budapesti Corvinus Egyetem

**Témavezető:** Dr. Hoschke Ágoston CSc  
egyetemi tanár  
Sör- és Szeszipari Tanszék  
Élelmiszertudományi Kar  
Budapesti Corvinus Egyetem

**A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:**

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezető jóváhagyása

**A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanács 2004. június 2-i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:**

**BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:**

**Elnöke**

**Farkas József, MHAS, BCE, Hűtő és Állati Termék Technológia Tanszék**

**Tagjai**

**Biacs Péter, DSc, BCE/Magyar Élelmiszerbiztonsági Hivatal**

**Fodor Péter, DSc, BCE, Alkalmazott Kémia Tanszék**

**Szigeti Jenő, CSc, NYME Élelmiszertudományi Kar**

**Póttagok:**

Hajós Gyöngyi CSc, KÉKI, Biokémiai Osztály

Pásti György, PhD, BCE, Borászati Tanszék

Korány Kornél, CSc, BCE, Élelmiszerkémia Tanszék

Koncz Kálmánné, PhD, BCE, Hűtő és Állati Termék Technológia Tanszék

**Opponensek**

**Réczey Istvánné, CSc, Budapesti Műszaki Egyetem**

**Kállay Miklós, PhD, BCE, Borászati Tanszék**

**Pótopponensek:**

Bédek György, PhD

Fodor Péter, DSc, BCE, Alkalmazott Kémia Tanszék

**Titkár**

**Magyar Ildikó, PhD, BCE, Borászati Tanszék**

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>1 BEVEZETÉS</b> .....	<b>1</b>
<b>2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b> .....	<b>3</b>
2.1 A sörgyártás alap és pótanyagai .....	4
2.1.1 Víz .....	4
2.1.2 Maláta .....	6
2.1.3 A komló .....	10
2.1.4 Pótanyagok .....	10
2.2 A söripari cefrőzés .....	11
2.2.1 Az alfa-amiláz enzim jellemzése .....	12
2.2.1.1 Az $\alpha$ -amilázok felépítése és a kalcium szerepe az enzimes struktúrában ....	13
2.2.1.3 A kalcium koncentráció hatása az $\alpha$ -amilázok aktivitására .....	16
2.3 Fermentáció .....	18
2.3.1 A sörélesztő ásványi anyag igénye .....	19
2.3.2 A kalciumion szerepe a fermentációban .....	22
2.3.2.1 A kalcium és a sörerjedés kapcsolata .....	22
2.3.2.2 A kalciumion szerepe az élesztő flokkulációjában .....	24
2.3.3 A cink szerepe a fermentációban .....	26
2.3.3.1 A cinkhiány hatása a sör erjesztési folyamataira .....	28
2.3.3.2 A cink mennyiségének alakulása és pótlásának lehetőségei .....	30
2.4 A kész sör stabilitása .....	31
2.4.1 A kalcium szerepe a sör stabilitásában .....	35
2.4.2 Egyéb ionok szerepe a kész sör stabilitásában, ízében .....	37
2.4.3 A szűrési segédanyagok szerepe a sör stabilitásában .....	37
2.5 Az ásványi anyagok a sörgyártás során és a kész sörben .....	39
<b>3 KÍSÉRLETI CÉLKITŰZÉS</b> .....	<b>42</b>
3.1 Anyagok és módszerek .....	42
3.1.1 Berendezések .....	42
3.1.2 Felhasznált anyagok .....	43
3.1.3 Módszerek .....	44
3.1.3.1 Sörlé előállítás .....	44
3.1.3.2 Erjesztés .....	45
3.1.4 Analitikai módszerek .....	46
<b>4 KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK</b> .....	<b>52</b>
4.1 A sörök ásványi anyag tartalmának meghatározása .....	52
4.1.1 Az ICP-AES mérési technika optimalizálása .....	52
4.1.2 Sörök ásványi anyag tartalmának vizsgálata .....	56
4.2 A kalcium és a cink szerepe a söripari cefrőzésnél és erjesztésnél .....	64
4.2.1 A kalcium koncentrációjának hatása a cefrőzési folyamatokra .....	64

4.2.2 A cink koncentrációjának változása a sörlé előállítás során .....	73
4.2.3 Az ionos és komplex kötésben lévő cink szétválasztása ioncserével.....	76
4.3 A kalcium és a cink szerepe az erjesztésnél .....	80
4.3.1 A kalcium koncentrációjának hatása az erjesztésre .....	80
4.3.2 A cinkkoncentráció hatása az erjesztési folyamatra .....	83
4.4 A kalcium szerepe a kész sör stabilitásában .....	89
4.4.1 A kritikus pontok meghatározása .....	89
4.4.2 A kristályosodást elősegítő kalcium koncentráció, a hőmérséklet és a hűntartás időtartamának meghatározása .....	90
4.5 A szűrési segédanyagokból kioldódó ásványi anyagok.....	92
<b>5 ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>	<b>99</b>
<b>6 SUMMARY .....</b>	<b>104</b>
<b>7 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK .....</b>	<b>109</b>
<b>FELHASZNÁLT IRODALOM.....</b>	<b>111</b>
<b>MELLÉKLETEK.....</b>	<b>120</b>

# 1 BEVEZETÉS

Régóta tudjuk, hogy a sörök ásványi anyagokat is tartalmaznak. A makro- és mikroelemek kimutatására, mennyiségük pontos meghatározására azonban csak az analitikai módszerek fejlődése nyomán, az utóbbi néhány évtizedben kerülhetett sor. Ezen anyagok többsége csak igen kis mennyiségben fordul elő ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ -es nagyságrendben), így kimutatásuk a klasszikus kémiai analitikai módszerekkel nehézkesen vagy egyáltalán nem lehetséges.

A sörben lévő ásványi anyagok vizsgálata két szempontból jelentős. Az első - legfontosabb kérdés - a fogyasztóra gyakorolt élettani hatás. A sörben lévő makro- és mikroelemek a szervezetbe kerülnek és befolyásolják annak működését. Az egy főre eső átlag sörfogyasztás Magyarországon mintegy 75 l évente, ami a sörivők esetében akár évi több száz liter lehet. Ilyen mennyiség mellett nagy jelentőséggel bír a sörök ásványi anyag tartalma, ami megfelelő ionösszetétel esetén élettanilag kedvező hatást gyakorolhat az emberi szervezetre, hozzájárulhat az ásványi anyag veszteség pótlásához. Ugyanakkor élelmiszerbiztonsági szempontból is meg kell vizsgálni a kérdést: a fokozódó környezetszennyezés mellett egészségre ártalmas anyagok is kerülhetnek az italba. Így érthető, hogy alapvető szempont a sörben lévő ásványi anyagok mennyiségének pontos ismerete.

A másik szempont az ásványi anyagok söripari technológiára gyakorolt hatása. A sörfőző vízből származó és az alapanyagokból kioldódó ásványi anyagok a cefrőzés hatékonyságát befolyásolják, aktiválhatják vagy gátolhatják az enzimes lebontási folyamatokat. A sörlé és az élesztő makro- és mikroelem tartalma a fermentáció lefolyására gyakorol hatást, megváltoztathatja az erjedés során keletkező anyagcsere-termékek összetételét és mennyiségi arányát. A kész sör ásványi anyag tartalma a sör ízére hat, valamint az eltarthatóságot befolyásolja.

Az elmúlt években több olyan technológiai probléma jelentkezett a söriparban, amely az ásványi anyagok koncentrációjával mutatott összefüggést. A szakirodalomban az ásványi anyagok sörtechnológiára gyakorolt hatásaival kapcsolatos közlemények eléggé ellentmondásosak és hiányosak. Ez arra irányította a figyelmemet, hogy térképezzem fel az ásványi anyagok koncentrációváltozásait a sörgyártás műveleti lépései során és szükség esetén határozzam meg az optimális makro- és mikroelem koncentrációkat.

Kutatómunkám fő célkitűzései:

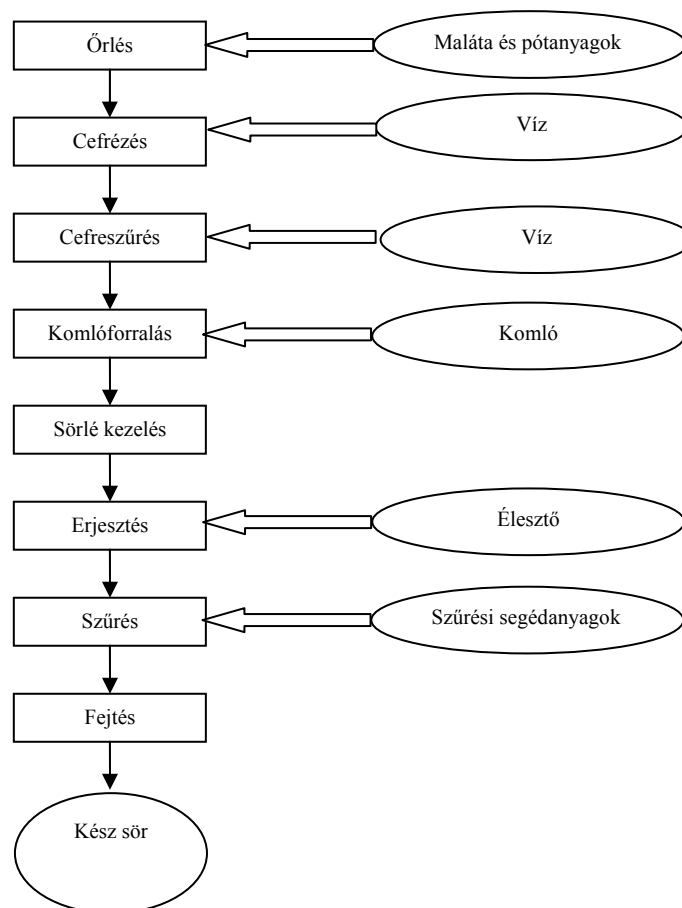
1. Méréstechnika kidolgozása a sörök ásványi anyag tartalmának meghatározására. Különböző sörtípusok ásványi anyag tartalmának meghatározása és statisztikai elemzése
2. Ásványi anyagok (kalcium és cink) koncentrációváltozásainak és a technológiára gyakorolt hatásainak nyomonkövetése a sörgyártás műveleti lépései során
3. A kész sörök stabilitását befolyásoló tényezők tanulmányozása

## 2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A sör malátából valamint pótanyagokból (sörárpa, kukoricaőrlemény, rizs és más szénhidrát-tartalmú termékek) vízzel cefrézett, komlóval illetve egyéb engedélyezett anyagokkal ízesített, sörlesztővel erjesztett, szén-dioxidban dús, általában alkoholtartalmú ital (Magyar Élelmiszerkönyv, 1997).

Az ásványi anyagok a sörgyártás során felhasznált alap- és segédanyagokból kerülnek a sörbe. Régebben a technológiai berendezésekből is oldódhattak fémek a sörbe, mára azonban ez a probléma a saválló acél berendezések alkalmazásával gyakorlatilag megszűnt.

A sörgyártás műveleti lépései a következők:



1. ábra A sör előállításának műveleti lépései



## 2.1 A sörgyártás alap és pótanyagai

### 2.1.1 Víz

A víz természetes körfolyamataiból adódóan, valamint az egyes vízlelőhelyek talajszelvényeinek geológiai ill. kémiai jellemzőinek következtében igen eltérő összetételű lehet. A sör előállításánál a vízben oldott sók egy része a maláta, a komló, valamint a sörlé anyagaival egyesülve átalakul, és elsősorban az enzimes folyamatokra gyakorol hatást. A reakciók a sók fajtáitól és koncentrációjától, a maláta összetételétől és a sörgyártási technológiától függenek (Narziss, 1981). A vízben oldott sók mennyisége és minősége határozza meg az egyes sörgyárak egymástól eltérő, egyedi jellegű söreit. A különböző sör típusok kialakulása jelentős mértékben a speciális vízösszetételre vezethető vissza. A pilseni sörök például igen lágy, 2-3 német keménységi fokú forrásvízből készülnek, míg a szintén híres müncheni söröknél nem ritka a 20 német keménységi fokú sörfőző víz sem. Az évszázadok során a sörfőzők az adott vízhez fejlesztették ki a sör típusaikat: a pilseni sörök erősen komlózott, gyenge malátaaromával rendelkező termékek, mivel a komló keserűanyagok oldhatósága a lágy vízben jobb, a bajor sörök viszont malátás karakterű, sötét, gyengén komlózott italok.

A sörfőző víznek meg kell felelnie az ivóvíz minőségi követelményeinek, ám ezen túlmenően további kritériumokat támasztanak vele szemben.

Az 1. táblázatban a sörfőző víz ásványi anyag tartalmával kapcsolatos követelményeket foglaltam össze. A közölt határértékek egyrészt a német ivóvízszabványban szereplő, másrészt a sörgyártás szempontjából megállapított koncentrációértékek.

**1. táblázat A sörfőző víz ásványi anyag tartalma (Brauwelt Brevier, 1997)**

Elem	Határérték (mg/l)	Elem	Határérték (mg/l)
Arzén	0,01*	Réz	3
Ólom	0,04*	Cink	5
Kadmium	0,005*	Bór	1
Króm	0,05*	Kalcium	400 (sörspecifikus)**
Nikkel	0,05*	Vas	0,1**
Higany	0,001*	Kálium	12
Ón	0,01*	Magnézium	50 (sörspecifikus)**
Szelén	0,01*	Mangán	0,01**
Alumínium	0,2*	Nátrium	150
Bárium	1*	Ezüst	0,01

\*Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelindustrie (1990)

\*\*Sörspecifikus határértékek

Sörtechnológiai szempontból legnagyobb jelentőségű a sörfőző víz kalcium és magnéziumtartalma, valamint a hidrokarbonátok mennyisége. Ezen ionok a cefre és a sörlé savasságát befolyásolják (Heyse, 1995). A cefre pH-növekedése az enzimes tevékenységet gátolja, amely alacsonyabb fehérje-bontásfokot és szűrési nehézségeket okoz. Az enzimes reakciók lassításán – gátlásán kívül a komló keserűanyagok hasznosulására is negatívan hat a pH növekedés. A keserűanyagok magasabb pH értéken molekulárisan oldódnak, míg alacsonyabb értéknél kolloidálisan oldott, nemes keserűséget eredményeznek (Hopulele, 1972). A nátriumkarbonátok szintén pH-növekedést okoznak, nagy koncentrációban a nátrium enzim-inhibítorként hat. A sör illatát, ízét, habtartóságát a víz ionjai közvetlenül vagy közvetetten befolyásolják, bár ma már tudjuk, hogy nem a koncentrációk a döntőek, hanem az adott elem kémiai formája. A sok mangánsó a vizet sötétre színezi, a vas fémes, tintaszerű ízhibát okoz a kész sörben.

A vízben lévő sók nagy hatást gyakorolnak a malátában és a sörlében lévő foszfátokra is. A foszfátokkal való kölcsönhatás miatt kalcium-foszfát csapódik ki (Kellner et al., 1987), ugyanakkor a magnézium-foszfát oldatban marad. Mind a bikarbonátok, mind az alkáli-földfém ionok a foszfátok kicsapódását, ezzel a pufferanyagok csökkenését idézik elő.

Jacob (1985) 100 sörgyár különböző vízlelőhelyeiről származó vízminta nyomelem-tartalmát vizsgálta. Mérési eredményeit a 2. táblázat tartalmazza.

**2. táblázat Sörfőző vizek nyomelemtartalma (Jacob, 1985. nyomán)**

Elem	Átlag (µg/l)	Max. (µg/l)	Min. (µg/l)	Határérték* (µg/l)	Hazai határérték** (µg/l)
Arzén	1,83	41,7	<0,05	10	10
Ólom	2,9	63,7	<0,4	40	10
Kadmium	0,12	6,1	<0,02	5	5,0
Króm	0,51	12,3	<0,2	50	50
Higany	0,04	2,01	<0,01	1	1,0
Szelén	0,14	1,73	<0,04	10	10

\*Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelindustrie (1990)

\*\*201/2001.(X.25.) Korm.Rendelet

Az arzén a természetes eróziós folyamatokon kívül a vasgyártásnál a vas-szulfid pörkölésekor, a félvezető gyártás, a gyógyszergyártás és a növényvédő szerek előállításánál kerül a környezetbe, ebből következően területenként eltérő a vizek arzén szennyezettsége. A szelén viszonylag ritka elem, a talajban található kevés kivételtől eltekintve csak kis mennyiségben fordul elő. A korábban toxikusnak kikiáltott elem újabban az érdeklődés középpontjában áll mint természetes gyökfogó, az öregedési

folyamatok késleltetője. A kadmium az arzénhez hasonlóan környezetszennyezés eredményeként szivárog a talajba. A krómról tudjuk, hogy vannak toxikus oxidált formái. Jacob mérési eredményei szerint a nyomelemek koncentrációja igen széles határok között mozog. Egyes esetekben - amelyekben a mért érték meghaladta az ivóvíz szabvány határértékeit – a nagy koncentrációk környezetterhelésre voltak visszavezethetők.

A söriparban napjainkban kezelt vizet használnak fel, így szinte tetszés szerint beállítható az ionösszetétel. A vízkezelés leggyakrabban ioncserélő oszlop vagy reverz ozmózis segítségével valósul meg. Az ioncserés eljárásoknál általában kationcserélőt használnak, és a sörfőző víz bikarbonátokkal sót képző kationjait, esetenként az összes kationt eltávolítják (Blank, 1995.) Ha a vas- és mangántartalom meghaladja a 0,2 illetve a 0,05 mg/l-es koncentrációt, levegőztetéssel lehet eltávolítani (Maloia, 1964).

### **2.1.2 Maláta**

A sörgyártás alapanyaga általában a kétsoros tavaszi vetésű árpából készült maláta. A malátagyártás során feldolgozásra kerülő árpa ásványi anyag tartalmát a termőhely, a fajta és az évjárat határozza meg.

Az ásványi anyagok az ásványkincsek feltárásával és feldolgozásával és a civilizációs körfogás velejárójaként jelennek meg. A kultúrnövények terhelése nem csupán ipari- és közlekedési eredetű lehet, hanem a termesztés-technológiából (talajjavító- és növényvédőszer, trágyázás) is származhat.

A kritikus elemek különböző vegyületi formákban jelennek meg. A porral lecsapódó külsődleges szennyező anyagok leginkább szerves vegyületek (oxidok, halogenidok, szulfidok). A normális reszorpció során a talajból felvett elemek a biokémiai folyamatok eredményeként elsősorban szerves vegyületek formájában vannak jelen a növényekben. Mindkét típus toxikológiailag különböző, ezért nehéz a határértékeket megadni (Jacob, 1985).

Az árpában fellelhető ásványi anyagok döntő részét a kálium és a foszfor alkotja. A foszfátok primer, szekunder és terciér foszfátok formájában fordulnak elő és a pufferkapacitás biztosításában játszanak jelentős szerepet. A nyomelemek közül a cink, a mangán és a réz fordul elő, továbbá azok a nyomelemek, amelyeket a mag a környezetterhelés következtében vesz fel: a kadmium (átlagos értéke az árpában

0,03-0,07 ppm), az arzén (0,003-0,018 ppm), a króm (0,04-0,13 ppm) és a cink (18-32 ppm). A nehézfémek a talajból kerülnek az árpába (Narziss, 1995; 1999).

Hopulele (1972) a termesztési körülmények hatását vizsgálta az árpa ásványi anyag tartalmára. A trágyázás következtében az árpa káliumtartalma csak kissé változott, a nátrium koncentráció változásában nem volt határozott tendencia, leginkább csökkenés volt tapasztalható. A trágyázás a kalcium és magnézium felvételére sem gyakorolt lényeges hatást. A cinktartalom csökkent, a vas és mangán koncentrációja azonban a trágyázással emelkedett.

Az évjárat a nátrium-, vas-, mangán- és cinktartalmat, a fajta a kálium-, kalcium-, magnézium- és réztartalmat befolyásolta határozottabban.

Az átlagos ásványi anyag tartalmak láthatók a 3. táblázatban.

### 3. táblázat Átlagos ásványi anyag tartalmak az árpában (Hopulele, 1972)

Elem	Koncentráció (mg/100 g szárazanyag)	Elem	Koncentráció (mg/100 g szárazanyag)
Kálium	346	Réz	0,59
Nátrium	3,32	Vas	4,86
Kalcium	71,7	Mangán	1,38
Magnézium	126	Cink	3,57

A malátagyártás során némiképp módosul az ásványi anyagok koncentrációja. Az áztatás alatt a nyomelemek egy része kilúgozódik és az áztatóvízbe kerül (Kieninger & Beck, 1979). A malátázás paramétereinek közül a csíráztatás időtartama gyakorolja a maláta ásványi anyag tartalmára a legnagyobb hatást. Rövid csíráztatás után nagyobb a malátában az ásványi anyagok koncentrációja, mint hosszabb időtartam után. Ez különösen azokra a fémekre érvényes, amelyek a csírában gyűlnek össze, mint pl. a kálium, a réz és a mangán. A hosszú áztatás és a csírázó árpa nagyobb víztartalma erősebb kilúgozódáshoz és az intenzívebb gyökércsira növekedés miatt nagyobb veszteséghez vezet. A csíráztatási és aszalási hőmérséklet nem gyakorolt különösebb hatást a kész maláta ásványi anyag tartalmára (Hopulele, 1972).

Pomeranz és Dikeman (1976) hasonló megállapításra jutottak. A csíráztatás alatt az ásványi anyag transzport nem egyöntetűen megy végbe, így a rövidebb ideig csíráztatott maláta több káliumot, rézet és nátriumot tartalmaz, mint a hosszabb ideig csíráztatott. Mändl és munkatársai szerint (1972) a malátagyártás során a legnagyobb a kálium veszteség. A fajtakülönbségek jobban befolyásolják az ásványi anyag tartalmat, mint a szénhidrát-, fehérje- vagy szervessav-tartalmat.

A 4. táblázatban a malátában mért ásványi anyag koncentrációkat foglaltam össze. A táblázat adataiból kitűnik, milyen széles határok között mozognak a koncentrációk, fajtától, termőhelytől, évjárattól függően.

A maláta tényleges fémtartalma mellett egyéb tényezőket is figyelembe kell venni. Jakobsen és Lie 1977-ben felállított teóriája szerint a fémionok a maláta vegyületeihez kémiai kötással kapcsolódnak. A cefrőzés során olyan vegyületek válnak oldhatóvá, amelyek képesek a fémionokat magukhoz kapcsolni. Így jönnek létre a kelátkomplexek, ahol az oldható vegyület a kelátképző, amely a fémiont két vagy több különböző funkcionális csoport segítségével megköti. A sörlébe kerülő fémionok mennyisége egyrészt az oldott kelátképzők mennyiségétől függ, másrészt attól, hogy a fémionok eredetileg milyen kötéstípussal kapcsolódtak a maláta oldhatatlan vegyületeihez. A fémionok mellett a kelátképzők a hidrogénnel is képesek kapcsolódni.

A sörlében számos, vagy már a malátában eleve oldott, vagy a cefrőzés során oldhatóvá vált kelátképző található. Ezek peptidek, proteinek, aminosavak, polimerizált polifenolok, és fitinsavak lehetnek, amelyek kémiai felépítésüknél fogva képesek oldható komplexek formájában az ólmot, kadmiumot, krómot és higanyt felvenni. A fémionok ezen vegyületek karboxil-, szulfhidril-, O-difenol-, amin- vagy hidroxilcsoportjához kapcsolódnak.

A fémionok kelátképzését a pH-érték mellett számos más ion és komplexképző anyag is befolyásolhatja, amelyek összefüggései még jórészt ismeretlenek. Emellett még fennáll annak a lehetősége is, hogy úgynevezett vegyes komplexet képezzenek, például aminosav – szerves sav – fémion komplexet. Ezek általában sokkal stabilabbak, mintha csupán egy szerves sav vagy egy aminosav kapcsolódna össze a fémionnal (Martin et al., 1973).

Donhauser és munkatársai (1983), valamint Narziss és munkatársai (1980) a cink stabilitását vizsgálták a cefrőzés folyamatában a szabad aminonitrogén mennyiségének függvényében. Megállapították, hogy számos olyan aminosav fordul elő a sörcéfrében, amelyek fémkelát képzési hajlammal bírnak. Ezek elsősorban a cisztein és a hisztidin, amelyek a rézzel, vassal és cinkkel vegyülnek (Sillen & Martel, 1971).

#### 4. táblázat A maláta ásványi anyag tartalma

Elem	Mennyiség (mg/kg szárazanyag)	Hivatkozás
Kálium	556	Mändl et al. (1972)
	3520-5401	Pollock et al. (1979)
	348	Narziss (1999)
Magnézium	184	Mändl et al. (1972)
	720-1305	Pollock et al. (1979)
	700-1260	Jacobsen & Lie (1979)
Kalcium	123	Narziss (1999)
	100	Mändl et al. (1972)
	12-23	Schur et al. (1980)
Cink	210	Ljubanina et al. (1981)
	191-1280	Pollock et al. (1979)
	460-680	Jacobsen & Lie (1979)
	73	Narziss (1999)
	3,7	Mändl et al. (1972)
	15-25	Jacobsen & Lie (1979)
Nátrium	23,6-45,1	Pollock et al. (1979)
	35-65	Jacobsen et al. (1981)
	12-56	Rudolff et al. (1985)
	35	Donhauser et al. (1983)
	3,0	Narziss (1999)
	6	Mändl et al. (1972)
Vas	2,5	Narziss (1999)
	6,1	Mändl et al. (1972)
Mangán	3,9	Narziss (1999)
	2,1	Mändl et al. (1972)
Réz	1,4	Narziss (1999)
	0,44	Narziss (1999)
Arzén	$16,6 \cdot 10^{-3}$	Jacob (1985)
Ólom	$58,5 \cdot 10^{-3}$	Jacob (1985)
Kadmium	$1,4 \cdot 10^{-3}$	Jacob (1985)
Króm	$230,0 \cdot 10^{-3}$	Jacob (1985)
Higany	$2,0 \cdot 10^{-3}$	Jacob (1985)
Szelén	$13,8 \cdot 10^{-3}$	Jacob (1985)

### 2.1.3 A komló

A komlóval a sörlébe kerülő ásványi anyagok nem játszanak számottevő szerepet a sörtechnológiában, ugyanis a komló igen kis mennyiségben (1 – 2,5 g/l) kerül a sörlébe (Knorr & Kremkov, 1972). Valószínűleg ez az oka annak, hogy igen kevés kutató foglalkozott a komló ásványi anyag összetételével.

Jacob 1985-ben kritikus nyomelemek előfordulását kutatta a komlóban.

#### 5. táblázat Komlókészítmények mikroelem-tartalma (Jacob, 1985. nyomán)

Elem	Koncentráció (µg/kg szárazanyag).			
	Natúrkomló	Komlópellet	Alkoholos extrakt	Metilénkloridos extrakt
Arzén	135	171	<10	150
Ólom	1323	1921	336,8	4043
Kadmium	31	44	8,2	40,4
Króm	711	817	108,6	1620,6
Higany	29	56	<4	11,9
Szelén	<25	<25	<25	<25

A natúrkomló és a komlópellet közötti különbségeket feltehetően az okozza, hogy a komlópellet több szírom- és fedőlevelet tartalmaz, amelyekben nagyobb mennyiségben halmozódnak fel a mikroelemek, mint a komló orsójában. A komlókivonatok közül az alkoholos kivonat kis arzéntartalmával tűnik ki. Az agresszívebb oldószer, a metilén-klorid jóval nagyobb mennyiségben képes a komlóban jelenlévő nyomelemek kioldására.

### 2.1.4 Pótanyagok

A maláta részleges helyettesítésére egyéb szénhidrát-tartalmú anyagok is felhasználhatók, maximum 30 % mennyiségben. Leggyakrabban csíráatlanított tengeri grízzel vagy darával pótolják a malátát, de használható sörárpa, rizs és izocukor is. A kukorica és a rizs ásványi anyag tartalma a 6. táblázatban található.

**6. táblázat. A rizs és a csíráztatott kukoricaliszt ásványi anyag tartalma (Bíró & Lindner, 1999. nyomán)**

Elem	Mennyiség (mg/kg szárazanyag)		Elem	Mennyiség (mg/kg szárazanyag)	
	Rizs	Kukorica		Rizs	Kukorica
Kalcium	24	7	Nátrium	3	4
Magnézium	76	55	Vas	2,16	5,7
Kálium	347	224	Cink	2,03	0,99

## 2.2 A söripari cefrézés

A sörlé előállítás első műveleti lépése a maláta és a pótanyagok aprítása a bennük található extrakt-tartalom kinyerése érdekében. Ezt a cefrézés követi, amelynek célja a maláta és pótanyagok oldható anyagainak kinyerése, a nem oldható komponensek enzimes biokonverziója és oldatba vitele. A lebontási folyamatokat a malátában lévő enzimek katalizálják. Az amiláz mellett szerephez jutnak a fehérjebontó enzimek, amelyek a fehérjéket különböző molekulásúlyú lebontási termékeken keresztül aminosavakká képesek bontani. A sejtfalbontó enzimek a maláta hemicellulózainak lebontása révén hozzáférhetővé teszik a sejtekben lévő keményítőt.

A söripari cefrézés legfontosabb enzimes folyamata a **keményítőbontás**. A malátakeményítő szemcsék formájában halmozódik fel, amilóz és amilopektin elegye. A keményítőszemcsék oldódása a vízzel való keverés és melegítés közben több lépcsőben megy végbe, miközben mechanikai, kémiai és enzimes folyamatok játszódnak le. Az enzimek a keményítőben lévő kötések hidrolízisét illetve szintézisét specifikusan katalizálják.

A következő enzimek vehetnek részt a reakcióban:

- $\alpha$ -amiláz ( $\alpha$ -1,4-es kötések hidrolizálja)
- $\beta$ -amiláz ( $\alpha$ -1,4-es kötések bont, maltózegységeket hasít le a poliszacharidlánc nem redukáló végéről)
- glükóamiláz ( $\alpha$ -1,4-es és  $\alpha$ -1,6-os kötések egyaránt bontja. Glükózegységeket hasít le a nem redukáló láncvégekről)
- pullulanáz ( $\alpha$ -1,6-os kötések bont)
- $\alpha$ -D-glükozidáz,  $\alpha$ -D-glükánáz, izoamiláz (Gasztonyi, 1979)



A keményítőbontást a söripari cefrézés során gyakorlatilag két enzim, az  $\alpha$ - és a  $\beta$ -amiláz végzi. A  $\beta$ -amiláz exoenzim (EC 3.2.1.2.) már a nyugvó állapotú árpában is megtalálható, mégis jórészt csak a csírázás alatt aktiválódik aktivátorok segítségével vagy az inhibitorok lebontása (a protoplazmatikus kötésből történő felszabadítása) révén. Az  $\alpha$ -amiláz enzim (EC 3.2.1.1.) az árpa csírázása során keletkezik. Mennyiségét a csírázás paraméterei - oxigén, nedvességtartalom, hőfokvezetés – jelentősen befolyásolják (Narziss, 1999).

A cefrézés során a keményítőbontás a két maláta eredetű amiláz enzim hatására következik be. A cefrében 60-65°C-os hőmérsékleten a  $\beta$ -amiláz enzim erjeszhető szénhidrátokra és  $\beta$ -határdextrinekre, 70-75°C-os hőmérsékleten az  $\alpha$ -amiláz enzim túlnyomó részt nem erjeszhető szénhidrátokra bontja a keményítőt. Az előbbinek a sör alkoholtartalma szempontjából, az utóbbinak a kész sör teltsége, habzási képessége szempontjából van jelentősége.

### **2.2.1 Az alfa-amiláz enzim jellemzése**

$\alpha$ -1,4-D-glükán-glükonohidroláz, köznapi nevén  $\alpha$ -amiláz a poli- és oligoszacharidokat bontja. Az endoenzimes hatásmechanizmussal rendelkező enzim a keményítő belső  $\alpha$ -1,4-D-glükozidos kötéseit hidrolizálja. A reakció hatására keletkező termékek között különböző hosszúságú oligoszacharidok és redukáló cukrok keletkeznek. Az enzim működéséhez legalább három 1,4-kötésű  $\alpha$ -D-glükózt tartalmazó oligoszacharidra van szükség. Az amilopektinek lebontásának feltétele az, hogy két  $\alpha$ -1,6-D elágazás között legalább hat glükóz egységből álló szakasz legyen. Az enzim a magas polimerizációs fokú (lineáris) amilóz láncokat hidrolizálja a legkönnyebben, legnehezebben pedig az  $\alpha$ -1,4-es kötést tartalmazó rövid oligoszacharidokat, vagy a sok  $\alpha$ -1,6-os kötéseket tartalmazó, rövid  $\alpha$ -1,4-es lánccal bíró amilopektint. Teljes enzimes bontás esetén glükóz, maltóz, oligoszacharidok, és  $\alpha$ -határdextrinek keletkeznek. A maltóz és az általában 6-7 glükózegységből álló oligoszacharidok az endoenzim jelleg miatt nem bomlanak tovább kisebb egységekre, a határdextrinek pedig az  $\alpha$ -1,6 egységek miatt (Hoschke (1991); Holló & Hoschke, (1993); <http://www.genome.ad.jp/dbget-bin/www.bget?ec:3.2.1.1>; <http://www.expasy.ch/cgi-bin/niceprot.pl?ANY3-WHEAT>).

Az  $\alpha$ -amilázok eredetüket tekintve lehetnek

- Bakteriális eredetűek (pH-optimum: 5,5 – 7,0; hőmérséklet-optimum: 65 - 85°C; aktivátorok:  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ . Inhibitorok: kelátképzők, oxalátok, nehézfémionok, szabad klór)
- Penészgomba eredetűek (pH-optimum: 5,5 – 6,0; hőmérséklet-optimum: 45 - 55°C; aktivátorok:  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ . Inhibitorok: nehézfémionok)
- Növényi  $\alpha$ -amilázok (pH-optimum: 4,7 – 5,5; hőmérséklet-optimum: 55 - 60°C; aktivátorok:  $\text{Ca}^{++}$ . Inhibitorok: oxidálószeresek, nehézfémionok)
- Állati eredetűek (Hoschke, 1991)

A különböző eredetű enzimek sok tulajdonságukban megegyeznek, ugyanakkor eltérések is vannak köztük. Az *Aspergillus oryzae* által termelt enzim pH-optimumában megegyezik a maláta eredetű  $\alpha$ -amiláz pH-optimumával (pH= 5-6), csupán a hőmérsékleti optimumban van eltérés (a maláta eredetű enzim optima magasabb). A maláta és a penészgomba eredetű enzim hőmérsékleti optimum különbsége az eltérő primer aminosav szerkezetnek tulajdonítható, míg a pH-optimum azonosság az aktív centrum homológiájának tulajdonítható, mivel az aktív centrum konformációja, és a reakciócsoportok aktivitása (disszociációs foka) erősen függ a pH értéktől (Nyeste, 1997).

A söriparban a maláta-eredetű amilázoknak van elsődleges szerepe, amelyek elsősorban a cefrézés folyamán hasznosulnak. Rosszul oldott maláták és nagy pótanyag felhasználás esetén alkalmaznak ipari, elsősorban penész eredetű  $\alpha$ -amiláz enzimeket is.

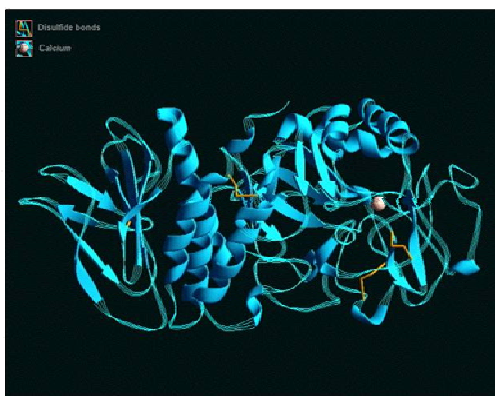
### **2.2.1.1 Az $\alpha$ -amilázok felépítése és a kalcium szerepe az enzimes struktúrában**

Az elmúlt években több tanulmány született a gomba eredetű  $\alpha$ -amilázok, mint tipikus keményítő hidrolizáló enzimek szerkezetének felépítéséről. Az enzim három doménból áll: A vagy katalitikus, B és C domén. Néhány mikrobiális  $\alpha$ -amiláznak a karboxil-terminális régióban van egy extra doménje (E), ami a keményítő adszorpciójában játszik szerepet (Ohdan et al., 1999).

Boel és munkatársai (1990) az *Aspergillus oryzae* eredetű Taka  $\alpha$ -amiláz szerkezetét tanulmányozták. A feltárt térszerkezet alapján tudjuk, hogy az enzim 476 aminosavból áll. A fő-domén az N-termináltól számított első 374 aminosavat foglalja magába. Két kalcium kötőhellyel rendelkezik. Az  $\alpha$ -amiláz enzim aktív térszerkezetének kialakításában a

kalcium szerepe elengedhetetlen, mivel csak az elsődleges kalciumkötő helyre beépült ion alakítja ki azt a térszerkezetet, amely az aktív centrumot működővé teszi. Az elsődleges kötőhelyen a kalciumiont nyolc ligandum erősen rögzíti, és az aktív konformációt biztosítja. A másodlagos kötőhely a szubsztrát kötő- és hasító helyének alján van. Itt a katalízisben szerepet játszó aminosavak is részt vesznek a kalciumion kötésében, ezért nagy kalciumion koncentrációnál a kalcium gátló hatással van az enzimre, beékelődik a szubsztrát és az enzim molekula közé, illetve leköti a reakcióban aktívan résztvevő funkció csoportokat, ezáltal rontja az enzim aktivitását.

A Taka  $\alpha$ -amiláz molekula háromdimenziós modellje a 2. ábrán látható.



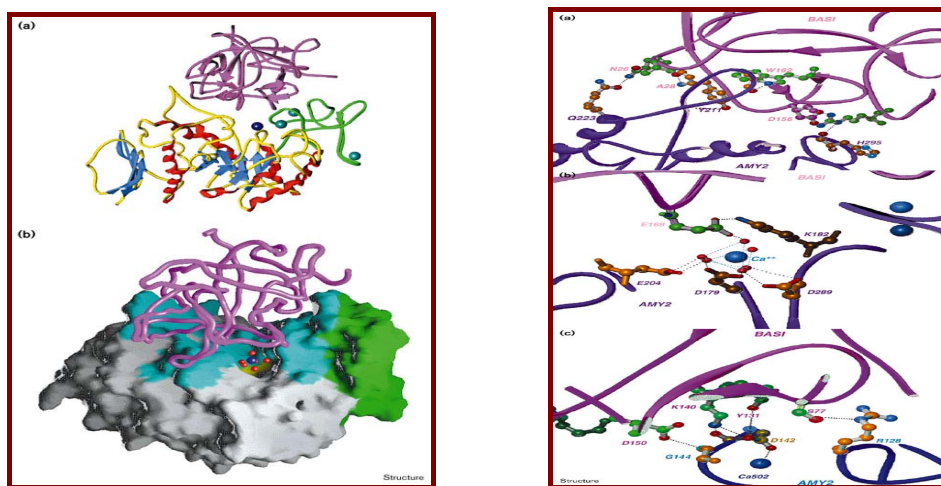
**2. ábra** A Taka alfa-amiláz molekula 3D-s modellje a  $\text{Ca}^{++}$  kötőhellyel (Branden & Tooze, 1991)

Az árpa eredetű  $\alpha$ -amiláz malátázáskor szintetizálódik. Az enzim mérete 45 kDa, és a csírázás során a keményítőbontást végzi. A legjelentősebb  $\alpha$ -amiláz izomer enzim (AMY2) nagy affinitással kötődhet egy inhibitorhoz (BASI), amely gátolja az AMY2 működését. A kis izoenzim (AMY1) érzéketlen a BASI gátló hatására. A BASI egy 19,6 kDa méretű kétfunkciós protein, ami szimultán gátolja az AMY2-t és a szerin proteázt. Az AMY2 három jól elkülöníthető részt tartalmaz: a nagy méretű, központi domén A-t, a kiálló, kanyarban elhelyezkedő domén B-t valamint a domén C-t vagy C-terminált, amely 5 összefont antiparallel  $\beta$ -lap (Vallée et al., 1998). A kutatási munka eredménye szerint az AMY2 403 aminosav-gyökből, 3 kalcium-ionból és 153 vízmolekulából áll. Karbonil atomok és vízmolekulák alkotják a fő láncot, a kalcium ionok a domén B részben vannak megkötve, meghatározva annak alapvető struktúráját (Kadziola et al., 1994).

Az AMY2 aktív oldalán egy V-alakú hasadás található, ide tartozik a DOMAIN A, és a DOMAIN B régióknak egy része. A BASI inhibitor szilárdan kötődik ehhez a részhez,

akadályozva az enzim aktív oldala és a szubsztrát közötti kapcsolódást, így gátolja a keményítő lebontást, késlelteti az idő előtti csírázást. Az AMY2-BASI kötésben található egy üreges hely, amely formáját tekintve ideális kalciumion felvételére. Ez a képesség elősegíti a gátló hatást, amint az enzim aktív oldalának aminosav oldallánca közvetlenül kapcsolódik egy vízmolekulával (Vallée et al., 1998).

A 3. ábrán látható az enzim-fehérje komplex:



(1)

(2)

### 3. (1) és (2) ábra AMY-BASI komplex (Vallée et al., 1998)

Az 3. (1) (a) ábrán a lila szín mutatja a BASI inhibítort, a zöld az AMY2 DOMAIN B része, a késsel illetve pirossal az AMY2  $\beta$ -lap és az  $\alpha$ -hélix szerkezete látható. Világoskék a 3 kötött kalciumion, amelyek az  $\alpha$ -amiláz szerkezetének stabilizálásában játszanak fontos szerepet. A sötétlila az a kalciumion, mely az AMY 2 és a BASI között helyezkedik el.

A 3. (1) (b) az AMY2 felszíne. A zöld a DOMAIN B részt, a kék a hasadásba beékelődött kalciumiont, a piros pedig ehhez a kalciumhoz kapcsolódó vízmolekulákat mutatja.

A 3. (2) ábra részletesebb betekintést ad az enzim és az inhibitor kapcsolódásáról. Világosabb lila színnel a BASI-t, míg sötétebb lilával az AMY2-t láthatjuk, a zöld és a barna szín az oldalláncokat mutatja.

A 3. (2) (a) ábrán láthatók a hidrogénkötések, amelyek a két egységet összekötik. A (2) (b) ábrán a kalcium híd szerepel, ami a komplexet jellemzi. A 3. (2) (c) AMY2 DOMAIN B része és a BASI közötti kapcsolat, továbbá látható az enzim szerkezetét stabilizáló egyik kötött állapotú kalciumion (Ca502).

Az elsődleges kötőhely - ahol a Taka amilázhoz hasonlóan nyolc ligandum rögzíti a kalcium iont – az aktív konformáció biztosításához nélkülözhetetlen. A másodlagos kalcium kötőhely a szubsztrát kötő- és hasítóhelyének alján található. Itt a katalízisben

szerepet játszó Asp 206 és Glu 236 aminosavak is részt vesznek a  $\text{Ca}^{++}$  ion kötésében. Ez a magyarázata a nagy kalcium koncentrációnál fellépő enzimaktivitás gátlásnak ([www.worthington-biochem.com/manual/A/A.A.html](http://www.worthington-biochem.com/manual/A/A.A.html)).

### 2.2.1.3 A kalcium koncentráció hatása az $\alpha$ -amilázok aktivitására

Az  $\alpha$ -amiláz struktúrájából következően adódott a következő kérdés: vajon milyen kalcium koncentráció kell az enzim térszerkezetének stabilizálásához és mely koncentráció okoz gátlást az enzimaktivításban? Egyformán viselkednek-e a különböző eredetű  $\alpha$ -amilázok?

Babu és Satyanarayana (1993) extracelluláris  $\alpha$ -amilázt vontak ki *Bacillus coagulans*-ból. Megállapították, hogy a kalcium gátolja az  $\alpha$ -amiláz aktivitást még kis, 10mM-os koncentrációnál is. A reaktiválás EDTA-val elvégezhető. Más kationok, a  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$  és  $\text{Hg}^{++}$  szintén gátolták az enzimaktivitást, míg a  $\text{Mn}^{++}$  csekély stimulációs hatást mutatott.

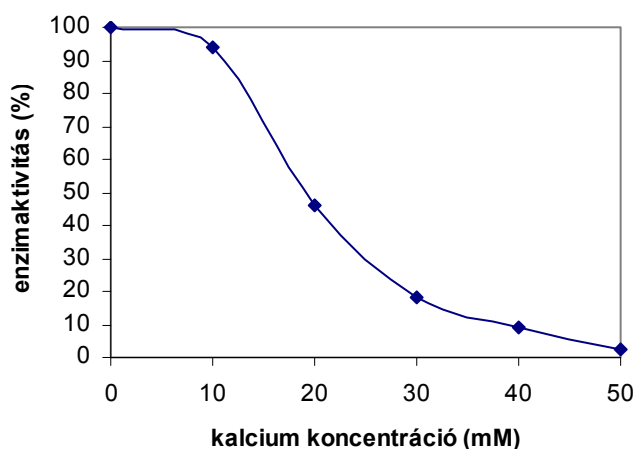
A *Bacillus subtilis* és a *Bacillus stearothermophilus* enzimeit négy  $\text{Ca}^{++}$  ion tartalmazza. A kristályos TAKA-amilázban 10  $\text{Ca}^{++}$  ion található, de csak egy szilárdan kötött.

