

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne masteroppgaven ble utført ved Ringnes Bryggeri på Gjelleråsen i perioden januar til mai 2012, som en avsluttende del av mastergraden Matvitenskap, ved Universitet for miljø- og biovitenskap, Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap (IKBM).

Tema for oppgaven kommer som et resultat av Tore Hages entusiastiske og inspirerende engasjement i sin rolle som utviklingssjef ved bryggeriet. Oppgaven er med på å vurdere muligheten for eventuell overgang til andre humleprodukter ved Ringnes AS.

Tore Hage har også vært min veileder ved Ringnes AS. En spesiell stor takk rettes til han for god faglig veiledning, støtte, inspirasjon og ikke minst for hans tilgjengelighet da jeg hadde spørsmål i oppgaveperioden. Den faglige og menneskelige kompetansen han besitter har bidratt sterkt til at jeg nå kan presentere en oppgave jeg er godt fornøyd med. Tusen takk!

En stor takk går også til alle ansatte ved Ringnes som har vært viktige bidragsytere til oppgaven; laboratoriet for hjelp med analyser, det sensoriske panelet, Line K. Olaussen for hjelp til utførelsen av de sensoriske analysene, Kari Wold for faglig innspill og skyss til og fra Ringnes, Erik Bråthen, Martin Linnestad og Christian Ødegård for god hjelp og villig samarbeid i de praktiske bryggforsøkene, og selvfølgelig, alle bryggerioperatørene som har gjort forsøkene mulig.

Jeg vil i tillegg takke min hovedveileder Trude Wicklund for omtanke og gode råd.

Avslutningsvis vil jeg takke min fremtidige samboer, Petter V. Andersen for hans tålmodighet, hjelp og støtte under oppgaveperioden.

Masteroppgaven har vært enormt lærerik og interessant, og jeg håper Ringnes AS også har hatt nytte av den.

Cecilia Midtsund Kippe

Ås, 30.5.12

Sammendrag

Humle er først og fremst viktig for smaksopplevelsen som kjennetegner øl, hvorav bitterheten er av spesiell betydning. Det er α -syrene i humle, som etter omdanning til vannløselige iso- α -syrer gir ølet bittersmak. Hvor mye av α -syrene som omdannes til iso- α -syrer og som blir med i det ferdige ølet, det vil si utbyttet av bitterkomponentene, er i stor grad avhengig av humleproduktet som tilsettes. En stor del av humleplantene som dyrkes blir i dag foredlet til ulike humleprodukter, som pellets, ekstrakter og isomeriserte produkter. Ringnes Pils, som denne oppgaven omhandler, brygges i dag med pellets Type 90, et humleprodukt som gir et relativt lavt ubytte av bitterkomponentene.

Det er for tiden stort fokus på produksjonskostnader og ølpriser innen bryggeriindustrien. Ringnes Pils er et øl som brygges i store kvanta ved Ringnes Bryggeri. En liten reduksjon i humlekostnadene for hvert produserte brygg vil derfor bety store totale kostnadsbesparelser for bryggeriet. I denne masteroppgaven tar jeg for meg de mulige fordelene ved å endre humleprodukt, og problemstillingen lyder som følger:

Hvilket humleprodukt er mest fordelaktig å bruke ved bryggeriet, med hensyn til produksjonsteknikk, produktkvalitet og økonomi?

For å undersøke dette ble Ringnes Pils brygget i storskala med tre ulike humleprodukter; IKE/pellets Type 90 (50/50 iso- α -syrebidrag, tilsvarende 43/57 iso- α -syrer/ α -syrer), CO₂-ekstrakt, og ren pellets. De økonomiske forutsetningene ble sammenlignet ved å analysere og beregne utbyttet av bitterkomponentene, og ut fra dette de reelle prisene på humleproduktene. Analysene av bitterkomponentene ble utført ved hjelp av spektrofotometri og High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Kvaliteten til hvert brygg, med hensyn til humleprodukt, ble sammenlignet ved hjelp av sensoriske analyser. I tillegg ble nødvendige prosessstekniske installasjoner og forutsetninger for eventuell humleproduktendring vurdert.

Resultatene viser at det er mulig å produsere Ringnes Pils av høy kvalitet med humleproduktkombinasjonen 50/50 IKE/pellets. Kjemiske analyser viser også at det er IKE/pellets som gir best utbytte av bitterkomponentene, og at det er dette humleproduktet som er mest fordelaktige økonomisk. Det kan være nødvendig å implementere en inndoseringsenhet for IKE i prosessen, men IKE/pellets likevel vil redusere kostnadene ved produksjonen av Ringnes Pils. I følge økonomiske beregninger utgjør en overgang til IKE/pellets et verdipotensial på cirka 470 000 NOK per år for Ringnes Pils.

Abstract

Hops have a unique effect on the flavour in beer, of which bitterness is of special importance. The α -acids present in hops are precursors of beer bitterness since they are converted into iso- α -acids – the water soluble bitter tasting components. The utilisation of hop acids is much affected by the type of hop product used. Today a substantial part of the hop crop is processed into different hop products, like pellets, extracts and isomerised products. Ringnes Pils, which this paper deals with, is normally hopped with Pellets Type 90, a hop product that provides a relatively low yield of bitter components.

There is currently a strong focus on lowering production costs and beer prices within the brewery industry. Ringnes Pils is a beer brewed in large volumes at Ringnes AS. A small reduction in hop material costs for each brew will therefore result in large overall cost savings for the brewery. In this master thesis I discuss the potential benefits of changing the hop product, and the objective of the research is as follows:

Which hop product is most favourable to use at the brewery, with respect to manufacturing technique, product quality and economy?

Ringnes Pils was brewed in large-scale with three different hop products; IKE/pellets Type 90 (50/50 iso- α -acid contribution, corresponding 43/57 iso- α -acids/ α -acids), CO₂-extract, and pellets Type 90. The economic aspects were compared by analysing and calculating the yield of the bitter components, and on this basis the effective prices of the hop products. The analyses of bitter components were performed using spectrophotometry and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The quality of each brew, with respect to the hop products were compared using sensory analysis. Additionally, necessary process technical installations and other requirements for a potentially change in hop product were considered.

According to the results, it is possible to produce Ringnes Pils of high quality by using the hop product combination IKE/pellets. Chemical analyses also show that IKE/pellets provide the best yield of bitter components, and that this combination is most advantageous with regard to the economy. It may be necessary to implement a dosing unit in the production process, but IKE/pellets will still reduce the cost of production of Ringnes Pils. According to financial calculations a swap from pellets to IKE/pellets represent a potential value of approximately 470 000 NOK (62000 €) per year for Ringnes Pils.

Innhold

Forord	1
Sammendrag	1
Abstract	1
1 Generell introduksjon og formålet med oppgaven	1
1.1 Generell introduksjon	1
1.2 Formålet med oppgaven	1
2 Teoridel	2
2.1 Ølbrygging	2
2.1.1 Malt og malting	2
2.1.2 Mesking	3
2.1.3 Vørterkoking	4
2.1.4 Gjær og gjæring	5
2.1.5 Modning	7
2.1.6 Kuldestabilisering	7
2.1.7 Filtrering	7
2.1.8 Stabilisering	7
2.1.9 Nedbrygging	8
2.1.10 Pasteurisering og tapping	8
2.1.11 Vann	8
2.2 Humle	9
2.2.1 Historie	9
2.2.2 Helse, farmasi	10
2.2.3 Humlebotanikk	11
2.2.4 Humlekjemi	12
2.2.4.1 Humleresiner	13
2.2.4.2 α -syrer og iso- α -syrer	14

2.2.4.3 β -syrer.....	18
2.2.4.4 Humleoljer.....	19
2.2.4.5 Polyfenoler	20
2.3 Humlesorter.....	21
2.4 Humlens rolle i øl.....	22
2.4.1 Smaksopplevelse – bitterhet, aroma og munnfølelse	23
2.4.2 Bitterhet	24
2.4.3 Aroma.....	27
2.4.4 Smaks- og bitterhetsstabilitet, antioksidierende egenskaper	27
2.4.5 Skum og skumforbedring	28
2.4.6 Antibakteriell aktivitet.....	29
2.5 Utnyttelse av humlekomponentene	29
2.5.1 Generelt om utbyttet av bitterkomponentene	29
2.5.2 Faktorer som påvirker utbyttet	30
2.6 Humleforedling	31
2.7 Humleprodukter	32
2.7.1 Ikke-isomeriserte humleprodukter	33
2.7.1.1 Pellets Type 90	34
2.7.1.2 CO ₂ -ekstrakt	36
2.7.2 Isomeriserte humleprodukter.....	38
2.7.2.1 Isomerisert kjeleekstrakt (PIKE/IKE)	39
2.7.3 Spesielle humleprodukter	42
2.8 Kvalitetskrav ved kjøp av humle.....	42
2.9 Analytiske målinger og sensoriske analyser av ølets bitterhet.....	43
2.9.1 Målemetoder for analyse av ølets bitterhet	43
2.9.2 Sensoriske analyser av ølets bitterhet.....	44
3 Materialer og metoder	45

3.1 Metodeoppsett	45
3.2 Materialer og ingredienser	46
3.2.1 Humleprodukter	46
3.2.2 Utarbeidelse av humleproduktmengde	47
3.3 Analysemetoder.....	50
3.3.1 Analyser benyttet i forsøket	50
3.3.2 Usikkerhet ved de ulike analysemetodene	52
3.3.3 Instrumenter	52
3.3.4 Virkelig ekstrakt-, tilsynelatende ekstrakt-, alkohol- og CO ₂ -innhold.....	53
3.3.4.1 Anton Paar Beer Analyzer (Alcolyzer + DMA4500).....	53
3.3.4.2 Anton Paar CarboQC (CO ₂).....	54
3.4 Analyser av vørter	55
3.4.1 Spesifikk vekt og ekstraktinnhold i vørter	55
3.4.2 Bitterhetsanalyse av vørter	55
3.4.3 pH i vørter	57
3.4.4 Fargemåling på vørter	57
3.5 Analyser av gjærende øl	58
3.5.1 Opprinnelig, virkelig, tilsynelatende ekstraktinnhold og virkelig forgjæringsgrad	58
3.5.2 Alkoholinnhold i øl ved nærinfrarød spektroskopi (NIR).....	58
3.5.3 Bitterhet i øl.....	58
3.5.4 pH i øl.....	59
3.5.5 Måling av celletall med Yeast Cyte®	59
3.5.6 Diacetyl ved GC	60
3.6 Analyser av øl lagret på kuldestabiliseringstank.....	61
3.6.1 Tilsynelatende ekstrakt, alkohol, pH og bitterhet.....	61
3.6.2 Fargemåling	61

3.7	Analysér av ferdig øl	61
3.7.1	Alkohol, bitterhet, pH og farge	61
3.7.2	CO ₂ -innhold	61
3.7.3	Skumstabilitet i øl, ved bruk av NIBEM-T Meter	62
3.7.4	Kvantifisering av bitterenheter ved HPLC	62
3.8	Sensoriske analysér	64
3.8.1	Test av ferdigvarenes sensoriske preferanser	64
3.8.2	Triangeltest (forskjellstest)	65
4	Resultater	67
4.1	Bryggenes gjæringsforløp	67
4.2	Analysér på kuldestabiliseringstank	69
4.3	Analysér av ferdigvarer	72
4.4	Sensoriske analysér	78
4.5	Kostnader humleprodukter	83
5	Diskusjon	87
5.1	Kaldvørter	88
5.1.1	BU i kaldvørter	89
5.2	Bryggene under gjæring	90
5.2.1	BU under gjæring	90
5.3	Bryggene på kuldestabiliseringstank	92
5.3.1	BU i bryggene på kuldestabiliseringstank	92
5.4	Ferdigvarer	92
5.4.1	BU i ferdigvarer	93
5.4.1.1	BU i ferdigvarer, analysert spektrofotometrisk	93
5.4.1.2	BU i ferdigvarer, analysert ved HPLC	94
5.4.1.3	BU i ferdigvarer, spektrofotometrisk metode versus HPLC-metoden	97
5.5	Sensorikk	98

5.6	Kvalitet	101
5.7	Teknologiske aspekter	102
5.8	Økonomi	103
5.9	Konklusjon	104
6	Litteraturliste	106
7	Vedlegg	
	Vedlegg 1 Resultater fra analysene av vørter, og øl under gjæring	
	Vedlegg 2 Resultater fra analysene på kuldestabiliseringstank	
	Vedlegg 3 Resultater fra ferdigvareanalysene.....	
	Vedlegg 4 Resultater fra HPLC-analysen	
	Vedlegg 5 Test av sensoriske preferanser (skjema)	
	Vedlegg 6 Resultater fra test av sensoriske preferanser	
	Vedlegg 7 Triangeltest (skjema og tabell)	

1 Generell introduksjon og formålet med oppgaven

1.1 Generell introduksjon

Kunnskap og teknikk for ølbrygging er under stadig utvikling. De ulike prosessstrinnene byr på uendelige variasjonsmuligheter, fra begynnelse til slutt. Smaken er naturligvis en svært viktig egenskap for ølet, og uansett ølbryggingsteknikk er humle helt essensielt for å oppnå smaken, aromaen og munnfølelsen som kjennetegner øl. Humleplanter blir dyrket som landbruksvare i ulike deler av verden, og benyttes i all hovedsak til ølproduksjon (Benitez et al., 1997). En stor andel av humleplantene foredles i dag til ulike humleprodukter. Kunnskap om produktenes egenskaper kan være nyttig for å øke kvaliteten på det ferdige ølet. Samtidig vil riktig valg av humleprodukt kunne redusere produksjons- og lagringskostnader, og forbedre produksjonsteknikken i bryggeriet.

1.2 Formålet med oppgaven

Ringnes Bryggeri ønsker å satse på humleprodukter med størst mulige produksjonstekniske, kvalitetsmessige og økonomiske fordeler. Det finnes en rekke ulike produkter på markedet, med forskjellige egenskaper. Dette ga grunnlaget for hovedproblemstillingen i oppgaven:

Hvilket humleprodukt er mest fordelaktig å bruke ved bryggeriet, med hensyn til produksjonsteknikk, produktkvalitet og økonomi?

I denne oppgaven ble humlepellets, karbondioksidekstrakt (CO₂-ekstrakt) og isomerisert kjeleekstrakt (IKE) sammenlignet. Utbyttet i forhold til teknologi og økonomi, og analytiske målinger av smakskomponenter ble vurdert. Den sensoriske profilen fra de ulike produktene ble vurdert av bryggeriets sensoriske panel. Målet var å kunne gi bryggeriet nødvendig bakgrunn for å velge det best egnede humleproduktet, og kunne utnytte produkttypen på best mulig måte.

I forbindelse med problemstillingen i oppgaven ble det satt følgende hypoteser:

hypotese 1: Det er ikke mulig å identifisere sensoriske forskjeller mellom øl tilsatt humleproduktene IKE/pellets, ren pellets og CO₂-ekstrakt, og

hypotese 2: Av humleprodukttilsetningene IKE/pellets, ren pellets og CO₂-ekstrakt, er det IKE/pellets det som gir det høyeste utbyttet.

2 Teoridel

2.1 Ølbrygging

Øl brygges på de tre hovedingrediensene malt, humle og vann. Bryggingen omfatter tre påfølgende biokjemiske prosesser; dannelsen av enzymer i spirende korn, enzymenes nedbrytning av stivelse til sukker, og den resulterende gjæringen av sukker til alkohol og karbondioksid (CO₂). På tross av de få ingrediensene i øl, er variasjonene og kombinasjonene av disse uttalige (Kunze, 2004).

Ølbryggingen kan deles inn i 7 ulike hovedprosesser; malting, mesking, vørterkoking, gjæring, modning/lagring, filtrering og pasteurisering/tapping. I tillegg til kvaliteten på råmaterialene, vil også de ulike prosessene under bryggingen ha en avgjørende innvirkning på det ferdige ølet (Kunze, 2004). Videre følger en kort gjennomgang av de viktigste prosessene som utføres ved brygging av øl.

2.1.1 Malt og malting

Hovedråmaterialet ved ølbrygging er malt. Malt fremstilles av ulike typer korn, som bygg, hvete og rug, eller en kombinasjon av en eller flere av disse (Waites et al., 2001). Byggkorn (*Hordeum vulgare*) er den vanligste, og den mest egnede karbohydratkilden ved brygging. Dette skyldes byggkornenes høye stivelsesinnhold, og at skallet forblir festet til kornet, selv under tresking og under prosesseringen til malt. Som følge av dette, kan byggkorn danne et vørterfiltreringslag, som er nyttig ved senere produksjonstrinn (Kunze, 2010).

Før byggkornene kan brukes i ølbryggingen må de gjøres om til malt, i en prosess kalt malting. Under maltingen blir kornene fuktet, delvis spiret under kontrollert temperatur og med tilgang til mye luft, og til slutt tørket. Spireprosessen aktiverer enzymet amylase, som spalter stivelsen til forgjærbare sukkerarter, for at de senere kan gjæres til alkohol. Spiringen aktiverer også enzymene β -glukanaser og xylanaser, som degraderer polysakkaridene i celleveggen, og proteaser som bryter ned proteinmatriksen i endospermen. Stivelseskornene i endospermen kan ikke utnyttes før celleveggen er brutt, og proteinmatriksen, i det minste, er delvis nedbrutt (Waites et al., 2001).

Kornene, som nå kalles grønnmalt, blir tørket for å stanse spiringen og enzymaktiviteten. Tørkemethoden er med på å bestemme mange av maltets, og dermed også det ferdige ølets

egenskaper, som alkoholinnhold, sødme, fylde og farge. Ulikt vanninnhold ved tørkingens start, ulik temperatur, og varigheten på tørkingen, vil kunne gi forskjellige typer malt. Malt som tørkes forsiktig ved lave temperaturer (≤ 80 °C) gir et lyst malt, som vanligvis brukes ved lagerølproduksjon (Paterson, Swanston & Piggott, 2003). Ved temperaturer over 90 °C, og ved langvarig tørking, vil aminosyrene i maltet i større grad binde sukker og danne rødbrune, aromaintensive komponenter ved Maillardreaksjoner. Maillardproduktene som dannes i maltet gir dermed både farge og smak til ølet. Høyere tørketemperaturer brukes derfor til mørke øltyper (Kunze, 2010).

Ringnes Bryggeri importerer malt fra Danmark, Sverige, Finland og Polen. Ved bryggeriets maltmottak blir mesteparten av maltet fordelt på siloer. Før bruk føres maltet fra siloene gjennom en steinutskiller og en magnet, for å fjerne stein og metall. Det benyttes vanligvis en blanding av flere typer malt til et brygg. Til Ringnes Pils brukes vanlig pilsnermalt, som er en lys malttype (tørketemperatur ≤ 80 °C) (Ødegård, 2010a). I tillegg tilsettes det en liten andel fargemalt for å justere fargen på ølet (T. Hage, personlig kommunikasjon, 17. april 2012). Maltblandingen transporteres videre til en mølle der det fuktes med varmt vann, før det knuses. Fuktigheten gjør at kornskallene blir smidigere, og at de i større grad beholdes hele under knusing. Dette vil igjen medføre bedre avsiling. Etter knusingen blir det tilsatt mer vann, før blandingen pumpes til meskekaret (Ødegård, 2010a).

2.1.2 Mesking

Maltet bidrar vanligvis med tilstrekkelige mengder av forgjærbart sukker, aminosyrer, vitaminer og enzymer, som kreves for å kunne fungere som et velbalansert næringsmedium for gjæren. Disse komponentene må ekstraheres inn i en løsning, gjennom en prosess kalt mesking (Waites et al., 2001).

I meskekaret blir malt og varmt vann blandet sammen for å ekstrahere det forgjærbare sukkeret fra malten. Den delen av stivelsen som ikke er forgjærbar, omdannes under meskingen av maltets stivelsesspaltende enzymer, amylasene, til forgjærbare sukkerarter og dekstriner. Meskingstemperaturen bestemmes ut fra ønsket enzymaktivitet. Temperaturer nær optimaltemperatur for amylasene (70-73 °C for α -amylase, og 62-65 °C for β -amylase) medfører høyere spaltningsgrad, mer forgjærbart sukker til gjæren, og dermed høyere alkoholproduksjon (Kunze, 2010).

Når meskingen er fullført, pumpes mesken over til silkaret, der de uoppløste partiklene, hovedsakelig skall fra korn og utfelte proteiner, siles bort (Ødegård, 2010a). Den avsilte væsken blir nå kalt vørter.

2.1.3 Vørterkoking

Vørteren kokes i en vørterkjele i 50-60 minutter. Humle, ølets ”krydder”, tilsettes én, eller flere ganger under kokingen. Det kan tilsettes hele humlekongler, humlepellets, flytende ekstrakter, av forskjellige humlesorter, eller en kombinasjon av de forskjellige produktene. Under kokingen vil løselige humlekomponenter løses opp, og omdannes til komponenter som bidrar med bitterhet og aroma til ølet. Kvaliteten på ølet er i stor grad avhenging av humlekvaliteten. Videre vil ulike humlesorter- og produkter, og i tillegg tidspunktet for tilsetning, gi ølet ulik smak og aroma. Desto tidligere i kokingen humle tilsettes, desto bitrere blir det ferdige ølet. Tilsettes humle sent får ølet mer aroma (Jackson, 1991).

Foruten humleekstrahering, skjer det en rekke andre viktige prosesser under vørterkokingen. Alle enzymene (amylaser, proteaser, β -glukanaser) inaktiveres, vann fordampes til vørteren oppnår riktig ekstraktkonsentrasjon, vørteren steriliseres og pH reduseres. Videre vil varmebehandlingen føre til at proteinene i vørteren koagulerer, noe som er av stor betydning for ølets fysiske stabilitet. Ved utilstrekkelig proteinkoagulering kan ølet bli uklart under lagring. I tillegg til vannfordamping, vil vørterkokingen også fordampe bort enkelte uønskede smaks- og aromakomponenter, for eksempel dimetylsulfid (DMS) dannet fra maltet og myrcen fra humle. Samtidig bidrar varmeprosessen til utvikling av smakskomponenter og farge, gjennom dannelsen av melanoidiner fra Maillardreaksjoner, og oksidering av fenolkomponenter. Lengre tids koking vil gi en mørkere farge på ølet (Waites et al., 2001).

Ringnes Bryggeri benytter en bryggemetode kalt High Gravity Brewing (HGB). Metoden går ut på at vørteren brygges ved høyere ekstraktinnhold (sukkerinnhold), vanligvis 14-16 °Plato, enn ved tradisjonell brygging (cirka 10-12 °Plato). Ølet blir senere fortynnet med nedbryggingsvann til ønsket ekstraktinnhold. Den største fordelen med nedbrygging er de store energi- og kostnadsbesparelsene, ved at bryggeriet unngår å varme opp unødvendige mengder vann. Mindre volum i prosessen før fortynningen er dessuten plassbesparende, og kan være med på å øke produktiviteten i bryggeriet. Vørteren kan fortynnes til ønsket ekstraktinnhold før gjæring, men for å oppnå maksimale volumfordeler, både i brygghus og i

gjæringstank, blir fortynningen vanligvis utført på ølet etter filtrering (Kunze, 2010).

Fortynning etter filtrering praktiseres ved Ringnes Bryggeri.

Til vørterkoking er det behov for store mengder energi. Som følge av kravet om å redusere energiforbruket, har det i løpet av de siste årene skjedd en stor og viktig utvikling innenfor vørterkokingsteknologien. Det er utviklet prosessmetoder og tekniske løsninger for spesifikt å redusere energibehovet, uten at det har gått utover ølets kvalitet (Bühler et al., 2003). Ved vanlig konvensjonell vørterkoking blir vørterdelen av mesken overført til vørterkjelen ved ca. 72-74 °C, og varmet opp der. Ringnes Bryggeri har tatt i bruk dynamisk vørterkoking under svakt overtrykk, en metode som medfører en betydelig reduksjon i både koketid og fordampningsgrad (Bühler et al., 2003), og dermed også redusert energiforbruk. Ved dynamisk koking under svakt overtrykk skjer det en kontinuerlig veksling mellom oppbygning og frigjøring av trykk. Som et resultat av hyppig trykkfrigjøring og den medførende ekspansjonen, får de flyktige komponentene, som for eksempel fritt DMS, muligheten til å unnslippe. Prosessen begynner vanligvis med en forkokingsfase ved normalt trykk, ved 100 °C. Denne temperaturen er spesielt gunstig for proteinkoagulering og omdanning av humlekomponentene. Videre økes både trykk og temperatur. I neste fase, kalt frigjøringsfasen, reduseres trykk og temperatur igjen. For å akselerere frigjøringen av trykket, blir dampventilen lukket, og vannsirkulasjonskontrollen i energioppbevaringsenheten økt til full kapasitet. Etterfulgt av trykkreduksjonen, blir dampventilen åpnet igjen, og prosessen gjentas. Det kan gjennomføres opptil seks slike trykkoppbygnings- og frigjøringsintervaller etter hverandre. De hyppige frigjøringsfasene medfører en kraftig kokebevegelse, ettersom gassbobler dannes i vørteren og stiger med høy fart. Dette sørger for en vesentlig mer intensiv og omfattende fordampning av flyktige substanser i vørteren. Ved slutten av kokeprosessen, blir trykket frigjort, før det gjennomføres en atmosfærisk koking av vørteren, ved normalt trykk og temperatur (100 °C), og med åpen dampventil (Kunze, 2004).

2.1.4 Gjær og gjæring

Før gjærvedsetting må vørteren klares for partikler. Dette foregår i en whirlpool, der humle- og maltrester setter seg i senter av bunnen. Den resterende vørteren kjøles ved bruk av en platekjøler, før den luftes med steril luft. Hensikten med luftingen er å sørge for at gjærcellene som vedsettes kan dele seg. Oksygen er nødvendig for syntesen av umettede fettsyrer, som er hovedkomponentene i cellemembranen til gjærceller (Ødegård, 2010a).

For å omdanne vørteren til øl, må forgjærbart sukker i vørteren fermenteres av enzymer i gjærcellene, til etanol og karbondioksid. Under gjæringen vil det i tillegg dannes gjæringsbiprodukter, som diacetyl, høyere alkoholer, estere, aldehyder og svovelkomponenter. Noen av disse vil reagere med hverandre, mens andre endrer sammensetning, eller brytes ned igjen. Sammen med humlekomponentene, har gjæringsbiproduktene en betydelig effekt på smaken, aromaen og andre karakteristiske egenskaper i ølet (Kunze, 2010).

Gjæringsbiproduktet diacetyl (2,3-butandion) er en smakskomponent som oppstår tidlig under gjæringen. Gjærcellene produserer ikke diacetyl selv, men skiller ut forløperne til diacetyl, 2-acetolaktat, under syntesen av aminosyrer. 2-acetolaktat gir opphav til diacetyl ved oksidativ dekarboksylering, utenfor, og uavhengig av gjærcellene. Ved høye konsentrasjoner gir diacetyl en smøraktig aroma, noe som er svært uønsket i øl. Diacetyl må derfor fjernes. Fjerningen utføres av gjærcellene, ved at de reduserer diacetyl til acetoin, som videre reduseres til 2,3-butandiol. 2,3-butandiol har en veldig høy smaks- og luktterskel, og mengden som dannes vil uansett ikke kunne oppleves i ølet (Kunze, 2010).

Ølets pH reduseres fra cirka 5,0 – 5,4 ved gjærvedsetting til 4,2 – 4,6 i det ferdiggjærede ølet. Dette skyldes produksjonen av karbondioksid og organiske syrer, blant annet eddiksyre, under gjæringen. I tillegg til dette vil pH reduseres som følge av gjærens forbruk av fosfationer, opptak av ammoniumioner og kaliumioner (det vil si at buffere fjernes), med tilhørende frigjøring av hydrogenioner i ølet (Kunze, 2010).

Både gjærtype og gjæringsmetode har stor innvirkning på sluttresultatet. Temperaturen og varigheten på gjæringen kan varieres etter hvilken øltype som skal brygges. Gjæringen kan utføres ved tre ulike metoder; overgjæring, undergjæring, eller spontangjæring. Hver metode gir særpreg til ølet, og enkelte bryggerier kombinerer også disse metodene (Mortensen & Johnsen, 2009). Ved overgjæring benyttes overgjæren *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*), og ved undergjæring benyttes undergjæren *Saccharomyces carlsbergensis* (syn. *S. pastorianus*) (Kunze, 2010). Dersom ølet spontangjæres tilsettes det ikke gjær, men gjæringen skjer ved at brygget eksponeres for villgjær, for eksempel *Brettanomyces*, fra luften i lokalet. Et eksempel på et spontangjæret øl er en svært særegen øl fra Belgia, kalt Lambic (Jackson, 1991).

Ved Ringnes Bryggeri gjæres ølet ved undergjæring. Det vedsettes gjær til 10-15 millioner celler per ml kaldvørter, og gjæringen foregår ved 10-15 °C (Ødegård, 2010b).

2.1.5 Modning

Etter gjæringen kjøles ølet ned til modning. Under modningen gjæres det gjenværende sukkeret, og ølet blir mettet med karbondioksid (Paterson, Swanston & Piggott, 2003). I tillegg vil de resterende gjærcellene fortsette reduksjonen av diacetyl. Innholdet av diacetyl regnes som en indikator på når ølet er modent. Diacetyl har en smaksterskelverdi på omtrent 0,1 mg/l, og ferdig modnet øl skal inneholde mindre enn dette (Kunze, 2010).

Når nivået av diacetyl er på et akseptabelt nivå, blir ølet slanget for å fjerne svevende gjær. Dette gjøres ved hjelp av sentrifugalkraften i en sentrifuge, som separerer gjæren, og utfelte proteiner og polyfenoler fra ølet (Ødegård, 2010b).

2.1.6 Kuldestabilisering

Før filtrering blir ølet lagret på sylindrokronisk tank under trykk, ved $\leq -1,5$ °C, da det ved denne temperaturen vil felles ut partikler av gjær og protein-/polyfenolforbindelser, som samles i bunnen av tanken (Ødegård, 2010b).

2.1.7 Filtrering

Etter kuldestabilisering, vil ølet fortsatt inneholde opptil én million gjærceller og andre partikler per ml. For å unngå uklarhet og bunnfall i ølet, må disse partiklene filtreres bort. Dette gjøres ved å pumpe ølet gjennom et filtermedium (Kunze, 2010). Filtreringen må skje ved temperaturer under $-1,5$ °C. Høyere temperaturer kan føre til at utfelte protein-/polyfenolforbindelser løses opp igjen, og medføre uklarhet, såkalt haze, i det ferdige ølet (Ødegård, 2010b). Ved Ringnes Bryggeri benyttes kiselgur som filtermedium. Kiselgur er en slags høyporøs jord, dannet av avleiret skall fra kiselalger. Det er den høye porøsiteten som gjør kiselgur til et svært egnet filtermedium (Kunze, 2010).

I forbindelse med filtreringen, kan det blandes inn ulike tilsetningsstoffer for å forbedre ølets holdbarhet, smak, aroma, eller farge. For eksempel kan isomerisert humleekstrakt tilsettes for å oppjustere bitterheten i ølet (Ødegård, 2010b).

2.1.8 Stabilisering

Resterende proteiner og polyfenoler kan felle ut over tid, og dermed redusere holdbarheten i det ferdige ølet. For å forbedre den kolloidale stabiliteten, er det viktig at ølet stabiliseres.

Ringnes Bryggeri tilsetter stabiliseringsstoffene polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) og silicagel (Ødegård, 2010b). PVPP hindrer utfelling av polyfenoler, mens silicagel hindrer utfelling av proteiner. PVPP adsorberer polyfenolene via ulike bindingsmekanismer, blant annet hydrogenbindinger, og polare og hydrofobiske reaksjoner, mens silicagel virker selektivt på proteiner ved å adsorbere proteinene via hydrogenbindinger (Rehmanji, Gopal & Mola, 2005).

2.1.9 Nedbrygging

Ved Ringes Bryggeri nedbrygges ølet med nedbryggingsvann etter filtrering. Fortynningsvannet har stor betydning for ølets videre kvalitet. Vannet må for eksempel inneholde så lite oksygen som mulig. For å avgasse vannet blir det karbonisert ved at kullsyre bobles gjennom vannet (Kunze, 2010).

2.1.10 Pasteurisering og tapping

Ettersom ølet må holde seg i perfekt tilstand frem til holdbarhetsdato, må alle mikrobiologiske kontaminanter som har kommet seg inn i ølet fjernes, eller uskadeliggjøres. Dette gjøres ved å varme opp ølet ved pasteurisering. Metoden går ut på å varme opp et produkt til en gitt temperatur og tid, tilstrekkelig for å drepe mikroorganismer. For øl gjelder pasteuriseringstemperaturen 60-62 °C i 10-20 minutter for flaske, eller cirka 70 °C i 30 sekunder for platepasteurisering (Kunze, 2004).

Det ferdige ølet tappes over på flasker, bokser eller på fat. Under tappingen må fortsatt alle kvalitetsparametre ivaretas, og enhver tilgang av oksygen fra luften til ølet må forhindres (Kunze, 2004).

2.1.11 Vann

Vann inngår i de fleste bryggeprosessene, inkludert vask, og utgjør omtrent 90 % av innholdet i øl. Vann har derfor stor innvirkning på ølets karakter og kvalitet. For det første må vannet være rent og godt, det må oppfylle drikkevannskvalitet. Mineralinnholdet kan være med på å gi et spesifikt øl dets karakteristiske egenskaper, og enkelte mineraler er viktige for en rask og jevn fermentering (Paterson, Swanston & Piggott, 2003).

Ringnes Bryggeri mottar vann fra Nedre Romerike Vannverk (NRV). Vannet har en jevn kvalitet, stabil pH-verdi på rundt 7,3 (NRV, 2011), og er derfor en god råvannskilde. Før vannet leveres til bryggeriet går det gjennom omfattende renseprosesser i vannverket, og det desinfiseres med UV-lys før det benyttes i bryggeriet (Ødegård, 2010a).

2.2 Humle

I dagens ølbrygging er humle (vist i Figur 2.1) en uunnværlig ingrediens i vørteren. Rollen humle har i ølet begrenser seg ikke bare til humlens funksjon som smakstilsetter ved at ulike humlekomponenter tilfører ølet bittersmak og aroma. Humle er også viktig for holdbarheten, skumegenskapene og smaksstabiliteten i ølet. I tillegg kan komponenter i humle fremme utfelling av vannløselige proteiner (Narziss, 1992).



Figur 2.1.
Humleplante (Michael Hall, 2007).

Som følge av humlens rolle som, først og fremst bitterhetsstoff, vil oppgaven fokusere mest på humlens bitterhetsegenskaper. Først følger en gjennomgang av humlens brukshistorie, antatte helseeffekter, humlebotanikk, og humlens kjemiske sammensetning.

2.2.1 Historie

Humleplanten har vært i bruk av mennesker i lang tid, trolig helt siden tidlig steinalder, men utnyttelsen av humle i ølsammenheng har sannsynligvis ikke foregått like lenge. Det er vanskelig å fastslå akkurat når en begynte å tilsette humle i ølbrygging, men det kan ha vært rundt folkevandringstiden og tidlig middelalder (cirka 400-1100-tallet), som en erstatning for de spesielle krydderene som ble benyttet tidligere (Biendl & Pinzl, 2008).

Rundt år 1160 skrev Hildegard von Bingen avhandlingen ”Physica” (”Naturlære”), som en del av det større verket ”Subtilitatum diversarum naturarum creaturarum” (”Om de naturlige skapningers finhet”). ”Physica” omhandler den helbredende kraften til ulike medisinerplanter, med utgangspunkt fra egen kunnskap, men også ervervet kunnskap fra datidens folkemedisin, som helbredere blant vanlige folk, jordmødre og naturmedisinere. Hildegard hadde i utgangspunktet liten tro på humle som medisinerplante. Hun kunne likevel ikke komme bort fra det faktum at planten hadde en spesiell nytteverdi, som det at humlebitterheten virket konserverende i drikkevarer. Hildegard ga oss dermed det første beviset på hvorfor nettopp

humle ble brukt i ølbrygging; de fungerte som konserveringsmiddel, på grunn av dets antimikrobielle effekt (Biendl & Pinzl, 2008).

Frem til høymiddelalderen (1000-1300-tallet) ble ølet i all hovedsak brygget hjemme, og i likhet med brødbaking og helbredingskunst, var bryggingen husmødrene sin oppgave. Det kan derfor være rimelig å anta at humle har funnet veien inn i ølbryggingen ved at husmødrene kombinerte deres kunnskap om medisinsplanter med ølbryggingsferdigheter (Biendl & Pinzl, 2008).

2.2.2 Helse, farmasi

Hildegard von Bingens humlekunnskap ble vel ivaretatt, og videreutviklet i klostrene. Det sies at humleplanten var svært populær blant munkene på grunn av dets beroligende effekt, som skulle dempe deres seksuallyst. Disse forestillingene førte videre frem til ideen om at humle hadde en nytteverdi innenfor gynekologi. Et brygg laget på humlekongler skulle for eksempel legge til rette for unnfangelse, og fremme menstruasjon hos kvinner (Biendl & Pinzl, 2008).

Humle kan ha vært brukt til medisinske formål over lengre tid. De eldste oppføringene stammer fra en arabisk kulturkilde. Et av dem er et verk fra det åttende århundre, tilskrevet legen Mesuë. Der blir humle beskrevet som et effektivt legemiddel ved gallefeber og ved rensing av blod (Biendl & Pinzl, 2008).

Også mange av urtebøkene skrevet på slutten av 1500- og 1600-tallet omhandlet humle som medisinsplante. I tillegg til gynekologi, ble humlens fordøyelsesfremmende, infeksjonsdempende og vandrivende egenskaper omtalt. Humle skulle også ha en effekt mot tannproblemer, astmatiske lidelser, malarieinfeksjon, hud-, milt- og leverplager. Dette var bare noen av humlens mange medisinske bruksområder (Biendl & Pinzl, 2008).

Tidligere kunnskap om effektene av humle var kun basert på ren erfaring. Med dagens mer presise vitenskapelige målemetoder, viser det seg faktisk at en del av de påståtte effektene holder stand. Humle skal for eksempel virke effektivt mot tuberkuloseangrep på huden. Nyere medisinforskning har i tillegg vist at enkelte av humlekomponentene har positive egenskaper for blant annet å bekjempe infeksjoner og inflammatoriske sykdommer, osteoporose, diabetes og kreft (Biendl & Pinzl, 2008).

2.2.3 Humlebotanikk

Humle er en klatreplante av arten *Humulus lupulus* L., og tilhører familien Cannabinaceae. Det eksisterer både hann- og hunnplanter, men det er kun blomsterstanden på hunnplanten som benyttes i ølbrygging. I Tyskland, og resten av den nordlige halvkule, begynner humle å vokse i slutten av april. Veksts sesongen varer i cirka 70 dager. Da har planten vokst seg 7-8 meter høy. Under egnede forhold vokser den opp til 0,3 meter per dag, og det er trolig ingen andre planter som vokser så raskt (Biendl & Pinzl, 2008). Veksten krever store mengder gjødsel. Nivået av tilført nitrogen og nitratnivåene i jorden må derfor kontrolleres for å unngå miljøproblemer, og for å unngå høye nitratmengder i humle, som igjen kan medføre forhøyet nitratinnhold i ølet (Benitez et al., 1997).

Når humleplanten har vokst en viss høyde begynner den å blomstre. Mange små humleblomster danner sammen en ”blomsterstand”, som etter cirka to måneder utvikles videre til en kongle. Da er den klar for høsting. Høstingen begynner i slutten av august og avsluttes sent i september. Planten visner, men stammen forblir værende i jorda gjennom vinteren, og skyter ut nye skudd til våren. Humleplanten kan leve i 50 år (Biendl & Pinzl, 2008).

Blomstringen er avhengig av dagslys. Storskaladyrking av humle foregår derfor i områder med dagslys over et visst antall timer (Biendl & Pinzl, 2008). De viktigste humledyrkende landene er i dag Tyskland og USA, etterfulgt av Tsjekkia og mer nylig, Kina (Kunze, 2010).

Selve humlekonglen inneholder en rekke bestanddeler, men lupulinkjertlene og lupulin er de to viktigste i forbindelse med ølbrygging. Lupulin er et gyllent gult pulver dannet inne i lupulinkjertlene, i konglens forblad (se Figur 2.2). Pulveret består av ulike komponenter, hovedsakelig bitterstoffer, men også essensielle oljer og polyfenoler, som bidrar med bitterhet og aroma til ølet. Lupulin er unik i planteverden, og er også årsaken til at nettopp humle dyrkes. Stoffenes egentlige funksjon i naturen er ennå ikke helt avklart. Det antas at lupulin beskytter planten ved at bitterstoffene holder fugler og insekter unna, og at dets desinfiserende funksjon beskytter planten mot infeksjoner (Biendl & Pinzl, 2008).



Figur 2.2. Humlekongle delt i to for å vise lupulinkjertlene (USDA ARS, 2007).

Humle pollineres ikke via insekter, men via vinden. Hunn- og hannplanter kan kun skilles fra hverandre under blomstringen. Hannplantene utvikler mange støvbærere som sprekker og frigjør pollen som bæres bort med vinden. Pollinering av hunnblomstene er uønsket da pollinert humle er mindre egnet for ølbrygging enn upollinert humle. Frøene tilfører unødvendig vekt, og inneholder dessuten lipider som harskner ved oksidasjon. På grunn av risikoen for pollinering av hunnplantene, anses hannplantene som ugress (Biendl & Pinzl, 2008).

2.2.4 Humlekjemi

Kunnskap om humlens kjemiske sammensetning er viktig for å forstå dets egenskaper i ølet, og dets betydning for lagringsstabilitet, utnyttelsesverdi og kvaliteten til det produserte ølet. En oversikt over den kjemiske sammensetningen av humlens tørrvekt er gitt i Tabell 2.1.

Tabell 2.1 Sammensetningen av tørket humle (etter Kunze, 2010).

