

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet  
Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap

Masteroppgave 2015  
30 stp

# Utvikling av Glutenfritt Øl ved Bruk av Mais og et Redusert Maltinnhold

Development of Gluten Free Beer using Maize and a  
Reduced Content of Malt

Espen Strand Andersen

## ACKNOWLEDGEMENTS

## ACKNOWLEDGEMENTS

Arbeidet i denne oppgaven ble utført ved Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap ved Norges Miljø og Biovitenskapelige Universitet.

Jeg ønsker å takke førsteamanuensis Trude Wicklund for muligheten til å utføre masteroppgaven og for god veiledning under arbeidet med oppgaven. Jeg ønsker også å takke seniorrådgiver Elisabeth Fjervoll Olsen and overingeniør Ellen Skuterud for god veiledning gjennom prosjektet. Takk til Kari Olsen for utførelse av TDGCMS og HSGC-FID. Jeg vil til slutt takke min kone, familie og venner for støtte under hele prosjektet.

Oslo 14. Desember 2015

Espen Strand Andersen

## ABSTRACT

### ABSTRACT

Approximately 1 % of the world's population live with Celiac disease. Celiac disease is an autoimmune disease that leads to degeneration of the colon wall. There is no cure, and individuals with celiac disease cannot consume products containing gluten.

Awareness around the disease have given more gluten free products in everyday stores, in the later years. Today there is only one Norwegian beer declared gluten free, Ringnes Lite. The selection of gluten free beer produced abroad is wider.

This master thesis develops a gluten free beer, by reducing the amount of malt, and replace it with maize flakes. The product cannot be called beer, but a beer like beverage, regardless the theses will refer to the product as beer.

It was produced beer with a concentration of malt of 100 %, 5 %, 2,5 %, 1% and 0 %. When brewing with a malt concentration under 5 %, the production required adding of rice husk and enzymes, for a good extraction rate after mashing. Measurements with the Anton Paar-instrument showed a low degree of fermentation, at malt concentration under 5 %. The results can be due to low content of vitamins and minerals in the wort. Sensoric analysis revealed a difference between the brews. The panellists reported willingness to buy the brews if in store. RIDASCREEN Gliadin Competitive ELISA was used to measure gluten, all brews with reduced concentration of malt, was measured under threshold at 20 ppm, and gluten free.

## SAMMENDRAG

### SAMMENDRAG

Omtrent 1% av verdens befolkning er rammet av cøliaki. Cøliaki er en autoimmun sykdom som fører til nedbrytning av tarmveggen ved inntak av gluten. Det er ingen kur for cøliaki, så personer som har sykdommen kan ikke spise glutenholdige produkter. I de senere årene har det vært en økning i glutenfrie produkter i butikkhyllene, i takt med at det har blitt mer oppmerksomhet rundt sykdommen. Per i dag er det kun en norsk øl som er deklarerert som glutenfri, Ringnes Lite, til tross for at utvalget av utenlandsk glutenfri øl er større.

I denne oppgaven har det blitt utviklet glutenfritt øl ved å redusere maltmengden og erstatte denne med flaket mais. Av denne grunnen kan man ikke kalle produktet øl i Norge, men det er et ølliknende produkt, likevel blir produktet omtalt som øl. Det ble produsert øl med malkonsentrasjon på 100 %, 5 %, 2,5 % og 1% og 0 %.

Produksjonen krevde tilsetning av risskall og enzymer for å gi et godt utbytte etter mesking ved maltinnhold lavere enn 5%. Målinger ved bruk av Anton Paar-instrumenter viste lav fermenteringsgrad ved malkonsentrasjoner lavere enn 5%, som kan komme av for lavt innhold av vitaminer og mineraler i vørteren. Sensorisk analyse av ølene viste at det var forskjell mellom de ulike ølene, panel deltakerne var også villige til å kjøpe det ølen om den var til salgs i butikken. Måling av gluteninnhold ble gjort ved bruk av Ridascreen Gliadin Competitive ELISA, samtlige øl med redusert maltinnhold fikk et gluteninnhold under grenseverdien på 20ppm.

## Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon.....	1
1.1	Ølbrygging.....	2
1.1.1	Innhold i øl.....	2
1.1.2	Prosess.....	14
1.1.3	Cøliaki.....	19
1.1.4	Gluten.....	20
1.1.5	Infeksjoner i øl – Helse og Smak.....	20
1.1.6	Head Space Gas Chromotografi FID.....	22
1.1.7	TD-GCMS.....	24
1.1.8	ELISA.....	24
1.1.9	Sensorisk analyse.....	25
1.1.10	Anton Paar.....	26
2	Materialer.....	29
3	Metoder.....	32
3.1	Meskeforsøk – testing av enzymaktivitet i liten skala.....	32
3.1.1	Meskeforsøk 1.....	32
3.2	Meskeforsøk 2.....	33
3.3	Brygging av øl.....	33
3.4	Anton Parr.....	36
3.5	TDGCMS og HSGC-FID.....	36
3.5.1	Prøvepreparering.....	36
3.5.2	HSGC-FID.....	36
3.5.3	TDGCMS.....	37
3.6	ELISA.....	39
3.6.1	Prøveopparbeidelse.....	39
3.6.2	Opparbeidelse av reagenser.....	39
3.6.3	Utførelse av analyse.....	39
3.7	Sensorisk analyse.....	40

## Innholdsfortegnelse

3.7.1	Triangeltest.....	40
3.7.2	Fri Profilering .....	40
4	Resultater .....	41
4.1	Meskeforsøk i liten skala - førforsøk .....	41
4.1.1	Meskeforsøk 1 .....	41
4.1.2	Meskeforsøk 2 .....	42
4.2	Brygging .....	43
4.3	Anton Paar .....	44
4.4	HSGC-FID .....	45
4.5	TDGCMS.....	47
4.6	ELISA.....	48
4.7	Sensorisk analyse .....	49
4.7.1	Triangeltest.....	49
4.7.2	Fri Profilering .....	50
5	Diskusjon .....	52
5.1	Meskeforsøk.....	52
5.2	Brygging av øl .....	52
5.3	Anton Paar .....	53
5.4	ELISA.....	53
5.5	Flyktige komponenter .....	54
5.5.1	HSGC-FID .....	55
5.5.2	TD GCMS .....	55
5.6	Sensoriske analyser .....	55
5.6.1	Triangeltest.....	55
5.6.2	Fri profilering.....	56
6	Konklusjon .....	57
	Kilder .....	58
	Ordforklaringer .....	IV

## Ordforklaringer

### Ordforklaringer

°Brix           Innhold av sukker i løsning.  $1^\circ\text{Brix} = 1 \text{ g sukrose i } 100 \text{ g løsning}$

g               gram

L               Liter

Min            Minutter

Terskelverdi Mengden av et komponent som kreves for å smake og/eller lukte det i  
                  løsning

Villgjær       All annen gjær en ønsket gjær i bryggeprosessen

Enkelte engelske ord eller uttrykk har ingen oversettelse til norsk. Derfor er det fremstilt en tabell med engelsk-norsk oversettelse. Oppgaven benytter norsk oversettelse der det er hensiktsmessig.

α-acid	Alfa-syre
Apparent degree of fermentation	Fermenteringsgrad
Apparent extract	Tilsynelatende ekstrakt
Biscuity	Kjeksaktig
Crisp	Krispy
Free Choice Profiling	Fri profilering
Haze value	Matthet
International bitterness units	International bitterenhet
Leutering	Siling
Low malt beer	Lav maltøl
Microwell	Brønn
Mouth coating	Munnbelegg
Neurological symptoms	Nerveendringer
Real extract	Ekte ekstrakt
Ultra low gluten barley	Ultra lav bygggluten (ULG)

#### Prefikser

k	kilo ( $10^3$ )
m	milli ( $10^{-3}$ )
μ	mikro ( $10^{-6}$ )
n	nano ( $10^{-9}$ )



## 1 Introduksjon

I de senere år har man sett en stor økning i glutenfrie produkter i matbutikkene, men glutenfritt øl har latt vente på seg. Ringnes Lite er per i dag den eneste Norske ølen som kan merkes glutenfri, mens det er utenlandske øl som er merket glutenfrie i norske butikker (NorskCøliakiforening). Blant disse finner man «Estrella Galicia Premium Lager», «Mikkeller I Wish Gluten Free IPA» og «Green's Dark Ale Original». For at et produkt skal kunne merkes glutenfritt må ordinert produktet inneholde gluten, alternativt produkt med gluteninnholdet redusert til under 20pppm kvalifiseres produktet til merking «glutenfritt»(Mattilsynet 2013). I den senere tid har det blitt stor variasjon i bruk av humle, både med tanke på typer humle og mengde humle. Andre smaksgivere har også blitt tilsatt, frukt, bær, grønnsaker og krydder. Mais har blitt en populær tilsetning i øl, eksempler på dette er Corona og Sol. Mais tilsettes som en alternativ stivelseskilde for å gi et lettere øl. Ved brygging av øl skal malt være hovedekstraktgivende ingrediens (Øystrå 2013), slik at produktet produsert i denne oppgaven vil være et øl liknende produkt basert på mais, men vil likevel bli omtalt som øl.

I denne oppgaven er det brygget fem ulike resepter i tre paralleller. Reseptene er like, med unntak av stivelseskilde. Tre resepter har en kombinasjon av mais og bygg, henholdsvis 95%, 97,5% og 99% mais, mens de to siste reseptene er 100% mais og 100% bygg. Før brygging i stor skala ble det gjennomført to meskeforsøk i liten skala for å undersøke om det var tilstrekkelig enzymaktivitet i kombinasjonsreseptene.

Målet med denne oppgaven er å undersøke om det er mulig å brygge glutenfritt øl basert på mais, med bygg som enzym-, smak, og fargekilde. Oppgaven grunnleggende bryggemetode.

## Introduksjon

### 1.1 Ølbrygging

I tradisjonell ølbrygging er det fire ingredienser; bygg, gjær, humle og vann. Bygg blir først maltet før den meskes med vannet, før malten siles ut. Resultatet av dette er en ekstrakt. Ekstrakten kokes deretter sammen med humle og danner vørter. Etter nedkjøling av vørter tilsettes gjær som fermenterer sukkeret i vørteren til etanol, CO<sub>2</sub> og smakskomponenter. I denne oppgaven erstattes store deler av malten med mais, hvilket ikke inneholder gluten, for å redusere gluteninnholdet til under 20ppm. Livsmedelverket utførte i 2005 en undersøkelse av over 80 øl på det svenske markedet og denne undersøkelsen viser stor variasjon i gluteninnhold (Livsmedelverket 2005). Variasjonen var tydeligst mellom bryggeriene, noe som kan tyde på at produksjonsmetode kan ha innvirkning. Derfor brukes det en grunnleggende bryggemetode i denne oppgaven.

#### 1.1.1 Innhold i øl

##### 1.1.1.1 Stivelse

Stivelse er plantenes lagringsmedium for energi og er et produkt av fotosyntesen. Stivelse lagres i blant annet røtter, knoller, frø, frukter og det er disse kildene man oftest benytter. I planter forekommer stivelse ofte som smaksløst hvit pulver eller granulat, noe som gjør den lett å identifisere. Stivelse er bygd opp av amylose og amylopectin, i henholdsvis 20% og 80%(Bernatek 2015). Forholdet mellom amylopectin og amylose kan variere innenfor art og mellom så- og høstetidspunkt. Amylose er bygd opp av glukose-enheter i alfa 1-4 bindinger og danner derfor lange stivelseskjeder, uten forgreininger(Uggerud and 2009). Amylopectin er, som amylose, bygd opp av glukoseenheter med  $\alpha$  1-4 bindinger og  $\alpha$  1-6 bindinger som fører til forgreininger (Ditlefsen and 2009).

##### 1.1.1.2 Malt

Maltens oppgave i øl er å gi næring til gjæren i form av karbohydrater, vitaminer og mineraler, i tillegg til smak, farge og fylde. Karbohydratene i malt forekommer som stivelse, som gjæren ikke omsetter. Stivelsen må derfor brytes ned til maltose, glukose

## Introduksjon

og maltotriose, dette gjøres i meskingen med naturlig forekomne enzymer i malten. Stivelse utgjør den største delen av malten, ofte 58%, i malt inneholder stivelse henholdsvis 20-25% og 75-80% amylose og amylopektin. (Dennis E. Briggs 2011)

Det er en rekke ulike malttyper og alle tar utgangspunkt i det samme råstoffet, bygg. Det er i hovedsak prosessen som endres for å gi ulike typer malt. Malt deles inn i to hovedgrupper, basemalt og spesialmalt. Basemalt er hoveddelen av malten brukt i øl, og står for enzymaktivitet og stivelse. Spesialmalt er mørke malttyper som gir mye farge, aroma og smak, men lite eller ingen enzymaktivitet.

*Tabell 1.1-1 Ulike typer malt, mengde brukt i batch og karakteristikk. Pilsner-, Munich- og palemalt representerer her basemalt, karamell- og sjokolademalt representerer spesialmalt. Hvetemalt har en posisjon mellom base- og spesialmalt.*

Type malt	Mengde	Innvirkning på ferdig produkt
<b>Pilsen malt</b>	Opptil 100%	Gir lys farge og gir et lett øl. Har mest enzym grunnet lav tørke-temperatur. Brukes til lager og pilsner(Bestmalz 2015)
<b>Munich malt</b>	Opptil 100%	Gir en mørkere farge enn Pilsen malt og en aromatisk smak. Lavere enzymaktivitet enn hos Pilsner malt(Bestmalz 2015)
<b>Palemalt</b>	Opptil 100%	Lys farge, noe mørkere enn pilsen malt. Brukes i ale(Bestmalz 2015)
<b>Karamellmalt</b>	opptil 50%	Dyp farge og kraftigere smak(Bestmalz 2015)
<b>Sjokolademalt</b>	Små mengder	Gir svært mørk farge, gir kraftig farge og aroma, lite eller ingen enzymaktivitet (Bestmalz 2015)
<b>Hvetemalt</b>	Opptil 50%	Gir karakteristisk hvetesmak (Bestmalz 2015)

Tabell 1.1-1 viser et utvalg malttyper benyttet i ølproduksjon.

### 1.1.1.2.1 Enzymer i malt

Enzymene i malten dannes når kornet spirer som et steg av maltingen. Under malting blir kornet, ofte bygg, dynket i vann slik at det spirer. Når kornet har spirt blir det tørket

## Introduksjon

ved ulike temperaturer for å gi ulike typer malt. Ved temperaturene som kreves for å lage spesialmalt denatureres enzymene. Figur 1.1-1 viser spiring i bygg og enzymene som dannes.

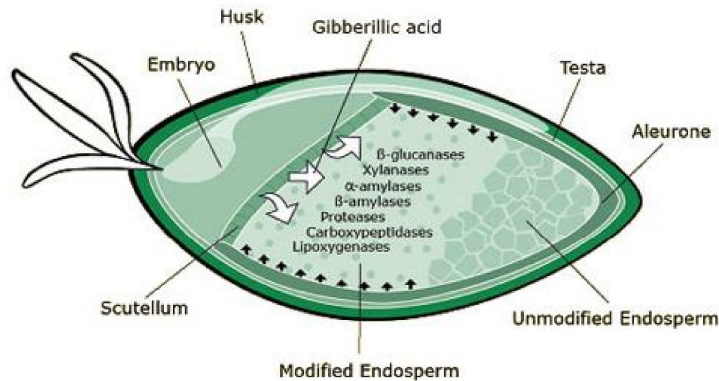


Figure 1.1-1 Illustrerer hva som skjer i kornet under germinering.  $\beta$ -glucanase, Xylanases,  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, Protease, Carboxypeptidase og Lipoxygenase dannes i kornet og modifierer endospermen (Aastrup and Olsen 2008)

I tabell 1.1-2 vises enzymene i malt, deres optimaltemperaturer, virkemåte og produkt. Alfa-amylase og Beta-amylase som er uthevet, er de viktigste enzymene ved ølbrygging. Disse bryter ned hoveddelen stivelse, mens de andre enten forekommer i små mengder eller bryter ned andre komponenter. Karboksypeptidase og Beta-glukanase bryter ned henholdsvis peptidbånd og cellevegger. Nedbrytning av peptidbåndene gir frie aminosyrer som gjæren metaboliserer, mens nedbrytningen av cellevegger gjør stivelse mer tilgjengelig for Alfa-amylase og Beta-amylase.

## Introduksjon

Tabell 1.1-2: Enzymer i malt, optimaltemperatur, virkemåte og produkt av prosessen. Alfa- og Beta-amylase er uthevet for å illustrere at disse er de viktigste enzymene.