A *Bacillus amyloliquefacies* enzimben a  $\text{Ca}^{++}$ -nak van a legnagyobb hatása a stabilitásra és a konformációra. A *Bacillus stearothermophilus*-ból származó enzim csak kalcium jelenlétében volt stabil, az ion hozzáadása nélkül az enzim nem mutatott aktivitást 70°C-on, ám 50 mM  $\text{Ca}^{++}$  jelenlétében a 60°C-os aktivitás 25%-a volt tapasztalható 90°C-on.

A *Bacillus caldolyctus* amiláza kalcium vesztés következtében aktivitást nem mutató alegységekre esett szét, ám aktivitása helyreállítható volt 0,5 mM kalcium adagolásával 70°C-on és 1-5 mM kalcium hozzáadással 80°C-on. Hasonló eredményre jutott Lecker és Khan (1996) is. A *Bacillus licheniformis* és a *Bacillus brevis* kalcium független és stabil, amit EDTA hozzáadásával bizonyítottak.

A kalcium, ami a legtöbb  $\alpha$ -amilázt stabilizálja, gátolja a *Bacillus licheniformis* MY10, a *Pichia polymorpha* és a *Schwaniomyces castelli* enzimeit. A két értékű kationok, mint a magnézium, mangán és higany az amiláz aktivitást eltérő módon befolyásolják. A magnézium növeli az aktivitást a *Bacillus licheniformis*-ban, ellenben nincs hatással a *Bacillus caldolyticus*-nál, gátló hatása van a *Bacillus licheniformis*-ban és a *Bacillus brevis*-ben. A *Bacillus sources* eredetű  $\alpha$ -amiláz vizsgálata során megállapították, hogy kalcium hiányában az enzim inaktiválódás két lépcsős. Az első lépésben egy reverzibilis inaktiválódási folyamat játszódik le, amelyet a kalcium ion disszociációja okoz, amit a második, irreverzibilis lépés követ, a fémion nélküli protein (apoenzim) hőinaktivációja, a denaturálódás. Rámutattak arra is, hogy a hígabb enzimes oldat sokkal hajlamosabb az inaktiválódásra, mint a töményebb.

Boel és munkatársai (1990) a kalcium enzimaktivitásra gyakorolt hatásának vizsgálatán a 4. ábrán látható eredményekre jutottak.



\*a méréseket a Phadebas analitikai módszernek megfelelően végezték (Pharmacia Diagnostics). Puffer 0,1 M acetát; a reakció közeg enzim-koncentrációja  $1,01 \cdot 10^{-4}$  mg/cm<sup>3</sup>; hőmérséklet 30°C

#### 4. ábra Az *Aspergillus oryzae* (TAKA) $\alpha$ -amiláz enzimaktivitásának változása a kalcium koncentráció függvényében (Boel et al, 1990)

Ceci és Lozano (2002) Tyazyme L300-as  $\alpha$ -amiláz enzimmél vizsgálták a pH, hőmérséklet és a kalcium koncentráció enzimaktivitásra gyakorolt hatását. Megállapították, hogy növekvő hőmérsékleteken kis kalcium koncentráció mellett növekszik az  $\alpha$ -amiláz stabilitása, ami 0,05 g/l CaCl<sub>2</sub> adagolása mellett a 90 %-os hőpusztulási idő 30 %-al történő emelkedését eredményezte. Ennél nagyobb CaCl<sub>2</sub> mennyiség csökkentette az enzim hőstabilitását. Hasonló eredményre jutottak gomba eredetű  $\alpha$ -amilázok vizsgálatokor Igarashi és munkatársai (1998), Ikawa és munkatársai (1998), Witt és Sauter (1996) és Wykes és munkatársai (1971) is. A stabilitás a kalcium ionoknak az enzim terciér struktúrájában betöltött szerepéből származik, valószínűleg pótolják a diszulfidhidak hiányát. A kalcium adagolás destabilizáló hatását nagyobb koncentrációnál Marchal és munkatársai (1999) szintén megfigyelték. Néhány, *Thermophilic archea*-ból származó  $\alpha$ -amiláz enzimmél megfigyelhető volt, hogy nem gyakorolt aktivitásukra hatást a kis kalcium szint, míg más eredetű enzimeket azonban gátolt a nagy kalcium koncentráció.

Az  $\alpha$ -amiláz enzimek ipari alkalmazása során gondot okozhat az  $\alpha$ -amilázok „kalcium függősége”. A NOVO cég nemrégiben egy olyan, ipari szempontból fontos  $\alpha$ -amiláz enzimet fejlesztett ki, amely működéséhez nem igényli kalcium jelenlétét. Ez a Thermamyl LC nevű enzim ugyanazt a teljesítményt nyújtja kalcium hiányában, mint a Thermamyl

enzim 40 mg/l szabad kalcium jelenlétében. A fejlesztés 5 egyszerű aminosav szubsztitúciójának és egy N-terminál módosításának eredményeként született (Bisgaard et al., 1999).

Az eddigiekből látható, hogy a kalcium meghatározó szerepet tölt be az  $\alpha$ -amiláz enzimek aktivitásában, hőstabilitásában. Korántsem lehet azonban olyan kalcium-koncentráció intervallumot megállapítani, amely minden amiláz enzim számára optimális, eredettől függően más és más kalcium-igénnyel lépnek fel.

### **A téma helyzete a söriparban**

A söriparban a vízkezelés bevezetése óta napirenden vannak az extrakt-kihozatali problémák. A gondok hátterében leggyakrabban a nem megfelelő  $\alpha$ -amiláz aktivitás áll. Az  $\alpha$ -amiláz enzim aktiválása céljából a cefrészővízhez kalcium-szulfátot vagy kalcium-kloridot adagolnak, előfordul oltott mészh használata is. A kalcium mennyiségének beállítása azonban nem egzakt, a szakirodalomban a maláta eredetű  $\alpha$ -amiláz optimális kalcium koncentrációra vonatkozóan nem található adat. Ljubanina és munkatársai (1981) a sörlé optimális kalcium koncentrációjának a 6 mg/l-es értéket találták. A problémát növeli még az a tény, hogy mind a kalcium hiány, mind a kalcium túladagolás gondot jelenthet az  $\alpha$ -amiláz enzim aktivitása szempontjából és befolyásolhatja az optimális cefrészést.

## **2.3 Fermentáció**

A sörlé erjesztése a *Saccharomyces cerevisiae* fajba sorolt ipari sörélesztő segítségével megy végbe. Az élesztő csak mono-, di- és triszacharidok metabolizmusára képes, a nagyobb oligomereket (dextrineket) már nem erjeszti (Deák, 1998).

A hideg sörlébe annyi élesztőt adagolnak, hogy a kiindulási sejtkoncentráció elérje a  $10^7$  sejt/ml-es értéket. A főerjedésre a szénhidrátok gyors asszimilációja a jellemző, míg az utóerjedés során a szénhidrát-fogyás lassul, helyette az érés, tisztulási folyamatok kapnak hangsúlyt.

### 2.3.1 A sörélesztő ásványi anyag igénye

Az élesztő optimális működéséhez (a szaporodásához és a fermentációhoz) szervetlen ionok szükségesek, makromólos vagy mikromólos koncentrációban.

Mivel az élesztő az ásványi anyagokat csak a környezetéből veheti fel (aktív transzport és közvetett diffúzió útján) így a sejt működéséhez az optimális környezet megteremtése rajtunk múlik.

Az ionok szerepe az élesztő sejtben kettős, enzimes és szerkezeti funkciót látnak el. Az enzimműködésre gyakorolt hatásuk alapján lehetnek aktivátorok, inhibitorok illetve közömbös hatásúak. Természetesen a hatások vizsgálatánál az adott ion koncentrációját figyelembe kell venni. Még a kofaktorok esetében is adódhat olyan helyzet, hogy az optimálisnál nagyobb koncentráció hatására olyan konformáció-változás következik be, amely az aktivitás csökkenését idézi elő.

Az ionok szerkezeti szerepe abban áll, hogy semlegesítik a sejtek különböző anionos egységeiben jelenlévő elektrosztatikus erőket. A polifoszfátok, a DNS, az RNS és a fehérjék esetében ezt a szerepet leggyakrabban a kálium és a magnézium tölti be. A töltött szerkezeti membránok foszfolipidjeit általában a kalcium és a magnézium árnyékolja. Úgy tűnik, hogy az egész membránra nézve a cink játszik kritikus szerepet, de más, többértékű kationok is árnyékolhatják. A sejttel foszfomannánja a kalciummal képez komplexet, bár más kationok is helyettesíthetik. Az élesztők átlagos ásványi anyag tartalma a 7. táblázatban található.

7. táblázat Az élesztők ásványi anyag tartalma (Jones & Greenfield, 1984).

Elem	Átlagos mennyiség (g/100 g sz.a.)	Elem	Átlagos mennyiség (g/100 g sz.a.)
K	2,2	Na	120*10 <sup>-3</sup>
P	1,6	Ca	60*10 <sup>-3</sup>
S	300*10 <sup>-3</sup>	Cl	50*10 <sup>-3</sup>
Mg	270*10 <sup>-3</sup>	Zn	12*10 <sup>-3</sup>

Jones és Greenfield 1984-ben összefoglalták mindazokat a kutatási eredményeket, amelyek a szaporodás és erjesztés során a különböző ionok optimális koncentrációjának meghatározására irányultak. A közölt adatok a *Saccharomyces* fajra vonatkoznak, így a *S.cerevisiae*, *S.uvarum*, *S.carlsbergensis* és *S.sake* fajok és fajtán belüli törzsek vegyes adatai.



Az élesztő szaporodásához 0,4  $\mu\text{M}$  mennyiségű **bór**ra van szükség. Az erjesztés stacionárius szakaszában 1-5  $\mu\text{M}$  gyorsítja az anyagcserét. 1 mM felett a szaporodás lelassul, 40 mM-nál leáll, ami az ionfeleslegnek többek között a glicerín-aldehidfoszfát és az alkohol-dehidrogenáz enzimre gyakorolt gátló hatásának tulajdonítható. A **kobalt** koncentrációoptimuma a szaporodásnál 0,1  $\mu\text{M}$ . Hatásos stimulátor az alkoholos erjesztésben: az alkohol-dehidrogenáz mennyiségét 40 %-al növeli. A szaporodás gátlása 90  $\mu\text{M}$  felett következik be, az erjedést 100 mM-os koncentrációnál gátolja. A **réz** szaporodást stimuláló optimális koncentrációja 1,5  $\mu\text{M}$ , de már 1  $\mu\text{M}$ -os koncentrációban növeli a glikolitikus fluxust. 10  $\mu\text{M}$  fölött a szaporodást gátolja, 0,15 M-nál leállítja. Káros hatása a sejt két funkcióját érinti: specifikus anyagcsere-zavart vált ki az enzimtevékenységben, mert a citoplazma szulfhidril csoportjaihoz kötődik. A sejtmembrán irreverzibilis károsodását okozza, nem engedi a sejtből a káliumot távozni. A **vas(II)** 1-3  $\mu\text{M}$ -os koncentrációban optimális az élesztő szaporodásához. Szaporodást és erjedést gátló hatás csak 10-15  $\mu\text{M}$  felett jelentkezik. Az ionfelesleg csökkenti a malát, piruvát, szukcinát-dehidrogenáz enzim aktivitását. 2-4  $\mu\text{M}$  **kálium** szükséges az élesztő szaporodásához. Ez alatt jelentősen csökken a sejthozam. 10 mM felett gátolja a szaporodást, a teljes gátlás 2 M-nál lép fel. A kálium jelenléte jelentősen növeli a NADP (H), az ATP, az ADP és a foszfát szintet, ezáltal növeli a glikolitikus fluxust (Jones & Greenfield, 1984). A sejten belüli kálium nagyon fontos a kétértékű kationok szállításának szabályozásában, minden kétértékű kation felvétele két  $\text{K}^+$  kiválasztásával jár. Az ion sejten lévő eloszlásának vizsgálata során rámutattak, hogy legnagyobb koncentrációban a mannóz tartalmú fehérje frakcióban van jelen, és az intracelluláris rész tartalmazza a legkisebb mennyiségben. Noha a kálium koncentrációja ebben a frakcióban a legkisebb, mégis ennek a résznek van központi szerepe a kétértékű kationok transzportjában (Mochaba et al., 1996). Jelentős szerepet gyakorol a foszfátfelvételben is, a kálium koncentrációjának növelésével csökken az élesztő által felvett foszfát mennyisége, különösen az erjesztés során. Az enzimszintézisben effektorként gyakorol hatást, egy bizonyos szubsztrátra specifikus affinitása van. Ha nincs jelen a szubsztrát a tápközegben, ahhoz a génhez kötődik, amely a szubsztrát asszimilációjához szükséges enzimet kódolja, így nem szintetizálódik az enzim. Ha a szubsztrát jelen van a tápközegben, az effektor hozzá kötődik, így az enzimszintézis végbemegy (Chandrasena & Walker, 1997).

Az élesztő „**magnézium-igénye**” a szaporodáshoz és erjesztéshez egyaránt 2-4 mM. Teljes szaporodás-gátlás 1 M-nyi mennyiségnél lép fel. A magnézium központi szerepet játszik az erjedési anyagcserében, mintegy 300 enzim működéséhez szükséges, például több

glikolitikus enzim (piruvát, karboxiláz, foszfát-transzferázok és dekarboxilázok) aktiválásában vesz részt (Jones & Greenfield, 1984). Védőfunkciót lát el az alkohol, hőmérséklet és ozmotikus nyomás okozta stresszel szemben (Walker et al., 1996). A fermentációs közegből történő foszfát felvétel függ a magnézium jelenlététől, valószínűleg azért, mert magnézium szükséges a membránon belüli funkcionális egységeket alkotó foszfor felvételi rendszerhez. Ezt a specifikus szerepet a mangán nem képes helyettesíteni (Ohwaki & Lewis, 1971; Walker et al., 1995; Orokov et al, 1975).

A **mangán** 2-4  $\mu\text{M}$ -os koncentrációban optimális a szaporodás szempontjából. 10mM feletti értékeknél a szaporodást folyamatosan gátolja, de a szénhidrát felvételre még a 40 mM-os koncentráció sem gyakorolt gátlást. Stimuláló hatása abban áll, hogy növeli a sejt nitrogén-tartalmát, elősegíti a tiamin bioszintézisét és a szabad aminosavak beépülését a fehérjébe. Felvétele a logaritmikus szakaszban a legnagyobb. 50  $\mu\text{M}$ -os koncentráció az erjedés alatt 40 %-al növeli az alkohol-dehidrogenáz mennyiségét, mert a mangán-felesleg „lekötéséhez” a sejt az enzim túltermelésével reagál. Kb. 7  $\mu\text{M}$  mangán szükséges ahhoz, hogy a cink stimuláló hatása kifejeződjék.

A **molibdén** optimális koncentrációja a szaporodás során 1,5  $\mu\text{M}$ , az erjedésnél 1,3  $\mu\text{M}$ . A szaporodás 5  $\mu\text{M}$ -nál 50 %-al csökken. A molibdén hatása a mangánéhoz hasonló, de specifikus anyagcserét befolyásoló hatásai is vannak.

A **nikkel** szaporodást és erjesztést befolyásoló hatása a szubsztrát összetételétől függ és a 10-90  $\mu\text{M}$ -os tartományban jelentkezik. 100  $\mu\text{M}$  felett gátolja a szaporodást és az erjesztést. 5 mM felett a szaporodás leáll, és az etanol termelés is csökken.

Az egyes elemek szaporodásához szükséges és a szaporodást gátló koncentrációit a 8. táblázat összefoglalóan tartalmazza.

**8. táblázat Az élesztő szaporodását stimuláló és a szaporodást gátló ionkoncentrációk** (Jones & Greenfield, 1984. nyomán).

Elem	Szaporodási optimum	Szaporodás leáll	Elem	Szaporodási optimum	Szaporodás leáll
B	0,4 $\mu\text{M}$	40 mM	Mg	2-4 $\mu\text{M}$	1 M
Co	0,1 $\mu\text{M}$	90 $\mu\text{M}$	Mn	2-4 $\mu\text{M}$	10 mM
Cu	1,5 $\mu\text{M}$	0,15 M	Mo	1,5 $\mu\text{M}$	5 $\mu\text{M}$ *
Fe (II)	1-3 $\mu\text{M}$	10-15 $\mu\text{M}$	Ni	10-90 $\mu\text{M}$	100 $\mu\text{M}$
K	2-4 $\mu\text{M}$	2 M			

\*a szaporodás 50 %-al csökken

Lie és munkatársai (1975) néhány, az erjedéshez szükséges nyomelem mennyiségét vizsgálták. Rámutattak arra, hogy az élesztő az ionos állapotú fémek felvételére képes.

A szabad fémion-tartalmat mesterséges kelátképzőkkel (EDTA és EGTA) határozták meg. Az egyes fém-kelátképzők tényleges reakcióhajlama, a kialakult komplexek stabilitása erősen pH-függő, mégpedig a hidrogén és a fémionok között fellépő versengés következtében.

Számos olyan kation is van, amelyeknek nincs stimuláló hatása, viszont különböző koncentrációkban gátolják a szaporodást és az erjesztést (8. táblázat).

**9. táblázat Szaporodást és erjesztést gátló ionkoncentrációk** (Jones & Greenfield, 1984. nyomán)

Kation	Növekedést gátló koncentráció		Erjesztést gátló koncentráció	
	Növekedést lassító	Növekedés leáll	Erjesztést lassító	Erjesztés leáll
Au <sup>+</sup> , Ag <sup>+</sup>	10 µM	1 µM	100 µM	5 mM
Cd <sup>++</sup> , Pd <sup>++</sup> , Os <sup>++</sup>	10 µM	1 mM	n.a	n.a
Al <sup>+++</sup>	2-4 mM	n.a	n.a	n.a
Cr <sup>+++</sup>	10 µM	20 mM	40 mM	n.a
Hg <sup>++</sup>	n.a	n.a	0,1 mM	1 mM
Pb <sup>++</sup> , Sn <sup>++</sup>	n.a	n.a	1 mM	n.a
Li <sup>+</sup>	0,2 M	0,6 – 1,3 M*	n.a	n.a
Na <sup>+</sup>		1-2 M	n.a	n.a

\* - a fermentlé pH-jától függően, - n.a. - nincs adat

Pasternakiewicz és Tuszynski (1997) a kalcium, a kobalt, a magnézium és a cink, valamint ezek kombinációjának hatását vizsgálták az élesztőnövekedésre és a biomassza hozamra különböző élesztőtörzsek esetében sörleiben és aerob körülmények között. A cink és a kalcium szinergens hatást mutattak a biomassza növekedésében. Nagyobb, mint 20 mmol/l-es kobalt koncentrációnál a kobalt és kalcium valamint a kobalt és magnézium együttes felhasználása csökkentette az élesztő szaporodási feltételeket, jöllehet ez a hatás a kezdeti fázisban nem volt észlelhető. A kalcium, kobalt, magnézium és cinktartalom az eredeti sörleiben nem volt kielégítő az élesztő szaporodás szempontjából.

## 2.3.2 A kalciumion szerepe a fermentációban

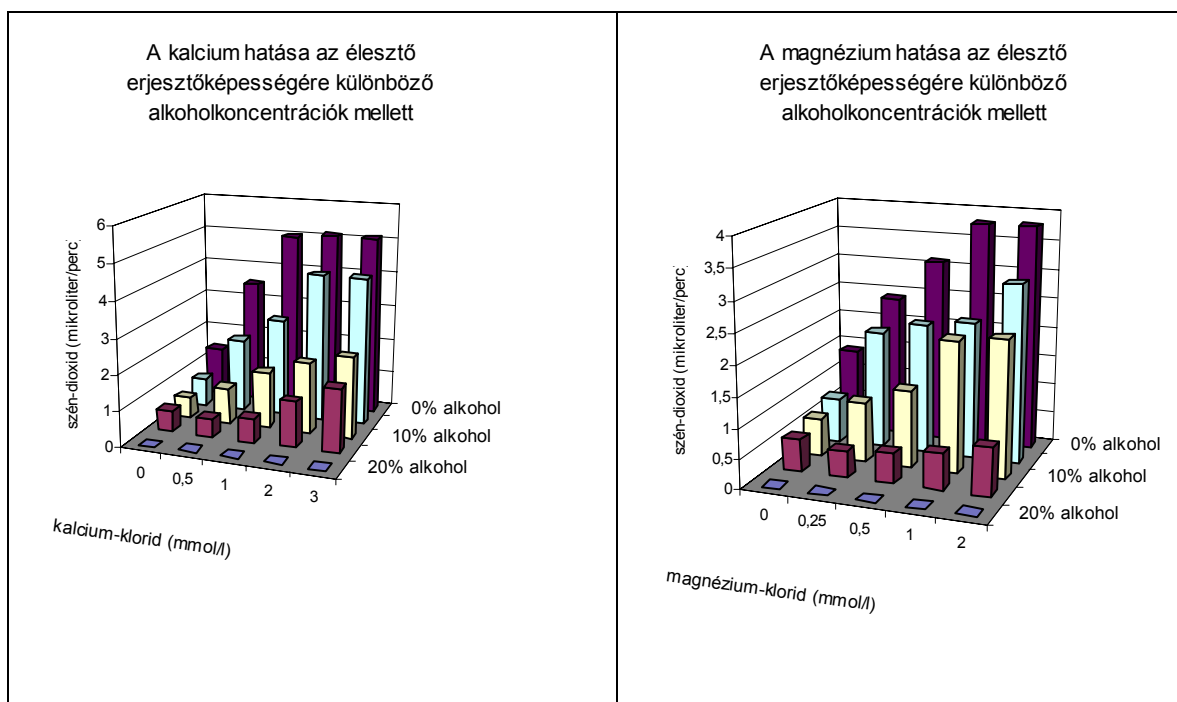
### 2.3.2.1 A kalcium és a sörerjedés kapcsolata

A kalcium élesztősejteknel betöltött nélkülözhetetlen szerepe a következőket jelenti: töltés stabilitást biztosít a membránfelületen, elősegíti a lipidek és a fehérjék közötti kölcsönhatást, szabályozza a membrán szemipermeabilitását, hatással van az élesztősejtek

flokkulációjára, elengedhetetlen szerepe van a sejtsztódásban. A kalciumion jelenlétében megnő az élesztő ellenállóképessége a környezetével szemben, tehát nagyobb lesz a stressztűrése, pl. nagyobb lesz az alkohollal és a hőmérséklettel szembeni toleranciája (Mochaba et al., 1996).

Cieserová és Dömény 1996-ban részletesen foglalkozott kalcium és magnézium sörerjesztésre gyakorolt hatásával. Meghatározták az élesztő szaporodásához szükséges kalcium optimális mennyiségét. A kalcium és magnézium ionok közel azonos méretük, tömegük és azonos töltésük miatt egymást bizonyos mértékben helyettesíthetik. Megállapításuk szerint az erjesztés folyamatára ható kedvező tulajdonságaik is hasonlóak. Mind a két ionhatással van a flokkulációra és a stressz faktorok hatásának tompítására.

Az 5. ábra a kalciumion és a magnéziumion erjedésre gyakorolt hatását ábrázolja különböző alkoholtartalmak mellett. Az erjedés intenzitását a keletkező széndioxid térfogata mutatta. Az alkohol mennyisége v/v %-ban, az adagolt  $\text{CaCl}_2$  illetve a  $\text{MgCl}_2$  mennyisége mmol/l-ben, a keletkező széndioxid  $\mu\text{l}/\text{min}$ -ban van feltüntetve. 15 % alkoholkoncentrációig a kalcium és magnézium adagok növekedésével növekedett az élesztő stressztűrő képessége.



**5. ábra A kalcium és a magnézium stressz csökkentő hatása (Ciesarová & Dömény, 1996)**

A töménysör erjesztésénél fellépő problémák enyhítésére folytatott vizsgálatokat Stewart és Rees 1996-ban, normál töménységű (12 Plato fokos) és tömény (20 Plato fokos) sörlé erjesztése során. A sörleveket 0 - 800 ppm  $\text{Ca}^{++}$  és 0 -500 ppm  $\text{Mg}^{++}$  adagolás mellett erjesztették, nyugvó és rázatott fermentáció során. Mind a normál, mind a tömény sörlé esetében a  $\text{Mg}^{++}$  adagolás javított az élesztő fermentációs képességén.

A *Saccharomyces cerevisiae* a  $\text{Ca}^{++}$ -iont a kétértékű kationokra jellemző módon, aktívan veszi fel. A kalciumnak sokkal kisebb az affinitása a transzport rendszerhez, mint a magnéziumnak (Jones & Gadd, 1990). Más kétértékű ionok is közrejátszanak a kalciumion felvétel hatékonyságában, ezek hatásának megállapítása a nagyszámú ion és a változatos koncentráció tartományok miatt alig lehetséges. A kalciumot csak a szaporodó sejtek veszik fel nagyobb mennyiségben, mivel leginkább az újonnan szintetizálódó sejtalkotókba épül be, legnagyobb mennyiségben a mannán és az intracelluláris fehérje frakciók tartalmazzák. A sejt falban a fehérjék és lipidek közötti kölcsönhatásban van jelentősége (Jones & Greenfield, 1984).

### **A téma helyzete a söriparban**

A sörlevek erjesztésében a kalciumnak összetett szerep jut, részben a sejten belüli folyamatoknál betöltött és már ismertetett kedvező vagy létfontosságú hatása, részben kifejezetten az erjedéssel és a flokkulációval kapcsolatos extracelluláris hatás miatt (Mochaba et al., 1996). Kalcium hiányában lassulhat az erjedési sebesség, a gyenge élesztő-flokkuláció miatt megnövekszik a szűrés során felhasznált kovaföld mennyisége.

A hazai söriparban a sörök zömét tömény sör formájában állítják elő (a normál töménységnél 10-20 %-al nagyobb koncentrációjú sörlevet állítanak elő, ezt erjesztik és csak a szűrés előtt hígítják a kívánt extrakttartalom értékre), ami a megnövekedett alkoholtartalom miatt stresszhatást gyakorolhat az élesztőre.

#### **2.3.2.2 A kalciumion szerepe az élesztő flokkulációjában**

Az erjedési folyamatok befejező lépéseként megindul az élesztő flokkulációja. A fermentáció alatt az élesztők különálló sejtekként lebegnek a sörlében, ekkor a legnagyobb a szubsztrátfelvevő képességük. Több ezer összetapadt élesztő egymást akadályozhatja a szubsztrát felvételben, mivel nem tudnak a sejtek egész felületükön a közeggel érintkezni. Kizárólag az erjedés végén kívánatos a flokkuláció az élesztő

könnyebb elválaszthatósága érdekében. Ezen folyamat során az élesztők egyre nagyobb csomókat alkotva összetapadnak majd kiülednek (alsó erjesztésű törzsek), vagy gázbuborékok segítségével a felszínre emelkednek (felső erjesztésű törzsek). A flokkulációs folyamat rendszerint az exponenciális szakasz végén lévő, vagy a stationer szakaszba jutott élesztősejtek sajátossága (Mill, 1964). A sejtek kiüledése genetikailag szabályozott. Az alsóerjesztésű élesztőknél a flokkuláció genetikai szabályozására két génrendszert mutattak ki (FLO gének), tehát a genetikai adottság szükséges, de nem feltétlenül elégséges feltétele a sejtek csomósodásának (Johnston & Reader, 1983). A flokkuláció folyamata még nem minden lépésében tisztázott, több, részben egymásnak ellentmondó teória is létezik, mely a folyamatot próbálja magyarázni. A "lectin-like" elmélet szerint a flokkuláció során az élesztősejtek felületi membránjában lévő lektinfehérjék más sejtek glikoproteinjeinek külső mannán oldalláncjaihoz kötődnek és az így kialakult kapcsolatot a  $\text{Ca}^{++}$ -ion stabilizálja (Stratford, 1992; Rose, 1993). Mill (1964) kalciumhíd elmélete szerint a  $\text{Ca}^{++}$ -ionok a sejtek felszínén lévő karboxil csoportok kötéseik révén kapcsolják össze az élesztőket. Az így létrejött szerkezetet a kiegészítő karbohidrát karboxil csoportok között hidrogén-híd kötések stabilizálják.

Mindegyik elmélet megegyezik azonban abban, hogy a kalcium ionnak központi szerepet tulajdonít. A kalcium a sörlében elősegíti a flokkulens élesztő sejtek kiüledését. Nem feltétlenül csak a kalcium képes a flokkuláció folyamatát kiváltani, hasonló hatást okozhatnak más többszörös töltésű kationok is. Mégis a  $\text{Ca}^{++}$ -ion a legjelentősebb, mivel széles pH-tartományban tölti be flokkulációt indukáló hatását.

A sejtek csomósodását kétféle módon idézhetik elő a különböző ionok. Egy részük azáltal vált ki flokkulációt, hogy kisebb vagy nagyobb mértékben helyettesíti a kalciumot, más részük azáltal hat, hogy a sejtől a kalciumionok kiáramlását idézi elő a sejtek közötti mátrixba. Már igen kis mennyiségű kalcium is kiválthatja a sejtek kiüledését.

A  $\text{Ca}^{++}$ -iont leghatékonyabban az  $\text{Mg}^{++}$ -ion tudja helyettesíteni, de az átmeneti fémek kétszeresen pozitív ionjai is, mint pl:  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Ni}^{++}$ ,  $\text{Co}^{++}$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ . Ezen ionok hatékonysága kevésbé és csak szűk pH-tartományon belül érvényesül. Az ionoknak egy másik csoportja flokkulációt gátló hatást fejt ki. Ilyenek az alkáli földfémek, a stroncium és a bárium; ezen elemek kompetitív módon gátolják az élesztő kiválását. Stratford (1992) szerint a nagy mennyiségben adagolt nátriumion is kompetitív gátlást vált ki.

A flokkulációhoz az élesztőnek szüksége van aktiválási energiára. A rázatás vagy a hőmérséklet emelése szintén elősegítheti az élesztő kiválását, az asszociált vízburok és a felületi töltés okozta gátlás leküzdése révén (Stratford & Keenan, 1987).

Jin és Speers (2000) két *Saccharomyces cerevisiae* törzs flokkulációs viselkedését a következő körülmények között vizsgálta: az alkohol koncentráció 0-10,0 ml/100ml; a pH=3,8-5,8; az ion-erősség 0,01-0,20M; a hőmérséklet 5-25°C. A FLO1 sejtek érzéketlenek voltak az alkohol és a pH változására. A NEWFLO sejtek növekvő alkohol koncentráció és pH érték mellett szignifikánsan növekvő flokkulációt mutattak. A növekvő ion-erősség és a csökkenő hőmérséklet mindkét törzsnél késleltette a flokkulációt. A flokkulációs gátlást olyan acetátos pufferrel fordították meg, amely meghatározott mennyiségű  $\text{Ca}^{++}$ -ot tartalmazott, 20°C-on és pH=4,0 értéken. Ennél a kísérletnél az ion-erősség flokkulációra gyakorolt hatását figyelembe véve a következő megállapítást tették: Mindkét élesztőtörzs flokkulációja csökkent a növekvő ionerősségnél (0,01-0,20M), tehát a nagyobb ionerősség hidrofób kölcsönhatást eredményez. A nátrium és kloridionok csökkenthetik a fehérjemolekulán lévő hidrofób csoportok oldhatóságát. Növelik a vízfürtöket a fehérjék körül, a rendszer teljes szabad energiájának és a vízentrópiának a csökkenését okozzák. Az ionok kombinált hatása a fehérjemolekulákat kompaktabbá teszi, és hidrofób jelleget biztosítva hátráltatja az élesztősejtek flokkulációját (Jin & Speers, 2000).

### **2.3.3 A cink szerepe a fermentációban**

A sörgyártás legkényesebb és leghosszabb technológiai művelete a sörlé erjesztése. Az esetleg fellépő erjedési zavarok nemcsak a fermentációs idő meghosszabbodásához, hanem a sör minőségének romlásához is vezetnek. Az erjedési zavarokat három tényező, a sörléösszetétel, a nem megfelelő technológiai paraméterek és az élesztő elégtelen erjesztőképessége okozhatja. Ha a sörlé összetétele megfelelő, kellő mennyiségben tartalmaz erjeszthető szénhidrátokat, szabad aminosavakat, nem nagy a nitrát-tartalma, nincsenek problémák az erjesztés hőfok- és nyomásvezetésében stb., a hibát az élesztő elégtelen nyomelem- ellátottságával kell magyarázni .

A sörélesztőt a sörlé látja el nyomelemekkel. A sörlében az élesztő anyagcseréjéhez szükséges nyomelemek közül rendszerint a cink nem áll megfelelő mennyiségben a rendelkezésre, esetenként a mangán koncentrációja is alacsony (Hopulele, 1972). Az erjedési zavarokkal foglalkozó kutatások gyakran ahhoz az eredményhez vezettek, hogy a cinkkoncentráció növelése segítséget jelenthet.

A cink az élesztő anyagcseréjének egyik esszenciális mikroeleme, kulcs szerepet tölt be a glikolízisben, úgy mint az alkohol-dehidrogenáz, glicerin-aldehyd-foszfát dehidrogenáz, aldoláz enzim aktivátora (Carafoli et al., 1970). Ezen kívül számos enzim, pl. a polimerázok, peptidázok alkotórésze. A cink a magnéziumhoz és a mangánhoz hasonlóan kötőszerként szerepel az enzim és a szubsztrát között. A cinknek a sejt számos biológiai funkciójában szerepe van, például a DNS, RNS és a riboszómák szerkezetét stabilizálja, befolyásolja a protein bioszintézist, a szénhidrát anyagcserét stb. (Mändl et al., 1979). A cinkionok növelik a maltóz és a maltotrióz felvételt, elősegítve így a gyors erjedést. Bizonyos védőfunkció is tulajdonítható a cinknek: általában megvédi az enzimeket a proteáz enzimek támadásától. A cisztein-deszulfhidráz enzim aktiválásával csökkenti a sör H<sub>2</sub>S tartalmát. Az élesztő csomósodását is elősegíti. Megfelelő, 0,2 – 200 mg/l-es koncentrációnál serkenti az élesztőszaporodást, míg 300-500 mg/l közt gátlás lép fel. (Hopulele, 1972). Mochaba és munkatársai (1996) megerősítették, hogy a sörléhez adagolt fölösleges mennyiségű cink gátolja az erjesztést és a szaporodást. Rámutattak, hogy a sörlé megfelelő cink ellátottsága mérsékli a magnézium, a kadmium és a réz toxikus hatását. Arról is beszámoltak, hogy ha a sejtől az erjesztés végén nagy mennyiségű cink mutatható ki, akkor az a sejt viabilitásának és vitalitásának csökkenésére utal. A jelenségnek két lehetséges magyarázatát adták: egyrészt a cink lebontó enzimeket aktivál, másrészt lehet, hogy elnyomja a másodlagos anyagcserét, amelyben a mikrobák a toxikus anyagokat nem toxikussá alakítják.

A cink felvétele energiaigényes folyamat, a plazmamembránon található H-ATPáz aktivitásától függ. A cink felvételét kálium kiáramlása kíséri (Jones & Gadd, 1984). A cink a sejtfalban lévő mannóz tartalmú fehérjében és a sejten belüli frakcióban koncentráldik. Az erjesztés végéhez közeledve a cink a sejt külső része felé mozog, hogy hozzájáruljon a maltotrióz felvételéhez, ami azzal is bizonyítható, hogy megnő a sejthez lazán kötődő ionok mennyisége ( Mochaba et al.,1996).

Söripari jelentősége abban áll, hogy az élesztő anyagcseréjének egyik esszenciális mikroeleme. A sör erjesztés szempontjából meghatározó enzim, az alkohol dehidrogenáz két egységből áll, s mindkét egység két cinkiont tartalmaz. Közülük az egyik az enzim aktív centrumában helyezkedik el, és a katalitikus aktivitásért felelős, míg a másik a dimer szerkezet kialakításában vesz részt (ExpasyMolecularBiologyServer). Ezek közül kettőt viszonylag könnyen el lehet távolítani, amelynek következtében az enzim veszít az aktivitásából. Az említett két cinkion feltehetőleg az enzim aktív centrumában helyezkedik



el, és az enzim és a szubsztrát közötti kötésért felelős. A másik két cinkion eltávolításakor szétesik a molekula (Mändl et al., 1979).

### **2.3.3.1 A cinkhiány hatása a sör erjesztési folyamataira**

Donhauser 1981-ben gyakorlati tapasztalatok alapján vizsgálta az erjedési zavarok lehetséges okait. A vizsgált esetek 90 %-ban az élesztő elégtelen cink-,  $\alpha$ -aminonitrogén- és oxigénellátottsága okozta a problémákat. A leggyakoribb okként a cinkhiányt jelölte meg. Az élesztő cinktartalma normál körülmények között 3-6 mg/100 g élesztő szárazanyagra vonatkoztatva. Cinkben gazdag sörlé erjesztéskor elérheti akár a 10 mg/100 g élesztő szárazanyag értéket. Ilyen jó cink-ellátottságú sörélesztő esetén több egymást követő, alacsony cinktartalmú sörlé erjesztésekor sem lépnek fel zavarok. Rossz cinkellátottság viszont növeli az élesztősejt réztartalmát, amely így kettős zavart okoz: egyrészt az alacsony cink, másrészt a magas réztartalom következtében.

Az élesztő szaporodása és az erjesztés szempontjából a sörlé optimális cinktartalma 0,15 mg/l és ritkán lépi túl a 0,25 mg/l -es értéket. Ha a cinkkoncentráció 0,1 mg /l alá csökken, erjesztési zavarok léphetnek fel (Donhauser et al., 1983; Ginowa-Stojanna & Todorowa 1987). Az élesztő a cinket nagyon gyorsan és hatékonyan képes felvenni. Már az erjedés első napja után felveszi közel a teljes mennyiséget, még nagy cinkkoncentráció esetén is (Mäder et al., 1997).

Donhauser és munkatársai (1981) az erjedés zavartalan lefolyását biztosító legkisebb cinkkoncentrációra a sörlében 0,12 mg/l-es értéket, Mändl et al., (1979), és Jakobsen et al., (1982) eltérő értékeket adtak meg, a 0,08-0,3 mg/l-es tartományban. Az élesztőben Jakobsen (1981) 12-56 mg/kg szárazanyagra vonatkoztatott cink- tartalmat mért, az átlag 30 mg/kg volt. A cink koncentrációkban tapasztalható nagy eltérések arra mutatnak, hogy - mint legtöbbször a söriparban – komplex jelenségről van szó. Így például a cinkhiányt bizonyos ideig a viszonylag magas szabad-aminonitrogén kiegyenlíti. Ugyanakkor ez a megállapítás fordítva is igaz, az alacsony szabad-aminonitrogén tartalomból adódó erjesztési problémák cink hozzáadással korrigálhatók (Steiner & Länziger, 1975). A jelenség komplexitására utalnak Donhauser (1983) kísérletei is, amelynek során rámutatott, hogy a sörlé illetve az élesztő cinkellátottsága az erjedési sebességen kívül a nitrogéntartalmú vegyületek mennyiségének változását, a pH alakulását és a késztermék erjedési anyagcseretermékeinek mennyiségét is befolyásolja.

A sörlé cinktartalmán kívül az élesztőben lévő cink mennyiségének is szerepe van. Irodalmi adatok szerint az élesztő cinktartalma 3-15 mg/100 g szárazanyag között mozog (Wagner et al., 1983).

Steiner és munkatársai (1978) a cink és az erjesztés kapcsolatát vizsgálták. Munkájuk során eltávolították a sörlé cinktartalmát, majd különböző cinkadagolásoknál tanulmányozták az erjedés lefolyását, az erjedési sebességet, az illékony komponensek mennyiségének alakulását, az esetleges toxicitást és más elemek kölcsönhatását. A cinkhiányos sörléhez vasat, rezet és mangánt adagoltak. Az erjedés lefolyása alapján megállapították, hogy a vas és réz nem képes a cinket pótolni, ám gátlás sem lépett fel a nyomelem-mentes erjesztéshez képest. A legnagyobb stimuláló hatás 200 µg/l-es cinkadagolásnál mutatkozott. 100 mg/l-es cink koncentrációnál az erjedési sebesség mindössze 5 %-kal maradt el a maximális értéktől. Vizsgálták a cinkkoncentráció illékony erjedési anyagcseretermékekre gyakorolt hatását is. Megállapították, hogy cinkhiány esetén megnő az illékony savak és aldehidek mennyisége. Ez a hatás az alkohol-dehidrogenáz enzim gátlásának következménye, mert az enzimet a cink aktiválja. Mivel emiatt több acetaldehid marad vissza a szubsztrátban, növekszik az ecetsavképződés. Megállapították azt is, hogy ha a sörlé 100 µg/l alatti cinkkoncentrációval rendelkezik, a kész sörben 5-15 µg/l található még. Ez az a cink, amelyet az élesztő nem tudott felvenni, mert komplex formában volt jelen a fermentációban.

1983-ban Donhauser és munkatársai a sörélesztő cinktartalmának alakulását vizsgálták hagyományos és nyomás alatti erjesztés során. Kísérleteik során nyomon követték az erjedési fok alakulását, a nitrogéntartalmú vegyületek mennyiségének változását, a pH alakulását, a késztermék erjedési anyagcseretermékeinek mennyiségét. Többszöri erjesztés során vizsgálták az élesztő cinktartalmának változását. Munkájuk eredményeként megállapították, hogy a nyomás alatti erjedés során a sörlé cinktartalma nagyobb jelentőséggel bír, mint az élesztőé.

Hopulele (1972) egymást követő erjesztések során vizsgálta az élesztő cink-ellátottságát. Megállapította, hogy a sörléből az élesztő a cinket teljes mennyiségében, gyorsan felveszi már az erjesztés első napján. Ez a jelenség a sörlé nagyobb cinkkoncentrációjánál is bekövetkezik. Mérései szerint az élesztőszaporodás és erjesztés szempontjából az optimális cinktartalom 0,15 mg/l. Donhauser és munkatársai (1981) az élesztő cinktartalmát hagyományos és nyomás alatti erjesztések során vizsgálták. Jóllehet korábban az élesztő minimális cinktartalmát 3,5 mg/100 g élesztő szárazanyagban állapították meg (Mändl, 1979), a szerzők nem tapasztaltak erjedési rendellenességet az 1,9 mg/l-es élesztő

cinkkoncentrációnál sem. Megállapították, hogy az élesztő a teljes cink mennyiséget felveszi már az erjesztés első napján, és feltehetően a szilárd sejtalkotókba beépítve tárolja.

### **2.3.3.2 A cink mennyiségének alakulása és pótlásának lehetőségei**

A fentiekből adódott a következő kérdés: hogyan lehet a sörlé megfelelő cink-ellátottságáról gondoskodni, és mitől függ a sörlé cink tartalma.

Donhauser és munkatársai (1983) a cink koncentrációjának alakulását követték nyomon a sörlé előállítás során. Tanulmányozták a maláta cinkkészletének örleményfrakciónkénti megoszlását, a cinktartalom alakulását különböző cefrézési eljárások során, a maláta oldottságának és a cink-kihozatalnak a kapcsolatát. Megvizsgálták a pH hatását a cink oldódására. Munkájuk összegzéseként megállapították, hogy a cink a maláta endospermjében van a legnagyobb mennyiségben, ám a mag külső részeiben nagyobb koncentrációban, mint a mag belsejében. A maláta oldottsága a cefrézés kezdetén pozitív hatást gyakorolt a cefre cinktartalmára, a komlóforralás végére azonban a kevésbé oldott maláták szintjére csökkent. Nem találtak szignifikáns különbséget a cefrézési eljárások és a sörlébe kerülő cink mennyisége között sem. A biológiai savanyítás sem eredményezte a cink koncentrációjának növekedését. Narziss (1980) kísérletei során arra a következtetésre jutott, hogy a kiindulási cinktartalom mintegy 3 %-a marad a sörlében. A veszteségek okai: a cink adszorpciós kötődése a törkölyben, seprőben, fehérjékkel alkotott komplex képződés. Jakobsen és munkatársai (1977) norvég malátákat és ebből készült sörleveket vizsgáltak. A cefrézésénél a cink 5-23 %-a extrahálódott. Magas korrelációt tapasztaltak a sörlé cink- és amino-nitrogén tartalma között. Későbbi kísérleteikben (1981) a maláta kiindulási cink-koncentrációjának és a sörlében mérhető értéknek az összefüggését tanulmányozták. A maláta cink-koncentrációja  $20 \pm 5$  mg/kg volt. A sörlevekben ezzel szemben nagyobb ingadozást találtak. Nyilvánvaló, hogy más paraméterek jobban befolyásolták a sörlé cinktartalmát, mint a maláta eredeti koncentrációja. A legtöbb esetben a cinkkoncentráció alacsonyabb volt az ajánlott 0,2 mg/l-nél. Az élesztősejt cinktartalma (12-56 ppm) negatív korrelációt mutatott a sörlé réztartalmával. Schmidt (1988) megállapította, hogy a cinkveszteség a sörlé előállítás során 96,9 %-os, és a veszteség elsősorban a kelátképződéssel magyarázható, amely a malátából éppen kioldódott cinket komplex kötésbe viszi. A leggyakoribb kelátképzők: hisztidin, cisztin, polifenolok, fitátok. Természetesen a fémek kelátképződési hajlama erősen pH-függő, ugyanis versengés indul meg a hidrogén és a fémionok között.