Hovedkomponenter	Konsentrasjon (% w/W)
Bitterkomponenter (α - og β -syrer)	18,5
Humleoljer	0,5
Polyfenoler og tanniner	3,5
Proteiner	20,0
Mineraler	8
Vann	8-12

Disse verdiene varierer med humlesort, dyrkningsområde, høstingstidspunkt, grad av tørking og lagringsforhold (Benitez et al., 1997).

Resten av innholdet i humle består av cellulose og andre stoffer som er ubetydelig ved ølbrygging (Kunze, 2010).

De høstede humlekonglene inneholder 75 til 80 % vann. Det høye vanninnholdet svekker humlekonglenes lagringskapasitet atskillig. Humle må derfor tørkes umiddelbart etter høsting, ved maksimalt 50 °C, til et vanninnhold på 8-12 %. Lavere vanninnhold svekker bryggeverdien, ettersom lupulin, og dermed bitterstoffene, tapes. Et fuktighetsinnhold på over 12 % reduserer lagringskapasiteten fordi temperaturen i humleplanten øker. Økt temperatur

fremmer vekst av mikroorganismer, og mangedobler risikoen for oksidasjon og polymerisering av bitterstoffer og oljer i humle (Narziss, 1992).

Humle inneholder komponenter som dannes i planten, men som ikke deltar i de primære metabolske prosessene. Komponentene, kalt sekundære metabolitter, kan være avledet fra komponenter fra hvilken som helst av de vitale biokjemiske veiene, eller de kan være biprodukter, modifisert for å ha en nytteverdi. De fleste reaksjonene under dannelsen av sekundære metabolitter katalyseres av spesifikke enzymer, og anses derfor ikke som produkter av primærmetabolismen. Selv om de ikke deltar i de primære metabolske prosessene, er komponentene likevel helt nødvendige for plantens liv og utvikling, overlevelse og forplantning, trolig ved å beskytte planten mot dyr, patogener og konkurrenter, hjelpe til med pollineringen, tilpasning til ytre abiotiske faktorer, eller en kombinasjon av alle disse funksjonene (Benitez et al., 1997).

Humle inneholder flere hundre sekundære metabolitter, med ulike grupper organiske komponenter. I ølbryggingssammenheng er det spesielt humlesyredelen av den myke resinfraksjonen (alfa- og betasyrer), humleoljene og polyfenolene som er av interesse. De tre klassene fungerer også som biokjemiske markører for å skille ulike humlesorter (Benitez et al., 1997).

2.2.4.1 Humleresiner

Humleresiner deles inn i myke og harde resiner, basert på deres løselighet. De myke resinene er løselige i heksan, mens de harde er uløselige i heksan. Begge resinfraksjonene er løselige i kald metanol og dietyleter (Benitez et al., 1997).

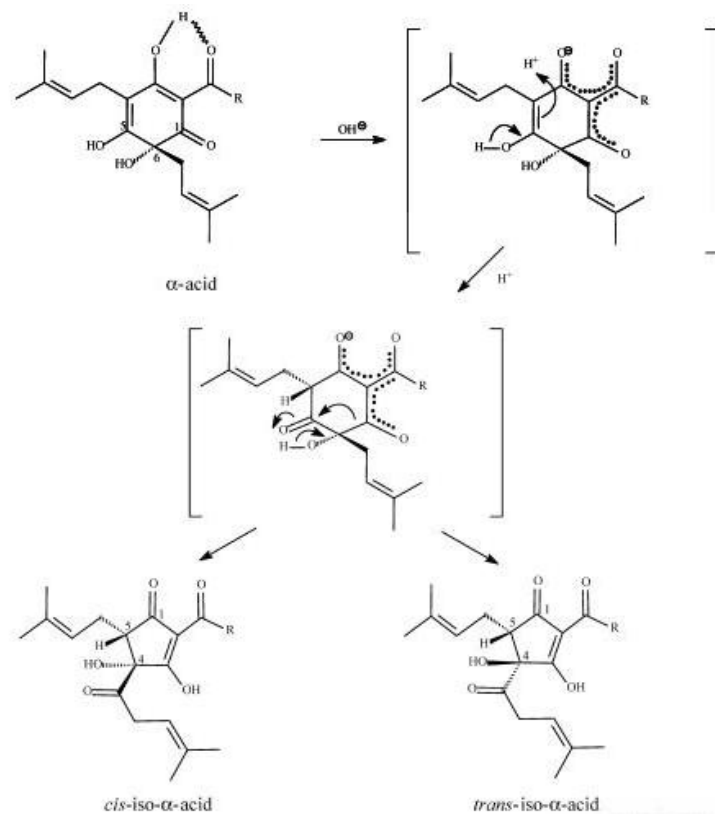
I den harde resindelen inngår polyfenoler, oksidasjonsprodukter og uspesifiserte harde resiner. De myke resinene består av humlesyrer, det vil si alfa(α)- og beta(β)syrer, og uspesifiserte myke resiner (Eiken, 2011). Humlesyrene er svake syrer, og såkalt pseudosyrer (de kan opptre både som nøytrale forbindelser og som syrer). I ren tilstand forekommer de som lysgule stoffer, som er svært uløselige i vann (De Keukeleire, 2000). Felles for dem begge er den biokjemiske forløperen 6-deoxy- α -syre (Benitez et al., 1997), vist i Figur 2.3.

Mengden α -syre varierer, og er avhengig av humlesort, opphav, årgang, høstingstidspunkt, behandlingsmetode og humlealder. Også andelen av de enkelte homologene kan variere (Narziss, 1992). Pre- og posthumulon utgjør en svært liten del av α -syreinnholdet. Nivået av adhumulon er forholdsvis konstant mellom sortene (cirka 15 % av totalt α -syreinnhold), mens innholdet av humulon og cohumulon er sortsavhengig (20-50 %). (Van Opstaele et al., 2006).

Membranen på lupulinkjertlene er porøse, og bidrar derfor lite med å beskytte innholdet. Som følge av dette, har α -syrene begrenset holdbarhet. Under lagring av humle vil nedbrytningsprosesser starte umiddelbart. Oksygentilgang, høye temperaturer og høy luftfuktighet vil i økende grad være med på å bryte ned α -syrene. Ved oksidasjon omdannes α -syrene til harde resiner, som ikke på langt nær har samme bitterkraft. Samtidig kløyver bitterstoffene av isovalerylgruppen (R-gruppen) på humulon, som gir humle som har lagret lenge en osteaktig aroma. For å unngå tap av bitterkraft og økt dannelse av uønsket smak, må humle oppbevares kaldt, tørt og uten lufttilgang (Kunze, 2010).

Ved deres pK_a -verdier på 5.5 (humulon), 4.7 (cohumulon) og 5.7 (adhumulon) er α -syrene bare svakt dissosiert. Som følge av dette er løseligheten i vann og vørter svært lav. Ved koketemperatur er løseligheten kun 480 mg/l ved pH 5.9, og bare 82 mg/l ved pH 5.2. Under gjæringen reduseres pH til cirka 4.8. α -syrene blir da fullstendig uløselige, og vil feste seg på overflaten til skum og avsatt gjær (Narziss, 1992).

Under vørterkokingen går de uløselige α -syrene gjennom en kjemisk forandring, kalt isomerisering. α -syrehomologene isomeriseres til sine respektive iso- α -syrehomologer (isohumulon, isocohumulon, isoadhumulon, isoprehumulon og isoposthumulon), som illustrert i Figur 2.4 på neste side. Disse har en intens bittersmak med en smaksterskelverdi i vann på cirka 6 mg/l. Kjemisk sett medfører isomeriseringen en omorganisering av molekylstrukturen, ved at seksringen (acyloin) i α -syren omdannes til en femring i en korresponderende iso- α -syre, og av aller størst betydning, at α -syrene går fra å være uløselige, til løselige (Jacobsen & Hage, 1988). pK_a -verdien til iso- α -syrene er cirka 3.4, og ved vørterens pH (cirka 5) er løseligheten omtrent 2000 mg/l. Sammenlignet med α -syrene, er iso- α -syrene betydelig mer løselig i vørter, og vil derfor i all hovedsak, eksistere som vannløselige salter i vørteren (Narziss, 1992). Iso- α -syrene som ikke felles ut under nedkjøling av vørteren, eller under gjæring, blir derfor med i det ferdige ølet, og gjør ølet bittert (Kunze, 2010).



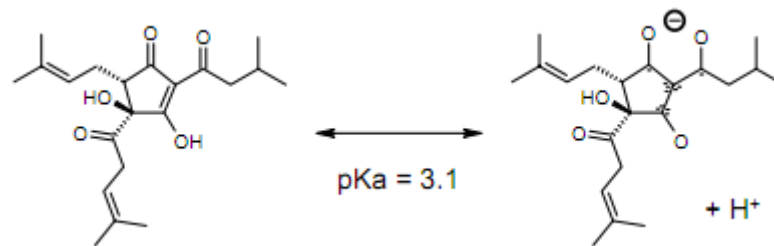
Figur 2.4. Isomerisering av uløselig α -syre til løselige *cis*- og *trans*-iso- α -syrer (Bilinski, 2009).

Verken α - eller iso- α -syrene inneholder syregrupper (-COOH). Likevel reagerer begge som organiske syrer. På α -syrens seksring finnes en ketogruppe (C=O), mens det på tilsvarende sted på iso- α -syrens femring er en hydroksylgruppe (-OH). De to strukturene eksisterer i likevekt med hverandre, noe som gir oksygenet en ekstra negativ ladning, og gjør at forbindelsene fungerer som syrer (Jacobsen & Hage, 1988).

Hver α -syre gir opphav til to epimere iso- α -syrer, *trans*- og *cis*-iso- α -syrer (Figur 2.4). Hvilken epimer som dannes er avhengig av den stereokjemiske strukturen til isoprenylsidekjeden ved karbonatom fem, og tertiæralkoholen ved karbonatom fire på femkarbonringen (Van Opstaele et al., 2006). Begrepene *cis* og *trans* indikerer om disse gruppene peker i henholdsvis samme retning (*cis*), eller i motsatt retning (*trans*) på femringen. Forholdet mellom de to isomerene er avhengig av reaksjonsforholdene. Under normale vørterkokingsforhold, foreligger cirka 68 % som *cis*-, og 32 % som *trans*-iso- α -syrer (Benitez et al., 1997).

Den varmeinduserte konverteringen av α -syrer til iso- α -syrer akselerer ved forhøyet pH, og tilstedeværelsen av kationer av toverdige metaller, spesielt kalsium (Ca^{2+}) og magnesium (Mg^{2+}) (Wilson et al., 2001).

Dissosiasjonen, og dermed også bittersmaken, påvirkes av variasjoner i pH (Jacobsen & Hage, 1988). Figur 2.5 viser hvordan dissosieringen av trans-isohumulon påvirkes ved pH-verdier over og under syrekonstanten (pK_a). Når pH er høyere enn cirka 3.1 forekommer isohumulon i udisosiert form. Ved lavere pH dissosieres syren (Sakamoto & Konings, 2003).



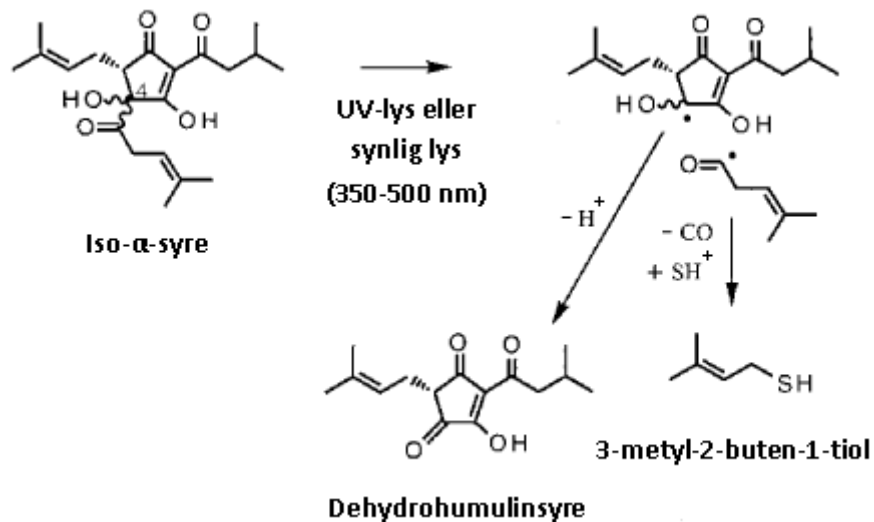
Figur 2.5. Dissosieringen av trans-isohumulon. Udisosiert form til venstre for pilen, og disosiert form til høyre (Sakamoto & Konings, 2003).

Som følge av deres bitterkraft, har iso- α -syrene svært høy bryggeverdi. I tillegg til å være viktige bittersmaksbidragsyttere, har iso- α -syrer overflateaktive egenskaper som stabiliserer ølskummet og beskytter ølet mot enkelte mikroorganismer. Isohumulon er mindre overflateaktive sammenlignet med de andre iso- α -syrene. Med tanke på skumstabilitet bør derfor innholdet av cohumulon i ulike humleprodukter tas i betraktning (Benitez et al., 1997).

Selv om iso- α -syrene i stor grad overlever kokeprosessen er de relativt ustabile forbindelser. Under vørterkokingen er iso- α -syrene utsatt for oksidasjon. Oksideringen gir opphav til en rekke ulike oksiderte derivater, som kan gi ølet uønsket smak. Under lagring vil det gradvis skje en nedbrytning, som kan påvirke ølets smak negativt (Benitez et al., 1997). Sidekjeden på karbonatom fire er spesielt utsatt for nedbrytning. Humulinsyre dannes ved alkalisk hydrolyse av iso- α -syrene, men kan også dannes i humle ved lagring i nærvær av luft. Til forskjell fra iso- α -syrene, har humulinsyre ingen bitter smak (Jacobsen & Hage, 1988).

Iso- α -syrene er i tillegg sårbare ovenfor lys. Lyseksponering ved en bølgelengde på 350-500 nm (UV-lys, sollys og synlig lys), medfører kløyving av ketolgruppen på iso- α -syrene, som vist i Figur 2.6. Under kløyvingen dannes 3-metyl-2-buten-1-tiol (MBT) og dehydrohumulinsyre. MBT gir en såkalt ”sol smak”, også kjent som ”skunksmak”, som i svært

små konsentrasjoner kan ødelegge ølet på grunn av usmak. Dette er årsaken til at øl bør oppbevares i lysbeskyttende omgivelser, for eksempel i mørkfargede flasker (Benitez et al., 1997).



Figur 2.6. Dannelsen av solsmak i øl (etter De Keukeleire, 2000).

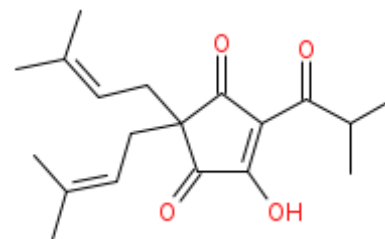
2.2.4.3 β -syrer

Ved å felle ut α -syrene med blysalt i metanol, vil den resterende fraksjonen inneholde β -syrer, også kalt lupulon, og uspesifikke myke resinfraksjoner. β -syrene utgjør cirka 2-10 % av humle. I likhet med α -syrene, inkluderer også disse fem homologer, navngitt lupulon, colupulon, adlupulon, prelupulon og postlupulon (Narziss, 1992). Figur 2.3.(3) viser den generelle kjemiske strukturen.

På grunn av fraværet av en tertiæralkoholgruppe på karbonatom seks, kan ikke β -syren isomeriseres slik α -syren kan. De bidrar derfor ikke med noe særlig bitterkraft (Benitez et al., 1997). I tillegg medfører den ekstra sidekjeden at β -syrene er svært lite løselige (Jacobsen & Hage, 1988). Ved vørterens pH (cirka 5,0), er løseligheten bare omtrent 1,2 og 9,0 mg/liter, ved henholdsvis 25 °C og 100 °C (Narziss, 1992). Den lave løseligheten gjør at β -syrene i stor grad felles ut under bryggeprosessen (Van Opstaele et al., 2006).

Som følge av dette, har β -syrefraksjonen en lavere bryggeverdi enn α -syrefraksjonen. β -syrene har imidlertid en sterk bakteriostatisk aktivitet, og kan være nyttige for å forhindre at Gram-positive mikroorganismer infiserer prosessen (Eiken, 2011).

Deler av β -syrefraksjonen oksideres under bryggeprosessen. Enkelte av oksidasjonsproduktene, som hulupon (Figur 2.7), overlever i ølet og kan bidra med bitterhet i ølet (Van Opstaele et al., 2006). Hulupon har 50 % av iso- α -syrens bitterkraft, og kan derfor benyttes for å øke bitterheten i øl, eller eventuelt kompensere for tapet av α -syrene i humle som er lagret lenge. Mesteparten av oksidasjonsproduktene gir imidlertid en skarp bittersmak, og oksidasjon bør derfor unngås (Benitez et al., 1997).



Figur 2.7. Kjemisk struktur av hulupon (Molecular Networks GmbH, u.å.).

2.2.4.4 Humleoljer

Humle inneholder 0,5-1,2 % olje, med minst 250 ulike flyktige komponenter. Disse skiller ut fra humlens lupulinkjertler under modning, og gir humle dets karakteristiske aroma (Kunze, 2004).

Humleoljene kan deles inn i en upolar hydrokarbonholdig fraksjon, en polar oksygenert fraksjon, og en svovelholdig fraksjon (Benitez et al., 1997). Andelen av de enkelte komponentene analyseres ved hjelp av gasskromatografi. Hver enkelt komponent bidrar med forskjellig aromakarakter, og sammensetningen er sortsspesifikk (Kunze, 2004).

Hoveddelen av den upolare hydrokarbonfraksjonen består av asykliske monoterpenener av klassen myrcen, seskviterpener av klassene carophyllen og humulen, og i enkelte tilfeller også farnesen (Benitez et al., 1997). Myrcen gir en skarp og stikkende aroma, som er uønsket i ølet. Seskviterpener, som β -carophyllen, β -farnesen og humulen, er derimot positive aromakomponenter i øl (Kunze, 2004). Humulen regnes for å være delvis ansvarlig for den behagelige humlearomaen, og høyere nivåer av disse er derfor heldig i aromahumle (Goldammer, 2008).

Under den polare oksygenerte fraksjonen er linalool og geraniol kjent for deres blomster- og urtearoma. Estere, som 2-metylpropyl isobutyrat og 2-metylbutyl isobutyrat gir humle en fruktig aroma (Benitez et al., 1997).

Humleoljens innhold av en rekke svovelholdige organiske komponenter, som tioler, sulfider, polysulfider, tioestere, tiofener og episulfider, kan ha en uheldig effekt på ølet. Selv om det er

snakk om svært lave nivåer av disse komponentene i humle, har enkelte av dem en betydning på grunn av meget lav smaksterskel (Benitez et al., 1997).

Enkelte aromakomponenter uttrykkes kun i synergi med andre oljekomponenter ved at de enten forsterker eller maskerer smaksterskelen til aromakomponenten. Dette gjelder for eksempel for linalool, som virker synergisk med geraniol og citronellol (Schönberger & Kostelecky, 2011).

Humleoljene er svært flyktige, og flyktigheten øker under vørterkokingen. Som følge av dette vil mye av aromaen tapes. Humlearoma er høyt verdsatt i en rekke øltyper. For å få størst mulig utbytte av humleoljenes aromakomponenter i ølet, kan deler av humlesatsen tilsettes like før kokeslutt, eller eventuelt i whirlpoolen før gjærvedsetting (Schönberger & Kostelecky, 2011).

2.2.4.5 Polyfenoler

I øl er både malt og humle kilder til polyfenoler, og cirka en tredjedel av disse stammer i fra humle (Eiken, 2011). Polyfenoler er en stor gruppe kjemiske komponenter med svært forskjellige strukturelle egenskaper. Felles for dem alle er at de har en eller flere fenolgrupper per molekyl (Benitez et al., 1997), derav navnet polyfenoler. Av totalvekt inneholder tørket humle 2-5 % polyfenoler (Kunze, 2004). Til forskjell fra resinene og humleoljene, som hovedsakelig finnes i lupulinkjertlene, finner vi størstedelen av polyfenolinnholdet i humlebladene (Eiken, 2011).

Polyfenolene er vannløselige, og løses umiddelbart opp i vørteren. De ulike polyfenolene kan separeres og bestemmes ved hjelp av high-performance liquid chromatography–diode array detector (HPLC-DAD) (Benitez et al., 1997). I humle er polyfenolfraksjonen en blanding av tanniner, flavonoler, katekiner og antocyanogener (Kunze, 2010). Sammensetningen er avhengig av humlesort, dyrkningsområde, høstingsteknikk og lagringsforhold. Lufttørking ved 60 eller 80 °C, vil for eksempel resultere i en drastisk reduksjon av flavanoler og proantocyanidiner (Benitez et al., 1997).

Polyfenolene har både positiv og negativ innvirkning i ølbryggesammenheng. Egenskapene er avhengig av molekylenes grad av polymerisering. Lavmolekylære polyfenoler er naturlige antioksidanter, som i stor grad bidrar til vørterens reduserende evner, og som kan være med på å beskytte ølet mot oksideringen og forbedre smaksstabiliteten. Proantocyanidiner, også

kjent som tannoider, danner stabile, uløselige komplekser med proteiner som feller ut under bryggingen, og gir opphav til haze (uklarhet) i ølet (Benitez et al., 1997).

Det skilles mellom ”chill haze” (på norsk: kuldeklarhet) og ”permanent haze”. Ved ”chill haze” bindes polyfenolene til proteiner og gir haze under kjøling, men som løses opp igjen ved oppvarming. Etersom polyfenolene polymeriseres og vokser seg større, blir de uløselige ved romtemperatur, og danner irreversibel, ”permanent haze” (De Keukeleire, 2000).

Polyfenoler vil i tillegg påvirke smaken og smaksstabiliteten i øl. Høymolekylære polyfenoler er med på å gi ølet munnfølelse og farge, men polymeriseringen av polyfenoler kan også føre til ubehagelig snerpenhet i det ferdige ølet (Benitez et al., 1997). Fenolsyrer, en undergruppe av fenolene, gir opphav til spesielle ølaromakomponenter, som 4-vinylguaiacol (4-VG). 4-VG er et metabolsk produkt, dannet av enkelte gjærstammer, fra ferulsyre. I for eksempel hveteøl er det overgjæren, og ikke hveten, som gir ølet den karakteristiske hveteølsmaken, ved at gjæren omdanner ferulsyre til 4-VG (Kunze, 2010).

Enkelte av polyfenolene har antioksidierende egenskaper, som kan bidra til et mer smaksstabil øl. Xanthohumol og isoxanthohumol har, i tillegg til en antioksidativ effekt, antikarsinogene og antivirale egenskaper. Dessuten har det vist seg at xanthohumol gir en mer avrundet kvalitet på bittersmaken (Eiken, 2011). Som følge av dette er det utviklet prosedyrer for å øke konsentrasjonen av disse i det ferdige ølet (Kunze, 2004).

2.3 Humlesorter

Det finnes mange ulike humlesorter, både viltvoksende og kultiverte. Sortene varierer hovedsakelig i innholdet av smaksstoffer, resistens mot skadedyr, lagringsstabilitet og mottakelighet for sykdommer (Biendl & Pinzl, 2008). De ulike sortene gir forskjeller i smaks- og aromaegenskaper.

Det skilles mellom aromahumle- og bitterhumle- og høyalfahumlesorter, avhengig av aromaegenskaper og α -syreinnhold. Alle sorter bidrar med både α -syrer og aromakomponenter, men i ulik grad (Kunze, 2004).

Northern Brewer og Brewers Gold er vanlige bitterhumlesorter med et α -syreinnhold fra rundt 5 til 10 %. α -syreinnholdet regnes som den viktigste faktoren i bryggesammenheng, og er i all hovedsak med på å bestemme prisen på humle. Dyrking av høyalfasyrehumle med et α -

syreinnhold på opptil 15 % er derfor blitt mer og mer populært de siste tiårene. Hallertauer Magnum og Nugget er eksempler høyalfasorter (Kunze, 2004).

α -syreinnholdet i aromahumle ligger i gjennomsnitt på 4-5 % (Kunze, 2004). Sortene Perle, Saazer, Spalter og Tettninger er eksempler på aromahumlesorter. Perle har en mer holdbar aroma enn de andre sortene, og inneholder i tillegg et relativt høyt innhold av bitterstoffer (Jacobsen & Hage, 1988).

I forsøket ble humlesortene Zeus og Hallertauer Taurus benyttet. Begge er høyalfasyresorter, med et α -syreinnhold på cirka 12-16 % w/w. De gir høyt bitterhetsutbytte i ølet, men de har også gode aromaegenskaper. Blant humlesortene, har Hallertauer Taurus et av de høyeste xanthohumolinnholdene (cirka 0,91 % w/w). Sorten har en særegen delikat humlearoma (Hopsteiner, 2001). Zeus har en behagelig og velduftende aroma, som kommer tydelig frem i ølet (Hopsteiner, 2003).

Når flere ulike sorter benyttes, bør bitterhumle tilsettes først for å få isomerisert deres høye α -syrepotensial så mye som mulig. I tillegg vil uønskede flyktige komponenter (for eksempel myrcen, etc.) drives ut. Aromahumle tilsettes sist, ved slutten av vørterkokingen, eller i whirlpoolen, for å beholde mest mulig flyktige aromakomponenter (Kunze, 2010).

2.4 Humlens rolle i øl

De ulike komponentene i humle spiller først og fremst en viktig rolle for smaksopplevelsen av ølet, der bidraget med bitterhet er av spesiell betydning. Humlekomponentene har også en rekke andre viktige egenskaper i ølet. Rollen til hver av de essensielle humlekomponentene er oppgitt i Tabell 2.2 på neste side, og vil videre bli gjennomgått.

Tabell 2.2. De essensielle humlekomponentenes rolle/funksjon i øl (etter Eiken, 2011).

Rolle/funksjon	Myke resiner	Harde resiner	Humleoljer	Polyfenoler
Smaksopplevelse	✓	✓	✓	✓
- bitterhet	✓	✓	✓	Potensielt skarp bitterhet
- aroma		✓	✓	
- munnfølelse			✓	✓
Aroma- og smaksstabilitet	✓	✓		✓
Antioksidant	✓	✓		✓
Antibakteriell	✓	✓	✓	✓
Skum og cling*	✓	✓		✓
Proteinutfelling				✓
Dannelse av bunnfall				✓

* Cling beskriver hvor godt skum henger fast inni ølglasstet. Ølet sies å ha en god cling når skumboblene blir hengende fast i ølglasstet etter at det er tomt (Lion, 2012).

2.4.1 Smaksopplevelse – bitterhet, aroma og munnfølelse

Den sensoriske opplevelsen av øl, herunder smak, lukt og munnfølelse, er ølets aller viktigste kvalitetsparameter. Øl inneholder utallige kjemiske komponenter, noe som gjør smaksopplevelsen enormt kompleks. Noen få av disse komponentene påvirker smaken mer enn andre, men tusenvis av andre kjemiske stoffer, fra råmaterialene, eller som dannes under bryggeprosessen, er også med på å påvirke den totale smaksopplevelsen av øl. Dette gjelder også for humle. Bruken av humle påvirker alle deler av et øls smaksprofil (Van Opstaele et al., 2006). Foruten bitterheten, er humle ansvarlig for ølets delikate humlearoma og munnfølelse. Aromaen som kjennes i øl er et svært kompleks sanseintrykk, som et resultat av mange ulike flyktige komponenter ved lave konsentrasjoner, der mange av dem fungerer i synergi. Flyktige komponenter i humleoljen bidrar, sammen med ikke-flyktige komponenter i polyfenolfraksjonen, til en komplett munnfølelse under ølsmakingen. Sammensetningen av disse humlefraksjonene er imidlertid svært kompleks, og vanskelig å undersøke på grunn av de lave og varierende konsentrasjonene som normalt finnes i øl (De Keukeleire, 2000). Humlens bidrag til den totale smaksopplevelsen av øl kommer veldig tydelig frem ved å

smake på et øl uten humle. Et humlefritt øl smaker svært søtt, og har en ubehagelig høy malt- og alkoholsmak. Samtidig vil ølet mangle fylde, den typiske ølbitterheten og den særegne humlearomaen som kjennetegner øl (Van Opstaele et al., 2006).

2.4.2 Bitterhet

Bitterhet er en svært viktig analytisk parameter i øl. I mange andre sammenhenger regnes bitterhet som noe ubehagelig. Menneske har en naturlig avsky for bitre og sure smaker, mest sannsynlig som en del av en forsvarsmekanisme for å beskytte oss mot å spise giftige, bitre planter. Ølets bitterhetskvalitet kan derfor være avgjørende for hvor godt konsumenter liker, eller ikke liker ølet (Van Opstaele et al., 2006). Opplevelsen av bitterhet kan imidlertid variere mye fra person til person. Noen er svært sensitive til bittersmak, mens andre ikke er sensitive i det hele tatt (Schönberger & Kostecky, 2011).

Aminosyrer, eller forbindelser dannet under Maillardreaksjoner fra aminosyrer under varmebehandlingen av malten, polyfenoler fra malt og humle, oksiderte humlesyreprodukter (for eksempel hulupon), gjæringsprodukter, og til og med salter fra bryggevatnet, er alle eksempler på bittersmakende komponenter i øl. De viktigste bitterkomponentene er imidlertid iso- α -syrene fra humle (Van Opstaele et al., 2006). Verzele og De Keukeleire (1991) hevder at α -syrene ikke har noen bittersmak, selv ved konsentrasjoner opp til 100 mg/l (Verzele & De Keukeleire, 1991). Dr. Biendl, kjemiker, forsknings- og utviklingssjef for den tyske delen av den internasjonale Hopsteinergruppen (et humlehandels- og foredlingsselskap), kunne i en e-post meddele at α -syrer har en smaksterskelverdien på rundt 10 mg/l (6 mg/l for iso- α -syrer). α -syrene bidrar dermed ikke til bitterintensiteten i ølet, men det er mulig at de bidrar med tilleggs- eller synergistiske effekter, og på den måten påvirker bitterheten i ølet. α -syrer, og andre ikke-iso- α -syrer, runder av bitterhetsprofilen, sammenlignet med den korte bittersmaken fra iso- α -syrene (Dr. Biendl, e-post, 4. mai 2012).

De ulike isomerene og homologene av iso- α -syrene har ulik bitterkraft. *Cis*-isomerene generelt er bitrere enn *trans*-isomerene (Schönberger & Kostecky, 2011). Det er ulike oppfatninger rundt hvorvidt de ulike α -syrehomologene varierer med hensyn til bitteregenskaper. Goldammer (2008) fant at humulon bidrar med mest bitterhet. I samme kilde hevdes det at humle med høye nivåer av cohumulon er med på å gi ølet en kraftigere bittersmak, mens humle med humulon og adhumulon gir en mer rund og mild bittersmak (Goldammer, 2008). Teorien rundt de ulike homologenes bidrag med bitterkraft er imidlertid

omstridt, og det pågår en såkalt ”cohumulondebatt”. Isocohumulonfraksjonen har lenge fått skylden for en ubehagelig bittersmak i øl. Ulike studier har sammenlignet bitterkvaliteten til øl tilsatt ren humulon, med øl brygget med ren cohumulon. Bitterheten til ølet med cohumulon er blitt vurdert som sterkere og skarpere på smak. Ved smakssammenligning av de ulike homologene er det imidlertid viktig å ta hensyn til pH. Avhengig av pH vil ulike mengder av isohumulon og isocohumulon dissosiere, og dette vil igjen påvirke bitterhetens kvalitet og intensitet. Som følge av cohumulonenes polare karakter og bedre løselighetsegenskaper, er utbyttet av cohumulon og isocohumulon høyere under bryggeprosessen, enn utbyttet for humulon og isohumulon. Mengden iso- α -syrer fra cohumulon vil være større per liter enn mengden iso- α -syrer fra humulon i øl, og en sammenligning av de to ølene vil derfor være umulig (Schönberger, 2009). Cohumulonenes dårlige omdømme har, på tross av deres høyere bitterhetsutbytte, medført at det i løpet av de siste tiårene er blitt dyrket humle med relativt lave nivåer av cohumulon (Schönberger, 2009). Narziss (1992) påstår, i en annen kilde, at selv om cohumulon har en bedre løselighet og en mer polar karakter enn de to andre homologene, vil ikke et lavere eller høyere innhold av denne være av vesentlig betydning for bitterkraften i øl (Narziss, 1992).

Polyfenolenes bidrag med bitterhet og snerpenhet er avhengig av graden av polymeriseringen og konsentrasjonen i ølet. Ettersom polyfenoler omfatter en enorm gruppe av ulike reaktive komponenter, er bidraget fra disse vanskelig å vurdere. Nye undersøkelser har vist at bitterheten fra polyfenoler fra brukte humleprodukter interagerer med bitterheten til iso- α -syrer i ølet, ved at økte konsentrasjoner av polyfenoler i kombinasjon med iso- α -syrer, forsterker bitterhetsintensiteten (Schönberger & Kostelecky, 2011).

Tidligere ble det antatt at β -syrer ikke bidro til bitterhet i ølet. Den generelle oppfatningen var at disse syrene gikk tapt under bryggeprosessen. Haseleu et al. (2009), klarte å identifisere en rekke β -syreomdanningsprodukter med bittersmak, som genereres under vørterkokingen, for eksempel hulupon, cohulupon og hulupinsyre (Schönberger & Kostelecky, 2011). Hulupon (se Figur 2.7) og cohulupon er oksiderte derivater av β -syrer, som kan oksideres til hulupinsyre (Verzele & De Keukeleire, 1991).

For å måle ølets bitterhet, kan bitterkomponentene løses i et organisk løsningsmiddel og bestemmes kvantitativt spektrofotometrisk. Metoden uttrykker bitterheten i enheter, kalt BU (Bitterness Units). BU er ikke spesifikk for iso- α -syrer, men inkluderer også andre

humleavlede komponenter som enten bidrar, eller ikke bidrar med bitterhet (Benitez et al., 1997).

Øl fra ulike deler av verden varierer stort med hensyn til bitterhet. Europeisk lager spenner fra 15-40 BU, mens størsteparten av engelsk ale varierer fra rundt 16-50 BU. I USA brygges lager med < 15 BU, og i Australia 14-18 BU. Tysk pilsner er vanligvis bitrere, med et innhold på 28-35 BU (Benitez et al., 1997). Norsk pils har en BU på cirka 15-24 (T. Hage, personlig kommunikasjon, 3.mai 2012). Tabell 2.3 gir en oversikt over typisk innhold av bitterenheter for øl i ulike land og verdensdeler

Tabell 2.3. Typisk innhold av bitterenheter (BU) for øl i ulike land og verdensdeler (etter Benitez et al., 1997).

Land/verdensdel	BU (Bitterness Units)
Tyskland	28-35
UK	16-50
Europa	15-40
Australia	14-18
USA	< 15

Humle har i århundrer vært benyttet som bittermiddel i øl. I løpet av de 25 siste årene er bitterheten imidlertid blitt mindre og mindre verdsatt. Innholdet av bitterenheter i de fleste øl lå tidligere i størrelsesområdet 20-60 BU, mens de fleste øl i dag ligger mellom 6 og 20 BU (Schönberger & Kostelecky, 2011).

Humle er ikke bare humle. Sorten som skal benyttes i brygget bør velges etter ønsket type bitterhet, munnfølelse, smak og aroma. Bitterheten kan for eksempel oppleves som ubehagelig, snerpende, rund, eller etterbitter (Eiken, 2011).

Kvaliteten på bitterheten er spesielt viktig i lette, mindre smaksrike øltyper, som enkelte lagertyper og hveteøl. Eiken (2011) fant en korrelasjon mellom forholdet mellom harde resiner og α -syrer, og kvaliteten på bitterheten. Det viste seg at nivået av harde resiner i forhold til α -syrer økte med økende bitterhetskvalitet. Analyser av ulike humlesorter underbygget disse resultatene. Desto høyere og lavere nivåene var av henholdsvis α -syrene og de harde resinene i humlesortene, jo mer ubehagelig ble bittersmaken. Sortene med et høyt innhold av harde resiner i forhold til α -syrer hadde en mer jevn og myk bitterhet sammenlignet med høyalfasortene. For en stabil og konsistent bitterkvalitet, mener Eiken at

bryggerier ikke bare skal fokusere på humlesort, høstingstidspunkt, humleprodukt, humleolje- og α -syreinnhold og tidspunktet for humletilsetning, men også forholdet mellom harde resiner til α -syrer (Eiken, 2011).

2.4.3 Aroma

Humlearomaen i øl er avledet fra humleolje, men få av oljekomponentene som finnes i hel humle blir med i det ferdige ølet. De flyktige komponentene i oljen fordampes når humle tilsettes i begynnelsen av vørterkokingen (Benitez et al., 1997). For å få med humlearomaen kan aromahumle tilsettes sent i vørterkokingen. Prosedyren, kalt "late hopping", kan kombineres med såkalt "tørrhumling" (eng. "dry hopping"), en spesiell teknikk der humle blir tilsatt det ferdige ølet like før tapping. Ved å gjøre dette, blir noe av de opprinnelige humlekomponentene direkte overført til ølet, som da får en karakteristisk humlekarakter (De Keukeleire, 2000).

Interessen rundt mikrobryggerier i Norge øker, trolig som et resultat av et behov for mangfold og alternativer til de store merkevarene. Mikrobrygget øl er gjerne spesialøl med kraftig smak (Kværnes, 2012). Ølet har ofte en utpreget humlearoma, som sjelden er å finne i vanlig pils. Andre eksempler på øltyper med karakteristisk humlearoma er Indian Pale Ale (IPA), enkelte typer belgisk øl, for eksempel Lambic, English Old Ale og Imperial Stout (ARMiller's Beer, u.å.). De store merkevareproduktene fra de største bryggeriene i Norge inneholder lite humlearoma (T. Hage, 22. mai 2012).

2.4.4 Smaks- og bitterhetsstabilitet, antioksiderende egenskaper

Ølets smak er utsatt for påvirkninger og forandringer gjennom hele bryggeprosessen frem til tapping, og videre i det ferdige ølet. Det er ønskelig å beholde den friske ølsmaken, og forhindre utvikling av ubehagelig bittersmak så lenge som mulig. Innenfor bryggeriforskning er smaksstabilitet et av de viktigste interesseområdene. Lipidoksidasjon og oksidative kjedereaksjoner, som følge av frie radikaler på ulike ølkomponenter anses som hovedårsakene til ødelagt øl. Hovedbidragsyterne til dårlig smak i øl er (E)-2-nonenal, metional, 3-metylbutanal, 2-furfuryl etyleter, β -damascenon og acetaldehyd. Det er generelt enighet om at humle, på ulike måter, har en viktig rolle som smaksstabilisator i øl. Polyfenoler forbedrer smaksstabiliteten ved å ha antioksiderende egenskaper, på grunn av evnen til å fjerne frie radikaler. Nye studier har også vist at α -syrene har en beskyttende effekt mot frie radikaler. I

tillegg skal høye α -syrenivåer resultere i en høyere SO_2 -produksjon under gjæringen, som igjen forbedrer smaksstabiliteten (Schönberger & Kostelecky, 2011).

Mange av humlearomakomponentene kan maskere utviklingen av ubehagelig bittersmak, men ved for høye konsentrasjoner kan usmaken forsterkes. Videre er humlearoma selv utsatt for endringer under øllagring (Schönberger & Kostelecky, 2011).

Også bitterheten i øl er utsatt for endringer over tid. Ved konvensjonell humletilsetning, det vil si tilsetning under vørterkokingen, vil forholdet mellom *cis*- og *trans*-isohumulon være omtrent 68:32. Ulike studier kan vise til at *cis*-isomerene er mye mer stabile (halveringstid på mye under fem år) enn *trans*-isomerene (halveringstid på cirka ett år) under øllagring. Samtidig med degraderingen, kan også den opplevde bittersmaken til en viss grad avta. *Cis:trans*-forholdet vil derfor i stor grad kunne påvirke ølets smaks- og aromastabilitet, og det er ønskelig å ha høyest mulig innhold av *cis*-isohumulon i isohumulonblandingen (De Keukeleire, 2000). Ved å bruke preisomeriserte humleprodukter kan en mer stabil bitterhet oppnås, ettersom andelen av *cis*-isohumulon er høyere i disse produktene (Schönberger & Kostelecky, 2011).

2.4.5 Skum og skumforbedring

Fint skum med god skumholdbarhet er kjennetegn på et bra øl, og et viktig kvalitetsstempel for konsumentene. Et godt ølskum består av små, ensartede og stabile bobler, som gir inntrykk av en kremet konsistens. Skummet er en dispersjon, bestående av friggitt karbondioksid, jevnt fordelt i ølets væskefase, der væskefasen er beriket med skumpositive stoffer. Innholdet av skumpositive stoffer, og skummets fysikk, er de to viktigste parameterne som påvirker skummets utvikling og stabilitet i øl (Barth-Haasgroup, 2005). Proteiner og polysakkarider fra malt, metallkationer og iso- α -syre er eksempler på skumpositive stoffer, mens høy etanolkonsentrasjon, fettsyrer og aminosyrer har negativ innvirkning på skummet (Schönberger & Kostelecky, 2011). Iso- α -syrenes skumstabiliserende egenskaper knyttes til deres β,β -triketonfraksjon, som kan binde til metallioner, og deres upolare sidekjedder, som gir hydrofobisitet, slik at de kan bindes til skummets polypeptider (Van Opstaele et al., 2006). Følgelig kan et mer stabilt skum forventes fra et øl med mer humle (Kunze, 2010).

Hver av de forskjellige homologene og isomerene av iso- α -syrene har ulike skumegenskaper, avhengig av deres overflateaktivitet (Schönberger & Kostelecky, 2011). Valget av råvarer og

prosesseteknologi kan derfor påvirke konsentrasjonen av positive og negative stoffer, og dermed også skummets egenskaper.