Enzym	Optimal temperatur	Virkemåte	Produkt/Konsekvens
<b>Alfa-amylase</b>	72 °C	Tilfeldig bryting av stivelseskjeder	Kortere stivelseskjeder, maltose, glukose
<b>Beta-amylase</b>	63°C	Bryter av maltose for maltose langs stivelseskjede	Maltose
Beta-glucanase	45	Bryter cellevegg	Frigjøre stivelse
Alfa-glucosidase		Bryter	Glukose
Protease	52 °C	Bryter ned proteiner	Frie aminosyrer
Karboxypeptidase		Bryter peptidbånd i C-terminal	Frie aminosyrer, peptider
Lipoxygenase			
β-glucanase		Bryter ned glucan	glucose
Xylanases		Bryter ned xylan i plantecelleveggen	

### 1.1.1.2.2 Proteiner i malt

Ved produksjon av malt bør proteininnholdet i bygg være lavt. Økt proteinnivå vil gi redusert vørterutbytte og påvirke den endelige kvaliteten. Hovedlagrinsproteinet i bygg er hordein, som også er antigenet ved cøliaki og glutenintoleranse, og utgjør opptil 50% av proteininnholdet i modent korn.

Hordein deles inn i B-, C-, D-, og γ hordein. B-hordein utgjør 70-80% og C hordein for 10-20%. (Finn ut hvilken type som forårsaker reaksjon). Proteininnholdet i ulike byggtypen

## Introduksjon

varierer mye, totalt proteininnhold varierer fra 12,56% til 14,71% i et utvalg byggtyper. Innholdet av B-hordein varierer fra 34,47mg/g til 127,44mg/g(Qi, Chen et al. 2005).

Tanner, Blundell et al. beskriver utviklingen av «ultra low gluten barley»(ULG), hvor hordeininnholdet i mel varierer fra 56,6 mg/g i standardbygg til så lite som 0,0039mg/g i ULG. Tabell 1.1-3 viser innholdet av gluten, basert på disse tallene, om all hordein i byggen er i ferdig produkt. (Tanner, Blundell et al. 2015)

*Tabell 1.1-3 Innhold av hordein i mel av fem byggtyper og teoretisk mengde gluten om man lager øl av byggmel og all hordein blir i ølen.*

Byggtype	Mg/g hordein	Bygg(g)	Mengde øl(L)	PPM gluten
<b>Sloop</b>	56,6	5500	20	15400
<b>Risø 56</b>	33,3	5500	20	9158
<b>Risø 1508</b>	4,9	5500	20	1348
<b>ULG 2.0</b>	1,67	5500	20	459
<b>ULG 3.0</b>	0,0039	5500	20	1,07

### 1.1.1.3 Mais

Mais er en god stivelseskilde, da omtrent 83% av tørrstoffinnholdet er karbohydrater. I ølbrygging brukes det i hovedsak mais i flaket form og som pulver(maisstivelse) Det er ikke anbefalt å bruke mer enn 40% maisflak når man lager øl, det kan være av flere grunner; lav eller ingen enzymaktivitet i mais, geldannelse i stivelse som følge av mangel på enzym og lite bidrag til smak og farge. I dagens marked brukes mais i hovedsak som en billig stivelseskilde i lette/enkle øltyper i Asia og for å gi et lettere øl (Kobayashi, Shimizu et al. 2008), (Andrew G.H. Lea and piggot 2003)

## Introduksjon

### 1.1.1.4 Næringsinnhold i malt og mais

Næringsinnholdet i maltet byggmel og tørket mais vises i tabell 1.1-4. Byggmelet kan være siktet og avskallet, slik at verdiene kan variere fra aktuelt innhold i maltet bygg (Agriculture and Service).

## Introduksjon

Tabell 1.1-4 Næringsinnhold i maltet byggmel(mbm)(Agriculture and Service) og tørket mais(tm)(Agriculture and Service)

	Enhet	100g (mbm)	100g (tm)
Water	g	8.21	8.10
Energy	kcal	361	386
Protein	g	10.28	9.88
Total lipid (fat)	g	1.84	5.22
Carbohydrate, by difference	g	78.30	74.93
Fiber, total dietary	g	7.1	
Sugars, total	g	0.80	5,38
Calcium, Ca	mg	37	15
Iron, Fe	mg	4.71	1,92
Magnesium, Mg	mg	97	124
Phosphorus, P	mg	303	337
Potassium, K	mg	224	511
Sodium, Na	mg	11	13
Zinc, Zn	mg	2.06	3,05
Vitamin C, total ascorbic acid	mg	0.6	0
Thiamin	mg	0.309	0,2
Riboflavin	mg	0.308	0,068
Niacin	mg	5.636	3,3
Vitamin B-6	mg	0.655	0,37
Folate, DFE	µg	38	
Vitamin B-12	µg	0.00	
Vitamin A, RAE	µg	1	
Vitamin A, IU	IU	19	
Vitamin E (alpha-tocopherol)	mg	0.57	
Vitamin D (D2 + D3)	µg	0.0	
Vitamin D	IU	0	
Vitamin K (phylloquinone)	µg	2.2	0,9
Mettede fettsyrer	g	0.386	0,82
Enumettede fettsyrer	g	0.254	1,483
Flerumettede fettsyrer	g	0.953	1,9



## Introduksjon

### 1.1.1.5 Humle

Humle er ingrediensen som gir aroma og bitterhet til øl, hvilket er årsaken til inndelingen aromahumle og bitterhumle. Aromahumle er humlen som gir mye smak, IPA er et eksempel på en øltype tilsatt mye aromahumle. Bitterhumle er humlen som gir ølens karakteristiske bittersmak, pilsner er en type øl som i hovedsak benytter bitterhumle.

Alfa-syre er komponenten i humlen som står for hoveddelen av bitterheten og de ulike humletypene er merket med % alfa-syre. Humletypen Saaz som brukes ved brygging i denne oppgaven har et alfasyrenivå på 2,8% og gir derfor lite bittersmak. Det er ikke uvanlig at humle kan ha et alfasyreinnhold på opptil 14%. International bitterenhet (IBU) er et mål på hvor bitter en øl er og helt konkret er det et mål på hvor mye isohumuloner det er tilstede i ølen. Måleenheten tar ikke høyde for andre smakskomponenter i ølen og egner seg kun som en indikator på bitterhet innenfor de ulike øltypene (Dennis E. Briggs 2011).

Tabell 1.1-5 viser hvilke humler som ofte brukes i ulike øltyper og IBU verdi til ølen. Disse eksemplene er hentet fra Nøgne Ø og gir derfor ikke et komplett helhetsbilde for de ulike øl-typerne (Ø 2015).

Tabell 1.1-5: Øltyper fra Nøgne Ø med respektive humletyper og IBU

Øltype	Humletyper	IBU
<b>Pilsner</b>	Saaz, Perle	10-40
<b>Pale Ale</b>	Northern Brewer, Centenneal	40
<b>Ipa</b>	Chinook, Cascade, Citra	60
<b>Brown Ale</b>	Aurora and East Kent Golding	25
<b>Saison</b>	East Kent Goldings, Crystal Hops	25
<b>Bitter Ale</b>	Centenneal, East Kent Goldings hops	30

## Introduksjon

### 1.1.1.6 Gjær

Gjær er en essensiell ingrediens i øl som bidrar med produksjon av etanol, CO<sub>2</sub> og gir smak. Typen gjær som brukes i ølbrygging er *Saccoromyces cerevisiae*. *S. cerevisiae* er heterotrof, fakultativ anaerob gjær. Det betyr at gjæren produserer mer enn et biprodukt under metabolismen, hovedproduktene er etanol og CO<sub>2</sub>.

Gjæren som er valgt i denne oppgaven er designet til å gi en øl med lavt diacetylnivå og en enkel og krispy munnfølelse (Fermentis). Fermenteringstemperatur, frie fettsyrer og karbon- og nitrogeninnhold er med på å bestemme hvilke produkter gjæren produserer. En økt fermenteringstemperatur vil gi økt fruktig smak på ølen og ved 25C vil det produseres større mengder isoamyl acetat hvilket gir banansmak (Saerens, Delvaux et al. 2008).

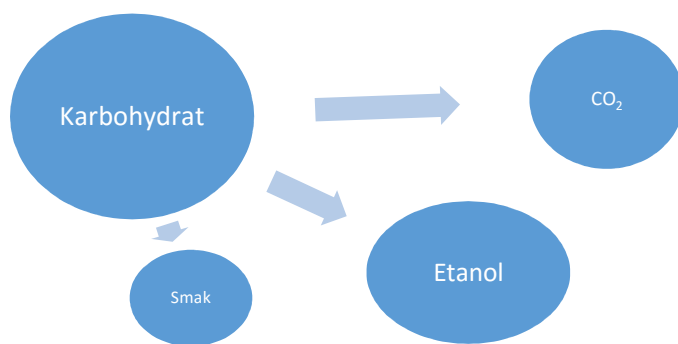


Figure 1.1-2 Karbohydrater omdannes til etanol, CO<sub>2</sub> og smaksstoffer under fermentering

#### 1.1.1.6.1 Produksjon av etanol og CO<sub>2</sub>

Metabolisme er summen av alle kjemiske prosessene i en celle. Prosessen strekker seg fra cellen tar opp næring til produksjon av biprodukter. Glykolyse står for 70% av katabolismen, dvs. nedbrytning av næring til energi. Biproduktet fra glykolyse er pyruvat, pyruvat blir dekarboxylert til acetaldehyd, acetaldehyd reduseres så til etanol. I tillegg til acetaldehyd danner dekarboxylering av pyruvat CO<sub>2</sub>. Disse prosessene vises i figur 1.1-3, 1.1-4 og 1.1-5.

# Introduksjon

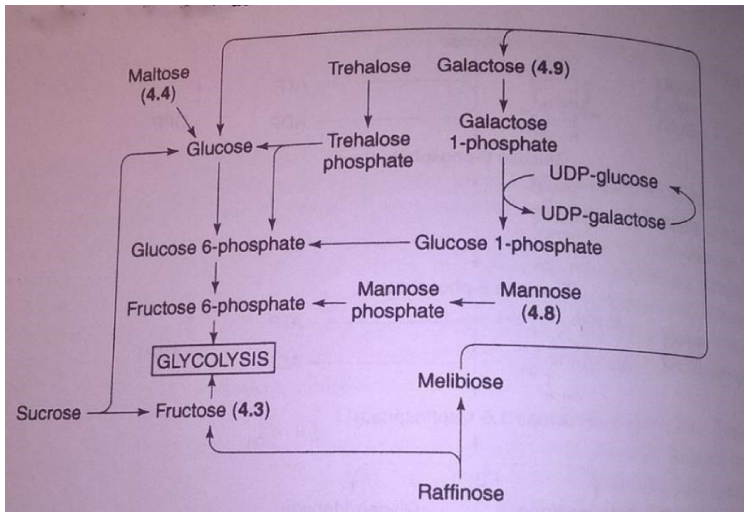


Figure 1.1-3 Sukkerets vei inn i glykolyzen (Dennis E. Briggs 2011)

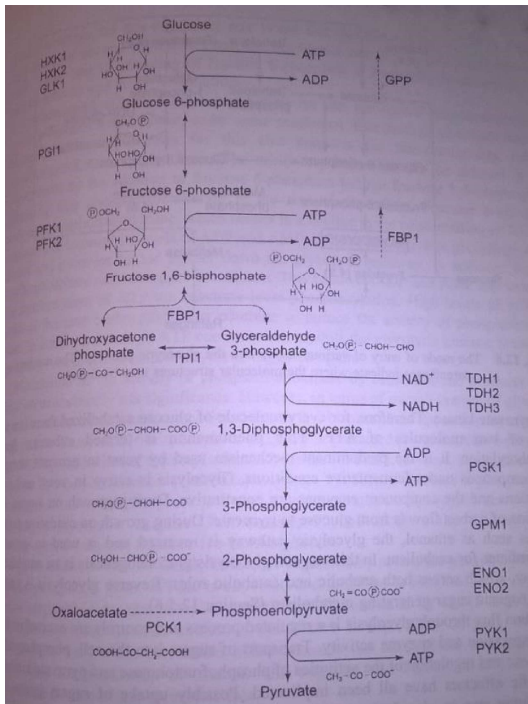


Figure 1.1-4: Glykolyzen. Veien fra Glukose til pyruvat (Dennis E. Briggs 2011)

## Introduksjon

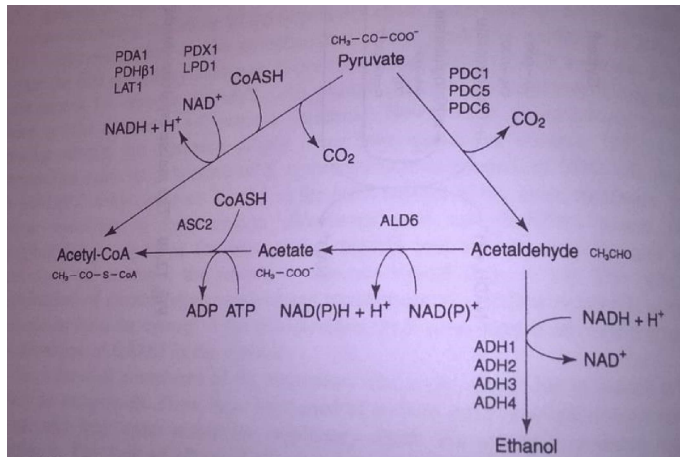


Figure 1.1-5 Illustrering av veien fra Pyruvate til Etanol og muligheten for produksjon av Acetyl-Coenzym A (Dennis E. Briggs 2011).

### 1.1.1.6.2 Produksjon av smakskomponenter

Gjær står for en stor del av smakskomponentene man finner i øl. Figur 1.1-6 viser den biokjemiske veien fra glykolyse og fra aminosyrer til bl.a. ethyl acetate, isoamylacetat og diacetyl. Smakskomponentene produsert av gjæren består i hovedsak av estere og høyere alkoholer. Et høyt innhold av sukker (high gravity fermentation) fører til en høyere produksjon av estere under fermentering per gram sukker enn fermentering ved lavere innhold av sukker (Verstrepen, Derdelinckx et al. 2003). Smakskomponenter har terskelverdier for når de er mulig å smake, eller lukte, i ulike løsninger. Flere av disse komponentene vil ikke overskride sin terskelverdi, men kan likevel smakes på grunn av synergieffekter mellom de forskjellige smakskomponentene (Pires, Teixeira et al. 2014). Dette gjør at det er vanskelig å si noe om smaken til en øl ved kun å se på innholdet av smakskomponentene, det må også smakes.

## Introduksjon

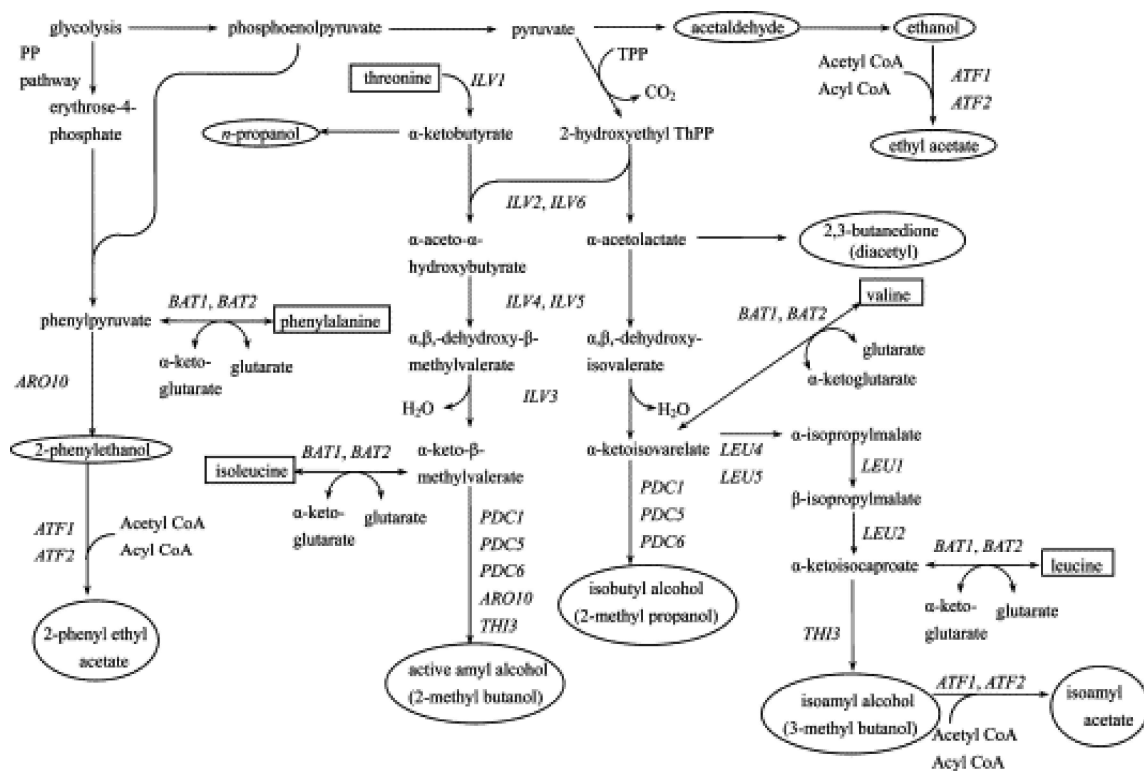


Figure 1.1-6 Biosyntetisk vei for dannelse av flyktige komponenter i *Saccharomyces cerevisiae*, fra glykolyse og aminosyrer (Kobayashi, Shimizu et al. 2008).