Az optimális cinkkoncentráció beállítására számos javaslat született. A német „Tisztasági törvény”, - amely szabályozza, hogy mely anyagokból lehet sört készíteni, - nem ad lehetőséget a sörlé cink-sókkal történő kiegészítésére. A problémát McLaren és munkatársai (1999) úgy oldották meg, hogy cinkkel kezelt élesztőt juttattak az erjesztésre kerülő sörlébe. A kezelt élesztő ebben az esetben nem erjesztő mikroorganizmusként, hanem tápanyagforrásként szerepelt. A cinkkel dúsított élesztő felhasználása során jobb eredményeket értek el, mint a cinksók hozzáadagolásával. Taidi és munkatársai (2001) a cink beadagolásának módját és optimális időpontját tanulmányozták. Megállapították, hogy a cink adagolása az élesztőhöz közvetlenül a felhasználás előtt lehet a megfelelő megoldás. Kreder (2000) a seprőben kötött cinket használta fel az erjesztés során cinkforrásként, míg Kado (1999) sörtörkölyt használt ugyanilyen célra. Az erjedés mindkét esetben zavartalanul végbement.

### **A téma helyzete a hazai söriparban**

Magyarországon a sörök túlnyomó részét pótanyag (sörárpa, kukorica) felhasználásával állítják elő. A szakirodalom nem tárgyalja a pótanyaggal készült sörök cinktartalmának alakulását, az erjedésre kerülő pótanyagos sörlevek optimális cinkkoncentrációjáról sincs adat.

A sörlevekhez az erjesztés előtt cinket adagolnak. A cinket cink-szulfát vagy cink-klorid formájában juttatják a sörlében a komlóforralás végén. A komlóforralás az utolsó technológiai művelet, amely nem zárt rendszerben történik.

## **2.4 A kész sör stabilitása**

A kész sör stabilitása az eladhatóság feltétele. A palackozott sörben a biológiai, kémiai és fizikai változások lelassulnak ugyan, de nem állnak le, így szaporodhatnak a mikroorganizmusok, változhat az íz, és megbomolhat a kolloidstabilitás.

A kolloidstabilitást veszélyeztető tényezők igen sokrétűek lehetnek. A kolloidzavarosodás 40-75 %-át a proteinfrakció okozza. Ez az árpából származik és a maláta- és sörkészítés alatt többé-kevésbé lebomlik ugyan, ám okozhat problémát. Zavarosodásképzők a nagy molekulájú proteinek és peptidek. Molekulásúlyuk 90 000 és 100 000 kDa között van. A polifenolfrakció több-kevesebb kondenzált vagy polimerizált polifenolból áll, a malátából és a komlóból kerülnek a sörbe. A polipeptidek és a polifenolok közötti kötések

lényegében hidrogénhidak, amelyek a fenolos hidroxilcsoportok hidrogénje és a peptidcsoportok oxigénje között jönnek létre. A zavarosodási hajlamban nagy jelentősége van a flavonoidok polimerizációs fokának (O'Rourke, 2002).

A hideg- és tartós zavarosodást okozó anyagoknak 2 - 15 %-át szénhidrátok teszik ki, elsősorban a  $\beta$ -glükánok. Azokban a zavarosodásokban, amelyek nagy mennyiségű poliszacharidot tartalmaznak, többnyire más fehérjekomponensek vagy ásványi anyagok is fellelhetők.

A sörzavarosodásokból származó hamu mennyisége 1 –14 %, fehérjéből származó kén-, nehézfémeket (vas, réz, cink, ón és alumínium) és más fémionokat tartalmaz (Narziss, 1981).

A fémionok okozta zavarosodásokhoz tartozik a „gushing” (túlhabzás) jelenség, amely a sörgyártók rémálma. A kifejezés arra utal, hogy a palackozott sörnél, ritkább esetben a dobozott söröknél is több-kevesebb túlhabzás tapasztalható, még előírászerű felbontás esetén is (Amaha & Kitabatake, 1981).

A túlhabzás a sör alapvető hibája, így feltétlenül meg kell akadályozni, hogy a túlhabzó sör a kereskedelemben kerüljön. A sörgyárak gyakran nem érzékelik a túlhabzást, mivel némelyik sör már a palackozás után hajlamos rá, más esetekben azonban csak 7-10 hét elteltével jelentkezik a probléma (Munekata et al. 1961).

A probléma azóta ismert, amióta a sört palackozzák, és éppen olyan régóta próbálják a jelenség okait is megtalálni. A kutatások arra engednek következtetni, hogy a sör túlhabzása nem egyetlen okra vezethető vissza, hanem különböző anyagok és körülmények hatásának együttes következményeként jönnek létre. További probléma, hogy a gushing többnyire csak elszigetelten és meghatározott években, járványszerűen lép fel. Már 1923-ban jelent meg tanulmány a túlhabzásról, 1924-ben Lüers, 1938-ban Helm és Richardt, cikkezett róla. Átfogó tanulmányt írtak a spontán felhabzásról 1938-ban, amiben Európa több országából, Észak- és Dél-Amerikából is tudósítottak (Weidener, 1992), de mind a mai napig okok és összefüggések eldöntendő kérdési maradtak megválaszolatlanul.

A gushing-gal foglalkozó kutatók a túlhabzás okait két csoportra osztják. Az **elsődleges gushing** kifejezés azt sugallja, hogy a túlhabzás már a sörkészítés első fázisában jelen van (Donhauser et al., 1990; Narziss et al., 1990). Fő oka az árpa mikroorganizmusokkal való fertőzése. A legnagyobb jelentősége ebből a szempontból a *Fusarium* fajoknak van (Dilly, 1988; Sacher, 1997; Andersen et al., 1967), ezek közül is a *F. culmorum*-nak és a *F. graminearum*-nak (Zepf, 1998).

A penészgombával fertőzött árpát már a malátagyártás előtt ki kell zárni a termelésből. Erre a célra több eljárást fejlesztettek ki és alkalmaznak sikerrel: immunkémiai eljárásokat (Müller, 1995; Vaag, 1991), polimeráz láncreakciót (Ily-Mattila & Hyvonen, 1996; Edel et al., 1997)

A legegyszerűbb és legkisebb költséggel alkalmazható eljárás a piros és fekete elszíneződést tartalmazó szemek megszámlálása, a *Fusarium* és *Epicoccum* nemzetség tagjai ugyanis piros, az *Alternaria* és *Fusarium* egyes fajai fekete telepeket képeznek. Így a fertőzött árpátétel egyszerű és gyors vizsgálat alapján felismerhető (Niessen et al., 1991).

**A másodlagos túlhabzás** azon kiváltó okokat foglalja magában, amelyek a gyártás során lépnek fel, így megfelelő technológiai intézkedésekkel befolyásolhatók, leküzdhetők.

A tapasztalatok szerint a túlhabzásra hajlamos söröknél, amikor a palackot kinyitják, az egész folyadékmennyiségből buborék képződik. Ez a tény irányította a figyelmet arra, hogy a szállítás közben a palack tartalma mikrobuborékokkal telítődik (Krause, 1936; Yount et al., 1984; Schorr & Albrecht, 1990; Draeger, 1996). Ezeket a buborékokat a felületaktív anyagok stabilizálják, amelyek a két fázis határfelületére kapcsolódva sokáig stabilak tudnak maradni. A felhabzás kialakulása és a felületi feszültség között összefüggés van (Gardner et al., 1973; Weideneder, 1992).

A sörbe kerülő felületaktív anyagok származhatnak a malátából (Berlitz & Grosch, 1987), előfordulhatnak mosószermaradékként (Pahl & Wöhler, 1997). A felhabzás oka lehet az izomerizált komlóextrakt is. A dehidratált humulinsav, a tetrahydro- és a hexahydro-alfasav szintén elősegítik a túlhabzást (Outtrup, 1980; Carrington et al., 1972; Laws, 1972; Rudin & Hudson 1958).

A fémionok és a sör „megvadulása” közötti összefüggés korán ismertté vált. Gray és Stone (1958) azt kutatta, hogyan befolyásolja a sör és az alkoholmentes italok viselkedését az ón, a titán, az itrium, a bizmut, a nikkell, a molibdén és a vas. Guggenberg és Kleber (1963) arról számolt be, hogy egyértelmű összefüggés van a pH-érték, a fémion-koncentráció és a túlhabzás között desztillált vizeknél. A kutatás eredményét nézve, illetve azt a tényt, hogy milyen pH-viszonyok uralkodnak a sörben, megállapítható, hogy csak a  $Fe^{+++}$  ion válthat ki túlhabzást. Az  $Al^{+++}$  ion a sörben szokásos pH-érték mellett nem okoz gondot, csak pH=5 érték felett játszana szerepet. Ezt támasztják alá Zepf (1998) vizsgálatai is, aki különböző pH-értékek mellett vizsgálta meg a fémionok túlhabzás-potenciálját. Eredményei egyértelműen alátámasztják a  $Fe^{+++}$  ion jelentős szerepét a felhabzás kialakulásában, illetve az ón és molibdén semlegességét, ellentétben korábbi megállapításokkal.

**10. táblázat Különböző fémionok gushing potenciáljának pH-függése (Zepf, 1998)**

	pH = 3	pH = 3,5	pH = 4	pH = 4,5	pH = 5
Al <sup>+++</sup>	-	-	-	-	-
Sn <sup>++</sup>	-	-	-	-	-
Cu <sup>++</sup>	-	-	-	-	+
Mn <sup>++</sup>	-	-	+	+	+
Mo <sup>++</sup>	-	-	-	-	-
Fe <sup>+++</sup>	++	++	++	++	++
Fe <sup>++</sup>	-	-	-	-	-

++erős, +közepes túlhabzás potenciál, - nincs hatás

További munkája során sörben pH=4,5 érték mellett megvizsgálta, hogyan befolyásolja a vas koncentrációja a túlhabzás mértékét, és egyértelmű összefüggést talált a vas mennyisége és a túlhabzás között. Az azonban még ma is kérdés, hogy a vaskarbonátok kialakulása a folyadék határrétegben – ami a vaskarbonátoknak stabil körülményeket tud biztosítani – miként váltja ki a „megvadulást”. Guggenberg és Kleber (1963) szerint mechanikai energia „segítségével”. Kísérletei során azok a palackok, amelyek teljesen nyugodt körülmények között voltak tárolva, semmilyen túlhabzást nem mutattak, ellentétben azokkal, amelyek rázásnak voltak kitéve.

A nikkelt, a kobaltot és a rézt semmilyen felhabzási problémát nem okozott (Gardner et al., 1973). Más szerzők azonban arról tudósítanak, hogy a nikkelt és az izohumulont együttes hatása túlhabzást okoz (Kieninger, 1983), illetve a kobalttal a túlhabzás mértékét csökkenteni lehet (Gjertsen et al., 1963).

A fémionok a vízből, malátából, komlóból és a kovaföldből jutnak a sörbe. A fémionok által okozott túlhabzás mechanizmusa jelenleg sem ismert. Az egyik feltételezés szerint fémkarbonátok képződnek a folyadék és a gáz fázishatárrétegében. Ezek a fémkarbonátok, - amelyek csak megfelelő körülmények között stabilak a határfilmfelületben, - szilárd buborékhétyát képeznek, ahol a buborékok megkötődnek. A palack kinyitásakor bekövetkező nyomáscsökkenés hatására a stabil buborékokban megnő a gáztér, ami azok felszállásához vezet (Gardner et al., 1973).

### 2.4.1 A kalcium szerepe a sör stabilitásában

A túlhabzást kiváltó okok közül leggyakrabban a kalciumoxalát kiválás fordul elő. A kalciumoxalát a legkülönbözőbb alakokban fordul elő. Egyes esetekben oktaéder kristályként, más esetekben viszont amorf alakban. Ez utóbbi különösen hajlamos a spontán felhabzás kiváltására.

A két egymással reakcióba lépő vegyület – az oxalát és a kalcium – elsősorban a malátából, a sörfőző vízből és kisebb mértékben a komlóból származik. A maláta oxálsav-tartalma függ az árpa fajtájától, a termőhelytől, az évjáráttól és a malátázás körülményeitől, értéke általában 10-50 mg/100 g szárazanyag. Az utóbbi években azonban egyre emelkedett a sörárpák oxálsav-tartalma, a sörlében a 60 mg/l körüli mennyiség sem ritkaság, szemben a korábbi évek 13-19 mg/l-es átlagértékeivel (Jacob, 1998). A malátagyártás során a technológiai paramétereiktől függően változik az árpa oxaláttartalma. A hosszú csírázási idő és a csírázó árpa nagy nedvességtartalma az anyagcsere-folyamatok meggyorsítása révén csökkenti az oxálsavtartalmat.

**11. táblázat A csíráztatási körülmények és oxaláttartalom összefüggése (Narziss, 1999)**

A csírázó árpa nedvességtartalma	40 (m/m) %	44 (m/m) %	48 (m/m) %
Oxaláttartalom (mg/100 g sz.a.)	22,3	18,5	18,5
Csírázási idő (nap)	5	6	7

Az aszalási hőmérséklet emelése szintén az oxaláttartalom csökkenését eredményezi.

Egyes kutatók szerint (Weideneder, 1992.; Burger & Becker, 1949) a penészgombás fertőzések is növelik az oxálsavtartalmat. A búzamaláta oxálsavtartalma jóval nagyobb, mint az árpamalátáé (Schröder, 1993).

Az árpamaláta kalciumtartalma 12-23 mg 100 g szárazanyagra vonatkoztatva, míg a búzamaláta esetén ez az érték 9-12 mg/100 g szárazanyag (Schur et al., 1980). A malátában lévő kalcium mintegy fele a cefrézést követően a törkölyben marad.

Schur és munkatársai (1980) a sör kalciumoxalát képződési hajlamának megítélésére és az időben történő intézkedések meghozatalára javasolták egy hányados meghatározását (Q), amelynek számlálójában a kalcium ionok, nevezőjében az oxalát koncentrációja található.

Stabil állapot akkor áll fenn, ha a kalciumoxalát koncentrációja az oldhatósági határérték ( $H_0$ ) alatt van a sörben. Kész sörben a kalciumoxalát kiválására két magyarázat lehetséges: a Q hányados már eredendően kedvezőtlen értékeket mutat, illetve a kalcium kiegészítés



hatására az egyensúly eltolódik, és a kalcium reagálva az oxálsavval kalciumoxalát formájában csapadékként kiválik. Az oldhatósági határ átlépése esetén a cefrében vagy a sörben kalciumoxalát kristályok képződnek, amelyek különböző kristályformákban válnak ki. A kalciumoxalát oldhatósági határa a cefrében 60 mg/l, a sörben 20-30 mg/l (Brenner, 1957).

A gushing kialakulásánál a kalciumoxalát mellett a kalciumoxalát és szabad kalcium arányát is figyelembe kell venni (Kieninger, 1983).

**12. táblázat A sör kalciumoxalát képződési hajlamának megítélése és a palackozott sör stabilitásának összefüggése (Schur et al., 1980)**

CaSO <sub>4</sub> /CaCl <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	kalciumoxalát (mg/l)	stabilitás
0,25-5	>20	labilis
5-13	15-20	stabil
>13	max. 15	nagyon stabil

A fentiekből következik, hogy a stabil állapot eléréséhez olyan kalcium felesleget kell biztosítani, hogy a teljes mennyiségű oxálsav kalciumoxalát formájában kiváljon, és még a szűrés előtt a sörből eltávolítható legyen, ezzel megelőzve a későbbi kalciumoxalát kiválást. A sör kalciumoxalát-kiválási hajlamának prognosztizálása céljából célszerű a szűrés előtt meghatározni a kalcium – oxalát viszonyt. Figyelembe kell venni azonban a szűrési segédanyagokból és a stabilizálószerkekből kioldódó kalciumot, amely általában 1000 ppm alatti mennyiséget jelent (Jacob, 1997). Zepf és Geiger (1999) véleménye szerint is a sörben jelenlévő kalcium és oxálsav koncentrációjának nagysága határozza meg a komplexképződés kimenetelét. Ha koncentrációjuk eléri a telítettségi határt, akkor csapadék képződik.

A kész sörben bekövetkező kiválások megelőzése érdekében célszerű a cefrészővíz kalciumtartalmát növelni. A kalciumbevitel történhet kalciumklorid vagy kalciumsulfát formájában. A cefrészővízhez adagolt kalcium csökkenti a pH-t, növeli az  $\alpha$ -amiláz aktivitását, világosítja a színt és kellemes ízt biztosít (Gray & Stone, 1958). A kalciumklorid lágy, teljes ízérzetet kelt a sörben, nagyobb adagban azonban sós ízhatást vált ki. A kalciumsulfát ezzel szemben szárazabb karaktert eredményez, és a sör íze a komlóvirághoz hasonló lesz (Narziss, 1992).

További lehetőség a másik reakciópartner, az oxálsav bevitelének csökkentése. Schur 2002-ben végzett kísérleteiben komló extraktot használt komló helyett és alacsony

oxálsavtartalmú malátát, elősegítve a kalciumoxalát képződést, kicsapódást és elválasztást a sörgyártás korai fázisában.

### **A téma helyzete a hazai söriparban**

A hazai söripart jellemző tömény sör gyártásánál a koncentráció beállítása a fejtést megelőzően történik. A vízzel bekerült kalcium hatására kalciumoxalát kiválás indulhat meg, amely a kolloid-egyensúly felbomlásával jár. Amennyiben a sörből a fejtés előtt nem távolítják el a kalciumoxalát kristályokat, a sör spontán túlhabzása a fogyasztónál lép fel.

#### **2.4.2 Egyéb ionok szerepe a kész sör stabilitásában, ízében**

A nehézfémek csökkentik a sör eltarthatóságát és növelik a zavarosodást, fehérje kicsapó hatással bírnak, ezenkívül oxigénvívó képességükkel is károsítanak. A réz ionok jelenlétében a sör magasabb diacetil tartalmú lehet, mivel ezek katalitikus hatást gyakorolnak a redukált diacetilből képzett acetoin újra diacetillé történő oxidálására (Narziss, 1981). Emellett a réz hajlamossá teszi a sört a melegzavarosodásra.

A habminőség javulhat réz, vas és cink adagolás hatására, ami ezen fémek a sör keserűanyagaival és fehérje molekuláival való komplexképződésre vezethető vissza (metall-izohumulon komplexek), amely hatásra a sörhab felületi aktivitása megnő. A  $Fe^{+++}$  ionok jobban hatnak a habtartósságra, mint a  $Fe^{++}$  ionok.

A sörök ízére a kalcium pozitív hatást gyakorol, ezzel szemben a magnézium sók kedvezőtlenek, a réz 0,2 mg/l-es és a vas 1 mg/l-es koncentrációban kellemetlen ízt vált ki. A vas a sör cseranyagaival tintaszerű vegyületet képez. A magas mangántartalomtól könnyű, édeskés ízhatású lesz.

A sörkárosító baktériumok növekedésére a fémionok hatása különböző. A mangán a *Pediococcus damnosus* növekedését segíti, a cink viszont gátló hatást gyakorol a *Pedicoccus* és *Lactobacillus* törzsekre.

#### **2.4.3 A szűrési segédanyagok szerepe a sör stabilitásában**

A sör szűrésére leggyakrabban kovaföld és szűrőperlit szűrési segédanyagokat alkalmaznak.

A kovaföld a földtörténeti harmadkorban elpusztult Bacillanophita-Diatomea kolóniákban élt kovamoszatok és kovaalgák maradványainak kovasavpáncélja. A kibányászott nyers

kovaföldből a homokot iszapolással, a szerves anyagokat 800-900°C-on való izzítással távolítják el és kémiai úton megtisztítják, ennek ellenére számos olyan iont tartalmazhat, amelyek a szűrés során a sörbe kioldódhatnak.

**13. táblázat A kovaföld kémiai összetétele (Krüger & Anger, 1990)**

Komponens	Mennyiség (g/100 g szá.)	Komponens	Mennyiség (g/100 g szá.)
Szilikát	80-99	Kalcium-oxid	0,5-2
Alumínium-oxid	0,1-6	Magnézium-oxid	<1
Vas-oxid	0-3	Kén	<0,1
Foszforspentoxid	<0,1	Arzén	<5
Kálium-oxid	0,5-3	Víztartalom	<1
Nátrium-oxid	0,5-3		

A perlit vulkáni eredetű kőzet, amely a láva kihűlése során kristályosodás nélkül szilárdul meg. A hazai perlitok kékesszürke színűek, esetenként biotittal vagy földpáttal szennyezettek. Kőzettani és szövettani szempontból eltérések tapasztalhatók az egyes típusok között. A feldolgozás során a nyers perlitet hirtelen magas hőmérsékletre (1250°C) hevítik. A megőrölt kőzet kristályszerkezetében kötött víz elgőzölög és eredeti térfogatának háromszorosára terjed ki (Papp & Rudnyánszky, 1988).

**14. táblázat A perlit kémiai összetétele (Krüger & Anger, 1990)**

Komponens	Mennyiség (g/100 g szá.)	Komponens	Mennyiség (g/100 g szá.)
Szilikát	70-75	Nátrium-oxid	3-5
Alumínium-oxid	12-18	Kalcium-oxid	0,5-1
Vas-oxid	0,5-1	Magnézium-oxid	nyomokban
Kálium-oxid	4-7	Víztartalom	<0,1

A szűrési segédanyagokból kioldódó ásványi anyagok meghatározásával több szerző foglalkozott (Donhauser, 1983; Heyse & Feigl, 1980). Megállapították, hogy az oldható ásványi anyagok mennyiségét és összetételét több tényező határozza meg. Az egyik összetevő a szűrési segédanyag származási helye. A másik tényezőt a sör szűrésének körülményei jelentik. A szűrési körülmények magukban foglalják a technológiai megoldásokat: a szűrési segédanyag hideg vagy meleg vizes előkezelését, a szűrés során felhasznált mennyiségét, a kontakt időt a sör és a segédanyag között, azaz a szűrési időt. A felsoroltakon kívül a sör típusa, pH értéke szintén meghatározó (Penot, 1988; Hantze & Penot 1990).

## 2.5 Az ásványi anyagok a sörgyártás során és a kész sörben

Felmerül a kérdés, hogy a nyersanyagokból származó nemkívánatos ásványi anyagok mennyisége miként változik a gyártás során és előállítható-e ezekből az alapanyagokból olyan termék, amely az egészséget nem károsítja.

Jacob (1985) a kritikus nehézfémek mennyiségének változását tanulmányozta a sörgyártás folyamata során. Mérései szerint a sörfőző vízből bekerült elemek nagyrészt a törkölyvel váltak ki: a króm 61 %-a, a kadmium 75 %-a, a szelén 22 %-a, a higany 80 %-a és az ólom 92 %-a. Csupán a sörfőzővíz arzéntartalma került át szinte teljes mennyiségben a sörlébe. A malátából bekerült elemek csak nyomokban jelentek meg a sörlében, 90 % a törkölyben maradt. A komlóbeadagolás tovább növelte a kiválást, újabb koncentrációcsökkenések voltak tapasztalhatók. A seprőben megkötődött az ólom 84 %-a, a kadmium 68 %-a, a króm 15 %-a, a higany 90 %-a és a szelén 42 %-a. A higany a komlóforralás során távozó gőzökkel elpárolgott. Az arzén az egyetlen nyomelem, amely nem vált ki, hanem a párolgás miatt koncentrált. Az erjesztés még tovább csökkentette ezen nyomelemek mennyiségét, az arzén 6 %-a, a króm 15 %-a, a szelén 22 %-a, az ólom 25 %-a, a higany 80 %-a, és a kadmium 92 %-a az élesztőn megkötődött. Egyedül az arzén koncentrációja nem változott, ezért elengedhetetlen a sörfőző víz arzéntartalmának rendszeres ellenőrzése.

**15. táblázat Nehézfémek mennyiségének változása a sör előállítása során (Jacob, 1985)**

	Ólom	Kadmium	Króm
Árpa %	100	100	100
Maláta %	87	87	74
Sörlé %	0	9,9	9
Sör %	0	0,9	8

A sörökben mért értékek a 16. táblázatban láthatók:

**16. táblázat Sörök nyomelemtartalma (Jacob nyomán, 1985)**

Elem	Átlag (µg/l)	Max. (µg/l)	Min. (µg/l)
Arzén	6,4	102,4	<0,7
Ólom	1,6	15	<1,5
Kadmium	0,2	6,5	<0,1
Króm	7,5	41,9	0,5
Higany	<0,2	0,8	<0,2
Szelén	1,2	7,5	<0,4

A kalcium és a nátrium döntően a sörfőzővízből, míg a magnézium és a kálium a malátából ered (Narziss et al., 1981).

A malátafajták ásványi anyag tartalmát kongresszusi sörléből határozta meg Piendl és Holzmann (1978) AAS technikával. Pomeranz és Dikeman (1976) a malátától a kész sörig követte nyomon a foszfor, a kálium, a magnézium, a kalcium, a cink, a vas, a mangán és a réz tartalmát. Megállapították, hogy a foszfor, magnézium és kalcium koncentrációja csökken, a kálium közel azonos szinten marad a sörgyártás műveletei során, míg a nyomelemek mennyisége drasztikusan csökken.

A sörök kadmiumtartalmát vizsgálta Thalacker munkatársaival (1996), mert a környezet kadmiumterhelése a korrózióvédelem és az elemek előállítása kapcsán növekszik. A kadmiumkoncentrációt atomabszorpciós spektrometriával határozta meg. 83 üveges sört vizsgált és amelyek közül 31 biotermesztésből származó alapanyagból készült. Az „ökösörök” átlagos kadmiumtartalma 0,242 µg/l, míg a normál söröké 0,076 µg/l volt ( a sörök átlagos kadmiumtartalma Jacob szerint 0,2 µg/l). Eredményeik ellentmondanak Kjer és munkatársai 1994-ben közzétett eredményeinek, akik megállapították, hogy a hagyományos termesztésből származó sörárpák - és természetesen az abból készült sörök - tendenciózusan több kadmiumot tartalmaznak. A hagyományos termesztésű árpák kadmiumtartalma 13,5 – 28,6 µg/kg szárazanyagra vonatkoztatva, míg az ökotermesztésből származóké 7,1 – 12,9 µg/kg között volt, évszaktól függően. A cink az ökoárpában 32 mg/kg szárazanyag, a hagyományosban ez az érték 28,9. A különbségeket a foszfát-műtrágyázással magyarázták, azaz a nagyobb foszfátkinálat gátolta a növény cinkfelvételét.

Ybanez és munkatársai (1989) szintén atomabszorpciós eljárással határozták meg a sörök kobalt, réz, kadmium, ólom és cinktartalmát. A kobalt 0,1-0,4 µg/l, a kadmium 0,1-0,4 µg/l, a réz 20-30 µg/l, az ólom 1-3 µg/l, míg a cink 0,6-40 µg/l közötti intervallumban volt. Ugyanezen elemek sörgyártás során történő változásait követték nyomon Mäder és munkatársai (1997) pilseni söröknél. A meghatározást szintén atomabszorpciós spektrometria segítségével végezték. A réz koncentrációja 0,02 mg/l volt, ami fele a Stelz és munkatársai által 1993-ban mértnek. A cink 0,07 mg/l-es értéke viszont egybeesik Kjer és munkatársai által 1994-ben mért koncentrációkkal. A kiindulási ólomkoncentráció 30-50%-a kimutatható a kész sörben. A kadmium 10-20 %-a lelhető fel a gyártástechnológia végén. A réz nagy mennyisége, mintegy 50 %-a a kovafölddel távozik. A cink koncentrációja a nyers sörben mintegy 60 %-a a hideg sörléének, és további 20-30 %-os csökkenés tapasztalható a szűrés során.

Mändl (1974) kétférfés kétférfés dekokciós eljárás során vizsgálta az ásványi anyagok koncentráció-változásait. Megállapította, hogy a legnagyobb veszteség a becefrzés és a sörle hűtés művelete között észlelhető. A kálium és a nátrium mennyisége nem változik. Az alkáli földfémeknél a veszteség a kalcium esetében 83 %, a magnéziumnál 53 %. A nyomelemeknél (réz, vas, mangán, cink) a veszteség 94-99 %, okai lehetnek: oldhatatlan foszfátokhoz kötődés, komplexképződés, adszorpció a törköllyel és a seprővel.

## 3 KÍSÉRLETI CÉLKITŰZÉS

- A sörökben jelentős mennyiségű, literenként 1100-2800 mg ásványi anyag található. Ezen makro- és mikroelemek hatást gyakorolnak a fogyasztóra, valamint befolyásolják a sörgyártás menetét, a kész sör ízét, eltarthatóságát.  
Magyarországon még nem végeztek átfogó vizsgálatokat a sörök makro- és mikroelem tartalmával kapcsolatban, ezért első célkitűzésem a hazai sörök ásványi anyag tartalmának meghatározása volt.
- Az utóbbi években számos technológiai probléma lépett fel a söriparban, amelyek jelentős része az ásványi anyagok koncentrációjával függött össze. A szakirodalomban elég kevés – ugyanakkor ellentmondásos - közlemény található a makro- és mikroelemek gyártástechnológiára gyakorolt hatásával kapcsolatban, ezért munkám következő lépéseként két ásványi anyag, a kalcium és a cink sörgyártásban betöltött szerepét tanulmányoztam.
- Dolgozatom következő fejezetében meg kívántam vizsgálni azokat a technológiai problémákat, amelyek az utolsó műveleti lépések (szűrés, palackozás) során következhetnek be. Ennek érdekében célkitűzésem volt sör stabilitását növelő paraméterek meghatározása és a szűrési segédanyagok összetételének, sörre gyakorolt hatásának vizsgálata.

### 3.1 Anyagok és módszerek

#### 3.1.1 Berendezések

ICP-AES spektrométer JARREL-ASH ICAP 9000

HPLC, Perkin-Elmer

Gázkromatográf, Perkin-Elmer

Sőranalizátor, Centec típusú

Spektrofotométer, Pharmacia LKB Ultrospec III.

pH mérő

Mikroszkóp

Laboratóriumi őrlőberendezés, EBC Mill

Laboratóriumi cefrészőberendezés, Bender & Hobein

Félüzemi sörfőző és erjesztő berendezés  
 Mágneses keverő  
 Centrifuga  
 Infralámpa  
 Ultrahangos berendezés  
 Vízfürdő  
 Szárítószekrény  
 Izzító kemence  
 Rázógép

### 3.1.2 Felhasznált anyagok

Kereskedelmi forgalomból származó sörök  
 Ipari sörlé és sörminták  
 VARION KS kationcserélő műgyanta  
 VARION KSM anioncserélő műgyanta  
 Kovaföld  
 Szűrőperlit  
 Sörfőző víz (csapvíz)

17. táblázat A sörfőző víz összetétele

Paraméter	Érték	Paraméter	Érték
pH	7,6	MgO (mg/l)	33
Összkeménység (nk°)	13,44	Fe <sup>3+</sup> (mg/l)	0,06
Karbonátkeménység (nk°)	3,5	Ca <sup>2+</sup> (mg/l)	73,7
Maradék lúgosság	3,5	K <sup>+</sup> (mg/l)	3,1
NO <sup>2-</sup> (mg/l)	<0,01	Mg <sup>2+</sup> (mg/l)	18,2
NO <sup>3-</sup> (mg/l)	8	Na <sup>+</sup> (mg/l)	14,8
CaO (mg/l)	116	Zn <sup>2+</sup> (mg/l)	0,193

Pilseni maláta  
 Kukorica dara  
 Sörárpa  
 Keserű- és aromakomló  
 Sörélesztő W 34/70, üzemi szintenyészetből származó élesztősuszpenzió  
 Vegyszerek és reagensek



### **3.1.3 Módszerek**

#### **3.1.3.1 Sörlé előállítás**

##### **Sörlé előállítás laboratóriumi körülmények között:**

A cefrőzés során a söriparban használt koncentrációviszonyokat modelleztem. 50 g malátaőrleményt 200 ml vízzel összekevertem, majd a laboratóriumi cefrészőberendezésben folyamatos keverés közben különböző hőmérsékletekre melegítettem. 52°C-on 20 perces fehérjepihenőt, majd a kísérleti célkitűzéstől függően megválasztott hőmérsékleteken keményítóbontási pihenőt tartottam.

##### **Sörlé előállítás félüzemi körülmények között**

A kísérletekhez használt sörleveket 50 literes főzetnagyságú, saválló acélból készült, gőzfűtéssel ellátott sörfőző berendezésekben állítottam elő.

##### **A sörlé előállítás technológiája:**

###### Örlés

A malátát és az árpát ROBIX típusú szemestermény roppantón öröltem meg.

###### Bekeverés

A malátaőrleményt (törzscefre) a bekeverőkádba, a pótanyagőrleményt kb. 10 % malátaőrleménnyel (részcefre) a cefreforráló berendezésbe tettem és összekevertem a cefrészővízzel. A cefrőzés során felhasznált alapanyagokat és mennyiségüket a KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK részben adom meg.

###### Cefrőzés

A cefrőzés kétcefrés dekokciós eljárással történt. A bekeverőkádban lévő törzscefrét 50-52°C-on, a proteolitikus enzimek hőoptimumán pihentettem, ezalatt a cefreforrálóban lévő pótanyagcefrét (1. részcefre) elfolyósítottam, felforraltam, majd visszaszivattyúztam a bekeverőkádban lévő törzscefréhez, amelynek a hőmérséklete ezáltal 62-65°C-ra, a  $\beta$ -amiláz enzim hőoptimumára emelkedett. A két cefrerész elkeverését követően a cefremennyiség kb. 1/3-át átszivattyúztam a cefreforrálóba (2. részcefre), elfolyósítottam, felforraltam, majd visszaszivattyúztam a bekeverőkádba. A két cefrerész közös

hőmérséklete 72-75°C, ami az  $\alpha$ -amiláz enzim hőoptimuma. A cefrézés akkor ért véget, amikor a keményítő lebomlott. Ezt a jódp próbával ellenőriztem. A cefrét 78°C-ra felmelegítettem és átengedtem a cefreszűrőbe.

#### Cefreszűrés

A szűrőkádban a cefrét 20 percig ülepítettem a szűrőréteg kialakítása céljából. A szűrés kezdetén visszacirkuláltattam a sörlevet a szűrőkádba mindaddig, amíg a szűrlet tükrös nem lett. A színsörlé a komlóforraló üstbe került. A színlé elválasztása után került sor a máslásra, ami a törköly kilúgozását szolgálta. A másást 60 liter sörle térfogat eléréséig végeztem.

#### Komlóforralás és forró seprő leválasztás

A szűrés és a másások után a sörle a komlóforralóba került, ahol 90 percig forraltam. A művelet 10. percében adtam hozzá a keserűkomlót, a 75. percben az aromakomlót.

A komlóforralás ideje alatt képződött forróseprőt az örvénykádban választottam el. A berendezés a hidrociklon elvén működik, így a tangenciálisan bevezetett forró sörleből a seprő a kúpos kiképzésű fenék alsó tartományába ülepedett le.

#### Hűtés

A komlózott sörlevet lemezes hőcserélőn az erjesztési hőmérsékletre hűtöttem.

A sörle előállításának hőfok-idő diagramja a KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK fejezetben található.

### **3.1.3.2 Erjesztés**

#### **Erjesztés laboratóriumi körülmények között:**

Az erjesztés a European Brewery Convention (EBC) által ajánlott 2,5 l térfogatú, üvegből készült erjesztőcsövekben történt. Az erjesztés során felhasznált élesztőt előkészítettem, meghatároztam a sejtszámát, a konzisztenciáját és az élő-holt sejt arányt.

Az erjesztést 12°C-on végeztem, az erjedő sörleből kezdetben 12, majd 24 óránként mintát vettem. Az erjesztőcsöveken naponta megjelöltem a leülepedett élesztő szintjét, majd az erjesztés végén megmértem a mennyiségét.

### Erjesztés félüzemi körülmények között

Az erjesztést 25 és 50 l-es, saválló acélból készült, hőszigetelt, kúpos aljú berendezésekben hajtottam végre. A tankok egyedi hűtéssel és hőfokszabályozással ellátottak. A berendezések nyomás alá helyezhetők, így a nyomás alatti erjesztés és a kondicionálás is modellezhető bennük.

A megfelelő hőmérsékletre lehűtött sörlevet beoltottam élesztővel (kiindulási sejtkoncentráció:  $18 \cdot 10^6$  sejt/ml). Beoltás előtt meghatároztam az élesztő sejt számát, a konzisztenciáját és az élő-holt sejt arányt. A felhasználásra kerülő élesztő konzisztenciája 40-60 % között volt, a holt sejtek száma 5-8 %. Ezeket az adatokat figyelembe véve adagoltam az élesztőt a sörlehez. Az erjesztést 10°C-on végeztem, az erjedő sörleből naponként mintát vettem.

### 3.1.4 Analitikai módszerek

#### Ásványi anyag tartalom meghatározás induktív csatolású plazmaemissziós spektrométerrel (ICP-AES)

Teljesítmény:	1,05 kW
Égő magasság:	16 mm
Plazma gáz:	argon, 14 dm <sup>3</sup> /perc
Porlasztó gáz:	argon, 0,6 dm <sup>3</sup> /perc

#### 18. táblázat Kimutatási határértékek híg oldatokban (mg/l)

Elem	Kimutatási határérték	Elem	Kimutatási határérték	Elem	Kimutatási határérték	Elem	Kimutatási határérték
Al	0,002	Cu	0,001	Mo	0,001	V	0,002
As	0,01	Fe	0,001	Ni	0,002	Zn	0,001
B	0,001	Ga	0,005	P	0,015	Ba	0,001
Cd	0,003	Hg	0,02	Pb	0,01	Ca	0,001
Co	0,003	Li	0,001	Se	0,012	K	0,001
Cr	0,002	Mn	0,001	Ti	0,001	Mg	0,001
Na	0,02	Sr	0,001				

#### Aminosav tartalom meghatározás HPLC-s módszerrel

Készülék: Perkin-Elmer

detektor: fluoreszcens

Oszlop: előoszlop: Spherisorb ODS II, 5 µm, 20 x 4,6 cm

főoszlop: Spherisorb ODS II, 5 µm, 250 x 4,6 cm

Eluensek: A : 5 ml tetrahydrofuran + 10 ml acetonitril + 485 ml foszfátpuffer pH=7,2

B : 250 ml acetonitril + 250 ml foszfátpuffer pH=7,2

Áramlási sebesség: 1 ml/perc

Oszlop hőmérséklet: 30°C

Minta térfogat: 20 µl

Detektálás: 450 nm

A mintát a mérés előtt 3 órán át centrifugáltam, majd 0,45 mikrométer pórusátmérőjű membránon leszűrtem. Végül belső standarddal (Norvalin 1,25 mikromól/ml oldattal) 1 : 1 arányban elkevertem. Ezt követően o-ftaláldialdehid reagenssel reagáltattam. Az egyes komponensek mennyiségi meghatározását a csúcs alatti területek alapján és standard egyenesek segítségével végeztem (Donhauser et al., 1986; Krüger & Anger, 1990).

### **Aromakomponensek meghatározása gázkromatográfiával**

Készülék: Perkin-Elmer

detektor: FID lángionizációs detektor (250°C) acetaldehid, dimetilszulfid, magasabb rendű alkoholok és észterek detektálására

ECD elektronbefogásos detektor (150°C) diacetil és 2,3 pentándion detektálására

Oszlop: kapillár elválasztó oszlop, CP-Wax 52 C.B. nedvesítéssel, 50 x 0,32 mm

Felhasznált gázok: ECD számára argon-metán gázkeverék a make-up gázáram, hélium vivőgáz

FID számára hidrogén make-up gázáram, szintetikus levegő vivőgáz

Kolonnatér hőmérséklete:

75 - 85°C

A módszerrel bármilyen sör vizsgálható. Élesztős sör esetében a mintát kovafölddel meg kell szűrni és azonnal kell megmérni, vagy 0°C-ra lehűteni. A gázkromatográfiás mérések során a mintavétel Perkin-Elmer headspace mintavevővel történt.

Az automata mintavételezés paraméterei:

1. termosztálás 60°C-on 20 percig
2. nyomáskiegyenlítés 3 perc alatt
3. injektálás 110°C-on 1 perc alatt

Az egyes komponensek mennyiségi meghatározását a csúcs alatti területek alapján és standard egyenesek segítségével végeztem (Analytica-EBC,1999).

### **Amiláz enzimaktivitás meghatározás Phadebas módszerrel**

5 g maláta örleményhez hozzáadtam 0,5 g NaCl-t, majd a megfelelő mennyiségű kalcium törzsoldat bemérése után 250 ml-re egészítettem ki a térfogatot kétszer desztillált vízzel (a kalcium koncentrációkat a KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK c. fejezetben ismertetem). Az ily módon elkészített cefréket 20°C-on 60 percig extraháltam állandó keverés mellett.

A leszűrt sörle mintákból 100-szoros hígításokat készítettem 0,2 %-os (m/v) marhaszérum albumint valamint 0,5 %-os NaCl-t tartalmazó oldattal. A marhaszérum albumin az élelmiszeripari mintában lévő vegyületek interferáló hatását gátolja (Sörripari Labormódszerek, 1986). A mágneses keverőtesteket és a Phadebas tablettákat üveg kémcsövekbe tettem, majd hozzáadtam 5 cm<sup>3</sup> puffert (nátrium-acetát, pH=5,5). Ezután mágneses keverőre helyezett vízfürdőben 10 percig 45°C-on előinkubáltam állandó keverés mellett. Az előinkubálás után 1 cm<sup>3</sup> hígított malátakivonatot mértem a kémcsövekbe. 15 perc után minden egyes mintához 2 cm<sup>3</sup> 1 %-os (m/v) nátrium-hidroxid oldatot adtam és azonnal összekevertem. 15 percig hagytam 20°C-os vízfürdőben a mintákat, majd kiszűrtem a nem oldódó részeket.

Az abszorbanciát 620 nm-en mértem, 10 mm-es küvettákat használva, kétszer desztillált vízzel szemben. A mérési sorozattal egy időben vakpróbát is készítettem, a malátakivonat helyett 1 ml 0.5%-os (m/v) NaCl oldatot használtam (Sörripari Labormódszerek, 1986)

### **A keményítő elfolyósítási idejének meghatározása**

A cefreminta egy cseppjét egy csepp 0,02 n KI-os jóddalattal reagáltattam. Az első mintát a cefrézés 5. percében vettem. A mintavételt öt percenként megismételtem, amíg a keményítő le nem bomlott. A keményítőtöbontás akkor ért véget, amikor a cefre nem adott a jóddal színreakciót.

### **Fotometriás jódpróba**

Az irodalomban a Phadebas eljárásán kívül nem találtam más ipari módszert az  $\alpha$ -amiláz enzimaktivitásának mérésére, ezért a módosított Wohlgemuth módszer (Keményítőipari kézikönyv, 1983) és az amilolitikus aktivitás meghatározására Jensen által kidolgozott módszer (Jensen et al., 1988) összevetéséből adaptáltam mérési módszert a keményítőtöbontás nyomonkövetésére.

Az alfa-amiláz az oldható keményítőket meghatározott lánchosszúságú dextrinek keletkezéséig hidrolizálja. A hidrolízishez szükséges idő az enzim amilolitikus aktivitásától függ. Az amilolitikus aktivitást a jód színezőképességének változása alapján határoztam meg. Az  $\alpha$ -amiláz működésének eredményeképpen a cefrében lévő keményítő mennyisége csökken, a keményítő-jód komplex színe a keményítő mennyiségének változásától függ. A komplex színét spektrofotométerrel mértem, vakpróba ellenében.

#### Hullámhossz meghatározás

Munkám első lépéseként meghatároztam azt a hullámhosszt, amelynél maximális színintenzitás mérhető a keményítóbontás kezdetén és végén. Három sorozatot készítettem. A cefrőzés mindhárom esetben azonos volt, a mintavételekre a 0. percben és a keményítő elfolyósodásakor került sor. Az abszorbanciát az 500-660 nm-es tartományban mértem, 20 nm-ként. Az első két sorozatnál 0,01 n KI-os jódoldatot, a harmadiknál 0,1 n KI-os jódoldatot használtam.

A harmadik sorozatnál bemért mennyiségekkel és 580 nm-en tapasztaltam a legnagyobb abszorbancia értékeket, ezért a továbbiakban ezeket a paramétereket használtam.

#### **Schoorl féle cukormeghatározás**

10 ml Schoorl-A és 10 ml Schoorl-B oldathoz 1 ml mintát pipettáztam. Ezután desztillált vízzel kiegészítettem 50 ml-re. Az így elkészített mintákat felforraltam, majd 2 percig forrásban tartottam. Ezután gyorsan lehűtöttem és kb. 3 g KI-ot adtam hozzá, majd 10 ml 25%-os kénsavval megsavanyítottam. A felszabadult jódot 0,05 mólos  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldattal halványsárga színig, majd 5-6 ml keményítő indikátor jelenlétében végpontig titráltam. A vakpróba fogott tioszulfát mennyiségből kivontam a mintára fogott mennyiséget, így megkaptam a cukrok által redukált réz mennyiségét. A redukáló szénhidrátok mennyiségét táblázat segítségével határoztam meg (Lásztity & Törley, 1987).

#### **Somogyi-Nelson-módszer**

2 ml mintához 2 ml Somogyi reagenst adtam, majd 15 percre forrásban lévő vízfürdőbe helyeztem. A reakcióelegyet lehűtöttem és hozzáadtam 2 ml Nelson reagenst és összeráztam. A csapadék feloldódása után a mintát 25 ml-re kiegészítettem desztillált vízzel és 15 perc pihentetés után megmértem az abszorbanciát. Az abszorbancia mérés hullámhossz optimalizálás után 720 nm-en történt. A mintában lévő redukáló cukrok

menyiségét kalibráló egyenes segítségével határoztam meg (Somogyi, 1945; 1952; Nelson, 1944).