2.4.6 Antibakteriell aktivitet

Humlesyrene inhiberer veksten av Gram-positive bakterier, inkludert de fleste melkesyrebakteriestammer, men ikke Gram-negative bakterier (Sakamoto, 2002). Den antimikrobielle aktiviteten knyttes til forstyrrelsene prenylgruppene (på sidekjeden til humlesyrene) har på bakteriecellenes plasmamembran. Det viser seg at jo flere prenylgrupper som er til stede (tre grupper for β -syre, og to for α -syre), jo sterkere er den antimikrobielle aktiviteten (De Keukeleire, 2000). Forstyrrelsene fra prenylgruppene fører til lekkasje i plasmamembranen. Lekkasje forhindrer aktiv transport av sukker og aminosyrer, som videre inhiberer respirasjon og syntese av DNA, RNA og proteiner (Sakamoto, 2002).

Humlesyrene er svake syrer, og det er hovedsakelig den udisosierte formen (til venstre i Figur 2.5) som er ansvarlig for inhiberingen av bakterievekst. α - og β -syrenes antimikrobielle aktivitet er høyere enn for iso- α -syrene, men på den andre siden løser ikke-isomeriserte syrer løser seg dårligere i ølet enn isomeriserte α -syre (Sakamoto, 2002).

I tillegg til humlens antibakterielle effekt, gjør alkohol, høyt karbondioksidinnhold, lavt oksygeninnhold og den relative lave pHen ølet svært mikrobiologisk stabilt. Øl er generelt et dårlig miljø for de fleste mikroorganismer. Bryggerier med høy hygienisk standard erfarer derfor få uheldige mikrobiologiske tilfeller (Suzuki et al., 2006).

2.5 Utnyttelse av humlekomponentene

2.5.1 Generelt om utbyttet av bitterkomponentene

I ølbrygging er det kun en liten del av humlekonglen som egentlig er av interesse.

Komponentene som en ønsker å utnytte, først og fremst α -syrene og humleoljene, foreligger i hel humle i små konsentrasjoner. Betegnelsen "humleutbytte" er et mål på i hvor stor grad de tilsatte α -syrene omdannes til iso- α -syre i vørteren og ølet, og kan regnes ut på følgende måte (Benitez et al., 1997):

$$\% \text{ Humleutbytte} = \frac{\text{Vekten av iso-}\alpha\text{-syre i vørteren/ølet}}{\text{Vekten av } \alpha\text{-syre tilsatt vørteren}} \times 100$$

Isomeriseringen av α -syre til iso- α -syre i den kokende vørteren er en svært lite effektiv prosess. I gjennomsnitt blir cirka en tredjedel av de tilsatte α -syrene omdannet til iso- α -syre i den kokende vørteren. Dessuten vil betydelige mengder av bitterkomponentene bli fjernet i de etterfølgende bryggeprosessene. Av mengden oppløste iso- α -syre i kokende vørter, kan det forventes at bare 20 % blir med i det ferdige ølet (Kunze, 2010).

2.5.2 Faktorer som påvirker utbyttet

Isomeriseringen under vørterkokingen, og utbytte av bitterstoffene påvirkes blant annet av temperatur, kokevarighet, vørterens pH, tetthet og sammensetning, humlemengde, humlesort, humleprodukt, vørterkjelens utforming og utfelling av bitterstoffene under de ulike bryggeprosessene (Benitez et al., 1997).

Vørterens sammensetning kan ha en signifikant innvirkning på humleutbyttet. Vørter med lavt ekstraktinnhold gir for eksempel et bedre utbytte enn vørter med høyt ekstraktinnhold. Partikler som er til stede i vørteren er potensielle steder for humleadsorpsjon og videre utfelling. Ettersom partiklene ofte inneholder høye metallkonsentrasjoner kan de reagere katalytisk med humleresinene og redusere utbytte ytterligere (Benitez et al., 1997).

Utbyttet blir lavere med økende humlekonsentrasjoner som tilsettes. Ulike humleprodukter er omtalt i kapittel 2.7. Effekten de ulike produktene har på utbyttet er påfallende, spesielt når humle tilsettes sent under vørterkokingen. Utbyttet av vanlige (ikke-isomeriserte) humleprodukter reduseres jo senere produktet tilsettes. Dette skyldes i all hovedsak forsinkelsen, som følge av løseliggjøringen av α -syrene, før isomerisering (Benitez et al., 1997). Økt koketid gir generelt økt utbytte. Mesteparten av α -syrene vil isomeriseres ved kokestart, og isomeriseringshastigheten avtar gradvis, ettersom kokingen fortsetter (Kunze, 2004). Lang koketid vil imidlertid medføre tap av nesten all humleolje. For å brygge et øl med både høyt bitterstoffutbytte og utpreget humlearoma, kan aromahumle tilsettes ved "late hopping", eller etter endt gjæring ("tørrhumling"), som omtalt tidligere (De Keukeleire, 2000).

Hovedårsaken til tap av bitterstoffer er vørterens lave pH. pH reduseres i vørteren fordi melanoider, dannet fra maltet under kokingen, er sure. I tillegg vil humlekomponentene bidra med noe syre. Under gjæringen reduseres pH ytterligere (Kunze, 2004).

Løseligheten til α -syrene er svært pH-avhengig. α -syrene som ikke isomeriseres under kokeprosessen felles ut fordi de bare er svakt løselige ved pH-verdier under 5.0 og temperaturer under 10 °C (Kunze, 2004). Det antas at mer enn 90 % av α -syrene som har overlevd kokeprosessen felles ut som følge av pH-reduksjonen under gjæringen.

Isomeriseringen av α -syrene er mest effektiv ved alkalisk pH, rundt pH 10-11 (Benitez et al., 1997). Bitterheten som oppnås ved lav pH regnes imidlertid som finere og mer balansert (Kunze, 2004).

Den lave pH-en i den gjærende vørteren vil videre medføre at en rekke kolloidale, oppløste bitterstoffer og polyfenoler bringes til deres isoelektriske punktområder (pI), det vil si pH-verdier der molekylene er i nøytral form. Ved pI vil stoffene felles ut. Ettersom iso- α -syrene er svært overflateaktive, vil en del av dem felles ut på væskeoverflaten, ved at de fanges opp av de stigende CO₂-gassboblene, som bringer dem opp til skummet. Ved lukket fermentering, vil dette skummet etter hvert kollapse, slik at noen av de utfelte bitterkomponentene går inn i løsning igjen. Andre iso- α -syrer vil felles ut, som et resultat av at de adsorberer på gjærcellene, og derfor falle til bunns som bunnfall (Kunze, 2004).

α -syresammensetning varierer mellom ulike humlesorter. I tillegg vil de forskjellige α -syrehomologene isomeriseres i ulik grad. Cohumulon gir det beste isomeriseringsutbyttet på grunn av α -syrenes polare karakter og bedre løselighetsegenskaper. Humle med høy andel av cohumulon (for eksempel Northern Brewer), vil derfor gi et bitrere øl (Kunze, 2004).

I tillegg til dette, vil størrelsen på humlefragmentene som ekstraheres i vørteren også ha noe å si for utbytte. Oppmalt humle øker ekstraheringshastigheten og dermed også utbyttet av bitterkomponentene (Kunze, 2004).

2.6 Humleforedling

Hvordan humle håndteres etter høsting er helt avgjørende for den videre kvaliteten og utnyttelsen av produktet. I tradisjonell ølbrygging benyttes hele humlekongler i ubearbeidet form. Bruk av hel humle byr på en rekke utfordringer, med hensyn til blant annet lagringsstabilitet, håndtering og utnyttelse av humlekomponentene (Benitez et al., 1997).

Etter innhøsting er humlekongler utsatt for både mikrobiologiske angrep og oksidasjon. På grunn av denne ustabiliteten vil kvaliteten til humlen raskt kunne avta ved uegnet lagring, noe som videre kan resultere i ujevn smak og kvalitet i ølet (Benitez et al., 1997).

Humlekongler har en svært lav tetthet, og de er klebrige som følge av resinene i lupulinkjertlene. Dette gjør håndteringen og doseringen vanskelig. Det er for eksempel svært problematisk å dosere hel humle automatisk i vørterkjelen. Videre kan humleavlingen være svært heterogen, og α -syreinnholdet kan variere gjennom hele høstingsperioden. Dersom humleinnholdet ikke kontrolleres nøye kan dette medføre varierende bitterhet i ølet (Benitez et al., 1997).

Humle er utsatt for en del skadedyr og sykdommer som de må beskyttes mot. I tillegg til nitrater fra nitrogengjødslet, kan det forekomme uønskede kjemikalierester fra sprøytemidler i humle som skal benyttes i brygget (Benitez et al., 1997).

Ubearbeidet humle er helt klart et utfordrende råmateriale for å kunne produsere øl med spesifisert bitterhet og aroma. For å opprettholde og optimalisere kvaliteten og utbyttet, og for å kunne lage et høykvalitetsøl med jevn og stabil smak, blir derfor en stor del av humleavlingen i dag foredlet til ulike humleprodukter, som pellets, ekstrakter og isomeriserte produkter (Benitez et al., 1997).

2.7 Humleprodukter

Økt kunnskap og ny teknologi har bidratt til utviklingen av en rekke ulike humleprodukter. Årsaken til denne utviklingen er behovet for en bedre utnyttelse av bitterstoffene, ønsket om å kunne standardisere til spesifikk smak, aroma og bitterkraft i ølet, lettere håndtering, bedre lagringskapasitet, mindre volum, og dermed også reduserte transport- og lagringskostnader. Den lille endringen som gjøres i humle muliggjør et mer omfattende lagerhold, dersom produktene emballeres og oppbevares riktig. Konsekvensene av utviklingen har hatt stor innvirkning på humleprisene (Narziss, 1992).

Valg av både humlesort og humleprodukt kan gi stor innvirkning på ølets organoleptiske egenskaper, og gjør det dermed mulig å variere ølets smak og aroma etter spesifikke ønsker og behov. Avgjørelsen kan tas på bakgrunn av en rekke vurderinger. Det kan for eksempel være snakk om humlens bidrag med bitterhet, aroma, eller begge deler, kostnader, effekt av humlekomponentene på ølets kvalitet, lovlighet, hvilke prosess- og analysemetoder som må benyttes, utstyrbehov og graden av ensartethet humleproduktet er med på å gi ølet (Benitez et al., 1997). I dag er det først og fremst størrelsen og utstyret på bryggeriet som bestemmer hvilket produkt som skal brukes (Kunze, 2010).

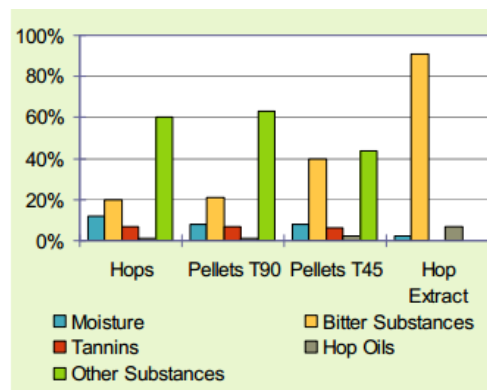
Videre følger en gjennomgang av de mest vanlige humleproduktene, og en nærmere beskrivelse av de produktene som er benyttet i oppgaven. Produktene er inndelt i kategoriene ikke-isomeriserte humleprodukter, isomeriserte humleprodukter, isomeriserte kjeleekstrakter og ”spesielle” humleprodukter.

2.7.1 Ikke-isomeriserte humleprodukter

For ikke-isomeriserte humleprodukter forblir α -syrene uendret under foredlingen. α -syrene isomeriseres først når produktene tilsettes og kokes sammen med vørteren, enten ved start, eller underveis i vørterkokingen. Hel humle, humlepellets Type 90, humlepellets Type 45, stabiliserte humlepellets og ren resineekstrakt inngår alle i kategorien ikke-isomeriserte humleprodukter (Benitez et al., 1997). Figur 2.8 gir en oversikt over innholdet i de vanligste produktene innenfor denne kategorien.

I tilfellet for hel humle, renses og tørkes de for å redusere fuktighetsinnholdet til cirka 10 % w/w. Videre homogeniseres de, og pakkes på nytt. Tettheten til humleproduktet varierer mellom 150 og 400 kg/m³. Komprimeringen øker sannsynlighet for at lupulinkjertlene blir skadet, noe som resulterer i dårligere lagringsstabilitet (Benitez et al., 1997). Bruk av hel humle vil videre resultere i en opphopning av humlerester som må fjernes (Kunze, 2010).

Som en følge av de mange ulempene ved bruk av hel humle, har mange bryggerier gått over til å bruke behandlede humleprodukter, der humlepellets er det mest vanlige. I 2008 var cirka 60 % av humlematerialene brukt til ølbrygging humlepellets (Biendl & Pinzl, 2008).



Figur 2.8. Innholdet i humle og vanlige ikke-isomeriserte humleprodukter (Hopsteiner, 2009).

2.7.1.1 Pellets Type 90

Humlepellets Type 90 tilsettes vørterkjelen, og bidrar med både bitterhet og humlearoma til ølet. Produktet har praktisk talt samme innhold, og gir dermed samme smak som hel humle. Pellets gir imidlertid et noe bedre utbytte av α -syrene, større homogenitet, bedre lagringskapasitet og reduserte transport- og lagerkostnader, sammenlignet med hel humle (Barth-HassGroup, 2010a).

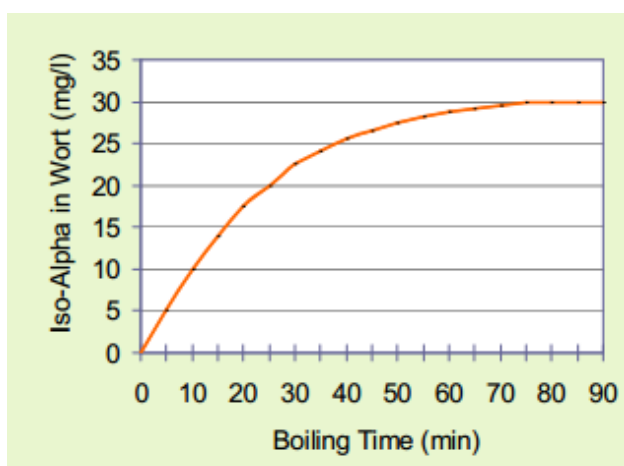
Pelletsene er vanligvis 6 mm i diameter og 10-15 mm lange, og fargen er normalt olivengrønn (Hopsteiner, 2009), som vist i Figur 2.9.

Innholdet av α -syrer varierer mellom 2-15 %, β -syrer 1-10 %, humleoljer 1-3 % og fuktighetsinnhold 7-9 % (Hopsteiner, 2009). Resin- og humleoljeinnholdet er imidlertid avhengig av sort, dyrkningsforhold og grad av nedbrytning før prosessering (Benitez et al., 1997).

Tidlig tilsetning, for eksempel ved kokestart, eller opp til 15 minutter etter vørterkokingen start, medfører vanligvis en utnyttelse av α -syrene til ølet på 30-35 %. Sen tilsetning reduserer utbyttet av α -syrene, mens utbyttet av aromakomponentene vil øke, og gi ølet en karakteristisk humlesmak (Barth-HaasGroup, 2010a). Figur 2.10 viser α -syrenes oppløsning og isomerisering under vørterkokingen.



Figur 2.9. Pellets Type 90 (Global Hops, 2009).



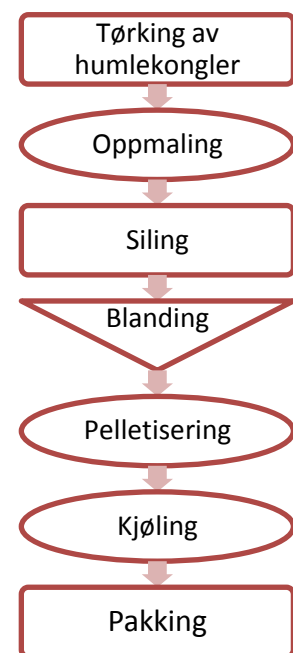
Figur 2.10. Oppløsning og isomerisering av α -syrene i Pellets Type 90 under vørterkokingen (Hopsteiner, 2009).

Utgangspunktet for humlepellets er humlekongler, malt opp til et pulver. Humlepulver har lav tetthet og er ikke er i væskeform, noe som gjør håndteringen og pakkingen vanskelig. Derfor blir pulveret presset sammen til pellets. Pellets Type 90 er det enkleste humleproduktet. Prosessen fra humlekonger til pellets Type 90 er illustrert i Figur 2.11, og gjelder generelt for alle andre typer humlepelletes. Forskjellen mellom pellets Type 90 og 45 er at det for Type 90 blir produsert cirka 90 kg pellets fra 100 kg hel humle, mens det for Type 45 blir produsert cirka 45 kg pellets fra samme mengde hel humle. Prosessen bak Type 45 separerer delvis cellulosematerialet fra lupulinkjertlene, noe som resulterer i oppkonsentrering lupulin. Sammenlignet med hel humle, er innholdet av humleoljer, humlesyrer og polyfenoler for Type 45 nesten fordoblet. I Type 90 er innholdet av disse komponentene i Type 90 tilnærmet uendret (Benitez et al., 1997).

For å produsere humlepellets må først fremmedmaterialer, som metall, løv og kvister, fjernes ved bruk av trykkluftsseparatorer og metalldetektorer (Benitez et al., 1997). Humlekonglene blir så tørket med luft til et fuktighetsinnhold på 7-9 % w/w, og malt opp til pulver. Temperaturen skal holdes under 50 °C, og fuktighetsinnholdet må ikke bli for lavt. Varme kan føre til at humle taper i verdi, og et pulver med lavt fuktighetsinnhold kan skape problemer under pelleteringen, fordi friksjonen og temperaturen øker (Narziss, 1992).

Pulveret homogeniseres og pelleteres i horisontale dyser, eller ringdyser. Komprimeringen av pulveret medfører en økning i temperatur som følge av økt friksjon. Etersom lupulinkjertlene knuses, tapes de oksidasjonsbeskyttende membranene i lupulin. Som følge av dette, er pellets mer utsatt for oksidering enn hel humle. For å bevare kvaliteten, må pelletsene derfor kjøles og pakkes uten oksygen så fort som mulig etter pelleteringen (Benitez et al., 1997).

For å beskytte de ferdige pelletsene mot oksygen og sollys, pakkes de inn i aluminiumfolie, i en inert gassatmosfære (nitrogen, karbondioksid). Pellets som pakkes slik er betydelig mer stabile enn hel humle som, på grunn av altfor lav vekt, ikke kan pakkes lufttett og beskyttes mot luft i like stor grad (Biendl & Pinzl, 2008).



Figur 2.11. Prosessen bak pellets Type 90 (etter Benitez et al., 1997).

2.7.1.2 CO₂-ekstrakt

Med ekstraksjon menes oppløsning av bestemte komponenter fra et stoff, ved hjelp av et egnet løsemiddel (Kunze, 2004).

Humleekstrahering gjøres for å separere ønskede humlekomponenter fra cellulosematerialet. Ettersom komposisjonen er mindre kompleks, er ekstrakter mer stabile enn hel humle og pellets. Løsningsmidlene som benyttes i dag er fortrinnsvis karbondioksid (CO₂) og etanol (Kunze, 2004). Vann blir ikke brukt, ettersom løseligheten til humlekomponentene er for lav i vann. Etanol har en polar karakter, og kan derfor blandes med vann. Polariteten til CO₂ endres med temperatur- og trykkforhold. Ekstrahering med CO₂ er det vanligste i dag, og gir de mest stabile produktet (Benitez et al., 1997).

CO₂-ekstraktet inneholder α -syrer, β -syrer, og en humleoljesammensetning svært nær opprinnelig humle (Barth-HaasGroup, 2010b). Produktene inneholder ikke polare bitterkomponenter, eller andre polare komponentgrupper (for eksempel polyfenoler, eller nitrater) (Benitez et al., 1997). Fargen på ekstraktet varierer fra gul til mørk grønn, avhengig av ekstraksjonsforholdene og humlesort. Ved romtemperatur er produktet en halvflytende, sirupliknende væske, som blir mer flytende under oppvarming (Barth-HaasGroup, 2010b). Figur 2.12 viser et CO₂-ekstrakt av humle ved romtemperatur.



Figur 2.12. CO₂-ekstrakt av humle (New Zealand Hops Ltd., u.å.).

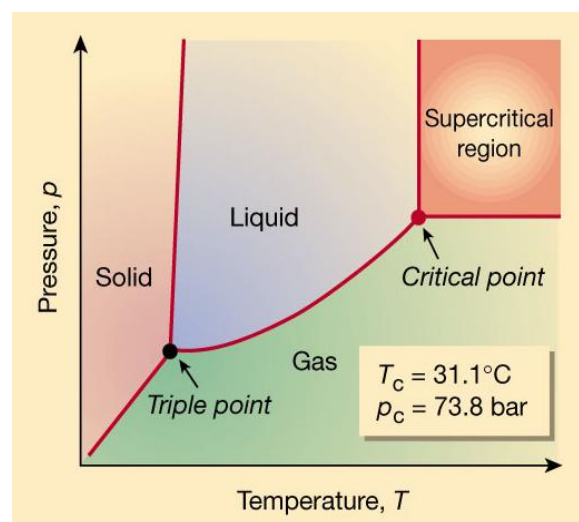
α -syreinnholdet i aromahumle ligger på cirka 35 %, og over 50 % for bitterhumle. Ekstraktet har vanligvis et β -syreinnhold på rundt 15-40 %, og et humleoljeinnhold på cirka 3-12 ml/100 g (Barth-HaasGroup, 2010b).

CO₂-ekstraktet benyttes enten som en delvis, eller som en fullstendig erstatning for hel humle, eller humlepellets. I forhold til disse er CO₂-ekstrakt svært stabilt og konsentrert, og er derfor et praktisk alternativ som kan være med på å gjøre bryggeprosessen mer effektiv og fleksibel (Barth-HaasGroup, 2010b).

Ettersom både humlearomaen og bitterpotensialet fra humle i høy grad beholdes i ekstraktet, vil en tilsetning tidlig i vørterkokingen hovedsakelig påvirke bitterheten i ølet. Med hensyn til utnyttelse av bitterkraften bør derfor ekstraktet tilsettes tidlig, men aller helst 10 minutter etter kokestart, for å unngå tap av bitterstoffer som følge av proteinutfelling. Sammenlignet med

humlepellets gir CO₂-ekstrakt et noe bedre bitterstoffutbytte i øl. Sen tilsetning under vørterkokingen medfører at en større del av flyktige oljer overføres til vørteren. Dette gir et mer aromatisk øl, preget av ”tørrhumling”, men da vil utnyttelsen av α -syrene kunne bli betydelig redusert. Mengden CO₂-ekstrakt som skal tilsettes beregnes ut i fra α -syreinnholdet og det estimerte utbyttet. Det faktiske utbyttet kan variere, avhengig av blant annet bryggeanlegget og prosessparametre. Dersom ekstraktet skal doseres med automatisk doseringssystem, skal ekstraktet varmes opp til 40 °C, og røres forsiktig for å sikre riktig dosering (Barth-HaasGroup, 2010b).

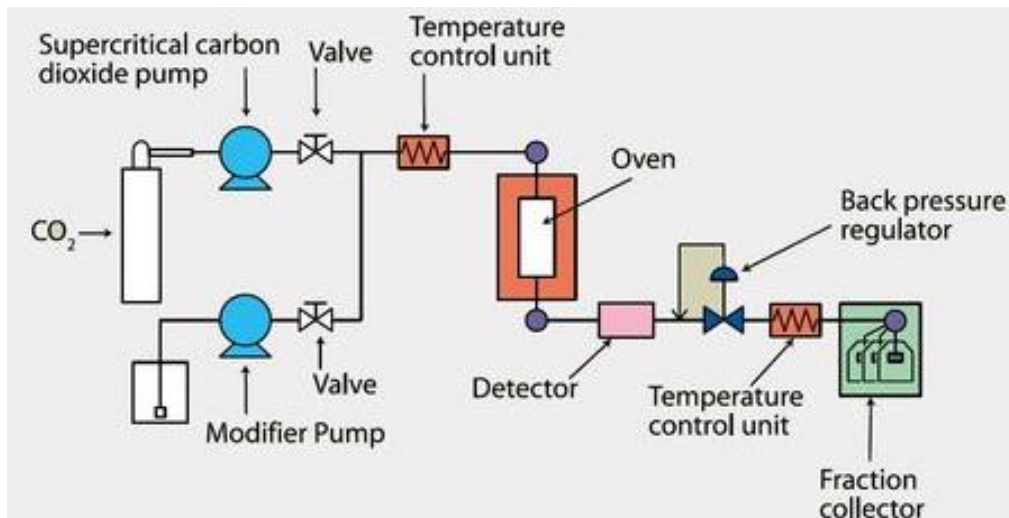
CO₂-ekstraktet produseres ved å ekstrahere humle, eller humlepellets, enten med flytende, eller superkritisk CO₂. Det er ingen store forskjeller mellom ekstrakter produsert ved bruk av flytende CO₂ og superkritisk CO₂. Kritisk trykk for CO₂ er 73,8 bar, og den kritiske temperaturen er 31,1 °C. Over de kritiske punktene er CO₂ superkritisk (Kunze, 2004). Trykk- og temperaturlikevektskurven for CO₂ er vist i Figur 2.13. Under humleekstrahering oppnås de beste løselighetsegenskapene med superkritisk CO₂ ved trykk på 120 bar og over (Kunze, 2004).



Figur 2.13. Trykk- og temperaturlikevekt for CO₂ (Qiu, 2007).

Figur 2.14 på neste side viser prinsippet bak humleekstrahering med superkritisk CO₂. Humlepellets fylles inn i en ekstraktor, som så trykkes til ekstraheringstrykk. Flytende CO₂ mellom 60 og 70 bar trekkes ut fra buffertanken via en pumpe. Trykket økes til ekstraheringstrykk (200-250 bar). En varmeveksler øker temperaturen til riktig ekstraheringstemperatur (40 til 60 °C). CO₂, som nå er superkritisk, pumpes gjennom en ekstraktor. Når CO₂ passerer gjennom pelletsene, blir bitter- og aromakomponentene oppløst.

Komponentene føres sammen med CO₂ videre til en separeringstank, der trykket reduseres i en ekspansjonsventil, til mellom 60 og 80 bar. CO₂ fordampes i en varmeveksler, og føres videre gjennom en kondensator, som omdanner gassen til væskeform igjen. Humleekstraktet felles ut, og samles opp i bunnen av separatoren (Benitez et al., 1997).



Figur 2.14. Prinsippet bak humleekstrahering med superkritisk CO₂ (Brechtbühler, u.å.).

Sammenlignet med hel humle har humleekstrakter en rekke fordeler. Ekstraksjonen øker bulk tettheten 7-10 ganger. Dette reduserer fysisk lagringsbehov, lagrings- og transportkostnader. Videre er ekstrakter enklere å håndtere og dosere. Produktenes bitterkomponenter er ekstremt stabile, og utbytte av bitterstoffene noe høyere enn for hel humle og pellets. Ekstraktene er i tillegg homogene slik at bitterheten i ølet blir mer konsistent for hvert brygg (Benitez et al., 1997).

2.7.2 Isomeriserte humleprodukter

Når et bryggeri tilsetter 100 mg α -syrer i form av hel humle, pellets eller ekstrakt per liter med kokende vørter, blir bare omtrent 30 mg med over til 1 liter ferdig øl som iso- α -syrer. Utbyttet er altså bare omtrent 30 %, og noen ganger lavere. De store tapene er uunngåelige i en flertrinns bryggeprosess. Ved å omdanne α -syrer til iso- α -syrer før vørterkokingen, kan utbytte økes til minst 90 % (Biendl & Pinzl, 2008).

Utgangsmaterialet for isomeriserte humleprodukter er vanlige pellets eller ekstrakter. Ved hjelp av en katalysator, isomeriseres α -syrer til iso- α -syrer. Produktene inneholder, i stedet for α -syrer, den korresponderende mengden med iso- α -syrer (Biendl & Pinzl, 2008). Andre

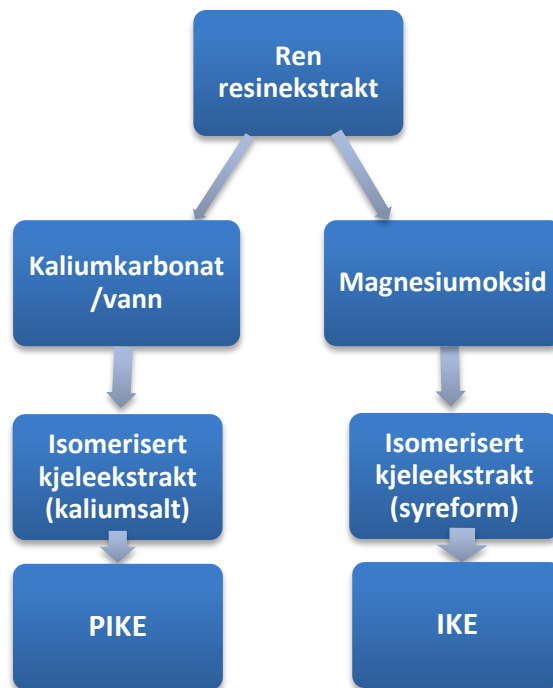
humlekomponenter, som β -syrer og humleolje forblir uendret under isomeriseringen. Til forskjell fra α -syrebaserte produkter, kan iso- α -syreprodukter tilsettes enten under vørterkokingen, eller etter gjæringen, avhengig av produktkomposisjonen. Isomeriserte humlepellets, isomeriserte kjeleekstrakter, isomeriserte humleekstrakter, reduserte isomeriserte humleekstrakter (Rho, Tetrahydro, og Hexahydro) er alle isomeriserte humleprodukter (Benitez et al., 1997).

2.7.2.1 Isomerisert kjeleekstrakt (PIKE/IKE)

Kjeleekstrakter er definert som ekstrakter som tilsettes vørterkjelen under vørterkokingen (ProBrewer.com, u.å.).

Isomeriserte kjeleekstrakter er i all hovedsak ren resineekstrakt der α -syrene er blitt isomerisert til iso- α -syrer. Hensikten med isomeriserte kjeleekstrakter er å gi bryggere, som vanligvis brygger med ren resineekstrakt, de samme utbyttefordelene som de som brygger med isomeriserte pellets. Produktene brukes på samme måte som ren resineekstrakt, det kreves ikke ekstrautstyr, og alle humlekomponentene som er i resineekstraktet er også i kjeleekstraktet (Benitez et al., 1997).

Det finnes to grunnleggende produksjonsmetoder for isomeriserte kjeleekstrakter. Prosessene er illustrert i Figur 2.15. Den første metoden går ut på å varme ren resineekstrakt (CO_2 -ekstrakt) i kontakt med flytende kaliumkarbonat-/hydroksidløsning. Dette resulterer i et isomerisert kjeleekstrakt der iso- α -syrene er i form av kaliumsalter (PIKE, "Potassium-Form Isomerised Kettle Extract"). Den andre produksjonsmetoden gir et rent resineekstrakt, som blandes og varmes opp med magnesiumoksid, vanligvis 3-6 % av ekstraktets vekt, for et rent resineekstrakt med 50 % α -syrer. Resultatet blir et isomerisert kjeleekstrakt, der iso- α -syrene er i form av magnesiumsalter. I denne formen er produktet svært viskøst og vanskelig å håndtere. Magnesiumsalter av iso- α -syrer blir derfor omdannet til frie syrer ved sterk syrebehandling. Dette gir et isomerisert kjeleekstrakt (IKE) med håndteringsegenskaper svært likt konvensjonell ren resineekstrakt (Benitez et al., 1997).



Figur 2.15. Prosessmetoder benyttet til å produsere de isomeriserte kjeleekstraktene PIKE og IKE (etter Benitez, et al., 1997).

Både PIKE og IKE produseres av CO₂-ekstrakt (ren resinekstrakt) og kan brukes som fullstendig erstatning for vanlig- eller tørrhumlingsekstrakt. Egenskapene er omtrent de samme som for CO₂-ekstrakt, men utbytte av iso- α -syrene er betydelig høyere, og noe forskjell i aroma kan forekomme (Benitez et al., 1997). I følge Wilson et al. (2001) har testbrygg på pilotskala derimot vist at konvensjonelle humleekstrakter kan erstattes med IKE eller PIKE, uten at det gir noen signifikant endring av ølets aroma (Wilson et al., 2001).

Hovedfordelen med de isomeriserte kjeleekstraktene er økt utbytte av bitterkomponentene i humle. Isomeriseringen skjer på forhånd, før vørterkokingen under egnede prosesseringsforhold, fremfor ved mer uegnede pH-forhold under vørterkokingen. Etersom isomeriseringsprosessen allerede er utført, og fordi iso- α -syrer er mer løselige enn α -syrer, krever isomerisert kjeleekstrakt bare kort kontakttid med vørteren, for eksempel 10 minutter, for å oppnå maks utbytte av bitterkomponentene. Produktene kan også tilsettes tidlig i vørterkokingen uten at det tapes mye bitterhet (Benitez et al., 1997).

Utbytte av iso- α -syrer i IKE/PIKE er cirka 50-60 %. Nivået av iso- α -syrer og humleolje er vanligvis 30-55 % og 5-10 % w/w, men dette er avhengig av humlesort og ekstraheringsforhold under produksjonen av det rene resinekstraktet. β -syrenivået ligger på 15-35 % w/w (Benitez et al., 1997).

En oversikt over egenskapene og innholdet i de tre humleproduktene som ble benyttet i oppgaven er vist i Tabell 2.4.

Tabell 2.4. Typiske spesifikasjoner og egenskaper for humlepellets Type 90, CO₂-ekstrakt og IKE (etter Barth-HaasGroup, 2010a & b og Benitez et al., 1997).

Innhold/egenskap	Humlepellets Type 90	CO ₂ -ekstrakt (superkritisk CO ₂)	IKE
Innhold (%)*			
Iso- α -syrer	-	-	40-60
α -syrer	2-15	35- >50	<5
β -syrer	1-10	15-40	15-30
Humleoljer (ml/100 g)	1-3	3-12	3-12
Tetthet (g/ml)	0,48-0,55	0,9-1,0	0,85-1,0
Egenskaper			
Utseende	Olivengrønn, pellets	Gylden/lysgrønn tykk sirup som blir mer flytende ved oppvarming	Gylden/lysbrun/grønn tykk sirup som blir mer flytende ved oppvarming
Utbytte (%)**	30-35	25-45	45-55
Smak	Lik original humle	Lik original humle	Samme som for CO ₂ -ekstrakt ved direkte tilsetning
Emballasje	Laminert polyetylen/metallisert polyesterfolier i kartonger, enten som "harde" pakker i vakuum, eller som "myke" pakker i inert gass	Spann, bokser eller tromler	Spann, bokser eller tromler
Lagring og holdbarhet	Lukkede beholdere < 5 °C i ≤ 2 år. Åpnede beholdere bør brukes snarest	Lukkede beholdere < 0-5 °C i ≤ 8 år. Åpnede beholdere bør brukes innen noen få dager	Lukkede beholdere < 10 °C i ≤ 2 år. Åpnede beholdere bør brukes snarest

* Varierer med humlesort.

**Basert på HPLC-analyse av ferdig øl når ekstraktet er tilsatt ved vørterkokingens start.

2.7.3 Spesielle humleprodukter

I tillegg til vanlige og isomeriserte humleprodukter, finnes det også spesialhumleprodukter som kan være nødvendige i spesielle bryggesituasjoner. Isomeriserte humleekstrakter kan benyttes når all, eller deler av bitterheten tilsettes etter fermentering. Reduserte isomeriserte humleekstrakter kan benyttes for bedre lysstabilitet, eller bedre skum. Humleoljeprodukter bidrar spesifikt til humlearoma i ølet via humleoljene (Benitez et al., 1997).

2.8 Kvalitetskrav ved kjøp av humle

Alle humleprodukter som skal benyttes i et bryggeri må ha et analysesertifikat. Sertifikatet skal inneholde et identifikasjonsnummer for hvert parti, et kodenummer for foredlingsanlegg, nettovekt, informasjon om innholdet, og forholdet mellom de ulike humlesortene i humleproduktet (Benitez et al., 1997). Forholdet mellom de ulike α -syrene har, som nevnt tidligere, betydning for utbyttet av bitterstoffene i humle. HPLC-analyser gir ikke bare mulighet til å finne disse forholdene, men også forholdene mellom de ulike iso- α -syrene i vørteren (Jacobsen & Hage, 1988).

Ved innkjøp av humle er humlesort, dyrkingssted og α -syreinnhold helt nødvendige opplysninger (Jacobsen & Hage, 1988). Pakken med humleproduktet er alltid merket med α -syreinnholdet i gram. Denne informasjonen er nødvendig for at bryggeriet skal kunne dosere riktig humlemengde. Dersom en pakke for eksempel er merket med 1350 g og 196 G α , betyr dette at av det totale innholdet på 1350 g er 196 g α -syrer. Uttrykt som prosent inneholder humleproduktet da $14,52\%$ ($196 \times 100\% / 1350$) α -syrer (Kunze, 2010). Ettersom det benyttes forskjellige ekstraksjonsmidler og analysemetoder vil dette kunne gi noe forskjellig α -syreinnhold. Derfor bør også metoden som er benyttet være kjent (Jacobsen & Hage, 1988).

For å kontrollere om produktet er oksidert brukes HPLC-analyse. Analysen viser om oksidasjonsprodukter er til stede, og indikerer om produktet har vært lagret tilfredsstillende hos leverandøren. Oksidasjonsprodukter som har oppstått tidlig i produktet kan tyde på uheldig behandling, eller at humleplanten er rik på forbindelser som reduserer stabiliteten til bitterstoffene. Oksidert humle gir tap av bitterkraft (Jacobsen & Hage, 1988).

2.9 Analytiske målinger og sensoriske analyser av ølets bitterhet

2.9.1 Målemetoder for analyse av ølets bitterhet

For å ha kontroll over bitterheten i det ferdige produktet kreves det nøyaktige analyser av utgangsmaterialet (humleproduktene), analyser av bitterheten underveis i bryggeprosessen, og av det ferdige ølet. Analyser av bitterheten i øl og vørter utføres som rutineanalyser ved bryggerier. Opp gjennom tidene har det vært testet ut ulike analysemetoder for å bestemme bitterheten i øl. Den ideelle situasjonen ville være å ha et analytisk målingssystem som fullstendig kunne forutsi den virkelige sensoriske opplevelsen av bittersmak. Dette er enklere sagt enn gjort, med tanke på de mange ulike ølkomponentene som har forskjellig bitterkraft, og som enten bidrar, eller påvirker bitterheten (Van Opstaele et al., 2006).

Den tradisjonelle og internasjonalt anbefalte metoden for analyse av bitterheten i øl er den såkalte BU-metoden. BU, målt ved spektrofotometer, representerer lysabsorpsjonen i et isooktanølekstrakt ved 275 nm, multiplisert med analysefaktoren 50 (Van Opstaele et al., 2006).

Analysemetoden er kostbar, tidkrevende, og den involverer bruk av uønskede organiske løsningsmidler. I tillegg medfører den manuelle ekstraheringsprosedyren en høy usikkerhet (Christensen, Ladefoged & Nørgaard, 2005). Hovedproblemet med BU-metoden er imidlertid at den ikke er spesifikk. Mindre polare komponenter, som ureagerede α - og β -syrer og deres degraderingsprodukter, vil for eksempel ekstraheres sammen med iso- α -syrene. Analysen måler alle ekstraherte komponenter som absorberer ved 275 nm, også komponenter som ikke er bitre. Analyserer av øl som ikke er tilsatt humle viser derfor en BU på 2-4 (Benitez et al., 1997). I følge Dr. Biendl (e-post, 4. mai 2012), absorberer α -syrene ved 275 nm. Derfor inkluderes de i BU-analysen. I et forsøk utført ved Hopsteinergruppen i Tyskland ble det funnet at 8-10 mg/l α -syrer korresponderer til 5 BU (Dr. Biendl, e-post, 4. mai 2012).

Analysefaktoren på 50 er bestemt empirisk, med utgangspunktet i at 70 % av absorbansmålingene fra isooktanekstraket er fra iso- α -syrer, og at de andre 30 % fra komponenter som ikke er iso- α -syrer. 1 mg/liter løsning med ren iso- α -syre har en BU på rundt 0,7. Ved en BU mellom 15 og 35, vil BU tilsvare omtrent iso- α -syre i mg/liter. Iso- α -syrene bidrar med 0,7 enheter per mg/liter til BU, og ikke-iso- α -syrer med de resterende (Benitez et al., 1997).

Dette er nødvendigvis ikke alltid riktig. Selv om ikke-iso- α -syrekomponenter bidrar, eller ikke bidrar med bitterhet, vil de bidra til den analytiske bitterheten. Derfor kan øl med samme BU-verdi ha ulik bittersmak (Benitez et al., 1997). Hvis det for eksempel benyttes langtidslagret humle vil den målte BU-verdien bli altfor høy i forhold til den sensoriske analysen (Van Opstaele et al., 2006). Et slikt øl inneholder høyere konsentrasjoner av ikke-iso- α -syrekomponenter som vil interferere med analysen. Ølet vil smake mindre bittert enn et øl brygget på fersk humle, målt til samme BU-verdi. Utfallet blir motsatt dersom det benyttes isomeriserte humleprodukter. Da vil BU bli for lav, sammenlignet med de sensoriske analysene. Isomeriserte humleprodukter har et høyere utbytte av iso- α -syrer, som resulterer i en nedgang av andelen ikke-iso- α -syrekomponenter (Benitez et al., 1997). Det anbefales derfor å benytte seg av ulike analysefaktorer, etter hvilke humleprodukter som brukes (Van Opstaele et al., 2006).