### 1.1.1.6.3 Estere

Til tross for et lavt innhold i øl, spiller estere en viktig rolle i smaksprofilen til de ulike øltypene. Estere gir øl et fruktig preg, som en motvekt til bitterheten humlen gir. Viktige estere i øl er «Etyl acetat», «Isoamyl acetat», «Etyl carporat», «etyl carpylat» og «fenyl ethyl acetat» (Verstrepen, Derdelinckx et al. 2003).

### 1.1.1.6.4 Høyere alkoholer

Høyere alkoholer, også kjent som fuselstoffer, dannes som følge av at gjæren tar aminogruppen fra aminosyrene, inn i sin egen struktur. Restene etter aminosyren,  $\alpha$ -keto-syre, går gjennom en irreversibel kjedereaksjon (1.1-7) som danner fusel aldehyder og høyere alkoholer. Dekaroxylase og alkohol dehydrogenase produsert av gjæren trigger reaksjonene. Dekarboksylering av  $\alpha$ -keto syre har  $\text{CO}_2$  som biprodukt.

## Introduksjon

Viktige høyere alkoholer i øl er «n-Propanol», «Isobutanol», «Isoamyl Alkohol» og «2-fenyletanol» (Pires, Teixeira et al. 2014).

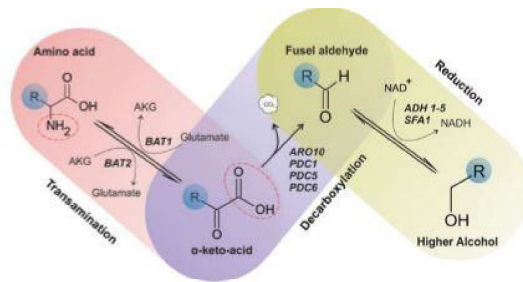


Figure 1.1-7: Veien fra aminosyre til høyere alkohol, via  $\alpha$ -keto-syre og fuselaldehyd (Pires, Teixeira et al. 2014).

### 1.1.1.7 Andre ingredienser

Sirup fra blant annet kornslaget sorghum og mais brukes i «low malt beer». Dette er øl hvor vørtermengden er redusert til under to-tredjedeler i forhold til vanlig øl. Ved bruk av sirup tilsettes det også alternative nitrogenkilder. Denne metoden er ofte brukt i Japan, da de baserer beregning av avgifter på maltmengde og ikke alkoholinnhold (Kobayashi, Shimizu et al. 2008).

Enzymer kan tilsettes under mesking. Enzymtilsetningen utføres for å oppnå raskere og mer effektiv nedbrytning av stivelse. Enzymene som tilsettes er amylase, ofte produsert av gjær eller bakterier (Dennis E. Briggs 2011).

## 1.1.2 Prosess

### 1.1.2.1 Ølbrygging

Brygging av øl foregår i en batchprosess, der produktet blir flyttet mellom ulike typer bryggeriutstyr. I denne oppgaven brygges øl på hjemmebrygger-metoden. Dette gir en lengre og mindre kontrollert fermentering og i tillegg blir det tilsatt sukker for karbonering. Prosessen som utføres i større skala beskrives her i teoridelen, mens metode benyttet i denne oppgaven beskrives i metodekapitlet. De ulike bryggeriene bruker egne varianter av denne prosessen, den som er beskrevet her er helt generell.

## Introduksjon

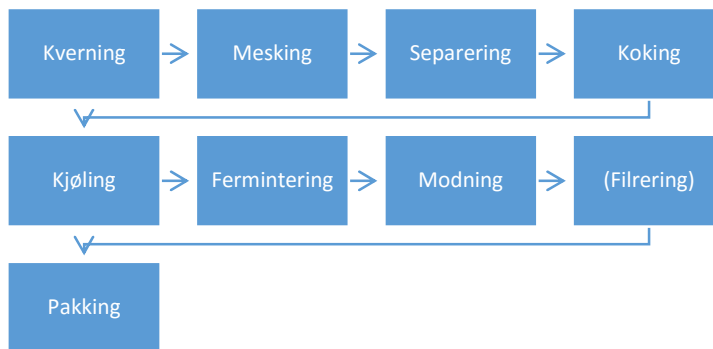


Figure 1.1-8: Flytskjema ølbryggeprosessen.

Figur 1.1-8 viser skematisk fremstilling av stegene i ølbryggeprosessen.

### 1.1.2.2 Malting

I praksis er malting spiring av kornet før det blir tørket og eventuelt røstet. Denne prosessen foregår ikke på bryggeriet, men i egne malterier. Maltingen består av 3 eller 4 prosesser avhengig av type malt som produseres. Prosessene er væting, spiring og tørking, og for spesialmalt videre varmebehandling for å gi mer smak og farge. Høyere temperatur under tørking og annen varmebehandling gir malt med mørkere farge og mer smak.

### 1.1.2.3 Mesking

Formålet med meskeprosessen er å bryte ned stivelsen i kornet til sukker, henholdsvis mono- og disakkarider. Tradisjonelt utnytter man kornets egne enzymer til dette, uten andre tilsetninger. Figur 1.1-9 viser aktuelle enzymer og deres optimal-temperaturer. Før mesking knuses/kvernes malten. Det er viktig at malten ikke kvernes for fint, da dette vil hindre eller sinke drenering. Malten må heller ikke være for grov, da dette gir en mindre overflate på stivelsen. Mesking kan gjøres på to måter; stegmesking og mesking med fast temperatur. Stegmesking er mesking hvor temperaturen økes i steg under i prosessen, ofte brukes temperaturstegene 50°C, 62°C, 67°C og 72°C. Mesking med fast temperatur gjøres ofte ved 65°C. (Andrew G.H. Lea and Piggot 2003)

## Introduksjon

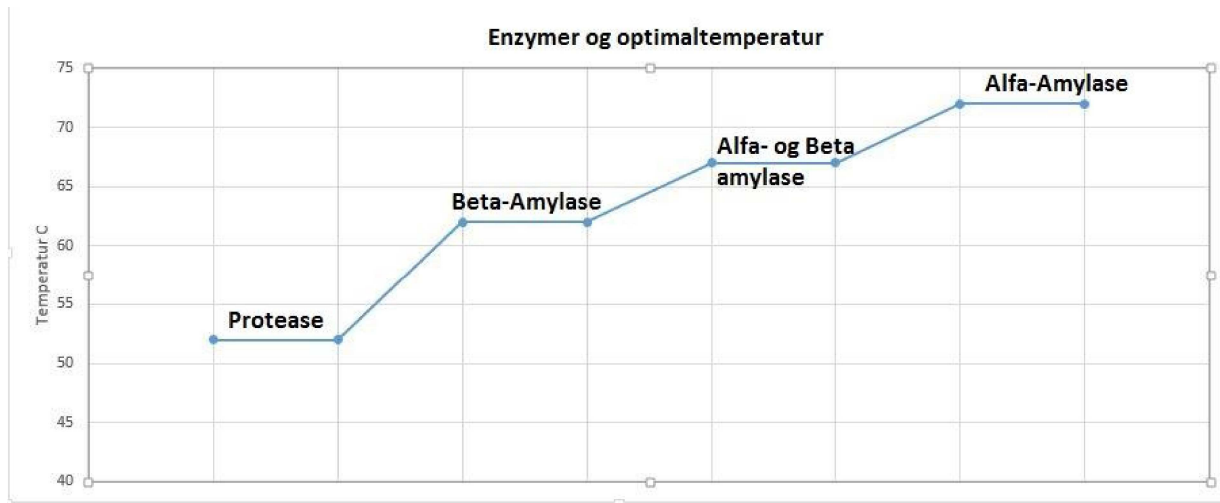


Figure 1.1-9 Temperaturoptimum for protease (52°C), Beta-amylase(63°C) og Alfamylase(72°C). Ved 67°C er Alfa- og Betaamylase markert for å illustrere at dette er en temperatur der begge har høy aktivitet. Disse temperaturene er de samme temperaturene man bruker ved mesking, derfor vil tid-temperaturgrafene over mesketid være svært lik.

### 1.1.2.4 Separering av ekstrakt og malt

Ved endt mesking pumpes løsningen over i en siltank. Her står løsningen stille slik at malten får lagt seg og danner filterkake på silbunnen. Siltanken er ofte mye bredere enn mesketanken for at filterkaken ikke skal bli for tykk, da en tykkere filterkake vil gi lengre filtreringstid. Vørteren går i sløyfe igjennom siltanken for å gi en klar vørter uten kornrester. Etter resirkulering dreneres ekstraktet over i vørterkjelen, slik at malten ligger igjen. Før ekstraktnivået går under malten tilsettes det skyllevann for å vaske med seg sukker og smakskomponenter som ikke har fulgt med vørteren. Mengden vann bestemmes ved å måle °Brix i vørterkjelen. Når °Brix er på ønsket nivå, stoppes vaskingen. (Dennis E. Briggs 2011)

### 1.1.2.5 Vørterkoking

Vørteren kokes i 60-120 minutter, avhengig av type malt og hvor mye vann som ønskes kokt vekk for ønsket sukkerinnhold. Humle tilsettes på bestemte tidspunkter, bitterhumle når 60 minutter av koketiden gjenstår og aromahumle når det er 15-, 10- og 5 minutter igjen, og/eller ved start av kjøleprosessen. Avhengig av kjølemetode danner man en



## Introduksjon

virvelstrøm i kokekjelen for å samle ikkeløst protein og humlerester i senter på kjelen, før man tappes vørteren fra kanten av kjelen.

Det er flere prosesser som foregår under vørterkokingen, med både mikrobiell og sensorisk effekt. Vørterkokingen vil denaturere og inaktivere enzymer i løsningen. Det stopper all nedbrytning av reststivelse, proteiner og eventuelle smakskomponenter. Varmen vil samtidig føre til at proteinstrukturen i proteinene åpner seg opp og påfølgende kjøling vil resultere i koagulering av proteinene og utfelling.

Under vørterkoking fordampes mye av vannet, 8% pr time. Sammen med dampen forsvinner også flere uønskede smakskomponenter, deriblant dimetylsulfid. Avdampingen fører til konsentrering av løsningen, som gir et høyere sukkerinnhold og mer smak pr. liter. Frigjøring av bitter- og aromastoffer fra humlen forekommer under vørterkokingen. Mye av aromastoffene vil dampe raskt bort, derav tilsettelse av humle på ulike tidspunkter. Malliardreaksjoner, bruning av sukker, skjer også under vørterkokingen. Dette er med på å gi øl gyllen farge. (Andrew G.H. Lea and piggot 2003)

### 1.1.2.6 Kjøling

Kjøling utføres under transport av vørter fra kjelen til fermenteringstanken gjennom en motstrømskjøler, platekjøler eller kjølingen kan gjøres direkte i kjelen ved nedsenking av kjølesylinder. Kjølemediet benyttet er nesten utelukkende vann.

### 1.1.2.7 Fermentering

Når vørteren er nedkjølt til ønsket temperatur, transporteres vørteren til en fermenteringstank, Under transporten blåses det oksygen inn i vørteren for å gi gode forhold for gjæren. Gjæren tilsettes når all vørteren er transportert til tanken.

Under fermentering kontrolleres temperaturen aktivt ved å varme eller kjøle ølet. Det benyttes ulike fermenteringstemperaturer for ulike øltyper. Som hovedregel fermenteres lager ved 10°C og ale ved 20°C. En høyere fermenteringstemperatur gir et økt opptak av aminosyrer i gjæren *S. cerevisiae*, som fører til økt produksjon av høyere alkoholer.

## Introduksjon

Etanol produseres de første dagene av fermenteringen. Fermenteringstiden varierer med temperatur og sukkerinnhold i vørteren. En lager er ferdig fermentert etter 7 dager, mens en ale bruker kortere tid. (Andrew G.H. Lea and Piggot 2003)

### 1.1.2.8 Modning

Modning av øl kan gjøres enten i fermenteringstanken eller i egen tank. Under modning senkes temperaturen og gjæren tappes av.

De tydeligste endringene som skjer under modning er at ølet klarnes og det tilsettes eller dannes CO<sub>2</sub>. Tilsetning av CO<sub>2</sub> utføres ved å trykksette modningstanken med CO<sub>2</sub>, slik at ølen over tid vil ta opp denne. Når det dannes CO<sub>2</sub> er det gjærens produksjon av CO<sub>2</sub> som utnyttes; før fermenteringen er ferdig trykkreguleres tanken slik at CO<sub>2</sub> produsert av gjæren holdes i tanken. CO<sub>2</sub> kan også tilsettes i form av kullsyreholdig vann, dette fører til utvanning av ølen og gjøres også for å redusere alkoholprosent. (Andrew G.H. Lea and Piggot 2003)

Smaksprofilen endres mye under modning, som under fermentering. Spesielt estereprofilen gjennomgår store endringer, enten ved gjæring eller ved spontan kjemisk kondensering av organiske syre med etanol. Smakskomponenter fra humlen esterefiseres til respektive estere, som bl.a. 3-methylbutyric acid til 3-methylbutyrate og 2-methylbutyric acid til 2-methylbutyrate. Andre smakskomponenter som isoamyl acetate blir hydrolysert under modning. Under modningen vil ølen miste friske, fruktige aromaer, mens en søtere aroma tar over (Pires, Teixeira et al. 2014).

### 1.1.2.9 Filtrering

Filtrering er siste steg før tapping av det ferdige produktet. Filtrering utføres for å få et klart øl, fritt for gjær, proteiner og polyfenoler som skaper tåke i produktet. Det er to hovedtyper filter, platefilter og pulverfilter. Et platefilter består av lag på lag med perforerte filterark, ofte lagd av bomull, glassfibre og perlite med støtteplater mellom. Pulverfilter består av tøy eller et perforert septum som er belagt med filterpartikler, kiselghur og perlite er oftest benyttet (Dennis E. Briggs 2011)

## Introduksjon

Ikke alle øltyper har behov for filtrering. Årsaker til dette er at noen typer skal ha et matt utseende, andre er så mørke at det ikke gir noen effekt å filtrere og andre øltyper karboneres på flaske/fat.

### 1.1.2.10 Pakking

Pakking av øl gjøres på flaske, boks, fat eller tank. Valg av emballasje velges på bakgrunn av hvordan produktet skal selges og miljømessige hensyn, ofte varierer disse fra land til land. Øl som selges i butikk pakkes i flaske eller boks, mens øl som selges fra tap pakkes i fat eller tank (Dennis E. Briggs 2011).

Om ølen skal karboneres på flasken eller i fatet, som er vanlig i mikrobryggeriene, tilsettes sukker i flasken sammen med ølet. Større bryggerier har egne tappelinjer som tapper øl aseptisk, ferdig karbonert på flaske, boks eller fat.

### 1.1.3 Cøliaki

Cøliaki er en autoimmun sykdom som påvirker tynntarmen. Ved inntak av glutenproteiner fra hvete (glutenin), bygg (hordein) og rug (avenin) skapes det en betennelsesreaksjon som fører til nedbrytning av tarmtottene. I praksis betyr dette at immunforsvaret bryter ned tarmen og tarmfunksjonen reduseres. Symptomene på sykdommen er kronisk diaré, feilernæring, søvnløshet og nerveendringer. Store Norske leksikon definerer cøliaki som "en tynntarmssykdom der pasienten ikke tåler kornproteinet gluten". Cøliaki er også beskrevet som "en sykdom som utvikles på bakgrunn av intoleranse mot glutenproteinene i hvete, bygg og rug"(Lea 2015). En prosent av verdens befolkning har cøliaki, det betyr 70 millioner mennesker på verdensbasis og ca 50.000 i Norge (Tanner, Blundell et al. 2013), (Aabakken 2014), (Lu Shan 2002)

## Introduksjon

### 1.1.3.1 Å leve med cøliaki

For personer med cøliaki er eneste måte å holde seg frisk på å ikke innta glutenholdige produkter. Noen pasienter vil kunne innta gluten i små mengder, en sjelden gang uten å få plager. Det forskes på å utvikle medisiner for cøliaki og fortsatt er det tabletter med enzymer som fungerer best. Enzymene i tablettene vil bryte ned glutenproteinene i magesekken før tarmen blir eksponert.