### **Szabad aminoszén meghatározás**

A mintákat sörlé esetén 100-szorosára, sör esetén pedig 50-szeresére hígítottam. A hígított vizsgálandó oldatokból 2-2 ml-t kémcsövekbe pipettáztam, majd 1-1 ml színreagenst (ninhidrin) adtam hozzá. A hígított glicin standard oldatból ugyanígy készítettem vizsgálati oldatot. A reakcióelegyet 16 percre forró vízfürdőre helyeztem, majd 20 percen át 20 °C-os vízfürdőben hűtöttem. Ezután mindegyikhez 5 ml hígító oldatot adtam és 30 percen belül 570 nm-en megmértem az abszorbanciát 2 ml desztillált vízből és 5 ml hígító oldatból készült referenciamintával szemben.

A szabad  $\alpha$ -aminoszén tartalmát az alábbi képlet segítségével számoltam ki:

$$SZAN(mg/l) = \frac{A_{\text{vizsgálandó}}}{A_{\text{standard}} * 2H}$$

Ahol:

- $A_{\text{vizsgálandó}}$ : a vizsgált sör vagy sörlé abszorbanciája (ahol szükséges, vakpróba-levonással)
- $A_{\text{standard}}$  : a glicin standard oldat abszorbanciája
- H: az alkalmazott hígítás mértéke
- 2 : a standard glicin oldat  $\alpha$ -aminoszén koncentrációja mg/l-ben (MEBAK, 1993).

### **A sörlevek színének meghatározása**

A sörlevek színének meghatározása fotometriás módszerrel történt, 430 nm-es hullámhosszon mértem az abszorbanciát. A kapott értéket a megfelelő faktorial megszorozva a színt EBC egységben kaptam meg.

$$Szín (EBC) = 25 \cdot f \cdot A_{430}$$

Ahol:

- f: alkalmazott hígítás
- $A_{430}$ : leolvasott abszorbancia (EBC módszer, 1987)

### **Erjedésfok és alkoholtartalom meghatározás**

A sörök erjedésfokát és alkoholtartalmát Centec típusú söranalizátorral határoztam meg. A termosztált, szénsavmentesített minta perisztaltikus szivattyú segítségével az Anton-Paar rendszerű ultrahangos sűrűségmérőbe, majd az átfolyó küvettás refraktométerbe jut. A sűrűség és a törésmutató értékekből a beépített szoftver kiszámítja a sör paramétereit; az eredeti- és maradék extrakttartalmat, az alkoholtartalmat és a végerjedésfokot.

### **Sejtszám és élő-holt sejt arány meghatározás**

Az élesztőből Bürker-kamrás sejtszámlálást végeztem. Az élő-holt sejt arány meghatározását metilénkékes festéssel végeztem. A vizsgálathoz a minta (amelyből hígítási sort készítettem) és a festék 1:1 arányú keverékét használtam. A metilénkék festék a holt sejteket elszínezi.

### **Élesztő sejttömeg meghatározás gravimetriás módszerrel**

Az erjesztőberendezésből elvett élesztőt vízzel átmostam, 10 percig (6000 fordulat/perc) centrifugáltam, majd megmértem a centrifugált élesztő tömegét.

### **Oxálsav meghatározás**

A meghatározást a Bohringer cég Best.Nr.755 699 enzimes teszt-kombinációjával végeztem. Az oxálsav az oxalát-dekarboxiláz enzim jelenlétében pH=5 értéknél formiátra és szén-dioxidra disszociál. A képződött hangyasav a formiát-dehidrogenáz enzim hatására NAD jelenlétében bikarbonáttá oxidálódik. A képződött NADH mennyiségét 340 nm-en fotometriásan határoztam meg, ami az oxálsav mennyiségével arányos.



## **4 KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK**

### **4.1 A sörök ásványi anyag tartalmának meghatározása**

A hazai sörök makro- és mikroelemtartalmáról eddig kevés adat állt a rendelkezésünkre. Élelmiszerbiztonsági kérdés, hogy pontos információink legyenek a sörök ásványi anyag tartalmával kapcsolatban. Vizsgálataim célja ebből következően az volt, hogy meghatározzam a Magyarországon előállított sörökben lévő ásványi anyagok mennyiségét és egészségügyi szempontból értékeljem eredményeimet.

A makro- és mikroelemek mennyiségének meghatározásához induktív csatolású plazmaemissziós spektrométert (ICP-AES) választottam, mivel multielemes technikaként információt ad a mintában lévő összes elem koncentrációjára. Magyarországon még nem végeztek a sörökből ásványi anyag tartalom meghatározást ICP-AES technika segítségével, ezért első lépésként a méréshez megfelelő minta-előkészítési eljárást kellett kidolgozni.

#### **4.1.1 Az ICP-AES mérési technika optimalizálása**

Az oldatporlasztással működő spektroszkópiai eljárások „Achilles-sarka” a mintabevitel, melynek hatásfoka a hagyományos pneumatikus porlasztók esetén is rendkívül kicsi (2-4 %), ha azonban az elemzendő oldatok viszkozitása állandó, a porlasztás megismételhetősége rendkívül jó (~0,1 %).

A sörök átlagosan 3-5 % extraktot, 3-4,5 % alkoholt, 0,35-0,55 % szén-dioxidot és 90-92 % vizet tartalmaznak. A sörminták magas szén-dioxid- és extrakt-tartalma, - a detektálás módjától és elvétől függetlenül (ICP-AES, AAS, AFS) - nagymértékben rontja a porlasztás reprodukálhatóságát, ezért vizsgálataim célja az volt, hogy olyan minta-előkészítési eljárásokat dolgozzak ki, amelyek bizonytalanságát kevésbé befolyásolja a minta összetétele.

Kísérleteim során az ICP-AES mérés technikához szükséges minta-előkészítési eljárásokat tanulmányoztam és hasonlítottam össze.

A mérések során öt kísérletsorozatot állítottam be. A minta-előkészítési eljárásokat a módszerek megbízhatósága, az idő- és a munkaigény szempontjából hasonlítottam össze.

A minta-előkészítési eljárások a következők voltak:

#### 1. A sör szén-dioxid tartalmának eltávolítása centrifugálással

A vizsgálatra kerülő söröket 20 percig centrifugáltam (1500-2000 rpm). A centrifugált sör még tartalmazhat szén-dioxidot, ultrahangos kezelést is alkalmaztam. Az ultrahangos berendezésbe helyezett mintát 10 percig kezeltem. A további minta-előkészítési módszerek során az ily módon előkészített söröket használtam.

#### 2. A sör alkoholtartalmának eltávolítása forralással

A szén-dioxidmentes sörmintát Erlenmeyer lombikban néhány percig forraltam. A lehűtött sört kétszer desztillált vízzel az eredeti térfogatra egészítettem ki.

#### 3. A sörminta bepárlása

Az alkoholtartalmat infralámpás illetve vízfürdőn végzett bepárlás segítségével távolítottam el. A betöményített mintát 10 ml 0,1 n HCl és ionmentes víz segítségével az eredeti térfogatra, 50 ml-re hígítottam fel.

#### 4. A sörminta roncsolása

10 ml sörmintát vízfürdőn bepároltam, majd a szervesanyag tartalmát 2 ml 65 %-os salétromsav és 2 ml 30 %-os hidrogén-peroxid keverékével elroncsoltam. A roncsolás végeztével a mintát 10 ml –re hígítottam ionmentes vízzel.

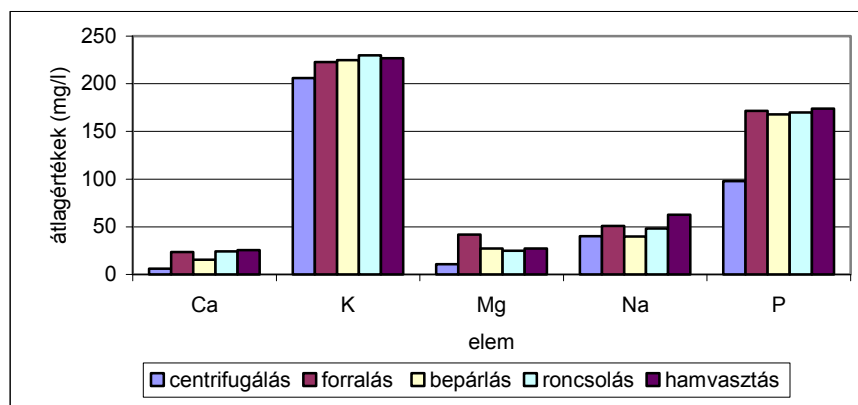
#### 5. A sörminta hamvasztása

A hamvasztáshoz használt platinatégelyeket előkészítettem (vizes-, sósavas-, vizes forralás, vizes öblítés, szárítás, izzítás). A tégelyekbe 50 ml sört mértem, és 100°C-os vízfürdőn szárazra pároltam. Ezután a mintát 105°C-os szárítószekrényben megszáritottam, majd nyílt lángon elhamvasztottam, és 500°C-on 1,5 órán keresztül izzítottam. A kapott szürkésfehér hamut 10 ml 0,1 n HCl-al oldottam fel.

Minden minta-előkészítési eljárásnál vakpróbát is készítettem a szisztematikus szennyeződések kiküszöbölése érdekében. A vakpróbák esetében a sör helyett kétszer desztillált vizet használtam.

Az öt mérési sorozat eredményeit a Melléklet I. táblázatában foglaltam össze. A közölt eredmények öt párhuzamos mérés átlagát és szórás százalékát tartalmazzák. A táblázatban nem szerepel az összes egyidejűleg vizsgálható elem, ugyanis az arzén, kadmium, kobalt, króm, gallium, lítium, molibdén, ólom, titán és vanádium koncentrációja a kimutathatósági határérték alatt volt.

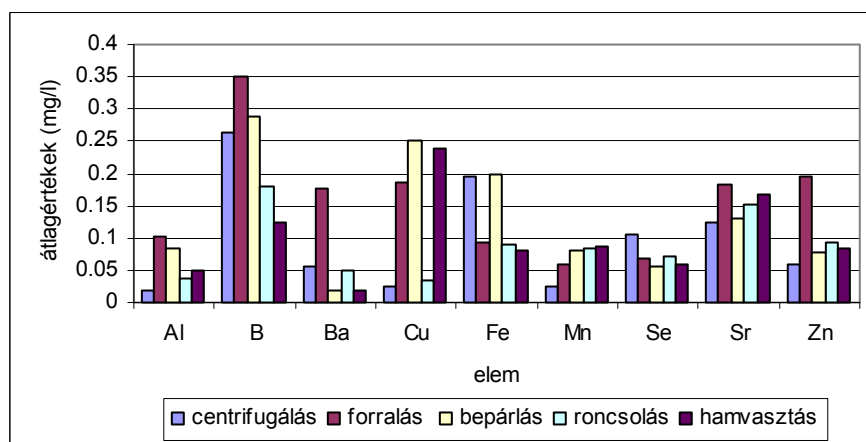
Az ásványi anyagok különböző minta-előkészítési eljárásokkal kapott átlagértékei a 6. és 7. ábrán láthatók.



**6. ábra A makroelemek koncentrációjának átlagértékei az egyes minta-előkészítési eljárásoknál**

A minta-előkészítési eljárások során kapott koncentráció átlagértékeket varianciaanalízissel hasonlítottam össze, miután a szórások homogenitását Bartlett próbával ellenőriztem (Sváb, 1981). Az eredményeket a Melléklet II. táblázata tartalmazza. A kalcium koncentrációk esetében a forralással, roncsolással és hamvasztással előkészített minták átlagértékei között nem volt szignifikáns eltérés. A kálium koncentrációknál a forralás, bepárlás és hamvasztás adott azonos eredményt, a magnézium koncentrációértékek közül a bepárlással, roncsolással és hamvasztással kapott eredmények között nem volt szignifikáns különbség. A nátrium a centrifugálással és bepárlással, illetve a forralással és hamvasztással előkészített mintáknál páronként megegyező értékeket adott. A foszfor koncentrációk azonosak voltak a forralással, a bepárlással, a roncsolással és a hamvasztással előkészített minták esetében.

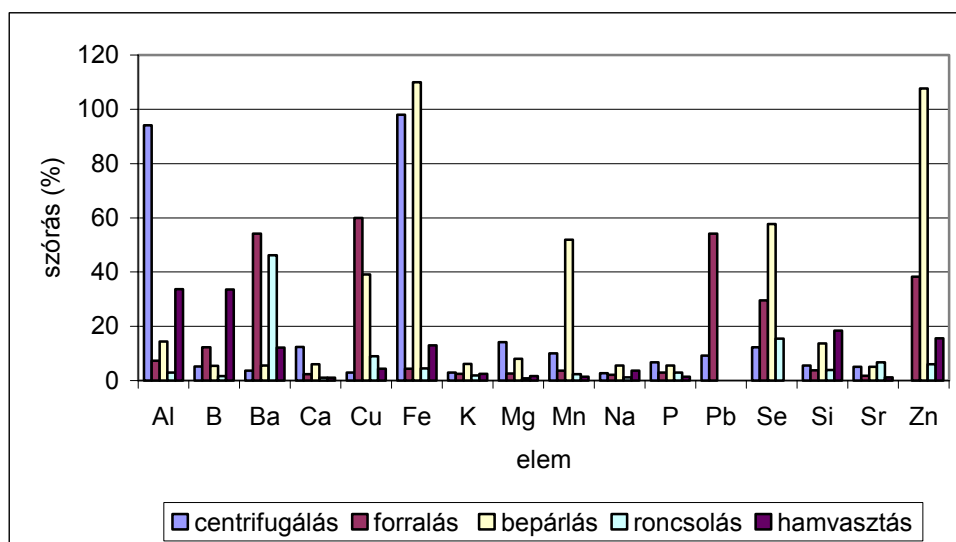
A statisztikai elemzés eredményeként megállapítottam, hogy a centrifugálással történő mintaelőkészítés minden makroelem esetében szignifikánsan eltér a többi eljárás eredményeitől, amit feltehetően a sörben lévő alkohol zavaró hatása okoz.



**7. ábra A mikroelemek koncentrációjának átlagértékei az egyes minta-előkészítési eljárásoknál**

A mikroelemeknél nagyobb ingadozások tapasztalhatók az egyes elemek koncentrációjának átlagértékei között. Mivel a szórások nem voltak homogének, ezért statisztikai elemzésre nem került sor. Az átlagértékek összehasonlításánál azonban kitűnik, hogy a bór és a réz kivételével legkisebb eltérés a roncsolással és a hamvasztással előkészített mintáknál tapasztalható.

A szórásértékek nagysága a minta-előkészítési eljárás **megbízhatóságára** utal (8. ábra).



**8. ábra A minta-előkészítési eljárások relatív szórás értékei**

A statisztikai elemzés eredményeként megállapítottam, hogy a centrifugálással történő mintaelőkészítés minden makroelem esetében szignifikánsan eltér a többi eljárás eredményeitől, amit feltehetően a sörben lévő alkohol zavaró hatása okoz.

A centrifugálással előkészített minták esetében a relatív szórás értékek egyetlen elem esetében sem kisebbek 2 %-nál, ami arra utal, hogy a sör alkohol- és egyéb szerves anyag tartalma rontja a porlasztás hatásfokát, zavarja a meghatározást, ugyanis a centrifugálás nem elég jó hatásfokú mintaelőkészítési technika. A forralás és a bepárlás során az alkohol eltávozott ugyan, ennek ellenére még mindig magas volt az egyes elemek relatív szórása, ami a sör extrakt-tartalmának a porlasztás reprodukálhatóságára és a plazma hőmérsékletére gyakorolt negatív hatásának tulajdonítható. A legkisebb szórásértékeket a roncsolással és a hamvasztással előkészített minták esetében kaptam. E két mintaelőkészítési eljárás során elroncsoltam a vizsgálandó sörök szerves anyag tartalmát, így a mérés alatt nem lépett fel az optikai spektrumban molekuláris zavaró hatás, ami azt igazolja, hogy a meghatározás megbízhatóságát a sör szerves anyag tartalma befolyásolja.

A minta-előkészítési eljárásokat a fent említetteken kívül egyéb szempontok szerint is összehasonlítottam.

**Az idő- és munkaigényesség** szempontjából leegyszerűbb eljárás a sör centrifugálással történő szénsavmentesítése, a magas szórásértékek viszont arra utalnak, hogy a módszer nem megbízható, feltehetően a sör nagy szervesanyag-tartalma miatt. A forralás és bepárlás idő- és munkaigénye a centrifugálásnál valamivel nagyobb, a relatív szórások kisebbek, az illékonyabb elemek koncentrációja azonban csökkent. A legmunkaigényesebb eljárás a hamvasztás. Egy minta előkészítése 8 órát vesz igénybe, így nem felel meg a gyorsaság és egyszerűség követelményének. Nagy a szennyezésveszély, az anyagveszteség, és néhány elem esetében nem reprodukálható a mérés. A roncsolásos technika munka- és időigénye valamivel kisebb a hamvasztásos eljárásnál, és a vegyszeradagolás miatt nő a szennyezésveszély, mégis a legmegbízhatóbb minta-előkészítési eljárás. A vakérték korrekció a vegyszer és az edényzet „memóriája” okozta szennyezési hibát kiküszöböli.

Összefoglalva mérési tapasztalataimat megállapítottam, hogy a sörminták roncsolással történő feltárása biztosítja a legjobb eredményt, egyrészt a mérési eredmények megbízhatósága, pontossága, másrészt a mérések idő- és munkaigényessége szempontjából. Megállapításaim egybeesnek Charalambus (1978), Alcázar és munkatársai (2002), Wyrzykowska és munkatársai (2001) valamint Matsushige és Deoliveira (1993) által publikált minta-előkészítési módszerekkel, akik az ICP-AES technikához a söroket szintén salétromsavas - hidrogén-peroxidos roncsolással tárták fel.

#### **4.1.2 Sörök ásványi anyag tartalmának vizsgálata**

A sörök ásványi anyag tartalmának meghatározása során kereskedelmi forgalomból és a sörgyáraktól kapott mintákat használtam fel. A söroket először sörtípusonként elemeztem, alapanyag-összetétel szerint négy kategóriába soroltam.

##### 1. Populár sör:

A sörök eredeti extrakt-tartalma  $10,5 \pm 0,5$  (m/m) %. Ezt a terméket gyártják a legnagyobb pótanyaghányaddal, a maláta 20-30 %-át helyettesítik valamilyen szénhidrát-tartalmú pótanyaggal. A vizsgált időszakban (1988 - 2003) pótanyagként elsősorban kukoricadarát használtak, de előfordult árpa és izocukor is. A populár sör Magyarországon a legnagyobb mennyiségben előállított sörfajta. A sörtípus legismertebb képviselői a Kőbányai Világos, Borsodi Világos, Talléros, Soproni Ászok, Arany Hordó és a Szalon sör. A vizsgált mintaszám: n=31.

## 2. Prémium sör:

Az előzőnél nagyobb, min. 12 (m/m) % eredeti extrakt-tartalmú sör. A felhasznált pótanyag ebben az esetben is leggyakrabban kukoricadara, mennyisége a maláta mennyiségének max. 20 %-a. Legismertebb képviselő: a Dreher sörcsalád, a Borsodi Sörgyár Bivaly és Borostyán söre, valamint a licence alapján gyártott sörök, pl. az Amstel sörcsalád, a Gösser, a Kaiser, a Schwechater, a Gold Fassl, a Heineken stb. Mintaszám: n=35

## 3. Maláta sör:

A sör pótanyagot nem tartalmazhat. A „Német Tisztasági Törvény” előírásainak megfelelően csupán víz, maláta, komló és élesztő kerülhet a termékbe. Extrakt-tartalma 12 (m/m) % körül van. Termelési volumene nem túl jelentős, bár a legújabb törekvések a söriparban a pótanyag mentes sör előállítását célozzák. Legismertebb maláta sörök: Holsten, HB sörök, Spaten. A kisüzemi sörfőzdék is – műszaki adottságaikból következően – leggyakrabban ezt a terméket állítják elő. A vizsgált sörök száma: n=14

## 4. Barna sör:

A négy vizsgált sörtípus közül a legnagyobb eredeti extrakt-tartalommal rendelkező termék. A sör előállításához a pilseni maláta mellett müncheni, karamell és festő malátát is használnak. Legfőbb képviselői: Dreher Bak, Borsodi Barna, Amstel Bock, Szalon barna. Mintaszám: n=15

A sörmintákat roncsolásos feltárással készítettem elő a meghatározásra, ami ICP-AES technikával történt (4.1.1 Fejezet).

A sörökben huszonhét elem jelenlétét vizsgáltam. Egyetlen mintában sem volt kimutatható mennyiségű kadmium, gallium, higany, nikkell és titán. Igen kis mennyiségben tartalmaztak a sörök báriumot, vanádiumot és kobaltot. 2002-ben néhány sör elég magas arzéntartalmával tűnt ki, a legnagyobb érték 0,204 mg/l volt. Mivel a sörfőző víz nem tartalmazott arzént, az feltehetőleg a festőmalátával került a sörbe a festőmaláta pörkölése során felhasznált füstgázból. Az ólom néhány mintában kimutatható volt, mennyisége azonban nem haladta meg az egészségügyi határértéket.

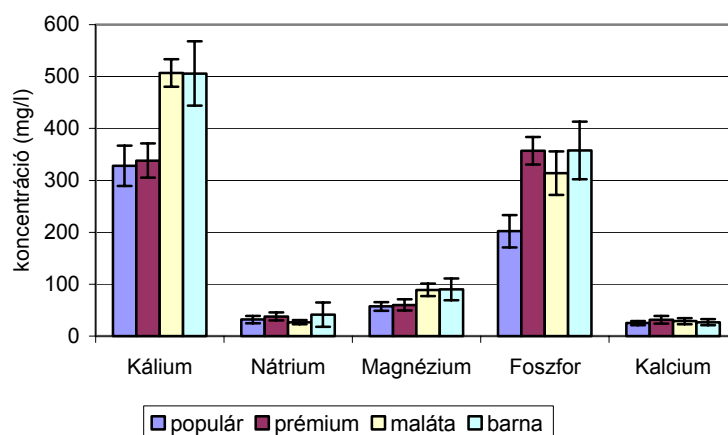
### 19. táblázat A sörök nyomelemtartalma és az egészségügyi határértékek

Elem	Egészségügyi határérték (mg/l)*	A sörökben mért maximális érték (mg/l)	Sörökben mért átlagérték (mg/l)
Arzén	0,1	0,204	0,048
Higany	0,01	<K.H.**	<K.H.
Ólom	0,2	<K.H.	<K.H.
Kadmium	0,02	<K.H.	<K.H.
Réz	10	0,7071	0,106
Cink	10	0,582	0,150
Ón	0,15	<K.H.	<K.H.

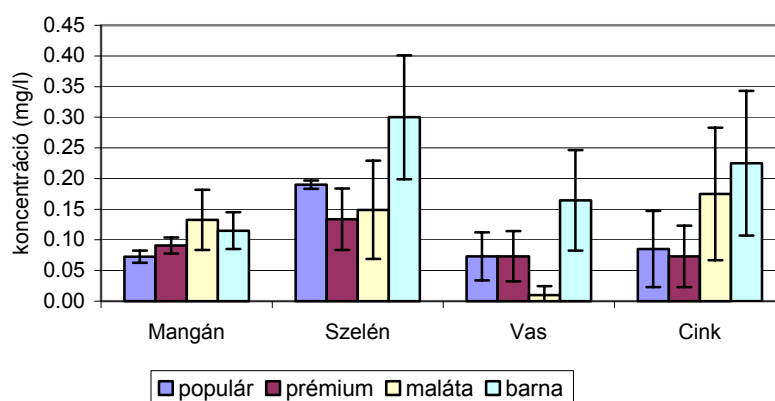
\* 17/1999.(VI.16.) EüM rendelet -Az élelmiszerek vegyi szennyezettségének megengedhető mértékéről

\*\* 18. táblázat

A 9. ábrán a sörökben mért makroelemek, a 10. ábrán a mikroelemek átlagos koncentrációja és konfidenciaintervalluma látható.



9. ábra Átlagos makroelemtartalom a sörökben



10. ábra Átlagos mikroelemtartalom a sörökben

A sörök makro- és mikroelem tartalmát varianciaanalízissel hasonlítottam össze. Az eredmények a Melléklet III. táblázatában találhatóak. A kálium koncentrációja a populár és prémium söröknél azonos, a maláta és barna söröknél szintén. A pótanyaggal készült sörök káliumtartalma kisebb, ez egyrészt a kisebb extrakt-tartalommal, másrészt a pótanyag felhasználással magyarázható. A kálium döntően a malátából kerül a sörbe. A pótanyagokból, azok kevésbé jól feltárható szerkezete révén viszont kisebb mennyiség oldódik. A nátrium koncentrációk a prémium és barna söröknél megegyeznek, a maláta és a populár sörök koncentrációi szignifikáns különbséget mutatnak. A magnézium a káliumhoz hasonlóan a populár és a prémium valamint a maláta és barna söröknél páronként egyezik, feltehetően az azonosságok és eltérések okai is megegyeznek az előbbiekkal. A foszfor a két pótanyagos sörnél azonos, az ok azonos a kálium koncentrációknál ismertettekkel. A kalcium páronkénti egyezést mutat a populár és barna, prémium és maláta, valamint a maláta és barna sörök között. A koncentrációk között tapasztalható kis elérések oka az lehet, hogy valamennyi sör előállításához kezelt sörfőző vizet használtak, amelynek kalcium tartalmát a cefrézés kezdetén kalcium hozzáadagolással állították be.

A mikroelemek közül a mangán koncentrációja minden sörnél szignifikáns eltérést mutat. A szelén a barna sörökben van a legnagyobb mennyiségben, koncentrációja eltér a másik három sörtípusétól. A vas azonos mennyiségben található a pótanyagos sörökben, a másik két sörtípus eltér ettől. A cink koncentrációja a populár és prémium söröknél nem különbözik szignifikánsan, ami ismét a pótanyag számlájára írható, ugyanis a pótanyagok nehezebben feltárható szerkezete miatt kevesebb cink oldható ki a cefrézés során.

Egy liter sör 1100-2800 mg ásványi anyagot tartalmaz. A legnagyobb mennyiségben jelenlévő ásványi anyag a kálium. A magyar sörök átlagos kálium-tartalma 385 mg/l, így elmarad a német sörök 499 mg/l-es kálium koncentrációja mögött (Piendl & Wagner, 1987). A nátrium döntő része a sörfőző vízből származik, mert az árpa, maláta, komló és élesztő nátrium-tartalma csekély. A magyar sörök átlagos nátriumtartalma 35 mg/l, ami az italt nátriumszegény ételmiszerré teszi (Piendl & Wagner, 1988), így fogyasztásával valamelyest ellensúlyozható a túlzott konyhasó bevitel. A kálium-nátrium aránya alapján a sör magas vérnyomásban, ödémás- és vesebetegségben szenvedők részére javasolt sószegény diétákba is beilleszthető, természetesen az alkoholtartalom figyelembevételével. Viszonylag nagy mennyiségben fordul elő a szelén, amelynek koncentrációja az árpa termőhelyétől függ, így a sörökben jelentős ingadozást mutat. Jelen tudásunk szerint a



szelén védi a sejteket, szöveteket az oxidatív károsodástól és valószínűleg gátolja a rosszindulatú daganatos betegségek kialakulását.

A sörben lévő mikroelemek jelentősége is nagy: a vas és a réz a vérképzésben vesz részt, a cink a szervezet számára nélkülözhetetlen enzimek építőköve.

**20. táblázat Az emberi szervezet napi ásványi anyag szükséglete és a sörben található mennyiségek**

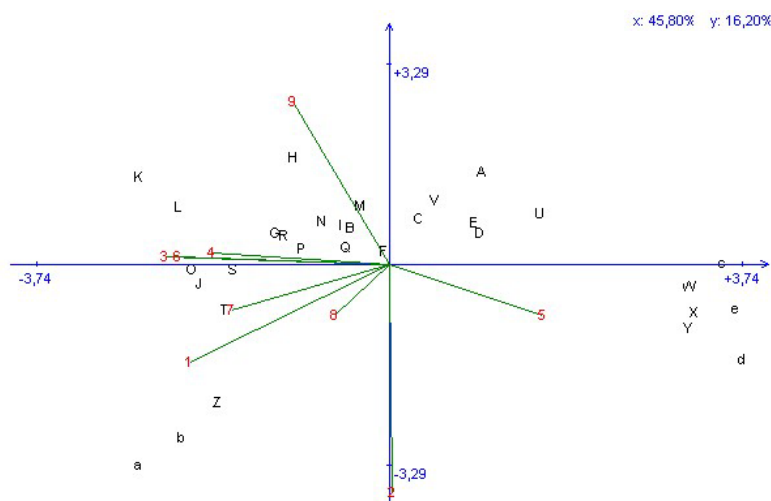
Ásványi anyag	Napi szükséglet (mg)*	1 liter sörben található mennyiség (mg)			
		Irodalmi adatok**	Hazai sörök		
			Min.	Max.	átlag
Kálium	3500	100-780	170	650	385
Nátrium	2000	9-230	30	90	35
Kálium : nátrium		11 : 1			11 : 1
Kalcium	800	4-195	16	50	28,2
Magnézium	300	52-270	14	140	68
Mangán	4	0-0,35	0,04	0,35	0,09
Szelén	0,08	0-0,5	0	0,71	0,28
Cink	15	0,02-4,5	0	0,89	0,15
Foszfor	800	189-1100	128	547	249
Vas	14	0-2	0	0,52	0,07
Réz	1,4	0-1,2	0	0,71	0,116

\*Bíró & Lindner (1999)

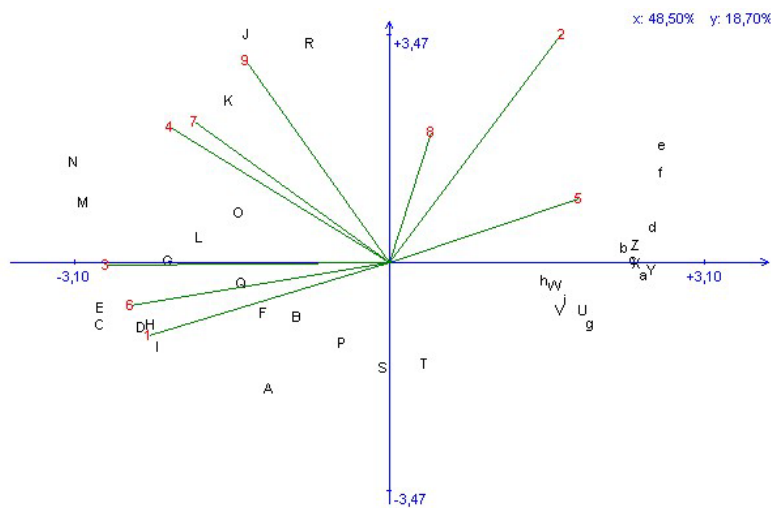
\*\*Krüger & Anger (1990)

Tekintettel arra, hogy a sörök esetében általában 20 makro- és mikroelem kimutatására volt lehetőség, a sörök megítélése az összes elem alapján nehezen végezhető el, ezért az adatértékelés eszközeként Főkomponens Analízist (Principal Component Analysis, PCA) alkalmaztam, az Isosense for Windows (Isosense for Windows, 1996) szoftver segítségével.

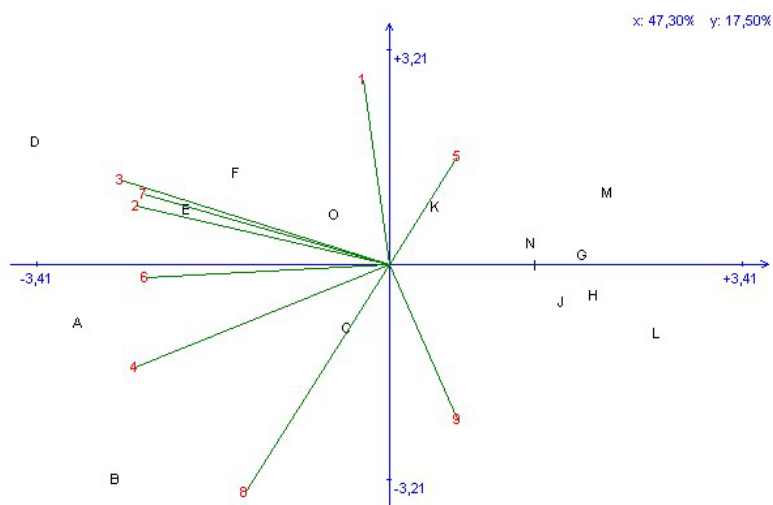
A 11- 14. ábrákon az egyes sörtípusok PCA biplot diagramjai láthatók.



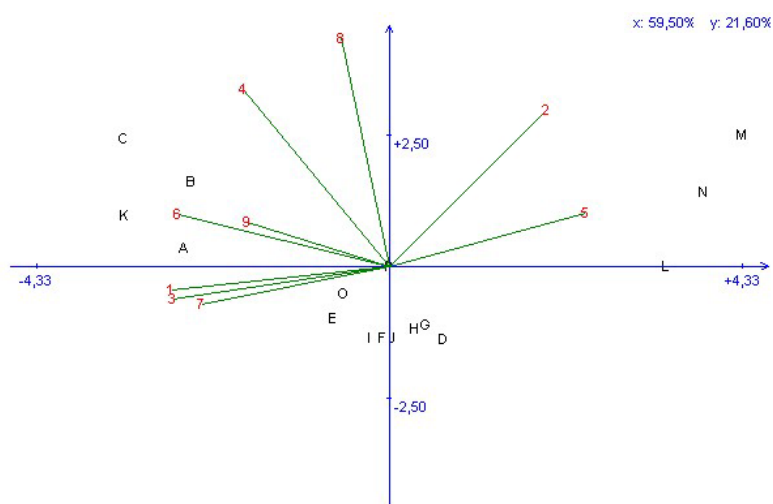
**11. ábra A populár sör PCA biplot diagramja**



12. ábra A prémium sör PCA biplot diagramja



13. ábra A maláta sör PCA biplot diagramja



14. ábra A barna sör PCA biplot diagramja

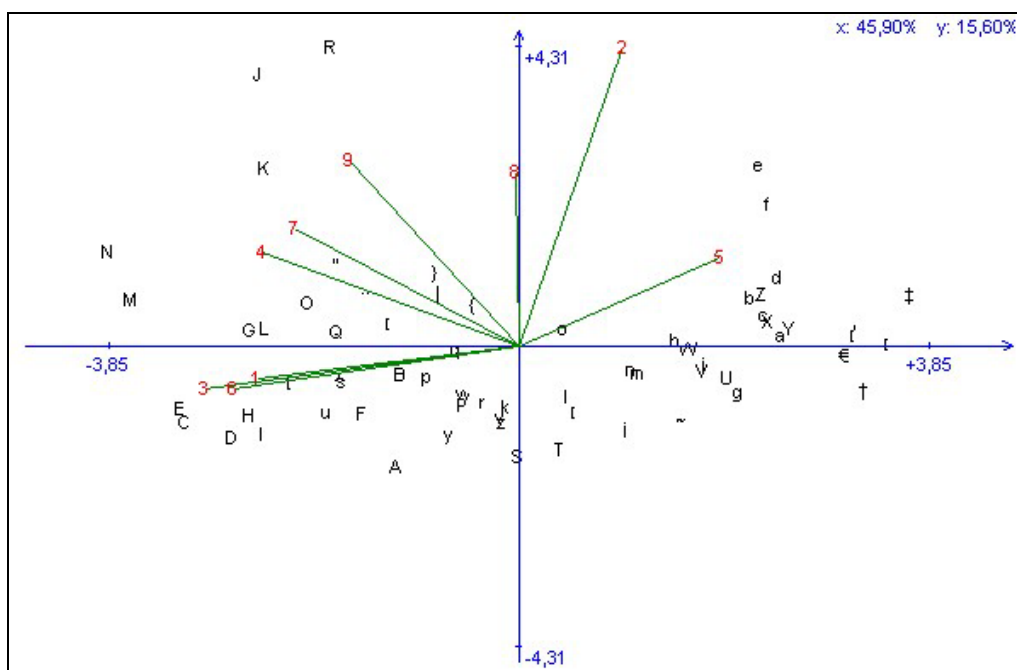
Jelmagyarázat: a számok az ásványi anyagokat, a betűk és írásjelek a mintákat jelzik.

1 – K, 2 – Na, 3 – Mg, 4 – Mn, 5 – Se, 6 – P, 7 – Ca, 8 – Fe, 9 – Zn

Az 1. főkomponens populár söröknél a teljes variancia a 45,8 %-át, prémium söröknél a 48,5 %-ot, maláta söröknél a 47,3 %-ot, míg barna sörök esetében az 59,5 %-ot jeleníti meg, tehát a módszer alkalmazása indokolt és jól működik. A 2. főkomponens 16,2 – 21,6 % közötti varianciát jeleníti meg.

Az egyes sörtípusok értékelése: A populár söröknél a magnézium, mangán és foszfor mutat egybeesést, prémium söröknél a kálium és foszfor, valamint a mangán és a kalcium. Maláta söröknél a nátrium, magnézium és kalcium, barna söröknél közel helyezkedik el egymáshoz a kálium, magnézium és kalcium, valamint a foszfor és a cink. A felsorolt komponensek minden esetben nagy súllyal szerepelnek, ennek megfelelően ezek a legdominánsabb változók.

Együttes elemzésnek vettem alá populár és prémium sört, amelyek mindegyike pótanyag felhasználással készült, valamint a prémium és maláta sört, amelyekben a hasonló extrakt-tartalom a közös (15-16. ábra).



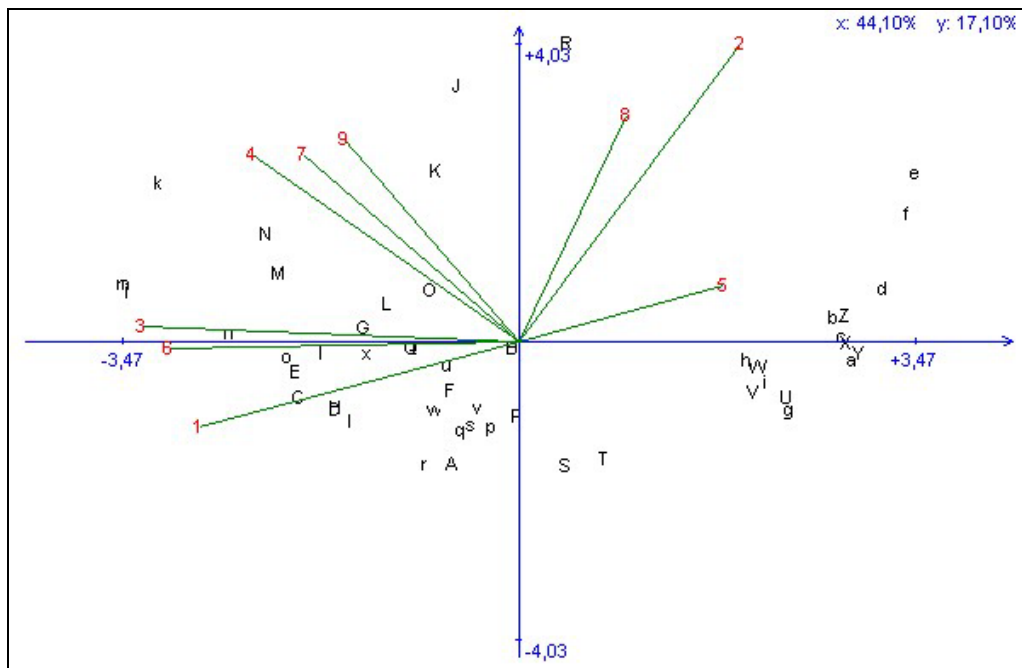
**15. ábra Pótanyagos sörök (populár és prémium) biplot diagramja**

Az ábrákon a számok az elemeket, a betűk a sormintákat jelzik. Az írásjelek azonosítása:

Prémium sörök: A – W jelzésig 25 minta, valamint a – j-ig 10 minta

Populár sörök: k – ” jelzésig 31 minta

A 15. ábrán jól láthatóan elkülönül egymástól a populár és a prémium sörök csoportja. Az előzőekhez hasonlóan itt is igen közel helyezkedik el a konszenzustérben a kálium, magnézium és a foszfor.



**16. ábra Minőségi sörök (prémium és maláta) biplot diagramja**

Az ábrákon a számok az elemeket, a betűk a sörmintákat jelzik. Az írásjelek azonosítása:

Prémium sörök: A – W jelzésig 25 minta, valamint a – j-ig 10 minta

Maláta sörök: k – w jelzésig 14 minta

A prémium és maláta sörök együttes értékelésénél a konszenzustérben egymáshoz közel található a mangán, kalcium és cink, a pótanyagos söröknél a magnézium, a foszfor és a kálium, valamint a mangán, kalcium és cink. A minták elhelyezkedésében teljes elkülönülés nem volt megfigyelhető.

Végezetül megvizsgáltam az egyes elemek előfordulásának sör típusokon belüli gyakoriságát. A négy sör hisztogramjai a I - IV. ábrán láthatók a Melléklet-ben. Az eloszlásokat tanulmányozva megállapítottam, hogy nem fedezhető fel bennük különösebb tendencia. Ennek oka a vizsgált sörök gyártásának igen széles, 15 éves időintervalluma lehet, amely az árpa ásványi anyag tartalmára jelentős befolyást gyakorolhatott. Az árpa ásványi anyag tartalmát ezen kívül a fajta és az évjárat is befolyásolta. A vizsgált időszakban tértek át a sörgyárok a kezelt víz használatára, ami az ingadozó kalcium koncentrációkra adhat magyarázatot.

## 4.2 A kalcium és a cink szerepe a söripari cefrézésnél és erjesztésnél

### 4.2.1 A kalcium koncentrációjának hatása a cefrézési folyamatokra

Az utóbbi években problémák jelentkeztek a cefrézés során. Növekedett a keményítő elfolyósodásához szükséges idő, csökkent az extrakt-kihozatal, lassabbá vált a cefreszűrés. A gondok hátterében leggyakrabban a nem megfelelő  $\alpha$ -amiláz aktivitás áll. Korábban a sörgyárak nem kezelték a sörfőző vizet, manapság azonban ioncserés eljárást vagy reverz ozmózist használnak, és a kalcium pótlását kezeletlen víz bekeverésével vagy kalcium sók hozzáadagolásával oldják meg.

A kalcium koncentrációja nagymértékben befolyásolja az  $\alpha$ -amiláz enzim aktivitását. A szakirodalom áttanulmányozása során megállapítottam, hogy a söripari cefrézésnél nem ismert az a kalcium-koncentráció, amely az adott körülmények között az  $\alpha$ -amiláz számára az optimális aktivitást biztosítja. Munkám célja ezért a maláta eredetű  $\alpha$ -amiláz enzim számára legkedvezőbb kalcium koncentráció meghatározása volt, az enzim hőstabilitására gyakorolt hatás és a hidrolízis hatékonysága szempontjából.

Első lépésként a maláta  $\alpha$ -amiláz aktivitását határoztam meg különböző kalcium koncentrációk mellett Phadebas módszerrel. Ezt követően modelleztem a cefrézési eljárást, és különböző hőfokokon és kalcium koncentrációk mellett vizsgáltam az enzim aktivitását. Erre a keményítóbontás sebességéből és mértékéből következtettem. Megvizsgáltam továbbá a kalcium koncentrációjának a sörlé szabad-aminonitrogén szintjére és színére gyakorolt hatását.

A kalcium meghatározása során a sörmintát kétszer desztillált vízzel tízszeres térfogatra hígítottam. A kalcium koncentrációja így még nem került a kimutatási határérték közelébe, a sör szervesanyag-tartalma viszont a hígítással annyira lecsökkent, hogy a mérést nem zavarta.

#### a. Az $\alpha$ -amiláz enzim aktivitásának meghatározása Phadebas módszerrel

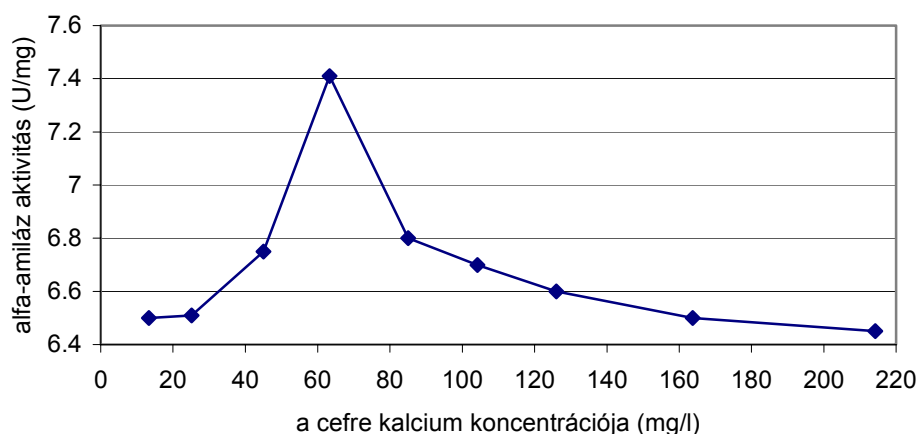
A mintákat a 3.1.4 Fejezetben ismertetett *Enzimaktivitás meghatározás Phadebas módszerrel* szerint vizsgáltam. A malátaőrleményhez adagolt kalcium koncentrációk, a cefrében mért értékek és az  $\alpha$ -amiláz aktivitások a 21. táblázatban találhatóak.