BU-analysen klarer ikke å skille mellom de ulike iso- α -isomerene. Metoden anses derfor som en relativt grov teknikk. Som en følge av dette har bruken av HPLC, for å bestemme ølets innhold av iso- α -syrer, økt de siste årene. Sammenlignet med BU-metoden gir HPLC en mer detaljert kjemisk informasjon om bittersyrenes sammensetning (Christensen et al., 2005). Analysen skiller de ulike α - og iso- α -syrene ved revers fase HPLC detektert ved UV med en bølgelengde på 270 nm (Brasseries Kronenbourg, 1998).

2.9.2 Sensoriske analyser av ølets bitterhet

Sensoriske analyser kan gi verdifull informasjon om kvaliteten på et produkt, og er et utmerket verktøy for kvalitetskontroll av øl, forutsatt at det er valgt riktig analysemetode, og at analysene utføres på riktig måte (Ringnes, 2012b).

Sensoriske vurderinger av bitterheten blir vanligvis utført ved rangeringstester (bitterhetsintensitet), og deskriptive sensoriske analyser (bitterhetskvalitet), kombinert med aktuelle skaleringer, ved bruk av begreper som skarp, grov, jevn, mild, harmonisk, balansert, hengende/langvarig og etterbitter. Mer detaljert informasjon, spesielt om kvaliteten på bitterheten, kan bestemmes ut i fra tid-intensitetsanalyser, der den tidsmessige sensoriske analysen måles som intensitet versus tid. Det bør da velges ut egnede parametre, relatert til både intensiteten og de tidsmessige forholdene, og det bør utføres en påfølgende multivariabel analyse av disse verdiene (Van Opstaele et al., 2006)

3 Materialer og metoder

3.1 Metodeoppsett

Bryggeprosessen ble utført etter vanlig prosedyre ved Ringnes Bryggeri. Knust malt ble blandet med varmt vann i meskekaret. Væsken ble silt fra maltrestene i silkaret, før det ble pumpet videre til vørterpannen. I vørterpannen ble vørteren kokt i cirka én time.

Humleproduktene ble tilsatt i begynnelsen av vørterkokingen, og det ble utført dynamisk vørterkoking under svakt overtrykk.

Under vørterkokingen skjer en isomeriseringsprosess hvor α -syrene i humle blir omdannet til løselige iso- α -syrer. For å se i hvilken grad α -syreutbyttet varierte med ulike humleprodukttyper, ble det brygget tre brygg med 3 forskjellige humleprodukter;

brygg 1 ble tilsatt både IKE og Pellets Type 90, til en blanding slik at 50 % av iso- α -syrebidraget skulle komme fra IKE, og 50 % fra pellets,

brygg 2 ble tilsatt 100 % Pellets Type 90, og

brygg 3 ble tilsatt 100 % CO₂-ekstrakt.

Målet var å produsere Ringnes Pils med samme bitterhet som vanlig Ringnes Pils (med ren pellets), det vil si en BU på cirka 24. For å oppnå riktig BU var det nødvendig å foreta antagelser på hvor mye humleprodukt som skulle tilsettes i hvert brygg, basert på litteratur og utregninger.

Alt ble brygget i fullskala, og var av typen Ringnes Pils. Det ble brygget én parallell av hvert brygg. Brygg 1 og 2 ble brygget i en 3-bryggstank, med totalt cirka 126 000 liter, mens brygg 3 ble brygget i en 2-bryggstank, med totalt cirka 81 600 liter. Samtlige brygg ble brygget ved HGB-metoden.

Bryggene ble gjæret med undergjæren *Saccharomyces carlsbergensis*, rendyrket ved Ringnes Bryggeri. Det ble vedsatt gjær til 10-15 millioner celler per ml kaldvørter, ved cirka 14 °C. Etter gjæringen ble ølet modnet, lagret, filtrert og stabilisert, før det ble nedbrygget, pasteurisert og tappet på boks eller flaske. Ferdigvarene ble oppbevart på kjølelager til alle analysene var gjennomført.

Hele bryggeprosessen ble nøye overvåket, fra vørter til ferdigvare. Hensikten med oppfølgingen av hele prosessen, var å se på humleproduktenes egenskaper og innvirkninger underveis, men også kontrollere om de tre bryggene hadde et tilnærmet likt prosessforløp, for å ha et så likt sammenligningsgrunnlag som mulig.

3.2 Materialer og ingredienser

Hele bryggeprosessen ble utført ved Ringnes Bryggeri, og med bruk av bryggeriets utstyr. Det ble benyttet lys pilsnermalt blandet med fargemalt i samtlige forsøksbrygg. Dette er vanlig malttilsetning for Ringnes Pils.

3.2.1 Humleprodukter

Isomerisert kjeleekstrakt (IKE) ble kjøpt inn fra den tyske humleleverandøren Joh. Barth & Sohn. Ekstraktet ble produsert i oktober 2010, av den amerikanske humlesorten Zeus, dyrket i 2010. Det ble bestilt totalt 1197,3 kg, pakket i hermetikkbokser. Hver boks inneholdt 500 g iso- α -syrer. Ut i fra analysesertifikatet inneholdt produktet 54,3 % iso- α -syrer, 0,6 % α -syrer og 17,8 % β -syrer, analysert ved hjelp av HPLC, som beskrevet i metode 7.8 i European Brewery Convention (EBC) Analytica (2010) (Joh. Barth & Sohn, 2011a). I følge Ringnes innkjøpsavdeling (e-post, 1.februar 2012), er prisen på produktet 95 euro per kilo iso- α -syre (EUR/kg iso- α -syre), som tilsvarer cirka 706 norske kroner (NOK/kg iso- α -syre).

Pellets Type 90 (P90) ble kjøpt inn fra den engelske humleleverandøren Lupofresh Limited. Humlesorten i pelletsene var Hallertauer Taurus. Følgeseddelen kunne oppgi at produktet inneholdt 12,1 % α -syrer, hvorav 26,5 % var cohumulon (Lupofresh Limited, 2011).

Pelletsene var allerede innkjøpt, da dette humleproduktet er det som vanligvis benyttes i Ringnes Pils. Prisen på produktet er 84 euro per kilo α -syre (EUR/kg α), som tilsvarer cirka 625 NOK/kg α -syre, i følge Ringnes innkjøpsavdeling (e-post, 1.februar 2012).

CO₂-ekstrakt ble kjøpt inn fra den tyske humleleverandøren Joh. Barth & Sohn. Det ble kjøpt inn 133 bokser á 0,92 kg ekstrakt. Dette ga til sammen 122,36 kg ekstrakt. Hver boks inneholdt 500 g α -syrer, målt til 54,9 % α , analysert ved HPLC, som beskrevet i metode 7.7 i EBC Analytica (2010). CO₂-ekstraktet var produsert ved superkritisk ekstraheringsprosess i USA, november 2011. Humlesorten benyttet i ekstraktet var Zeus, dyrket i 2010. (Joh. Barth

& Sohn, 2011b). I følge Ringnes innkjøpsavdeling (e-post, 1.februar 2012), er prisen på produktet 90 euro per kilo α -syre (EUR/kg α), som tilsvarer cirka 670 NOK/kg α -syre.

Innholdet av iso- α -syrer (%), α -syrer (%), β -syrer (%) og pris (NOK/kg α -syre) for de tre humleproduktene benyttet i forsøket er vist i Tabell 3.1.

Tabell 3.1. Pris, innholdet av iso- α -syrer (%), α -syrer (%), β -syrer (%) for IKE, Pellets Type 90 og CO₂-ekstrakt.

Parametre	IKE	Pellets Type 90	CO ₂ -ekstrakt
% α -syrer	0,6	12,1	54,9
% Iso- α -syrer	54,3	-	-
% β -syrer	17,8	*	*
Pris (NOK/kg α -syrer)	706	625	670

* Ikke oppgitt fra leverandøren.

3.2.2 Utarbeidelse av humleproduktmengde

Mengde humleprodukt (kg) som skulle tilsettes vørteren ble regnet ut fra bryggvolum, α -syre/iso- α -syreinnehold i humleproduktet, antatt utbytteprosent ($100 \times$ vekten av iso- α -syrer i ølet / vekten av α -syrer tilsatt vørteren), vørterens og ferdigvarens ekstraktinnhold, og ønsket BU i ferdigvare.

Type og mengde humleprodukt (kg), i tillegg til mengden α /iso- α -syrer (kg) som ble tilsatt de tre bryggene er oppført i Tabell 3.2. I samme tabell vises også bryggvolum, antatt utbytte for de ulike produktene, antatt nedgang i BU fra kaldvørter til kuldestabiliseringstank og humlekostnadene per brygg.

Tabell 3.2. Bryggvolum, type og kilo humleprodukt, antatt utbytte (%) for humleproduktet, kilo α -/iso- α -syreer tilsatt de tre bryggene, og antatte humlekostnader per brygg (NOK).

Parametre	Brygg 1		Brygg 2	Brygg 3
	(IKE/pellets)		(Pellets)	(CO ₂ -ekstrakt)
Totalvolum (l)	126000		126000	81600
Volum pr. brygg (l)	42000		42000	40800
Humleprodukt	IKE	Pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt
Mengde humleprodukt (kg)	2,8	17	37,2	8,3
Mengde α -syreer tilsatt (kg)	-	2	4,5	4,5
Mengde iso- α -syreer tilsatt (kg)	1,5	-	-	-
Antatt utbytte i vørter (%)	60	45	45	44
Antatt mengde iso- α -syreer i kaldvørter (kg)	1,8		2	2
Antatt nedgang i BU fra vørter til ferdigvare	12		12	12
Humlekostnader pr. brygg (NOK)	2309		2812	3015

Ekstraktinnholdet ble satt til 16 % P frem til kuldestabiliseringstank, og 10,5 % P i ferdigvare, ettersom dette er normale verdier ved brygging av Ringnes Pils. Det ble medberegnet en BU-nedgang på 12 bitterenheter fra kald vørter til kuldestabiliseringstank for samtlige brygg, og det ble tatt sikte på en endelig bitterhet på cirka 23-24 BU i ferdigvarene. For brygget med IKE/pellets ble det satt en analysefaktor på 1,2 for å justere for opplevd bitterhet i ferdigvaren.

Tabell 3.3 gir en fullstendig oversikt over hvordan det ble kommet frem til humledoseringen.

Tabell 3.3. Humledoseringen for de tre bryggene.

Parametre	Brygg 1 (IKE/pellets)	Brygg 2 (Pellets)	Brygg 3 (CO₂-ekstrakt)
Volum pr brygg (l)	42000	42000	40800
α -syrer tilsatt vørter før koking (kg)	2	4,5	4,5
Utbytte (%)	44	45	45
Iso- α -syrer tilsatt vørter før koking (kg)	1,5	-	-
Utbytte (%)	60	-	-
Totalt iso- α -syrer tilsatt vørter før koking (kg)	1,8	2	2
Ekstraktinnhold vørter (% P)	16	16	16
Analysefaktor	1,2	1	1
BU kaldvørter	51	47	50
Nedgang BU kaldvørter til BU kuldestabiliseringstank (BU)	12	12	12
BU kuldestabiliseringstank	37	35	38
Ekstraktinnhold ferdigvare (% P)	10,5	10,5	10,5
BU ferdigvare	24	23	25
Totalutbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer til ferdigvare (%)	45	34	36

3.3 Analysemetoder

3.3.1 Analyser benyttet i forsøket

Det ble utført analyser av kaldvørteren før gjærvedsetting, daglige analyser av gjærende øl, analyser av øl lagret på kuldestabiliseringstank, og av tappet ferdigvare, som beskrevet under kapittel 3.4-3.8.

Vørteren ble analysert for virkelig ekstraktinnhold (E_R), bitterenheter (BU), pH og farge. Gjærende øl ble analysert for tilsynelatende ekstrakt (E_A), alkoholinnhold, BU, gjærcelletall og pH. I tillegg ble det daglig fryst ned cirka 50 ml prøve av det gjærende ølet, for en senere diacetylanalyse (DA). Øl på kuldestabiliseringstank ble analysert for tilsynelatende ekstrakt, alkohol, BU, pH og farge. Ferdigvaren ble analysert for alkohol, pH, BU, kullsyreinnhold (CO_2) og skumstabilitet. Andre analyser som ble utført på ferdigvaren var kvantifisering av bitterkomponentene, og sensoriske analyser. Temperaturen ble registrert daglig under hele bryggeprosessen.

Oversikt over alle analysene som ble utført av de tre bryggene, vises i Tabell 3.4. I samme tabell gis en kapittelhenvisning for de ulike analysemetodene benyttet i forsøket.

Tabell 3.4. Tidspunkt for de ulike analysene under bryggingen, og kapittelhenvisninger for analysemetodene.

Analyse	Kaldvørter	Gjærende øl	Øl lagret på kuldestabiliseringstank	Ferdigvare
Virkelig ekstrakt (E_R)	3.4.1	3.5.1	3.6.1	
Tilsynelatende ekstrakt (E_A)		3.5.1	3.6.1	
Alkohol		3.5.2	3.6.1	3.7.1
Bitterstoff (BU)	3.4.2	3.5.3	3.6.1	3.7.1
pH	3.4.3	3.5.4	3.6.1	3.7.1
Gjærcelletall		3.5.5		
Diacetyl (DA)		3.5.6		
Farge	3.4.4		3.6.2	3.7.1
CO ₂ -innhold				3.7.2
Skumstabilitet				3.7.3
Kvantifisering av BU				3.7.4
Sensoriske analyser				3.8
- test av sensoriske preferanser				3.8.1
- triangeltest				3.8.2

3.3.2 Usikkerhet ved de ulike analysemetodene

Analysemetodenes usikkerhet er oppgitt i kapittel 3.3.4 og under de ulike metodekapitlene. Termene og definisjonene, hentet i fra ISO-standardene 5725-2, ISO 5725-4 og ISO 3534-1, har European Brewery Convention (EBC) gjengitt med tillatelse fra den Internasjonale Organisasjonen for Standardisering, ISO (2010).

Begrepet presisjon (repetierbarhet og reproduserbarhet) refererer til nærheten av enighet mellom uavhengige testresultater oppnådd i henhold til fastsatte vilkår. Repetierbarhet (r) er definert som presisjonen under repetierbarhetsforhold, der repetierbarhetsforhold er uavhengige testresultater oppnådd med samme analysemetode med identiske testprodukter innenfor samme laboratorium, utført av den samme operatøren, og ved bruk av det samme utstyret innen et kort tidsintervall. Reproduserbarhet (R) er definert som presisjonen under reproduserbarhetsforhold, der reproduserbarhetsforhold er testresultater oppnådd ved bruk av forskjellig utstyr (EBC, 2010).

r_{95} og R_{95} er verdien som er under eller lik den absolutte forskjellen mellom to testresultater oppnådd under henholdsvis repetierbarhetsforhold (r_{95}) og reproduserbarhetsforhold (R_{95}), som kan forventes ved 95 % sannsynlighetsnivå (EBC, 2010).

Spekteret er variasjonsbredden til målingene, det vil si laveste og høyeste verdi for prøvene som inngår i en testserie (T. Hage, personlig kommunikasjon, 27. april 2012).

3.3.3 Instrumenter

For å bestemme virkelig ekstrakt-, tilsynelatende ekstrakt- og alkoholinnhold ble instrumentet Anton Paar Beer Analyser benyttet. Farge, og innholdet av bitterenheter ble analysert spektrofotometrisk. α - og iso- α -syrene ble separert og kvantifisert ved bruk av HPLC. pH ble målt med pH-meter, og gjærcelletallet ble analysert ved hjelp av instrumentet YeastCyte[®]. Det gjærende ølets innhold av diacetyl ble bestemt ved hjelp av gasskromatografi (GC). CO₂-innholdet ble målt med Anton Paar CarboQC, og for å bestemme skumstabiliteten ble Nibem Foam Stability Tester benyttet.

Før gjennomgangen av de ulike analysemetodene, blir prinsippene bak Anton Paarinstrumentene, benyttet til å analysere virkelig ekstrakt-, tilsynelatende ekstrakt-, alkohol- og CO₂-innholdet nærmere beskrevet.

3.3.4 Virkelig ekstrakt-, tilsynelatende ekstrakt-, alkohol- og CO₂-innhold

3.3.4.1 Anton Paar Beer Analyzer (Alcolyzer + DMA4500)

Anton Paar Alcolyzer og tilhørende DMA4500 ble benyttet til å måle alkoholinnhold (% v/v) i øl, og ekstraktinnhold i vørter og øl (% Plato), etter en bearbeidelse av metoden beskrevet i Carlsberg Operation Manual, utarbeidet av Carlsberg Breweries (2010). Dette er vanlig prosedyre ved Ringnes Bryggeri.

Instrumentet i Alcolyzer Configuration kan benyttes til å bestemme blant annet alkoholinnhold uttrykt som prosent av totalt volum (ABV), alkoholprosent uttrykt som prosent av total masse (ABW), opprinnelig ekstrakt (E_O), virkelig ekstrakt (E_R), tilsynelatende ekstrakt (E_A), tetthet og virkelig forgjæringsgrad (RDF) (Carlsberg Breweries, 2010).

Anton Paar Beer Analyzer er bygd opp av tre hovedkomponenter; et roterende prøvebrett, en tetthetsmåler (DMA4500 eller DMA5000) og Alcolyzerenheten. Prøvene blir automatisk pumpet fra prøvebrettet, og gjennom målingsystemet. Instrumentet inneholder en tetthetsmåler, i form av et oscillerende, U-formet rør, som brukes til å bestemme tettheten til en prøve (Carlsberg Breweries, 2010). Under analysen blir prøven ført inn i røret, som svinger ved en frekvens, avhengig av tetthet i prøven. Ved hjelp av en nøyaktig bestemmelse av frekvensen, blir tettheten til prøven bestemt (Anton Paar, 2012a).

Alkoholinnholdet (ABW) bestemmes ved hjelp av nærinfrarød måling (NIR). NIR-stråling (800-2500 nm) fra en lyskilde separeres til spesifikke bølgelengder i instrumentet.

Alkoholinnholdet måles spektrofotometrisk ved å bestemme absorbansen i et alkoholspesifikt område innenfor NIR-spektret. Instrumentet måler innholdet av prøvens alkohol, i prosent av total masse ut i fra den målte absorbansen, ved bruk av en kalibreringslikning, utarbeidet fra en standardløsning med kjent alkoholkonsentrasjon (EBC, 2010).

Tettheten og alkoholinnholdet i prosent av total masse er parametre som måles direkte i instrumentet. Tettheten til prøven bruker instrumentet til å beregne prøvens innhold av tilsynelatende ekstrakt (E_A), mens alkoholprosenten av totalvolum (ABV) blir regnet ut i fra prøvens alkoholprosent av totalmasse (ABW). Virkelig ekstraktinnhold (E_R) beregnes ut i fra tilsynelatende ekstraktinnhold (E_A) og alkoholprosenten. Ut i fra det virkelige ekstraktinnholdet og alkoholprosenten klarer instrumentet å regne seg tilbake til det opprinnelige ekstraktinnholdet i vørteren før gjæring, det vil si stamvørteren. Fra opprinnelig

og virkelig ekstraktinnhold blir virkelig forgjæringsgrad regnet ut (Carlsberg Breweries, 2010).

Direktemålte parametre, så vel som de beregnede parametrene skrives ut på en slags kvittering, etter omtrent tre minutter (Carlsberg Breweries, 2010).

Ved prøveopparbeidelse ble cirka 200 ml av hver vørter- eller ølprøve, filtrert gjennom et filterpapir, for å fjerne gass og partikler som kan føre til blokkeringer i instrumentet. Når tilstrekkelig prøvemengde var filtrert, ble prøven ristet i ristemaskinen i 20 minutter. Hensikten med ristingen var å fjerne karbondioksid fra prøven, som ellers ville kunne medført ustabile målinger. Tre parallelle prøver ble så fylt i rør, som så ble plassert i Anton Paar for analyse. Etter hver prøveserie ble det kjørt destillert vann gjennom instrumentet, for å fjerne rester av prøvene.

Ved bruk av Anton Paar Beer Analyzer, er det ikke nødvendig å foreta ytterligere utregninger. Instrumentet viser alle resultatene, basert på de direkte målte parameterne, som beskrevet overfor. Alkohol- (ABV) og ekstraktinnhold ble oppgitt med to desimaler. Ved gjentakene skulle alkoholmålingene ikke avvike mer enn 0,01 % v/v, og for tetthet, ikke mer enn $1 \cdot 10^{-5} \text{ g/cm}^3$ (Carlsberg Breweries, 2010).

Repeterbarheten (r_{95}) for de ulike målingene i Anton Paar Beer Analyzer er som følger: alkohol 0,01 % v/v, opprinnelig ekstrakt 0,03 °Plato, virkelig ekstrakt 0,01 % w/w og tetthet $0,000001 \text{ g/cm}^3$ (Anton Paar, 2012).

3.3.4.2 Anton Paar CarboQC (CO₂)

Et annet Anton Paarinstrument ble benyttet for å måle kullsyreinnholdet i øl. Anton Paar CarboQC bestemmer mengden oppløst CO₂ i øl. Metoden benytter seg av ”dobbelekspansjon” trykk/temperaturmetoden, utviklet av Anton Paar (Carlsberg Breweries, 2012a). Ved en gitt temperatur, er mengden oppløst gass i en væske proporsjonal med partialtrykket til gassen over væsken. Partialtrykket til karbondioksidgassen over væsken og temperaturen til væsken bestemmes ved likevekt. Konsentrasjonen av oppløst karbondioksid kan så beregnes (Anton Paar, 2010a).

Metoden forutsetter at det er andre gasser enn CO₂ til stede i ølet. For å komme frem til nøyaktige CO₂-resultater, minimerer metoden påvirkningen av disse så godt som mulig ved å

utnytte det faktum at de andre gassene, oksygen og nitrogen, har en mye lavere løselighet i ølet enn CO₂ (Anton Paar, 2011).

Et målekammer fylles helt opp med ølprøve, forsegles, og ekspanderes med 10 %. En trykklikevekt oppnås ved at prøven røres kraftig før trykk- og temperaturmålingen. Ettersom oksygen- og nitrogengass har svært lav løselighet i væske, gjør volumekspansjonen at det totale trykket nærmest forsvinner for disse gassene. Det er simpelthen ikke nok oksygen- og nitrogengass i ølet til å bygge et rimelig trykk i gassfasen fra volumekspansjonen i målekammeret. Det er kun CO₂ som kan bygge opp et betydelig trykk i gassfasen, ettersom løseligheten i ølet er så mye høyere. Det målte trykket blir i instrumentet automatisk korrigert for volumøkningen og konvertert til v/v av CO₂ ved å multiplisere med gassens løselighet.

Resultatet vises på instrumentet i g/l, og oppgis med to desimaler. r₉₅ for analysemetoden ved bruk av dette instrumentet er ± 0,05 vol/vol (Carlsberg Breweries, 2012a).

3.4 Analyser av vørter

3.4.1 Spesifikk vekt og ekstraktinnhold i vørter

Spesifikk vekt og ekstraktinnhold i vørteren ble analysert ved hjelp av Anton Paar Beer Analyser, etter en metode beskrevet i Carlsberg Operation Manual, utarbeidet av Carlsberg Breweries (2010). Prinsippet bak analysemetodene er beskrevet i kapittel 3.3.4.1.

3.4.2 Bitterhetsanalyse av vørter

Innholdet av vørterens bitterenheter (BU) ble målt med et spektrofotometer, av type Biochrom Libra S22 Visible Spectrophotometer, og utført etter en standardmetode beskrevet av European Brewery Convention (EBC) Analytica, metode 8.8 (2010).

Analysen bestemmer vørterens innhold av bitterenheter, hovedsakelig isoalfasyrer, for å undersøke om humleproduktet gir ølet ønsket bitterhet (EBC, 2010), men analysen måler i tillegg alle andre ekstraherte komponenter som absorberer ved 275 nm, for eksempel α -syrer (Benitez et al., 1997). Bitterstoffene ekstraheres fra surgjort vørter med isooktan. Etter sentrifugering blir absorpsjonen til isooktanlaget bestemt ved 275 nm, mot en referanse med ren isooktan (EBC, 2010).

Reagenser brukt i forsøket er isooktan (2,2,4-trimetylpentan) med en absorbans på under 0,005, 3 molar saltsyre (HCl), og oktylalkohol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OH}$).

Ved prøveopparbeidelsen ble tre parallelle vørterprøver sentrifugert ved 3000 rpm i 15 minutter, for å fjerne urenheter, og eventuelle andre humleavlede substanser enn isoalfasyrer. 5 ml vørter og 5 ml vann ble pipettert ut i en 35 ml erlenmeyerkolbe. Videre ble det tilsatt 0,5 ml saltsyre (HCl) for å surgjøre vørteren, fulgt av 20 ml isooktan. Det ble satt kork på kolbene, for å sikre at væsken var tett lukket. Prøvene ble ristet i 20 minutter ved 20 ± 1 °C i en roterende rister innstilt på 130 ± 5 rpm. Emulsjonen som ble dannet fikk hvile i 10 minutter. Absorbansen til isooktanfasen (øverste sjiktet) ble så målt i spektrofotometer, innstilt på 275 nm, ettersom dette er området hvor humlekomponentene absorberer UV-lys. Absorbansen ble bestemt mot en referanse med ren isooktan. Opparbeidelsen av prøvene foregikk i avtrekkskap, og ferdiganalyserte prøver ble kastet i en egen avfallsflaske.

Vørterens bitterhet (BU) ble regnet ut ved å multiplisere prøvens absorbans ved 275 nm, med en kalibreringsfaktor på 50. BU for brygget med IKE/pellets ble multiplisert med en analysefaktor på 60 ($50 \times 1,2$), for å justere for opplevd bitterhet. BU ble oppgitt til nærmeste hele tall, og angitt som den omtrentlige massen av isoalfasyrer i mg per liter.

Presisjonsverdier for BU-analysen av vørter ble utarbeidet av EBC Analysis Committee i 1999, ut i fra data fra et samarbeidsforsøk der fjorten og femten laboratorier analyserte vørterprøver på 5 nivåer innenfor spekteret 8 til 42 BU (EBC, 2010). Ved dette spekteret er $R_{95} 0,72 + 0,14$ og $r_{95} -0,36 + 0,05 \times m$, der m er gjennomsnittsverdien for de analyserte prøvene (EBC, 2010). Dersom gjennomsnittresultatet av BU-analysene for eksempel er 42, er repeterbarheten (r_{95}) $\pm 1,74$ ($-0,36 + 0,05 \times 42$).

Ved Ringnes Bryggeri er det utarbeidet en intern presisjonsverdi, basert på standardavviket av 20 analyser utført på samme brygg (referanseøl). r_{95} for BU-analysen av ferdig øl er ved Ringnes Bryggeri angitt som 1,8, og akseptable verdier ligger innenfor ± 2 BU (Ringnes, 2012a). Presisjonsverdiene er fremkommet ved analyse av ferdigvarer. Vørterprøver er vanskeligere å analysere på grunn av noe uklarhet (partikler) i prøvene, selv etter sentrifugering og filtrering. Derfor er presisjonsverdiene for vørterprøvene mest sannsynlig litt dårligere enn for ferdigvare.

3.4.3 pH i vørter

pH i vørter ble bestemt ved bruk av et pH-meter med elektrodesystem, av type PHM210 Standard pH Meter, ved 20 °C, utført etter en standardmetode, beskrevet av EBC Analytica, metode 1.5 og metode 8.17 (2010).

Før analysen ble pH-meteret kalibrert med buffere med pH 4 og pH 7. pH-meteret ble i tillegg temperaturkalibrert én gang i uken. Resultatene ble oppgitt med to desimaler, uttrykt ved 20 °C.

r_{95} og R_{95} er henholdsvis 0,022 og 0,121, bestemt av Institute of Brewing (IOB) Analysis Committee i 1997 da 42 laboratorier analyserte én vørter, der gjennomsnittlige pH var 5,04 (EBC, 2010).

3.4.4 Fargemåling på vørter

Fargen på vørteren ble målt ved hjelp av et spektrofotometer, av type Biochrom Libra S4 visible Spectrophotometer, etter en standardmetode, beskrevet av EBC Analytica, metode 8.5 (2010). Absorbansen til vørteren bestemmes ved en bølgelengde på nøyaktig 430 nm. For å få fargen i EBC-enheter multipliseres absorbansen med faktor 25 (EBC, 2010).

Ved prøveopparbeidelsen ble vørterprøven filtrert gjennom et cellulosenitratfilter. Før vørteranalysen ble spektrofotometeret innstilt på 430 nm, og nullstilt mot rent vann, til en konsentrasjon på 0,00. En kyvette ble fylt med vørterprøve, og satt i prøveholderen. Absorbansen ble lest av i instrumentets display, på innstilling ”konsentrasjon”. Fargen på vørteren, i EBC-enheter, ble regnet ut ved å multiplisere absorbansen (430 nm) med faktor 25.

Ved spekteret 7-16 (EBC) er r_{95} 0,1 og R_{95} $1,52 + 0,12 \times m$, der m er gjennomsnittsverdien for de analyserte prøvene (EBC, 2010). Presisjonsverdiene ble utarbeidet ved et samarbeidsforsøk ved EBC Analysis Committee i 1999, der fjorten og tretten laboratorier analyserte vørterprøver på fire nivåer (EBC, 2010).

3.5 Analyser av gjærende øl

Gjæringen ble overvåket daglig, fra første dag, ved å måle ekstraktinnhold, alkohol, pH, gjærcelletall og innholdet av diacetyl. I tillegg ble det utført daglige analyser av ølets bitterhet.

3.5.1 Opprinnelig, virkelig, tilsynelatende ekstraktinnhold og virkelig forgjæringsgrad

Opprinnelig, virkelig, tilsynelatende ekstraktinnhold og virkelig forgjæringsgrad i bryggene ble analysert ved hjelp av Anton Paar Beer Analyzer, etter en metode beskrevet i Carlsberg Operation Manual, utarbeidet av Carlsberg Breweries (2010). Prinsippet bak analysemetodene er beskrevet i kapittel 3.3.4.1.

3.5.2 Alkoholinnhold i øl ved nærinfrarød spektroskopi (NIR)

Alkoholinnholdet i ølet ble analysert ved hjelp av Anton Paar Beer Analyzer, etter en metode beskrevet i Carlsberg Operation Manual, utarbeidet av Carlsberg Breweries (2010). Prinsippet bak analysemetoden er beskrevet i kapittel 3.3.4.1.

3.5.3 Bitterhet i øl

Analysen av bitterheten i de gjærende bryggene ble utført etter en standardmetode, beskrevet av EBC Analytica, metode 9.8 (2010). Bitterhetsanalysen bestemmer bittersubstansene i det gjærende ølet, som i all hovedsak er iso- α -syrer (EBC, 2010), men den måler i tillegg alle andre ekstraherte komponenter som absorberer ved 275 nm, for eksempel α -syrene (Benitez et al., 1997). Analysen benyttes for å undersøke om humleproduktet gir ølet ønsket bitterkraft. Bitterstoffene ekstraheres fra surgjort øl med isooktan. Etter sentrifugering blir absorpsjonen til laget med isooktan bestemt ved 275 nm, mot en referanse med ren isooktan (EBC, 2010).

Prinsipp, prosedyre og instrument er de samme som for bitterhetsanalysen av vørter, metode 3.4.4 (metode 8.8 i EBC, 2010). Prøveopparbeidelse av øl avviker noe fra vørteranalyse (EBC, 2010).

Ved uttak av det gjærende ølet var det viktig å få med skummet, ettersom bitterstoffer også kan finnes her. Ølprøven ble videre avgasset uten å fjerne skummet, ved å tilsette én dråpe oktanol. Videre prosedyrer, og resultatbearbeidelser, var de samme som for bitterhetsanalysen av vørter.

Presisjonsverdiene for BU i øl ved et spekter på 13-36 BU er en r_{95} på $0,44 + 0,014$ og en R_{95} på $-0,7 + 0,18$. Verdiene er hentet fra dataene til et samarbeidsforsøk, utført ved EBC Analysis Committee i 1999. Tretten laboratorier analyserte ølprøver på seks nivåer i området 13 til 36 BU (EBC, 2010).

Intern r_{95} for BU-analyse av ferdig øl ved Ringnes Bryggeri ligger på 1,8, og akseptable verdier ligger innenfor ± 2 BU (Ringnes, 2012a). Som for vørterprøver, er også prøver av gjærende øl vanskeligere å analysere på grunn av noe uklarhet (partikler) i prøvene, selv etter filtrering. Derfor er presisjonsverdiene for prøver av gjærende øl mest sannsynlig litt dårligere enn for ferdigvare.

3.5.4 pH i øl

pH-analysen av avkarbonisert øl ble utført ved bruk av samme pH-meter som ved pH-målingen av vørter, etter en standardmetode, beskrevet av EBC Analytica, metode 9.35, og metode 1.5 (2010). Prinsippet og resultatbearbeidelsen er de samme som for pH-måling av vørter. Prosedyren er noe forskjellig, ettersom ølprøver må avkarboniseres før analysen. Avkarboniseringen ble utført ved å riste cirka 200 ml prøve med øl i en 500 ml flaske ved 20 ± 1 °C.

Ved spekteret pH 3,9 til 4,42 er r_{95} 0,025, og R_{95} 0,133. Presisjonsverdiene er hentet fra dataene til et samarbeidsforsøk, utført ved IOC Analysis Committee i 1997, da 42 laboratorier analyserte to ølprøver (EBC, 2010).

3.5.5 Måling av celletall med Yeast Cyte[®]

Analysen av gjærcelletall benyttes for å kontrollere at riktig mengde gjær er blitt vedsatt, for å følge celletilvekst og gjæringsprosess, og for å kontrollere at innholdet av døde gjærceller ikke er for høyt. Analysen ble utført ved bruk av instrumentet YeastCyte[®], etter en standardmetode, utarbeidet av Ringnes Bryggeri (2011), som er vanlig prosedyre ved bryggeriet.

Yeast Cyte[®] bestemmer automatisk totalt antall gjærceller, antall døde gjærceller, og % døde gjærceller per ml i en prøve. En fortynnet prøve pumpes inn gjennom en pipette og blandes med propidiumiodid (PI), en rødfarget fluoriserende løsning. PI vil trenge inn i døde celler og

gjøre dem fluoriserende. I en trang flow-celle legger gjærcellene seg etter hverandre og passerer en laserstråle som brytes for hver celle. Signalene fra lysbryting og fluoresens overføres til et dataprogram som oversetter dette til totalt antall celler og antall døde celler per ml i prøven (Ringnes, 2011).

Gjærcelletallet ble bestemt for alle gjærvedsatte tanker innen to timer etter vedsetning, og videre hver 24. time. Ved prøveopparbeidelsen ble prøven først fortynnet til 1:2000, ved at 5,0 g ølprøve ble veid opp i et falconrør, som så ble fylt opp med isoton til 50 ml. Løsningen ble blandet godt. 0,5 g av denne løsningen ble veid opp i et nytt falconrør, før det ble fylt opp til 50 ml med isoton, til en 1:100 fortynning. Riktig fortynning ble registrert i det tilhørende dataprogrammet. Pipetten ble ført ned i den godt blandede, fortynnete gjærprøven. Cirka 5 ml ble automatisk sugd inn i instrumentet. Tallet i resultatkolonnen anga gjærcelletallet som millioner gjærceller per milliliter i prøven.

3.5.6 Diacetyl ved GC

Konsentrasjonen av diacetyl i øl ble analysert ved hjelp av statisk headspace gasskromatografi i en GC, av type Thermo Scientific TRACE GC Ultra, med tilhørende TriPlus Autosampler. Analysen ble utført etter en metode beskrevet i Carlsberg Operation Manual, utarbeidet av Carlsberg Breweries (2012b).

Cirka 25 ml prøve fra de tre bryggene ble fryst ned daglig, under hele gjæringsprosessen. Prøvene ble tatt ut til tining dagen før analysen.

I stedet for sentrifugering og risting, som beskrevet i metoden, ble det benyttet foldefilter for å avkarbonisere prøvene. Dette er vanlig rutine ved Ringnes Bryggeri. Prøver med kjent konsentrasjon av diacetyl ble brukt for å kontrollere gasskromatografinstrumentets ytelse og stabilitet. Kontrollprøvene ble plassert som de to første prøverørene i autoprøvetakeren, og for hver tiende vanlige prøve.

Diacetyl ble angitt som ppb til nærmeste heltall.

Ved spekteret 40-190 ppb diacetyl er $r_{95} 28$ ppb og $R_{95} 32 + 0,68 \times m$, der m er gjennomsnittsverdien for de analyserte prøvene (EBC, 2010). Presisjonsverdiene ble utarbeidet av IOB Analysis Committee in et samarbeidsforsøk, da seks laboratorier analyserte fire prøver med øl én parallell (EBC, 2010).

3.6 Analyser av øl lagret på kuldestabiliseringstank

Ved endt gjæring og modning ble ølet overført til kuldestabiliseringstank for lagring. Det ble utført analyser av ølets pH og farge. I tillegg ble innholdet av tilsynelatende ekstrakt, alkohol og bitterenheter bestemt.

3.6.1 Tilsynelatende ekstrakt, alkohol, pH og bitterhet

Analyser av tilsynelatende ekstrakt, alkohol, pH og bitterenheter i lagrende øl på kuldestabiliseringstank ble utført som beskrevet under del 3.5, ”Analyser av gjærende øl”.

3.6.2 Fargemåling

Fargeanalysen av øl ble utført som beskrevet i underkapittel 3.4.4., ”Fargemåling på vørter”.

3.7 Analyser av ferdig øl

Etter filtrering, nedbrygging, stabilisering og tapping på boks eller flaske, ble ferdigvarene analysert for alkoholinnhold, bitterhet, pH, farge, CO₂-innhold og skumstabilitet. I tillegg ble det sendt ferdigvarer til Carlsberg Central laboratorium, ved Brasseries Kronenbourg i Strasbourg, for bestemmelse og HPLC-kvantifisering av α - og iso- α -syrene i ølet.

3.7.1 Alkohol, bitterhet, pH og farge

Analyser av ferdigølets alkoholinnhold, bitterhet og pH, ble utført som beskrevet under kapittel 3.5, ”Analyser av gjærende øl”. Fargeanalysen ble utført som beskrevet i underkapittel 3.4.4, ”Fargemåling på vørter”.

Den interne presisjonsverdien for BU-analyser av ferdig øl ved Ringnes Bryggeri, er basert på standardavviket av 20 analyser utført på samme brygg (referanseøl). r95 for BU-analysen ved Ringnes Bryggeri er angitt som 1,8, og akseptable verdier ligger innenfor ± 2 BU (Ringnes, 2012a).

3.7.2 CO₂-innhold

Bestemmelsen av kullsyreinnholdet er viktig med hensyn til tapping, mikrobiologisk beskyttelse og det sensoriske bidraget (Anton Paar, 2010a). Ølets CO₂-innhold ble analysert

ved hjelp av instrumentet Anton Paar, type CarboQC, etter en standard metode utarbeidet av Carlsberg Breweries (2012a). Prinsippet bak analysemetodene er beskrevet i kapittel 3.3.4.2.

3.7.3 Skumstabilitet i øl, ved bruk av NIBEM-T Meter

Ferdigølets skumstabilitet ble analysert ved bruk av NIBEM-T meter, utført etter en standardmetode, beskrevet av EBC Analytica, metode 9.42 (2010).

Øl, temperert til $20 \pm 0,5$ °C i en lukket beholder, tvinges under karbondioksidtrykk gjennom en strupeskiye. Dette gir et NIBEM standardglass fylt med skum av ensartede små bobler. Standardglasset plasseres under et elektrodesystem på NIBEM-T instrumentet, som tidligere er kalibrert, slik at referanseposisjonen korresponderer til et breddfullt glass. Elektrodene beveges nedover, til en av de fire ytre elektrodene berører skumoverflaten. Når skummet kollapser brytes kontakten, og elektrodesystemet beveges ned til en av de fire ytre elektrodene som igjen berører skumoverflaten. Når skummet har kollapset en angitt avstand ("venteperioden") under referanseposisjonen, starter tidtakingen, og tiden før skummet kollapser for en neste angitt avstand måles. For øl med mer enn 3,4 g/liter karbondioksid, bestemmes kollapsen over en avstand på 30 mm etter 10 mm venting. Kollapstiden vises i sekunder på et digitalt display. Skumkollapstid (FCT) ble uttrykt i sekunder for en distanse på 30 m (EBC, 2010).

Presisjonsverdiene for skumstabilitet i øl ved et spekter på 160 til 310 s er r_{95} 11,2 og R_{95} 22,2. Verdiene er hentet fra dataene til et samarbeidsforsøk, utført ved EBC Analysis Committee i 2002. 11 laboratorier analyserte ølprøver på 5 nivåer i området 160 til 310 s (EBC, 2010).

3.7.4 Kvantifisering av bitterenheter ved HPLC

I tillegg til den spektrofotometriske BU-analysemetoden, som er rutinemetoden ved Ringnes Bryggeri, ble α - og iso- α -syrene i ølprøvene separert og analysert ved hjelp av HPLC, etter en metode beskrevet av Brasseries Kronenbourg (1998). Analysen skiller de ulike α - og iso- α -syrene ved revers fase HPLC detektert ved UV med en bølgelengde på 270 nm.

α -syrer og disyklohexylamin iso- α -syrekompleks av kjente konsentrasjoner ble benyttet som standardløsninger for tillaging av kalibreringskurver. Konsentrasjonen for hver syrefamilie var summen av arealområdene på grafen. Innholdet av α -/iso- α -syrene ble regnet ut ved hjelp

av kalibreringskurven; $[C] \text{ mg/l} = f(\text{summen av områdene})$ inkludert null. (Funksjon $Y = aX + b$).

Kvaliteten på analysemetoden er blitt målt av Brasseries Kronenbourg (1998).

Repeterbarheten (r_{95}) og reproduserbarheten (R_{95}) ble analysert av henholdsvis 20 og 20 øl fra samme brygg. Resultatene er oppgitt i Tabell 3.5.

Tabell 1.5. Målinger av analysemetodens repeterbarhet (r_{95}) og reproduserbarhet (R_{95}) (Brasseries Kronenbourg, 1998).