### 1.1.4 Gluten

Gluten er et generelt navn og brukes om proteinene i hvete, rug og bygg og omfatter glutenin i hvete, secalin i rug og hordein i bygg. Gliadin er løselig i syre og glutenin, secalin og hordein er løselig i alkohol. Denne løseligheten fører til gluteninnhold i øl (Bolin and Hallgren 2013).

I bakeindustrien tilsettes gluten for å gi et luftig bakverk. I dag fins det brød med grovhetsgrad opptil 97%. Gluten danner polypeptidkjeder som danner kryssbindinger både i polypeptidkjeden og med andre polypeptidkjeder. Slik dannes det et glutennettverk i deigen som holder på CO<sub>2</sub> som dannes under fermentering og deigen hever.

#### 1.1.4.1 Glutenfritt

WHO's standard for glutenfri produkt er 20 ppm gluten (Tanner, Blundell et al. 2013), denne standarden brukes også av Mattilsynet. Produkter kan merkes glutenreduert når gluteninnholdet er mellom 20 ppm og 100 ppm. Produkter som skal merkes glutenfritt eller glutenreduert må være produkter som vanligvis inneholder gluten og har fått redusert sitt gluteninnhold. For å hindre forvirring skal ikke naturlig glutenfrie produkter merkes. (Mattilsynet 2013)

### 1.1.5 Infeksjoner i øl – Helse og Smak

Gjennom tiden har øl vært regnet som en trygg drikk og har vært en viktig resurs når det ikke har vært tilgang på rent vann. Grunnen er sammensatt og involverer både prosess og innhold. Prosessoperasjonene gir termisk ødeleggelse av bakteriecellene, skaper anaerobe forhold og fjerner mikroorganismer ved filtrering. De innholdsmessige

## Introduksjon

faktorene er etanol, lav pH, CO<sub>2</sub>, lavt oksygeninnhold, lite næring og svoveldioksid (Vriesekoop, Krahl et al. 2012). Tabell 1.1-6 viser de antimikrobielle hindrene og deres virkemåte.

Tabell 1.1-6: Parametre som påvirker mikrobiell vekst i øl og parameterenes virkemåte. Parametrene er sortert i to grupper, prosessparametre og innholdsparametre. <sup>1</sup>Gjelder ikke all øl.

Antimikrobiell komponent	Antimikrobiell virkemåte
<b>Innholdsmessige hindre</b>	
<b>Etanol</b>	Hemmer cellemembranfunksjonalitet
<b>Lav pH</b>	Påvirker enzymaktivitet Forskerker effekten av humle
<b>Humle</b>	Hindrer cellemembranfunksjonalitet hos gram-positive bakterier
<b>CO<sub>2</sub></b>	Anarobisk forhold Senker pH  Påvirker enzymaktivitet  Påvirker cellemembranen
<b>Lite oksygeninnhold</b>	Anarobiske forhold
<b>Lite næringsstoffer(etter fermentering)</b>	Hindrer cellevekst
<b>Svoveldioksid<sup>1</sup></b>	Påvirker bakterienes metabolisme
<b>Prosesseffekter</b>	
<b>Mesking</b>	Termisk ødeleggelse av cellen
<b>Koking</b>	Termisk ødeleggelse av cellen
<b>Pasteurisering<sup>1</sup></b>	Termisk ødeleggelse av cellen
<b>Filtrering<sup>1</sup></b>	Fysisk fjerning av celler
<b>Lagringsbetingelse</b>	Anarobe forhold

## Introduksjon

Etter vørterkoking og før fermentering er vørteren full av næringsstoffer og et godt medium for mikrobiell vekst. Innholdet av iso- $\alpha$ -acid fra humlen er da det største hinderet for uønskede mikroorganismer. Under fermenteringen produseres etanol og CO<sub>2</sub> samtidig som næringen brukes opp, dette skaper et dårlig miljø for bakterievekst. Begrepet hinder er viktig når de arbeides med med mikrobiell vekst i øl. Et hinder alene er nødvendigvis ikke i stand til å hindre vekst og drepe bakterier. En kombinasjon av to eller flere hindre vil gjøre dette (Vriesekoop, Krahl et al. 2012).

En økning av innholdet av humle og etanol er tiltaket som lettest forbedrer ølens motstandskraft mot mikrobiell vekst.

Bakterier fra slektene Lactobasillus og Pediococcus er regnet som den største trusselen i ølbryggingen og står for 70% av svinnet, det resterende 30% av svinnet kommer av infeksjoner fra slektene Pectinatus og Megasphaera og villgjær (Sakamoto and Konings 2003).

### 1.1.6 Head Space Gas Chromotografi FID

Gass Chromotografi(GC) brukes for å skille og identifisere komponenter i blandinger ved bruk av en temperaturkontrollert cappilærkollone. Ved bruk av GC sammenliknes prøvene mot standarder for bestemte komponenter. Standardkomponentene benyttet i denne oppgaven vises i tabell 1.1-7.

## Introduksjon

Tabell 1.1-7: Standardkomponenter HSGC-FID.

Komponent	Smak/lukt	Terskelverdi(ppm)
<b>Acetaldehyde</b>	Grønne løv, fruktig <sup>d</sup>	25 <sup>d</sup>
<b>Acetone</b>	Eple, etheral <sup>a</sup>	0,047 <sup>b,e</sup>
<b>Dimethylsulfide</b>	Grønn, sulfur <sup>a</sup>	0,0000005 <sup>b,e</sup>
<b>2-methyl-propanal<sup>h</sup></b>	Vin, løsemiddel, malt <sup>c</sup>	0,0023 <sup>b</sup> (i vann)
<b>1-propanol</b>	Alkohol <sup>d</sup>	800 <sup>d</sup>
<b>Diacetyl</b>	Smør (butter-scotch) <sup>d</sup>	0,15 <sup>d</sup>
<b>2-butanone</b>	Etheral <sup>a</sup>	g
<b>2-butanol</b>	Løk <sup>a</sup>	g
<b>Ethyl acetate<sup>h</sup></b>	Løsemiddel, fruktig, søtt, ananas <sup>d</sup>	30 <sup>d</sup>
<b>2-methyl-1-propanol</b>	Vin, løsemiddel <sup>d</sup>	200 <sup>d</sup>
<b>3-methyl-butanal<sup>h</sup></b>	Malt <sup>c</sup>	0,023 <sup>b</sup> i stivelse
<b>2-methyl-butanal<sup>h</sup></b>	Kakao <sup>c</sup>	0,023 <sup>b</sup> i stivelse
<b>2.3-pentadione</b>	Fløte, smør <sup>c</sup>	0,016 <sup>b</sup> i stivelse
<b>Acetoin</b>	Smør, kremet*	g
<b>3-methyl-1-butanol<sup>h</sup></b>	Alkohol, banan, søtt, aromatisk <sup>d</sup>	70 <sup>d</sup>
<b>2-methyl-1butanol</b>	Alkohol, banan, medisn, løsemiddel <sup>d</sup>	65 <sup>d</sup>
<b>Isobutyl acetate</b>	Eple, banan, pære, annanas, søt, etheral <sup>a</sup>	g
<b>Hexanal</b>	Gress, fett, talg <sup>c</sup>	0,03 <sup>b</sup> i stivelse
<b>Isoamyl acetate</b>	Banan, eple, løsemiddel, ester <sup>d</sup>	1,2 <sup>d</sup>
<b>Ethyl hexanoate</b>	Eple, banan, ananas, vin <sup>a</sup>	0,2 <sup>f</sup>
<b>3-carene</b>	Søt, terpentin	g
<b>R-(+)-limonene</b>	Sitronlukt	g
<b>Ethyl heptanoate</b>	Pineapple, banana and strawberry with a spicy, oily nuance	g
<b>Phenylethyl alcohol</b>	Honning, krydder, rose	1,1 <sup>b</sup>
<b>Ethyl octanoate</b>	Eple, anisfrø	0,17 <sup>i</sup>
<b>Beta-citronellol</b>	Geranium <sup>a</sup>	g
<b>Ethyl nonanoate</b>	Fruktig, nøtter <sup>a</sup>	g
<b>Ethyl decanoate</b>	Drue, pære, vin <sup>a</sup>	g

## Introduksjon

Tabell 1.1-7: <sup>a</sup>Smaksbeskrivelsene er hentet fra (Sigma-Aldrich 2015), <sup>b</sup> Lukt(odor) treshold, <sup>c</sup> (Dong, Hou et al. 2015), <sup>d</sup> (Kobayashi, Shimizu et al. 2008), <sup>e</sup> (Ruth 1986), <sup>f</sup> (Aroxa 2014), <sup>g</sup> Terskelverdi for smak eller lukt er ikke funnet, <sup>h</sup> Komponenter tidligere identifisert i bygg(Dong, Hou et al. 2015), <sup>i</sup> (Pires, Teixeira et al. 2014).

### 1.1.7 TD-GCMS

Varmeindusert gas kromotografi massespektrometri (TD-GCMS) er brukt for å identifisere flyktige og semi-flyktige organiske komponenter i væske, gass og fast materiale (Inc 2015). Denne teknikken leter ikke etter forhåndsdefinerte komponenter som HSGC, men identifiserer alle flyktige komponenter tilstede i løsningen. Mangelen på standarder, i motsetning til HSGC, gjør at TDGCMS ikke kan si noe om mengden av identifiserte komponenter.

### 1.1.8 ELISA

ELISA, enzym-linket immunosorbent assay, brukes til detektering og kvantifisering av peptider, proteiner, antistoffer og hormoner. Teknikken bygger på at antigen fra testen reagerer med antistoff i prøven slik at det skapes en målbar fargereaksjon. En ELISA-måling er både kvalitativ og kvantitativ da denne både identifiserer og forteller mengden av komponenten man tester prøven for.

I denne oppgaven er RIDASCREEN® Gliadin competitive ELISA test(R-Biopharm) brukt. Denne testen ble i 2013 godkjent, som en av to ELISAtester, av Food and Agriculture Organisation of the United Nations(FAO) for testing av gluteninnhold (Tanner, Blundell et al. 2013).

RIDASCREEN® Gliadin competitive ELISA test bruker "R5 monoclonal antibody", denne detekterer sekvensen QQPFP som gjentas flere ganger i prolaminer fra hvete, rug og bygg.



## Introduksjon

### 1.1.9 Sensorisk analyse

Ved utvikling av nye eller endring av eksisterende produkter er sensorisk analyse viktig. Sensorisk analyse kan fortelle i hovedsak tre ting; hva produktet smaker og lukter, om produktet smaker godt og om det er forskjell på produktene i testen. I denne oppgaven brukes triangeltest og fri profilering for å evaluere de sensoriske egenskapene til de ulike bryggene. Ved sensorisk analyse av alkoholholdige produkter er det viktig med pauser, spesielt om panelet skal svelge produktet, da alkoholen vil bedøve smakssansene relativt raskt.

#### 1.1.9.1 Fri profilering

Fri profilering (FCP) er en metode som benyttes for å beskrive et produktets egenskaper, som aroma, tekstur, munnfølelse og smak, samtidig. Samtidig kan det måles hvor godt deltakerne liker produktet og om det er et produkt de selv ville kjøpt.

Fordelen med FCP er bruken av ikke trente paneler og at paneldeltakerne kan bruke sine egne ord for å beskrive produktet. Trening og samkjøring av panelet er ikke nødvendig, noe som gjør testen tidsbesparende for deltakerne. Som en del av FCP kan deltagerne etter smaking samkjøre ord og uttrykk, slik at de betyr det samme for alle deltakerne.

Ulik oppfatning av smaksegenskaper og ulikt vokabular er en ulempe med å bruke FCP. Et trent panel vil alltid bruke de samme begrepene og skalaene når de vurderer et produkt, som gjør analysen av resultatene relativt raskt. Et utrent panel vil derimot bruke ulike begreper om samme egenskap og de vil også ha ulik oppfatning om hva som er svakt og intenst for de ulike egenskapene. Dette gjør at analyse av resultatene er mer tidkrevende enn ved bruk av trente paneler.

I denne oppgaven får deltakerne etter profilering av ølen spørsmål om de ville kjøpt ølen under ulike betingelser. Et alternativ til dette er å gi deltakerne en skala hvor de skal markere hvor godt de likte ølen, dette forutsetter at alle deltakerne smaker på all øl. FCP gir best resultat ved store forskjeller mellom produktene (Lawless and Heymann 2010).

## Introduksjon

### 1.1.9.2 Triangeltest

En triangeltest er en enklere test enn en FCP-test. Triangeltesten har kun som mål å undersøke om det er forskjell på to produkter. Denne testen er ofte brukt ved oppskriftsendinger hos etablerte produkter. I en triangeltest blir paneldeltakerne presentert tre og tre prøver, hvor to er identiske. To ulike produkter vil da ha 6 presentasjonsrekkefølger; produkt A og produkt B: AAB, ABB, ABA, BAA, BBA og BAB. Paneldeltakerne skal da identifisere den unike prøven. Panelet må angi svar i triangeltesten, de kan ikke svare blankt. Dette gir en 1/3 sjans for å svare riktig og 2/3 sjans for å svare feil. I denne oppgaven benyttes denne triangeltesten for å undersøke om variasjonen i maisinnhold gir en smakbar forskjell, derfor de fem ølene blir testet samtidig.

### 1.1.10 Anton Paar

Anton Parr er et instrument som måler ulike parametre i øl. Parameterne er Matthet, Er, Ea, alkohol, farge, fermenteringsgrad, CO<sub>2</sub> og pH. Alle målingene utføres samtidig på samme prøve, hvilket gjør Anton Parr til et effektivt verktøy for å bedømme øl. I denne oppgaven vil tar man ikke hensyn til Er og Ea. Er står for ekte ekstrakt og forteller hvor mye sukker det er igjen i løsningen, Ea står for tilsynelatende og forteller hvor mye sukker det er igjen i løsningen om man hadde ålt innholdet med et hygrometer. Er og Ea kan gi en indikasjon på hvor søt ølen er.

## Introduksjon

### 1.1.10.1 Klarhet (EBC)

Klarheten er et mål på hvor klar eller uklar ølen er. Ønsket grad av klarhet varierer med øltype, hvilket vises i tabell 1.1-8

Tabell 1.1-8: EBC klarhetsskala(Dennis E. Briggs 2011)

EBC	Vurdering
<b>0-0,5</b>	Brilliant
<b>0,5-1</b>	A1 brilliant
<b>1-2</b>	Veldig lite matt
<b>2-4</b>	Litt matt
<b>4-8</b>	Matt
<b>8 og over</b>	Veldig matt

### 1.1.10.2 Farge

Chemtronic har laget en EBC skala med øltyper, en høyere verdi betyr mørkere øl. Skalaen vises i tabell 1.1-9

Tabell 1.1-9: EBC fargeskala, høyere verdi gir mørkere øl(GmbH 2015)

EBC	Type øl
<b>5</b>	Pilsner, kölsch, lager
<b>10</b>	Dunkel pilsner
<b>20</b>	Pale ale, weißbier
<b>30</b>	Dunkel lager, irish ale
<b>35</b>	Dunkel, altbier
<b>40</b>	Bock
<b>50</b>	Stout
<b>60</b>	Schwartzbier

## Introduksjon

### 1.1.10.3 Fermenteringsgrad

ADF, fermenteringsgrad, forteller hvor mye av sukkeret i vørteren gjæren har metabolisert. Avhenging av °Brix i vørter vil høy fermenteringsgrad gi et alkoholstekt øl med lite sødme, mens en lav ADF gir alkoholsvakt og søtt øl.

### 1.1.10.4 CO<sub>2</sub>

Innholdet av CO<sub>2</sub>, kullsyre, i ølen. Mer CO<sub>2</sub> gir mer skum i ølen (ikke eneste faktor for skumdannelse i øl). Tradisjonelt har mørke øltyper mindre CO<sub>2</sub> enn lysere øltyper.