## 21. táblázat A kalcium hatása az $\alpha$ -amiláz aktivitására

Hozzáadagolt kalcium (mg/l)	A cefrében mért kalcium koncentrációk (mg/l)*	Alfa-amiláz aktivitás (U/L)*
0	13,3	164
10	25,1	165
30	45,0	169
50	63,3	185
70	85,0	170
90	104	168
110	126	165
150	164	163
200	214	163

\*A közölt értékek 3-3 párhuzamos mérés átlageredményei

A 17. ábra a cefre kalcium koncentrációja és a maláta  $\alpha$ -amiláz aktivitása közötti összefüggést tárja fel.



### 17. ábra A légszáraz maláta alfa-amiláz enzim aktivitása a kalcium koncentráció függvényében

A maximális enzimaktivitást a 45-105 mg/l-es kalcium tartományban észleltem. A 45 mg/l-es koncentráció alatt és a 120 mg/l-es koncentráció felett az enzimaktivitás csökkenése figyelhető meg.

#### b. A kalcium koncentrációk hatása az enzimaktivitásra 72°C cefrészési hőmérsékleten

A 3.1.3.1 Fejezetben ismertetett módszer szerint sörleveket állítottam elő. A bekeverést kétszer desztillált vízzel hajtottam végre. A cefre kalcium koncentrációjának kiegészítése  $\text{CaCl}_2$  törzsoldat hozzáadagolásával történt. Egy mintát csapvízzel készítettem abból a célból, hogy a vízben lévő egyéb ionok enzimaktivitásra gyakorolt hatását is

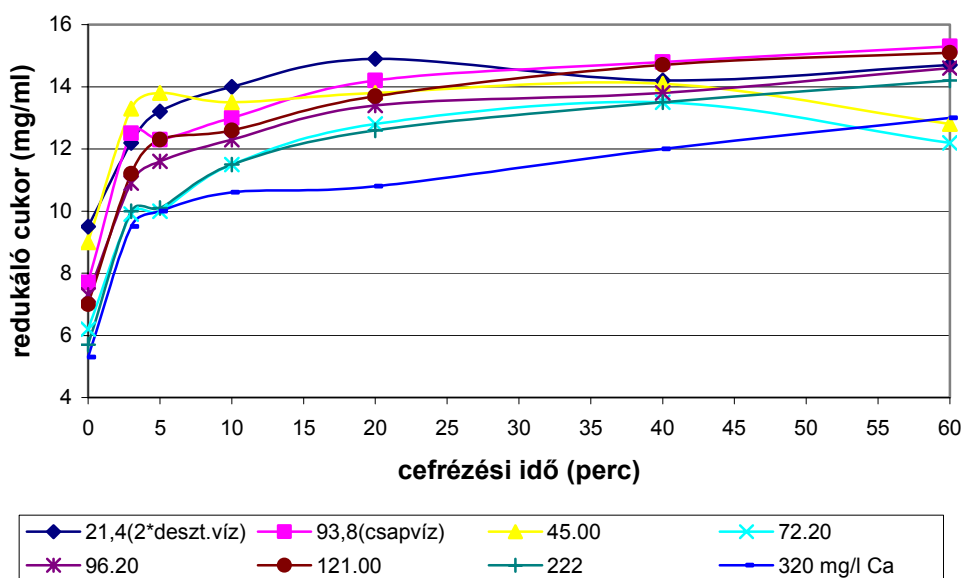
tanulmányozhassam. A cefrézést az  $\alpha$ -amiláz enzim hőoptimum-intervallumának alsó értékénél, 72°C-on végeztem. A bekeverést követően, a 0., 3., 5., 10., 20., 40. és 60. percben vettem mintát. A mintákat jeges fürdőbe helyeztem és 3 ml 0,5 n HCl oldattal inaktiváltam az  $\alpha$ -amiláz enzimet. A keményítóbontás nyomonkövetésére többféle analitikai módszert (Somogyi-Nelson és Schoorl módszer) alkalmaztam.

A cefrében mért kalcium koncentrációk az alábbiak voltak:

**22. táblázat A cefrében mért kalcium koncentrációk**

Kísérlet	1	2	3	4	5	6	7	8
A cefre kalcium koncentrációja (mg/l)	21,4 (2* deszt. víz)	93,8 (csapvíz)	45	72,2	96,2	121	222	320

A keletkező cukrok mennyiségét Somogyi-Nelson és Schoorl módszerrel határoztam meg (3.1.4 Fejezet). A redukáló cukor tartalom növekedése mindkét analitikai módszerrel azonos képet mutatott.



**18. ábra. A cefrőzés során keletkező redukáló cukrok mennyiségének alakulása különböző kalcium koncentrációknál (Schoorl módszer)**

Megállapítottam, hogy a keményítóbontás döntően a cefrőzés első tíz percében játszódott le. A cefre bekeverését követően azonnal eltérés mutatkozott a redukáló cukrok mennyisége között. A nagyobb mennyiségű, 222 és 320 mg/l kalciumot tartalmazó mintáknál lassabban indult meg a keményítóbontás, mint a kisebb koncentrációk esetében. A csapvízzel cefrézett mintánál a hidrolízis sebessége hasonló volt ahhoz az ionmentes

vízzel cefrészett mintához, amely ugyanannyi kalciumot tartalmazott. Eszerint a csapvízzel bevitt egyéb ionok nem játszanak lényeges szerepet az  $\alpha$ -amiláz enzim működésében.

A legnagyobb bontási sebesség a 45-121 mg/l-es kalcium koncentráció tartományban figyelhető meg, míg a 220-320 mg/l-es kalcium mennyiség nemcsak lassította a reakciót, hanem a cefrézés végén elért bontási fokot is csökkentette. A 60 perces cefrézési idő végén nyert redukáló cukor koncentráció-értékek és a kalcium koncentrációja között nem tapasztaltam egyértelmű összefüggést.

### c. A kalcium koncentrációk hatása az enzimaktivitásra különböző cefrézési hőmérsékleteken

#### *A keményítő lebontásához szükséges időtartam meghatározása*

A továbbiakban különböző cefrézési hőmérsékleteken tanulmányoztam a kalcium koncentrációjának a keményítóbontás sebességére gyakorolt hatását. 10°C-os hőmérsékletintervallumot vizsgáltam, amely közrefogja a malátaeredetű  $\alpha$ -amiláz hőmérsékleti optimumát. A cefrekészítés megegyezett az előző fejezetben ismertetett eljárással. A keményítóbontás végpontját az iparban használatos jódpórával határoztam meg, 0,02 n KI-os jóddal. A mintavételt 5 percenként, a jódnormál állapot eléréséig végeztem.

### 23. táblázat A cefre elcukrosodási idejének alakulása a kalcium koncentráció függvényében különböző hőmérsékleteken

A cefre kalcium koncentrációja (mg/l)	Elcukrosodási idő (perc)				
	70°C	73°C	76°C	78°C	80°C
13.3	20	15	-	-	-
25.1	15	10	10	10	-
45,0	15	10	10	10	-
63.3	15	10	10	10	-
85,0	15	10	10	15	-
104	15	10	10	15	-
124	15	10	10	15	-
164	15	15	15	15	-
214	15	15	15	15	-
271	20	15	15	20	-
346	20	20	15	-	-
443	20	20	20	-	-



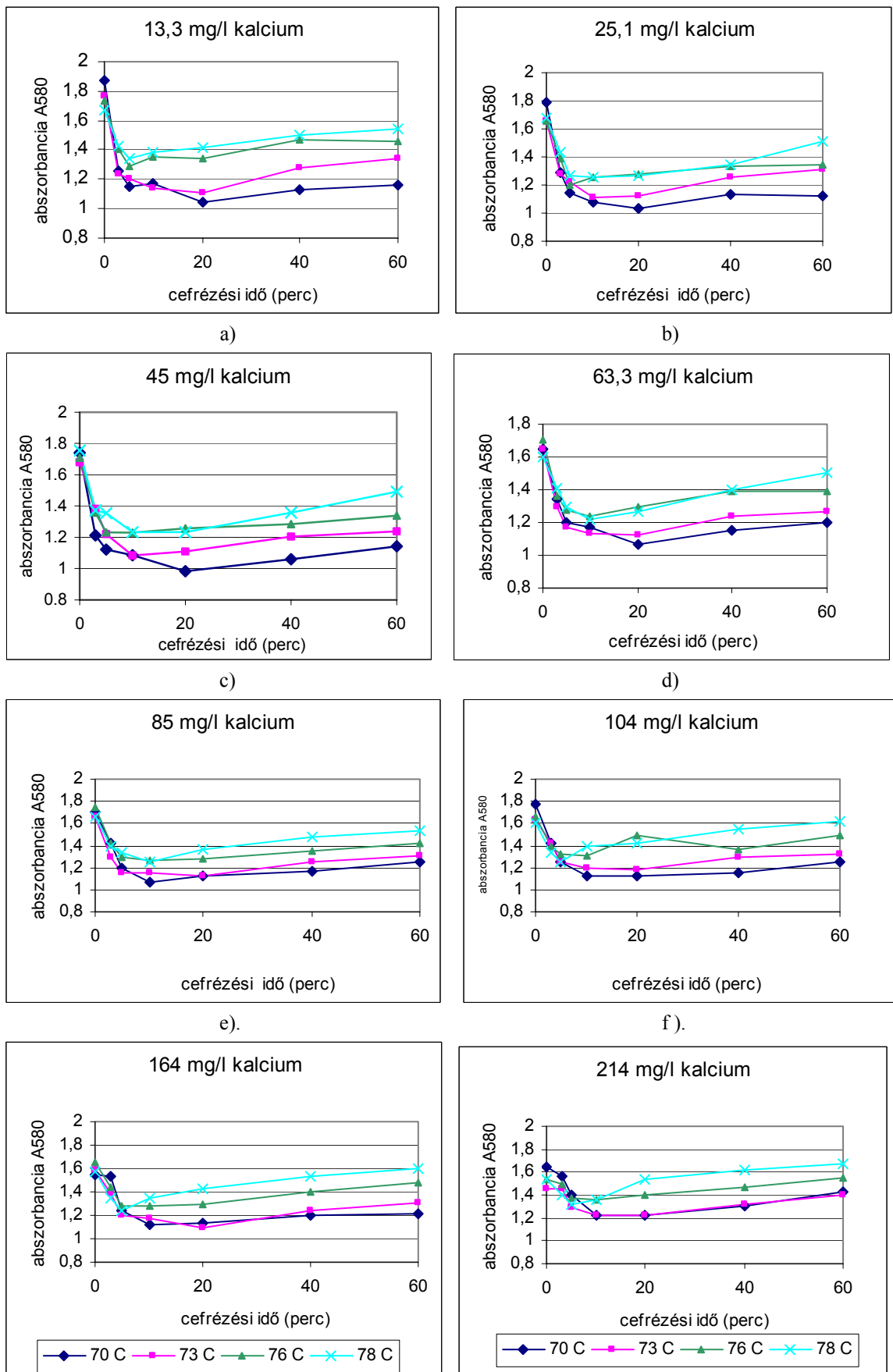
Megállapítható, hogy 80°C-on egyetlen minta sem folyósodott el, függetlenül a kalcium mennyiségétől. A keményítő lebontása leggyorsabban a 25-63 mg/l kalciumot tartalmazó cefréknél ment végbe, míg a kalcium koncentrációjának és a cefrőzési hőmérsékletnek a növekedése egyaránt lassította a reakció sebességét. A kis kalciumkoncentráció szintén az elfolyósodási idő növekedését eredményezte, 13,3 mg/l kalcium koncentrációnál sem 76°C-on, sem 78°C-on nem folyósodtak el a cefrék.

#### ***A keményítőbontás időbeli lefolyása***

A keményítőbontás lefolyását 70°C, 73°C, 76°C és 78°C cefrőzési hőmérsékleten tanulmányoztam. A cefrőzés a 3.1.3.1 Fejezetben leírt módszer szerint történt. A cefrék kalciumkoncentrációi a 23. táblázatban találhatók.

A mintavételekre a cefrőzés 0., 3., 5., 10., 20., 40., és 60. percében került sor. A keményítőbontást fotometriás jódpróbával követtem nyomon (3.1.4 Fejezet). A kiinduláskor mért abszorbancia a jód keményítővel képzett komplexének a színe, míg az 1 körüli abszorbancia a keményítő elfolyósodását jelzi. Az abszorbancia csökkenése a keményítőbontás sebességét jelzi. A 19. ábrán a hőmérséklet és a kalcium koncentráció keményítő hidrolízisére gyakorolt hatása látható.

Valamennyi koncentráció esetében megfigyelhető, hogy a keményítőbontás a 78°C-os hőmérsékleten ment végbe a leglassabban, és a legkisebb volt a bontási fok is. Ezen a hőmérsékleten már megkezdődik az enzim hőinaktiválódása, amit a cefréhez adagolt kalcium sem befolyásolt.



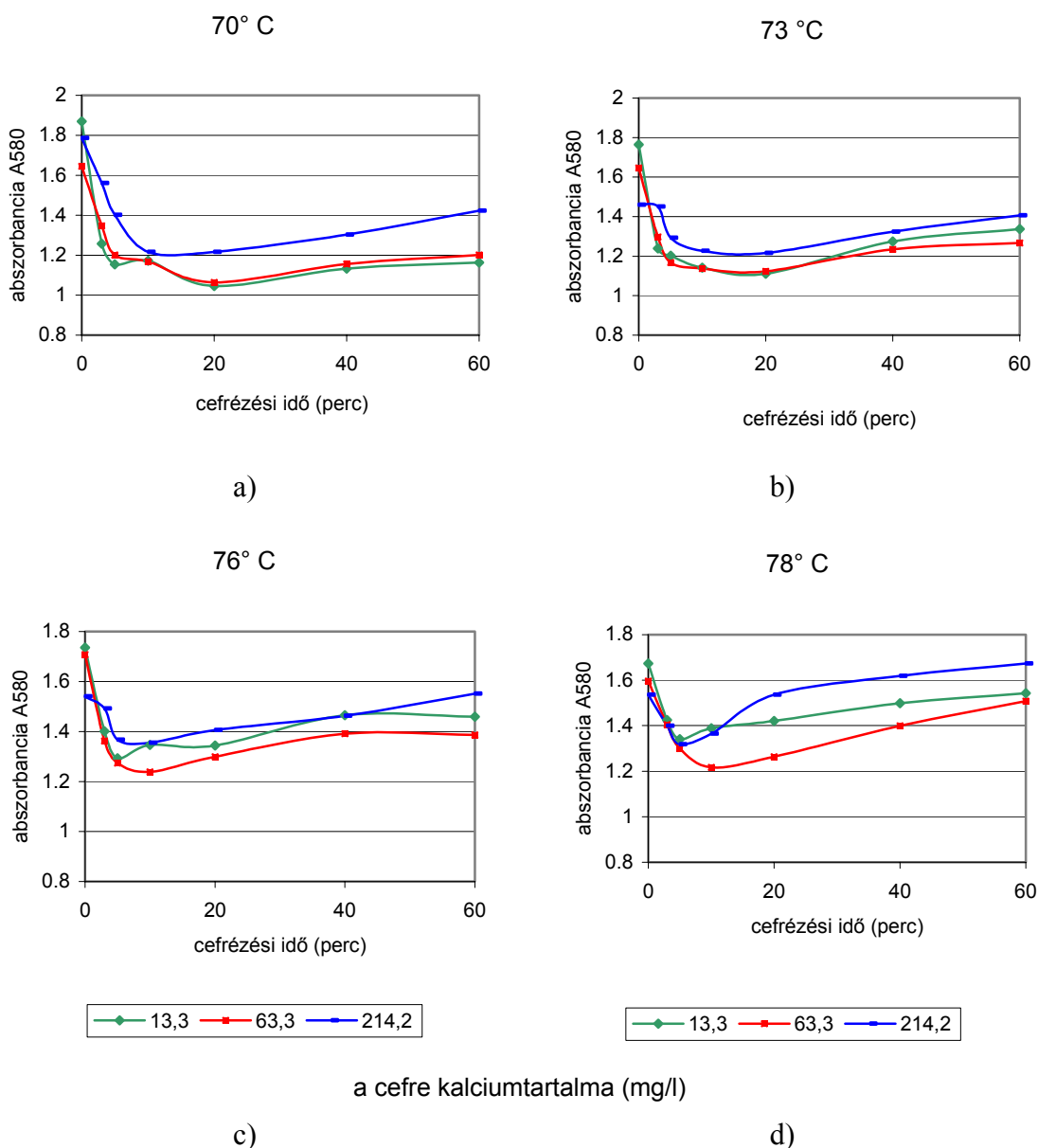
cefrzési hőmérsékletek

g)

h)

**19. ábra A keményítóbontás sebességének változása különböző kalcium koncentrációknál**

A cefrészési hőmérsékletek és a kalcium koncentráció összefüggése látható a 20. a)-d) ábrákon. A könnyebb áttekinthetőség kedvéért csak a 13,3; a 63,3 és a 214 mg/l kalcium koncentrációjú cefrék esetében ábrázoltam a keményítőtöbontás lefolyását.



**20. ábra A keményítőtöbontás sebességének változása különböző hőmérsékleteken**

A leggyorsabb és a legnagyobb mértékű a keményítőtöbontás 70 és 73°C-on volt. A legnagyobb sebesség és bontási fok a 63 mg/l-es kalcium koncentrációnál tapasztalható, 73 °C-os cefrészési hőmérsékleten. A növekvő kalcium koncentrációk hatására csökkent a keményítőtöbontás sebessége és a bontási fok.

Az  $\alpha$ -amiláz és a kalcium koncentráció közötti összefüggés tanulmányozása eredményeként megállapítottam, hogy a söripari cefrészésnél az optimális hőmérséklet az  $\alpha$ -amiláz számára a 70-73°C, ahol a kalcium koncentrációtól függetlenül legnagyobb

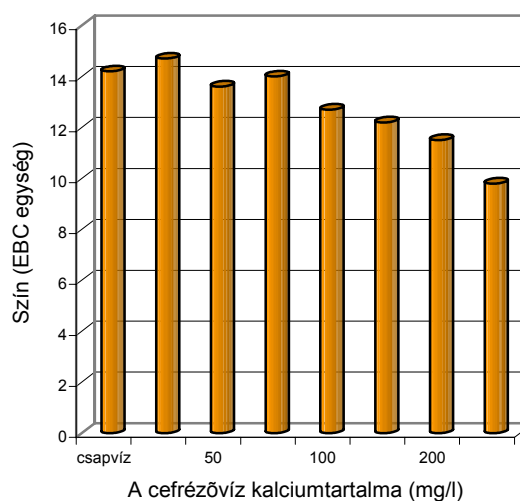
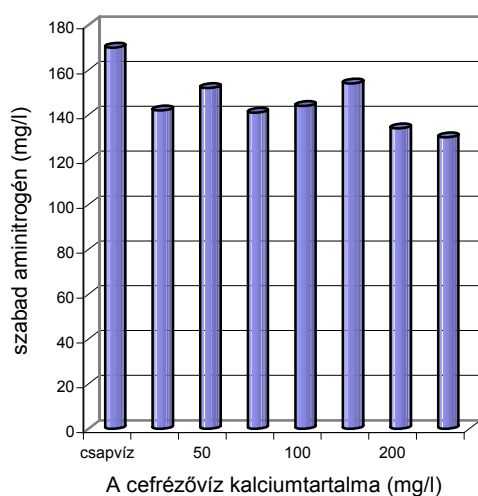
sebességgel ment végbe a keményítóbontás. A cefrézésnél javasolt kalcium tartományok a 24. táblázatban találhatóak.

**24. táblázat Az egyes cefrézési hőfokokhoz ajánlott kalciumkoncentrációk**

Cefrézési hőmérséklet (C°)	Optimális kalcium koncentráció a cefrézés során (mg/l)
70	60 - 85
73	45- 105
76	45- 105
78	45 - 85

Az ajánlott minimális kalcium koncentráció 25 mg/l. 300 mg/l feletti kalcium koncentrációnál már észlelhetően lassult a keményítóbontás.

Gray és Stone (1958) megállapították, hogy a sörlevek színe a kalcium adagolás hatására világosodik. Ezért kutatómunkám során megvizsgáltam a kalcium hatását a sörlé színére valamint a szabad aminosnitrogén koncentrációjára, tekintettel arra, hogy a fehérjebontásra is gyakorolhat hatást a kalcium. A vizsgálati módszerek ismertetése 3.1.4 Fejezetben található.

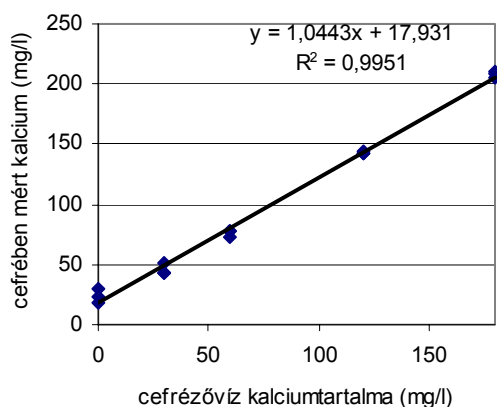


**21. és 22. ábra A kalcium koncentráció hatása a cefre szabad aminosnitrogén tartalmára és a sörlé színére**

Megállapítható, hogy a vizsgált koncentrációtartományban a cefrézővíz kalciumtartalmának nincs szignifikáns hatása a sörlé  $\alpha$ -aminonitrogén tartalmára. A kisebb ingadozások a mérés hibájából adódó szórások. Az azonban látható, hogy a csapvízzel történő cefrézés biztosítja a legmagasabb  $\alpha$ -aminonitrogén tartalmat, amit a vízben jelenlévő egyéb ionok hatásának tudhatunk be. A sörlevek színe viszont a növekvő kalcium adag hatására világosodott, ami egybeesik Gray és Stone (1958) eredményeivel.

Napjaink „trendje” a világos sörszín, amit a kalcium koncentráció növelésével biztosítani lehet.

Végezetül megvizsgáltam, hogy 20 (m/v) %-os cefrében a hozzáadott kalcium hatására milyen mértékben növekszik a cefre kalciumtartalma, az esetleges kiválások és a komplexképződés mennyiben befolyásolja a cefre kalciumtartalmát (23. ábra).



**23. ábra Különböző kalciumtartalmú vizek és a belőlük készült cefrék kalcium tartalma**

A beadagolt és a sörlemben mérhető kalcium koncentrációk között lineáris az összefüggés, amely az alábbi egyenes egyenletével jellemezhető:

$$y=1,0443x + 17,931, \text{ ahol } R^2= 0,9951$$

A cefrőzés körülményei között tehát a kalcium teljes mennyiségében oldatban marad, sem kiválások, sem komplexképződés nem játszódik le.

Összefoglalva kísérleti eredményeimet megállapítottam, hogy a cefre kalcium koncentrációja hatással van a maláta  $\alpha$ -amiláz enzim aktivitására. Az enzimaktivitás a 40-120 mg/l kalciumot tartalmazó cefrék esetében 12-13 %-al növekszik. A keményítóbontás döntően a cefrőzés első tíz percében játszódik. Kapcsolatot kerestem az elcukrosodási idejének alakulása és a kalcium koncentráció között különböző cefrzési hőmérsékleteken. Munkám eredményeként meghatároztam az egyes cefrzési hőmérsékleteken a leggyorsabb keményítóbontást és a legnagyobb bontásfokot eredményező kalcium koncentrációkat.

Kísérleti eredményeimet a gyakorlatban felhasználva a cefrzés hatékonysága és az extrakt-kihozatal növelhető, ugyanakkor a cefrzési és a szűrési idő csökkenthető.

## 4.2.2 A cink koncentrációjának változása a sörlé előállítás során

A szakirodalomban csak a malátából készített sörlevek cink-koncentrációjával kapcsolatban közöltek eredményeket, pótanyagos sörlevekkel végzett kísérletekről nincsenek adatok. A cink nagyrészt a maláta héjában található, és a cefrézés során oldódik a sörlébe (Donhauser, 1983). A pótanyaggal készülő sörök esetében azonban kisebb a felhasznált maláta mennyisége, így a sörlébe kerülő cink mennyisége is. Felmerül a kérdés, hogyan befolyásolja a pótanyag a sörlé cink ellátottságát és miként megy végbe az erjedés a pótanyaggal főzött sörlevek esetében.

Munkám ezen részében árpa és kukorica pótanyaggal sörlevek készítését, és nyomonkövettem az egyes műveleti lépések során a cefre és a sörlé cink koncentrációjának alakulását. A cefre és sörlé mintákból ICP-AES technikával határoztam meg a cink mennyiségét roncsolással történő mintafeltárást követően.

A sörlevek főlüzemi körülmények között, a 3.1.3.1 Fejezetben leírt technológia szerint kétcefrés dekokciós eljárással állítottam elő, pótanyag nélküli és 30-30 % kukorica illetve árpa pótanyagot tartalmazó örleményből. A felhasznált alapanyagok fő paraméterei a 25. táblázatban láthatók.

**25. táblázat Az alapanyagok főbb paraméterei**

Paraméter	Maláta	Kukorica	Árpa
Víztartalom % (m/m)	5,4	12	13
Fehérjetartalom % (m/m)	10,9	8,9	11,3
Oldható nitrogén (mg/100 ml sörlé)	12,5		
Vízmentes extrakt % (m/m)	82,2	87,6	
Elcukrosodási idő (perc)	10-15		
Kolbach-szám (%)	45,5		
Viszkozitás (mPAS)	1,52		
Zn tartalom (mg/100 g sza.)	2,54	1,02	2,63

100 kg örleményadagra vonatkoztatott alapanyag-összetételt a 26. táblázat tartalmazza.

## 26. táblázat. Cefreösszetétel

Főzet	Alapanyag Pótanyag	Pótanyag hányad	Örleményösszetétel 100 kg örleményadagra	
			Törzscefre	Részcefre
1	Maláta	nincs	70 kg maláta 267 l víz	30 kg maláta 133 l víz
2	Maláta Kukorica	70% 30 %	63 kg maláta 267 l víz	30 kg kukorica 7 kg maláta 133 l víz
3	Maláta Árpa	70% 30 %	63 kg maláta 267 l víz	30 kg árpa 7 kg maláta 133 l víz

Kiszámítottam az alapanyagokkal a cefrébe bekerült cink mennyiségeket, amit összehasonlítottam a bekeverést követően vett mintákban mért cink koncentrációkkal. A 27. táblázatban a kukorica pótanyagos cefréből számított és mért mennyiségek láthatók.

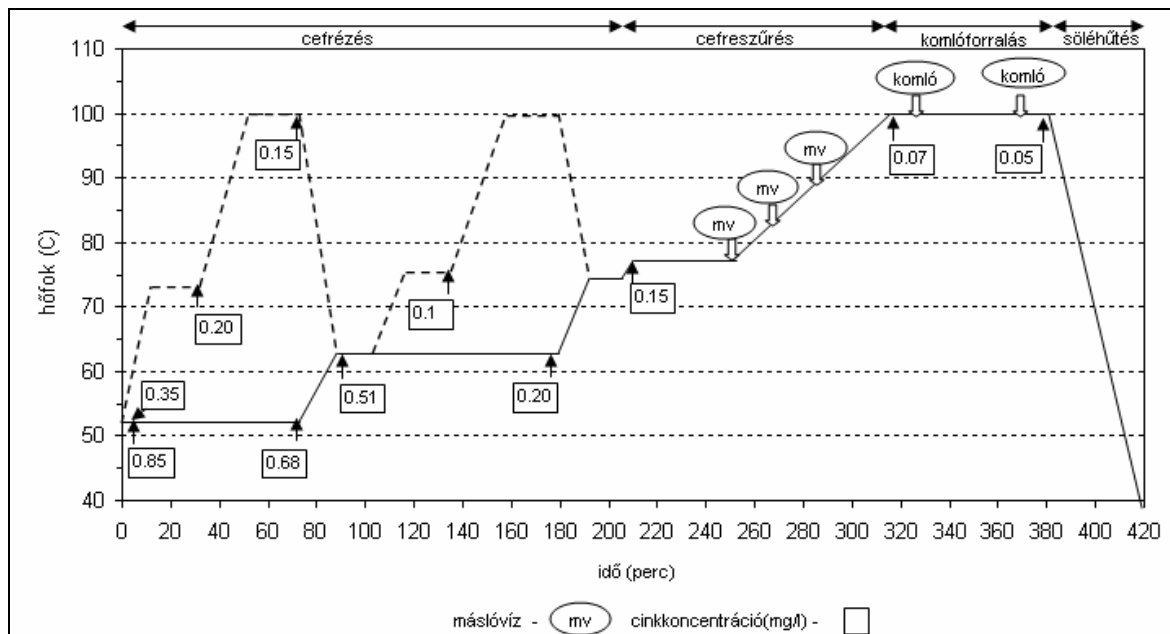
## 27. táblázat A cinkkoncentráció alakulása az alapanyagok vízzel történt keverésének időpontjában a kukorica pótanyaggal készült (2. főzet) sörle esetében.

Bekeverés Mennyiségi arányok	Felhasznált alapanyag (100 kg örleményre vonatkoztatva)	Bevitt cink koncentráció (mg/l) (számított)	Tényleges cinkkoncentráció (mg/l) (mért)	Hasznosulás (%)
Forralt pótanyagcefre (Az összcefre 1/3 része)	Kukoricadara (30 kg)	1,9	0,35	9,3
	Malátaörlemény (7 kg)	1,8		
	Víz (133 l)	0,04		
		<b>Összesen: 3,74</b>		
Malátacefre (Az összcefre 2/3 része)	Malátaörlemény (63 kg)	5,14	0,85	16,4
	Víz (267 l)	0,04		
		<b>Összesen: 5,18</b>		
<b>Összcefre</b>		<b>4,7</b>	<b>0,51</b>	<b>10,8</b>

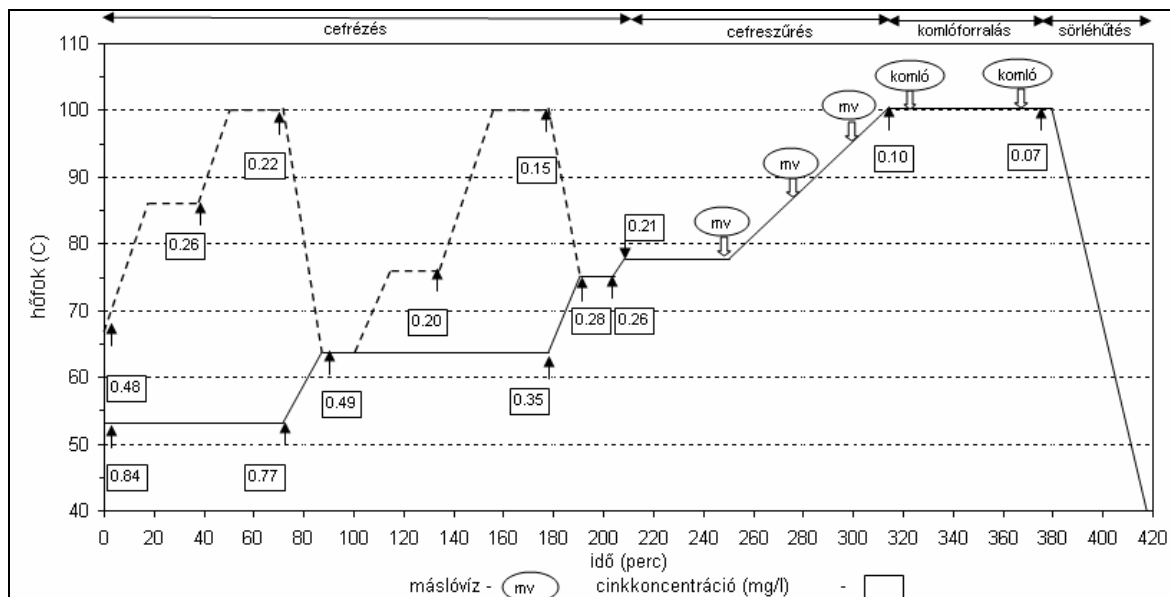
A táblázat adataiból kitűnik, hogy az alapanyagokban lévő cink töredéke oldódik csupán a vízzel való elkeverés során. A tiszta malátából készült cefrerészből több, a pótanyagot tartalmazó cefrerészből kevesebb cink került a cefrébe, ami a pótanyag kevésbé feltárt szerkezetével magyarázható. Hasonló tendencia volt az árpa pótanyagos és a malátasör esetében is.

A cefrézés és sörle előállítás hőmérsékletvezetése és az egyes műveleti lépéseknél mért cink koncentrációk láthatók a 24. és 25. ábrán a két pótanyaggal készült sörleében (2. és 3. főzet).

Az ábrákon szaggatott vonallal jelölt hőmérsékletgörbe a cefreforralóban lévő részcefre, a folytonos vonal a bekeverő kádban törzscefre hőmérsékletvezetését jelöli.



**24. ábra. A sörle előállítás hőmérsékletvezetése és a cink koncentrációk alakulása kukorica pótanyaggal készült sörle esetében (2. főzet)**



**25. ábra. A sörle előállítás hőmérsékletvezetése és a cink koncentrációk alakulása árpa pótanyaggal készült sörle esetében (3. főzet)**



Mindkét cefrézés esetében megfigyelhető a cefre cink-koncentrációjának erőteljes csökkenése. A szűrőre kerülve a cinkkoncentráció a hozzáadott mászlóvíz következtében, a komlófőzés végére a forralás során kivált csapadék adszorpciós hatása következtében tovább csökkent.

**28. táblázat. A cink koncentrációjának alakulása a sörlé előállítás során**

Alapanyag összetétel	A cink koncentrációja (mg/l)				Veszteség (%)
	Alapanyagokban lévő	Cefrézés végén mért	Komlóforralás kezdetén mért	Komlóforralás végén mért	
1. főzet Maláta	5,4	0,4	0,18	0,18	96,6
2. főzet Maláta és kukorica	4,7	0,15	0,07	0,05	98,9
3. főzet Maláta és árpa	5,5	0,21	0,10	0,07	98,7

A malátából készült sörlé cinkkoncentrációja hasonló Donhauser és munkatársai (1983) és Narziss 1980-ban mért eredményeihez. Schmidt (1988) szerint a cinkveszteség a sörlé előállításnál elsősorban a kelátképződéssel magyarázható, amely a malátából kioldódott cinket azonnal komplex kötésbe viszi.

Vizsgálataim során megállapítottam, hogy a veszteség a pótanyaggal készült sörök esetében ennél nagyobb, jóllehet az alapanyagokban lévő cink mennyisége közel azonos volt.

#### **4.2.3 Az ionos és komplex kötésben lévő cink szétválasztása ioncserével**

Ma már tudjuk, hogy a biokémiai folyamatok esetében nemcsak a nyomelem koncentrációk a döntők, hanem a nyomelemek kémiai formája is, hiszen ez határozza meg a biológiai felvehetőséget. A sörlevekben a cink szerves vegyületek formájában (elsősorban kelátok) és szervetlen vegyületek formájában van jelen. Az élesztő az erjesztés során azonban csak az ionos állapotban lévő cink felvételére képes. Az ICP-AES mérés technikához szükséges minta-előkészítés során azonban a mintákat feltártam, a bennük lévő szerves anyagokat elbontottam, így az összes (eredetileg ionos állapotú és komplexben kötött) cink mennyiségének meghatározására került sor.

A fenti probléma elkerülése érdekében munkám céljával az ionos cink mennyiségének meghatározását tűztem ki. Eszközként ioncserés kromatográfiát választottam. Az ioncserés

szétválasztásra Varion típusú kation- és anioncserélő műgyantákat használtam. 3-3 üvegoszlopot töltöttem fel, oszloponként 5-5 g gyantával. A gyantaoszlop fölé kevés üvegyapotot helyeztem, hogy a gyanta felkeveredését elkerüljem. Az oszlopok alját Mohr-szorítóval zártam le, amivel a folyadék áramlási sebességét állítani tudtam.

Első lépésben az oszlopok szétválasztó képességét vizsgáltam standard addícióval, először vizes oldatban, majd sörlé mátrixban. Az oszlopokon először desztillált víz és ZnSO<sub>4</sub> különböző arányú elegyét, majd desztillált víz és EDTA különböző arányú elegyét, majd desztillált víz és EDTA- ZnSO<sub>4</sub> elegyeket vezettem át. Ezt követően a desztillált víz helyett sörlévet felhasználva megismételtem a kísérletsorozatot, hogy megvizsgáljam, a sörlében lévő vegyületek mennyiben befolyásolják az oszlop szétválasztó-képességét. Az oldatok összetétele az alábbi volt:

**29. táblázat A szétválasztásra kerülő oldatok összetétele**

Összetétel	Keverési arány	Összetétel	Keverési arány
Desztillált víz: ZnSO <sub>4</sub>	1:1, 1:2, 1:3	Sörlé: ZnSO <sub>4</sub>	1:1, 1:2, 1:3
Desztillált víz: EDTA	1:1, 1:2, 1:3	Sörlé: EDTA	1:1, 1:2, 1:3
Desztillált víz: EDTA- ZnSO <sub>4</sub> (1:2)	1:1, 1:2, 1:3	Sörlé: EDTA- ZnSO <sub>4</sub> (1:2)	1:1, 1:2, 1:3

A ZnSO<sub>4</sub> törzsoldat 0,46 mg/l cinket tartalmazott, az EDTA oldat koncentrációja 0,1 mól/l volt. Az oszlopokról lecsepegett ioncserélt oldatok cinktartalmának meghatározására minden esetben ICP technika felhasználásával került sor (4.1.1 Fejezet).

Az anioncserélő gyantával végzett standard addíciós kísérletek mérési eredményeinek nagy volt a szórása és a mérések nem voltak reprodukálhatók, ezért csak a kationcserélő műgyantán sörlével végzett kísérletek eredményeit közlöm (30. táblázat). A sörlé : ZnSO<sub>4</sub> eredeti és ioncserélt elegyeinek cinktartalmát összehasonlítva látható, hogy a hozzáadott cinkionok is maradéktalanul megkötődtek az oszlopon. A komplexképző hozzáadagolásával végzett kísérletek eredményeképpen megállapítottam, hogy az EDTA-val a sörlé Zn-tartalma teljes mennyiségében komplexet képezett, sőt az EDTA olyan erélyes komplexképzőnek bizonyult, hogy az oszlopok által előzőleg megkötött cink-ionok egy részével is kötést létesített, mivel az oszlopokat nem regeneráltam az első használat után. A sörlé : EDTA-ZnSO<sub>4</sub> eleggyel az EDTA az előzőekhez hasonlóan viselkedett; mind a sörlé, mind a ZnSO<sub>4</sub> összes cinktartalmát megkötötte, a feleslegben maradó pedig az oszlopokon kötött cinkkel képezett komplexet.

**30. táblázat A standard addíció eredményei kationcserélő műgyantán**

Minta	A sörle cinktartalma (mg/l)*			
	Eredeti sörle	Ioncserélt sörle		
		1. oszlop	2. oszlop	3. oszlop
Sörle	0,16	0,07	0,08	0,07
Sörle : ZnSO <sub>4</sub>				
1 : 1	0,31	0,04	0,05	0,07
1 : 2	0,37	0,05	0,04	0,04
1 : 3	0,38	0,06	0,09	0,15
Sörle : EDTA				
1 : 1	0,17	0,11	0,12	0,13
1 : 2	0,19	0,32	0,11	0,21
1 : 3	0,16	0,39	0,22	0,17
Sörle : EDTA-ZnSO <sub>4</sub> (1 : 2)				
1 : 1	0,29	0,30	0,3	0,27
1 : 2	0,30	0,36	0,32	0,44
1 : 3	0,33	0,38	0,47	0,33

\*A közölt eredmények 3-3 párhuzamos mérés eredményei

A fentiek alapján megállapítható, hogy az oszlop a szerves cink sók teljes mennyiségét megkötötte, míg a cink EDTA-val alkotott komplexei nem kötődtek meg, azaz az oszlop alkalmas a sörle szerves cink tartalmának megkötésére, míg a komplexben kötött szerves cink oldatban marad. Az eljárás alkalmas az ionos és komplexben kötött cink mennyiségi elválasztására.

Ezt követően azt vizsgáltam meg, hogy amennyiben a mintákat nem roncsolással készítem elő az ICP-AES mérésre, hanem hígítással csökkentem az időegység alatt a plazmába jutó zavaró komponensek koncentrációját, a sörlevek mely hígítása a legalkalmasabb a sörle szerves anyag tartalma okozta zavaró hatások kiküszöbölésére. A vizsgálat során ionmentesített vízből készített sörlevet használtam, amelyhez az  $\alpha$ -amiláz aktivitásának biztosítására 20 mg/l CaCl<sub>2</sub>-t adagoltam. Az oszlopokon a sörle : desztillált víz 1:1; 1:3; 1:5; 1:7 és 1:10 arányú elegyeit választottam szét.

Az optimális hígítási arány meghatározása során kapott mérési eredmények a 31. táblázatban láthatók.

### 31. táblázat A hígítások során kapott eredmények

Hígítás Sörlé:víz arány	Ioncserélt sörlé cink koncentrációja (mg/l)			Átlag (mg/l)	Szórás (%)
	1.oszlop	2.oszlop	3.oszlop		
1 : 1	0,077	0,062	0,085	0,0747	15,6
1 : 3	0,065	0,086	0,072	0,0743	14,4
1 : 5	0,044	0,072	0,064	0,0600	24,0
1 : 7	0,083	0,076	0,063	0,0740	13,7
1 : 10	0,087	0,080	0,07	0,0770	14,5

A mérés megbízhatósági tartománya nem mutatott tendenciózus változást a hígítás függvényében, ebből arra következtettem, hogy a mérést sem a hígítás, sem a sörlé mátrix elemei nem zavarják. A hígítási arány növekedésével azonban a cink koncentrációja megközelítette a kimutatási határértéket, ami a mérés bizonytalanságát növeli. Ezért a további mérésekhez a sörlé 1 : 3-as hígítási arányát használtam.

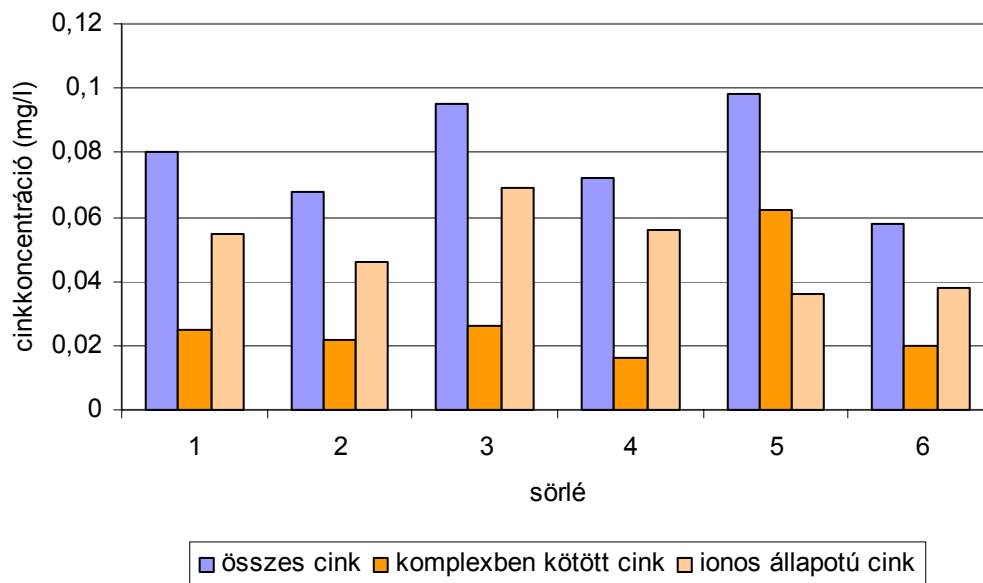
Az ionos és komplex kötésben lévő cink szétválasztására végzett kísérletek alapján megállapítottam, hogy a felhasznált kationcserélő műgyanta alkalmas az ionos és a komplex kötésben lévő cink szétválasztására. Az oszlop szétválasztóképességét standard addícióval és komplexképző adagolásával ellenőriztem. Az optimális hígítási arány meghatározásakor megállapítottam, hogy a sörlé és a desztillált víz 1 : 3 arányú hígítása során a szerves anyag tartalom zavaró hatása nem jelentkezik, viszont a cink koncentráció még nem kerül túl közel a kimutatási határértékhez.

További vizsgálataim során az erjesztésre kerülő sörlevek cinktartalmának meghatározásához a fent ismertetett eljárást használtam, míg a többi esetben – a cefréből, komlózott sörléből és a kész sörből - az ásványi anyagok mennyiségének meghatározásához a sörlé és sörminták roncsolásos feltárását alkalmaztam.

Munkám következő lépéseként meghatároztam a félüzemi körülmények között előállított sörlevek cinktartalmát (4.2.2 Fejezet), erjedésre kerülő sörlevek ionos formában lévő cinkkoncentrációját. Először a sörlé mintákat roncsolással feltártam és meghatároztam az összes cink mennyiségét, majd az ionos állapotú cinket kationcserélő műgyantán megkötöttem, és a komplexben lévő cink koncentrációját a minta háromszoros hígítása után mértem meg. A mérések ICP-AES technika segítségével történtek. Mindkét pótanyagos sörlé 0,02 mg/l ionos cinket tartalmazott, ami elmarad a zavartalan erjedés lefolyáshoz javasolt 0,12 mg/l-es koncentrációtól (Donhauser et al., 1981).

Méréseimet kiegészítettem ipari sörlé minták cinktartalmának meghatározásával. Vizsgálataimat nagy pótanyaghányaddal (25-30%) készült sörlevekből végeztem, a cinktartalom meghatározását a fentiekben leírtak szerint végeztem.

A komlóforralás végén vett hat sörlé minta vizsgálati eredményei láthatóak 26. ábrán.