Analysemetodens kvalitet	α -syrer (mg/l)	iso- α -syrer (mg/l)
<i>r_{95} – 20 ølanalyser</i>		
Gjennomsnitt, m	0,6	13,6
Standardavvik, s	0,05	0,14
Standardavvik, 2s	0,1	0,28
<i>R_{95} – 20 ølanalyser</i>		
Gjennomsnitt, m	0,65	16,0
Standardavvik, s	0,07	0,36
Standardavvik, 2s	0,14	0,72

3.8 Sensoriske analyser

Det ble utført to forskjellige sensoriske analyser av de tre forsøksbryggene; test av sensoriske preferanser for å avdekke hvilke eventuelle forskjeller det var mellom ferdigvarene, og triangeltest (forskjellstest) for å undersøke om det faktisk var signifikante forskjeller. De sensoriske analysene ble utført på ferdigvarene, av det sensoriske panelet ved Ringnes Bryggeri.

3.8.1 Test av ferdigvarenes sensoriske preferanser

Test av ferdigbryggenes sensoriske preferanser ble utført av 14 dommere fra Ringnes sitt sensoriske panel. Hensikten var å beskrive hvilke eventuelle forskjeller som var tilstede blant produktene, og få en vurdering av blant annet bitter- og skumkvaliteten.

Deltagerne fikk på forhånd vite at de skulle bedømme Ringnes Pils ettersom prøvene skulle bedømmes som nettopp Ringnes Pils. Dommerne i panelet kjenner godt til Ringnes Pils sensoriske egenskaper. Denne kunnskapen skulle de bruke som en ”memory standard”, det vil si som en referanse for hvordan Ringnes Pils skal være. Ølene ble lagret ved 10 °C i cirka 10 timer før analysen. Dette er standardtemperatur ved sensoriske analyser av øl ved Ringnes Bryggeri (Ringnes, 2012b).

De 3 variantene av Ringnes Pils ble servert i hvert sitt ølglass, kodet med en tobokstavskode (RC, MV og TL). Det ble i tillegg servert romtemperert vann til munnskylling, og smaksnøytrale kjeks. Alle deltakerne smakte på ett øl om gangen, i den rekkefølgen som var oppgitt i analyseskjemaet.

I analysen ble paneldeltakerne først bedt om å bedømme hvor godt de likte ølene med hensyn til 4 sensoriske egenskaper, for så å vurdere hvorvidt de likte ølene, på en skala fra 1 til 9, der 1 er dårligst likt, og 9 er best likt. Videre skulle deltakerne bedømme ølene for 10 ulike egenskaper, på en skala ettersom de syntes ølene hadde for lite, akkurat passe, eller for mye av egenskapen. Til slutt ble det spurt om på hvilket av ølene de foretrakk mest blant de 3 prøvene. Alle bedømmelsene skulle dømmes etter Ringnes Pils ”memory standard”. Fullstendig oversikt over analyseskjemaet benyttet i analysen finnes i Vedlegg 5.

3.8.2 Triangeltest (forskjellstest)

Forskjellstester benyttes dersom det er ønskelig å avdekke eventuelle forskjeller mellom prøver (Ringnes, 2012b). Triangeltest er en type forskjellstest som benyttes for å undersøke om det er en signifikant forskjell tilstede mellom to prøver, eller om de er signifikant like, med hensyn til sensoriske egenskaper. Metoden er den samme, enten det skal testes for om det er likhet eller forskjell, men de statistiske parameterne som velges for evaluering av resultatene, og minimum antall dommere som kreves, varierer (EBC, metode 13.7, 2010). I denne triangeltesten ble testet for likhet mellom prøvene. Analysen ble utført som beskrevet i Ringnes brukermanual (2012c), og ble utført ved hjelp av Ringnes sensoriske panel, bestående av 20 paneldommere.

Det ble utført 3 triangeltester, med kombinasjonene brygg 1 (IKE/pellets) + brygg 2 (ren pellets), brygg 1 + brygg 3 (CO₂), og brygg 2 + brygg 3. Det ble satt følgende nullhypoteser:

H₀: Brygg 1 = Brygg 2

H₀: Brygg 1 = Brygg 3

H₀: Brygg 2 = Brygg 3

Nullhypotesene ble testet mot alternativet:

H₀: Brygg 1 ≠ Brygg 2

H₀: Brygg 1 ≠ Brygg 3

H₀: Brygg 2 ≠ Brygg 3

To vilkårlige tresifferkoder ble tildelt til hvert produkt. Under hver triangeltest fikk det sensoriske panelet servert tre kodede prøver, hvorav to var identiske, og én var forskjellig fra de to. For hver triangeltest var det totalt 6 forskjellige serveringsrekkefølger (for eksempel AAB, ABA, BAA, BBA, BAB og ABB). Prøvene ble servert i glass, med et prøvolum på 50-100 ml, ved en temperatur på 10 °C. Romtemperert vann til munnskylling, og smaksnøytrale kjeks var tilgjengelig. De tre prøvene ble servert samtidig, og smakt på i den rekkefølgen som panellederen ga beskjed om. Dommerne ble bedt om å finne den avvikende prøven, og krysse av i utdelt skjema. De fikk ikke vite hva som utgjorde forskjellen mellom prøvene, og hvis de ikke kunne kjenne noen forskjell, måtte de gjette. Det var en

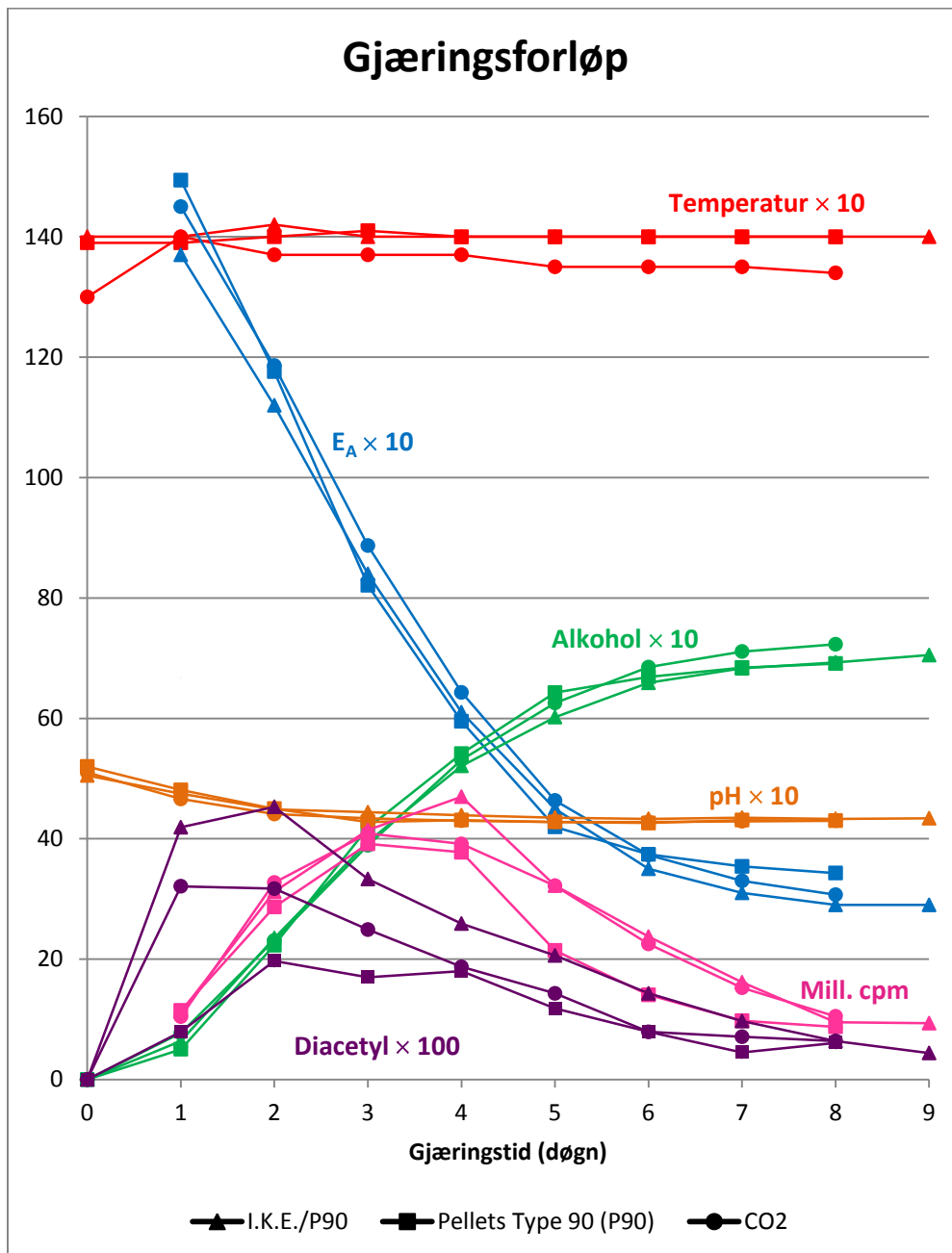
sannsynlighet på 1/3 for å gjette riktig. Se Vedlegg 7 for analyseskjemaet benyttet under triangeltesten.

Antall korrekte svar ble summert og sammenlignet med en tabell som viste antall korrekte identifikasjoner som er nødvendige for signifikans på forskjellige nivåer ved triangeltest (se Vedlegg 7). En signifikant forskjell var til stede dersom antallet korrekte identifikasjoner var lik eller større enn det tallet som var vist i tabellen under angitt signifikansnivå. Ut i fra tabellen fremgår det at det måtte være minst 11 korrekte svar for å forkaste nullhypotesen, H_0 , om at prøvene er like på et 5 % signifikansnivå med 20 bedømmelser.

4 Resultater

4.1 Bryggenes gjæringsforløp

De tre bryggenes temperatur- og pH-forløp, og innholdet av alkohol, ekstrakt, gjærceller og diacetyl ble analysert daglig under gjæringen. Resultatene fra analysene vises i Figur 4.1. Verdiene for temperatur, tilsynelatende ekstrakt, pH, alkohol er multiplisert med 10, mens verdien for diacetyl er multiplisert med 100, for å få et mer oversiktelig diagram.

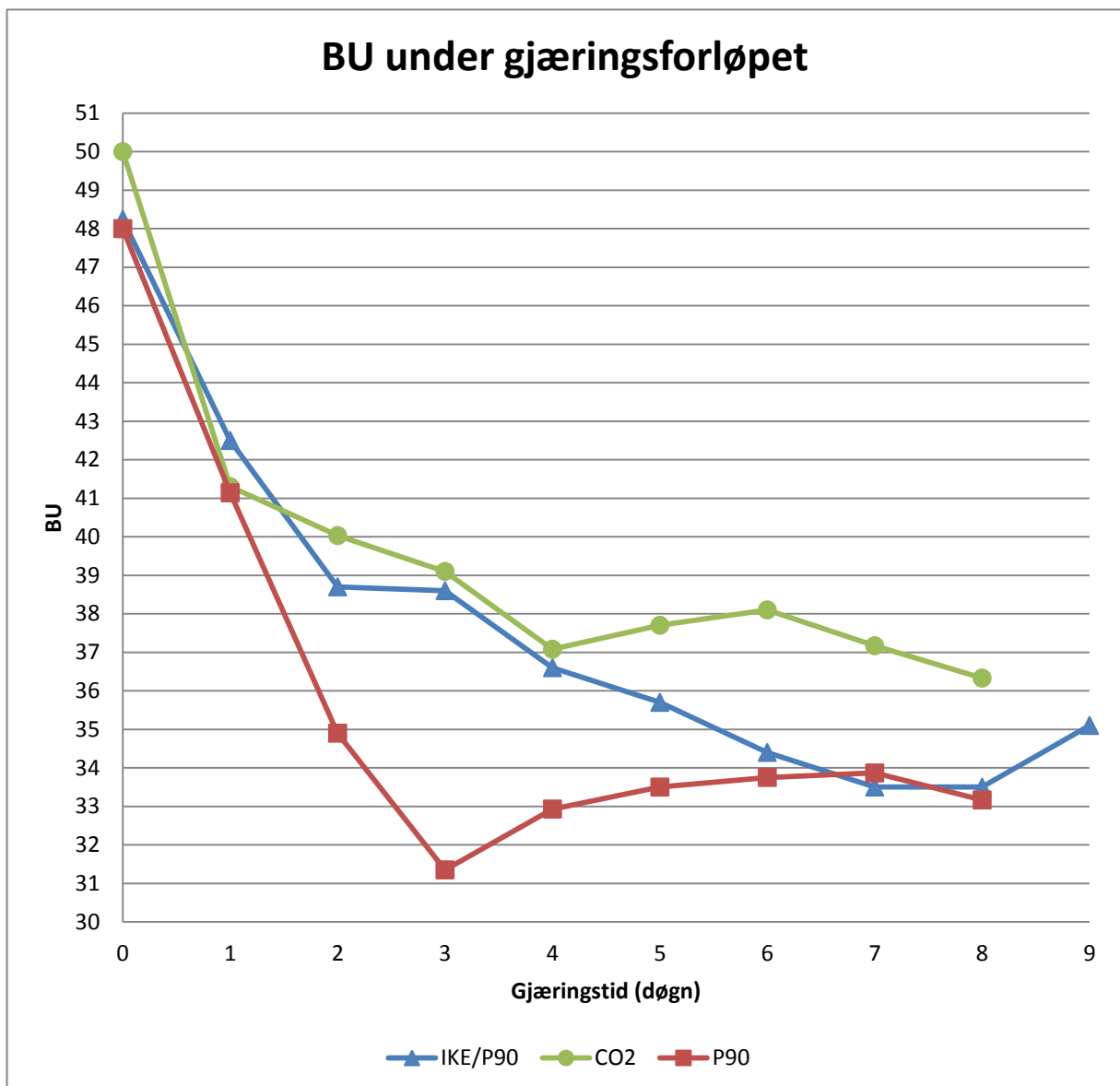


Figur 4.1. Bryggenes temperaturforløp ($^{\circ}\text{C} \times 10$), pH-forløp ($\text{pH} \times 10$), og innholdet av alkohol ($\% \text{ vol} \times 10$), ekstrakt ($\% \text{ P} \times 10$), gjærceller (mill. celler pr. ml.) og diacetyl (ppb $\times 100$) under gjæringen. Kaldvørterens verdier vises ved dag 0.

Resultatene fra gjæringsforløpet viser at det ikke var store variasjoner i de tre bryggens temperatur-, pH- og alkoholforløp, og at innholdet av gjærceller var omtrent likt.

Ekstraktinnholdet og pH var noe lavere for kaldvørteren med IKE/pellets, men forskjellene var ikke store. Innholdet av diacetyl varierte mest blant bryggene, men ved endt gjæring var innholdet omtrent på samme nivå.

Under gjæringen ble BU analysert daglig, ved bruk av spektrofotometer. De tre bryggens BU-forløp fra kaldvørter til endt gjæring vises i Figur 4.2.



Figur 4.2. Bryggens BU-forløp, fra vørter til ferdiggjæret øl. Kaldvørterens BU vises ved dag 0.

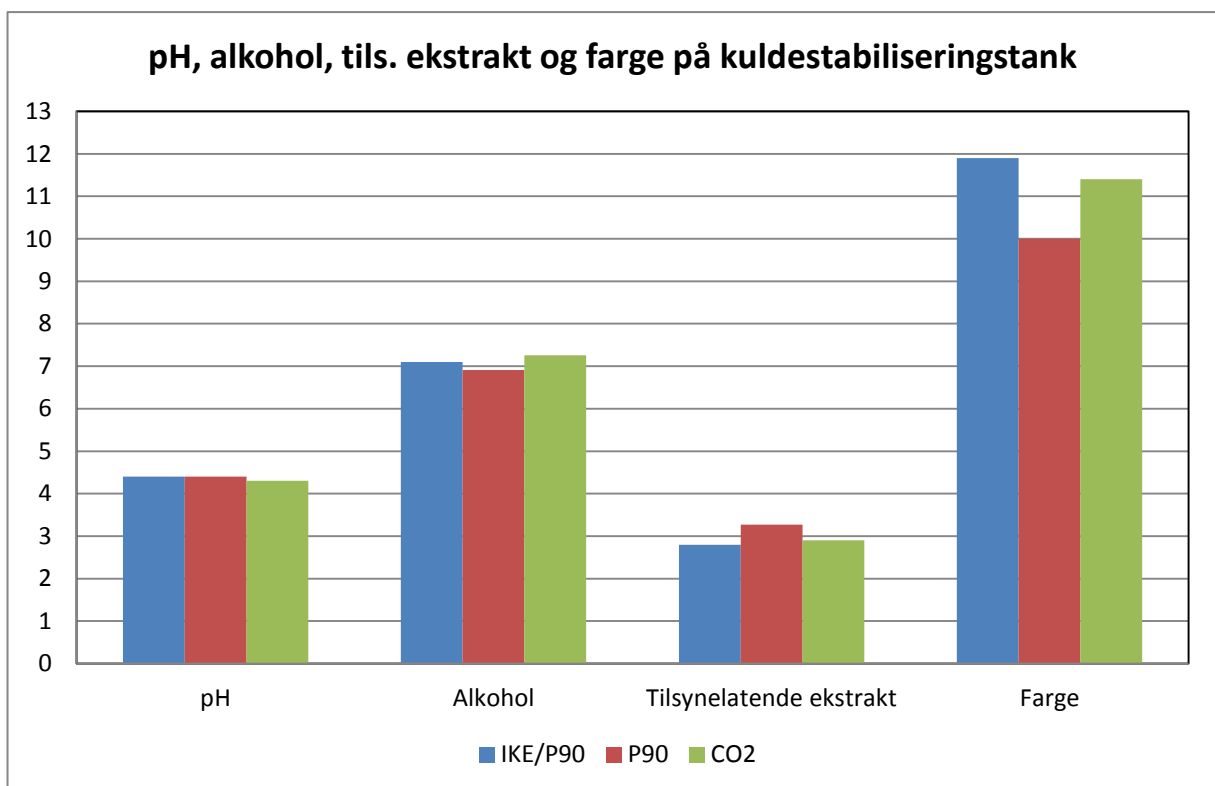
Resultatene fra BU-forløpet viser at BU gikk raskest, og mest ned for brygget med ren pellets. BU var også lavest for dette brygget ved endt gjæring. Brygget med CO₂-ekstrakt hadde høyest BU både før gjærtilsetning og etter endt gjæring, men forskjellene mellom bryggene var ikke store. Både for kaldvørter og brygg ved endt gjæring var den største forskjellen mellom brygget med CO₂-ekstrakt og brygget med ren pellets, med en forskjell på henholdsvis 2 BU i kaldvørter og 3 BU ved endt gjæring.

Nedgangen i BU var størst ved begynnelsen av gjæringen, men etter cirka 3 gjæringsdøgn var BU-forløpet blitt mer stabilt. I brygget med IKE/pellets økte BU med cirka 1,5 BU fra nest siste til siste gjæringsdøgn.

Rådata brukt til fremstilling av figurene for analysene under gjæring vises i Vedlegg 1.

4.2 Analyser på kuldestabiliseringstank

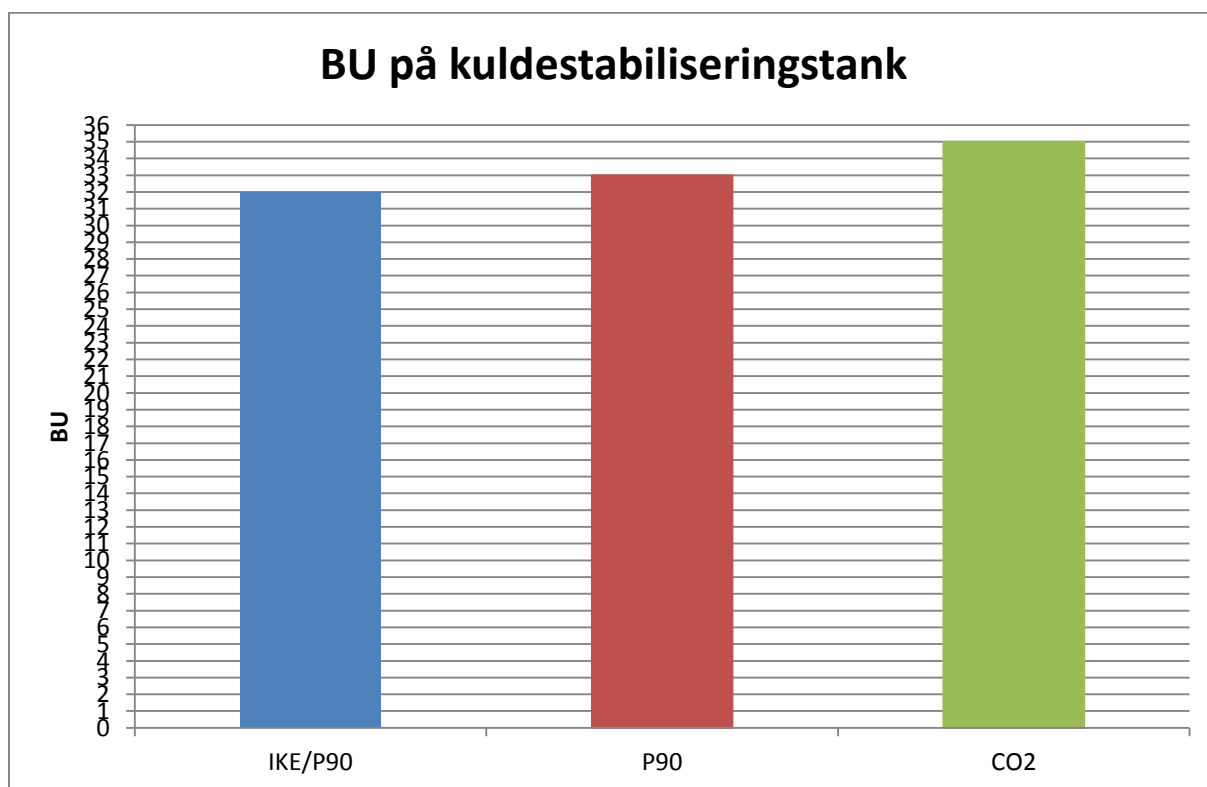
Da bryggene var på kuldestabiliseringstank, ble det analysert for pH, farge, alkoholinnhold og innholdet av tilsynelatende (tils.) ekstrakt. Resultatene fra analysene vises i Figur 4.3.



Figur 4.3. pH, alkoholinnhold (% vol), tilsynelatende (tils.) ekstraktinnhold (% P) og farge (EBC) for bryggene på kuldestabiliseringstank.

Figur 4.3 viser at pH og alkoholinnhold var tilnærmet likt for de tre bryggene på kuldestabiliseringstank. Brygget med ren pellets skiller seg ut ved å ha et noe lavere fargetall, og et noe høyere ekstraktinnhold.

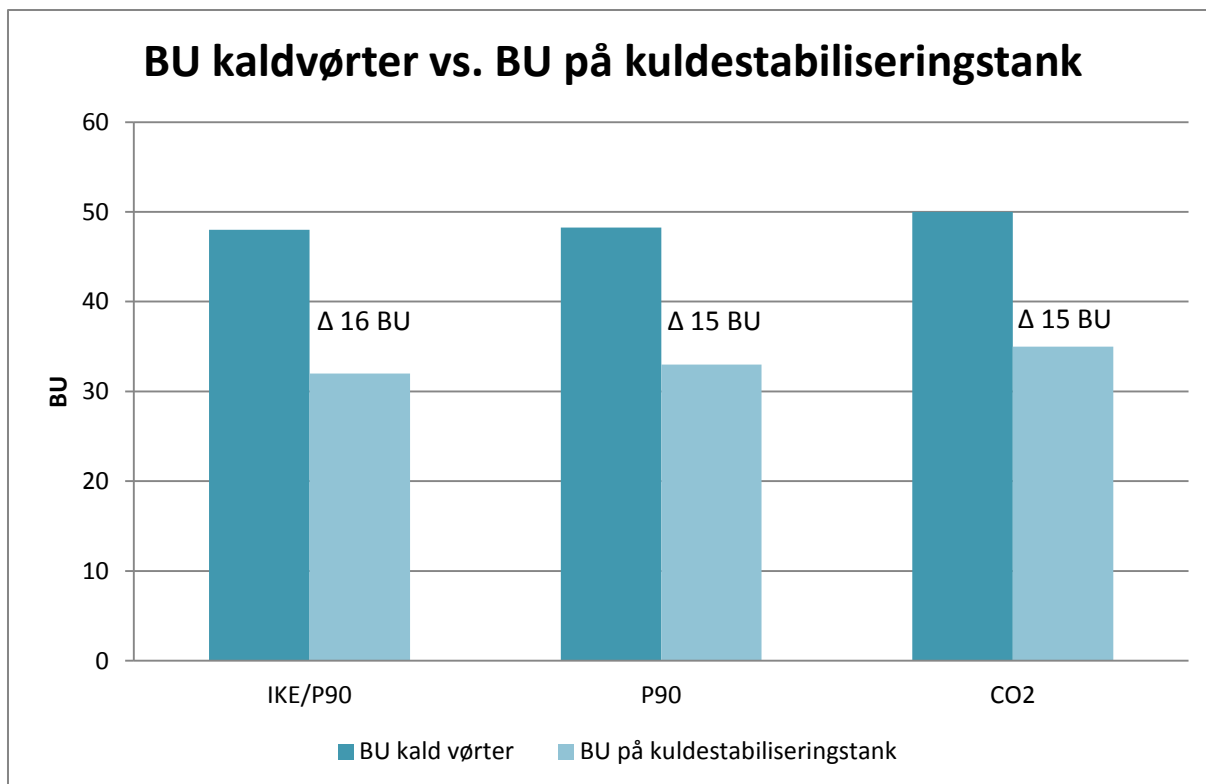
Også BU ble analysert av bryggene på kuldestabiliseringstank. Resultatene fra analysen vises i Figur 4.4.



Figur 4.4. BU for bryggene på kuldestabiliseringstank.

Resultatene i Figur 4.4 viser at BU fremdeles var høyest for brygget med CO₂-ekstrakt på kuldestabiliseringstank. Lavest BU ble målt i brygget med IKE/pellets. Det var fortsatt ingen store forskjeller mellom nivåene av BU for bryggene.

Figur 4.5 viser både BU i kaldvørter og BU i bryggene på kuldestabiliseringstank, og illustrerer hvor stor nedgang i BU det var for hvert brygg.



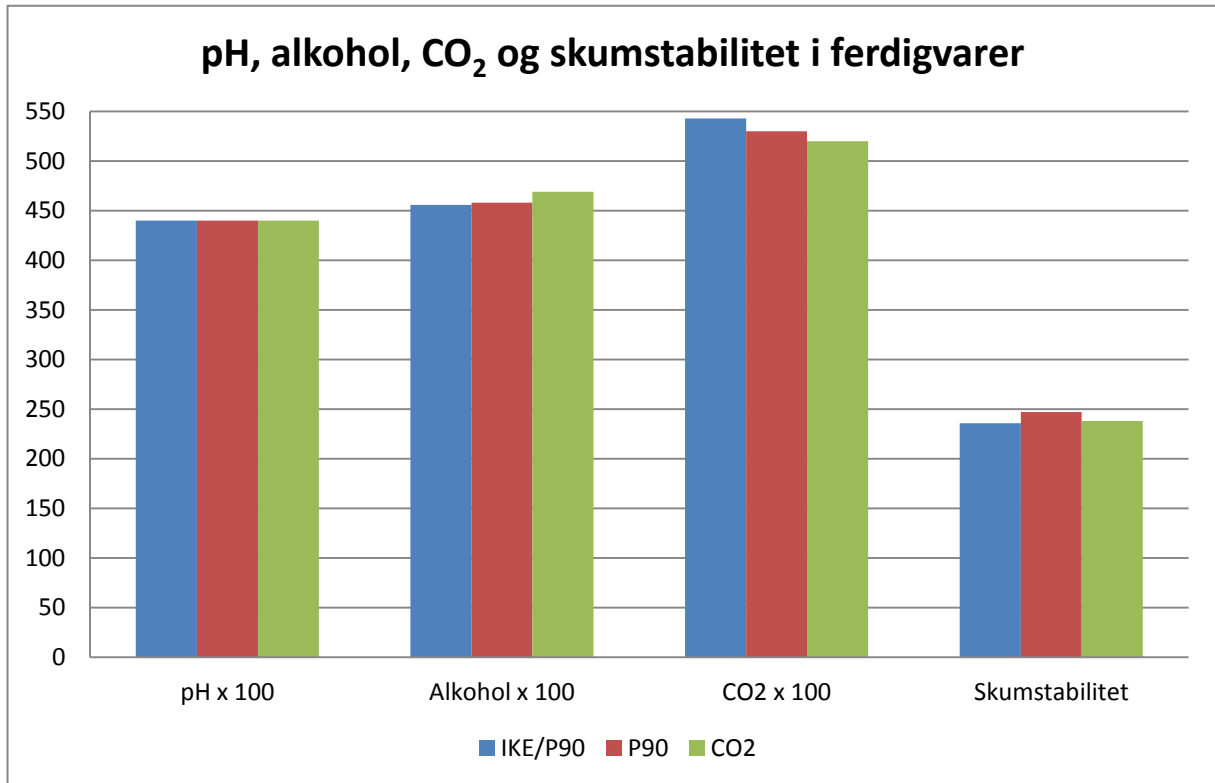
Figur 4.5. BU kaldvørter vs. BU på kuldestabiliseringstank. Δ = nedgangen i BU fra kaldvørter til kuldestabiliseringstank.

Figur 4.5 viser BU for kaldvørter og BU i bryggene på kuldestabiliseringstank. Figuren viser at det var størst nedgang i BU fra kaldvørter til kuldestabiliseringstank for brygget med IKE/pellets (fra 48 BU til 32 BU), men nedgangen var omtrent like stor for de to andre bryggene.

Rådata brukt til fremstilling av figurer for analyseresultatene fra kuldestabiliseringstank foreligger som Vedlegg 2.

4.3 Analyser av ferdigvarer

Alkoholinnhold, pH, skumstabilitet og CO₂-innhold i ferdigvarene ble analysert. Resultatene fra analysene vises i Figur 4.6. Verdiene for pH, alkohol- og CO₂-innhold er multiplisert med 100 for å få et mer oversiktelig diagram.

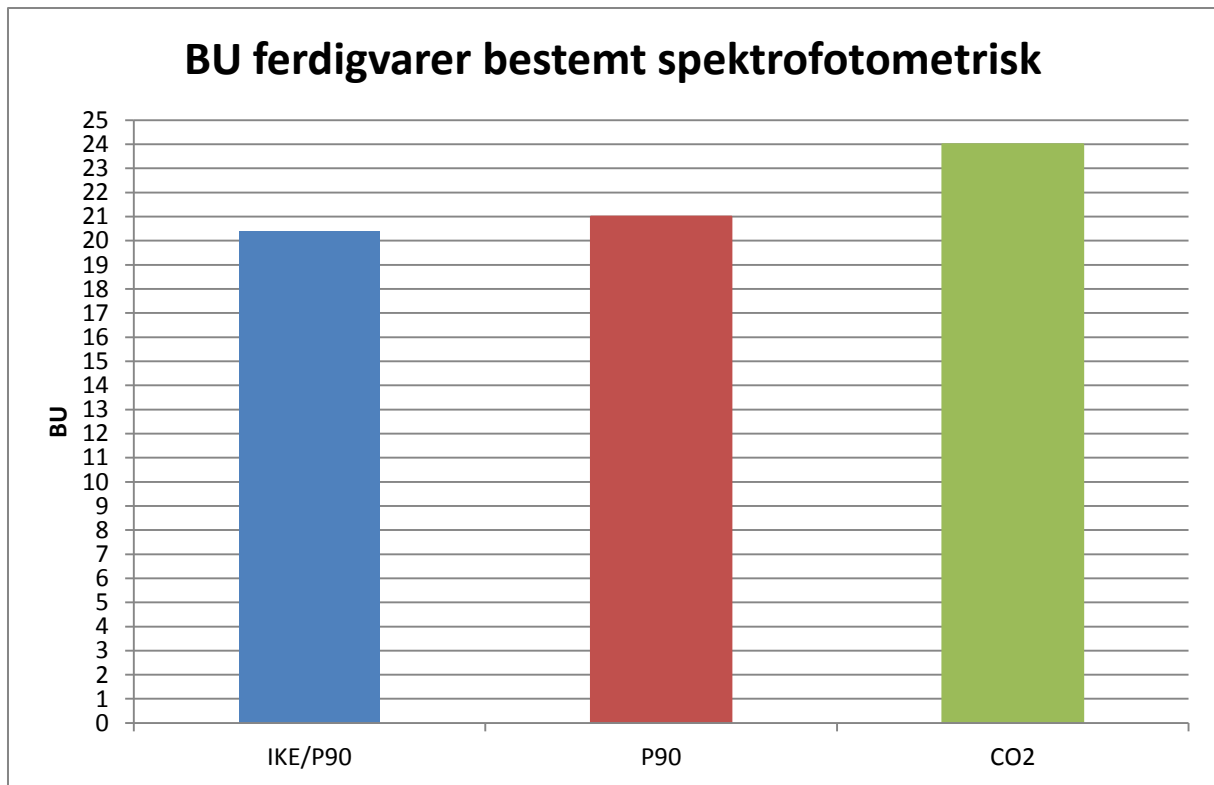


Figur 4.6. pH ($\times 100$), alkoholinnhold (% vol $\times 100$), CO₂-innhold (g/l $\times 100$) og skumstabilitet (s) i ferdigvarene.

Figur 4.6 viser at pH var helt identisk for de tre ferdigvarene. Alkoholinnholdet var noe høyere for brygget med CO₂-ekstrakt enn de to andre bryggene, men forskjellene var små. CO₂-innholdet var høyest i brygget med IKE/pellets, og lavest i brygget med CO₂-ekstrakt. Skumstabiliteten var noe høyere for brygget med ren pellets.

Alt i alt var det ingen, eller svært små forskjeller blant ferdigvarene, med hensyn til pH, skumstabilitet, alkohol- og CO₂-innhold.

BU i ferdigvarene ble analysert spektrofotometrisk, og resultatene vises i Figur 4.7.



Figur 4.7. BU i Ringnes Pils med IKE/pellets (P90), ren pellets og CO₂-ekstrakt.

Figur 4.7 viser at BU var høyest for brygget med CO₂-ekstrakt, og lavest for brygget med IKE/pellets. Det skilte cirka 3,5 BU mellom disse to bryggene.

Rådata brukt til fremstilling av analyseresultatene på ferdigvarer, utført ved Ringnes Bryggeri laboratorium, kan sees i Vedlegg 3.

Det faktiske utbyttet til de ulike humleproduktene, fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer i vørter til kaldvørter, til kuldestabiliseringstank og til ferdigvare, ble regnet ut med utgangspunkt i analyseresultatene fra BU-analysene. Ved utregningen ble det tatt hensyn til nedgangen i ekstraktinnhold (% Plato) fra kuldestabiliseringstank til ferdigvare, som følge av nedbryggingen. Resultatene vises i Tabell 4.1.

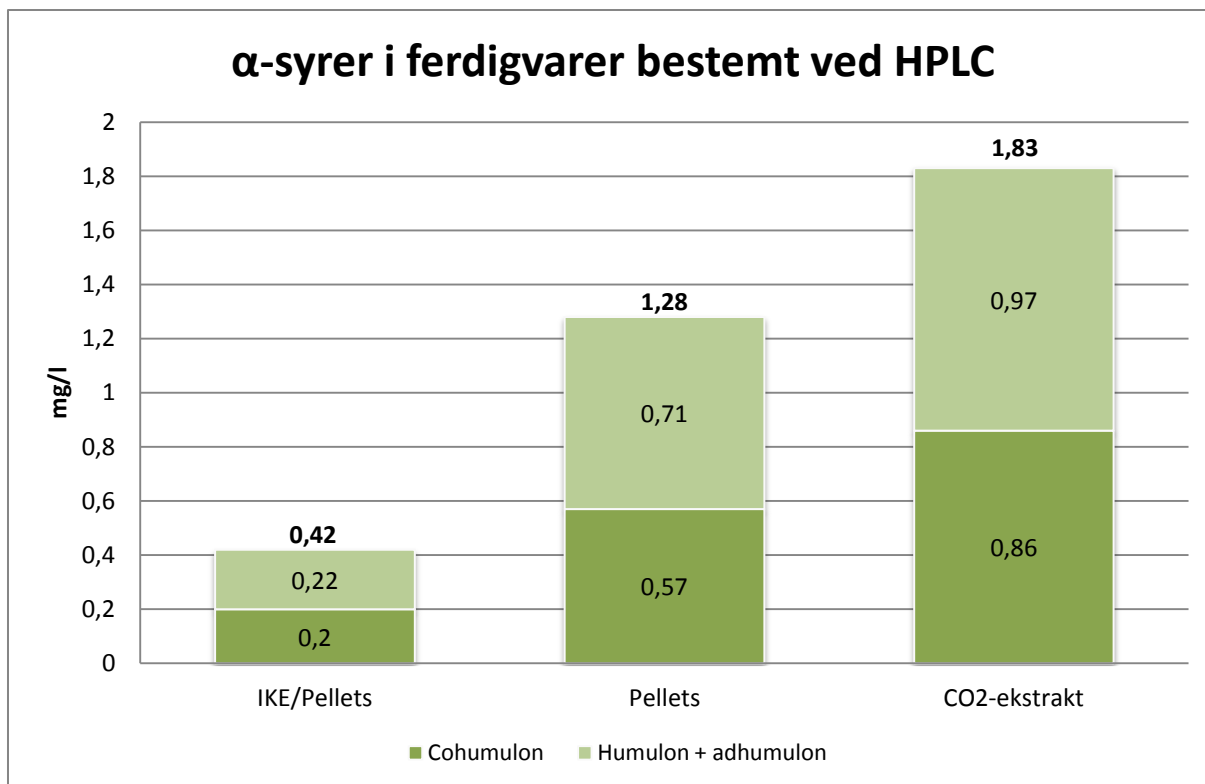
Tabell 4.1. Utbyttet av hvert enkelt humleprodukt, fra tilsetning til ferdigvarer, beregnet ut i fra BU-resultater, analysert spektrofotometrisk og innholdet av ekstrakt (% P).

Parametre	Brygg 1 IKE/pellets*	Brygg 2 Pellets	Brygg 3 CO ₂ -ekstrakt
Volum per brygg (l)	42523	40870	40815
α -/iso- α -syreer tilsatt vørter (kg)	3,5	4,5	4,5
α -/iso- α -syreer tilsatt vørter (mg/l)	82	110	110
Ekstraktinnhold i vørter t.o.m. kuldestabiliseringstank (% P)	15,8	16,2	15,9
BU kaldvørter	48	48	50
Utbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syreer til kaldvørter (%)	58	44	45
BU kuldestabiliseringstank	32	33	35
Utbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syreer til kuldestabiliseringstank (%)	39	30	32
Nedgang BU kaldvørter til BU kuldestabiliseringstank (mg/l)	16	15	15
Ekstraktinnhold ferdigvare (% P)	10,4	10,7	10,5
BU ferdigvare	20,4	21	24
Differansen i BU fra kuldestabiliseringstank til ferdigvare	- 0,7	- 0,8	+ 1,0
Totalutbytte fra tilsatt mengde α-/iso-α-syreer (BU) til BU ferdigvare (%)	38	29	33

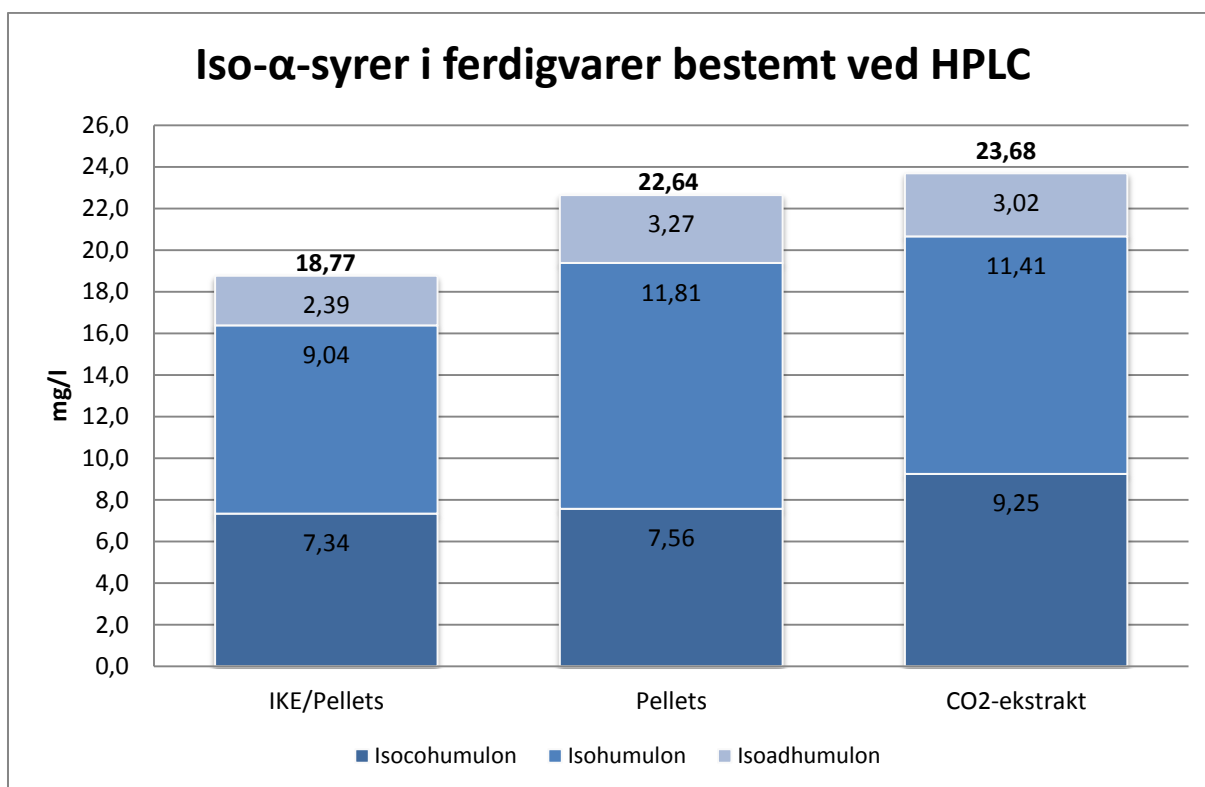
* BU er multiplisert med analysefaktor 1,2.