### 1.1.10.5 pH

Ulik pH gir ulik øl. En pH lavere enn 4.0 gir økt skarphet og bitterhet i ølen, og når ølen passerer pH 3.7 vil ølen få en metallisk ettersmak. pH over 4 vil gi en økt munnebelegg, kjekslik- og et mer brent preg. Ved pH over 4,4 vil ølen kunne få et preg av såpe (Guyot-Declerck, François et al. 2005).

## Materialer

### 2 Materialer

Utstyr som er benyttet i oppgaven er listet opp i tabell 2-A, med produsent og LOT-nummer, der det er oppgitt. Ingrediensene brukt til ølbryggingen presenteres i tabell 2-B, med produsent og beskrivelse av egenskaper.

Tabell 1.1-1 Liste over utstyret som er brukt i oppgaven

Materialer	Produsent	LOT-nummer
Beer Brew 30	Brewferm	
Bryggeri 60L	CoEnCo	
30L Fermenteringsdunk i plast		
Refraktometer, N1	Atago	
Refraktometer – digitalt, PR-201	Atago	
Cellstar tubes 50ml	Greiner bio-one	227-261
Cellstar tubes 25ml	Greiner bio-one	
Filterpapir 596 ½ ø125 og Filterpapir 597 ½ ø240	Schleicher&Schuell	311644, 10311851
Atomatpipette Digital 1-5ml	Eppendorf	
Step-pipette	Eppendorf	
Pipettespisser	Eppendorf	
Eppendorfrør	Eppendorf	
Ridascreen Gliadin Competative	R-Biopharm AG	R7021, lot: 12205
Etanol	Arcus	
Fiskegelatin	Sigma	G-7765

## Materialer

<b>Labroratory mill 3303</b>		
<b>Corneliusfat 19L</b>		
<b>Beergun</b>	Blichmann	
<b>Malkvern - Monster Mill MM2</b>	Monster Mill	
<b>Kjølerom</b>	Carel	
<b>Fryser (-20°C)</b>	Phillips Whitepool	
<b>Magnetrører</b>	Stuart Scientific	
<b>Eilenmeierkolbe</b>	VWR	
<b>Trakt</b>	VWR	
<b>CO<sub>2</sub></b>	AGA	
<b>Vekt – DX-342</b>	Avery Berkel	
<b>Star San™</b>	Five Star	

Ingredienser benyttet til ølbrygging vises i tabell 2-2

Tabell 1.1-2: Liste over ingredienser til ølbrygging, produsent og kort beskrivelse av ingrediensen.

<b>Ingrediens</b>	<b>Produsent</b>	<b>Beskrivelse</b>
<b>Pilsnermalt</b>	Weyerman	Pilsnermalt gir ølet en frisk og avrundet smak. Den kan brukes for alle typer lyst øl.
<b>Carafa special type 3</b>	Weyermann	Unik røstet byggmalt, gir aroma, farge og kropp, med en mild smak. 1400EBC
<b>Munich malt</b>	Best Malz	Kan brukes i små mengder i nær sagt enhver ølsort for å fremheve maltsmaken og/eller bidra med et diskre toast-aktig preg til ølet.  Det kan også brukes i nesten 100 %

## Materialer

<b>Palemalt</b>	Best Malz	Pale malt brukes som basis for alle ale-typer, f.eks pale ale, amber ale, brown ale, porter, osv
<b>Flaket mais</b>		I makrobryggeriverdenen brukes mais for å gi et svært lett og lettdrikkelig øl. Kan brukes uten forkoking
<b>Saaz - Humle</b>		Den klassiske tsjekkiske edelhumlen som er kjent via tsjekkisk pilsnerøl.
<b>Safale US-05 - gjær</b>	Fermentis	Amerikansk ale gjær; gir lav diacetylproduksjon, ren og sprø(?) munnfølelse og fast skum.
<b>Beerzym ALFA-BETA(PetitAgenturAS 2015)</b>	Brewferm	Beerzym ALFA-beta er et flytende spesial enzym for hydrolyse av stivelse i ølbrygging med store mengder hjelpestoffer (PetitAgenturAS 2015)
<b>Risskall</b>		

BerBrew 30 er en kompakt, alt-i-et bryggekjele med maltsylinder med silbunn. Vørter blir kontinuerlig resirkulert fra bunnen av kjelen til toppen av maltsylinderen under mesking for å skape god kontakt mellom vann og malt. Temperaturstyring utføres manuelt.

CoEnCos 60L bryggeri består av 2 kjeler, en til mesking og vørterkoking og en til drenering av vørter fra malt. Under mesking røres det kontinuerlig med innebygd røreverk for å skape god kontakt mellom malt og vørter. Dette bryggeriet er semi-automatisk i den grad at man programmerer ønsket meskeprogram før tilsetning av malt.

### 3 Metoder

#### 3.1 Meskeforsøk – testing av enzymaktivitet i liten skala

Før brygging i full skala ble det utført to småskala meskeforsøk. Disse forsøkene ble utført for å undersøke enzymaktiviteten i malt og i hvilke forhold mais/malt som ga tilstrekkelig sukkerutbytte før brygging i større skala.

##### 3.1.1 Meskeforsøk 1

I meskeforsøk 1 ble det benyttet 50ml NUC-tubes og vannbad. Malt og mais ble veid opp i tre paralleller i henhold til oppskrifter i tabell 3.1-1. Malten ble knust før veiing og tilsetning. Enzymmengden som benyttes i dette forsøket er anbefalt mengde fra varedeklareringsen. Her kunne man ha tilsatt mer, da det ikke er andre enzymer i maisen. Meskemethoden som brukes er stegmesking, her med stegene: 40°C i 20minutter, 50°C i 20minutter, 63°C i 60minutter og 70°C i 10 minutter. Temperaturen ble målt i vannbadet, da denne representerer temperaturen i de ulike prøvene godt. Sukkermengden i vørter ble målt hvert 20. minutt i % Brix, med refraktometer.

Tabell 3.1-1 Oppskrifter til meskeforsøk 1

Oppskrift	Mais (%)	Mais (g)	Palemalt (g)	Vann(ml)	Enzym(ml)
<b>M1</b>	0	0	8	30	0
<b>M2</b>	50	4	4	30	0
<b>M3</b>	90	7,2	0,8	30	0
<b>M4</b>	100	8	0	30	0
<b>M5</b>	100	8	0	30	0,002



## Metoder

### 3.2 Meskeforsøk 2

Meskeforsøk 2 ble utført med samme prosedyre som meskeforsøk 1, men med ulike meskesteg og oppskrifter. Oppskriftene vises i tabell 3.2-1. Stegene man her benyttet er: 50°C i 30 minutter, 65°C i 75 minutter og 75°C i 5 minutter. Totalt 110 minutter + oppvarmingstid mellom ønskede temperaturer. Oppskrift M7 benyttes for å undersøke om malttype påvirker resultatet. I dette forsøket måles °Brix etter hvert meske-trinn.

Tabell 3.2-1: Oppskrifter til meskeforsøk 2

Oppskrift	%Mais	Mais(g)	Pilsnermalt(g)	Karamellmalt	Vann(ml)
<b>M6</b>	95	8,36	0,44	0	30
<b>M7</b>	95	8,36	0,22	0,22	30
<b>M8</b>	97,5	8,58	0,22	0	30
<b>M9</b>	99	8,712	0,088	0	30

### 3.3 Brygging av øl

Alt utstyr som er benyttet og er i kontakt med ølen ble vasket i 80°C vann før bruk desinfisert med Star San™.

Bryggingen av S1, S2, S3, S4 og S5 (tabell 3.3-1) ble alle brygget i tre paralleller og ble utført i tre BeerBrew 30 kompaktbryggerier. hvor de tre parallellene av hver oppskrift ble brygget samtidig. Oppskriftene som ble brygget vises i tabell 4-C, med modifikasjoner av disse i tabell 4-D. Etter gode resultater i meskeforsøket ble kun malten kvernet før mesking, kverningen utførtes med Monster mill m/sveiv. Caramalten ble kvernet på groveste innstilling på Laboratory mill 3303. Vannmengden som ble benyttet under mesking var 25L. Mesketiden var 120 minutter med starttemperatur på 55 grader. Etter 30 minutter ble temperaturen økt til 64°C og etter 85 minutter til 73°C. Under hele meskeprosessen ble ekstraktet resirkulert med bryggeriets tilhørende slanger og pumpe. Etter fem minutter på 73°C dreneres vørteren av ved å løfte meskesylindren opp over kjelen. Under dreneringen resirkuleres ekstraktet i 5 minutter, før den skylles

## Metoder

med vann for å gi et tilstrekkelig volum til koking. Måling av °Brix etter mesking ble utført ved å ta ut ekstrakt av kjelen og kjøle denne før måling.

Ekstraktet ble kokt i totalt 90 minutter. Etter 30 minutter ble det tilsatt 50 g humle og etter 85 minutter 25 g humle, samtidig som kjølespiralen ble senket ned i den kokende vørteren for sterilisering. Etter 90 minutter ble varmeelementet skrudd av og kjølevann kjørt igjennom kjølespiralen. Ved vørtertemperatur på 25°C ble vørteren overført til fermenteringsdunk og tilsatt en pakke safale-us05 tørrgjær(11g). Lokk med gjærlås ble satt på fermenteringsdunken før den ble dekket til med en svart pose for å hindre lystilgang.

Etter 2 uker fermentering ved romtemperatur, ble ølet tappet over på rene corneliusfat og tilsatt 8g sukker pr liter øl i form av sukkerlake. For å fjerne oksygen fra fatene ble de fylt og tømt for CO<sub>2</sub> tre ganger etter at ølen var tappet i og lokket satt på. Fatene ble lagret i 2 uker ved romtemperatur før de ble satt kaldt på kjølerom (4°C). Etter 4 uker kaldlagring var ølet ferdig.

Under brygging av S1 og S2 oppsto det problemer med gel-dannelse og svelling i maisen. S1 ga et greit resultat, mens ved brygging av S2 var det ikke mulig å fortsette bryggeprosessen. Gel-dannelse og svelling i maisen i BeerBrew-kjelene førte til at resirkulering av vørter ikke gikk, da sil-bunnen i meskesylindere gikk tett. For gjennomstrømning krevdes det kraftig røring. Dette skapte til tross for røring en svært kompakt masse uten vannbevegelse. Mangel på vanngjennomstrømning førte til at temperaturen i maisen ikke økte, til tross for at temperaturen i vannet som omga meskesylindere ble målt til 70 °C. For å forbedre vanngjennomstrømmingen ble det tilsatt risskall til oppskrift S2, S3 og S4 (tabell 3.3-2). I oppskrift S2 ble det tilsatt 15% av maisvekten i risskall, i oppskrift S3 og S4 ble 15% av maisinnholdet byttet ut med risskall for å simulere maltens skall som utgjør 15% av maltens tørrvekt. For å hindre gel-dannelse og svelling ble det tilsatt Beerzym alfa-beta enzym. Enzymet ble tilsatt i vannet før tilsetning av mais, risskall og malt. Disse modifikasjonene av bryggeprosessen hjalp noe på vanngjennomstrømmingen og krevde røring, men temperaturøkningen uteble.

## Metoder

Et brygg ble brygget med oppskrift S6 (tabell 3.3-1 og 3.3-2) i bryggeriet levert av CoEnCo. Her ble meskeprogrammet programmert med samme mesketider som ble benyttet ved bruk av BeerBrew 30. 50L vann ble benyttet til mesking, mais, risskall og malt ble tilsatt når vannet holdt temperaturen til første meskesteg. Etter endt mesking ble ekstraktet og mais, ris og bygg pumpet over til siltanken, hvor den fikk stå og danne filterkake. Etter resirkulering til klar vørter ble siltanken drenert og vørteren overført til kokekjelen. Vørteren ble kokt i 90 minutter med tilsetning av humle etter 30 min og 85 min. Ved endt koking ble det laget en virvelstrøm i kjelen ved å pumpe vørteren fra bunnen av kjelen til en vinklet inngang i siden. Ved kraftig virvelstrøm ble pumpa stoppet og bunnventilen i kjelen stengt. Dette førte til at utfellinger i vørteren samlet seg i senter av kjelen. Vørter ble så tappet fra kanten av kjelen og ble pumpet igjennom platevarmeveksler i bryggeriet for nedkjøling til 25°C på veien til fermenteringstanken. 22 g Safale US-05 tørrgjær ble tilsatt før lukking av fermenteringstank.

Tabell 3.3-1: Opprinnelig oppskrift for øl S1 til S6

Øl	Mais (%)	Mais (g)	Pilsner malt (g)	Munich malt (g)	Cara (g)	60min humle (g)	5 min humle (g)
S1	95	5225	120	120	35	50	25
S2	97,5	5362,5	0	118	20	50	25
S3	99	5463	0	36,3	20	50	25
S4	100	5500	0	0	0	50	25
S5	0	0	5225	275	0	50	25
S6	99	8400	100	0	0	100	50

## Metoder

Tabell 3.3-2: Modifisering av oppskrift 1-6 etter problemer under mesking.

Øl	Enzym (ml)	Risskall (g)	Mais (g)
S2	1,3	804	5362
S3	1,3	816	4625
S4	1,3	750	4250
S6	3	1500	8400

### 3.4 Anton Parr

Etter modning på fat ble det tappet en flaske av hver batch ved bruk av beergun og korket og varmet til 20°C før prøven ble kjørt i Anton Paar. Kun en prøve kan ble om gangen, så prøvene ble kjørt fortløpende. Flasken ble satt inn i flaskekammeret, kammer lukkes og stigrør føres ned i flasken før målingen starter. Apparatet tar selv ut den mengden øl som kreves for å utføre målingen.

### 3.5 TDGCMS og HSGC-FID

#### 3.5.1 Prøvepreparering

Prøvene til TDGCMS og HSGC-FID er like og ble preparert samtidig. Alle prøver ble fryst og tint over natt i kjøleskap. Ølen filtrertes først gjennom filterpapir som ble plassert i ei trakt som var plassert i en elenmeierkolbe. Når ølen ble helt opp i filteret, ble det satt på kjølerom, for å hindre tap av flyktige komponenter. Filteratet ble deretter veid ut i 50ml Cellustar rør til en totalvekt på 40g, rørene ble så sentrifugering i 20minutter ved 3000rpm. Det ble tatt 2 prøver av hver batch, totalt 30 prøver i TDGCMS og totalt 30 prøver i HSGC-FID

#### 3.5.2 HSGC-FID

Prøvene ble analysert ved bruk av headspace gas kromotografi (HSGC), en modifisering av metode tidligere beskrevet av Narvhus et al. (1998).

Prøvene ble godt blandet før innveiling av 10,00 g i headspace-flasker (Machery Nagel, Dueren, Tyskland). Headspaceflaskene ble forsegleet med teflonbelagt septa med

## Metoder

aluminiumring (PTFA/Si septa, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA). Prøvene ble plassert i en Agilent Technologies 7679A automatisk headspace sampler med et 6890 GC system (Agilent Technologies) og en flamme ioniseringsdetektor.

Programvaren benyttet var Open LAB EZChrom (Agilent Technologies). Som bæregass ble det benyttet helium grad 6.0 (Aga, Norge) med en konstant bæregassflyt på 5.0 ml/min. Headspace badtemperatur var 50 °C, manifoldtemperatur 60 °C.

Ekvilibreringstiden var på 45 minutter, og prøvene ble mikset under oppvarming med 70 rist/min. Headspaceflaskene var trykksatt til 10 PSIG før injeksjon og injeksjonstiden var på 0.5 minutt. Injektoren var satt til 180 °C og detektoren til 200 °C. En CP-SIL 5CB GC kolonne (Varian, Middelburg, Nederland) ble benyttet for separering av komponentene. Kolonnen hadde en lengde på 25 meter med indre diameter på 0,53 mm og filmtykkelse på 5,0 µm. Det ble benyttet følgende temperaturprogram under analysen: 35°C, 5 min; økning med 10°C min<sup>-1</sup> til 40°C, 2 min; økning med 15°C min<sup>-1</sup> til 70°C, 2 min; økning med 30°C min<sup>-1</sup> til 130°C, 4 min; økning med 30°C min<sup>-1</sup> til 160°C, 4 min; økning med 10°C min<sup>-1</sup> til 180°C, 2 min; økning med 10°C min<sup>-1</sup> til 200°C, 2 min.