**26. ábra. Ipari sörlé minták összes és komplex formában lévő cink koncentrációja.**

Az ioncserés szétválasztás eredményeként megállapítottam, hogy a sörlevek cinktartalmának 30-50 %-a komplex vegyületben kötött formában van a komlóforralás végén. Az ionos állapotban lévő cinkkoncentráció ebben az esetben is messze elmarad a szakirodalomban ajánlott minimális 0,12 mg/l-es értéktől, tehát a cinkpótlás lehetőségének vizsgálatával feltétlenül érdemes foglalkozni.

## 4.3 A kalcium és a cink szerepe az erjesztésnél

### 4.3.1 A kalcium koncentrációjának hatása az erjesztésre

Munkám ezen részében a kalcium erjesztési sebességre és élesztőflokkulációra gyakorolt hatását vizsgáltam a sörlé erjesztése során. A kalciumion jelenlétében növekszik az élesztő környezeti hatásokkal szemben tanúsított ellenállóképessége, nagyobb lesz a stressztűrése, pl. jobban tolerálja az alkohol koncentráció növekedését és a hőmérséklet változásait (Mochaba et al., 1996).

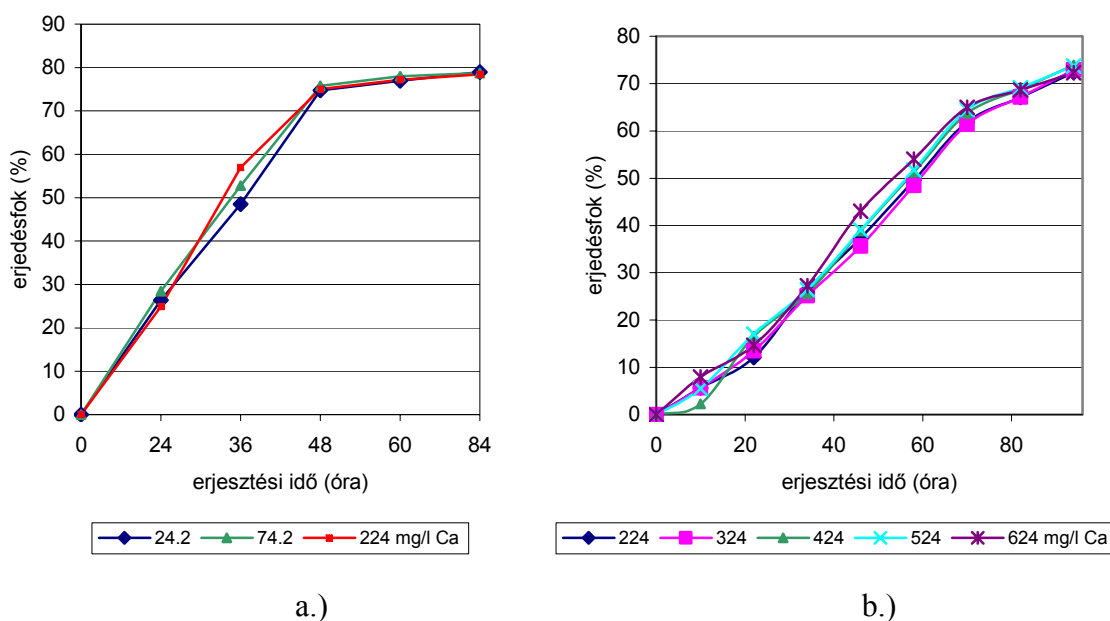
Kísérleteim során normál töménységű és tömény sörleveket erjesztettem. Különböző kalcium adagolások mellett tanulmányoztam erjesztési sebességet és az élesztő flokkulációt.

A 3.1.3.1 Fejezetben leírt technológia szerint malátából sörlevet készítettem. A normál sörlevek esetében a maláta mennyisége 20 kg, a tömény sörleveknél 28 kg volt 100 liter kész sörlére vonatkoztatva.

Az erjesztést EBC erjesztőcsövekben hajtottam végre (3.1.3.2 Fejezet). Mind a normál, mind a tömény sörlevekhez erjesztés előtt az első kísérletsorozatnál 0, 25, 50, 100, 200 mg/l kalciumot, a második kísérletsorozatnál 300, 400, 500 és 600 mg/l kalciumot adagoltam. Az erjesztést kezdetben 12, később 24 óránkénti mintavételezéssel követtem nyomon, és meghatároztam az erjedő sörlevek alkoholtartalmát, maradék extrakt-tartalmát és erjedésfokát (3.1.4 Fejezet). Az üvegből készült erjesztőcsöveken naponta megjelöltem a leülepedett élesztő szintjét, majd az erjesztés végén megmértem a mennyiségét.

#### 4.3.1.1 Normál töménységű sörlevek erjesztése

Az erjesztésre kerülő sörlé eredeti extrakt-tartalma 11,3 (m/m) % volt. Az erjedésfokok alakulása látható a 27. a.) ábrán 0-200 mg/l kalcium hozzáadagolással, és a 27. b.) ábrán 300-600 mg/l kalcium hozzáadagolással erjesztett sörlénél.



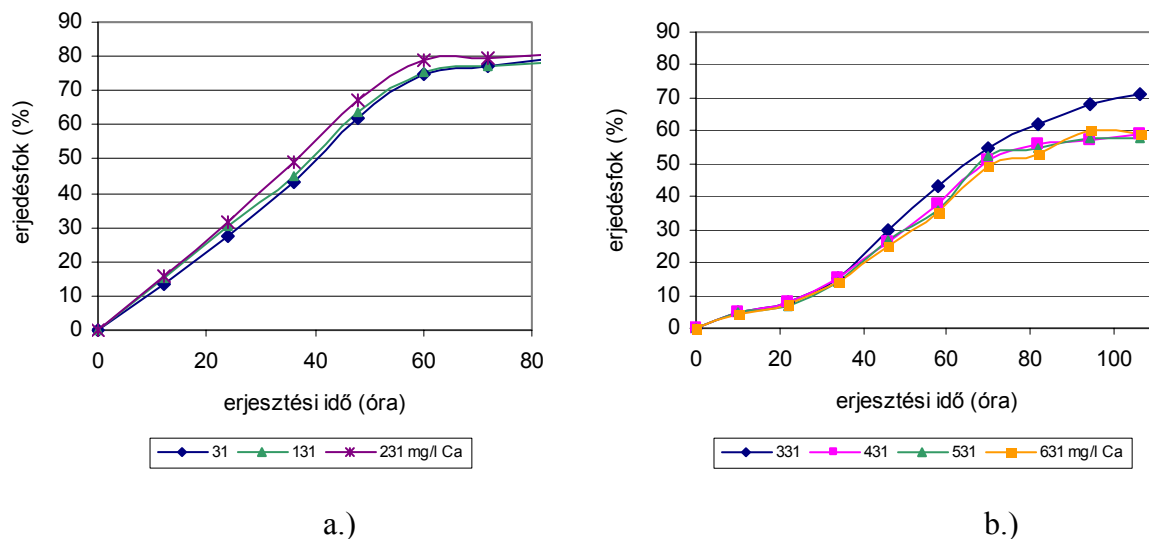
**27. a) és b) ábra. Normál töménységű sörlevek erjesztése különböző hozzáadott kalciumnál**

A sörlevek eredendően 24,2 mg/l kalciumot tartalmaztak, ami a szakirodalomban található adatok szerint (Ciesarova & Dömény, 1996) elegendő a zavartalan erjedéshez. Normál töménységű sörlevek erjesztése során az alacsony kalcium koncentráció az erjesztés kezdetén valamivel lassabb szubsztrátfelvételt eredményezett, ám az erjesztés végén nem volt szignifikáns különbség a minták erjedésfoka között. A nagyobb mennyiségű (200-600 mg/l) kalciumot tartalmazó sörleveknél sem tapasztaltam jelentős eltérést az

erjedés végén elért erjedésfok értékeknél, tehát a nagyobb kalcium koncentráció sem befolyásolta számottevően az erjedés menetét. Az erjedésfok a nagyobb mennyiségű kalciumot tartalmazó sörleveknél ugyan kisebb volt, de mivel az erjesztés két különböző időpontban történt, a két erjedési sebesség egymással nem hasonlítható össze.

#### 4.3.1.2 Tömény sörlevek erjesztése

Az erjesztésre kerülő sörlevek eredeti extrakt-tartalma 14,8 (m/m) %, kalcium koncentrációja 31 mg/l volt. Az erjesztés, az élesztő- és kalcium adagolás az előző fejezetben ismertetettek szerint zajlott. Az erjedésfokok alakulása látható a 28. a.) ábrán 0-200 mg/l kalcium hozzáadagolással, és a 28. b.) ábrán 300-600 mg/l kalcium hozzáadagolással erjesztett sörlénél.



#### 28. a) és b) ábra Tömény sörlevek erjesztése különböző kalcium adagolásnál

A 31-231 mg/l kalciumot tartalmazó minták esetében a kalcium koncentrációjának növekedésével arányosan gyorsult az erjedés és emelkedett az erjesztés végén elérhető végerjedésfok. A 331 - 631 mg/l kalciumot tartalmazó sörlevek lassabban kezdtek erjedni, majd a nagyobb kalcium mennyiség észlelhetően lassította az erjesztést és csökkentette a végerjedésfokot.

Az élesztő flokkulálóképességében nem tapasztaltam különbséget egyik sorozatnál sem. Az élesztőszaporulatra gyakorolt hatás sem tűnt egyértelműnek, az eredmények ingadozók voltak és nem volt felfedezhető tendencia.

Az erjesztési kísérleteket elemezve megállapítottam, hogy normál töménységű sörlevek esetében a kalcium beadagolás nem gyakorolt szignifikáns hatást az erjedés lefolyására. A

tömény sörlevek erjesztésénél a 150-200 mg/l-es kalcium koncentráció tartományban növekedett az erjedési sebesség és a végerjedésszint. A jelenség azzal magyarázható, hogy a kalcium jelenlétében az élesztők könnyebben elviselik a tömény sörlevek nagyobb szénhidrát-tartalmát, ozmózisnyomása és alkoholtartalma okozta stresszt.

### 4.3.2 A cinkkoncentráció hatása az erjesztési folyamatra

A cink az élesztő anyagcsere számára nélkülözhetetlen mikroelem. Kulcsszerepet tölt be a glikolízisben, mint az alkohol-dehidrogenáz enzim aktivátora. Hiányában az acetaldehid csak vontatottan redukálódik etilalkohollá. Donhauser és munkatársai (1983) rámutattak, hogy a cink az erjedési sebességen kívül a nitrogéntartalmú vegyületek mennyiségének változását és a késztermék erjedési anyagcseretermékeinek alakulását is befolyásolja. Minimális cinkkoncentrációként 0,1 mg/l-t adtak meg, ez alatt a koncentrációérték alatt erjedési zavarokkal kell számolni.

Kísérleteim során megállapítottam, hogy az erjesztésre kerülő pótanyaggal készült sörlevek cinkellátottsága elmaradt az irodalomban ajánlott mennyiségektől (4.2.2 Fejezet). Munkám ezen részében a cink kiegészítés lehetőségeit és következményeit vizsgáltam. Tanulmányoztam a cink koncentrációjának az erjedési sebességre gyakorolt hatását, emellett nyomonkövettem az aminosavak és az erjedési anyagcseretermékek mennyiségének alakulását. Az analitikai módszerek leírása a 3.1.4 Fejezetben található.

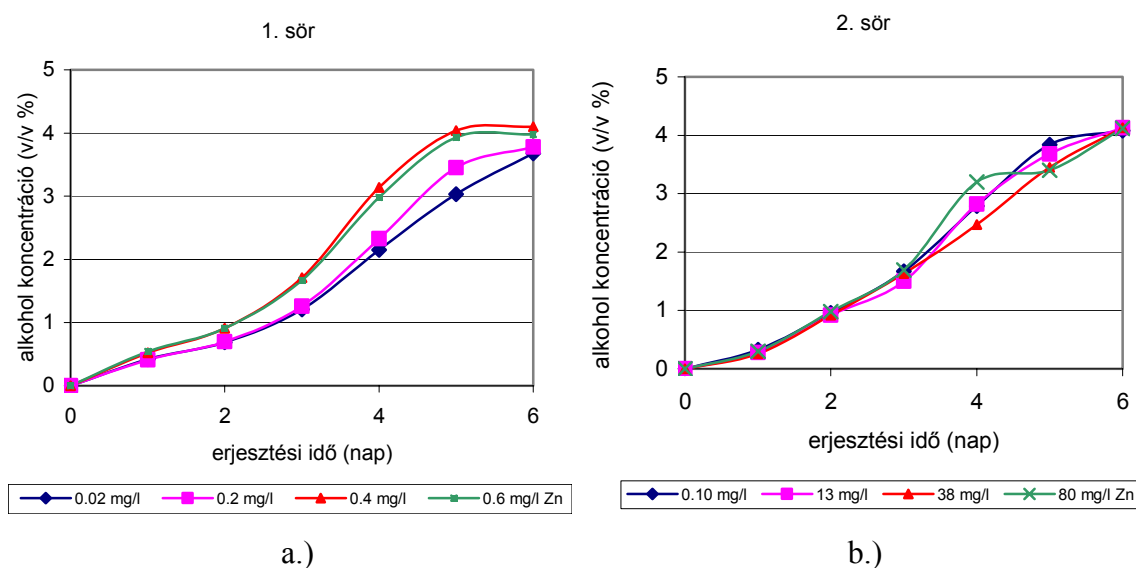
Két sörlé erjesztésére került sor félüzemi körülmények között. Az erjesztést a 3.1.3.2 Fejezetben ismertetett technológia szerint végeztem. A sörlevek cink-koncentrációját  $ZnCl_2$  hozzáadásával állítottam be.

**32. táblázat A cink hozzáadással erjesztett sörlevek erjesztési paraméterei**

	1. sörlé	2. sörlé
Sörlé összetétel		
eredeti extrakt (m/v %)	12,36	11,79
oldható nitrogén (mg/100 ml)	97	81
$\alpha$ -amino nitrogén (mg/100 ml)	20,3	17
Sörlevek cink tartalma	1/1 0,02 mg/l 1/2 0,2 mg/l 1/3 0,4 mg/l 1/4 0,6 mg/l	2/1 0,1 mg/l 2/2 13 mg/l 2/3 38 mg/l 2/4 80 mg/l
Élesztő	Cinktartalma: 1,81 mg/100 g sz.a.	Cinktartalma: 2,02 mg/100 g sz.a.
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Típusa: Weihenstephan 34/70 Beélesztőzési sejtszám: $18 \cdot 10^6$ sejt/ml	
Erjesztési paraméterek	Beállítási hőfok: 6°C Maximális hőfok: 10°C Visszahűtés: 6°C Erjesztés időtartama: 6 nap	



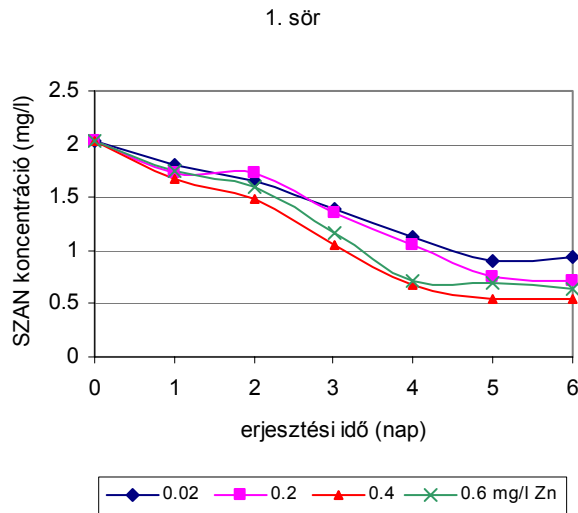
Az erjedő sörleából 24 óránként vettem mintát. Az alkoholtartalom változása követhető nyomon a 29. a) ábrán 0,02-0,6 mg/l, a 29. b) ábrán a 0,1 - 80 mg/l-es cink koncentrációtartományban



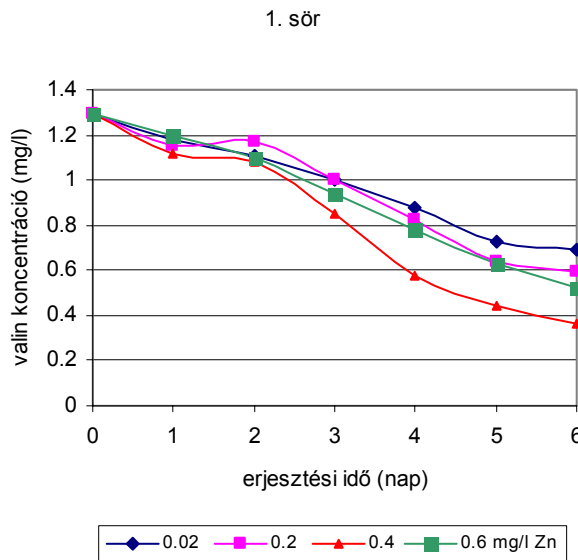
**29. a) és b) ábra. Az etilalkohol mennyiségének változása különböző cinkkoncentrációknál**

Az etilalkohol koncentrációja a 0,4 és 0,6 mg/l cinket tartalmazó söröknél növekedett a leggyorsabban, az ötödik napon elérték a maximális alkoholtartalmat. Az ennél kisebb és nagyobb cink-koncentrációk egyaránt csökkentették az erjedési sebességet, így egy nappal hosszabb volt az erjedés (29. a.) ábra). A nagyobb, 13-80 mg/l-es cink koncentrációk nem okoztak szignifikáns különbséget a sörök 6. napon mért etilalkohol koncentrációjában (29. b.) ábra), a cink túladagolás nem befolyásolta kedvezőtlenül az erjedés menetét.

A szabad amino-nitrogén és a valin koncentrációk alakulását vizsgálva megállapítottam, hogy a valin csökkenése a SZAN koncentrációkhoz hasonló tendenciát mutat, ami arra utal, hogy az élesztő minden aminosavat közel azonos ütemben használ fel. Az élesztő leggyorsabban és legnagyobb mennyiségben a 0,4 mg/l-es cinkkoncentrációnál asszimilálta a szabad amino-nitrogént és a valint, a legkisebb sebesség és felhasználás a 0,02 mg/l-es koncentrációnál volt tapasztalható (30. és 31. ábra). A nagyobb cink koncentrációk (13, 38 és 80 mg/l) egyik vegyület esetében sem gyakoroltak hatást a reakciósebességre.

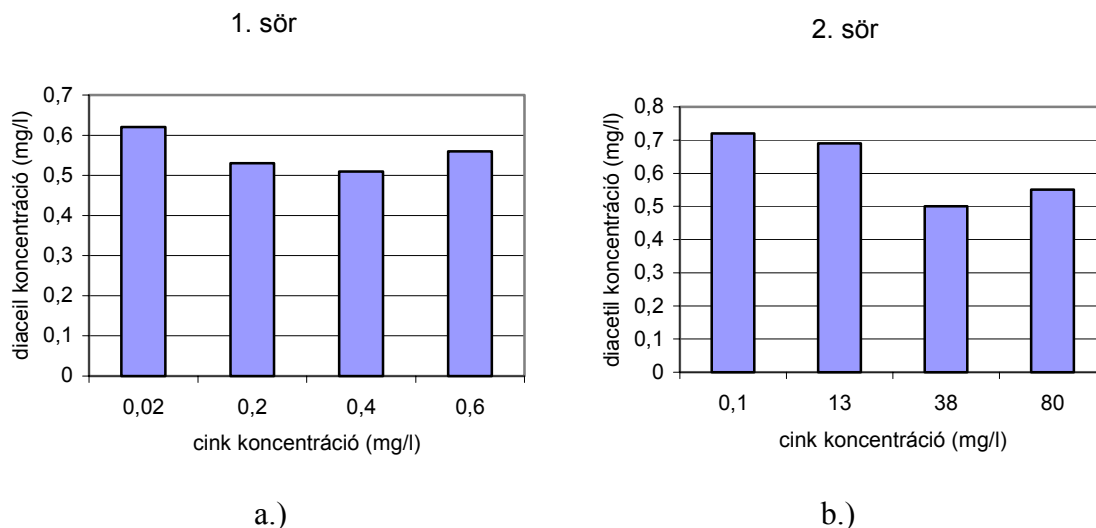


**30. ábra. A szabad aminonitrogén koncentrációváltozása az erjesztés során**



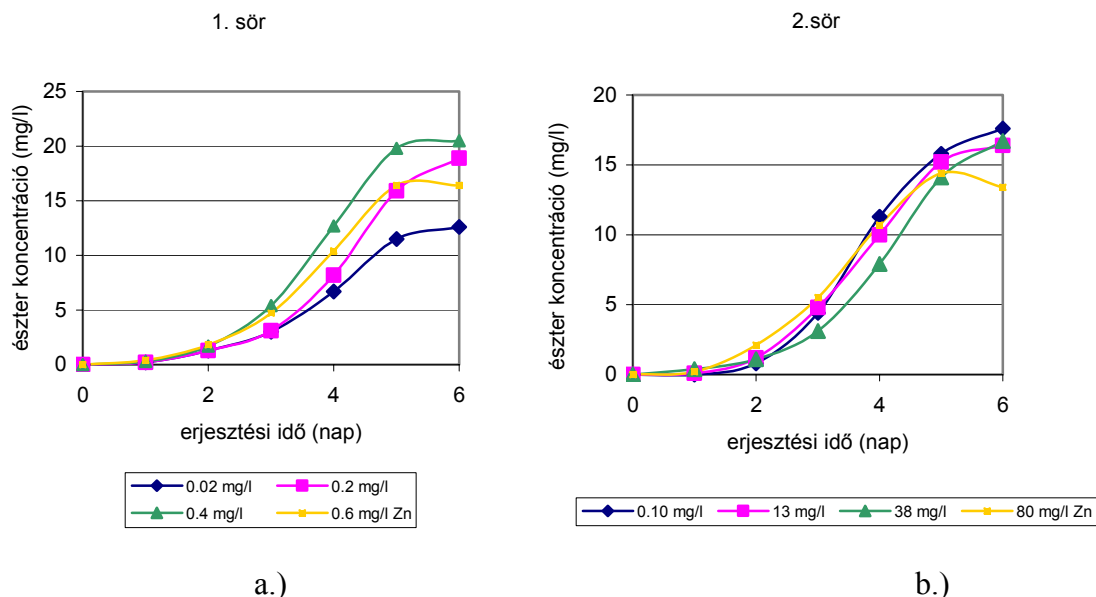
**31. ábra. A valin koncentrációjának változása az erjesztés során**

Az erjesztés 5. napján meghatároztam a fickósörök (a főerjedés végén nyert, éretlen sör) diacetil-tartalmát. A maximális diacetil koncentráció az 1. sör esetében a 0,02 mg/l-es cinkkoncentrációnál figyelhető meg. A 2. sörök alacsonyabb valin szintjéből adódóan magasabb az erjesztés során keletkezett diacetil mennyisége (32. a.) és b.) ábra.). A 38 és 80 mg/l-es cinkkoncentráció csökkentette a diacetil képződését, ami magyarázható a kisebb élesztőkoncentrációval, de okozhatja az is, hogy mint sok esetben a sörgyártás során, itt is komplex jelenségről van szó, és a sörlevek alacsony aminonitrogén szintjét ideig-óráig pótolja a nagy cinktartalom (Steiner & Länzlinger, 1975).



**32. a.) és b.) ábra. A diacetil koncentrációjának változása a cinktartalom függvényében**

Az észterek a söraroma fő hordozói. Ezek mennyiségét és ezen keresztül a sör érzékszervi tulajdonságait is befolyásolja a cink (33. a.) és b.) ábra). Az 1. sörnél a cinkhiányos állapot (0,02 mg/l) alacsonyabb észter-koncentrációt eredményezett, míg a cink mennyiségének emelkedése az észterek koncentrációjának növekedését vonta maga után. A legnagyobb észtertartalom 0,4 mg/l-es cinkkoncentrációnál képződött, érzékszervileg is ez a sör kapta a legjobb minősítést. A 2. sör esetében nem gyakorolt hatást a cink koncentrációváltozása az észterek mennyiségére, a 80 mg/l-es koncentráció viszont már gátolta az észterképződést.



**33. a.) és b.) ábra. Az észterek mennyiségének változása a cinktartalom függvényében**

Az acetaldehid a 0,02 mg/l cinket tartalmazó erjesztés során érte el a legmagasabb koncentrációt (az erjesztés 3. napján 60 mg/l), és az erjedés végén is ez a sör tartalmazta a

legtöbb (25 mg/l) acetaldehidet, ami az ízérzékelési küszöbértéket (20 mg/l) meghaladó mennyiség. A jelenséget egyértelműen a cinkhiány okozza, mert az alkohol-dehidrogenáz enzim hiányában az acetaldehid lassan redukálódik etilalkohollá, és a sörnek „fickósör” jelleget ad.

### 33. táblázat Az élesztőszaporulat az erjesztés 6. napján

Az élesztő eredeti cinktartalma			
1,81 mg/100 g sza. (1.sör)		2,02 mg/100 g sza (2.sör)	
A sörle cinktartalma (mg/l)	Élesztőszaporulat (%)	A sörle cinktartalma (mg/l)	Élesztőszaporulat (%)
0.02	160	0.1	220
0.2	350	13	320
0.4	400	38	320
0.6	430	80	240

A leggyengébb élesztőszaporulat a legkisebb cink koncentrációnál volt tapasztalható. A koncentráció növekedése bizonyos ideig növelte az élesztőszaporulatot, ám 80 mg/l-es koncentrációnál már csökkenés figyelhető meg.

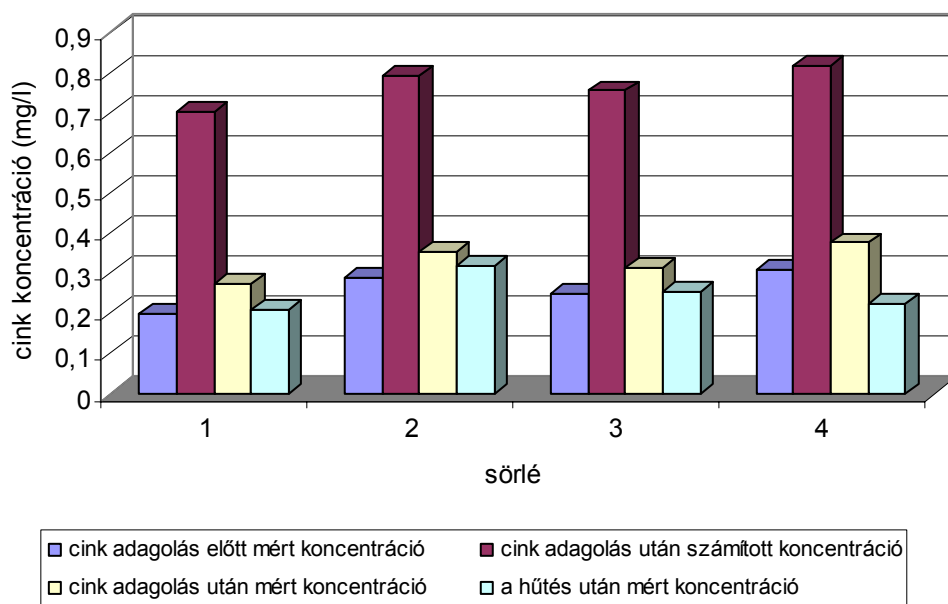
Eredményeim alapján megállapítottam, hogy a legkedvezőbb cink-koncentráció az erjedés lefolyása szempontjából 0,4 mg/l. Ez az érték biztosítja a leggyorsabb az erjedést, a legmagasabb az elérhető alkoholtartalmat. A diacetil koncentrációja is ebben az esetben volt a legkisebb, míg a sör észtertartalma a legkedvezőbb.

### A cink-kiegészítés tanulmányozása ipari körülmények között

Ipari körülmények között (50 000 l főzetnagyság) 20 % kukorica pótanyaggal készült sörle cink-tartalmának alakulását követtem nyomon. Az ipari kísérlet során olyan sörlevet állítottak elő, amely extrakttartalma a megszokottnál 20 %-al nagyobb volt. Félüzemi kísérleteimhez hasonlóan nyomonkövettem a cink mennyiségének alakulását a sörle előállítás műveleteiben. A sörle mintákat roncsolással tártam fel, a cink koncentráció meghatározása ICP-AES technikával történt.

Megállapítottam, hogy a cink hasznosulása ipari körülmények között is ugyanolyan, mint félüzemi kísérleteim során; az eredetileg a sörleiben lévő cink 4%-a volt jelen csupán a komlóforralás végén. A koncentráció értéke azonban valamivel magasabb volt, mint a félüzemi kísérleteknél, ami a magasabb őrlemény adaggal magyarázható. A cinkhiány pótlására néhány perccel a komlóforralás befejezése előtt került sor. A sörlevekhez 0,5 mg/l ZnCl<sub>2</sub>-ot adagoltak.

A 34. ábrán a komlóforralás végén mért, a cink hozzáadagolás után számított koncentráció értékek és a mért eredmények láthatók.



**34. ábra. A cink koncentrációjának alakulása a komlóforralás után**

A hozzáadagolt cink miatt elméletileg a sörlében nagy mennyiségű cinknek kellett volna megjelennie, de méréseim ezt nem igazolták. Ennek nagy valószínűséggel az a magyarázata, hogy a cink a forró seprőben lévő fehérjékkel és polifenolokkal kelátokat képez (Narziss, 1980; Schmidt, 1988). Ezek a komplex vegyületek stabilak, a kelátképzésben résztvevő cink már nem oldódik vissza a folyadékba. Nem elhanyagolható az sem, hogy a forró seprő szemcséi nagy adszorpciós felületet jelentenek, amelyen a cink adszorbeálódik.

Az oldódási viszonyokat és az irodalmi adatokat figyelembe véve feltételezhető, hogy mesterséges cinkadagolás nélkül is közel ekkora lenne a cink koncentrációja, tehát igen gazdaságtalan az ilyen módon történő cink-pótlás. A technológiában más lehetőség nincs a cink hozzáadagolásra, mivel a rendszer teljesen zárt. Megoldást az jelenthet, ha az élesztő cinktartalmát növelik az erjesztés megkezdése előtt (McLaren et al., 1999.; Taidi et al., 2001).

## 4.4 A kalcium szerepe a kész sör stabilitásában

A palackozott sörökben esetenként üledék képződik. A kiválások zöme kalciumoxalát kristály, amely a sör spontán felhabzását okozza.

Munkám ezen részében arra kerestem választ, hogy miként lehetne elkerülni a palackozott sörben történő kalciumoxalát kiválást. Megvizsgáltam, hogyan alakul a kalcium és oxalát mennyisége a sörgyártás során, melyek azok a technológiai lépések, amelyek során csapadékképződés játszódik le. Ezt követően arra a kérdésre kerestem választ, hogyan lehet a kalciumoxalát képződését a szűrés előtt elősegíteni, valamint milyen lehetőség van a kiválások palackozás előtti előrejelzésére.

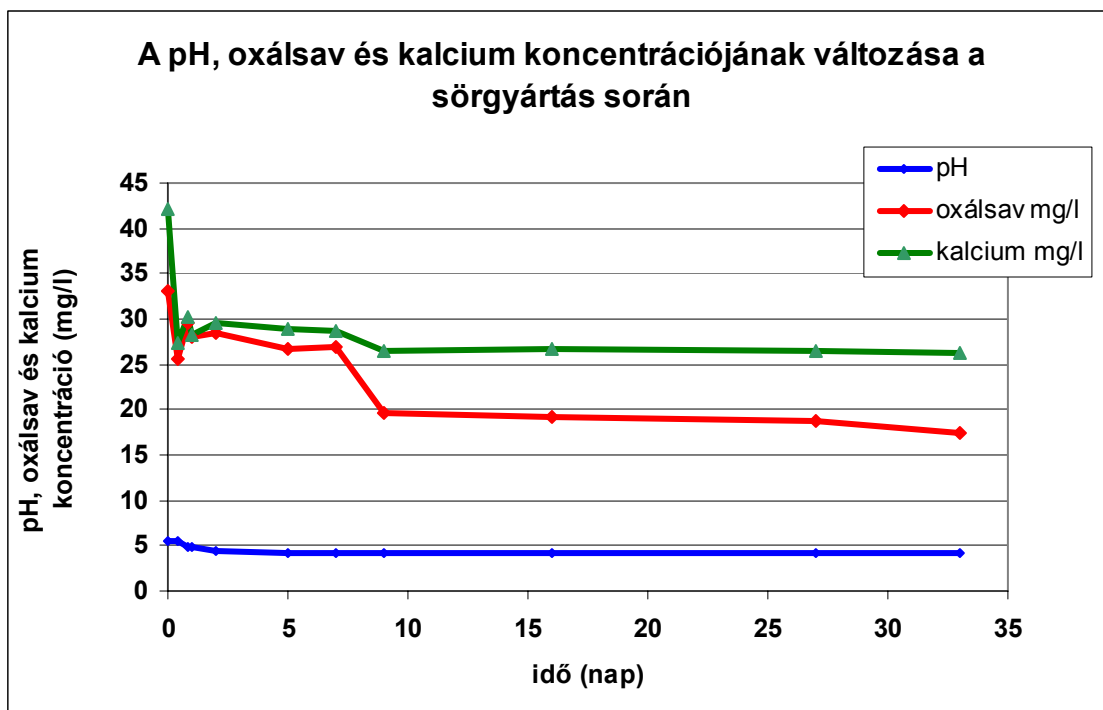
### 4.4.1 A kritikus pontok meghatározása

*Sörlé és sör előállítás:*

A 3.1.3 Fejezetben leírtak szerint félüzemi körülmények között két sörkészítést modelleztem. Olyan sörtípusok gyártástechnológiáját választottam, amelyek a leggyakrabban szerepelnek a magyar sörgyártás palettáján. Az „A” sör hagyományos töménységű, 12 % eredeti extrakt-tartalmú sör, amely 20 % kukorica pótanyagot tartalmazott. A „B” sör 25 % kukorica pótanyaggal készült, a szokásosnál nagyobb koncentrációjú (tömény sör), amelynél a végső koncentráció beállítása a palackozás előtt történt 10, 5 % eredeti extrakt-tartalom értékre.

A sör előállítása során a következő műveleti lépéseknél vettem mintát: a cefrőzésnél, a sörlé szűrésnél, a komlóforralás kezdetén és végén, a sörléhűtés végén, az erjesztés 5. és 7. napján, az erjesztés végén (a 9. napon), az ászokolás során két alkalommal, valamint a kész sörből.

Meghatároztam a minták oxálsav- és a kalcium koncentrációját, valamint megmértem a pH-t (3.3.2 Fejezet).



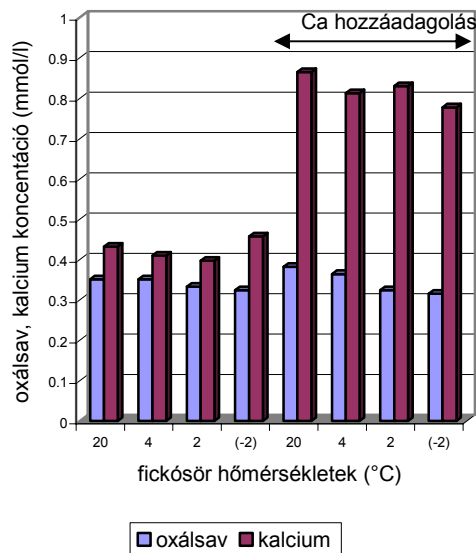
**35. ábra A pH, az oxálsav és a kalcium koncentrációjának változása az „A” sör előállítása során**

A pH értékekben egyenletes, néhány tized értékű, a technológiai folyamatoknak megfelelő csökkenés volt tapasztalható. Az oxálsav mennyiségében a legjelentősebb változás a 9. napon következett be, amikor a kiejedt sört 10°C-ról 2°C-ra hűtöttem le az élesztő elválasztása céljából. Ettől az időponttól kezdődően egyenletes oxálsav koncentrációcsökkenés figyelhető meg. A kalcium mennyiségének változása az egész folyamat alatt követi az oxálsav koncentráció-változásait. A nagyobb koncentrációjú „B” sör esetében is ugyanezt tapasztaltam.

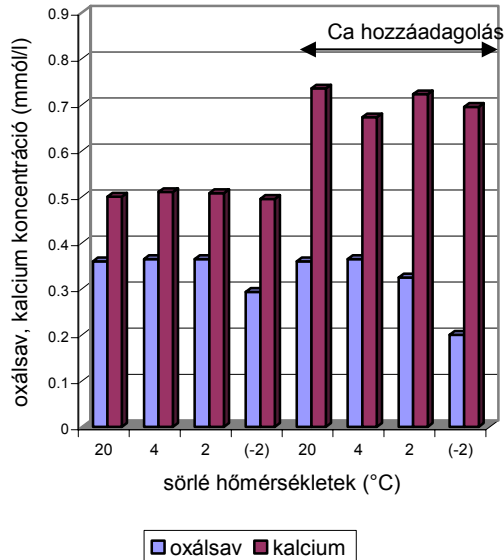
Az eredmények alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a technológiában bekövetkező hőmérsékletváltozások jelentős hatással vannak a folyamatra.

#### **4.4.2 A kristályosodást elősegítő kalcium koncentráció, a hőmérséklet és a hűtőtartás időtartamának meghatározása**

A következőkben a hőmérséklet kristályképződésben betöltött szerepét tanulmányoztam. Sörlevet és fickósört vizsgáltam 24 órás 20°C, 4°C, 2°C és (-2)°C-os hűtőtartást követően. A méréseket 17 mg/l kalcium hozzáadagolás mellett is elvégeztem, hogy a csapadék-képződéshez megfelelő mennyiségű kation legyen jelen az oldatban (Zepf, 1998). 24 óra elteltével mintát vettem és meghatároztam a kalcium- és oxálsav-koncentrációkat.



a.)



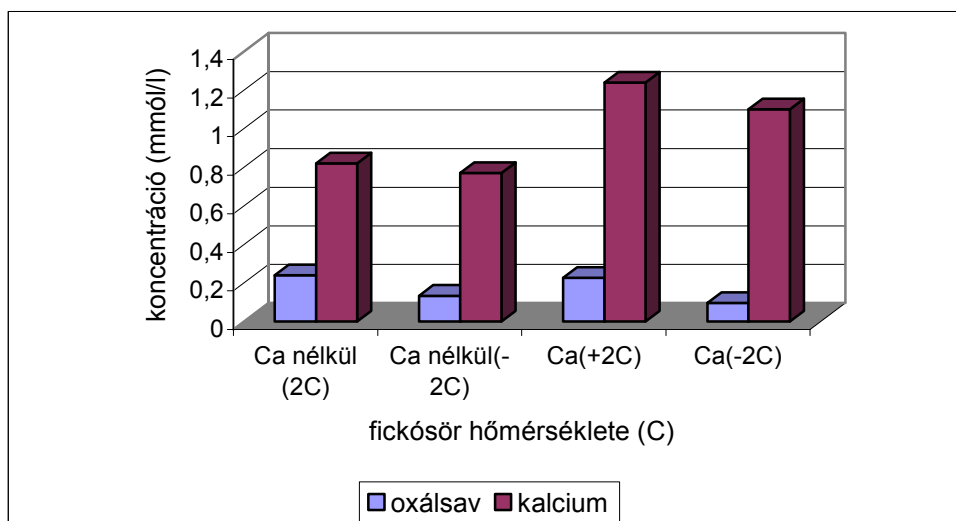
b.)

**36. ábra A hőmérséklet és a kalcium koncentrációjának hatása a sörlévek (a) és a fickósörök (b) oxálsav szintjére**

Mind a sörlénél, mind a fickósörnél megfigyelhető, hogy az oxálsav koncentrációja a hőmérséklet csökkenésével egyre kisebb lesz. A fickósörök esetében a kalcium kiegészítés hatására a (-2)°C-on mért oxálsav koncentráció csökkent a legnagyobb mértékben. A többi esetben a kalcium kiegészítés hatására nem csökkent jelentősen az oxálsav koncentrációja, feltehetően megfelelő koncentrációban volt jelen a csapadékképződéshez.

Következő lépésként a csapadékképződéshez szükséges időtartamot határoztam meg, a lehűtést követően 30 percnkénti mintavételezésekkel. Figyelembe véve azt, hogy jelentősebb oxálsav csökkenés (+2)°C és (-2)°C között volt, következő méréseimet ennek megfelelően terveztem meg. A főerjedés végéről származó fickósör mintákkal végeztem kísérleteimet, az első sorozatnál kalcium kiegészítés nélküli mintákkal, a második sorozatban 17 mg/l kalcium hozzáadagolás mellett. Az első mintát 30 perc elteltével vettem, majd a mintavételt még kétszer, 30-30 perc különbséggel megismételtem. Az oxálsav mennyisége az első mintavételt követően már nem változott szignifikánsan. A kalcium hozzáadagolással kezelt minták esetében azonban jóval nagyobb volt a koncentrációcsökkenés, mint a kezeletlenekben. Az alacsony hőmérséklet és a nagy kalcium koncentráció megnövelte a képződött kalcium-oxalát mennyiségét (37. ábra).





**37. ábra A hőmérséklet és a kalcium koncentrációjának hatása a fickősör oxálsav-tartalmára**

Munkám eredményeként a sör gyártási folyamatában meghatároztam azokat a technológiai lépéseket, amelyekben a kalcium-oxalát kiválás a legnagyobb mértékű. Megállapítottam, hogy a hőmérséklet és a kalcium koncentrációja gyakorolja a legnagyobb hatást a kristályképződésre. Megoldás lehet a szűrés előtt a kalcium és oxálsav koncentrációjának meghatározása és szükség esetén a kalcium pótlása a stabil sör elérése érdekében a Kieninger (1983) által megadott stabilitási értékeknek megfelelően. A kalcium hozzáadagolás után 30 perces (-2)°C-on történő pihentetés nyomán a csapadékképződés lejátszódik és a sörszűrés során a kivált kristályok eltávolíthatók.

#### **4.5 A szűrési segédanyagokból kioldódó ásványi anyagok**

A sörgyártási technológia utolsó műveletei a sör szűrése, fejtése. A sör szűrése leggyakrabban kovaföld és perlit szűrési segédanyagok felhasználásával történik. Mindkét szűrési segédanyag igen gazdag ásványi anyagokban.

Munkám során arra a kérdésre kerestem választ, hogy a technológia utolsó lépése során változhat-e a sör ásványi anyag összetétele, azaz oldódhatnak-e makro- és mikroelemek a sörbe, és ha igen, azok hatással vannak-e a sör minőségére, stabilitására. Vizsgálataim nemcsak a sör és a szűrési segédanyagok kapcsolatára terjedtek ki, hanem arra a kérdésre is választ kerestem, hogy a szűrési segédanyagokban lévő makro- és mikroelemek milyen környezeti feltételek mellett oldhatók ki. A célkitűzésnek megfelelően különböző oldási körülményeket modelleztem. A vizsgált szűrési segédanyagok a söriparban leggyakrabban használt típusokat képviselték.

**A kovaföldekből és perlitekből tömény savakkal kioldható ásványi anyagok vizsgálata**  
5 g szűrési segédanyaghoz 50 ml 6 n sósavat adtam, a mintákat lefedtem és 60°C-on 75 percig rázógépben extraháltam. Az extrakciót elvégeztem 2 mólos salétromsav oldattal is.

**A kovaföldből híg savval kioldható ásványi anyagok meghatározása**

5 g „B” kovaföldet mértem be a cefrészőpohárba és 200 ml 0,0001 n HCl oldattal szuszpendáltattam. Az extrakciót 75 percig folytonos kevertetés mellett végeztem 25°C-on.

**A kovaföldekből és perlitekből különböző hőmérsékleteken vízzel kioldható ásványi anyagok meghatározása**

5 g szűrési segédanyagot mértem be a cefrészőpohárba és 200 ml desztillált vízzel szuszpendáltattam. Az extrakciót 75 percig folytonos kevertetés mellett végeztem 5°C, 25°C és 80°C hőmérsékleten.

**A kovaföldekből és perlitekből különböző hőmérsékleteken sörrel kioldható makro- és mikroelem- tartalom meghatározása**

200 ml sörhöz 5 g szűrési segédanyagot adagoltam, majd cefrészőberendezésben 75 percig folyamatos keverés mellett az első sorozatnál 5°C-on, a második sorozatnál 25°C-on tartottam. A kísérletek során három egymástól eltérő pH értékű sört vizsgáltam.

Minden meghatározás során 3-3 párhuzamos mintát és vakpróbát készítettem, az extrahált mintákat hamumentes szűrőpapíron szűrtem le.

A minták ásványi anyag tartalmát ICP technika segítségével határoztam meg, a vizes – savas mintákat közvetlenül, a sörmintákat roncsolásos mintaelőkészítést követően.