Tabell 4.1 viser at utbyttet av bitterkomponentene var høyest i brygget tilsatt IKE/pellets, og lavest i brygget tilsatt ren pellets, i kaldvørter, på kuldestabiliseringstank og i ferdigvarene.

Innholdet og nivået av de enkelte α - og iso- α -syrene i ferdigvarene ble analysert ved hjelp av HPLC, ved Brasseries Kronenbourg laboratorium. Resultatene fra analysene vises henholdsvis i Figur 4.8 og 4.9.



Figur 4.8. Totalinnholdet av α-syrer (mg/l), og fordelingen av de enkelte α-syrehomologene.



Figur 4.9. Totalinnholdet av iso-α-syrer (mg/l), og fordelingen av de enkelte iso-α-syrehomologene.

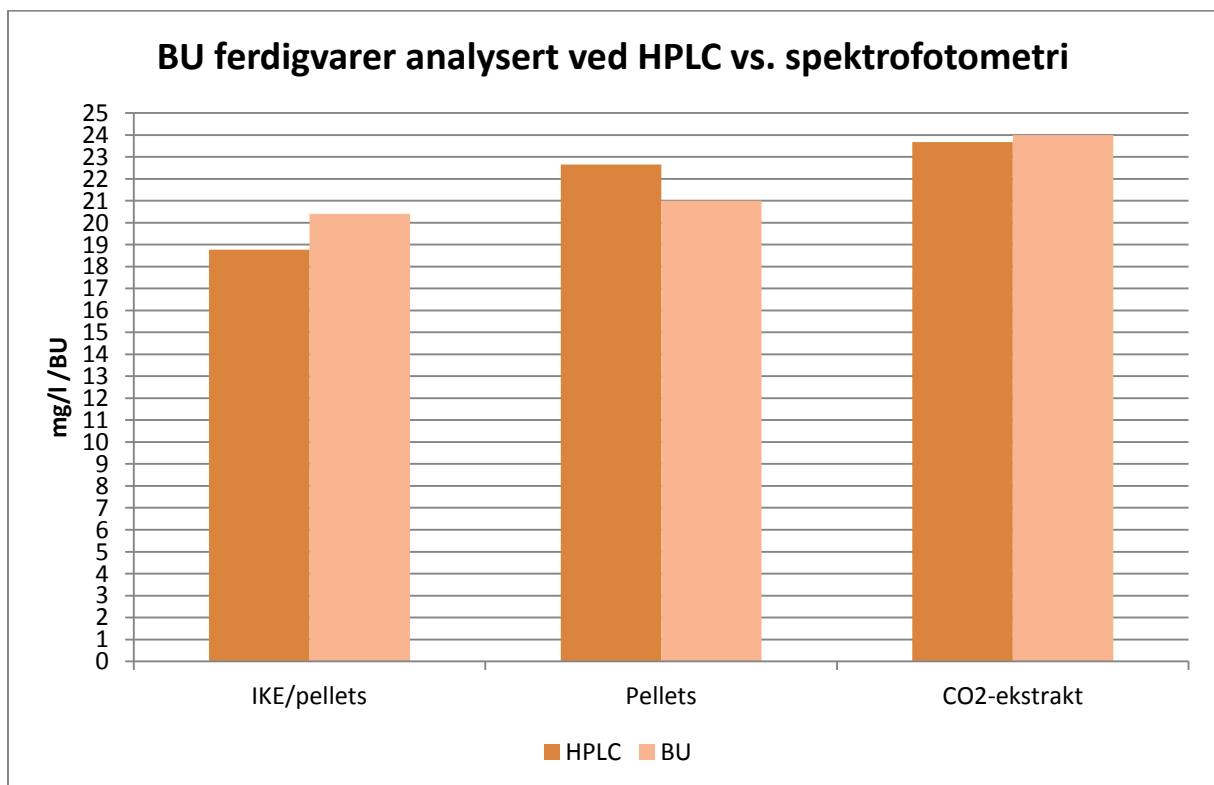
Figur 4.8 og 4.9 viser at innholdet av α -syrer, iso- α -syrer og totalinnholdet av α - og iso- α -syrer i ferdigvaren med CO₂-ekstrakt var høyere enn både ferdigvaren med IKE/pellets og ferdigvaren med ren pellets. Lavest innhold av α -syrer, iso- α -syrer og totalt α - og iso- α -syrer var i ferdigvaren med IKE/pellets.

Sammenlignet med de to andre ferdigvarene, hadde ferdigvaren med ren pellets lavest andel av α -/iso- α -syrehomologene cohumulon/isocohumulon, men høyest andel av homologene humulon/isohumulon og adhumulon/isoadhumulon, av totalt α - og iso- α -syreinnhold.

Fordelingen av de ulike homologene av α -/iso- α -syrene var tilnærmet likt for ferdigvaren med IKE/pellets og ferdigvaren med CO₂-ekstrakt.

Innholdet av isohumulon og isoadhumulon i mg/l var høyest i ferdigvaren med ren pellets, mens innholdet av isocohumulon var høyest i ferdigvaren med CO₂-ekstrakt. Sistnevnte ferdigvare inneholdt også mest av samtlige α -syrehomologer.

Det ble utført analyser av BU ved både spektrofotometrisk og kromatografisk (HPLC) metode. Resultatene fra de to analysemetodene ble sammenlignet, og er illustrert i Figur 4.10. α -syrene i ferdigvarene, analysert ved HPLC er ikke tatt med i sammenligningen.



Figur 4.10. BU analysert ved HPLC (mg/l) og spektrofotometrisk ved 275 nm (BU).

Figur 4.10 viser at det var forskjeller i resultatene for BU målt ved HPLC og BU målt spektrofotometrisk. Det var større forskjeller blant resultatene for bittersyreinnholdet blant ferdigvarene ved HPLC-analysen, enn ved BU-analysen.

For ferdigvaren med IKE/pellets var resultatet for BU lavere for HPLC-analysen enn resultatene for den spektrofotometriske metoden. For ferdigvarene med ren pellets og CO₂-ekstrakt var forholdet omvendt. For disse ferdigvarene var BU målt høyest ved HPLC-analysen.

Totalutbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer, analysert spektrofotometrisk (BU), til iso- α -syrer i ferdigvarer, analysert ved hjelp av HPLC, ble regnet ut og sammenlignet med utbyttet beregnet ut i fra BU-analysene av ferdigvarene. Resultatene er oppgitt i tabell 4.2.

Tabell 4.2. Totalutbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer (BU) til BU ferdigvarer (%), fra α -/iso- α -syrer (BU) til mengde α -/iso- α -syrer ferdigvare (HPLC) (%), og fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer (BU) til mengde iso- α -syrer ferdigvare (HPLC) (%) i de tre bryggene.

Utbytte	Brygg 1 IKE/pellets	Brygg 2 Pellets	Brygg 3 CO ₂ -ekstrakt
Totalutbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer (BU) til BU ferdigvare (%)	38	29	33
Totalutbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer (BU) til mengde α - og iso- α -syrer ferdigvare (HPLC) (%)	35	33	35
Totalutbytte fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer (BU) til mengde iso- α -syrer ferdigvare (HPLC) (%)	35	31	33

Tabell 4.2 viser at utbyttet beregnet ved hjelp av BU-resultatet ved tilsetning og HPLC-resultatet i ferdigvare når α -syrene ble inkludert var høyere enn ved utregning basert på kun BU-resultater for bryggene med CO₂-ekstrakt og ren pellets. I samme situasjon var utbyttet lavere for brygget med IKE/pellets.

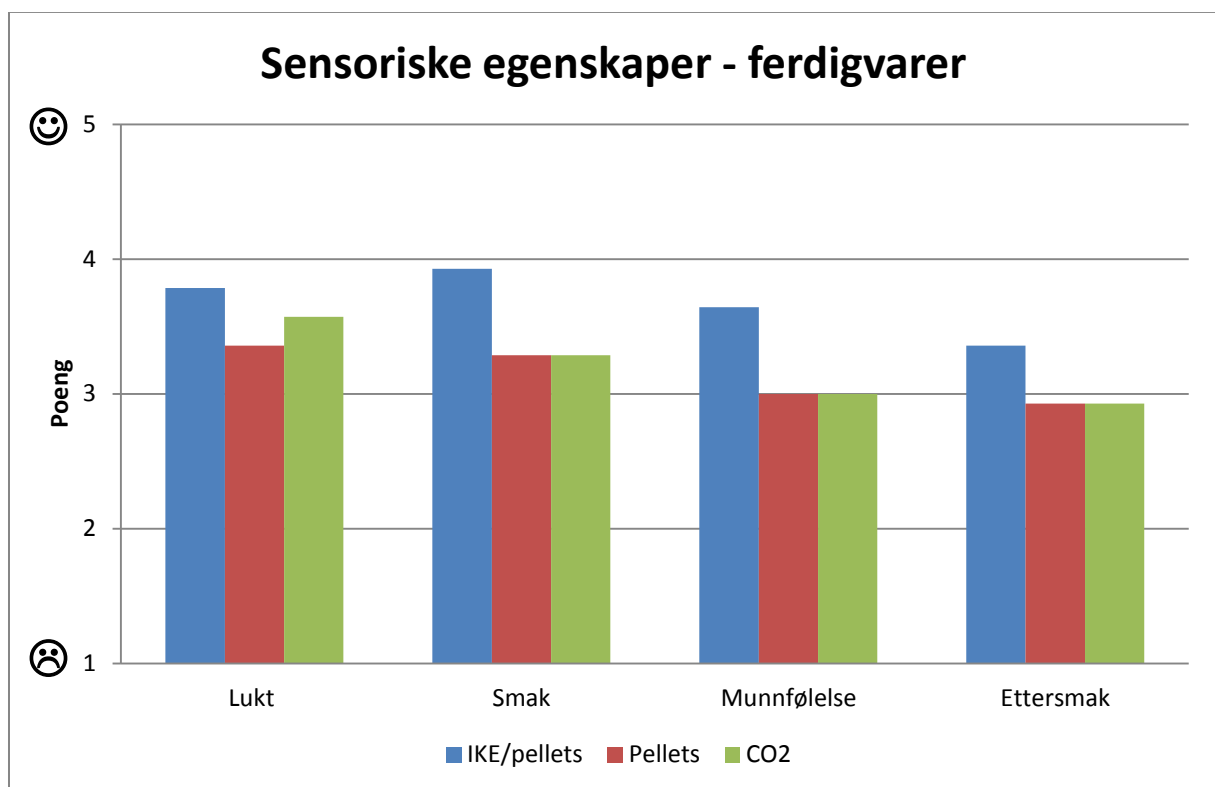
Utbyttet beregnet fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer (BU) til mengde iso- α -syrer ferdigvare (HPLC), det vil si da α -syrene ikke ble inkludert, var høyere enn utbyttet beregnet kun basert

på BU-resultater for brygget med ren pellets. For bryggene med CO₂-ekstrakt og IKE/pellets var utbytteresultatet henholdsvis det samme og lavere.

Alle analyseresultatene brukt til utregninger og utforming av figurer, i tillegg til kalibreringskurven for bestemmelsen av mengden iso- α -syrer vises i Vedlegg 3 og 4.

4.4 Sensoriske analyser

Det ble utført en analyse av de sensoriske preferansene i ferdigvarene, ved hjelp av Ringnes sensoriske panel. Paneldeltakerne fikk utdelt et svarskjema, der de først ble bedt om å bedømme egenskapene, lukt, smak, munnfølelse og ettersmak på en skala fra 1 til 5, der 1 var ”liker ikke i det hele tatt”, og 5 var ”liker svært godt”, ut i fra memorystandarden av Ringnes Pils. Deltagernes gjennomsnittsbetømmelse av egenskapene for de tre ferdigvarene, vises i Figur 4.11.

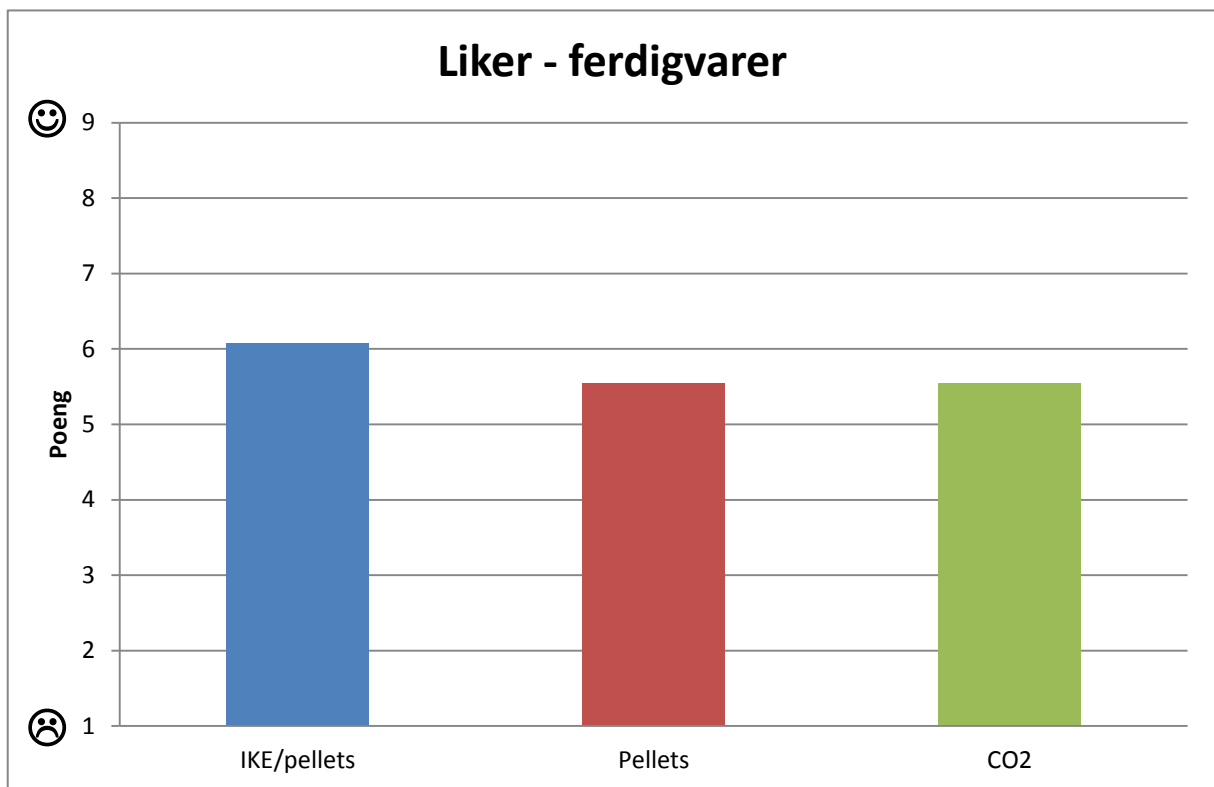


Figur 4.11. Gjennomsnittsbetømmelse av egenskapene lukt, smak, munnfølelse og ettersmak av de tre ferdigvarene. 1 = liker ikke i det hele tatt, 2 = liker ganske dårlig, 3 = verken liker/ikke liker, 4 = liker ganske godt og 5 = liker veldig godt, ut i fra memorystandarden av Ringnes Pils.

Figur 4.11 viser at ferdigvaren med IKE/pellets kom best ut ved bedømmelsen av samtlige egenskaper, og det var spesielt smaken som ble best likt. For egenskapene smak, munnfølelse og ettersmak, ble ferdigvarene med ren pellets og CO₂-ekstrakt gjennomsnittlig bedømt likt.

I del to av det første spørsmålet på svarskjemaet, ble dommerne bedt om å bedømme hvor godt de likte ølet totalsett, med utgangspunkt i Ringnes Pils memorystandarden.

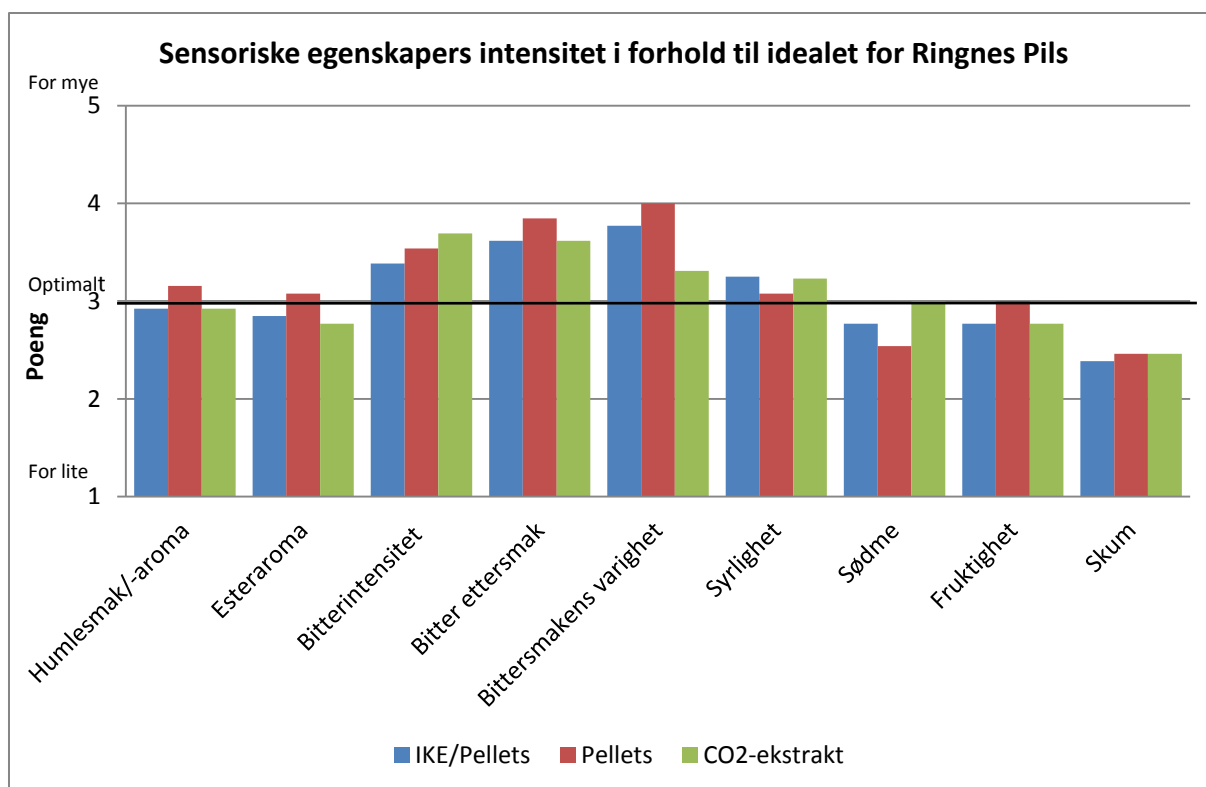
Gjennomsnittresultatene fra deltagerens bedømmelse på hvor godt de likte ølet totalsett, på en skala fra 1 til 9, der 1 = dårligst og 9 = best, vises i Figur 4.12.



Figur 4.12. Gjennomsnittbedømmelse for hvor godt deltagerne likte ferdigvarene, hvor 1 = dårligst og 9 = best.

Figur 4.12 viser at samtlige ferdigvarer ble relativt godt likt som Ringnes Pils. Ferdigvaren med IKE/pellets ble i gjennomsnitt best likt. Én av dommerne ble forkastet på grunn av manglende svar på dette spørsmålet.

I neste spørsmål på svarskjemaet ble dommerne bedt om å bedømme ferdigvarene for ulike egenskaper på en skala fra 1 til 5, der 1 = helt klart ikke nok, 2 = ikke nok, 3 = optimalt, 4 = for mye og 5 = helt klart for mye av egenskapen, i forhold til dommernes idealintensitet for de enkelte egenskapene. Gjennomsnittresultatene fra bedømmelsen vises i Figur 4.13.



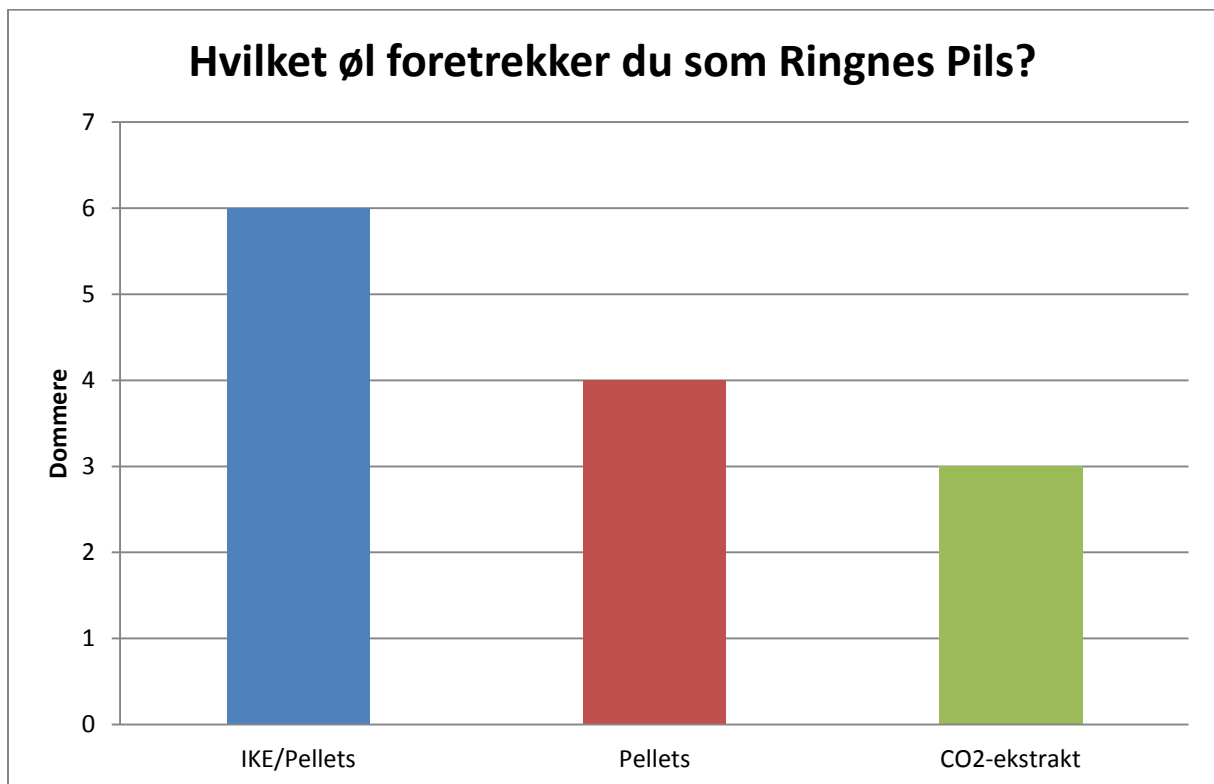
Figur 4.13. Gjennomsnittsbedømmelsen av ulike egenskaper, ettersom paneldeltagerne syntes ferdigvaren hadde fort lite, akkurat passe, eller for mye av egenskapen. 1 = helt klart ikke nok, 2 = ikke nok, 3 = optimalt, 4 = for mye og 5 = helt klart for mye.

Figur 4.13 viser at intensiteten av egenskapen humlesmak/-aroma var like nært optimum for samtlige ferdigvarer. For esteraroma lå ferdigvaren med ren pellets nærmest optimalintensitet. Når det gjaldt bitterintensitet, bitter ettersmak og bittersmakens varighet, ble samtlige ferdigvarer bedømt til å ha mer enn optimalt av disse egenskapene. For egenskapen bitterintensitet, ble ferdigvaren med IKE/pellets bedømt til å være nærmest det optimale, mens ferdigvaren med CO₂-ekstrakt kom dårligst ut. For egenskapen bitter ettersmak kom ferdigvaren med pellets dårligst ut (nesten ”for mye”), mens ferdigvarene med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt lå like langt fra, men nærmere det optimale. Intensiteten av bittersmakens varighet ble bedømt til å være for mye for ferdigvaren med ren pellets, og nærmest optimalintensitet for ferdigvaren med CO₂-ekstrakt. Når det gjaldt intensiteten av syrlighet ble ferdigvaren med ren pellets bedømt til å ligge nærmest det optimale, mens ferdigvarene med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt ble vurdert til å ha noe mer enn optimalt av denne egenskapen. Både ferdigvaren med IKE/pellets og ren pellets ble bedømt til å ha mindre sødme enn det som er optimalt, mens ferdigvaren med CO₂-ekstrakt ble bedømt til å ha optimalt sødmeintensitet. Ferdigvaren med ren pellets ble vurdert til å ha optimal fruktighetsintensitet, og ferdigvarene med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt ble vurdert til å ha noe mindre enn optimalt

av denne egenskapen. Samtlige ferdigvarer ble bedømt til å ha mindre skum enn optimalt, der brygget med IKE/pellets kom dårligst ut.

Én av dommerne besvarte ingen av disse spørsmålene. Denne deltageren ble derfor forkastet under databehandlingen av analyseresultatene.

Paneldommerne ble til slutt bedt om å angi hvilken ferdigvare de foretrakk som Ringnes Pils. Resultatene vises i Figur 4.14.



Figur 4.14. Antall dommere som foretrakk ferdigvaren med IKE/pellets, ren pellets, eller CO₂-ekstrakt som Ringnes Pils.

Figur 4.14 viser at de fleste dommerne foretrakk ferdigvaren med IKE/pellets som Ringnes Pils. Noe færre dommere foretrakk ferdigvaren med ren pellets, mens færrest dommere foretrakk ferdigvaren med CO₂-ekstrakt. Én av deltagerne krysset av for at han/hun likte to av ølene. Svaret fra denne deltageren på dette spørsmålet ble derfor forkastet.

Rådata brukt til fremstilling av figurer og tabeller for test av sensoriske preferanser vises i Vedlegg 6.

I tillegg til analysen av de sensoriske preferansene, ble det utført tre triangeltester for å undersøke om det var en signifikant forskjell mellom ferdigvarene. Analysen ble utført ved hjelp av Ringnes sensoriske panel, bestående av 20 paneldommere. Resultatene fra triangeltestene vises i Tabell 4.3.

Tabell 4.3. Oversikt over resultater fra triangeltestene av ferdigvarene. IS = ikke signifikant, S = signifikant ($P < 0,005$), dvs. min. 95 % sikkerhet.

Test	Prøvekombinasjon		Ant. dommere	Minst ant. korrekte identifikasjoner	Ant. korrekte identifikasjoner	Signifikant
1	IKE/pellets	Pellets	20	11	5	IS
2	Pellets	CO ₂	20	11	10	IS
3	IKE/pellets	CO ₂	20	11	8	IS

Tabell 4.3 viser at det ikke var nok dommere som klarte å identifisere riktig prøve til at resultatet ble signifikant ved et signifikansnivå på 5 %. Nullhypotesen om at bryggene kjentes like, kunne dermed ikke forkastes.

En tabell som viser antall korrekte identifikasjoner som er nødvendige for signifikans på forskjellige nivåer ved triangeltest vises i Vedlegg 7.

4.5 Kostnader humleprodukter

De årlige humlekostnadene for hvert av humleproduktene ble sammenlignet ved å regne ut kostnadene for det volumet av Ringnes baseøl som brygges hvert år. Det ble tatt utgangspunkt i bryggvolumet av Ringnes baseøl for de tolv siste månedene. Volumet ble oppgitt på e-post fra prosessavdelingen ved Ringnes AS. Prisen for humleproduktene ble tilsendt via e-post fra innkjøpsavdelingen ved Ringnes. Utbyttet (%) for hver av humletilsetningene, fra tilsatt mengde α - og iso- α -syrer i vørteren til iso- α -syrer på kuldestabiliseringstank, er tidligere blitt regnet ut, basert på tilsatt mengde iso- α -syrer til vørter og BU-analyseresultatene fra kuldestabiliseringstank. Utbyttet fra tilsatt mengde iso- α -syrer til vørter til kuldestabiliseringstank omtales heretter bare som utbytte (%).

For å finne de årlige kostnadene for pellets og CO₂-ekstrakt måtte først prisen per kilo ”effektive” iso- α -syrer (NOK/kg iso- α -syrer) i kuldestabiliseringstank regnes ut. Dette ble gjort ved å multiplisere prisen per kilo iso- α -syrer (NOK/kg iso- α -syrer) i humleproduktet, med det faktiske utbyttet (%). For pellets, CO₂-ekstrakt og blandingen IKE/pellets var utbytteprosenten, som allerede nevnt, regnet ut tidligere. Etersom IKE var i en blanding med pellets, måtte utbyttet for IKE alene regnes ut, før en kunne finne prisen per kilo ”effektive” iso- α -syrer for IKE. Denne informasjonen var nødvendig for videre å kunne beregne den årlige prisen for humleproduktblandingens IKE/pellets, der 50 % av iso- α -syrebidraget kommer i fra IKE, og 50 % fra pellets. Videre følger en gjennomgang av hvordan disse beregningene ble utført.

Mengden α -syrer fra pelletsdelen (kg) og mengden iso- α -syrer fra IKE-delen (kg) tilsatt vørteren ble regnet ut ved å multiplisere mengden humleprodukt tilsatt vørteren (kg) med innholdet av henholdsvis α - og iso- α -syrer (%) som var oppgitt på følgeseddelen til humleproduktene. Utrengnet mengde α -syrer fra pellets og iso- α -syrer fra IKE ble addert for å finne totalmengden α -/iso- α -syrer i IKE/pelletsblandingens, tilsatt vørteren. Mengden iso- α -syrer fra IKE/pellets på kuldestabiliseringstank (kg) ble deretter regnet ut ved å multiplisere totalmengden α -/iso- α -syrer (kg) med utbyttet (%). Det samme ble gjort for kun pelletsdelen (kg α -syrer tilsatt vørteren \times utbyttet fra tilsatt vørter til kuldestabiliseringstank (%)), under forutsetningen av at utbyttet var det samme som i brygget med ren pellets. På grunnlag av disse resultatene kunne mengden iso- α -syrer fra kun IKE-delen regnes ut ved å subtrahere mengden iso- α -syrer fra IKE/pellets fra mengden iso- α -syrer fra kun pelletsdelen. Dermed kunne utbyttet av iso- α -syrene fra tilsatt vørter til kuldestabiliseringstank for kun IKE-delen

regnes ut (kg iso- α -syrer på kuldestabiliseringstank \times 100 / kg iso- α -syrer tilsatt vørteren).

Resultatene fra disse beregningene er oppført i Tabell 4.4.

Tabell 4.4. Utregningsresultater benyttet for å komme frem til utbyttet av iso- α -syrer, fra tilsatt vørter til kuldestabiliseringstank, i humleproduktet IKE.

	IKE	Pellets
Humleprodukt tilsatt vørteren (kg)	2,8	17
Iso-/ α -syrer i produktet (%)*	54,3	12,1
Iso-/ α -syrer tilsatt vørter (kg)	1,52	2,06
Totalt iso-/ α -syrer tilsatt vørteren fra IKE/pellets (kg)	3,58	
	IKE	Pellets
Utbytte for IKE og for pellets (%)	51	30**
Iso- α -syrer fra IKE og pellets på kuldestabiliseringstank (kg)	0,78	0,62
	IKE/pellets	
Totalt iso- α -syrer fra IKE/pellets på kuldestabiliseringstank (kg)	1,40	
Totalutbytte for IKE/pellets (%)*	39**	

* Oppgitt på følgeseddelen.

** Beregnet ut i fra den spektrofotometriske BU-analysen.

Prisen per kilo effektive iso- α -syrer fra IKE på kuldestabiliseringstank kunne nå regnes ut på lik linje som for humleproduktene pellets og CO₂-ekstrakt. For å finne prisen per kilo iso- α -syrer fra blandingen IKE/pellets (50/50 med hensyn på iso- α -syrebidrag), ble prisen per kilo iso- α -syrer fra både IKE og pellets dividert på to, før kvotientene ble addert. Resultater fra utregningene er vist i Tabell 4.5.

Tabell 4.5. Prisen per kilo effektive iso- α -syrer på kuldestabiliseringstank fra hvert humleprodukt.

	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt
Pris pr. kg α -syrer (NOK)	625	625	670
Faktisk utbytte α -syrer (%)	30	30	32
Pris pr. kg iso- α -syrer (NOK)	706	-	-
Faktisk utbytte iso- α -syrer (%)	51	-	-
Prisen pr. kg effektive iso- α -syrer på kuldestabiliseringstank (NOK/kg iso- α -syrer)	1734	2083	2093

For å finne mengden iso- α -syrer som må tilsettes vørteren per år, ble volumet av Ringnes baseøl per år multiplisert med mengden iso- α -syrer som må tilsettes per liter for å oppnå en BU på cirka 24 i ferdigvaren. Det ble tatt hensyn til forskjellene i ekstraktinnholdet på kuldestabiliseringstank (cirka 16 % Plato) og i ferdigvare (cirka 10,5 % Plato). Resultater fra utregningene er vist i Tabell 4.6.

Tabell 4.6. Mengden iso- α -syrer som tilsettes per år (kg), beregnet ut i fra volum R-base per år (l), ønsket BU i ferdigvare, ekstraktinnhold på kuldestabiliseringstank og i ferdigvare (% Plato).

Volum R-base pr år (l)	36 553 614
BU ferdigvare*	24
Ekstraktinnhold kuldestabiliseringstank (% Plato)	16
Ekstraktinnhold ferdigvare (% Plato)	10,5
Iso- α -syrer pr liter øl på kuldestabiliseringstank (mg)	37
Iso- α -syrer pr år (mg)	1 336 817 883
Iso- α -syrer pr år (kg)	1 336,82

* BU analysert spektrofotometrisk.

Kostnadene for hvert av humleproduktene i Ringnes Pils per år (NOK/år) ble regnet ut ved å multiplisere mengden iso- α -syrer som må tilsettes hvert år (kg/år) med prisen per kilo iso- α -syrer for humleproduktet (NOK/kg iso- α -syrer). De årlige humlekostnadene for Ringnes Pils tilsatt IKE/pellets og CO₂-ekstrakt ble sammenlignet med kostnadene for dagens humletilsetning, ren pellets. Resultater fra utregningene er vist i Tabell 4.7.

Tabell 4.7. Årlige humlekostnader når IKE/pellets, ren pellets og CO₂-ekstrakt benyttes i Ringnes Pils, og kostnadsforskjellene sammenlignet med dagens humletilsetning.

	IKE/pellets	Pellets	CO₂-ekstrakt
Kostnader for humleprodukt per år (NOK/år)	2 317 806	2 785 037	2 798 962
Differanse fra dagens humletilsetning (NOK/år)	- 467 231	0	+ 13 925

Tabell 4.7 viser at Ringnes Bryggeri kan spare cirka 470 000 kroner årlig ved å endre humleprodukt til IKE/pellets (50/50 med hensyn til iso- α -syrebidrag), og at en endring til CO₂-ekstrakt koster mer per år enn både 50/50 IKE/pellets og ren pellets.

5 Diskusjon

I denne masteroppgaven ble Ringnes Pils brygget i fullskala med ulike humleprodukter. Ølene ble sammenlignet med hensyn til humleproduktenes kvalitet i ølet, men også de prosesssteknologiske og økonomiske aspektene rundt bruken av de forskjellige humleproduktene ble vurdert.

I forbindelse med problemstillingen i oppgaven ble det satt følgende hypoteser:

hypotese 1: Det er ikke mulig å identifisere sensoriske forskjeller mellom øl tilsatt humleproduktene IKE/pellets, ren pellets og CO₂-ekstrakt, og

hypotese 2: Av humleprodukttilsetningene IKE/pellets, ren pellets og CO₂-ekstrakt, er det IKE/pellets det som gir det høyeste utbyttet.

For å teste ut disse hypotesene ble ett av bryggene tilsatt humlepellets og humleekstraktet IKE, der α -syrene allerede er isomerisert til iso- α -syrer. Det ble tilsatt en mengde slik at 50 % av iso- α -bidraget i ferdigvaren kom fra pellets, og 50 % fra IKE. Dette tilsvarte en tilsetning på cirka 57 % α -syrer fra pellets, og 43 % iso- α -syrer fra IKE. Et annet brygg ble tilsatt CO₂-ekstrakt, et ekstrakt av humlepellets, der α -syrene ikke er isomerisert på forhånd. Som en referanse, ble et tredje brygg tilsatt 100 % pellets Type 90, slik vanlig humletilsetning er for Ringnes Pils i dag.

Ringnes Bryggeri benyttet en kort periode en blanding av pellets og PIKE/IKE i Ringnes Pils. Det ble da tilsatt en mengde slik at 60 % av iso- α -bidraget kom fra pellets, og 40 % fra PIKE/IKE. Bryggeriet fikk på denne tiden negative tilbakemeldinger fra markedet om at det hadde blitt en uønsket smaksforskjell på Ringnes Pils. Det ble antatt at dette hadde noe med IKE/PIKE å gjøre. Etter en kort stund besluttet derfor bryggeriet høsten 2009 å avslutte bruken av PIKE/IKE i Ringnes Pils. PIKE/IKE benyttes i dag kun i ølprodukter med lavere bitterhet, for eksempel Tuborg Pils (T. Hage, personlig kommunikasjon, 4.mai 2012).

Bryggeriet hadde, av praktiske årsaker, hittil ikke forsøkt å benytte CO₂-ekstrakt i øl.

Bryggenes BU ble analysert gjennom hele bryggeprosessen, fra kaldvørter til ferdigvare. Dette ble først og fremst gjort for å sammenligne utbyttet av bitterstoffene fra de tre humleproduktene, men også fordi det var interessant å undersøke hvordan BU-forløpet utviklet seg under bryggeprosessen.

Det ble utført analyser av kaldvørterens virkelige ekstraktinnhold, pH og farge. Under gjæringen ble det utført daglige analyser, med cirka 24 timers mellomrom, av vørterens tilsynelatende ekstraktinnhold, alkoholinnhold, pH, gjærcelletall og innholdet av diacetyl. I tillegg ble temperaturen i bryggene avlest hver 24. time. Øl lagret på kuldestabiliseringstank ble analysert for tilsynelatende ekstraktinnhold, alkoholinnhold, pH og farge. Ferdigvarene ble analysert for pH, alkohol- og CO₂-innhold og skumstabilitet.

De nevnte vørter- og ølanalysene ble utført for å kunne sammenligne de tre bryggenes bryggeprosess, fra start til slutt. Det var ønskelig at de tre bryggene skulle være så like som mulig med hensyn til disse analyseparameterne, da forskjeller kunne gi signifikante innvirkninger på ølets sensoriske egenskaper som kunne forstyrre sammenligningen av de tre bryggene. Det var de ulike humleproduktenes eventuelle forskjellige sensoriske og teknologiske innflytelser på ferdigvarene, i tillegg til de økonomiske aspektene, som det var ønskelig å undersøke. Forskjeller i for eksempel alkohol- og ekstraktinnhold kan gi smaksforskjeller i ferdigvarene, og gjøre det vanskelig å sammenligne ølene med hensyn til humleprodukt. I tillegg kan blant annet temperaturforskjeller, forskjeller i pH og ekstraktinnhold i vørteren påvirke isomeriseringen under vørterkokingen i ulik grad, og dermed også påvirke utbyttet av bitterstoffene i ulik grad (Benitez et al., 1997). Slike forskjeller ville gjort det problematisk å sammenligne både humleproduktenes kvalitet i ølet, og de økonomiske aspektene.

5.1 Kaldvørter

Resultatene fra kaldvørteranalysene viste at kaldvørteren med CO₂-ekstrakt hadde en noe lavere temperatur enn kaldvørteren med IKE/pellets og ren pellets. Årsaken til dette var mest sannsynlig en liten forskjell i nedkjølingsprosessen av den kokende vørteren i platevarmeveksleren. Ut i fra de resterende analysene så det ikke ut til at dette hadde noen spesiell innvirkning, verken på videre bryggeprosess, eller ferdigproduktets smak.

Analyseresultatene viste at det var noe forskjell i pH blant kaldvørterne. pH i vørteren med IKE/pellets var 0,2 pH-enheter lavere enn brygget med ren pellets. Dette kunne ha hatt en betydning, spesielt på isomeriseringen av α -syrene til iso- α -syrer for pelletsdelen i blandingen med IKE/pellets. Om den lille pH-forskjellen hadde noen innvirkning på bittersyreutbyttet i dette brygget, var det bare BU-analysene som kunne gi svar på.

5.1.1 BU i kaldvørter

Før gjæring var BU for vørteren med ren pellets så å si den samme som for vørteren med IKE/pellets. Både vørteren med ren pellets og IKE/pellets hadde en lavere BU enn vørteren med CO₂-ekstrakt.

Ved sammenligning av mengden α -/iso- α -syre tilsatt den kokende vørteren med mengden iso- α -syremengden i kaldvørteren, ble det observert at utbyttet av bitterstoffene under vørterkokingen var høyest i vørteren med IKE/pellets. Dette var som forventet. I IKE er isomeriseringen av α -syrene til iso- α -syre blitt utført på forhånd, ved prosesseringen av humleproduktet, under egnede prosesseringsforhold. Dessuten er iso- α -syrene mye mer oppløselige ved vørterens pH (cirka 5) enn de ikke-isomeriserte α -syrene. α -syrene er bare svakt dissosiert ved pH-verdier rundt 5, og er derfor svært lite løselige i vørteren (Narziss, 1992). Som følge av dette forventes det at en større mengde iso- α -syre blir med videre i bryggeprosessen, i stedet for å felle ut slik som en del av α -syrene gjør.