De flyktige komponentene ble separert basert på komponentenes ulike flyktighetsgrad og affinitet til kolonnens stasjonære fase. Identifisering og kvantifisering av de ulike forbindelsene ble gjennomført ved kalibrering med standardløsninger med kjent konsentrasjon av følgende komponenter: acetaldehyde, diacetyl, ethylacetate, 2-butanon, 2-hexanol, 2-methyl-butanal, 2-methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanal, 3-methyl-butanal, 3-methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol, isobutyl acetate, hexanal, isoamyl acetate, ethyl hexanoate, 3-carene, R-(+)-limonene, ethyl heptanoate, ethyl octanoate, β-citronellol, ethyl nonanoate, ethyl decanoate, phenylethyl alcohol (Sigma-Aldrich), acetoin, aceton, etanol, 1-butanol, 1-propanol, 2-butanol, dimetylsulfide, og 2.3-pentadion (Merck, Tyskland).

### 3.5.3 TDGCMS

De flyktige forbindelsene ble analysert ved bruk av Varmedesorberende gas kromotografi massespektrometri (TDGCMS). Prøvene ble godt blandet før pipettering av 5 ml i al-skåler (Plus Pack As, Odense DK). Skålene ble plassert i et

## Metoder

mikroemmisjonskammer (Micro-Chamber/Thermal Extractor M-CTE250, Markers International Ltd. Llantrisant, UK). De flyktige forbindelsene ble oppkonsentrert over på adsorbenttrør, Tenax TA/Carbograph 1TD (Markers International). Adsorbenttrørene ble videre plassert i et automatisk termisk desorpsjonsinstrument (Thermal Desorber, TD-100, Markers International), med et 7890B GC system (Agilent Technologies Inc. Wilmington, De, USA) og koblet til MS Systems, 5975 inert XL Mass Selective Detector (Agilent Technologies). Som bæregass ble det benyttet helium grad 6.0 (Aga) med en flow på 1 ml/min. Programvaren som ble benyttet var Masshunter GC/MS Acquisition B.07.00.1413 (Agilent Technologies). Oppkonsentrering av de flyktige komponentene i prøven over på adsorbenttrør, ble gjort i mikroemmisjonskammeret, ved 50°C i 10 min, og med en N<sub>2</sub>-flow på 50 ml/min. Videre ble adsorbenttrøret overført til et automatisk termisk desorpsjonsinstrument. Her ble prøven desorbert fra røret ved 280°C, 10 min, N<sub>2</sub>-flow 30 ml/min over på en elektrisk kjølefelle som holdt minus 10°C. Prøven ble videre desorbert fra kjølefella (Peltier cell), hvor temperaturøkningen var 100°C/s til 280°C, holdetid 3 min., split 10 ml/min. til kolonnen. De flyktige komponentene ble separert på en DB-WAXETR GC kolonne (Agilent Technologies). Kolonnen hadde en lengde på 30 meter, med indre diameter på 0,25 mm og filmtykkelse på 0,5 µm. GC temperatur programmet var som følger: 35°C, 3 min; økning med 5°C min<sup>-1</sup> til 40°C, 2 min; økning med 15°C min<sup>-1</sup> til 70°C, 2 min; økning med 10°C min<sup>-1</sup> til 130°C; økning med 10°C min<sup>-1</sup> til 160°C, 3 min; økning med 30°C min<sup>-1</sup> til 200°C, 15 min. Komponentene ble detektert med en 5975 inert XL Mass Selective Detector (Agilent Technologies). Massespektrometeret parametere var, elektronisk ioniserings mode (70eV), ionekildetemperatur på 230°C og kontinuerlig skanning i masseområdet m/z 33-400. Software programmet som ble benyttet var MassHunter GC/MS Acquisition B.07.00.1413. Identifikasjon av de flyktige komponentene ble gjort ved hjelp av NIST 11-database (Agilent Technologies).

## Metoder

### 3.6 ELISA

#### 3.6.1 Prøveopparbeidelse

Prøver ble tatt ut ved to tidspunkter, under tapping til fermenteringsdunk og etter modning tappet fra fat. Prøvene tatt under tapping på fermenteringsdunk ble lagret i 50 ml Cellustar rør ved -20 °C og satt til tining ved 4°C over natten dagen før testen ble utført. Prøvene tatt etter modning ble tappet fra fat og lagret i 25ml Cellustar tubes ved 4°C over natten. I tillegg til å undersøke gluteninnhold i øl brygget i denne oppgaven ble også gluteninnholdet i Corona og Corona Light undersøkt. Disse øl-typene drikkes ofte av personer med cøliaki til tross fra at de ikke er deklart glutenfrie. Corona og Corona Light filtrertes igjennom filterpapir for å fjerne CO<sub>2</sub>. Før testutførelse er alle prøvene varmet til romtemperatur.

#### 3.6.2 Opparbeidelse av reagenser

Ridascreen Gliadin Competitive kittet inneholder alle nødvendige reagenser for glutenundersøkelser av næringsmidler, bortsett fra etanol, destillert vann og fiskegelatin. Fiskegelatin brukes kun ved måling av prøver med innhold av polyfenoler som øl. Prøvefortynner, vaskebuffer og enzymkonjugat er levert i konsentrert form, disse fortynnes før start. prøvefortynner fortynnes en til fire; 15 ml konsentrert sample delutant i 60 ml dH<sub>2</sub>O. Vaskebufferen fortynnes en til 9; 4 ml konsentrert vaskebuffer i 36 ml destillert vann. Enzymkonjugate fortynnes en til ti; 300µl konsentrert enzymkonjugate i 3 ml destillert vann. I tillegg til reagenser inkludert i kittet kreves det en 60 % etOH-løsning med 10 % fiskegelatin. Etanolløsningen lages ved å blande 50 g flytende fiskegelatin i 150ml vann som tilsettes 300 ml ren etanol i en målesylinder, pH justeres til pH 8,5 med natriumhydroksid (NaOH) før tilsetning av dH<sub>2</sub>O til totalvolum 500 ml.

#### 3.6.3 Utførelse av analyse

Øl- og vørterprøvene ble først blandet i etanolløsningen; 1 ml prøve + 9 ml etanolløsning. Etanolløsningen ble tatt ut mens den står på magnetrører. Løsningene ble blandet i 30 sek på vortex i 10 minutter på rotator, deretter sentrifugertes løsningene i 10 minutter ved 2500G ved romtemperatur. Supernatanten ble blandt ut 1:50 med prøvefortynneren (20 µl supernatant + 980 µl fortynningsbuffer) i eppendoftrør. Løsningen ble blandet godt før 50 µl pipetteres til bestemt brønn, 50 µl enzymkonjugat

## Metoder

ble så tilsatt hver brønn ved bruk av step-pipette. Plateholderen ble ristet lett for å blande løsningene i brønnene. Brønnene inkubertes mørkt ved romtemperatur i 30 min. Væsken ble så tømt ut av brønnene og plateholderen med brønnenne slås mot papir 3 ganger for å få ut all væske. Brønnene fyltes deretter med 250 µl vaskebuffer og væsken helles ut og fyllingen gjentas totalt tre ganger.

100 µl substrat/chromogen tilsettes hver brønn, og platen ble ristet lett før den ble inkubert mørkt ved romtemperatur i 10 min. 100 µl stoppreagens ble tilsatt hver brønn før absorbans ble lest av ved 450nm innen 10min.

### 3.7 Sensorisk analyse

#### 3.7.1 Triangeltest

Triangeltesten ble utført på sensorikkrommet på Meieribygget. Deltakerne satt ved hver sin smaksstasjon og fikk instruks muntlig og på et skjema (Vedlegg 4) de fikk utdelt for bedømming. Deltakerne fikk instruks om å kun ta hensyn til smak, å svelge ølen, smake en gang på hver øl fra høyre til venstre, og merke av på skjemaet hvilken øl som skiller seg ut. Deltakerne fikk også et glass vann og en bøtte å spytte i, for å rense munnen mellom smakene. Smaksprøvene ble ikke merket på noen måte, deltakerne avga derfor svar ved å registrere om det er høyre, midtre eller venstre øl som skiller seg ut.

Deltakerne fikk to pauser under smakingen, begge på 10minutter, etter 1/3 og etter 2/3 av smakene.

#### 3.7.2 Fri Profilering

Fri profilering ble utført i et nøytralt rom på universitetet. Deltakerne kom til lokalet til ønsket tid og ble plassert ved bord, en og en. Hver deltaker får selv velge øl, fra nr 1 til nr 5, der S4 er nr 1, S2 er nr 2, S3 er nr 3, S1 er nummer 4 og S5 er nummer 5. Deltakeren fikk så servert ølen i et plastglass sammen med skjema (Vedlegg 5) for



## Resultater

bedømmelse og et vannglass for å skylle munnen. Deltakerne fikk tiden de trengte til å bedømme ølene.

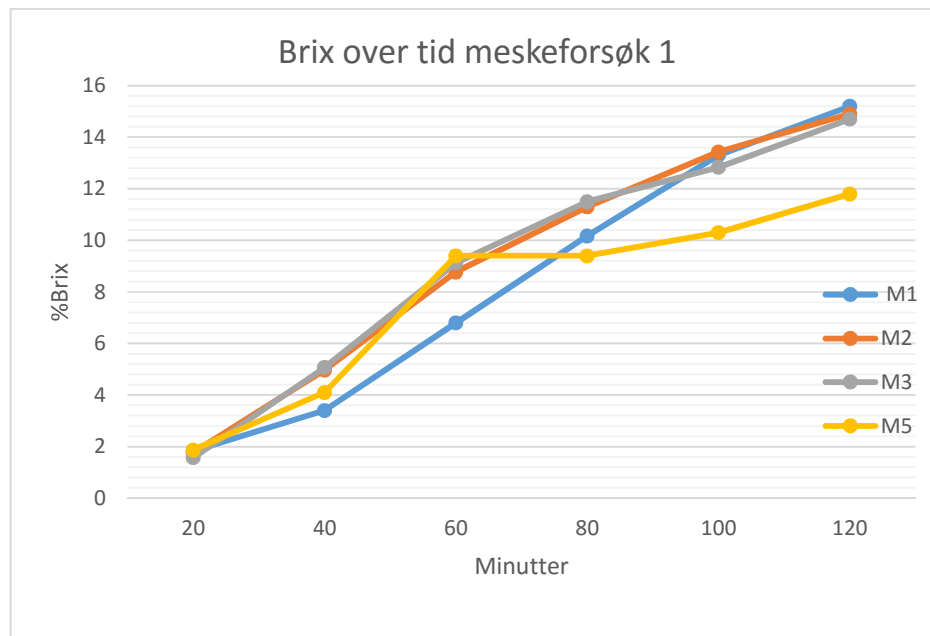
## 4 Resultater

### 4.1 Meskeforsøk i liten skala - førforsøk

I meskeforsøk 1 og meskeforsøk 2 er Brix målt i prøvene fortløpende ved bestemt tid. Dette har ført til at den første og siste prøve er målt med noen minutters mellomrom.

#### 4.1.1 Meskeforsøk 1

Resultatene fra meskeforsøk 1, vist i figur 4.1-1, viser en jevn stigning i °Brix ved oppskrift M1 til M3, mens stigningen til M5 reduseres kraftig etter 60 minutter. Oppskrift M4 lagde en grøt etter 40 minutter, noe som gjorde måling av °Brix umulig. Bilde av M4 løsningen vises i figur 4.1-2.



Figur 4.1-1 Sukkerutbytte over tid, °Brix i løsning med oppskrift M1(Malt), M2(50/50 Mais/Malt) M3(90/10 Mais/malt) og M5(Mais + Enzym).

:

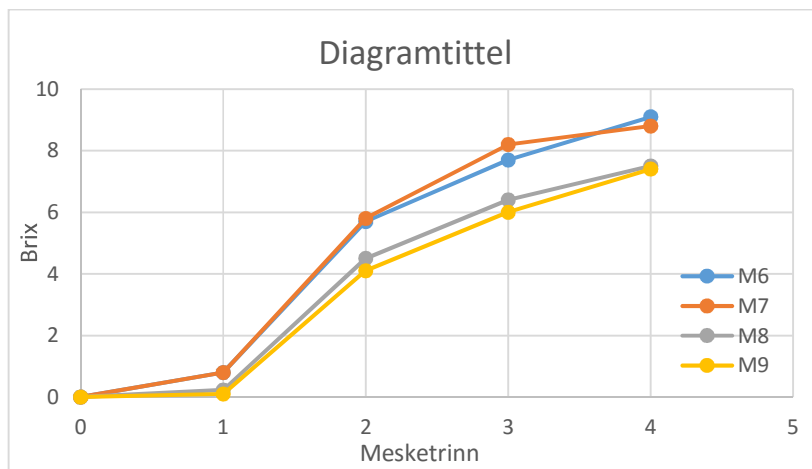
## Resultater



Figur 4.1-2: Mais og vann uten enzym i meskeforsøk 1, oppskrift M4. Maisens stivelse har bunnet alt vannet og dannet en fast masse.

### 4.1.2 Meskeforsøk 2

I meskeforsøk 2 ble det benyttet høyere mais/bygg ratio og kortere tid enn i meskeforsøk 1. Dette gjenspeiles i resultatene som viser lavere sukkerutbytte. Figur 4.1-3 viser økningen i °Brix under forsøket. Oppskrift M6 og M7 har tilsvarende utvikling, det samme har oppskrift M8 og M9.



Figur 4.1-3: °Brix etter hvert meskeetrinn. Oppskrift M6 og M7 viser et bedre sukkerutbytte enn oppskrift M8 og M9.

## Resultater

### 4.2 Brygging

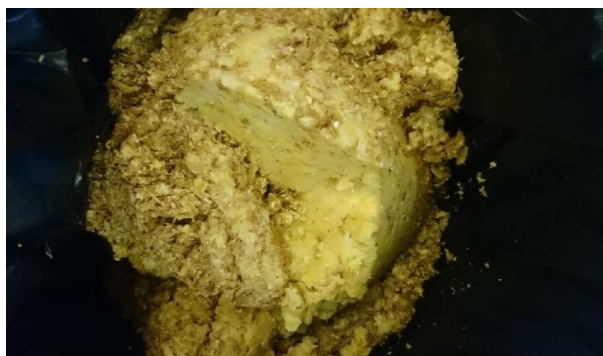
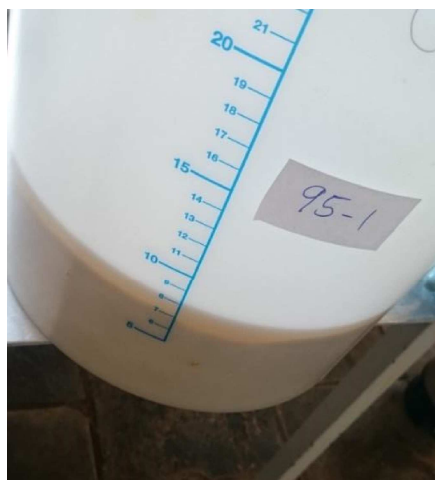
Resultatene etter ølbryggingen vises i tabell 4.2-1, resultatene vises her som gjennomsnitt av de ulike batchene. Sukkerutbyttet, målt i °Brix, viser samme trend som i meskeforsøk 2; mindre malt gir mindre sukkerutbytte. Etter å ha registrert en stor mengde bunnfall i brygg S1, alle tre paralleller, ble det registrert bunnfall fra alle batcher. Brygg S2 til S5 hadde normal mengde bunnfall.

*Tabell 4.2-1: Målinger utført under ølbryggeprosessen i BeerBrew og CoEnCo. Tabellen viser gjennomsnittsverdier til de ulike batchene. S1 til S5 er brygget i BeerBrew, S6 er brygget i CoEnCo*

Oppskrift	°Brix før kok	°Brix etter kok	°Brix etter gjæring	°C endt meskin g	Liter vørter til gjæring	Bunnfall etter gjæring (L)
<b>S1</b>	9,13	10,33		61	20,17	6,33
<b>S2</b>	3,50	5,83	2,93	59	20,00	1,67
<b>S3</b>	5,40	4,87	3,10	56	21,50	1,00
<b>S4</b>	3,33	3,00	2,13	56	21,93	0,50
<b>S5</b>	12,00	12,67	5,50	73	21,00	1,00
<b>S6</b>	9	12				

Figur 4.2-1 viser geldanning i mais etter mesking. Figur 4.2-2 viser mengden bunnfall etter fermentering av øl S1 parallell 1, på bildet merket 95-1. Bunnfallet måler 7L, opptil 5,5L mer enn etter fermentering av oppskrift S2, S3, S4 og S5.

## Resultater



Figur 4.2-1 Geldannelse og svelling i mais og risskalløsning. Bilde er tatt etter tømning av meskesylinder.

Figur 4.2-2: Bunnfall i fermenteringsdunk etter fermentering av batch 95-1.