**34. táblázat A kovaföldekből és perlitekből savakkal kioldható ásványi anyagok mennyisége (mg/l)**

Elem	„A” kovaföld		„B” kovaföld		„C” kovaföld		„A” perlit		„B” perlit	
	6 n HCl	2 n HNO <sub>3</sub>	6 n HCl	2 n HNO <sub>3</sub>	6 n HCl	2 n HNO <sub>3</sub>	6 n HCl	2 n HNO <sub>3</sub>	6 n HCl	2 n HNO <sub>3</sub>
Al	1503	1720	680	714	134	141	599	633	508	543
As	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	3,325	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.
B	<K.H.	1,99	0,137	3,75	0,313	1,25	<K.H.	2,05	<K.H.	2,81
Ba	5,0	5,00	30,5	31,5	1,0	0,993	10,5	9,36	9,1	8,77
Ca	1664	2095	755	893	446	484	168	157	117	114
Cd	4,4	0,151	0,10	<K.H.	<K.H.	0,033	0,118	<K.H.	0,096	<K.H.
Co	1,46	0,199	0,81	0,342	0,233	0,297	0,174	0,349	0,129	0,075
Cr	4,6	0,474	2,3	0,44	5,8	6,96	0,464	0,349	0,464	0,291
Cu	5	4,7	0,942	0,873	1,3	1,43	0,439	0,634	0,275	0,596
Fe	3470	1503	824	243	393	424	1021	226	943	195
Hg	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.
K	61,8	70	131	148	21,9	25	474	485	439	448
Li	<K.H.	<K.H.	0,483	0,517	<K.H.	0,065	0,783	0,808	0,715	0,776
Mg	594	646	184	144	53	56	45	25	36	19
Mn	31	32	15	10	4	4,3	10	7,4	6,9	5,7
Mo	<K.H.	0,717	1,86	2,60	0,716	0,927	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.
Na	141	150	156	170	760	766	909	931	897	909
Ni	1,54	0,400	2,26	0,427	0,602	0,503	0,385	0,227	0,421	0,825
P	385	432	218	242	191	205	<K.H.	10,7	<K.H.	4,93
Pb	0,746	<K.H.	<K.H.	<K.H.	0,769	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.
Se	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.
Si	88,9	768	95,8	556	106	320	105	427	96,8	383
Sr	5,57	6,2	11,9	12,5	1,22	1,24	0,878	0,86	0,684	0,691
Ti	172	166	71	37,6	53,4	58,6	29	12	24,1	10
V	82,7	92	74,7	82	31,9	33	0,534	0,339	0,395	0,225
Zn	5,90	5,65	3,07	2,55	4,30	2,77	4,53	2,81	4,00	2,56

A 34. táblázat adataiból látható, hogy mind az öt segédanyagból –a kivonatoláshoz használt savtól függetlenül – oldódott az alumínium, bárium, kalcium, kobalt, króm, réz, vas, kálium, magnézium, mangán, nátrium, nikkell, szilícium, stroncium, titán, vanádium és a cink.

A két sav által kioldott elemek koncentrációja közötti különbséget az eltérő oldási képességek magyarázzák. Az eltérés azzal magyarázható, hogy a sósav a kémiaailag

meglehetősen ellenállóképes szilikát molekulákat a salétromsavnál jobban képes bontani. A közölt adatok elsősorban elméleti jelentőségűek.

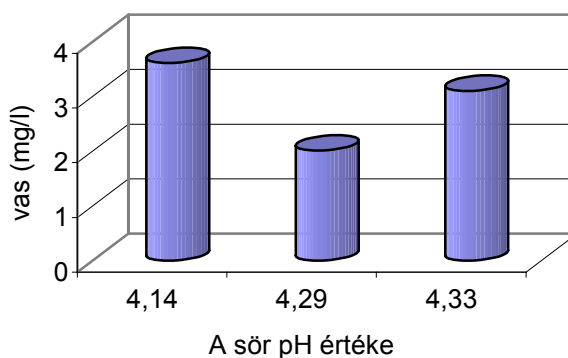
A kovaföldből híg sósavval és a sörrel oldható makro- és mikroelem tartalmakat a 35. táblázatban foglaltam össze.

**35. táblázat A kovaföldből híg sósavval és sörrel kioldódó ásványi anyagok koncentrációjának változása a kiindulási koncentrációkhoz képest (mg/l)**

Elem	0,0001 n HCl	1.sör		2.sör		3.sör	
	Extrakciós hőmérséklet						
	25°C	5°C	25°C	5°C	25°C	5°C	25°C
<b>Al</b>	0,043	0,303	0,395	<K.H.	<K.H.	<K.H.	<K.H.
<b>B</b>	0,03	-0,002	-0,014	-0,0615	-0,048	-0,006	-0,445
<b>Ba</b>	< K.H.	0,043	0,034	-0,146	-0,150	0,073	0,068
<b>Ca</b>	14,9	2,09	2,78	2,83	2,92	4,93	4,20
<b>Cr</b>	0,010	0,053	0,027	-0,042	-0,023	0,146	0,171
<b>Cu</b>	< K.H.	0,002	-0,001	0,012	0,024	-0,020	-0,026
<b>Fe</b>	5,28	1,23	0,85	1,85	2,01	2,10	2,40
<b>K</b>	1,44	-14	-3,5	-30	-14	1,75	2,43
<b>Mg</b>	2,17.	-3,01	-0,412	-7,35	-7,52	2,18	2,80
<b>Mn</b>	0,032	0,032	0,043	0,031	0,042	0,048	0,050
<b>Mo</b>	0,028	0,020	0,022	0,007	0,008	0,029	0,034
<b>Na</b>	8,10	3,07	4,7	7,0	7,2	8,75	8,21
<b>Ni</b>	< K.H.	0,006	0,010	-0,076	-0,053	<K.H.	<K.H.
<b>P</b>	2,53.	0,700	-0,060	-10,7	-2,96	13,9	4,2
<b>Se</b>	< K.H.	-0,010	-0,004	0,135	0,142	0,112	0,185
<b>Si</b>	4,21	-1,85	-0,065	-5,23	-3,68	1,51	1,69
<b>Sr</b>	0,029	0,013	0,017	0,001	0,006	0,045	0,061
<b>Ti</b>	0,074	0,060	0,132	0,139	0,132	0,187	0,214
<b>V</b>	0,714.	0,692	0,775	0,799	0,787	0,846	0,713
<b>Zn</b>	0,032	0,006	0,011	-0,101	0,063	0,252	0,123

Szemben a 36. táblázat adataival, a híg sósavas és sörrel végzett extrakciónak nagy gyakorlati jelentősége van. A két oldószer által extrahálódott ásványi anyagok koncentrációi közötti hasonlóság a két oldószer hasonló pH értékével magyarázható. A híg sósavas extrakció alkalmas lehet a nem kívánatos makro- és mikroelemek kioldására még a sörszűrés megkezdése előtt.

Három különböző sörípust vizsgáltam, amelyekből 75 perces, 5°C-on és 25°C-on végzett extrakció során egyetlen mintába sem oldódott a szűrési segédanyagokból arzén, kadmium, kobalt, gallium, higany, lítium, ólom. Nem lehetett tendenciát megállapítani az alumínium, réz, kálium, magnézium, nikkel, foszfor, szelén, szilícium és cink esetében. A felsorolt ásványi anyagok részben adszorbeálódtak, részben növekedett a mennyiségük az extrakció során, az ingadozások azonban olyan kicsik voltak, hogy a további vizsgálatok szempontjából elhanyagolhatónak tekinthetők. A mangán, molibdén, nátrium, stroncium, titán és vanádium oldódott a szűrési segédanyagokból. A legszembetűnőbb változás a sörök vas, kalcium, kálium és nátrium-tartalmában figyelhető meg. A kalcium és nátrium koncentrációnövekedése ennél a nagyságrendnél a kész söröket semmilyen szempontból nem veszélyezteti, a vas és kalcium változása azonban a kész sör ízére, színére és stabilitására hat. A 38. ábrán az extrakciót követően a sörbe oldódó vas koncentrációk láthatók, a sörök pH értékeinek feltüntetése mellett. Nem tapasztalható összefüggés a sörök pH-ja és a kioldódott vas koncentrációja között.



**38. ábra A sörökből extrahálódott vas koncentrációja és a sörök pH értékei**

A desztillált vízzel kioldható ásványi anyagok koncentrációi a Melléklet IV. táblázatában található. A mérési eredményeket varianciaanalízissel értékeltem (Melléklet V. táblázat). A szűrési segédanyag típusa és a hőmérsékletek hatása a desztillált vízzel kioldható elemekre vonatkozó megállapítások 0,05 szignifikancia szinten 95 %-os valószínűséggel igazak. A táblázatban egymás alatt elhelyezkedő x-ek azonosságot, az eltérőek szignifikáns differenciát jelentenek az egyes csoportok között. Az extrakciós hőfok az alumínium és a szilícium kioldásánál gyakorolt jelentős hatást, míg a kalcium, mangán és magnézium a hőmérséklettől függetlenül oldódott. A kioldódó ásványi anyagok koncentrációját a szűrési segédanyag típusa határozta meg. A kovaföldekből és a perlitekből kioldódó vas koncentrációk között szignifikáns különbség volt. A hőmérsékletek hatásáról megállapítható, hogy a 80°C-os és a 25°C-os kezelés során kioldódó vas koncentrációk

között szintén szignifikáns eltérés tapasztalható. A legnagyobb vas mennyiség az „A” perlitből oldódott.

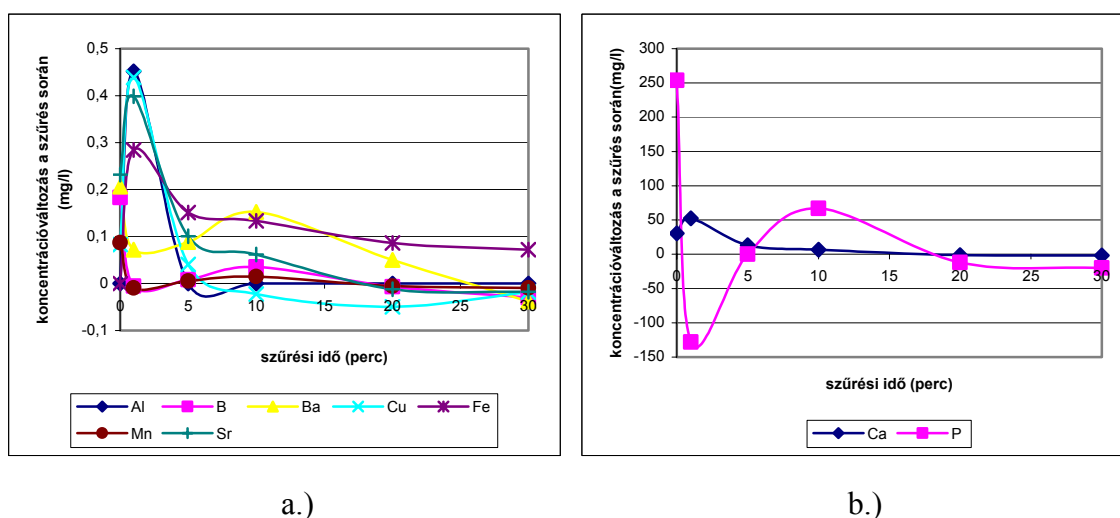
A desztillált vízzel kioldódó koncentrációk (IV. táblázat) és a híg sávvval kapott értékek (32. táblázat) közötti különbség jól reprezentálja, hogy a pH általában befolyásolja az ásványi anyagok kioldódását.

### Üzemi kísérlet:

Laboratóriumi kísérleteimet kiegészítettem üzemi kísérletekkel abból a célból, hogy az ásványi anyagok oldódását a szűrési idő függvényében is nyomon tudjam követni. A szűrés folyamata a szűrési segédanyag alaprétegek kialakításával kezdődik, ami három különböző szemcseméretű kovaföld és perlit vízzel történő felhordását jelenti. A művelet során lépésenként vettem mintát a kovafölddel elkevert vízből, összesen 6 mintát. A cirkuláció során vett vízminta ásványi anyag tartalmának változása hasonló a laboratóriumi kísérleteim során desztillált vizes extrakciónál kapott eredményekhez. A feliszapoláshoz használt víz hideg és az érintkezési idő is rövid, így csekély az ásványi anyagok oldódása.

Két szűrési folyamatot követtem nyomon, két különböző sörtípusnál. A szűrés kezdetén ötpercenként, később 10, 15, 20 és 30 perces időközönként vettem mintát, a szűrés 145. percéig sörtípusonként 19 - 19 alkalommal. A minták ásványi anyag tartalmának meghatározása roncsolásos mintaelőkészítést követően ICP technikával történt.

A 39. a.) és b.) ábrán az „A” sör szűrése során bekövetkező koncentrációváltozások láthatók, a szűretlen sör kiindulási koncentrációértékeihez képest. Az ábra a szűrés első 30 percében bekövetkező ásványi anyag változásokat tartalmazza. A szűrés későbbi szakaszában a koncentrációk nem módosultak jelentősen.



39. ábra Az ásványi anyagok koncentrációjának változása a sör szűrése során

A szűrés alatt nem oldódott ki a szűrési segédanyagokból arzén, kadmium, kobalt, higany, ólom és cink. A többi elem oldódása és a szűrési idő között egyértelmű összefüggés nem állapítható meg. A 39. a.) ábrán látható, hogy a bór és a mangán nagy része az első 15 percen került a sörbe, utána adszorpció következett be. A vas koncentrációja a szűrés kezdetén meghaladta az ajánlott maximális, 0,2 mg/l-es koncentrációt, és csak a 15. perc után csökkent és állt be konstans értékre.

A kalcium az első percen nagy mennyiségben oldódott ki (39. b.) ábra), majd adszorpció következett be. A foszfor adszorbeálódott a szűrés kezdetén, majd visszaoldódott a sörbe.

Eredményeimet összefoglalva az alábbi következtetések vonhatók le:

- A szűrési segédanyagokból kioldható ásványi anyagok között nem szerepelt arzén, higany és szelén, a szűrőperlitből nem oldódott a molibdén és az ólom sem. A kovaföld kalciumtartalma jelentősen nagyobb volt, mint a perlit kalciumtartalma, a vas mennyisége az „A” típusú kovaföldnél volt jelentős. Az alkálifémek a perlitből oldódtak ki nagyobb mennyiségben.
- A hőmérséklet emelkedése a sör esetében növelte a kioldható ásványi anyag koncentrációkat, ezért alacsony szűrési hőmérséklet javasolt.
- A pH általában befolyásolta az ásványi anyagok kioldódását.
- A kovaföldekből nagyobb mennyiségű vas oldódott ki, mint a perlitekből. A szűrési segédanyagok vastartalma 0,0001 n HCl-as kezeléssel a szűrés megkezdése előtt lecsökkenthető.
- A kalcium koncentrációja csak a szűrés elején növekedett, később adszorpció következett be, így a sör „megvadulásának” esélye csökken. A kalcium koncentrációja is csökkenthető híg savas mosással.

## 5 ÖSSZEFOGLALÁS

Magyarországon még nem végeztek átfogó vizsgálatokat a sörök makro- és mikroelemtartalmával kapcsolatban, ezért kutatómunkám célja az ásványi anyagok szerepének és a koncentrációváltozás hatásainak tanulmányozása volt a sörgyártási műveletek során. Kísérleteimmel az alábbi problémák megoldására kerestem és kaptam választ:

### 1. A sörök ásványi anyag tartalmának meghatározása

#### 1.1 Mérési módszer kidolgozása

Mérési módszerként korszerű spektroszkópiás technikát (ICP-AES) választottam, mivel a szimultán multielemes metodika jelentős információt ad a sörlében és sörben lévő összes elem egyedi koncentrációjára. A kutatási program megvalósítása során reprodukálható mérési eredményeket biztosító mintaelőkészítési eljárás kidolgozása volt a cél, amely kiküszöböli az elemzendő oldatok heterogén összetétele közötti különbségeket. Ötféle minta-előkészítési eljárást hasonlítottam össze a módszerek megbízhatósága, idő- és munkaigénye szempontjából. A legjobb eredményeket a salétromsavas - hidrogénperoxidos roncsolással történő minta-előkészítésnél kaptam, ami egybeesik Alcázar és munkatársai (2002), Wyrzykowska és munkatársai (2001) valamint Matsushige és Deoliveira (1993) által publikált mintaelőkészítési módszerekkel.

#### 1.2 Kereskedelmi minták analízise

A sörök ásványi anyag tartalmának meghatározása során a söröket sörtípusonként elemeztem, alapanyag-összetétel szerint négy kategóriába soroltam.

A vizsgált sörökben nem volt kimutatható a kadmium, gallium, higany, nikkel és titán. Igen kis mennyiségben tartalmaztak a sörök báriumot, vanádiumot és kobaltot. Az arzén és az ólom néhány mintában kis mennyiségben kimutatható volt. Mérési eredményeimet összehasonlítottam az egészségügyi határértékekkel és megállapítottam, hogy a sörök ásványi anyag tartalma egyetlen esetben sem haladta meg azt.

Elemeztem a sörök egészségre gyakorolt hatását. Egybevettem a sörök ásványi anyag tartalmát a napi ajánlott bevitellel. A sörökben legnagyobb mennyiségben jelenlévő ásványi anyag a kálium (385 mg/l). A magyar sörök átlagos nátriumtartalma 35 mg/l, ami az italt nátriumszegény ételmisszerré teszi. Viszonylag nagy mennyiségben fordul elő a



szelén, amelynek koncentrációja az árpa termőhelyétől függ, így a sörökben jelentős ingadozást mutat. A sörben lévő mikroelemek jelentősége is nagy: a vas és a réz a vérvérvényezésben vesz részt, a cink a szervezet számára nélkülözhetetlen enzimek építőköve. A sörminták makro- és mikroelemtartalmának főkomponens analízissel történő értékelése során megállapítottam, hogy a konszenzuszterben a makroelemek általában közel helyezkednek el egymáshoz, azaz az egyik komponens változása a másik változásával együtt jár, ami azzal magyarázható, hogy ezen elemek döntően a malátával kerülnek a sörbe, és a maláta közel azonos mennyiségben tartalmazza azokat.

## **2. A kalcium és a cink szerepe a cefrészésnél és az erjesztésnél**

### **2.1 A kalcium szerepe a cefrészésnél**

Kutatómunkám célja a maláta eredetű  $\alpha$ -amiláz enzim számára legkedvezőbb kalcium koncentráció megállapítása az enzim hőstabilitására gyakorolt hatás és a hidrolízis hatékonysága szempontjából.

Megmértem a maláta  $\alpha$ -amiláz aktivitását a 13-220 mg/l-es kalcium koncentráció-tartományban Phadebas módszerrel. Ezt követően modelleztem a cefrészési eljárást, különböző hőfokokon (70-80°C) a 13-440 mg/l kalcium koncentráció-tartományban. Vizsgáltam az enzim aktivitás változását, amire a keményítőtöbontás sebességéből és mértékéből következtettem. Ezenkívül vizsgáltam a kalcium koncentrációjának a sörlé szabad-aminonitrogén szintjére és színére gyakorolt hatását.

Az  $\alpha$ -amiláz aktivitás és a kalcium koncentráció közötti összefüggés tanulmányozása eredményeként különböző cefrészési hőmérsékleteken meghatároztam az optimális és az enzimtevékenységet gátló kalcium koncentrációkat. Megállapítottam, hogy a kalcium nem gyakorol hatást a sörlevek  $\alpha$ -aminonitrogén tartalmára, a sörök színe viszont növekvő koncentrációnál világosodik. A beadagolt és a sörlében mérhető kalcium koncentrációk között lineáris az összefüggés, tehát a kalcium teljes mennyiségében oldatban marad, sem kiválás, sem komplexképződés nem játszódik le.

### **2.2. A kalcium szerepe az erjesztésnél**

Kutatómunkám során normál töménységű (11,3 m/m %) és a megszokottnál töményebb (14,8 m/m %) sörleveket erjesztettem különböző kalcium adagolások mellett és tanulmányoztam a kalcium erjesztési sebességre és élesztő flokkulációra gyakorolt hatását. Az erjesztési kísérleteket elemezve megállapítottam, hogy normál töménységű sörlevek esetében 0-200 mg/l kalcium beadagolás nem gyakorolt hatást az erjedés lefolyására.

200-600 mg/l koncentráció már gátolta az erjedést, lassította a szubsztrát fogyasztást. A tömény sörlevek erjesztésére 150-200 mg/l kalcium adagolás kedvező hatást gyakorolt, növekedett az erjedési sebesség és a végerjedésfok. A jelenség a kalciumionok élesztő stressztűrő képességére gyakorolt hatásával magyarázható. Az élesztő flokkulálóképességében nem tapasztaltam különbséget egyik sorozatnál sem. Az élesztőszaporulatra gyakorolt hatás sem tűnt egyértelműnek, az eredmények ingadozóak voltak és nem volt felfedezhető tendencia.

### 2.3 A cink mennyiségét befolyásoló tényezők és az erjesztésre gyakorolt hatások tanulmányozása

Munkám ezen részében árpa és kukorica pótanyaggal sörlevek készítését követtem, és nyomonkövettem az egyes műveleti lépéseknél a cefre és a sörlé cink koncentrációjának alakulását. Mindkét sörlé előállításánál megfigyelhető volt a cefre cinkkoncentrációjának erőteljes csökkenése. A komlófőzés végén mindkét pótanyagos sörlénél 0,02 mg/l-re csökkent a cink mennyisége. Megvizsgáltam a cinkkoncentráció alakulását malátából készült sörlé esetében is. A malátából készült sörlé cinkkoncentrációja hasonló volt Donhauser és munkatársai (1983) és Narziss 1980-ban mért eredményeihez. Vizsgálataim során megállapítottam, hogy a veszteség a pótanyaggal készült sörök esetében ennél nagyobb, jóllehet az alapanyagokban lévő cink mennyisége közel azonos volt. Ez a különbség a pótanyagok malátánál kevésbé jól feltárt szerkezetével magyarázható.

Kutatómunkám további lépéseként a cink kiegészítés lehetőségeit vizsgáltam pótanyaggal készült sörlevek erjesztése során. Az élesztő az erjesztés során azonban csak az ionos állapotban lévő cink felvételére képes, ezért elválasztási eljárást dolgoztam ki a szerves és szervetlen formában lévő cink elválasztására. Az ionos és komplex kötésben lévő cink elválasztására legmegfelelőbbnek a VARION KS típusú kationcserélő műgyantát találtam. Megvizsgáltam az oszlop elválasztóképességét és meghatároztam a minták optimális hígítási arányát. Eredményeim alapján megállapítottam, hogy a felhasznált kationcserélő műgyanta alkalmas a sörlé ionos állapotú cinkjének megkötésére. A minták háromszoros hígításánál már nem lép fel a szerves anyag tartalom zavaró hatása, és a hígítás következtében még a cink koncentrációja sem kerül túl közel a kimutatási határértékhez, így roncsolás nélkül közvetlenül meghatározható a komplex kötésben lévő cink koncentrációja.

Tanulmányoztam a cink koncentrációjának az erjedési sebességre gyakorolt hatását, emellett nyomonkövettem az aminosavak és az erjedési anyagcseretermékek mennyiségének alakulását.

Az erjedési sebesség a 0,02 mg/l cinket tartalmazó minták esetében volt a legkisebb, míg a cink túladagolás sem csökkentette az erjedési sebességet. A szabad aminonitrogén és a valin koncentrációk hasonló tendenciákat mutatnak. A maximális diacetil koncentráció a cinkhiányos söröknél volt mérhető. Az éleszterek esetében a cinkhiányos állapot alacsonyabb koncentrációt eredményezett, míg a cink mennyiségének emelkedése az éleszterek koncentrációjának növekedését vonta maga után. A leggyengébb élesztőszaporulat a legkisebb cink koncentrációnál volt tapasztalható. A koncentráció növekedése bizonyos ideig növelte az élesztőszaporulatot, 80 mg/l-es koncentrációnál azonban csökkent.

Munkám eredményeként megállapítottam a pótanyagos söröknél optimális cink koncentráció értéket (0,4 mg/l). A cinktúladagolás nem okozott technológiai problémát, csupán az élesztőszaporulatra volt negatív hatással. Pótanyagos sörlevekkel végzett kísérleteim során megállapítottam, hogy a sörlé cinkellátottsága az erjedési sebességen kívül befolyásolja a késztermék erjedési anyagcsere-termékeinek összetételét is. Eredményeim megegyeznek Donhauser és munkatársai (1983) eredményeivel, akik maláta sörlevek erjesztése során ugyanezt a következtetést vonták le.

### **3. A kész sörök stabilitását befolyásoló tényezők tanulmányozása**

#### **3.1 A túlhabzás elkerülésének lehetőségei**

Munkám ezen részében azt vizsgáltam, hogyan alakul a kalcium és oxalát mennyisége a sörgyártás során és melyek azok a technológiai lépések, amelyek a kristályosodást elősegítik. Ezt követően arra a kérdésre kerestem választ, hogyan lehet a kalcium-oxalát képződését a szűrés előtt elősegíteni, valamint milyen lehetőség van a kiválások palackozás előtti előrejelzésére.

Munkám eredményeként a sör gyártási folyamatában meghatároztam azokat a technológiai lépéseket, amelyekben a kalcium-oxalát kiválás a legnagyobb mértékű. Megállapítottam, hogy a hőmérséklet és a kalcium koncentrációja gyakorolja a legnagyobb hatást a kristályosodásra. (-2°C) hőmérsékleten 30 perc alatt a csapadékképződés lejátszódik és a sörszűrés során a kivált kristályok eltávolíthatók.

### 3.2 A szűrés műveletének tanulmányozása

Arra a kérdésre kerestem választ, hogy a technológia utolsó lépése során változhat-e a sör ásványi anyag összetétele, azaz oldódhatnak-e makro- és mikroelemek a sörbe, és ha igen, azok hatással vannak-e a sör minőségére, stabilitására. Eredményeimet összefoglalva megállapítottam hogy a szűrés kezdeti fázisában az ásványi anyagok beoldódnak a sörbe, később azonban inkább az adszorpció a jellemző folyamat. A sör szűrését célszerű minél kisebb hőfokon végezni, szükség esetén a szűrési segédanyag ásványi anyag tartalmát híg sósavas mosással csökkenteni.

## 6 SUMMARY

In Hungary no comprehensive study has been carried out in connection with the macro- and microelement content of beers, therefore the aims of my research work were to investigate the role of minerals and the effect of change in their concentration during the operations of beer production. Through my experiments I had looked for and found answer to the following problems:

### 1. Determination of the mineral content of beers

#### 1.1 Elaborating a measuring method

I had chosen ICP-AES, a modern spectroscopic technique as measuring method, because this simultaneous multi-element method provides considerable information on the individual concentration of all elements in wort and beer. During the accomplishment of the research project it was aimed to elaborate such a sample preparation procedure which gives reproducible results, that eliminates the differences among the heterogeneous compositions of the analyzed solutions. I compared five sample preparation procedures considering the reliability, labor intensity and time requirement of them. I achieved the best results by applying the digestion with nitric acid and hydrogen peroxide that corresponds with the preparation methods published by Alcazar and co-workers (2002), Wyrzykowska and co-workers (2001), and Matsushige and Deoliveira (1993).

#### 1.2 Analysis of commercial samples

In the course of determining the mineral content of beers, I examined them by their type, and I classified them in four groups according to their raw material composition.

In the examined beer cadmium, gallium, mercury, nickel and titan were not detected. The beers contained barium, and vanadium in very small concentrations. Arsenic and lead were detected in some of the samples in very small concentration. I had compared my results with the medical limits, and I found that the mineral content of beers did not exceed them in any case.

I had also analyzed the effect of beers on health. I compared the mineral content of beers with the recommended daily allowances. Among the minerals present in beer potassium can be found in the highest concentration (385 mg/l). The average sodium content of the Hungarian beers is 35 mg/l, which makes the beverage low in sodium. Selenium is found in relatively

high amount that depends on the habitat of barley, thus it shows considerable fluctuation among beers. The microelements of beers also have significance: iron and copper take part in blood formation, while zinc is building block of enzymes essential for the body.

By analyzing the macro- and microelement content of beers with Principal Component Analysis I had found that the macroelements are located close to each other in the consensus plot, which means that the change of one of the principle components goes together with the change of the other one. This may be explained with that these elements originate mainly from the malt, and the malt contains them in nearly the same amount.

## **2. Role of calcium and zinc in mashing and fermentation**

### 2.1 Role of calcium in mashing

In my research I aimed to determine what the most favorable calcium concentration is for the  $\alpha$ -amylase enzyme originating from malt, from the point of view of its effect on the heat stability of the enzyme and the effectiveness of hydrolysis.

I had measured the activity of malt  $\alpha$ -amylase in the 13 to 220 mg/l calcium concentration range with the Phadebas method. Next I had performed model mashing procedures at different temperatures (70-80°C) in the 13 to 440 mg/l calcium concentration range. I had examined the change of enzyme activity to which I had deduced from the rate and extent of starch hydrolysis. In addition, I studied the effect of calcium concentration on the free  $\alpha$ -amino acid content and colour of wort.

As a result of studying the relation between the  $\alpha$ -amylase enzyme activity and the calcium concentration, I determined the optimal and limiting calcium concentrations at different mashing temperatures. I concluded that calcium has no effect on the free  $\alpha$ -amino acid content of worts, but the colour of wort becomes lighter with the increase of concentration. There is a linear relationship between the added and the measured calcium concentration in wort, which means that the whole amount of calcium remains in solution, and neither precipitation nor complex-formation takes place.

### 2.2 Role of calcium in fermentation

In the course of my work normal gravity (11.3 m/m %) and higher gravity (14.8 m/m %) worts were fermented with the addition of calcium in different concentrations, and I studied the effect of calcium on the fermentation rate and yeast flocculation.

Analysing the results of the fermentation experiments I concluded that in case of normal gravity worts the addition of 0 to 200 mg/l calcium has no effect on the profile of

fermentation. 200 to 600 mg/l concentration had inhibiting effect on fermentation; it slowed down the consumption of substrate. On the fermentation of high gravity worts 150-200 mg/l calcium addition had favourable effect; both the fermentation rate and the final attenuation degree increased. The phenomenon may be explained by the effect of calcium ions on the stress tolerance of yeast. No difference was experienced in the flocculating ability of yeast in either case. The effect on yeast growth was not unambiguous either, results fluctuated and no tendency was found.

### 2.3 Investigation of factors affecting zinc concentration and effects on fermentation

In the following section of my work I brewed worts with barley and maize adjunct, and followed the change in zinc concentration of mash and wort during the steps of the process. In case of the brewing of both kinds of wort strong decrease of zinc concentration was observed. By the end of wort boiling, the amount of zinc decreased to 0.02 mg/l in both worts made with adjunct. I examined the variations in zinc concentration in case of all-malt wort, as well. The result was similar to the one measured by Donhauser and co-workers (1983) and by Narciss (1980). In my investigation I had found that the loss is greater in case of beer made with adjunct, although the amount of zinc in the raw materials was nearly the same. The difference may be explained with the structure of adjunct which is less digested than the structure of malt.

In the next step of my research work I examined the possibilities of zinc addition during fermentation of worts made with adjunct. Since yeast can absorb only the ionic form of zinc during fermentation, I had elaborated a method for the separation of the organic and inorganic form of zinc. I found the VARION KS type of cation-exchange resin the best for the separation of zinc in the ionic form and in complex binding. I examined the separation ability of the column, and I determined the optimal dilution rate of the samples. Based on my results I concluded that the applied cation-exchange resin is capable to bind the ionic form of zinc found in wort. In case the samples are diluted three-fold the complication caused by organic substances does not set in, and due to this dilution even the concentration of zinc does not approach the detection limit, so the concentration of zinc in complex binding is possible to determine without digestion.

I had studied the effect of zinc concentration on the fermentation rate; moreover I followed the variation of the amount of amino acids and fermentation by-products.

The fermentation rate was the lowest in case of samples containing 0.02 mg/l zinc; on the other hand even the overdosing of zinc did not decrease the fermentation rate. Concentrations of the free amino nitrogen and valine showed similar tendencies. The maximal diacetyl concentration was measured in the zinc deficient beers. In case of esters the zinc deficiency resulted in lower concentration, while the increase of zinc amount brought on the increase of ester concentration. The lowest yeast growth rate was experienced at the lowest zinc concentration. Increase of the concentration made the yeast growth increase to a certain extent, but it decreased at 80 mg/l zinc concentration.

As result of my work I concluded the optimal zinc concentration value for beers made with adjunct (0.4 mg/l). Overdosing of zinc did not cause technological problems; it had negative effect on only the yeast growth. During my experiments performed on worts made with adjunct I found that the degree of zinc supply of worts affects not only the fermentation rate, but the fermentation by-product composition of the final product. My results agree with the results of Donhauser and co-workers (1983), which drew the same conclusion during fermentation of all-malt worts.

### **3. Investigation of factors affecting the stability of beers**

#### **3.1 Possibilities to avoid gushing**

In this section of my work I studied the variation of amount of calcium and oxalate in the course of beer production, and I studied which technological steps promote crystal formation. Next, I looked for an answer to the question of how can be the calcium oxalate formation promoted before filtration, and what are the possibilities to forecast the precipitations before filling.

As a result of my work I determined those technological steps in the process of beer production where the extent of calcium oxalate precipitation is the highest. I found that the temperature and the calcium concentration had the biggest effect on the crystal formation. At the temperature of -2°C in 30 minutes precipitation takes place, and crystals can be removed during filtration.

#### **3.2 Investigation of the process of filtration**

I looked for an answer to the question whether during the last step of the technology can the mineral substance composition of beer change, i.e. can macro- and microelements dissolve into the beer. If yes, will they affect the stability and quality of beer? To give a summary of my results, I concluded that in the early stage of filtration minerals dissolve into the beer, but



later adsorption is the typical process. It is practical to perform filtration at a lower temperature, and if necessary to decrease the mineral substance content of the filtering aid by washing it with diluted hydrochloric acid.

## 7 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- Meghatároztam a sörök ásványi anyag tartalmát. A vizsgált söröket a felhasznált alapanyagok szerint négy csoportba soroltam. Mérési eredményeimet összevettem az egészségügyi határtértékekkel és az egyes ásványi anyagok iránti igényekkel. Megállapítottam, hogy a sörök mérsékelt fogyasztása kedvező élettani hatást vált ki. Kiemelendő a sörök kálium-nátrium aránya, amely a vizsgált söröknél 11 : 1 volt.
- Meghatároztam az  $\alpha$ -amiláz enzim számára optimális kalcium koncentrációkat a söripari cefrőzés során. Nyomon követtem a keményítőbontás sebességét, a bontási fok alakulását különböző cefrzési hőmérsékleteken és kalcium koncentrációk mellett. Munkám eredményeként négy különböző cefrzési hőmérsékleten adtam meg a cefre optimális kalcium koncentrációját, amely a leggyorsabb keményítőbontást és a legnagyobb bontási fokot eredményezi. A legnagyobb enzimaktivitást a 45-105 mg/l kalciumtartalmú cefrékben mértem.  
Megállapítottam, hogy a kalcium a sörlevek  $\alpha$ -amino-nitrogén tartalmára nem gyakorolt hatást, a sörlevek színe azonban növekvő kalcium koncentrációknál világosodott.
- Megvizsgálva a kalcium erjesztésre gyakorolt hatását normál töménységű és a megszokottnál töményebb sörlevek erjesztése során, megállapítottam, hogy normál töménységű sörlevek esetében 200 mg/l alatti kalcium tartalom nem gyakorolt hatást az erjedés sebességére. Ugyanakkor a tömény sörlevek erjesztését 150-200 mg/l kalcium adagolás kedvezően befolyásolta, ami a kalcium ionoknak az élesztő stressztűrő képességére gyakorolt pozitív hatásával magyarázható.
- Mivel a pótanyagos sörlevek cinktartalmának alakulásával kapcsolatban eddig nem végeztek kísérleteket, ezért munkám során megvizsgáltam árpa és kukorica pótanyaggal készült sörlevek cinktartalmának alakulását a sörlé előállítás műveletei során és meghatároztam a cink hasznosulásának mértékét. Megállapítottam, hogy a pótanyagos sörlevek esetében az erjedésre kerülő sörlé cinkkoncentrációja elmarad a malátából készült sörlevektől, ami a felhasznált pótanyagok malátánál kevésbé feltárt szerkezetével magyarázható.
- A sörélesztő az erjesztés során csak az ionos állapotban lévő cink felvételére képes. A napjainkban használt nyomelemanalitikai módszerek (ICP-AES, AAS, AFS) azonban a mintákban lévő összes cink meghatározását végzik. Annak érdekében, hogy az

erjedésre kerülő sörlé ionos és komplex kötésben lévő cink koncentrációja meghatározható legyen, ioncserés kromatográfiás eljárást dolgoztam ki a sörlevekben lévő ionos és komplex kötésben lévő cink elválasztására.

A sörléminták ioncserés szétválasztása után meghatároztam az ionos állapotú cink koncentrációját és megállapítottam, hogy a cink mintegy 50-70 %-a van csupán az élesztő számára felvehető állapotban, tehát az erjedés csak cink hozzáadagolással végezhető el biztonságosan.

- Meghatároztam a pótanyagos sörlevek erjesztése szempontjából optimális cinkkoncentrációt. A cink erjedési sebességre és alkoholtartalomra gyakorolt hatása mellett vizsgáltam, hogy a különböző koncentrációk miként befolyásolják az erjedési anyagcsere-termékek mennyiségét és összetételét, valamint az élesztőszaporulatot. Megállapítottam, hogy pótanyagos sörlevek erjesztése esetében az optimális cink mennyiség 0,4 mg/l, gátlást azonban a nagyobb koncentráció sem okozott.
- Vizsgáltam azon technológiai lépéseket, amelyek során kalcium-oxalát képződik a sörben. Megállapítottam, hogy a csapadékkiválást a hűtés váltja ki, tehát mindazon technológiai lépéseknél, amelyek hőmérsékletcsökkenéssel járnak, nő a csapadék-képződési hajlam. A sörökben (-2)<sup>o</sup>C-on 30 perc alatt lejátszódik a kalcium-oxalát kiválás, ami a sörből szűréssel eltávolítható, így növelhető a kész sörök stabilitása.
- A szűrési segédanyagok nagy mennyiségű ásványi anyagot tartalmaznak. Munkám során megvizsgáltam, hogy az ásványi anyagok milyen környezeti feltételek mellett oldódnak ki a sörből. Üzemi kísérleteim során megállapítottam, hogy a szűrési folyamat során adszorpció és deszorpció egyaránt lejátszódik, és a sörök ásványi anyag tartalma nem változik számottevően. Amennyiben a szűrési segédanyagok kalcium és vastartalma nagy, az híg savas mosással a szűrés előtt csökkenthető.

## FELHASZNÁLT IRODALOM

- Alcázar, A., Pablos, F., Martin, M.J., Gonzalez, A.G.(2002): Multivariate characterisation of beers according to their mineral content. *Talanta*. 57. 45-52.
- Amaha, M., Kitabatake, K. (1981): Gushing in beer. *Brewing Science*. Tokió, 2. 457-489.
- American Society of Brewing Chemists, *Methods of Analysis*. Seventh edition, 1976.
- Analytica-EBC (1999): Method 9.24.2. Verlag Hans Carl Getranke-Fachverlag, Nürnberg.
- Andersen, K., Gjersten, P., Trolle, B. (1967): The Microfora of Barley and its Effect on Wort and Beer. *The Brewer Digest*. 42. 76-81.
- Babu, K. R., Satyanarayana, T. (1993): Extracellular calcium-inhibited alpha-amylase of *Bacillus coagulans* B 49. *Enzyme Microb.Technol.* 15. 1066-1069.
- Berlitz, H.D., Grosch, W. (1987): *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Berlin, 147.
- Bíró Gy., Lindner K.: *Tápanyagablázat*. Medicina Kiadó, Budapest, 1999.
- Bisgaard-Frantzen, H., Svendsen, A., Norman, B., Pedersen, S., Kjaerulff, S., Outtrup, H., Borchert, T.V. (1999): Stabilisation of  $\alpha$ -amylases for Starch and Whole Grain Mash Liquefaction *Journal of Applied Glycoscience* 46 (29) 199-206.
- Blank, W. (1995): Qualitative, wirtschaftliche und ökologische Gesichtspunkte bei Ionenaustauschern. *Brauwelt*. 9. 438-442.
- Boel, E., Brady, L., Brozowsky, A.M., Derewenda, Z., Dodson, G.G., Jensen, V.J., Petersen, S.B., Swift, H., Thim, L., Wöldike, H.F., (1990): Calcium binding in  $\alpha$ -amylase: an X-ray diffraction study at 2.1-Å resolution of two enzymes from *Aspergillus*. *Biocemistry*. 29. 6244-6249.
- Branden, C., Tooze, J. (1991): *Introduction to Protein Structure*. Garland Publishing, Inc., New York & London.
- Brautechnische Analysenmethoden (Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission, 1993)*, Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan, Volume II. 60-63.
- Brenner, M.W.(1957): Gushing Beer, II. Causes and some means of prevention. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* Koppenhága 349-362.
- Briggs D.E., Hough, J.S., Stevens, R., Jounq, T.W. (1981): *Malting and Brewing Science*, 1.kötet, 168-181.
- Burger, M., Becker, K. (1949): Oxalate Studies on Beer. *Proc.Amer.Soc.Brew.Chem.* 7. 102-115.
- Carafoli, E., Balcavage, W. X., Lehninger, A .L., Mattoon, J. R. (1970):  $\text{Ca}^{2+}$  metabolism in yeast cells and mitochondria. *Biochim.Bioph.Acta*. 205. 18-26.
- Carrington, R., Collet, C.R., Dunkin, I.R., Halek, G. (1972): Gushing promoters and suppressants in beer and hops. *Journal of the Inst.Brewing*. 78. 243-263.

- Ceci L.N., Lozano J.E. (2002): Amylase for apple juice processing: effects of pH, heat and Ca<sup>2+</sup> ions. Food Technol. Biotechnol. 1. 33-38.
- Chandrasena, G., Walker, G.M. (1997): Use of Response Surface to Investigate Metal Ion Interaction in Yeast Fermentations. J. Am. Soc. Brew. Chem. 55. 24-29.
- Charalambus, G., Bruckner, K.J.(1978): Analysis of Metallic Ions in Brewing Materials, Wort, Beer and Wine by ICAP Spectroscopy. Jarell – Ash Pasma Newsletter. 4. 4-10.
- Cieserová, Z., Dömény, Z. (1996): Enhancement of Yeast Etanol Tolerance by Calcium and Magnesium. Slovak Technical University, Bratislava 41. 485-488.
- Deák, T. (1998): Élesztőgombák a természetben és az iparban. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó. Budapest. 140. 195.
- Dilly, P.(1998): Gushing – Eine Bestandsaufnahme. Brauwelt. 45. 2062-2072.
- Donhauser, S. (1981): Gärstörungen. Brauwelt, 20. 816-824.
- Donhauser, S., Wagner, D., Linsemann, O. (1982): Hefezink bei konventionell und Druckgärverfahren. Brauwelt. 34. 1464-1468.
- Donhauser, S. (1983): Einfluss von Filterhilfsmitteln auf den Eisengehalt von Bier. Brauwelt. 29. 1219-1228.
- Donhauser, S., Schauburger, W., Geiger, E. (1983): Verhalten von Zink während der Würzebereitung. Brauwelt. 14. 516-522.
- Donhauser, S., Wagner, D., Meier, G. (1986): Bestimmung von Aminosäuren in Malz und Würzen mittels der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie. Monatsschrift für Brauwissenschaft. 11. 391-396
- Donhauser, S., Weideneder, A., Winnewisser, W., Geiger, E. (1990): Test zur Ermittlung der Gushingneigung von Rohfrucht, Malz und Bier. Brauwelt. 32. 1317-1320.
- Draeger, M. (1996): Physikalische Überlegungen zum Thema Gushing. Brauwelt. 6. 259-264
- Edel, V., Steinberg, C., Gautheropn, N., Alabouvette, C. (1997): Evaluation of restriction analysis of polymerase chain reaction (PCR)- amplified ribosomal DNA for the identification of *Fusarium* Species. Mycobiological Research. 101. 179-187.
- European Brewery Convention Analytica EBC, Fourth edition, 1987.
- Gardner, R.J., Laws, D.R.J., McGuinness, J.D. (1973): The suppression of Gushing by the use of hop oil. Journal of the Inst.Brewing. 79. 209-211.
- Gasztonyi, K.(1979): Az élelmiszerkémia alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. 328-337.
- Ginowa-Stojannowa, T., Todorowa, W. (1987): Steuerung der Vergärung durch Konzentrierung der Zinkionen in der Bierwürze. Khranitelnoprom. Nauka. 6. 87-91.
- Gjersten, P., Trolle, B., Andersen, K. (1963): Weathered barley as a contributory cause of gushing in beer. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. Brüssel. 320-341.