Sammenlignet med kaldvørteren med ren pellets, var bitterstoffutbyttet noe høyere i kaldvørteren med CO₂-ekstrakt, selv om disse to ble tilsatt like høye konsentrasjoner med α -syre. I følge teorien gir CO₂-ekstrakt høyere utbytte enn pellets, og resultatene var derfor som forventet. Årsaken til dette kan være at humlepellets først må løses opp i vørteren, før isomeriseringsreaksjonene kan starte, mens CO₂-ekstrakt løses opp øyeblikkelig.

Oppløsningsprosessen har antageligvis tatt lenger tid for α -syrene i pelletsene, og medført at pelletsene har fått en kortere effektiv koketid i vørteren (T. Hage, personlig kommunikasjon, 4.mai 2012). CO₂-ekstrakt er et ”renere” humleprodukt, ved at det ikke inneholder tanniner, harde resiner og salter. I humlepellets må disse komponentene kokes sammen med vørteren (Verzele & De Keukeleire, 1991). Det kan derfor være rimelig å tro at α -syrene i pellets er mindre tilgjengelige, og at de isomeriseres tregere enn α -syrene i CO₂-ekstrakter under vørterkokingen.

α -/iso- α -syresammensetningen i humlesortene benyttet i humleproduktene kan ha påvirket isomeriseringsutbyttet. Cohumulon gir for eksempel det beste isomeriseringsutbyttet, på grunn av homologens polare karakter og bedre løselighetsegenskaper (Schönberger, 2009). Humleproduktenes innhold eller fordelingen av de ulike α -/iso- α -syrehomologene ble imidlertid ikke analysert i dette forsøket. Kvantifisering av α -/iso- α -syrehomologene ble derimot analysert i ferdigvarene, noe som er omtalt senere i diskusjonen.

Usikkerheten ved BU-analysen må nevnes. Ved laboratoriet på Ringnes Bryggeri har den spektrofotometriske analysemetoden som ble benyttet for å bestemme BU i kaldvørteren en usikkerhet på $\pm 1,8$ BU (Ringnes, 2012a). BU for kaldvørterne kunne derfor i teorien være 1,8 BU høyere eller lavere enn angitt BU, og den reelle forskjellen i BU blant kaldvørterne kunne være både mindre og større enn angitt.

5.2 Bryggene under gjæring

Resultatene fra gjæringsforløpet viste at alle tre bryggene hadde et normalt gjæringsforløp. Fra første til mellom tredje og fjerde gjæringsdøgn var gjærcellene i vekstfasen, og som følge av dette økte gjærcelletallet. Etter dette gikk gjærcelletallet ned på grunn av flokkulering og sedimentering. Ettersom gjæringen pågikk gikk ekstraktinnholdet gradvis ned, fordi gjærens enzymer fermenterte det forgjærbare sukkeret i vørteren. Samtidig økte alkoholinnholdet, som et resultat av sukkernedbrytningen, mens pH gikk ned blant annet på grunn av dannelsen av organiske syrer. Temperaturen i gjæringstanken holdt seg stabil. Nivået av diacetyl var det som varierte mest blant bryggene under gjæringen. Diacetylinnholdet påvirker ikke bitterstoffene i ølet, men kunne hatt en betydning for smaken i ferdigvarene (Kunze, 2010). Ved endt gjæring var imidlertid diacetylnivået det samme for samtlige brygg.

Gjærcelletallet og pH for brygget med IKE/pellets var noe høyere enn for de andre bryggene fra og med tredje gjæringsdøgn. I tillegg var ekstraktinnholdet noe lavere for dette brygget. Gjærcelletall- og pH-resultatet kunne tyde på et noe tregere gjæringsforløp, noe som også ble observert ved å se på antall gjæringsdøgn. Dette brygget gjæret én dag lenger enn de to andre bryggene. Ekstraktinnholdet varierte såpass lite at det mest sannsynlig ikke hadde noen betydning for gjæringen, eller bitterstoffene.

Generelt var det ingenting som tilsa at de små forskjellene i analyseparameterne skulle gi noen videre sensoriske forskjeller, eller at forskjellene påvirket vørteren/ølet i ulik grad som humletilsetningsmedium.

5.2.1 BU under gjæring

Under gjæringen var det en relativt stor reduksjon i BU blant samtlige brygg. Dette var som forventet. Som nevnt tidligere, minker pH under gjæringen. Dagen etter gjærvedsetting var pH redusert til $\leq 4,8$. Ved denne pHen blir α -syrene fullstendig uløselige, og de fester seg

derfor på overflaten til skum og avsatt gjær (Narziss, 1992). I følge teorien felles mer enn 90 % av α -syrene som overlever vørterkokingsprosessen ut, som følge av pH-fallet under gjæringen (Benitez et al., 1997). Også tapet av iso- α -syrer kunne skyldes utfelling, som et resultat av adsorbering på gjærcellene (Benitez et al., 1997). Iso- α -syrene er svært overflateaktive. Som følge av dette kan en del av dem ha blitt felt ut på væskeoverflaten, ved at de har blitt fanget opp av stigende CO₂-gassbobler, som videre har transportert dem opp til skummet (Kunze, 2004). Fordi skummet etter hvert kollapser i gjæringstanken, gikk trolig mesteparten av de utfelte bitterkomponentene inn i løsning igjen.

Resultatene fra BU-analysene viste at BU gikk tidligst, og mest ned for brygget med ren pellets. Bittersyreutbytte fra vørterkoking til endt gjæring var lavest for dette brygget. Dette stemmer overens med teorien, om at pellets gir et lavere bittersyreutbytte enn både CO₂-ekstrakt og IKE. Utbyttet var, som forventet, høyest for brygget med IKE/pellets, og nest høyest for brygget med CO₂-ekstrakt, av samme årsak som beskrevet for BU i kaldvørter.

For brygget med CO₂-ekstrakt gikk BU både tregest og minst ned. Frem til gjæringsdøgn fire var BU-forløpet omtrent det samme som for brygget med IKE/pellets. Etter fjerde gjæringsdag var BU for brygget med CO₂-ekstrakt og pellets blitt mer stabilt, mens BU for brygget med IKE/pellets fortsatte å falle. Dette kunne komme av det noe høyere gjærcelletallet, som har resultert i en større grad av utfelling som følge av iso- α -syrenes adsorbering på gjærcellene (Kunze, 2004). Det kunne også tyde på at en større andel av iso- α -syrene i IKE/pellets ble degradert under gjæringen. Iso- α -syrene er relativt ustabile forbindelser, ved at de blant annet er utsatt for oksidasjon.

Resultatene fra BU-forløpet under gjæring viste at BU i IKE/pelletsbrygget hadde en økning på cirka 1,5 BU fra nest siste til siste gjæringsdøgn. Årsaken til dette kunne skyldes deadsorpsjon av iso- α -syrene fra gjærcellene, men årsaken kunne også ligge i usikkerheten ved analysemetoden (\pm 1,8 BU ved Ringnes Bryggeri).

Generelt var ikke forskjellene i BU blant bryggene store ved endt gjæring, men med tanke på usikkerheten ved analysemetoden, kunne den reelle forskjellen i BU være både mindre og større enn angitt.

5.3 Bryggene på kuldestabiliseringstank

I likhet med analyseresultatene fra gjæringsforløpet, var resultatene fra bryggene på kuldestabiliseringstank relativt like. Brygget med ren pellets hadde et noe lavere fargetall, og et noe høyere ekstraktinnhold. Et høyere ekstraktinnhold kan ha hatt betydning for smaken, men innholdet var ikke vesentlig høyere for dette brygget enn de andre. I tillegg gjorde de påfølgende nedbryggingsprosessene mest sannsynlig at de små forskjellene ble utjevnet.

5.3.1 BU i bryggene på kuldestabiliseringstank

I samtlige brygg var reduksjonen i BU fra kaldvørter til kuldestabiliseringstank større enn forventet. Det ble antatt en BU-nedgang på 12 BU på bakgrunn av tidligere erfaringer med Ringnes Pils. BU-nedgangen kan variere med blant annet maltsort. Enkelte malttyper gir mer utfelling av proteiner (T. Hage, personlig kommunikasjon, 4.mai 2012). Iso- α -syrer kan adsorbere på partikler, blant annet proteiner, som er til stede i ølet og felles ut, slik at utbyttet reduseres (Benitez et al., 1997). Nedgangen som ble observert i dette forsøket var likevel innenfor normalområdet (T. Hage, personlig kommunikasjon, 4.mai 2012).

På kuldestabiliseringstank var BU fremdeles høyest for brygget med CO₂-ekstrakt. Ved dette prosesstrinnet var ikke BU lenger lavest for brygget med ren pellets, men for brygget med IKE/pellets. Nedgangen i BU fra kaldvørter til kuldestabiliseringstank var i tillegg størst for dette brygget, men bare med 1 BU forskjell. Årsaken til dette kunne skyldes at mer iso- α -syrer var blitt adsorbent på gjærcellene i dette brygget enn i de andre bryggene, eller det kunne skyldes usikkerhet ved analysemetoden. De generelle årsakene til redusert BU i øl lagret på kuldestabiliseringstank er de samme som for reduksjonen under gjæringsprosessen, men på grunn av lavere gjærinnhold og lavere temperatur på kuldestabiliseringstank er disse effektene mindre tydelige (Benitez et al., 1997).

Fra vørter til kuldestabiliseringstank var utbyttet, som forventet, igjen høyest for brygget med IKE/pellets, og lavest for brygget med ren pellets.

5.4 Ferdigvarer

Blant analyseresultatene fra de tre ferdigvarene, var det ingen, eller svært små forskjeller. Forskjellene som var til stede blant ferdigvarene når det gjaldt alkohol- og kullsyreinnhold og

skumstabilitet, var så små at de ble vurdert til ikke å utgjøre noen signifikant effekt på ferdigvarenes sensoriske egenskaper.

Alt i alt kunne det konkluderes med at bryggeprosessene ble gjennomført som forventet, og at analyseresultatene fra bryggeprosessen ikke varierte signifikant mellom bryggene. Det var derfor et godt grunnlag for å sammenligne ferdigvarene med hensyn til de ulike humleproduktene.

5.4.1 BU i ferdigvarer

BU i ferdigvarene ble analysert både spektrofotometrisk og ved HPLC. Ved Ringnes Bryggeri er det den spektrofotometriske metoden som benyttes ved rutineanalyser. I henhold til spesifikasjonene er dette den korrekte metoden å bruke (Ringnes, 2012d). HPLC er en spesialmetode som benyttes ved avansert humletilsetning, for eksempel ved bruk av reduserte iso- α -syrer, eller andre spesialhumleprodukter, i tillegg til forsøk (T. Hage, personlig kommunikasjon, 8. mai 2012).

Resultatene fra den spektrofotometriske metoden vil først bli omtalt, før resultatene fra HPLC-analysen diskuteres. Diskusjonen rundt BU i ferdigvarer avsluttes med en sammenligning av de to analysemetodene.

5.4.1.1 BU i ferdigvarer, analysert spektrofotometrisk

Analyseresultatene fra BU-målingene, bestemt spektrofotometrisk, viste at det var en svak reduksjon i bitterstoffinnholdet fra kuldestabiliseringstank til ferdigvare, med unntak av brygget med CO₂-ekstrakt. Årsaken til BU-nedgangen fra kuldestabiliseringstank kan skyldes filtreringsprosessen før ølet ble tappet på emballasjen. I følge teorien kan filtermediet kiselgur redusere bitterheten med 1-3 BU (Benitez et al., 1997). Partikler i ølet på kuldestabiliseringstank binder bitterstoffene. Ved BU-analysen blir surtgjorte ølprøver tilsatt isooktan for å ekstrahere bitterstoffene (EBC, 2010). Dersom det er partikler i prøven, og bitterstoffer er festet på dem, vil isooktan vaske bitterstoffene av partiklene slik at absorbansen til bitterstoffene kan måles spektrofotometrisk (EBC, 2010). I filtrert øl er disse partiklene fjernet, noe som kan forklare reduksjonen i BU fra kuldestabiliseringstank til ferdigvare. Dersom denne antakelsen stemte, ville dette bety at desto høyere partikkelinnholdet var før filtrering desto større ble nedgangen i BU fra kuldestabiliseringstank til filtrert øl.

Det ble ikke observert noen reduksjon i BU fra kuldestabiliseringstank til ferdigvaren med CO₂-ekstrakt. Dette skyldtes mest sannsynlig den spektrofotometriske analysens måleusikkerhet. I tillegg kan eventuelle forskjeller i ølenes partikkelinnhold (uklarhet) før filtrering ha spilt en rolle. Dersom partikkelinnholdet i ølet med CO₂-ekstrakt var lavere på kuldestabiliseringstank enn de andre ølene, vil forskjellen i partikkelinnholdet fra før til etter filtrering blitt mindre, og dermed også forskjellen i BU, av samme årsak som beskrevet overfor.

Ved senere forsøk kan det anbefales at partikkelinnholdet analyseres før filtrering, for å studere, og eventuelt kunne utelukke variasjonene i partikkelinnholdets påvirkning på bitterstoffene. I dette tilfellet var BU-reduksjonen i ølene med IKE/pellets og ren pellets uansett så små at de ble ansett som ubetydelige i denne sammenheng.

Også blant ferdigvarene var BU høyest for ølet med CO₂-ekstrakt, og lavest for ferdigvaren med IKE/pellets. Forskjellene var imidlertid ikke store.

Totalutbyttet for humleproduktene, fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer til mengden iso- α -syrer i ferdigproduktet, ble kalkulert for hvert brygg. Som forventet var utbyttet høyest for brygget tilsatt IKE/pellets, og lavest for brygget tilsatt ren pellets. Utbyttet for samtlige brygg var lavere enn antatt på forhånd, spesielt for bryggene tilsatt IKE/pellets og ren pellets. Årsaken til dette kunne ligge i BU-nedgangen fra kaldvørter til kuldestabiliseringstank, som generelt var større enn forventet. Mulige årsaker til dette er allerede diskutert i kapittel 5.3.1. At utbyttet var spesielt lavere i brygget med IKE/pellets kunne skyldes tilsetningstidspunktet. Utbyttet ville mest sannsynlig blitt høyere dersom IKE hadde blitt tilsatt senere i bryggeprosessen. Dette er imidlertid noe som blir drøftet nærmere i neste underkapittel.

5.4.1.2 BU i ferdigvarer, analysert ved HPLC

α -syrene bidrar ikke med noe særlig bitterhet i ølet, men kan påvirke bittersmaken ved å runde av den mer intense bittersmaken fra iso- α -syrene. Ettersom α -syrene har en viss påvirkning på smaken, ble det valgt å kvantifisere α -syrene i ferdigvarene for å sammenligne innholdet av disse i de ulike ølene. BU målt spektrofotometrisk måler innholdet av alle komponenter som absorberer ved 275 nm, inkludert α -syrer. Med HPLC kan innholdet av de enkelte homologene av iso- α -syrene og α -syrene bestemmes separat.

Resultatene fra HPLC-analysene viste at brygget med IKE/pellets (brygg 1) hadde det laveste nivået av α -syrer. Dette var som forventet, ettersom omtrent alle α -syrene fra humle i IKE allerede var isomerisert til iso- α -syrer under prosesseringen av humleproduktet. Ut i fra analyserapporten inneholdt IKE 0,6 % α -syrer og 54,3 % iso- α -syrer (Joh. Barth & Sohn, 2011a). α -syrene som var igjen i blandingen IKE/pellets måtte derfor, i all hovedsak, komme fra pelletsene. Det ble tilsatt pellets i en mengde slik at 50 % av iso- α -syrebidraget skulle komme fra pellets. Dette tilsvarte en α -syremengde på cirka 2,0 kg, en α -syremengde som var omtrent 44 % lavere enn i brygget med kun pellets. Andelen α -syrer i ferdigvare for brygg 1 var likevel lavere enn i ferdigvaren med ren pellets. Dette kunne tyde på at en større andel av α -syrene i brygg 1 var blitt isomerisert til iso- α -syrer, eller at større mengder α -syrer hadde blitt borte under bryggeprosessen. Løseligheten til α -syrene er svært pH-avhengig. α -syrene som ikke ble isomerisert under kokeprosessen kan ha blitt felt ut fordi de bare er svakt løselige ved pH-verdier under 5,0. (Kunze, 2004). pH var under 5,0 gjennom hele gjæringsprosessen, og som nevnt tidligere, antas det at mer enn 90 % av α -syrene som har overlevd kokeprosessen felles ut som følge av denne pH-reduksjonen (Benitez et al., 1997). Ettersom pH i kaldvørteren med IKE/pellets var noe lavere enn pH i de to andre kaldvørterne, kan fler α -syrer blitt felt ut i dette brygget.

Ølet med CO₂-ekstrakt inneholdt mest α -syrer, på tross av at brygget med ren pellets ble tilsatt like mye α -syrer. Årsaken til dette kunne være at en større andel av α -syrene i pellets ble borte under bryggeprosessen.

Andelen av de ulike α -syrehomologene var helt likt fordelt i ølene med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt. Begge ølene hadde høyest andel av α -syrehomologene humulon/adhumulon, og lavest andel av cohumulon. Dette gjaldt også for ølet med ren pellets, men her var andelen av cohumulon og humulon/adhumulon henholdsvis enda lavere og høyere. Sammenlignet med ølet med CO₂-ekstrakt, kunne årsaken til dette ligge i at det var benyttet ulike humlesorter i de to humleproduktene.

Ut i fra HPLC-analysene var også iso- α -syreinnholdet for brygg 1 lavest. Det ble tilsatt lavere nivåer av α - og iso- α -syrer i dette brygget, ettersom utbyttet var forventet å være høyere. Det noe lavere nivået av iso- α -syrer i ferdigproduktet kunne tyde på at utbyttet for blandingen IKE/pellets ikke var like høyt som antatt, og at det ved senere forsøk bør tilsettes en større humleproduktmengde, eventuelt at IKE bør tilsettes ved et senere tidspunkt. I et forsøk utført av Wilson et al. (2001), ble det påvist at utbyttet kan økes rundt 6 % ved å tilsette

humleproduktet 10 minutter før vørterkokingens slutt, mest sannsynlig på grunn av redusert tap av iso- α -syrer som følge av oksidering og andre reaksjoner som skjer under vørterkokingen (Wilson et al., 2001).

Tilsettes IKE senere i bryggeprosessen, skal en imidlertid være oppmerksom på at dette kan påvirke smaken, og gi smaksforskjeller fra øl hvor IKE er tilsatt ved vørterkokingens start. I følge Barth-HaasGroup (2010c), vil tilsetning av IKE mot slutten av vørterkokingen påvirke humlearomaen i ølet. De anbefaler derfor at IKE tilsettes tidlig for bitterhetens skyld, og en pelletstilsetning (Type 90 eller Type 45) senere for humlearomaen (Bart-HaasGroup, 2010c).

Høyest iso- α -syreinnhold var det i ølet med CO₂-ekstrakt. Det var 5 mg/l iso- α -syrer forskjell mellom dette ølet og ølet med lavest innhold av iso- α -syrer, ølet med IKE/pellets. Som nevnt tidligere, kunne dette tyde på at bitterstoffutbyttet i blandingen IKE/pellets var lavere enn forventet.

Andelen av de enkelte iso- α -syrene isocohumulon, isohumulon og isoadhumulon var likt fordelt for brygget med IKE/pellets og brygget tilsatt CO₂-ekstrakt. Brygget med ren pellets (brygg 2) inneholdt en høyere andel isohumulon, og en betydelig lavere andel isocohumulon, sammenlignet med brygg 1 og 3. Etersom pelletsene tilsatt brygg 1 og 2 var av samme humlesort (Hallertauer Taurus), kunne dette tyde på at humlesorten i IKE (Zeus) inneholdt høyere nivåer av isocohumulon enn isomeriseringsproduktene fra cohumulon i pelletsene.

Brygg 2 og 3 ble, som nevnt tidligere, tilsatt like store mengder α -syrer. Likevel var isocohumulonandelen i brygg 3 høyere enn for brygg 2. Dette skyldtes mest sannsynlig bruk av ulike humlesorter i de to produktene, og at sorten Zeus inneholdt en høyere andel isocohumulon enn sorten Hallertauer Taurus. Dette ble også observert ved å se på nivået av de ulike α -syrene for de to bryggene. Brygg 3 inneholdt en høyere andel cohumulon sammenlignet med brygg 2. På den andre siden viste HPLC-resultatene at andelen cohumulon og isocohumulon var den samme for brygg 1 og 3, selv om humlesortene var forskjellige. En mulig antagelse er at IKE var med på å øke andelen cohumulon med sitt lille α -syrebidrag, og at det igjen var IKE som bidro med mest isocohumulon i brygg 1.

Det ble ikke observert noen sammenheng mellom skumstabilitet og mengden iso- α -syrer. Etersom ølet med CO₂-ekstrakt hadde et høyere iso- α -syreinnholdet, burde dette ølet i teorien hatt en bedre skumstabilitet. Nå var imidlertid nivået av isocohumulon høyest i dette ølet. I følge teorien er isocohumulon mindre overflateaktive sammenlignet med de andre iso- α -

syrene (Benitez et al., 1997). Dette kan ha vært årsaken til skumstabiliteten i dette ølet ikke var bedre for dette ølet, men var på samme nivå som i de to andre ølene, på tross av det høyere totalinnholdet av iso- α -syrer.

Utbyttet fra tilsatt mengde α -/iso- α -syrer, analysert spektrofotometrisk (BU) til mengden bitterkomponenter i ferdigvarer, analysert ved HPLC, ble beregnet både ved å inkludere α -syrene, og ved og ikke inkludere disse. I det førstnevnte tilfellet var utbyttet høyest og det samme for bryggene med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt, mens det var lavest for brygget tilsatt ren pellets. Årsaken til at utbyttet for brygget med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt var det samme, var mest sannsynlig fordi brygget med CO₂-ekstrakt inneholdt en god del mer α -syrer som ble inkludert i utbytteberegningen.

Da α -syrene ikke ble inkludert i utbytteberegningen, viste resultatene fra HPLC-analysen samme tendens som BU-analysen; utbyttet var høyest for brygget med IKE/pellets, og lavest for brygget med ren pellets.

5.4.1.3 BU i ferdigvarer, spektrofotometrisk metode versus HPLC-metoden

r₉₅ for den spektrofotometriske metoden er, som nevnt tidligere 1,8 ved Ringnes Bryggeri. HPLC-metoden har en r₉₅ på 0,1 for α -syrer og 0,28 for iso- α -syrer, basert på to standardavvik (Brasseries Kronenbourg, 1998), og kan derfor regnes som en mer nøyaktig analysemetode.

Resultatene fra HPLC-analysene viste at iso- α -syreinnholdet i brygget med IKE/pellets var lavest, og at brygget med CO₂-ekstrakt hadde et noe høyere iso- α -syreinnhold enn brygget med ren pellets. Dette stemte overens med BU analysert spektrofotometrisk.

Bortsett fra ølet tilsatt IKE/pellets, var BU-resultatene bestemt spektrofotometrisk lavere enn BU målt ved HPLC. Forskjellen ble enda tydeligere da innholdet av α -syrer ble lagt sammen med innholdet av iso- α -syrer, analysert ved HPLC. Dette ble gjort ettersom den spektrofotometriske metoden også inkluderer α -syrer i analysen.

I følge assisterende laboratoriesjef ved Ringnes Bryggeri, Line K. Olausen (personlig kommunikasjon, 2012), ligger resultatene fra BU-analysene jevnt over lavt (cirka 2 BU lavere) i forhold til andre laboratorier. Årsaken kunne også ligge i at α -syrer gir et mindre utslag på spektrofotometeret enn iso- α -syrene. I følge Dr. Biendl (e-post, 4. mai 2012), korresponderer 8-10 mg/l løsning med ren α -syre til 5 BU på spektrofotometeret. 8-10 mg/l

løsning med ren iso- α -syre vil derimot korrespondere til 6-7 BU, ettersom 1 mg/l løsning med ren iso- α -syre har en BU på rundt 0,7 (Benitez et al., 1997).

Det at HPLC-resultatet (også da α -syre ble addert) for ølet med IKE/pellets var lavere enn ved den spektrofotometriske metoden, kunne tyde på at analysefaktoren som ble benyttet i forsøket for å justere for opplevd bitterhet muligens var for høy. Ut i fra HPLC-resultatet bør analysefaktoren være på 1,1 ($17 \text{ BU} \times 1,1 = 19 \text{ BU}$) i stedet for 1,2 ($17 \text{ BU} \times 1,2 = 20 \text{ BU}$). Analysefaktoren 1,1 er bitterstoffjusteringen Ringnes Bryggeri har benyttet på brygg med PIKE/IKE tidligere (Carlsberg Breweries, 2010).

Forholdet mellom BU analysert spektrofotometrisk og BU analysert ved HPLC viste samme tendens da humleutbyttet for de tre bryggene ble regnet ut. Resultatene fra HPLC-analysen, da α -syrene ble inkludert, viste at utbyttet fra tilsatt BU til BU (analysert ved HPLC) i ferdigvarer var høyere enn utbyttet beregnet ut i fra BU-resultatene fra ferdigvarene analysert spektrofotometrisk, bortsett fra brygget tilsatt IKE/pellets, der tilfellet var motsatt. Årsaken til det sistnevnte kunne igjen skyldes en for høy analysefaktor, som nevnt overfor. HPLC-resultatene viste at utbyttet for brygget med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt var det samme da α -syrene ble inkludert. Dette skyldes mest sannsynlig at ferdigvaren med CO₂-ekstrakt inneholdt høyere nivåer av α -syre enn ferdigvaren med IKE/pellets.

Utbyttet beregnet ut i fra HPLC-resultatene med kun iso- α -syre viste de samme tendensene, men her var forskjellene fra BU-resultatene analysert spektrofotometrisk mindre. Årsaken til dette kunne igjen skyldes at iso- α -syrene gir større utslag på spektrofotometeret enn α -syrene, men det kunne også skyldes analyseusikkerheten ved den spektrofotometriske BU-analysen.

5.5 Sensorikk

For å undersøke om det var noen sensoriske og kvalitetsmessige forskjeller på ølene med de ulike humleproduktene, ble det utført to sensoriske analyser; triangeltester for å avdekke om det var mulig å kjenne noen forskjelle mellom ølene, og test av sensoriske preferanser for å avdekke hvilke sensoriske egenskaper som eventuelt utgjorde forskjellene.

Triangeltestene viste at det ikke var nok dommere som klarte å identifisere riktig prøver til at forskjellene ble signifikant ved et signifikansnivå på 5 %. Ut i fra resultatene fra Ringnes sensoriske panel var det derfor rimelig å tro at det ikke var mulig å kjenne noen forskjell blant ferdigvarene.

Selv om resultatene fra de sensoriske analysene viste at det ikke var noen statistisk signifikante forskjeller mellom ølene, ble det likevel observert en trend blant resultatene. Trenden var at ølet med IKE/pellets ble best likt, og at ølet med CO₂-ekstrakt ble dårligst likt. Årsaken til denne rangeringen kunne skyldes den lille forskjellen i BU. Ølet tilsatt CO₂-ekstrakt hadde høyest BU, mens ølet med IKE/pellets hadde lavest BU. Det så ut til at ølene ble rangert etter BU, der ølet med lavest BU kom best ut.

Det var imidlertid for få respondenter i analysene, slik at forsøk på å forklare statistisk signifikante forskjeller på de ulike ølene beror på mer indirekte slutninger, enn på faktiske, påvisbare data. Med tanke på at panelet besto av trenede sensoriske dommere, med god kjennskap til ølfeil- og avvik, og ikke minst kunnskap hvordan standard Ringnes Pils skal være, var det imidlertid ingen grunn til å betvile at ølene med de ulike humletilsetningene smakte noe forskjellig, og mest sannsynlig skyldtes denne forskjellen den lille forskjellen i BU. Ideelt sett bør studien replikeres på et større utvalg, aller helst med en forbrukerundersøkelse med minst 200-400 respondenter.

I testen av sensoriske preferanser ble paneldeltakerne i Ringnes sensoriske panel bedt om å bedømme ølenes egenskaper og intensitet i forhold til idealet for Ringnes Pils. De ble i tillegg bedt om å angi hvilke(t) øl de likte best, og til slutt rangere hvilket øl de foretrakk som Ringnes Pils. Selv om resultatene ikke var statistisk signifikante, har jeg valgt å diskutere de dominerende tendensene som mest sannsynlig medførte en svak forskjell mellom ølene.

Når det gjaldt egenskapene lukt, smak, munnfølelse og ettersmak, ble ølet med IKE/pellets generelt best likt på samtlige egenskaper. Årsaken til dette kunne mest sannsynlig settes i sammenheng med dette ølets lavere BU. Referanseølet, med ren pellets, ble bedømt likt som ølet med CO₂-ekstrakt med hensyn på egenskapene smak, munnfølelse og ettersmak, på tross av at BU var høyere i ølet med CO₂-ekstrakt. Forskjellen i BU mellom disse to ølene var imidlertid betydelig mindre, enn forskjellen mellom ølet med IKE/pellets og CO₂-ekstrakt.

Et annet moment for de forskjellige smakspreferansene blant ølene, kan være de ulike nivåene av α -syrer. Ølet med IKE/pellets inneholdt betydelig mindre α -syrer enn de to andre ølene. I følge Dr. Biendl (e-post, 4. mai 2012) har iso- α -syrene en kort, skarp bitterhet, mens α -syrene har en lengre og rundere bitterhet, som kan runde av bitterhetsprofilen i ølet. En mulig forklaring på dette avviket fra teorien (dersom en regner rund bitterhet som bra), kunne være at en del av bitterstoffene som var til stede i ølene var oksidert. En av årsakene til at ølet med IKE/pellets ble best likt kunne dermed være at dette ølet inneholdt lavere nivåer av oksiderte

bitterstoffer. Dette er riktignok kun spekulasjoner som jeg ikke har noen analyseresultater å henvise til.

Resultatene fra testspørsmålet hvor dommerne ble bedt om å bedømme ølene etter hvor godt de likte ølet, med Ringnes Pils som standard, viste en svak tendens mot at IKE/pellets ble likt best. Igjen kunne resultatene tyde på at BU spilte en rolle for hvor godt ølene ble likt. Jeg vil igjen minne om at samtlige resultater fra testen av sensoriske preferanser ikke var statistisk signifikant forskjellige, og at resultatene diskuteres ut i fra tendenser.

Panelet ble bedt om å bedømme de tre ølenes sensoriske egenskapers intensitet i forhold til idealet for Ringnes Pils. For egenskapene *humlesmak/-aroma* og *esteraroma*, var alle like nært det optimale for Ringnes Pils, men ølet med ren pellets var nærmere ”for mye” av disse egenskapene. Årsaken til dette kunne ligge i at pellets inneholder en større andel andre (opprinnelige) humlekomponenter, for eksempel harde resiner, enn ølene med ekstrakt.

Når det gjaldt *bitterintensitet*, *bitter ettersmak* og *bittersmakens varighet*, dømte paneldeltagerne, sett gjennomsnittlig, at det var litt mer enn optimalt av disse egenskapenes intensitet i samtlige øl. For alle disse egenskapene, ble ølet med IKE/pellets bedømt til å være mest optimalt. Ølet med CO₂-ekstrakt var nærmest ”for mye” med hensyn til bitterintensitet. I tillegg ble det kommentert fra én av dommerne, på testskjemaet, at dette ølet var for bittert. Årsaken til disse resultatene kunne være at dette ølet hadde en høyere BU enn de to andre ølene, og at ølet med IKE/pellets hadde lavest innhold av bitterkomponenter. På den andre siden lå ølet med ren pellets nærmest ”for mye” når det gjaldt intensiteten av egenskapen *bitter ettersmak* og *bittermsmakens varighet*. Det ble imidlertid kommentert på et av testskjemaene at ølet med CO₂-ekstrakt var for etterbittert. Igjen kunne dette skyldes forskjellene i BU.

Når det gjaldt egenskapene *syrlighet* og *fruktighet* var disse mest optimale for ølet med ren pellets, mens egenskapen *sødme* var mest optimal i ølet med CO₂-ekstrakt. Det ble ikke observert noen sammenheng mellom disse resultatene og de ulike humleproduktene. Resultatene for disse egenskapene vil derfor ikke bli diskutert videre.

Resultatene viste at det ikke var nok skum i noen av ølene, og at det var minst optimalt i ølet med IKE/pellets. Det ble ikke observert noen sammenheng mellom resultatene fra de sensoriske analysene og laboratorieresultatene for skumholdbarhet av ferdigvarene. En mulig feilkilde kan være at ølene ble stående en stund i glassene før den sensoriske analysen. Dette

kan ha medført en reduksjon i skuminnholdet. Til en annen gang anbefales det at ølet serveres umiddelbart før den sensoriske analysen.

Under testspørsmålet ”*hvilket øl foretrekker du som Ringnes Pils?*”, ble ølet med IKE/pellets foretrukket av flest dommere, mens ølet med CO₂-ekstrakt ble foretrukket av færrest dommere. Som nevnt tidligere, inneholdt ølet med CO₂-ekstraktet, mer av iso- α -syrehomologen isocohumulon. Om det var dette, eller om det var det generelt høyere iso- α -syreinholdet som gjorde at ølet generelt kom dårligst ut i de sensoriske analysene, er det vanskelig å gi svar på, men det var mest sannsynlig det høyere bitterkomponentinnholdet.

Triangeltesten på ferdigvaren med ren pellets og ren CO₂-ekstraktet, hadde flest riktige identifikasjoner. Selv om resultatet ikke var signifikant, kunne det tyde på at det var disse to ferdigvarene som var minst like. I testen av sensoriske preferanser var den største forskjellen mellom disse ferdigvarene bittersmakens varighet. Årsaken lå mest sannsynlig i at dette er to helt forskjellige humleprodukter, der CO₂-ekstraktet inneholder lavere nivåer av ”andre”, opprinnelige humlekomponenter enn pellets, og derfor ga en renere bitterhet og høyere bitterintensitet i ferdigvaren.

Triangeltesten med færrest riktige identifikasjoner var testen med ølene med IKE/pellets og pellets. Dette var som forventet, da begge disse ølene innehold pellets, og sånn sett burde likne mest på hverandre.

5.6 Kvalitet

De sensoriske analysene på de tre ferdigvarene viste at det ikke var noen signifikante forskjeller i ferdigvarenes smaks kvalitet. For videre studier kan det anbefales å benytte seg av et større panel, og helst en forbrukertest med minst 200-400 respondenter. Dette var imidlertid utenfor rammen for min oppgave. Jeg anser likevel ikke resultatene som ubetydelige i denne sammenheng, ettersom paneldeltagerne var trenede dommere, og ikke konsumenter.

Tendensen var at ferdigvaren med IKE/pellets ble best likt, mens ferdigvaren med CO₂-ekstrakt ble dårligst likt. Ut i fra resultatene fra de sensoriske analysene kunne det tyde på at det var bitterintensiteten i Ringnes Pils med CO₂-ekstrakt som var hovedårsaken til at denne ferdigvaren ble dårligst likt.

Samtlige humleprodukter var produsert av høyalfasorter (Zeus og Hallertauer Taurus), der forholdet mellom harde resiner og α -syrer er lav. På grunn av humleproduktprosesseringen

inneholder verken CO₂-ekstrakt eller IKE harde resiner. Pellets Type 90 inneholder harde resiner, men nivåene er lave (Eiken, 2011). Dette kan likevel ha påvirket kvaliteten av bitterheten til fordel for bryggene med Pellets Type 90 (brygget med IKE/pellets og brygget med ren pellets). Det er vist at isomeriserte humleprodukter og CO₂-ekstrakt gir en mer markert bitterhet, fordi de mangler de harde resinene (Eiken, 2011).

På grunn av ekstraheringsprosessen bak produktet, inneholder ikke CO₂-ekstrakt tanniner eller salter heller. Prosessen eliminerer dermed mange av forskjellene som eksisterer mellom humlesortene, og resultatet blir et produkt som avviker mye fra den opprinnelige humleplanten. Noen vil kanskje mene at produktet mangler noe av den originale humlekarakteren. I følge Verzele og De Keukeleire (1991), blir det i enkelte miljøer hevdet at det er mye mer enn α -syrene, om ikke alle ekstraherbare humlekomponenter, som gir ølet en mer fyldig smak, nærmere den opprinnelige smaken som oppnås med hel humle. Tilhengerne av CO₂-ekstrakt motargumenter med at bidraget fra alle ikke- α -syrer gir en skarp bittersmak, og mener at jo renere α -syrene brukt i bryggingen er jo renere blir bittersmaken (Verzele & De Keukeleire, 1991). Ut i fra resultatene fra dette forsøket kunne det tyde på at det var den rene bitterheten, sammen med det høye bitterkomponentinnholdet, som var den avgjørende faktoren for at ølet med CO₂-ekstrakt kom dårligst ut i totalbedømmelsen av ferdigvarer opp mot standard Ringnes Pils. Ren bitterhet gir en skarp bittersmak (Dr. Biendl, e-post, 4. mai 2012), og i dette tilfellet var bittersmaken skarper enn det som foretrekkes i Ringnes Pils.

5.7 Teknologiske aspekter

Under evalueringen av de ulike humleproduktenes prosessteknologiske egenskaper, ble det foretatt en vurdering av forholdene rundt oppbevaring, lagringsplass, dosering og holdbarhet.

Pellets må lagres ved en temperatur på 1-5 °C. Selv ved kjølig lagring vil pelletsene tape 2-5 % α -syrer per år. Som følge av dette har pellets i lukkede beholdere en holdbarhet på ≤ 2 år ved 1-5 °C. CO₂-ekstrakt har en holdbarhet på ≤ 8 år under samme oppbevaringsforhold. Iso- α -syrene i IKE er stabile ved 10 °C i ≤ 2 år, under forutsetningen av at beholderne er lukket (Benitez et al., 1997). Blant disse produktene er det altså ekstraktene som er mest lagringsstabile. Årsaken til dette er at ekstraktene ikke inneholder polare stoffer, det vil si stoffer som fremskynder aldringsprosessen i humle (Benitez et al., 1997). Ringnes Bryggeri er et såpass stort bryggeri, og produksjonen av Ringnes Pils er høy, slik at det neppe er et

problem å få brukt opp humleproduktene innen to år, men med hensyn til lagringstid vil ekstraktproduktene være det mest hensiktsmessige.

Med tanke på bitterhetsstabiliteten i det ferdige ølet, vil humletilsetningen IKE/pellets, i følge litteraturen, være det beste alternativet. Årsaken til dette er at forholdet mellom *cis*-/*trans*-iso- α -syrene er høyere i IKE (på grunn av produktprosesseringen) enn hva som normalt finnes i øl etter normal isomerisering av α -syrene i vørterkjelen. Ettersom *cis*-iso- α -syrene er signifikant mer stabile enn *trans*-iso- α -syrene, gir IKE en stabil bitterhet i ferdigproduktet, selv etter lengre tids lagring (Carlsberg Breweries, u.å.).

I forhold til lagringsplass er ekstraktene å foretrekke. Pellets har en bulk tetthet på rundt 500 kg/m³, mens bulk tettheten for både CO₂-ekstakt og IKE er på cirka 1000 kg/m³ (Benitez et al., 1997). Dette betyr at ekstraktene krever mindre lagringsplass. Mindre lagringsbehov kan bety lavere strømkostnader til kjøling av kjølelageret.

Dosering av pellets er en svært enkel prosess; pelletsene helles direkte oppi den kokende vørteren ved hjelp av et automatisk doseringsanlegg. Ekstraktene er seige produkter, med dårlige flyteegenskaper. For å få ekstraktene mer flytende, og lettere å dosere, bør de varmes opp til 30-40 °C før produktene røres ut i vørterkjelen (Benitez et al., 1997). Ideelt sett bør det benyttes et varmekammer for å varme opp ekstraktene, og egnede pumper for dosering for å oppnå en så riktig doseringsmengde som mulig. Per dags dato har ikke Ringnes Bryggeri slikt utstyr. Dersom bryggeriet velger å bruke humleekstrakt i Ringnes Pils bør en investering av nevnte utstyr vurderes.

5.8 Økonomi

Resultatene fra denne masteroppgaven har vist at det er humleproduktet med 50 % iso- α -syrer fra IKE og 50 % iso- α -syrer fra pellets som gir best utbytte med hensyn til bitterkomponentene. Denne humletilsetningen ga også det billigste brygget. Med tanke på økonomi vil det derfor være mest fordelaktig å benytte IKE/pellets i Ringnes Pils i fremtiden. Ved å endre humleprodukttilsetningen fra ren pellets til en blanding av pellets og IKE, slik det ble gjort i dette forsøket, vil bryggeriet kunne spare omtrent 470 000 kr årlig.

5.9 Konklusjon

Det ble utført én parallell av hvert brygg. Dette var først og fremst grunnet praktiske årsaker; på grunn av tidsbegrensningen ville det ikke blitt tid til å utføre flere paralleller. Før oppstart av forsøkene ble det likevel bestemt at dersom resultatene fra én av parallellene var uklare, måtte parallellen gjentas. Ettersom de sensoriske resultatene ikke ga noen signifikante forskjeller, var det derfor ingen grunn til å gjenta forsøkene i denne omgang. Flere paralleller ville muligens gitt noe forskjellige resultatverdier med hensyn på α -syreutbytte, men mest sannsynlig ville de gitt samme konklusjon, nemlig at IKE/pellets gir det beste utbyttet.

I stedet for å tilsette IKE/pellets ved kokestart, kan det være aktuelt å utføre et forsøk der en tilsetter IKE ved et senere tidspunkt, enten like ved vørterkokingens slutt, eller etter vørterkokingen for å øke utbyttet av IKE. En bør da være oppmerksom på at smaksforskjeller kan forekomme.

Ut i fra resultatene fra dette forsøket kan det konkluderes med analysefaktoren brukt for å justere for opplevd bitterhet i ølet med IKE/pellets var for høy, og at det vil være mer korrekt å gå tilbake til analysefaktoren 1,1, som ble benyttet tidligere.