### 4.3 Anton Paar

Anton Paar-metoden måler 10 ulike parametere i øl. I oppgaven er det valgt seks av disse. Valgte parametere er alkoholprosent, farge, klarhet, pH, grad av fermentering og CO<sub>2</sub> konsentrasjon. Tabell 4.3-1 viser at øl S5 har høyest alkoholinnhold, mest CO<sub>2</sub>, lavest fargeverdi og –klarhet og høyest fermenteringsgrad. Rådata er vedlagt i Vedlegg 1.

Tabell 4.3-1: Resultater fra Anton Paar måling. Lik bokstav indikerer overlappende standardfeil.

Oppskrift	Alkohol %(v/v)	CO <sub>2</sub> (g/l)	Farge (ebc)	Matthet (ebc)	pH	ADF
<b>S5</b>	6,38	4,3 <sup>b</sup>	9,21 <sup>a</sup>	4,77	3,97	87,92
<b>S1</b>	4,01	3,77 <sup>a</sup>	11,29 <sup>a</sup>	5,02	3,67	72,17 <sup>a</sup>
<b>S2</b>	2,43	3,85 <sup>a</sup>	30,65 <sup>b</sup>	105,02 <sup>a</sup>	3,8	74,45 <sup>a</sup>
<b>S3</b>	1,82	4,2 <sup>ab</sup>	31,17 <sup>b</sup>	113,05 <sup>a</sup>	3,9	60,95
<b>S4</b>	0,79	3,4 <sup>a</sup>	51,4 <sup>b</sup>	115	4,81	42,23
<b>S6</b>	2,69	1,8	25,48	74,96	4,07	56,9

## Resultater

### 4.4 HSGC-FID

Resultatene fra HSGC-FID vises i ppm i Tabell 4.4-1. Det vises også om resultatet er over terskelverdi for smak/lukt (O.T), under terskelverdi for smak/lukt (U.T) eller ikke detektert (N.D) i parentes.

## Resultater

Tabell 4.4-1 Innhold av komponenter undersøkt ved HSGC FID. Komponentene er merket som over terskelverdi (O.T.), under terskelverdi (U.T) og ikke detektert (N.D). S1 – 95% mais, S2 – 97,5 % mais, S3 – 99% mais, S4 – 100% mais og S5 – Bygg. \* indikerer N.D i 2 av 6 målinger, \*\* indikerer ikke detektert i 3-4 av 6 målinger, \*\*\* indikerer detektert i 1 av 6 målinger.

Komponent	S1	S2	S3	S4	S5
Acetaldehyde	11,82 (U.T)	5,59(U.T)	8,59(U.T)	6,37(U.T)	2,99(U.T)
Acetone	0,44	0,48	0,48	0,49	0,25
Dimethylsulfide	0,0046	0,0065	0,012	0,004	0,029
2-methyl-propanal	0,013	0,009	0,008	0,021*	N.D
1-propanol	14,43(U.T)	9,13(U.T)	6,47(U.T)	4,56(U.T)	33,14(U.T)
Diacetyl	0,11*	0,045* (U.T)	0,17*	0,512**(O.T)	N.D
2-butanone	0,012*	0,0086	0,014*	0,017	0,0085**
2-butanol	N.D	0,036	0,26	0,041	0,025***
Ethylacetate	6,4	0,094	1,95	0,9	23,21
2-methyl-1-propanol	75,09	34,43	20,38	10,8	36,7
3-methyl-butanal	0,014	0,0045	0,0053	0,004(U.T)	0,0085
2-methyl-butanal	0,004	0,0013**	0,0035**	0,005	0,004**
2.3-pentadione	0,017**	0,011**	N.D	0,257**	0,018***
Acetoin	N.D	N.D	N.D	2,24*	1,28**
3-methyl-1-butanol	67,91	27,85	20,55	8,137(U.T)	51,81**(U.T)
2-methyl-1butanol	15,86	7,82	5,8	3,745(U.T)	14,57
Isobutyl acetate	0,011	0,0058	0,007	0,01	0,033
Hexanal	0,007	0,013	0,034	0,01	0,0045
Isoamyl acetate	0,044	0,015	0,011	0,011	0,72
Ethyl hexanoate	0,055	0,047	0,035	0,013	0,11
3-carene	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001**
R-(+)-limonene	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Ethyl heptanoate	0,001*	0,001**	0,001**	N.D	0,001
Phenylethyl alcohol	21,82	6,89	5,29	2,772	42,16
Ethyl octanoate	0,006	0,0073	0,0065	0,002	0,037
Beta-citronellol	0,0097	0,1	0,011	0,011	0,009
Ethyl nonanoate	N.D	N.D	N.D	N.D	0,002
Ethyl decanoate	N.D	N.D	N.D	N.D	0,0016

Tabell 4.4-1 viser generelt lite variasjon i mengde smakskomponent mellom de ulike ølene. 1-propanol er et unntak, økt innhold ved økt maltinnhold i ølet har gitt økt innhold

## Resultater

av 1-propanol , men innholdet er likevæll under terskelverdien for smak. Rådata vises i vedlegg 3.

### 4.5 TDGCMS

Tabell 4.5-1 viser flyktige komponenter identifisert ved TDGCMS i ølene brygget i oppgaven.

Tabell 4.5-1: Komponenter identifisert ved TDGCMS av ferdig øl.

Øl	Identifisert komponent
S1	“Acetic acid” <sup>b</sup> , “Octanoic acid, ethyl ester” <sup>b</sup> , “Isobutyl acetate”, “phenylethyl alcohol” <sup>b</sup> , «Propanoic acid, 2-methyl”, “1-propanol, -2 methyl”
S2	“Acetic acid” <sup>b</sup> , “Octanoic acid, ethyl ester” <sup>b</sup> , “Phenylethyl alcohol” <sup>b</sup> , “1 propanol, -2 methyl”
S3	“Acetic acid” <sup>b</sup> , “Octanoic acid, ethyl ester” <sup>b</sup> , “Phenylethyl alcohol” <sup>b</sup>
S4	“Acetic acid” <sup>b</sup> , “Octanoic acid, ethyl ester” <sup>b</sup> , “Phenylethyl alcohol” <sup>b</sup> . “Cyclopentasiloxane, decamethyl”
S5	“Acetic Acid” <sup>b</sup> , “1-butanol, 3 methyl-, acetate” <sup>a</sup> , “Octanoic acid, ethyl ester” <sup>b</sup> , “Phenylethyl alcohol” <sup>b</sup> , “Cyclopentasiloxane, decamethyl”

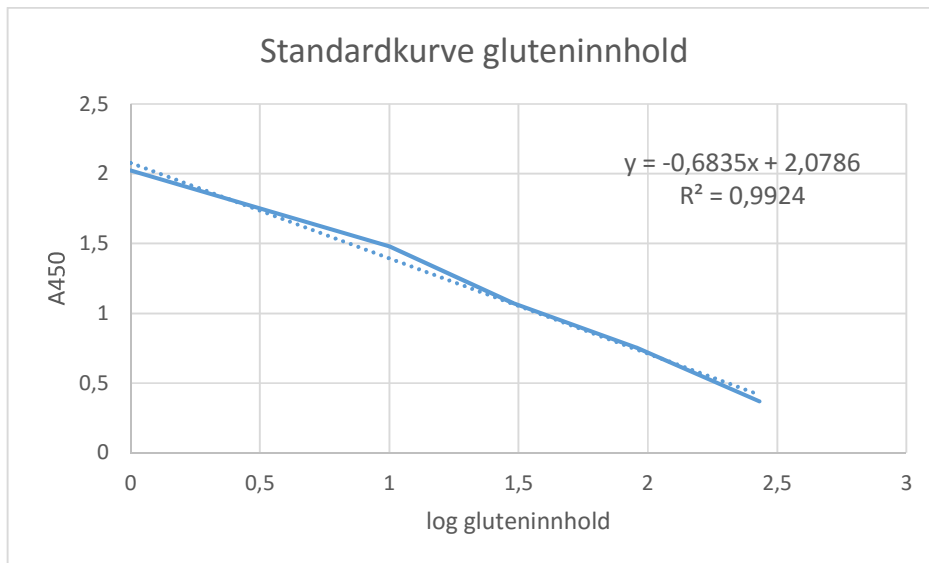
<sup>a</sup>Kun S5, <sup>b</sup>Identifisert i ølene

Tabell 4.5-1 viser at “Acetic acid”, “Octanoic acid, ethyl ester”, og “phenylethyl alcohol” er identifisert i alle ølene.

## Resultater

### 4.6 ELISA

Resultatene fra Elisa-testen viser at alle bryggene med mais er glutenfrie, da alle ligger under grensen på 20ppm. En ser også av resultatene en reduksjon av gluten under gjærings- og modningsprosessen. Standardkurve for gluteninnhold illustreres i figur 4.6-1. Gjennomsnittlig gluteninnhold i ølene vises i tabell 4.6-1. Rådata vises i vedlegg 2.



Figur 4.6-1: logaritmisk standardkurve for gluteninnhold. Høyere y gir lavere gluten,  $y = 2 = 0$ ppm gluten.



## Resultater

Tabell 4.6-1: Gluteninnhold i øl brygget i oppgaven. FG = Vørter, før gjæring. EM = Etter modning, ferdig øl.

Prøve	PPM	Sandardavvik
<b>FG S4</b>	5,15	0,22
<b>EM S4</b>	8,02	2,02
<b>FG S3</b>	9,12	1,8
<b>EM S3</b>	7,44	1,2
<b>FG S2</b>	11,54*	0,5
<b>EM S2</b>	10,47	2,9
<b>FG S1</b>	29,42	1,1
<b>EM S1</b>	14,65	2,7
<b>FG S5</b>	69,19	5,8
<b>EM S5</b>	55,57	8
<b>Corona (C)</b>	7,61	1,5
<b>Corona light (CL)</b>	7,78	2,7

Tabell 4.6-1: \*resultat fra en parallell ble forkastet grunnet kontaminering av gluten.

Ved økt maltinnhold forekommer en økning av gluten i ølet, gluteninnholdet reduseres fra vørter til ferdig øl.

## 4.7 Sensorisk analyse

### 4.7.1 Triangeltest

Av 22 påmeldte deltakere til triangeltesten, møtte 13 deltakere, 2 kvinner og 11 menn. Resultatet fra triangeltesten vises i tabell 4-1. Resultatene vises i hvor mange prosent av smakstestene deltakerne identifiserte korrekt. Under testen ble det observert stor variasjon i utseende på ølen innenfor hver øltype, det kan ha påvirket resultatet selv om deltakerne ikke skulle ta hensyn til utseende.

## Resultater

Tabell 4.7-1: Score i prosent fra triangeltest mellom ølene S1, S2, S3, S4 og S5. Høyere prosentsats gir høyere identifiseringsgrad.

Øltype	S3	S2	S1	S5
<b>S4 - 100</b>	87,5%	63,9%	86%	78%
<b>S3 - 99</b>		46,7%	58%	81,3%
<b>S2 - 97,5</b>			69,2%	54%
<b>S1 - 95</b>				75%

Høyest gjenkjennelse er mellom S4 og S3 med en gjenkjennelsesprosent på 87,5 og lavest gjenkjennelse er mellom S2 og S3 med en gjenkjennelsesgrad på 46,7.

### 4.7.2 Fri Profilering

Totalt 55 vurderinger av øl ble utført under fri profilering av de fem ølene. 2 av vurderingene ble gjort av personer som vanligvis ikke liker øl, disse var begge positive til maisølen. Tabell 4.7-2 viser attributter deltakerne har gitt de ulike ølene. Tabell 4.7-3 viser deltakernes vilje til å kjøpe ølen under ulike forutsetninger. Utseende til ølen endret seg med tiden den sto og hvor mye som var blitt tappet fra hvert fat, ølen ble gradvis klarere etter å ha tappet flere øl. Figur 4.7-1 viser øl S1 til S5 etter tapping på glass, bildet er ikke tatt under smakstesten, og viser ølen på sitt matteste.

Tabell 4.7-2: Beskrivelse av ølen etter fri profilering, attributter gitt til ølen av deltakerne. Ølen er sortert i tabellen med tenke på økt maltinnhold fra topp til bunn.

Øl	Smak	Munnfølelse	Utseende
<b>S4</b>	Ikke god, emmen	Vandig	Matt, beige, lys
<b>S3</b>	Lett/mild, bitter	Enkel, god	Matt, beige, lys
<b>S2</b>	Frisk, lett og mild, god, bitter	Enkel, behagelig	Matt, beige, lys
<b>S1</b>	Frisk, god, bitter, syrlig	Deilig, enkel	Gyllen, matt, lys
<b>S5</b>	Lett og mild, god, søt,	Enkel, god	Matt, lys, gyllen

## Resultater

Tabell 4.7-2 viser en trend fra S4, via S3, S2 og S1 til, S5. S4 beskrives som ikke god og emmen, mens S5 beskrives som god og søt.

Tabell 4.7-3: Resultatet etter spørsmålet om smaker vil ha kjøpt ølen. Ølen er sortert i tabellen med hensyn på maltinnhold, med lavest maltinnhold i S4 til venstre og høyest maltinnhold i S5 til høyre.

Påstand: Kjøpt om	S4	S3	S2	S1	S5
Dyrere alternativer	2	2	3	3	3
Andre alternativer, lik pris	2	3	5	1	5
Billigere enn alternativer		3	4	5	2
Som eneste alternativ	4	1	3		
Ville ikke kjøpt	2	1	0	1	1

Tabell 4.7-3 viser at panelet er villig til å betale for alle øltypene, i varierende grad. S4 er minst attraktiv- og S5 er mest attraktiv for panelet.



Figure 4.7-1: Utseende på øl brygget i oppgaven. Fra venstre: S5, S1, S2, S3 og S4.

Figur 4.7-1 viser stor fargeforskjell i de ulike ølene. Mens S1 og S5 har ølfarge og noe som kan minne om ølfarge, har S2, S3 og S4 er beige farge.

## 5 Diskusjon

### 5.1 Meskeforsøk

Meskeforsøkene ble gjort for å undersøke om det er tilstrekkelig mengde enzymaktivitet i malt til å også bryte ned stivelsen i maisflakene. I meskeforsøk 1 gir oppskriftene med bygg (M1, M2 og M3) samme sukkerutbytte. Dette kan tyde på at en oppskrift med så lite som 10% malt(M3) kan være tilstrekkelig for å brygge øl med ønsket alkoholnivå. Tilsetning av alfa-beta enzymet i M5 ga ikke de samme resultatene som ved innhold av malt. Dette kan skyldes enzymets temperaturoptimum, som ofte ligger nært temperaturmaksimum, her 70°C, og maltens komplekse enzymsammensetning. M5 kunne derfor vært utført ved konstant optimal temperatur for enzymet. Likevel er °Brix-kurven brattest tidlig i meskeprosessen. Figur 4.1-1 som viser stigning i °Brix over tid viser en lavere kurve for oppskrift M1 enn oppskrift M2 og M3, samtidig som den tar de igjen ved endt mesking. Dette kan skyldes to ting; tiden fra den ble målt til de andre ble målt eller at stivelsen i mais har en struktur som er lettere tilgjengelig for enzymene med lave optimaltemperaturer.

Oppskrift M4, med kun maisflak, resulterte i fast maisgrøt. Dette var forventet, da mangelen på enzymer som bryter ned stivelsen fører til at stivelsen trekker til seg vann og sveller. Meskeforsøk 2 ble gjennomført etter å testbrygget en vellykket 95% batch, som tilsvarer oppskrift S1. Meskeforsøk 2 viser et lavere sukkerutbytte enn meskeforsøk 1, noe som kan forventes ved lavere maltmengde.

### 5.2 Brygging av øl

Brygging i stor skala vil avgjøre om brygging er mulig med de høye konsentrasjonene av mais som er benyttet i denne oppgaven, eventuelt med den lave konsentrasjonen av malt.

Sukkerutbytte etter mesking er helt essensielt når man skal brygge øl, uten dette sukkeret vil det ikke være øl. Sukkerutbyttet etter oppskrift S2, S3 og S4 gjenspeiler ikke resultatene man så i meskeforsøk 1 og meskeforsøk 2 med tilsvarende oppskrifter, til tross for tilsetning av enzym. Utbyttet er mer enn halvert ved S4 kontra M5 og S2 kontra M8, utbyttet S3 kontra M9 er redusert med omtrent 1/3.