- Gray, P., Stone, I. (1958): Durch Metalle verursachtes Wildwerden von Bier. Brauwissenschaft. 11. 214-219.
- Guggenberg, J., Kleber, W. (1963): Über den Mechanismus des Wildwerdens von Bier. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. Brüssel. 229.
- Hantze, G., Penot, I. (1990): Eisen in Kieselguhr und Bier Erkenntnisse aus Labor- und Praxisuntersuchungen. Brauwelt. 4. 108-121.
- Helm, E., Richardt, O.C. (1938): Das Überschaumen des Bieres. Wochenschrift für Brauerei. 55. 89-94.
- Heyse, K.U. (ed.) (1997): Brauwelt Brevier. Getränke-Verlag, Nürnberg, 130-146.
- Heyse, K.U. (ed.) (1995): Handbuch der Brauerei Praxis, Getränke-Verlag, Nürnberg, 70-89.
- Heyse, K.U., Feigl, R. (1980): Über die Bierlöslichkeit von Eisen aus Filtermitteln und ihre Beeinflussung in der Praxis. Brauwissenschaft. 6. 28-32.
- Holló, J., Hoschke, Á. (1993): Bioconversion of starch. Pol. J. Food Nutr. Sci. 2/43. 5-37.
- Hopulele, P., (1972): Zum Verhalten verschiedener Mineralstoffe in der Brauereitechnologie. Dissertation TU München, Weihenstephan
- Hoschke, Á. (1991): Amilolítikus enzimek. Enzimes analízis. Akadémia Kiadó, Budapest. 274-290.
- Igarashi, K., Hatada, Y., Hagihara, H., Saeki, K., Takaiea, M., Uemura, T., Ara, K., Ozaki, K., Kawai, S., Kobayashi, T., Ito, S.,(1998): Enzymatic Properties of a Novel Liquefying  $\alpha$ -Amylase from an Alkaliphilic *Bacillus* Isolate and Entire Nucleotide and Amino Acid Sequences. Appl. Environ. Microbiol. 64 3282-3289.
- Ikawa, K., Araki, H., Tsujino, Y., Hayashi, Y., Igarashi, K., Hatada, Y., Hagihara, H., Ozawa, T., Ozaki, K., Kobayashi, T., Ito, S.,(1998): Hyperexpression of the gene for a Bacillus alpha-amylase in Bacillus subtilis cells: enzymatic properties and crystallization of the recombinant enzyme. Biosci. Biotechnol. Biochem. 62. 1720-1725.
- Yly-Mattila, T., Hyvonen, J. (1996): RAPID-PCR analysis of Fusarium strains – cladistic evaluation of results, Sydowia, 48. 184-195.
- Isosense for Windows, User Manual (1996): Isosense Co. Ltd., Budapest
- Jacob, F. (1985): Analytik, Vorkommen und Verhalten der kritischen Spurenelemente Arsen, Blei, Calcium, Chrom, Quecksilber und Selen in der Brauereitechnologie. Dissertation. TU München/Weihenstephan.
- Jakob, F. (1997): Getränkeherstellung Deutschland. Handbuch Getränke produzierende Industrie. 22.
- Jacob, F.(1998): Calcium – Oxalsäure – Technologische Relevanz. Brauwelt. 28-29. 1286-1287.
- Jakobsen, T., Lie, S. (1977): Chelator and metal buffering in brewing – Regulation of metal levels in wort. Journal of the Institute of Brewing. 4. 208-212.

- Jakobsen, T., Lie, S. (1979): Metal binding in wort – an evaluation of practical stability constants. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. Berlin. 117-129.
- Jakobsen, T., Lie, S. (1981): Regulation of metal levels in brewing. Journal of the Institute of Brewing 87. 223.
- Jakobsen, T., Lie, S., Hage, T. (1981): Wort quality and the zinc content of malz. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. Copenhagen. 97-104.
- Jensen, B., Olsen, J., Allermann, K. (1988): Purification of extracellular amylolytic enzymes from the thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus*. Can.J.Microbiol. 34. 218-223.
- Jin, Y-L., Speers, A. R. (2000): Effect of Environmental Conditions on the Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. J.Am.Soc.Brew.Chem. 58. 108-116.
- Jones R.P., Gadd, G.M. (1990): Ionic Nutrition of Yeast – Physiological Mechanisms Involved and Implications of Biotechnology. Enzyme Micro.Technol. 12. 402-418.
- Jones, R.P., Gadd, G.M. (1984): A Review of Yeast Ionic Nutrition. Process Biochemistry. 19. 48-58.
- Jones, R.P., Greenfield, P.F. (1984): A review of Yeast Ionic Nutrition. Process Biochemistry. 19. 48-58.
- Jonston, J. R., Reader, H. P. (1983): Genetical Control of Flocculation. Yeast Genetics, Fundamental and Applied Aspects. Springer –Verlag, ISBN 0-387-90793-9 : 205-224.
- Kado, H., Ishii, S., Takoi, K., Mitani, Y., Shinotsuka, K. (1999): Effects of spent grains or their extract on yeast performance. Technical Quarterly Master Brewers Association of the Americas. 2. 187-190.
- Kadziola, A., Abe, J., Svensson, B., Haser, R., (1994): Crystal and molecular structure of barley alpha-amylase. J. Mol Biol. 239. 104-121.
- Kellner, V., Cejka, P., Franlik, F. (1987): Die Bedeutung des Calciums in der Brautechnologie. Kvasny Prumysl. 12. 357-359.
- Sólyom, L., Kudron, J. (1985): Keményítőipari kézikönyv. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. 278-280.
- Kieninger, H., Boeck, D. (1979): Einige Spurenelemente in Malzen unterschiedlicher Herstellungsweise. Brauwissenschaft. 11. 316-320.
- Kieninger, H. (1983): Gushing des Flaschenbieres – derzeitiger Forschungsstand. Brauwelt. 1. 14-25.
- Kjer I. K., Meier-Plöger, F., Vogtmann, K. H. (1994): Hopfen und Gerste aus ökologischem Anbau. Brauwelt. 12. 462.
- Knorr, F., Kremkov, C. (1972): Chemie und Technologie des Hopfens. Hans Carl Verlag, Nürnberg 85.
- Krause, B.(1936): On the stability of saturated carbon- dioxide. Svenska Bryggareföreningens Manandsblad. 51. 221-236.

- Kreder, G. C. (2000): Yeast assimilation of trub-bound zinc. *Journal of the ASBC*. 4. 129-132.
- Krüger, E., Anger, H.M. (1990): Kennzahlen zur Betriebskontrolle und Qualitätsbeschreibung in der Brauwirtschaft. Behr's Verlag GmbH & Co., Hamburg
- Lásztity, R., Törley, D.(1987): Az élelmiszeranalítika elméleti alapjai. *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest, 458-460.
- Laws, D.R.J.(1972): Origin and estimation of the gushing potential of isomerized hop extracts. *Journal of the Inst.Brewing*. 78. 303-308.
- Lecker, D.L., Khan, A. (1996): Theoretical and experimental studies of the effects of heat, EDTA and enzyme concentration on the inactivation rate of alpha-amylase from *Bacillus sp.* *Biotechnol. Progr.* 12. 713-717.
- Lie, S., Haukeli, A. D., Jacobson, T. (1975): The effect of chelators in brewery fermentation. *Proc. EBC Congr., Nizza*, 601-614.
- Ljubanina, E., Fertman, G.I., Kovalenko, V.I., Eliseev, M.N. (1981): Calciumverteilung bei der Herstellung der Brauwürze. *Ferment. Spirit.Ind.* 2. 8-9.
- Lüers, H. (1924): Die Bindung der Kohlensäure im Biere. *Wochenschrift für Brauerei*. 41. 49-50.
- Mäder, C., Sommer, G., Thurl, S. (1997): Veränderung der Gehalte der Spurenelemente Blei, Cadmium, Kupfer und Zink während der Bierherstellung. *Monatsschrift für Brauwissenschaft*. 50. 139-141.
- Maloia, L. (1964): Die metallischen Bemeinungen des Bieres. *Birra e Malto*. 11. 94-95.
- Mändl, B., Wullinger, F., Hopulele, T., Piendl, A. (1972): Einfluss des Keimdauer auf mineralgehalt des Malzes. *Techn.Quart. MBAA*. 3. 147-150.
- Mändl, B. (1974): Beeinflussung der Gärung durch den Mineralstoffgehalt. *Brauwissenschaft*. 24. 177-182.
- Mändl, B., Wullinger, F., Rütthlein, M., Heyse, K.-U.(1979): Der Einfluß von Zink auf das Verhalten untergäriger Brauereihefe. *Der Weihenstephaner*. 47. 84-96.
- Marshall, L. M., Jonkers, J., Franke, G. Th., De Gooijer, C. D., Tramper, J. (1999): The effect of process conditions on the  $\alpha$ -amylolytic hydrolysis of amylopectin potato starch: An experimental design approach *Biotechnology and Bioengineering* 62. 348-357.
- Martin, R. P., Petit-Ramel, M. M., Scharff, J. P. (1973): Metal Ion in Biological systems. II. Marcel Dekker Verlag, New York
- Matsushige, I., Deoliveira, A. (1993): Determination of trace-elements in Brazilian beers by ICP-AES. *Food Chemistry*. 47. 205-207.
- McLaren, J.I., Briem, F., Geiger E., Engelmann, J. (1999): Zinkproblem gelöst? *Brauwelt*. 45/46. 2158, 2160.
- Mill, P. J. (1964): The Nature of the Interactions Between Flocculent Cells in the Flocculations of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.* 35. 61-68.



- Mochaba, F., O'Connor-Cox, E.S.C., Axcell, B.C. (1996): Metal Ion Concentration and Release by Brewing Yeast. Characterization and Implications. *J.Am.Soc.Brew.Chem.* 54. 155-162.
- Müller, C. (1995): Möglichkeiten zur Bewertung des Gesundheitszustandes von Braugerste und Malz. *Brauwelt.* 21. 1036-1054.
- Munekata, H., Honjo, T., Koshino, S., Hosaka, M. (1961): Studies on Gushing of Beer. *Brewing Science.* Tokió, 6. 1-11.
- Narziss, L. (1980): Über den Einfluss des Maischverfahrens auf die Lösung von Stickstoffsubstanzen und Zink in Maische und Würze. *Brauwissenschaft.* 11. 230-237.
- Narziss, L. (1981): A sörgyártás. *Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.*
- Narziss, L. (1992): *Technologie der Würzebereitung, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.* 43.
- Narziss, L. (1999): *Die Technologie der Malzbereitung, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.* 7.neu.bearb.Aufl.
- Narziss, L., Black, W., Reicheneder, E., Simon, A., Grandl, R. (1990): Untersuchungen zum Gushing –Problem. *Monatsschrift für Brauwissenschaft.* 9. 296-305.
- Narziss, L. (1995): Braugerste im integriertem Pflanzenbau. *Brauwelt.* 19/20. 953-958.
- Nelson, N. (1944): A photometric adaptation for the Somogyi method for the determination of glucose. *J.Biol.Chem.* 153. 375-380.
- Niessen, L., Donhauser, S., Weideneder, A., Geiger, E., Vogel, H. (1991): Möglichkeiten einer verbesserten visuellen Beurteilung des mikrobiologischen Status von Malzen. *Brauwelt.* 37. 1556-1562.
- Nyeste L. (ed.)(1997): *Biomérnöki műveletek és alapfolyamatok. Műegyetemi Kiadó, Budapest.* 265-267.
- O'Rourke, T. (2002): Colloidal stabilisation of beer. *Brewer-International.* 1. 23-25.
- Ohdan, K., Kuriki, T., Kaneko, H., Shimada, J., Takada, T., Fujimoto, Z., Mizuno, H., Okada, S. (1999): Characteristics of two forms of alpha-amylases and structural implication. *Appl. Environ. Microbiol.* 65. 4652-4658.
- Ohwaki, K., Lewis, M. J. (1971): Adenisin triphosphate of *Saccharomyces carlbergensis*. *J. Inst. Brew.* 77. 353-357.
- Okorokov, L. A., Lichko, L. P., Kholodenko, P., Kadostseva, M., Petrikevich, S. B., Zachkin, E. I., Karimova, A. M. (1975): Free and bound magnesium in fungi and yeast. *Folia Microbiol.* 20. 460-466.
- Outtrup, H. (1980): The relation between the molecular structure and gushing potential of dehydrated humulonic acid. *Carlsberg Res.Comm.* 45. 381-388.
- Pahl, M., Wöhler, M. (1997): *Analyse der Rückstände in maschinell gereinigten Flaschen. Zwischenbericht Nr.2. Universität Gesamthochschule, Paderborn*
- Papp, K., Rudnyánszky, P. (1988): *Hazai perlitek komplex felhasználása. Tanulmány.*

- Pasternakiewicz, A., Tuszyński, T. (1997): Effect of calcium, magnesium, cobalt (II), and zinc cations on the *Saccharomyces cerevisiae* growth. Polish Journal of Food and Nutrition Science. 6. 61-70.
- Penot, I. (1988): Qualitätsicherung für Kieselguhr in der Praxis. Brauwelt, 13. 536-538.
- Piendl, A., Holzmann, A. (1978): Über den Mineralstoff-Gehalt einiger Malzsorten. Brauwissenschaft. 12. 333-335.
- Piendl, A., Wagner, I. (1987): Physiologische Eigenschaften der Mineralstoffe des Bieres. Kalium. Brauwissenschaft. 40. 498-504.
- Piendl, A., Wagner, I. (1988): Physiologische Eigenschaften der Mineralstoffe des Bieres. Kalium. Brauwissenschaft. 41. 11-14.
- Pollock, J.R.A. (1979): Brewing Science Vol.1. Food Science and Technologie. Academic Press, London, 112.
- Pomeranz, Y., Dikeman, E. (1976): From barley to beer – a mineral study. Brewer Digest. 51. 30-32.
- Rose, A.H. (1993): Composition of cell envelope layers of *Saccharomyces cerevisiae* in relation to flocculation and ethanol tolerance. J.Appl.Mikrobiol., Symp.Suppl. 74. 110-118
- Rudin, A., Hudson, J. (1958): Bedeutung von Isohumulon und gewissen Metallen für Überschäumen des Bieres. Journal of Insitute of Brewing. 64. 317.
- Rudolff, P., Krauß, H., Schnappauf, W. (1985): Beschleunigung der Hauptgärung durch Erhöhung der Zinkkonzentration der Anstellwürze. Lebensmittelindustrie. 32. 165-167.
- Sacher, B. (1997): Über den Einfluss von Sorte, Umwelt, agronomische Massnahmen und Malzungstechnologie auf die wertbestimmenden Eigenschaften von Winterweizen. Dissertation TU München/Weihenstephan 140.
- Saltukoglu, A., Slaughter, J. C. (1983): The effect of magnesium and calcium on yeast growth. J. Inst. Brew. 89. 81-83.
- Schmidt, G. (1988): Ein essentielles Spurenelement für die Gärung. Brauindustrie. 5. 530-532.
- Schorr, B., Albrecht, J. (1990): Schimmelpilzflora auf Gerste und Malz. Semesterarbeit, TU München/Weihenstephan 2.
- Schröder, C. (1993): Untersuchungen zum Calciumoxalat Gehalt in Malz, Würze und Bier. Semesterarbeit, TU München/Weihenstephan 18.
- Schur, F. (2002): Gushing tendency and foam stability. Brauwelt International, 4. 302-304.
- Schur, F., Anderegg, P., Senften, H., Pfenninger, H. (1980): Brautechnologische Bedeutung von Oxalat. Brauerei Rudschau. 91. 201-207.
- Sillen, L. G., Martel, A.R. (1971): Special Publication No 17 and Supplement No 1; Special Publication No 25. The Chemical Society. Burlington House, London
- Somogyi, M. (1945): A new reagent for the determination of sugars. J.Biol.Chem. 160. 61.

- Somogyi, M. (1952): Notes on sugar determination. *J.Biol.Chem.* 195. 19-23.
- Sőripari Labormódszerek. Általános és kémiai módszerek.(1986) Sőripari Kutató, Budapest, 86-89.
- Steiner, K., Länzlinger, U. (1975): Zink und Hefegärung. *Schweizer Rundschau* 86. 84-89.
- Steiner, K., Länzlinger, U. (1978): Zink und Hefegärung. *Brauerei Rundschau*. 1. 1-16.
- Stelz, A., Lückel, S., Taschan, H., Muskat, E. (1993): Der Gehalt von Bieren an Kupfer, Nickel und Chrom. *Aktuelle Ernährungsmedizin*. 18. 338-340.
- Stewart, G. G., Rees, E.M.R. (1999): The Effect of the Divalent Ions Magnesium and Calcium on Yeast Fermentation. *MBAA Technical Quarterly*. 2. 171-174.
- Stratford, M. (1992): Yeast flocculation: a new perspective. *Adv.Microb.Physiol.* 33. 1-71.
- Stratford, M., Keenan, M. H. J. (1987): Yeast Flocculation: Kinetics and Collision Theory. *Yeast*. 3. 201-206.
- Sváb, J. (1981): Biometriai módszerek a kutatásban. *Mezőgazdasági Kiadó, Budapest*. 20-59.
- Taidi, B., Hoogenberg, B., Kennedy, A. I., Hodgson, J. A. (2001): Pre-treatment of pitching yeast with zinc. *Technical Quarterly Master Brewers Association of the Americas*. 4. 431-434.
- Taylor, D., (1981): How water composition affects the taste of beer. *Brewing and Distilling International*. 11. 35-42.
- Thalacker, R. L., Stelz, A., Tacshan, H. (1996): Der Cadmiumgehalt des Bieres und seine Bewertung. *Brauwelt*. 38/39. 1813-1816.
- Vaag, P. (1991): Immunological detection of *Fusarium* in barley and malt. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 553-554.
- Vallée, F., Kadziola, A., Bourne, Y., Juy, M., Kees, W. R., Svensson, B., Haser, R. (1998): Barley  $\alpha$ -amylase bound to its endogenous protein inhibitor BASI: crystal structure of the complex at 1.9 Å resolution. *Structure*. 6. 649-659.
- Wagner, D., Geiger, E., Birk, W. (1983): Der Zink- und Mangangehalt der Hefe in Abhängigkeit von bestimmten gärungstechnologischen Faktoren. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 20. 473-480.
- Walker, G. M., Chandrasena, G., Birch, R. M., Maynard, A. I. (1995): Yeast fermentation performance influenced by magnesium availability. *Poc.Aviomere Malt.Brew.Dist.Conf.* 4. 185-189.
- Walker, G., Birch, R.M., Chandrasena, G., Maynard, A.I. (1996): Magnesium, Calcium and Fermentative Metabolism in Industrial Yeasts. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 54. 13-18.
- Weideneder, A. (1992): Untersuchungen zum malzverursachten Wildwerden des Bieres. *Dissertation TU München/Weihenstephan*.
- Witt, W., Sauter, J. (1996): Purification and properties of a starch granule-degrading {alpha}-amylase from potato tubers *J. Exp. Bot.* 47 1789-1795.

Wykes, J. R., Dunnill, P., Lilly, M.D. (1971): Immobilisation of  $\alpha$ -amylase by attachment to soluble support materials *Biochim Biophys. Acta* 250. 522-529.

Ybanez, N., Navarro, A., Montoro, R. (1989): Determination of cadmium, cobalt, copper, lead and zinc in beer by flame atomic absorption spectroscopy. *J.Inst.Brew.* 95. 257-262.

Yin, Y-L., Speers, A.R. (2000): Effect of Environmental Conditions on the Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. *J.Am.Soc.Brew.Chem.* 58. 108-116.

Yli-Mattila, T., Hyvonen, J. (1996): RAPD-PCR analysis of *Fusarium* strains – cladistic evaluation of results. *Sydowia.* 48. 184-195.

Yount, D.E., Gillaryx, E.W., Hoffmann, D.C. (1984): A microscopic investigation of Bubble formation nuclei. *J. Acoustical. Soc. Of Amer.* 76. 1511-1521.

Wyrzykowska, B., Szymczyk, K., Ichichashi, H., Falandysz, J., Skwarzec, B., Yamasaki, S. (2001): Application of ICP sector field MS and principal component analysis for studying interdependences among 23 trace elements in Polish Beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 49. 3425-3431.

Zepf, M. (1998): Gushing-Ursachenfindung anhand von Modellversuchen. Dissertation TU München/Weihenstephan. 25.

Zepf, M., Geiger, E. (1999): Gushingproblematik durch Calciumoxalat, Teil 1 . *Brauwelt.* 48. 2302-2304

Zepf, M., Geiger, E. (2000): Gushingproblematik durch Calciumoxalat, Teil 2 . *Brauwelt.* 6/7. 222-223.

Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelindustrie – Trinkwasserverordnung. 1990.

17/1999.(VI.16.) EüM rendelet Az élelmiszerek vegyi szennyezettségének megengedhető mértékéről.

Magyar Élelmiszerkönyv, 2-96 számú irányelv, Sör.

201/2001.(X.25) Korm.Rendelet. Kémiai vízminőség jellemzők.

<http://www.expasy.ch/cgi-bin/niceprot.pl?ANY3-WHEAT>

<http://www.genome.ad.jp/dbget-bin/www.bget?ec:3.2.1.1;>

[www.worthington-biochem.com/manual/A/A.A.html](http://www.worthington-biochem.com/manual/A/A.A.html)

## MELLÉKLETEK

I. táblázat A különböző mintaelőkészítési módszerek átlagértékei és relatív szórás értékei

II. táblázat A mintaelőkészítési eljárások összehasonlítása

III. táblázat Sörfajták ásványi anyag átlagainak statisztikai elemzése

I. ábra Populár sörökben előforduló elemek gyakorisága

II. ábra Prémium sörökben előforduló elemek gyakorisága

III. ábra Maláta sörökben előforduló elemek gyakorisága

IV. ábra Barna sörökben előforduló elemek gyakorisága

IV. táblázat A szűrési segédanyagokból desztillált vízzel oldódó ásványi anyagok

V. táblázat A szűrési segédanyagokból desztillált vízzel különböző hőmérsékleteken kioldható elemek

Elem	Centrifugálás		Forralás		Bepárlás		Roncsolás		Hamvasztás	
	átlag	szórás %	átlag	szórás %	átlag	szórás %	átlag	szórás %	átlag	szórás %
Al	0,018	**	0,101	7,2	0,082	14,4	0,016	4,7	0,049	33,6
B	0,265	5,2	0,508	12,2	0,289	5,5	0,280	3,8	0,023	33,6
Ba	0,055	3,6	0,175	**	0,019	5,5	0,049	41,7	0,018	12,1
Ca	6,102	12,3	23,5	2,4	15,4	6,0	24,2	*	25,5	*
Cu	0,024	2,9	0,187	**	0,25	39,1	0,032	23,1	0,239	4,4
Fe	0,196	**	0,093	4,4	0,275	**	0,089	15,6	0,079	12,9
K	206	2,9	223	2,5	225	6,1	230	*	227	2,4
Li	0,172	**	0,030	3,8	<K.H	-	<K.H	-	<K.H	-
Mg	10,8	14,1	52,7	2,6	27,2	8,1	24,7	7,3	57,3	*
Mn	0,024	10,0	0,059	3,6	0,079	**	0,083	4,3	0,086	*
Na	40,2	2,7	61,7	2,1	40,0	5,5	48,2	*	62,8	3,7
P	97,9	6,7	172	2,9	168	5,6	170	*	174	*
Pb	0,046	9,2	0,019	**	<K.H	-	<K.H	-	<K.H	-
Se	1,05	12,3	0,062	29,6	0,056	**	0,072	12,2	<K.H	-
Si	22,9	5,5	47,6	3,8	28,6	13,6	23,4	3,6	0,655	18,4
Sr	0,125	5,0	0,183	*	0,129	5,1	0,153	*	0,166	*
Zn	<K.H	-	0,196	**	0,077	**	0,092	13,2	0,085	15,5

\*a szórás 2 % alatti

\*\*a szórás 50 % feletti

I. táblázat A különböző mintaelőkészítési módszerek átlagértékei µg/ml-ben és relatív szórás értéke

Kalcium		Kálium		Magnézium		Nátrium		Foszfor	
Mintaelőkészítés		Mintaelőkészítés		Mintaelőkészítés		Mintaelőkészítés		Mintaelőkészítés	
Centrifugálás	*	Centrifugálás	*	Centrifugálás	*	Centrifugálás	*	Centrifugálás	*
Forralás	*	Forralás	*	Forralás	*	Forralás	*	Forralás	*
Bepárlás	*	Bepárlás	*	Bepárlás	*	Bepárlás	*	Bepárlás	*
Roncsolás	*	Roncsolás	*	Roncsolás	*	Roncsolás	*	Roncsolás	*
Hamvasztás	*	Hamvasztás	*	Hamvasztás	*	Hamvasztás	*	Hamvasztás	*

\* a táblázatban egymás alatt elhelyezkedő csillagok azonosságot, az eltérőek szignifikáns differenciát jelentenek az egyes csoportok között

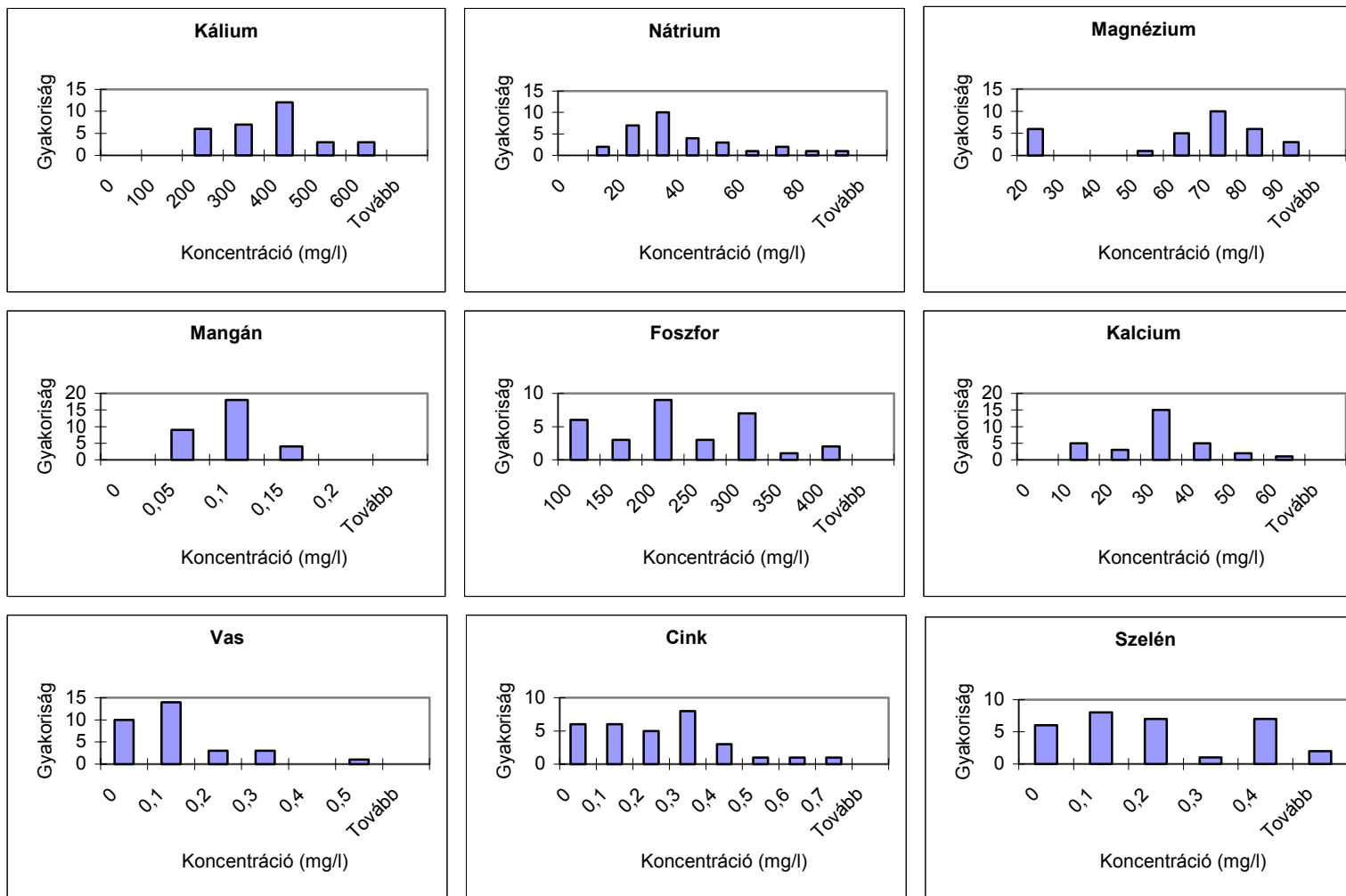
**II. táblázat A mintaelőkészítési eljárások összehasonlítása a makroelemek esetében ( a megállapítások 0,05 szignifikancia szinten 95 %-os valószínűséggel igazak)**

Sörtípus	Elem												
	Kálium				Nátrium				Magnézium				
Populár (pótanyagos világos)	*				*					*			
Prémium (pótanyagos minőségi)	*					*		*		*			
Maláta		*					*				*		
Barna		*						*			*		
	Mangán				Foszfor				Kalcium				
Populár	*				*				*				
Prémium		*			*					*			
Maláta			*			*				*	*		
Barna				*			*		*		*		
	Vas				Cink				Szelén				
Populár	*					*			*				
Prémium	*					*			*				
Maláta		*			*				*				
Barna			*		*					*			

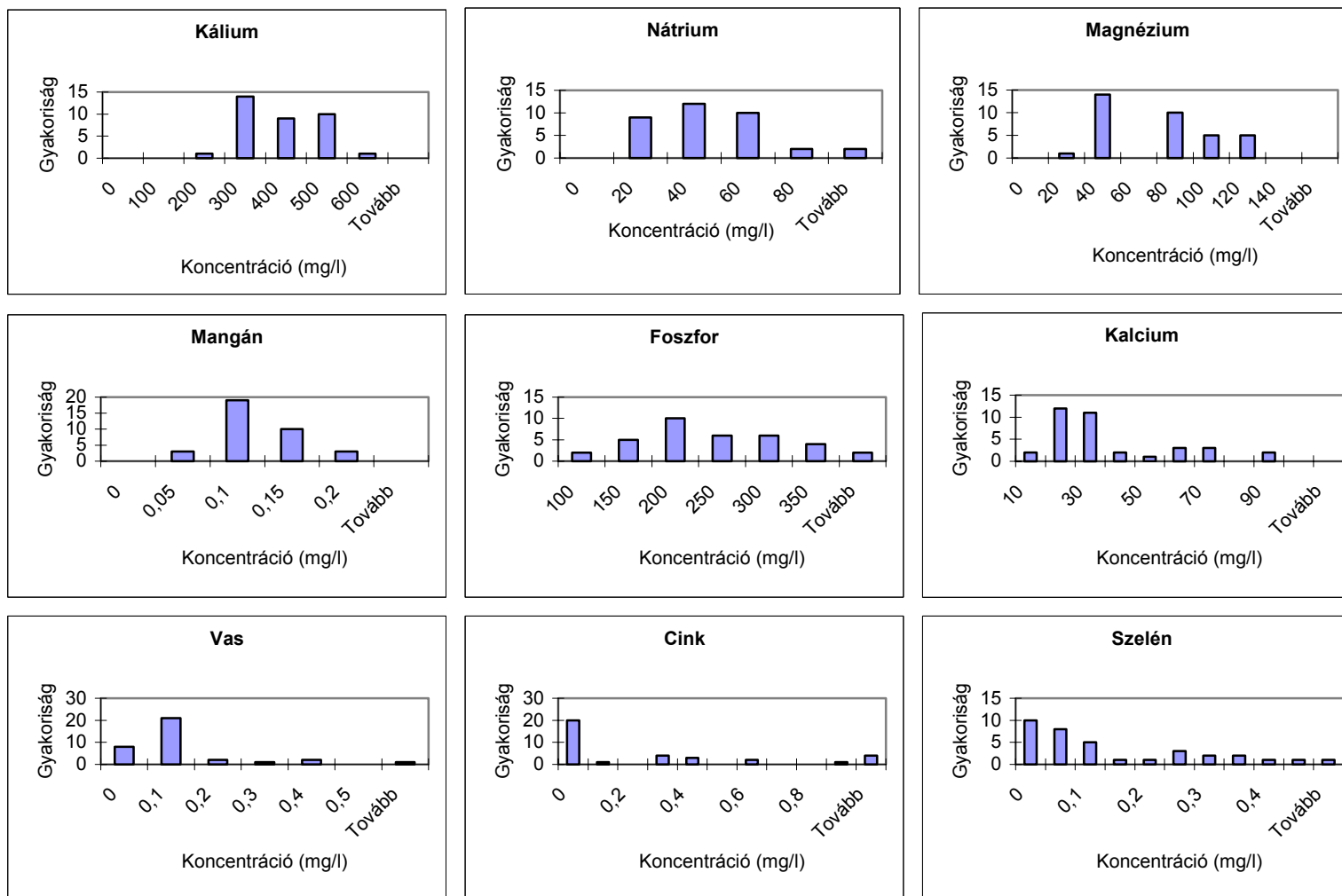
\* egymás alatt elhelyezkedő csillagok esetében nincs szignifikáns differencia a két átlagérték között 95 %-os valószínűségi szinten

**III. táblázat Sörfajták ásványi anyag koncentrációi átlagának statisztikai elemzése (a megállapítások 0,05 szignifikancia szinten 95 %-os valószínűséggel igazak)**

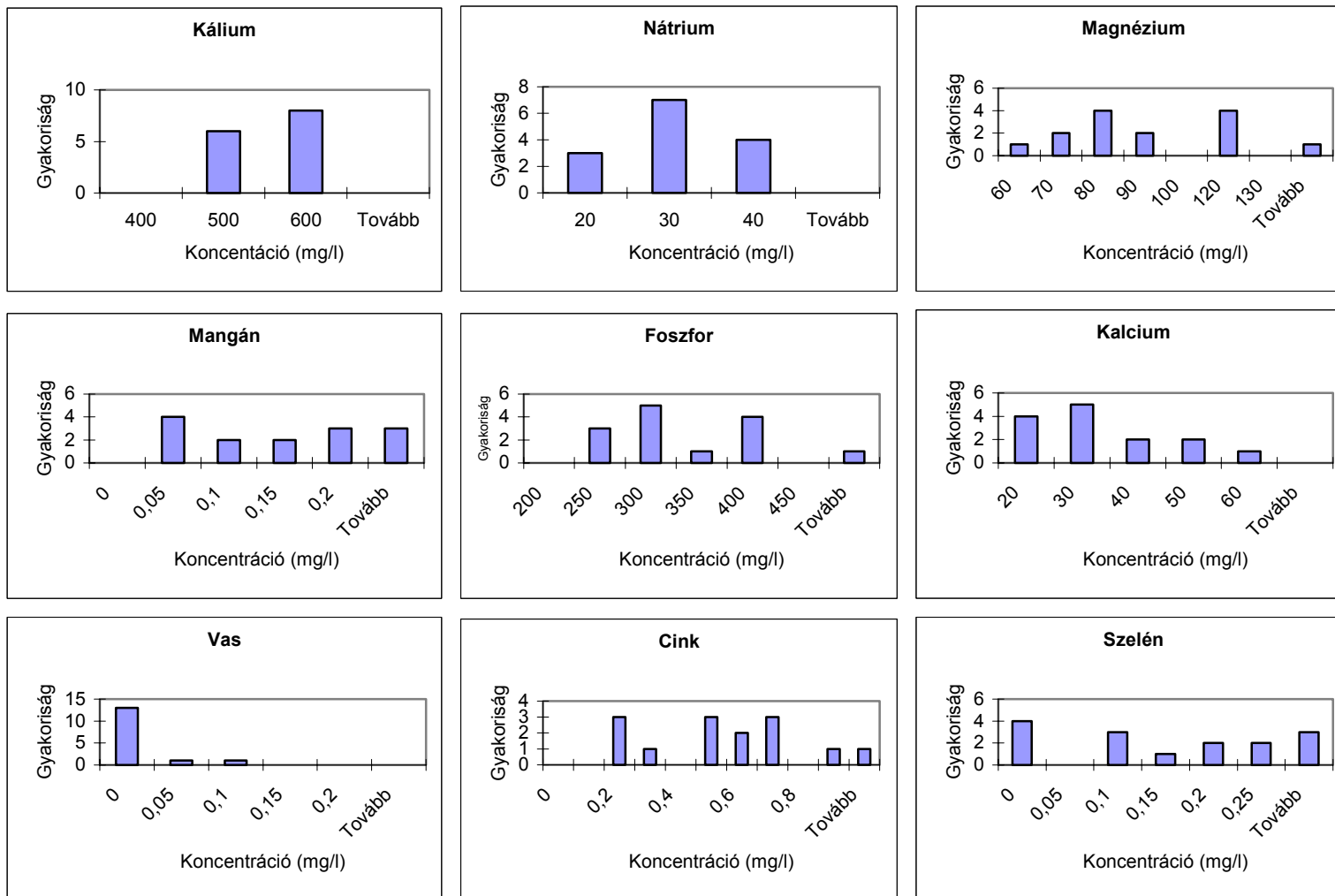




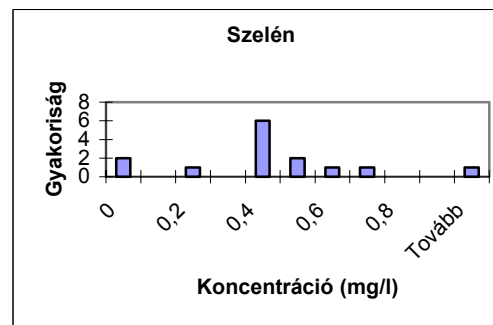
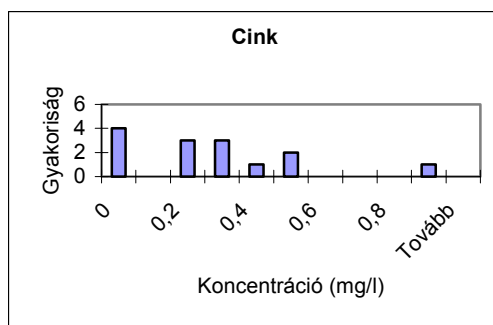
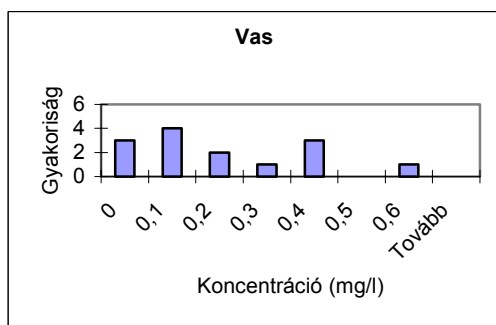
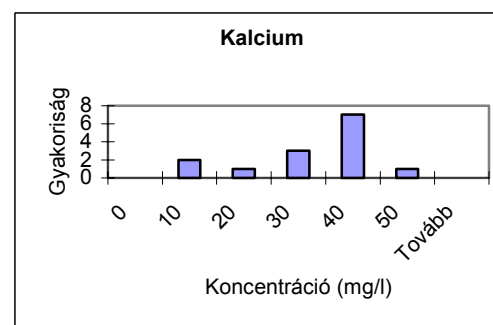
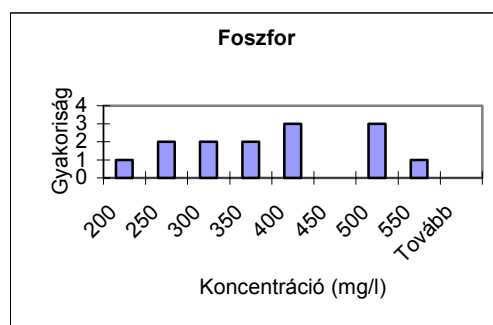
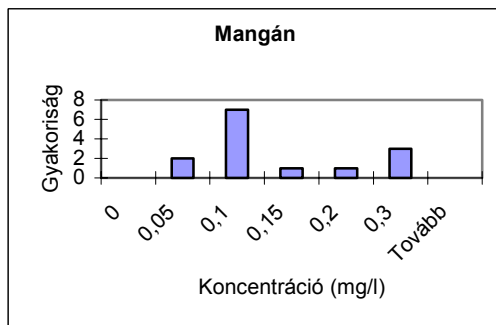
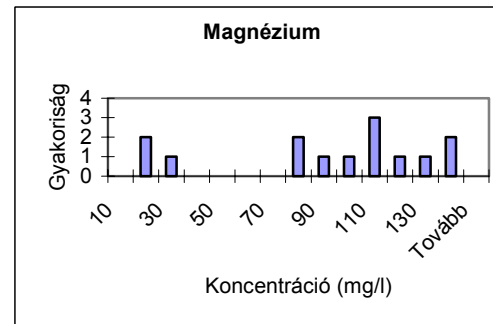
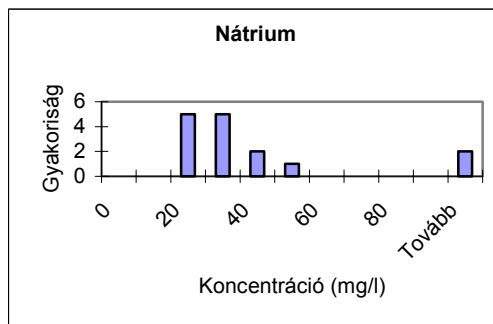
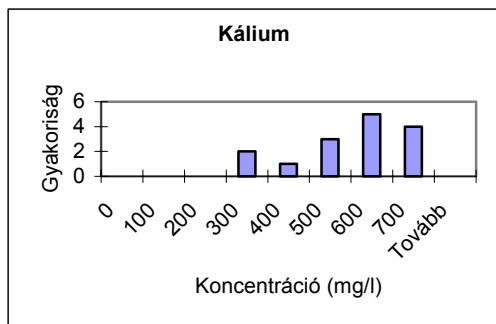
I. ábra Populár sörökben előforduló elemek gyakorisága



II. ábra Prémium sörökben előforduló elemek gyakorisága



III. ábra Maláta sörökben előforduló elemek gyakorisága



IV. ábra Barna sörökben előforduló elemek gyakorisága

**IV. táblázat A szűrési segédanyagokból desztillált vízzel oldódó ásványi anyagok koncentrációja (mg/l)**

Elem	Extrakciós hőmérséklet	„A” kovaföld	„B” kovaföld	„C” kovaföld	„A” perlit	„B” perlit
Al	5°C	0,017	0	0	0,230	0,272
	25°C	0,074	0	0	0,552	0,322
	80°C	0,147	0,36	0,108	0,383	0,365
Ca	5°C	0,053	0	0,999	0,483	0,700
	25°C	0,030	0,198	0,035	0	0
	80°C	0,146	0,159	0,362	0,043	0,251
Fe	5°C	0,014	0,026	0,032	0,038	0,047
	25°C	0,025	0,024	0,024	0,059	0,030
	80°C	0,024	0,013	0,016	0,045	0,035
K	5°C	0,223	0	0,215	0,307	0,284
	25°C	0,156	0	0,126	0,215	0,224
	80°C	0,405	0,166	0,400	0,385	0,308
Mg	5°C	0	0	0,039	0,139	0,034
	25°C	0,060	0,033	0,013	0,023	0
	80°C	0,084	0,052	0,117	0,011	0
Mn	5°C	0	0	0,002	0,002	0,002
	25°C	0	0	0	0,001	0,001
	80°C	0	0	0	0	0
Na	5°C	0	5,65	0	1,74	1,78
	25°C	1,35	6,0	0	1,79	2,15
	80°C	1,25	8,93	1,28	3,86	3,17
Si	5°C	2,42	1,88	2,47	1,30	1,50
	25°C	3,88	3,68	2,46	3,0	1,90
	80°C	25,0	29,0	17,3	4,50	5,0

Alumínium		Kalcium		Vas		Kálium		Magnézium		Mangán		Nátrium		Szilícium	
Szűrési segédanyag		Szűrési segédanyag		Szűrési segédanyag		Szűrési segédanyag		Szűrési segédanyag		Szűrési segédanyag		Szűrési segédanyag		Szűrési segédanyag	
A kovaföld	x	A kovaföld	x	A kovaföld	x	A kovaföld	x	A kovaföld	x	A kovaföld	x	A kovaföld	x x	A kovaföld	x
B kovaföld	x	B kovaföld	x	B kovaföld	x	B kovaföld	x	B kovaföld	x x	B kovaföld	x	B kovaföld	x	B kovaföld	x
C kovaföld	x	C kovaföld	x	C kovaföld	x	C kovaföld	x	C kovaföld	x	C kovaföld	x	C kovaföld	x	C kovaföld	x
A perlit	x	A perlit	x	A perlit	x	A perlit	x	A perlit	x	A perlit	x	A perlit	x	A perlit	x
B perlit	x	B perlit	x	B perlit	x	B perlit	x	B perlit	x	B perlit	x	B perlit	x	B perlit	x
Extrakciós hőfok (°C)		Extrakciós hőfok (°C)		Extrakciós hőfok (°C)		Extrakciós hőfok (°C)		Extrakciós hőfok (°C)		Extrakciós hőfok (°C)		Extrakciós hőfok (°C)		Extrakciós hőfok (°C)	
5	x	5	x	5	x x	5	x	5	x	5	x	5	x	5	x
25	x	25	x	25	x	25	x	25	x	25	x	25	x	25	x
80	x	80	x	80	x	80	x	80	x	80	x	80	x	80	x

\* a táblázatban egymás alatt elhelyezkedő csillagok azonosságot, az eltérőek szignifikáns differenciát jelentenek az egyes csoportok között

**V. táblázat A szűrési segédanyagból különböző hőmérsékleteken desztillált vízzel kioldható elemek (a megállapítások 0,05 szignifikancia szinten 95 %-os valószínűséggel igazak)**

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni mindazoknak, akik munkámat segítették, tanácsaikkal, tapasztalataikkal, türelmükkel lehetővé tették, hogy a dolgozatom elkészüljön.

Szeretnék külön köszönetet mondani

Témavezetőmnek, Dr. Hoschke Ágoston egyetemi tanárnak,

A Sör- és Szeszipari Tanszék munkatársainak,

Kiss Zsuzsanna, Bohn Sándorné és Farkas Gabriella kolléganőimnek

Dr. Fodor Péter egyetemi tanárnak

Bertényiné Divinyi Zsuzsanna és Fekete Zsuzsanna kolléganőimnek,

Johanna Bachmannak és Johannes Bachmannak a TUM Weihenstephani Söripari Fakultásán

Dr. Magyar Ildikónak és Dr. Kókai Zoltánnak

Végzős hallgatóimnak,

Horváth Éva, Horváth Ibolya, Czaha Gábor, Vizi Balázs, Képiró Anita, Kapás László, Buszlai Csilla, Kenderesi Kornél, Pacsnik

Ferenc, Fekete-Szabó György, Jenei Tamás, Bunyeváczt Róbert

Családomnak, Édesanyámnak, Férjemnek, Fiamnak

Édesapámnak, néhai Dr. Vecseri Zsigmondnak

valamint a Dreher Sörgyár Rt. és az Amstel Sörgyár Rt. munkatársainak