I forhold til de sensoriske preferansene var tendensen at ølet med IKE/pellets ble best likt, mens ølet tilsatt CO₂-ekstrakt ble dårligst likt. Ut i fra prisen på CO₂-ekstraktet, og beregningene for utbyttet av bitterstoffene, vil det heller ikke lønne seg økonomisk å endre humleprodukt til CO₂-ekstrakt.

På tross av den relativt store forskjellen mellom ølene med IKE/pellets og ren pellets, med hensyn til innholdet av humlekomponenter, viste de sensoriske analysene at det var vanskelig å kjenne forskjell på dem. Ved utprøvde mengder og tilsetningstidspunkt av IKE/pellets kan det nåværende humleproduktet i Ringnes Pils, pellets, trygt byttes ut med IKE/pellets uten at det gir signifikante forskjeller i ølets smaksprofil. Utbyttet av bitterstoffene kan dermed økes uten å endre på kvaliteten på ølet. Totalt sett vil dette redusere kostnadene ved produksjon av Ringnes Pils, uansett om det blir nødvendig å investere i ekstra doseringsutstyr, eller om doseringen blir utført manuelt. En overgang til IKE/pellets kan i tillegg redusere behovet for lagringsplass av humleprodukter og forbedre bitterhetsstabiliteten i ølet.

Ut i fra forsøkene kunne hypotese 1 i denne masteroppgaven verifiseres. Det var ikke mulig å identifisere sensoriske forskjeller mellom øl tilsatt humleproduktene IKE/pellets (50/50 iso- α -syrer/iso- α -syrer), ren pellets og CO₂-ekstrakt. Hypotese 2 kunne også verifiseres. Av de tre humleprodukttilsetningene, var det IKE/pellets som ga det høyeste utbyttet.

6 Litteraturliste

- Anton Paar. (2010a). About CarboQC ME and CarboQC ME plus Option O₂. I: *Instruction Manual CarboQC ME CarboQC ME plus Option O₂*. Graz, Anton Paar GmbH, s. 10.
- Anton Paar. (2010b). Technical Background. I: *Instruction Manual CarboQC ME CarboQC ME plus Option O₂*. Graz, Anton Paar GmbH, s. 25.
- Anton Paar (2011). *The True Measure of CO₂* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.anton-paar.com/001/en/Web/Document/download/1428?clng=en> (lest 21.mars 2012).
- Anton Paar (2012). *Density Meter* [Internett]. Tilgjengelig fra: http://www.anton-paar.com/Density-Meter/59_Corporate_en?productgroup_id=2&Density-Meter#U-tube (lest 21.mars 2012).
- ARMiller's Beer (u.å.). *Beer Styles (Verbose)* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://infohost.nmt.edu/~armiller/beer/beersty2.htm> (lest 21.mai 2012).
- Barth-HaasGroup. (2010a). *Hop Pellets (Type 90 Pellets)* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/01%20Pellets%2090spec%20EN%20July%202010.pdf> (lest 15.januar 2012).
- Barth-HaasGroup. (2010b). *CO₂ Hop Extract* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/04%20CO2spec%20July%20EN%202010.pdf> (lest 17.januar 2012).
- Barth-HaasGroup. (2010c). *IKE (Isomerised Kettle Extract)* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/05%20IKESpec%20EN%20July%202010.pdf> (lest 17.januar 2012).
- Barth-HaasGroup. (2005). *Foam & foam enhancement* [Internett]. Tilgjengelig fra: http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/foam_enhancement.pdf (lest 2.mars 2012).
- Benitez, J. R., Forster, A., De Keukeleire, D., Moir, M., Sharpe, R., Verhagen, L. C. & Westwood, K. T. (1997). *Hops and Hop Products*, Verlag Hans Carl, Nürnberg, Tyskland, ISBN: 3-418-00758-9.
- Biendl, M. & Pinzl, C. (2008a). *Hops and Health. Uses, Effects, History*. Wolznach, German Hop Museum Wolznach. ISBN: 978-3-929749-06-9.
- Bilinski, A. (2009). Beer Flavor Compounds and Detection Methods. *Chemical Information Retrieval* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://getcheminfo.wikispaces.com/abilinski> (lest 15.januar 2012).
- Brasseries Kronenbourg. (1998). *Dosage des acides alphas, des acides iso-alpha et des acides tetra-hydro-iso alphas par HPLC*. Analysemetode for HPLC.
- Brechbühler. (u.å.). *Supercritical Fluid Extraction* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.brechbuehler.ch/SFE.1202.0.html> (lest 13.mars 2012).
- Bühler, T., Michel, R., Kanielberg, B. & Baumgärtner, Y. (2003). Dynamic low-pressure boiling – systematically optimized for top quality. *Brauwelt International* [Internett],

- V, s. 306-309. Tilgjengelig fra:
http://www.revistavirtualpro.com/files/TIE03_200705.pdf (lest 23.januar 2012).
- Carlsberg Breweries. (u.å.). *Hop Product Manual Isomerized Kettle Extract (IKE) & Potassium-Form Isomerized Kettle Extract (PIKE)*. 4. utg.
- Carlsberg Breweries. (2010). *Methods of Analysis: Anton Paar Alcolyzer (Plus) with DMA4500/5000*. Carlsberg Operation Manual, ID: QA-314718.
- Carlsberg Breweries. (2012a). *Methods of Analysis: CO₂ in Beer – Carbo QC*. Carlsberg Operation Manual, ID: CO₂ in Beer – Carbo QC.
- Carlsberg Breweries. (2012b). *Methods of Analysis: Diacetyl and Pentanedione by GC*. Carlsberg Operation Manual, ID: QA-31-47-98.
- Christensen, J., Ladefoged, A.M. & Nørgaard, L. (2005). Rapid Determination of Bitterness in Beer Using Fluorescence Spectroscopy and Chemometrics. *The Institute of Brewing & Distilling* [Internett], 111 (1), s. 3-10. Tilgjengelig fra:
<http://www.scientificsocieties.org/jib/papers/2005/G-2005-0309-278.pdf> (lest 15. mars 2012).
- De Keukeleire, D. (2000). Fundamentals of beer and hop chemistry. *Química Nova* [Internett], 23 (1), s. 108-112. Tilgjengelig fra:
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422000000100019&script=sci_arttext (lest 15.mars 2012).
- Eiken, J. (2011). Hops – the spice in beer. A practical and novel way to understand and quantify the quality of hop bitterness. *Scandinavian Brewers' Review*, 68 (4), s. 12-17.
- European Brewery Convention. (2010). Analytica-EBC. Verlag, Hans Carl, Nürnberg.
- Global Hops. (2009). *Pellets Type 90* [Internett]. Tilgjengelig fra:
<http://www.globalhops.com/products.html> (lest 20.april 2012).
- Goldammer, T. (2008). Hops. I: *The Brewers' Handbook*. 2. utg. Apex Publishers, Clifton, s. 41-58. ISBN (13): 978-0-9675212-3-7.
- Hall, M. (2007). *How To: Fall in Love with Beer* [Internett]. Tilgjengelig fra:
http://www.drinkingbeer.net/BeerArticles/How_To_Fall_in_Love_with_Beer.php5 (lest 17. februar 2012).
- Heyerick, A. (2001). *Unraveling the mechanism of the lightstruck flavor of beer* [Internett], Akademisk avhandling, Universitetet i Gent. Tilgjengelig fra:
http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/376/233/RUG01-001376233_2010_0001_AC.pdf (lest 5.januar 2012).
- Hopsteiner. (2001). *Hallertauer Taurus* [Internett]. Tilgjengelig fra:
<http://hopsteiner.com/pdf/germany/HallertauerTaurus.PDF> (lest 26. februar 2012).
- Hopsteiner. (2003). *Zeus* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://hopsteiner.com/pdf/us/Zeus.PDF> (lest 26. februar 2012).
- Hopsteiner. (2009). *Type 90 Pellets (Standard Pellets)* [Internett]. Tilgjengelig fra:
http://hopsteiner.com/pdf/20092/01_07_Type90%20.pdf (lest 20.april 2012).

- Jackson, M. (1991). Hvorfor er det forskjell på øl? I: *Den store ølboken*. Pegasus Forlag AS, Oslo, s. 8-22. ISBN: 82-442-0000-6.
- Jacobsen, T. & Hage, T. (1988). Humle: Botanikk og bitterstoffkjemi. I: *Humlens bitterstoff og utnyttelsen i bryggeriet*. Bryggeriindustriens Forskningslaboratorium, rapport 41, s. 1-9.
- Joh. Barth & Sohn GmbH & Co. KG. (2011a). *IKE*. Følgeseddel med analyserapport, Nuremberg.
- Joh. Barth & Sohn GmbH & Co. KG. (2011b). *CO₂*. Følgeseddel med analyserapport, Nuremberg.
- Kunze, W. (2004). *Technology brewing and malt*. 3. utg. Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin, Berlin. ISBN: 3-921690-49-8.
- Kunze, W. (2010). *Technology brewing and malt*. 4. utg. Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin, Berlin. ISBN: 978-3-921690-64-2.
- Kværnes, S. M. (2012). Det skummer over av nye norske mikrobryggerier. *ABC nyheter*, 4. februar 2012 [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.abcnyheter.no/livet/2012/02/04/det-skummer-over-av-nye-norske-mikrobryggerier> (lest 21.mai 2012).
- Lion. (2012). *Beer Glossary* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.lionco.com/sociability-and-wellbeing/beer-spirits-wine/beer-glossary/> (lest 26. mars 2012).
- Lupofresh Limited. (2011). *Pellets Type 90*. Følgeseddel med analyserapport, Kent.
- Molecular Networks GmbH. (u.å.). *Hulupone* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.molecular-networks.com/biopath3/biopath/mols/Hulupone> (lest 21. februar 2012).
- Mortensen, H. & Johnsen, V. (2009). Brygging. I: *Norsk øl*. Tun Forlag AS, Oslo, s. 32-42. ISBN: 978-82-529-3286-7.
- Narziss, L. (1992). *Die Bierbrauerei, Zweiter Band: Die Technologie der Würzebereitung*. 7. utg. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. ISBN: 3-432-85007-7.
- Nedre Romerike Vannverk (NRV). (2011). *Vannkvalitet* [Internett]. Tilgjengelig fra: http://www.nrva.no/modules/module_123/proxy.asp?D=2&C=52&I=80&mid=104 (lest 13. april 2012).
- New Zealand Hops Limited. (u.å.). *CO₂ Hop Extract* [Internett]. Tilgjengelig fra: http://www.nzhops.co.nz/products/co2_hop_extract.html (lest 12.april 2012).
- Paterson, A., Swanston, J.S. & Piggott, J.R. (2003). Beers. I: Lea. A.G.H. & Piggott, J.R. *Fermented Beverage Production*. 2. utg. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, s. 41-54. ISBN: 0-306-47275-9.
- ProBrewer.com. (u.å.). *Hops and hops products* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.probrewer.com/resources/hops/products.php> (lest 9. februar 2012).
- Ringnes. (2011). *Måling av celletall og % døde celler med Yeast Cyte*. Brukermanial, kategori Analyser Mibo, Dok. nr. 8239, 6. utg.

- Ringnes. (2012a). *Grunnlag for opprettelse av LAB-1 kontrollkort, analyseinstrument: spektrofotometer Libra S22*. Kontrollkort.
- Ringnes. (2012b). *Sensorisk analyse, Generelt*. Brukermanual, kategori Analyser Sensorisk, Dok. nr. 2057, 4.utg.
- Ringnes. (2012c). *Forskjellstest - triangeltest*. Brukermanual, kategori Analyser Sensorisk, Dok. nr. 2062, 3.utg
- Ringnes. (2012d). *Spesifikasjoner øl Ringnes AS – helårsprodukter*. Dok. nr. 6731.
- Qiu, L. (2007). *Changes in Physical State – phase transitions* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://wikis.lawrence.edu/display/CHEM/Changes+in+Physical+State+-+phase+transitions+-+Laura+Qiu> (lest 27.februar 2012).
- Rehmanji, M., Gopal, C. & Mola, A. (2005). Beer Stabilization Technology – Clearly a Matter of Choice. *Technical Quarterly* [Internett], 42 (4), s. 332-338. Tilgjengelig fra: <http://online1.ispcorp.com/en-US/Media/Articles/Beer%20Stabilization%20Technology%20-%20Clearly%20a%20Matter%20of%20Choice%20-%20Technical%20Quarterly.pdf> (lest 15.april 2012).
- Schönberger, C. & Kostelecky, T. (2011). 12th anniversary review: the role of hops in brewing. *The Journal of The Institute of Brewing & Distilling*, 117 (3), s. 259-267.
- Suzuki, K., Iijima, K., Sakamoto, K., Sami, M., & Yamashita, H. (2006). A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. *The Journal of The Institute of Brewing & Distilling*, 112 (2), s. 173-191.
- Sakamoto, K. (2002). Antibacterial activity of hop compounds. I: *Beer spoilage bacteria and hop resistance in Lactobacillus brevis*. Groningen, University of Groningen, s. 15-19. ISBN: 90-367-1689-6.
- Sakamoto, M. & Konings, W.N. (2003). Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International Journal of Food Microbiology*, 89 (1-3), s. 105-124.
- Schönberger, C. (2009). Why cohumulone is better than its reputation. I: *Brauwelt International*, 27 (3), s. 159-160.
- USDA ARS. (2007). *HOPS: New Markets, Better Storage* [Internett]. Tilgjengelig fra: <http://www.ars.usda.gov/is/ar/archive/jan08/hops0108.htm> (lest 17. februar 2012).
- Van Opstaele, F., Goiris, K., Stryn, E., De Rouck, G., Jaskula, B., De Clippeleer, J., Aerts, G. & De Cooman, L. (2006). Hop: Aroma and Bitterness Perception. *Cerevisia*, 31 (4), s. 167-188.
- Verzele, M. & De Keukeleire, D. (1991). Reduced derivatives of the beta acids. I: *Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids; developments in food science, Vol. 27*. Elsevier, Amsterdam, s. 223-306. ISBN: 0-444-88165-4.
- Waites, M.J., Morgan, N.L., Rockey, J.S. & Higton, G. (2001). Food and Beverage Fermentations. I: *Industrial Microbiology. An Introduction*. Blackwell Science, Oxford, s. 179-190. ISBN: 0-632-05307-0.

Wilson, R.J.H., Roberts, T., Smith, R.J. & Biendl, M. (2001). Improving hop utilization and flavor control through the use of pre-isomerized products in the brewery kettle.
Technical quarterly - Master Brewers Association of the Americas, 38 (1), s. 11-21.

Ødegård, C. (2010a). *Del 1 Brygghus*. Ringnes Bryggeri.

Ødegård, C. (2010b). *Del 2 Grønnøl, Filter og Pasteur*. Ringnes Bryggeri.

7 Vedlegg

	Navn på vedlegg	Forkortelser brukt i vedlegget
Vedlegg 1	Resultater fra analysene av vørter, og øl under gjæring	mill. cpm. = millioner celler per milliliter ppb = parts per million SD = standardavvik
Vedlegg 2	Resultater fra analysene på kuldestabiliseringstank	SD = standardavvik
Vedlegg 3	Resultater fra ferdigvareanalysene	sek. = sekunder
Vedlegg 4	Resultater fra HPLC-analysen	A = Ferdigvare med IKE/pellets B = Ferdigvare med pellets C = Ferdigvare med CO ₂ -ekstrakt
Vedlegg 5	Test av sensoriske preferanser (skjema)	
Vedlegg 6	Resultater test av sensoriske preferanser	Gj.snitt. = gjennomsnitt SD = standardavvik
Vedlegg 7	Triangeltest (skjema og tabell)	

Vedlegg 1 Resultater fra analysene av vørter, og øl under gjæring

Temperatur (°C) i kald vørter (dag 0) og under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1 IKE/pellets	Brygg 2 Pellets	Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt
0	14,0	13,9	13,0
1	14,2	13,9	14,0
2	14,0	14,0	13,7
3	14,0	14,1	13,7
4	14,0	14,0	13,7
5	14,0	14,0	13,5
6	14,0	14,0	13,5
7	14,0	14,0	13,5
8	14,0	14,0	13,4
9	14,0	-	-

pH i kaldvørter (dag 0) og under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1 IKE/pellets	Brygg 2 Pellets	Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt
0	5,05	5,2	5,1
1	4,75	4,8	4,7
2	4,49	4,5	4,4
3	4,44	4,3	4,3
4	4,39	4,3	4,3
5	4,35	4,3	4,3
6	4,33	4,3	4,3
7	4,35	4,3	4,3
8	4,33	4,3	4,3
9	4,34	-	-

Tilsynelatende ekstrakt (% Plato) under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1 IKE/pellets		Brygg 2 Pellets		Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt	
	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD
1	13,7	0,02	14,9	0,00	14,5	0,02
2	11,2	0,00	11,8	0,01	11,9	0,01
3	8,4	0,01	8,2	0,01	8,9	0,00
4	6,1	0,00	6,0	0,01	6,4	0,01
5	4,5	0,01	4,2	0,01	4,6	0,05
6	3,5	0,02	3,7	0,00	3,7	0,01
7	3,1	0,00	3,5	0,00	3,3	0,00
8	2,9	0,01	3,4	0,00	3,1	0,01
9	2,9	0,00	-	-	-	-

Alkoholinnhold (% vol) under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1 IKE/pellets		Brygg 2 Pellets		Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt	
	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD
1	0,6	0,02	0,5	0,01	0,8	0,01
2	2,4	0,01	2,2	0,00	2,3	0,01
3	3,9	0,00	4,2	0,01	3,9	0,00
4	5,2	0,01	5,4	0,01	5,3	0,01
5	6,0	0,00	6,4	0,01	6,3	0,06
6	6,6	0,01	6,7	0,00	6,9	0,02
7	6,8	0,02	6,8	0,01	7,1	0,01
8	6,9	0,01	6,9	0,00	7,2	0,02
9	7,1	0,01	-	-	-	-

Antall gjærceller (mill. cpm) under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1 IKE/pellets		Brygg 2 Pellets		Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt	
	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD
1	11,195	1,00	11,47	0,61	10,44	3,08
2	31,2	4,26	28,67	0,99	32,72	1,72
3	41,43	3,49	39,145	2,52	40,875	3,63
4	46,98	2,15	37,745	0,93	39,125	0,62
5	32,21	1,06	21,435	3,63	32,185	0,02
6	23,72	1,16	14,055	2,91	22,52	0,17
7	16,14	0,49	9,765	2,33	15,24	0,30
8	9,51	0,03	8,76	1,60	10,492	0,92
9	9,35	0,34	-	-	-	-

Nivået av diacetyl (ppb) under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1 IKE/pellets	Brygg 2 Pellets	Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt
1	0,419	0,790	0,321
2	0,453	0,197	0,317
3	0,333	0,170	0,249
4	0,259	0,180	0,187
5	0,206	0,118	0,143
6	0,143	0,790	0,079
7	0,970	0,450	0,071
8	0,640	0,610	0,064
9	0,440	-	-

BU(spektrofotometrisk) i kald vørter (dag 0) og under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1 IKE/pellets*		Brygg 2 Pellets		Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt	
	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD	Gjennomsnitt	SD
0	48	0,40	48	1,98	50	1,68
1	43	0,69	41	2,00	41	0,72
2	39	0,82	35	2,45	40	0,56
3	39	1,19	31	0,58	39	0,45
4	37	0,32	33	0,68	37	0,52
5	36	1,04	34	0,70	38	0,62
6	34	0,07	34	0,50	38	0,62
7	34	0,69	34	0,13	37	0,40
8	34	0,22	33	0,75	36	1,00
9	35	0,45	-	-	-	-

* BU er multiplisert med analysefaktor 1,2.

Vedlegg 2 Resultater fra analysene på kuldestabiliseringstank

pH, BU (spektrofotometrisk), farge (EBC), alkohol- (% vol) og tilsynelatende ekstraktinnhold (% Plato) i bryggene på kuldestabiliseringstank.

Analyse	Brygg 1 IKE/pellets	Brygg 2 Pellets	Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt
pH	4,4	4,4	4,3
BU (spektrofotometrisk)	32*	33	35
Farge (EBC)	11,9	10	11,4
Alkohol (% vol)	7,1	6,91	7,26
Tilsynelatende ekstrakt (% Plato)	2,8	3,27	2,9

* BU er multiplisert med analysefaktor 1,2.

Vedlegg 3 Resultater fra ferdigvareanalysene

Alkoholinnhold (% vol), pH, BU (spektrofotometrisk), skumholdbarhet (sek.) og CO₂ (g/l) i ferdigvarene.

Analyse	Brygg 1 IKE/pellets	Brygg 2 Pellets	Brygg 1 CO ₂ -ekstrakt
Alkohol (% vol)	4,56	4,58	4,69
pH	4,4	4,4	4,4
BU (spektrofotometrisk)	20*	21	24
Skumholdbarhet (sek.)	236	247	238
CO ₂ (g/l)	5,43	5,3	5,2

* BU er multiplisert med analysefaktor 1,2.

Vedlegg 4 Resultater fra HPLC-analysen

**CARLSBERG GROUP
CENTRAL LABORATORY**
Brasseries Kronenbourg
68 route d'Oberhausbergen BP 13
67037 Strasbourg Cedex 2
France



GROUP DEVELOPMENT

ANALYSIS REPORT

April 10th 2012

Correspondant :

Jean-François MOREL

Ansa TOIVOLA Central Lab Manager

Dir +33 3 88 27 43 93

Jean-francois.morel@carlsberg.fr

Customer :

Bryggeriveien 2
1481 Hagan
NORWAY

Contacts

tore.hage@ringnes.no

		10.04.2012		
		Beer		
		A filling date		
		27,03,12		
		890000290908		
Isolone	mg/l	18,77		
Isocohumulone	Area	121916	Percent	39,12
Isohumulone	Area	150011	Percent	48,14
isoadhumulone	Area	39681	Percent	12,73
Total		311608		

		B filling date		
		28.03.12		
		890000290909		
Isolone	mg/l	22,65		
Isocohumulone	Area	126306	Percent	33,39
Isohumulone	Area	197301	Percent	52,16
isoadhumulone	Area	54658	Percent	14,45
Total		378265		

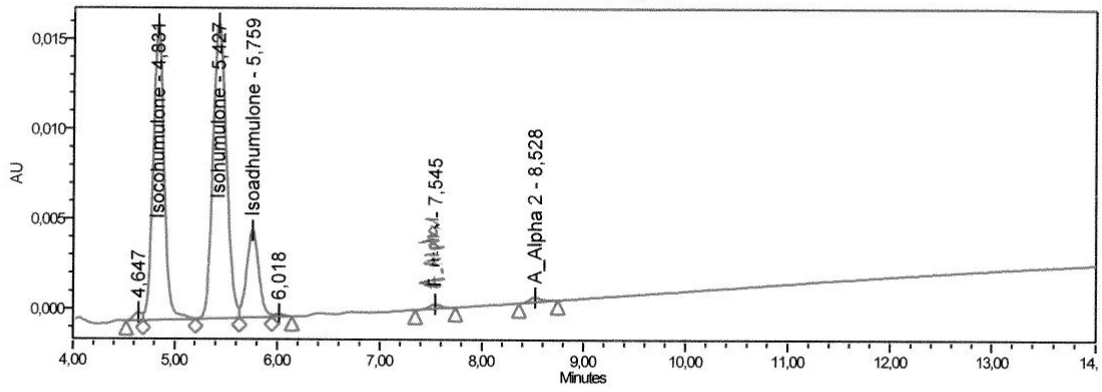
		C filling date		
		02.04.12		
		890000290910		
Isolone	mg/l	23,68		
Isocohumulone	Area	154580	Percent	39,06
Isohumulone	Area	190747	Percent	48,20
isoadhumulone	Area	50423	Percent	12,74
Total		395750		



SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	89/290908 Ringnes A	Acquired By:	burton
Sample Type:	Unknown	Date Acquired:	11/04/2012 15:21:29
Vial:	85	Acq. Method Set:	AMERTUME_XB
Injection #:	1	Date Processed:	11/04/2012 16:03:19
Injection Volume:	10,00 ul	Processing Method:	110412 AMERTUME_XB ZM
Run Time:	14,0 Minutes	Channel Name:	2487Channel 1
Sample Set Name:	110412 AMERTUME_XB bb	Proc. Chnl. Descr.:	

Auto-Scaled Chromatogram



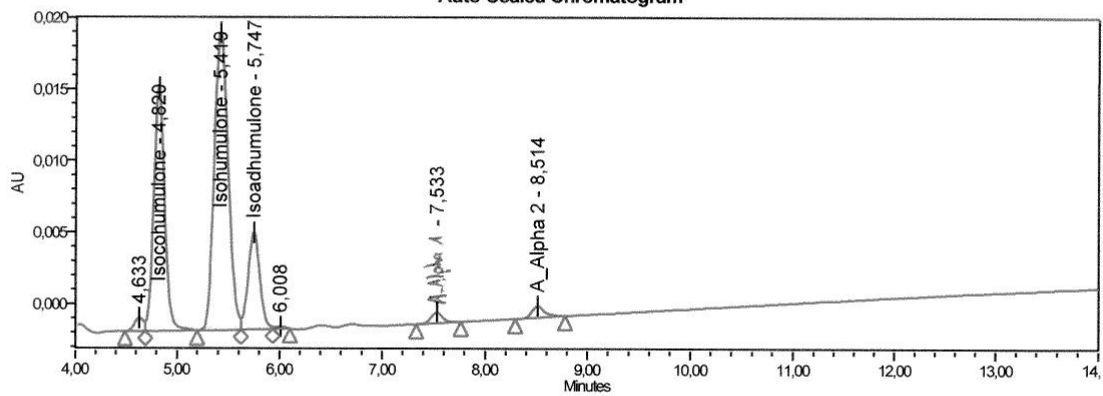
Peak Name	Retention Time (min)	Area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)	% Area	Amount	Units
1		311608	97,49	18,77	mg/l
2					
3	4,647	2669	0,83		
4	Isocohumulone 4,831	121916	38,14		
5	Isohumulone 5,427	150011	46,93		
6	Isoadhumulone 5,759	39681	12,41		
7	6,018	1131	0,35		
8					
9					
10	A_Alpha 1 7,545	1997	0,62		
11					
12	A_Alpha 2 8,528	2238	0,70		



SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	89/290909 Ringnes B	Acquired By:	burton
Sample Type:	Unknown	Date Acquired:	11/04/2012 15:40:26
Vial:	86	Acq. Method Set:	AMERTUME_XB
Injection #:	1	Date Processed:	11/04/2012 16:04:03
Injection Volume:	10,00 ul	Processing Method:	110412 AMERTUME_XB ZM
Run Time:	14,0 Minutes	Channel Name:	2487Channel 1
Sample Set Name:	110412 AMERTUME_XB bb	Proc. Chnl. Descr.:	

Auto-Scaled Chromatogram



Peak Name	Retention Time (min)	Area (µV*sec)	% Area	Amount	Units
1	Isolone	378266	95,01	22,65	mg/l
2					
3	4,633	5866	1,47		
4	Isocochumulone	126306	31,72		
5	Isohumulone	197301	49,55		
6	Isoadhumulone	54658	13,73		
7	6,008	1213	0,30		
8	6,754				
9	7,916				
10	7,533	5701	1,43		
11	7,967				
12	A_Alpha 2	7105	1,78		

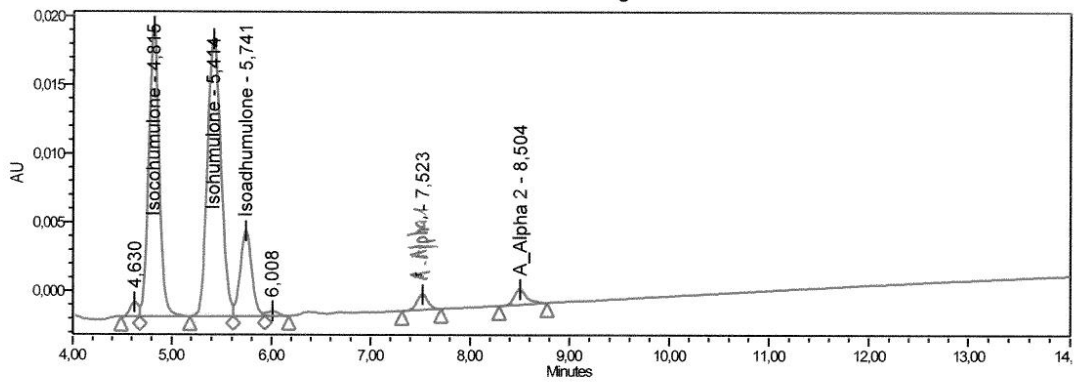


SAMPLE INFORMATION

Sample Name: 89/290910 Ringnes C
Sample Type: Unknown
Vial: 87
Injection #: 1
Injection Volume: 10,00 ul
Run Time: 14,0 Minutes
Sample Set Name: 110412 AMERTUME_XB bb

Acquired By: burton
Date Acquired: 11/04/2012 15:59:21
Acq. Method Set: AMERTUME_XB
Date Processed: 11/04/2012 16:16:10
Processing Method: 110412 AMERTUME_XB ZM
Channel Name: 2487Channel 1
Proc. Chnl. Descr.:

Auto-Scaled Chromatogram



Peak Name	Retention Time (min)	Area (µV*sec)	% Area	Amount	Units
1	Isolone	395750	93,52	23,68	mg/l
2					mg/l
3	4,630	6368	1,50		
4	Isocohumulone	4,815	154580	36,53	
5	Iscohumulone	5,414	190747	45,08	
6	Isocadhumulone	5,741	50423	11,92	
7	6,008	2651	0,63		
8					
9					
10	A_Alpha 1	7,523	8644	2,04	
11	7				
12	A_Alpha 2	8,504	9739	2,30	

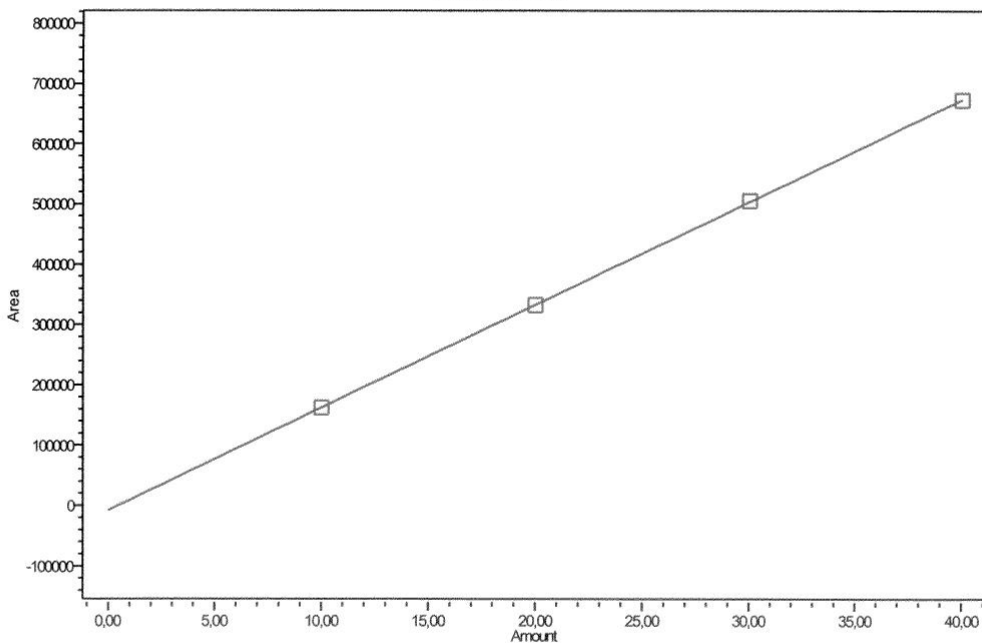
Reported by User: burton

Project Name: AMERTUME_ALL_XB2012_2

Processing Method:	110412 AMERTUME_XB ZM	Project Name:	AMERTUME_ALL_XB2012_2
Processing Method ID:	4314	System:	2695_2487
Calibration ID:	4337	Channel:	2487Channel 1
Date Calibrated:	11/04/2012 16:04:11	Proc. Chnl. Descr.:	****

A -8,089131e+003
 B 1,705486e+004
 C 0,000000e+000
 D 0,000000e+000
 R^2 0,999967

Calibration Plot



Peak Isoline

	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation	Manual	Ignore
1	Isoline		10,000000	162502,360201	10,002515	0,025	No	No
2	Isoline		20,000000	332063,221451	19,944600	-0,277	Yes	No
3	Isoline		30,000000	505317,651320	30,103255	0,344	Yes	No
4	Isoline		40,000000	673246,203139	39,949630	-0,126	Yes	No

Oppsummering av resultatene fra HPLC-analysen.

α-/iso-α- syrer	Brygg 1		Brygg 2		Brygg 3	
	IKE/pellets		Pellets		CO₂-ekstrakt	
	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%
α -syre:						
Cohumulon	0,2	47	0,6	44	0,9	47
Humulon + adhumulon	0,2	53	0,7	55	1,0	53
Totalt α -syre	0,4	100	1,3	100	1,8	100
Iso- α -syre:						
Isocohumulon	7,3	39	7,6	33	9,2	39
Isohumulon	9,0	48	11,8	52	11,4	48
Isoadhumulon	2,4	13	3,3	14	3,0	13
Totalt iso- α - syre	18,8	100	22,6	100	23,7	100
Totalt α - og iso- α -syre	19,2		23,9		25,5	

Vedlegg 5 Test av sensoriske preferanser (skjema)

Du vil få servert 3 ulike varianter av Ringnes Pils, kodet RC, MV og TL. Vi ønsker at du gjennomfører analysen i følgende rekkefølge:

1. RC
2. MV
3. TL

Det vil si at da du har gjennomført analysen for prøve RC, går du over til analysen for prøve MV, før du til slutt gjennomfører analysen for prøve TL.

Når du smaker er det viktig at du smaker på cirka like mye øl av hver prøve.

Lykke til!

Du skal nå smake på:

Ringnes Pils, kodet **RC**.

1. Du vil få servert 3 ulike varianter av Ringnes Pils. Vi ønsker at du oppgir hvor godt du liker disse ølene med hensyn til ulike egenskaper.

Husk å bedømme prøvene i den rekkefølgen som står på skjemaet.

Prøve: RC

Sett sirkel rundt ditt valg.

Egenskap	Liker ikke i det hele tatt	Liker ganske dårlig	Verken liker/ikke liker	Liker ganske godt	Liker veldig godt
Lukt	1	2	3	4	5
Smak	1	2	3	4	5
Munnfølelse	1	2	3	4	5
Ettersmak	1	2	3	4	5

Totalt sett, hvor godt likte du dette ølet? 1 er laveste, og 9 er høyeste score.

Sett sirkel rundt ditt valg.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

2. Du skal nå bedømme prøven for ulike egenskaper ettersom du synes prøven har for lite, akkurat passe (optimalt), eller for mye av egenskapen.

Husk å bedømme prøvene i den rekkefølgen som står på skjemaet.

Prøve: RC

Sett sirkel rundt ditt valg.

	Helt klart ikke nok	Ikke nok	Optimalt	For mye	Helt klart for mye
Humlesmak/-aroma	1	2	3	4	5
Esteraroma	1	2	3	4	5
Bitterintensitet	1	2	3	4	5
Bitter ettersmak	1	2	3	4	5
Bittersmakens varighet	1	2	3	4	5
Syrlighet	1	2	3	4	5
Sødme	1	2	3	4	5
Fruktighet	1	2	3	4	5
Skum	1	2	3	4	5

3. Til slutt ber vi deg svare på hvilken av ølene du foretrekker.

Sett sirkel rundt ditt valg

RC	MV	TL	Alle tre
-----------	-----------	-----------	-----------------

Takk for deltakelsen!

Vedlegg 6 Resultater fra test av sensoriske preferanser

Spørsmål 1: ”Hvor godt du liker disse ølene med hensyn til følgende egenskaper”.

Dommer	Lukt			Smak			Munnfølelse			Ettersmak		
	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt
1	4	3	4	4	3	3	3	1	2	3	2	3
2	4	4	4	4	3	3	4	2	3	2	2	3
3	4	2	2	4	3	2	4	4	2	5	3	2
4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	4	4	4
5	4	4	3	3	4	4	3	4	3	2	4	3
6	4	4	4	4	5	5	4	5	5	3	5	5
7	3	3	4	3	3	4	4	3	4	2	2	3
8	3	2	3	4	1	1	4	1	1	4	1	1
9	4	3	4	4	3	4	4	3	4	4	2	4
10	4	4	4	4	4	3	4	4	3	4	3	2
11	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	3
12	4	2	3	4	2	2	3	2	3	4	3	3
13	2	4	3	4	4	4	3	4	3	2	4	3
14	5	4	4	5	3	3	5	3	3	5	4	2
Gjennomsnitt	3,8	3,4	3,6	3,9	3,3	3,3	3,6	3,0	3,0	3,4	2,9	2,9
SD	0,7	0,8	0,7	0,5	1,0	1,1	0,6	1,2	1,0	1,1	1,1	1,0

Del to av spørsmål 1; ”Totalt sett, hvor godt likte du dette ølet?”

Dommer	IKE/pellets	Pellets	CO₂-ekstrakt
1	-	-	-
2	7	4	5
3	4	5	6
4	8	6	4
5	6	7	6
6	5	7	5
7	6	9	8
8	5	5	7
9	6	4	6
10	7	6	4
11	6	4	5
12	6	3	5
13	3	7	6
13	9	5	5
Gjennomsnitt	6,0	5,5	5,5
SD	1,6	1,7	1,1

- = ikke besvart spørsmål, og ikke medberegnet i gjennomsnitt, eller standardavvik.

Spørsmål 2: ”Bedøm prøven for ulike egenskaper ettersom du synes prøven har for lite, akkurat passe (optimalt), eller for mye av egenskapen”.

Dommer	Humlesmak/-aroma			Esteraroma			Bitterintensitet			Bitter ettersmak		
	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	2	2	2	2	4	2	4	3	2	4	4	2
3	3	4	4	3	3	3	3	4	4	3	4	4
4	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	4
5	2	2	2	2	3	3	4	3	3	4	4	3
6	4	3	3	3	3	3	4	3	3	5	3	3
7	4	3	3	4	3	3	2	3	3	4	4	3
8	3	5	5	2	1	2	3	5	5	3	5	5
9	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4
10	3	3	3	4	3	3	3	3	5	3	4	5
11	3	3	3	3	4	3	4	4	4	4	5	4
12	3	2	2	3	2	2	4	4	4	3	3	3
13	2	2	2	2	3	3	4	4	2	4	4	2
14	3	3	3	3	5	3	3	3	5	3	3	5
Gj.snitt.	2,9	3,2	2,9	2,9	3,1	2,8	3,4	3,5	3,7	3,6	3,9	3,6
SD	0,6	0,7	0,9	0,7	1,0	0,4	0,7	0,7	1,0	0,7	0,7	1,0

- = ikke besvart spørsmål, og ikke medberegnet i gjennomsnitt, eller standardavvik.

Fortsettelse fra forrige tabell (spørsmål 2).

Dommer	Bittersmakens varighet			Syrlighet			Sødme			Fruktighet			Skum		
	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	IKE/pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	5	4	2	4	3	3	3	3	3	2	2	3	3	4	4
3	3	4	4	2	3	3	3	2	3	3	2	2	2	2	1
4	4	4	4	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	2	2
5	4	3	2	3	3	4	2	2	4	3	3	2	2	2	2
6	5	3	2	-	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
7	4	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
8	3	5	4	3	4	3	2	2	2	3	3	3	3	3	3
9	4	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3
10	3	3	5	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3
11	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	4	3	2	2	2
12	3	4	3	4	2	4	3	2	2	2	2	2	3	2	3
13	4	4	2	4	3	3	2	2	4	3	3	3	1	1	1
14	3	4	5	3	4	3	3	3	3	2	5	3	2	2	2
Gj.snitt.	3,8	4,0	3,3	3,3	3,1	3,2	2,8	2,5	3,0	2,8	3,0	2,8	2,4	2,5	2,5
SD	0,73	0,7	1,1	0,6	0,5	0,4	0,4	0,5	0,6	0,4	0,8	0,4	0,7	0,8	0,9

- = ikke besvart spørsmål, og ikke medberegnet i gjennomsnitt, eller standardavvik.

Spørsmål 4: ”Hvilken ferdigvare foretrekker du som Ringnes Pils?”

	IKE/Pellets	Pellets	CO ₂ -ekstrakt	Totalt antall dommere
Sum	6	4	3	13

* Én av dommerne valgte å ikke besvare dette spørsmålet.

Vedlegg 7 Triangeltest (skjema og tabell)

TRIANGELTEST

Sensorisk smakspanel Ringnes Bryggeri, 10-01-2012

Navn: _____

Du får nå servert tre prøver med ulik koding. Noter ned kodingen i tabellen nedenfor.

To av de tre prøvene er helt like. Se, lukt og smak på dem, og marker med kryss hvilken prøve du mener er **ulik** de to andre.

Dersom du ikke merker forskjell, må du gjette.

Du kan smake om igjen på prøvene i hvert triangel så mye du vil, men husk at dette ikke nødvendigvis vil gjøre bedømmelsen lettere.

Prøve nr.			
Hvilken prøve er ulik de to andre?			

Prøve nr.			
Hvilken prøve er ulik de to andre?			

Prøve nr.			
Hvilken prøve er ulik de to andre?			

Tabell over antall korrekte identifikasjoner som er nødvendig for signifikans på forskjellige nivåer ved triangeltest.

Antall bedømmelser	Signifikansnivå		
	5 %	1 %	0,1 %
5	4	5	5
6	5	6	6
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
21	12	13	15
22	12	14	15
23	13	14	16
24	13	14	16
25	13	15	17
30	16	17	19
35	18	19	21
40	20	22	24
45	22	24	26
50	24	26	28
60	28	30	33
70	32	34	37
80	35	38	41
90	39	42	45
100	43	46	49