## Diskusjon

Dette lave utbyttet kan skyldes redusert sirkulasjon i vann/vørter under mesking, stillestående vann, kompaktheten til malt, risskall og mais i meskesylindere kan ha hindret jevn fordeling av enzym i løsningen og at mesketemperaturene ikke ble nådd. Tilsetning av Risskall og enzym ga noe effekt, men ikke den effekten man hadde håpet på. Temperaturen ved meskeslutt, vist i tabell 4.2-1, viser at temperaturen ikke ble høyere enn 60°C i batch S2, S3 og S4.

Bryggingen av oppskrift S6 som ble brygget i CoEnCo bryggeriet ga bedre resultater enn oppskrift S2 og S3 i BeerBrew bryggeriene. S6 er en oppskalert versjon av S3, slik at disse burde ha gitt samme resultater. Røringen under mesking, volumet maisflakene og malten kunne bevege seg i og temperaturen har her gitt et høyere sukkerutbytte.

### 5.3 Anton Paar

Resultatene fra Anton Paar viser store ulikheter mellom ølene. Alkoholinnhold og grad av fermentering er den største forskjellen, alkoholinnholdet sees i sammenheng med sukkerutbyttet i de ulike ølene. Variasjon i fermenteringsgrad er tilsynelatende også relatert til sukkerinnhold, sett bort ifra øl S6. Tabell 4.3-1 viser forskjellen i næringsinnhold i tørket mais og mel av maltet bygg, hvor man ser store forskjeller i innhold av vitaminer og mineraler. Maltens høyere innhold av vitaminer kan være grunnen til variasjonen i fermenteringsgrad.

Fargemålingene gjort på ølen stemmer svært dårlig med EBC-skalaen. Den viser at S4 har farge som en stout og S2 og S3 har farge som Irish ale, det er begge svært mørke øltyper, i motsetning til S2, S3 og S4 som er lys beige. Fargemålingene kan ha blitt påvirket av at ølen er svært uklar.

### 5.4 ELISA

ELISA resultatene, tabell 4.6-1, viser glutenfri øl i alle brygg som inneholder mais. En nær lineær økning i gjennomsnittlig gluteninnhold ser man i batch S3 til S1, noe som er forventet på bakgrunn av lineær økning av maltinnhold i de tre ølene. S4, som ikke inneholder malt, har et gjennomsnittlig gluteninnhold høyere enn oppskrift S3 som

## Diskusjon

inneholder malt, noe som ikke var forventet. Dette kan skyldes rester av malt/gluten i bryggeutstyret eller kontaminering under prøveoppbeidelse. Gluteninnholdet i S4 kan, som i avvik i S3, komme fra kontamineringer i prosessen fra brygging til glutentesten. Sett at alle prøver har denne kontamineringen, kan det være mulig å brygge glutenfritt øl, uten kontamineringer, med lavere innhold av gluten enn det vi ser i denne oppgaven.

Standardavviket til gjennomsnittsmålingene viser at det ikke nødvendigvis er forskjell i gluteninnhold mellom alle ølene: S1 og S2 kan ha likt gluteninnhold og S2, S3 og S4 kan ha likt gluteninnhold. Standardavviket til S1, som har høyest gjennomsnittsinhold av gluten av maisølene, ligger med god margin under grensen på 20ppm.

Sett bort fra S4, ser man en reduksjon i gjennomsnittlig gluteninnhold fra vørter til ferdig øl. Denne reduksjonen kan skyldes flere grunner. Gluteninnholdet måles ved reaksjon med en spesifikk aminosyrekjede, denne kjeden kan ha blitt metabolisert under fermentering, gluten kan også ha felt ut under fermentering og modning. Flere av prøvene av vørter er tidligere filtrert og sentrifugert under prøveoppbeidelsen til HSGC-FID og TDGCMS, denne behandlingen kan ha redusert gluteninnholdet i prøven, om så vil glutenreduksjonen under fermentering og modning være enda høyere. S1 og S5 har den største reduksjonen i gluten fra vørter til ferdig modnet øl, det er samtidig ølene med høyest gluteninnhold.

### 5.5 Flyktige komponenter

Prøvene undersøkt for flyktige komponenter er alle fryst og filtrert før testen utførtes. Filtrering gjennom papirfilter kan ha ført til tap av flyktige komponenter, til tross for at filtreringen ble utført på kjølerom.

Resultatene viser liten forskjell mellom de fem ølene, noe som kan tyde på at gjær og humle har det største påvirkningen på smaken ved bruk av basemalt og mais.

## Diskusjon

### 5.5.1 HSGC-FID

Resultatene fra HSGC-FID vises i tabell 4.4-1. Resultatene vises som gjennomsnittsinhold av seks målinger og indikasjon på over terskelverdi (O.T), under terskelverdi (U.T) eller ikke detektert (N.D).

Flere av komponentene har et lavt innhold, og flere er kun identifisert i enkelte paralleller. Det er fem komponenter som har en stigning fra øl med 100% mais, øl med 100% malt; phenyletyl alkohol, isoamyl acetat, etyl acetat, etyl hexonat og 1-propanol. Av disse er det kun etyl acetat som er identifisert hos bygg. Etyl acetat er et produkt fra nedbrytning av etanol og ser man innholdet sammen med etanolinnholdet, kan det være en sammenheng.

Det er vanskelig å avgjøre om ulikheten i mengde smakskomponent skyldes maltinnholdet eller mengden forgjærbart sukker, da disse faktorene henger sammen. I to tilfeller ser man at S1 har klart høyere innhold av smakskomponentene enn de andre ølene, dette gjelder acetaldehyd og 2-metyl-1-propanol. Det økte innholdet av acetaldehyd kan tyde på en ikke fullført etanolfermentering, det kan komme av mangel på andre næringsstoffer til gjæren og for kort eller lang fermenteringstid.

Smakskomponenter med likt innhold i alle ølene kan sannsynligvis komme fra humlen, som gir smak og aroma.

### 5.5.2 TD GCMS

1-butanol, 3 metyl-, acetat er eneste komponent som skiller S5 fra de andre ølene. På bakgrunn av variasjonen i innhold i de ulike ølene er dette resultatet overraskende og det var forventet større forskjeller. Dette viser også at gjær og humle har større påvirkning på smaken enn malt/stivelsesilden i en enkel øl.

## 5.6 Sensoriske analyser

### 5.6.1 Triangeltest

Til triangeltesten var 22 personer meldt på, kun 13 møtte opp. På grunn av få deltakere vil ikke resultatene være konkluderende Resultatene kan vise en trend. Samtidig er triangeltesten oftest utnyttet for å skille to produkter, i denne testen er det derimot fem produkter.

## Diskusjon

Resultatene viser ingen klar trend, annen enn at deltakerne har en høyere riktighetsprosent mellom S4 og de andre ølene. Unntaket her er S4 og S2 som har en riktighetsprosent på 63,9%. Øl S2 og S3 er ølene som er likest hverandre, med kun 46,7% riktig svar. Det var forventet at S5 skulle skille seg mer ut fra de andre ølene enn det resultatet viser, med riktig identifisering i 54%, til 81% mellom S5 og de andre ølene, er det S4 som skiller seg mest ut. Antall øl deltakerne smakte på og hvor ofte de egentlig har skylt munnen etter hver smak kan også ha hatt en innvirkning.

Det at det deltakerne ikke har identifisert 100% riktig mellom parallell 1 og parallell 5 tyder på at de ikke har tatt utseendet med i beregningen.

For å utelukke identifisering på bakgrunn av utseende kunne det ha vært brukt rødt lys i lokalet, hvilket er tilgjengelig. Det ble undersøkt før testen hvor stor effekt det røde lyset hadde; det ga liten eller ingen effekt.

### 5.6.2 Fri profilering

Deltakerne ble her bedt om å beskrive ølen med sine egne ord, i stikkordsform, men ikke gi noen score eller vurdering av hvor mye eller lite den smakte. Beskrivelsene av ølene gir uttrykk for at ølen ble bedre og liknet mer på S5 med økt maltinnhold, med et klart skille mellom S2 og S3, hvor S1 og S2 er beskrevet som god, noe S3 og S4 ikke er. Utseendemessig ser man et skille mellom S1 og S2. mens S1 og S5 beskrives som klare med en gyllen farge, beskrives S2, S3 og S4 som matt og med beige farge. Figur 4-B viser denne beskrivelsen av fargen godt, samtidig som den viser behovet for en vurdering hvor man sammenlikner ølen opp mot hverandre.

På spørsmål om paneldeltakerne ville ha kjøpt ølen, så har de brukt hele skalaen og hver øl har vurderinger som tilsier at noen ville kjøpt den om den var dyrere enn andre alternativer. Samtidig ser man at øl S5, S1 og S2 scorer bedre enn S3 og S4.



Konklusjon

## 6 Konklusjon

Resultatene i oppgaven viser at det vil være mulig å produsere et glutenfritt alkoholholdig produkt med egenskapene til øl, ved å erstatte deler av malten med mais, i et eksisterende bryggeri. Ved produksjon av produktet er det ikke sikker om det kreves en like stor reduksjon av malt som i denne oppgaven, dette må undersøkes. For optimal utnyttelse av sukkerutbyttet, vil det være nødvendig å tilsette næring til gjæren under fermentering.

Til tross for lavt sukkerutbytte og en svært uklar øl i brygget på mais i denne oppgaven, viser de resultatene at det er mulighet for å forbedre dette med annet utstyr. Resultatet fra S6 som ble brygget i CoEnCo bryggeriet gir en indikasjon på at rett temperatur og tidsintervaller vil gi et bedre ekstraktutbytte enn ved bruk av BeerBrew. Med tenke på gluteninnholdet så har det i denne oppgaven vært fokus på forholdet mellom mais og malt, men man burde fokusert på forholdet mellom malt og totalvolum. Mais har et høyere stivelsesinnhold enn bygg, slik at man kunne redusert maisinnholdet betraktelig, noe som kan gi bedre omløp av vann og gjøre oppvaringen enklere med BeerBrew bryggeriet, samtidig som gluteninnholdet blir det samme.

Kilder

## Kilder

Aabakken, L. (2014). "Cøliaki." from <https://sml.snl.no/c%C3%B8liaki>.

Aastrup, S. and H. S. Olsen. (2008). "Enzymes in brewing." from <http://www.biokemi.org/biozoom/issues/522/articles/2368>.

Agriculture, U. S. D. o. and A. R. Service Basic Report: 20131, Barley malt flour J.

Agriculture, U. S. D. o. and A. R. Service Basic Report: 35134, Corn, dried (Navajo)

Andrew G.H. Lea and J. R. piggot (2003). Fermented Beverage Production.

Aroxa. (2014). "Certified beer flavour standards." Retrieved 07.12.2015, 2015, from <http://www.aroxa.com/beer/beer-flavour-standard>.

Bernatek, E. R. (2015). Stivelse. Store Norske Leksikon.

Bestmalz. (2015). "Best Caramel Amber." Retrieved 14.12, 2015, from <http://www.bestmalz.de/en/malts/best-caramel-amber/?portfolioID=1199>.

Bestmalz. (2015). "Best Chocolate." Retrieved 14.12, 2015, from <http://www.bestmalz.de/en/malts/best-chocolate/?portfolioID=1201>.

Bestmalz. (2015). "BEST Munich." Retrieved 14.12, 2015, from <http://www.bestmalz.de/en/malts/best-munich/?portfolioID=1193>.

Bestmalz. (2015). "Best Pale Ale." Retrieved 14.12, 2015, from <http://www.bestmalz.de/en/malts/best-pale-ale/?portfolioID=1193>.

Bestmalz. (2015). "BEST Pilsen." Retrieved 14.12, 2015, from <http://www.bestmalz.de/en/malts/best-pilsen-malt/?portfolioID=1193>.

Bestmalz. (2015). "BEST Wheat Malt." Retrieved 14.12, 2015, from <http://www.bestmalz.de/en/malts/best-wheat-malt/?portfolioID=1195>.

Bolin, Y. S. and M. Hallgren (2013). Gluten i maltdrycker, Livsmedelverket.

Kilder

Dennis E. Briggs, C. A. B., Peter A. Brooks and Roger Stevens (2011). Brewing Science and practice, Woodhead Publishing Limited.

Ditlefsen, A. and (2009). Amylopektin. Store Norske Leksikon. Store Norske Leksikon.

Dong, L., Y. Hou, F. Li, Y. Piao, X. Zhang, X. Zhang, C. Li and C. Zhao (2015).

"Characterization of volatile aroma compounds in different brewing barley cultivars." J Sci Food Agric **95**(5): 915-921.

Fermentis Safale US-05. <http://www.fermentis.com/brewing/homebrewing/product-range/>, Fermentis.

GmbH, C. W. (2015). EBC - Colour Measurement.

Guyot-Declerck, C., N. François, C. Ritter, B. Govaerts and S. Collin (2005). "Influence of pH and ageing on beer organoleptic properties. A sensory analysis based on AEDA data." Food Quality and Preference **16**(2): 157-162.

Inc, E. (2015). "Gas Chromatography Mass Spectrometry, GC-MS Analysis." from <http://www.eag.com/mc/gas-chromatography-mass-spectrometry.html>.

Kobayashi, M., H. Shimizu and S. Shioya (2008). "Beer volatile compounds and their application to low-malt beer fermentation." J Biosci Bioeng **106**(4): 317-323.

Lawless, H. T. and H. Heymann (2010). Sensory Evaluation of Food, Principles and Practices, Springer.

Lea, T. (2015). "Celiac disease " Undervisning - MVI 292.

Livsmedelverket (2005). Gluteninnhåll i de øl som analyserats vid Livsmedelverket.

Lu Shan, Ø. M., Isabella Parrot, Felix Haush, Ferda Filiz, Gary M. Gray, Ludvig M. Sollid, Chaitan Khosala (2002). "Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue." [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org).

Mattilsynet. (2013). "Reglene for glutenfrie produkter." Retrieved 13.12, 2015, from [http://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/spesialmat\\_og\\_kosttilskudd/glutenfrie\\_produkter/reglene\\_for\\_glutenfrie\\_produkter.3016](http://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/spesialmat_og_kosttilskudd/glutenfrie_produkter/reglene_for_glutenfrie_produkter.3016).

Kilder

Narvhus, J. A., K. Osteraas, T. Mutukumira and R. K. Abrahamsen (1998). "Production of fermented milk using a malty compound-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, isolated from Zimbabwean naturally fermented milk." International Journal of Food Microbiology **41**(1): 73-80.

NorskCøliakiforening. "Glutenfritt øl." from <http://www.ncf.no/cda/StoryPg.aspx?id=2840&Version=1&Language=1044>.

PetitAgenturAS. (2015). "beerzym ALFA-BETA Brewferm 100 ml." from <http://shop.petit-agentur.no/products/beerzym-alfa-beta-brewferm-100-ml2>.

Pires, E. J., J. A. Teixeira, T. Branyik and A. A. Vicente (2014). "Yeast: the soul of beer's aroma- a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast." Appl Microbiol Biotechnol **98**(5): 1937-1949.

Qi, J. C., J. X. Chen, J. M. Wang, F. B. Wu, L. P. Cao and G. P. Zhang (2005). "Protein and hordein fraction content in barley seeds as affected by sowing date and their relations to malting quality." J Zhejiang Univ Sci B **6**(11): 1069-1075.

R-Biopharm. "RIDASCREEN® Gliadin competitive." from <http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis/allergens/gliadin-gluten/item/ridascreen-gliadin-competitive>.

Ruth, J. H. (1986). "Odor Tresholds and Irritation Levels of Several Chemical Substances: A Review."

Saerens, S. M., F. Delvaux, K. J. Verstrepen, P. Van Dijck, J. M. Thevelein and F. R. Delvaux (2008). "Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation." Appl Environ Microbiol **74**(2): 454-461.

Sakamoto, K. and W. N. Konings (2003). "Beer spoilage bacteria and hop resistance." International Journal of Food Microbiology **89**(2-3): 105-124.

Sigma-Aldrich (2015). Ingredients Catalog: Flavoe & Fragrances. Sigma-Aldrich.

Tanner, G. J., M. J. Blundell, M. L. Colgrave and C. A. Howitt (2013). "Quantification of Hordeins by ELISA: the correct standard makes a magnitude of difference." PLoS One **8**(2): e56456.

Tanner, G. J., M. J. Blundell, M. L. Colgrave and C. A. Howitt (2015). "Creation of the first ultra-low gluten barley (*Hordeum vulgare* L.) for coeliac and gluten-intolerant populations." Plant Biotechnol J.

Uggerud, E. and (2009). amylose. Store Norske Leksikon.

Verstrepen, K. J., G. Derdelinckx, J.-P. Dufour, J. Winderickx, J. M. Thevelein, I. S. Pretorius and F. R. Delvaux (2003). "Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer." Journal of Bioscience and Bioengineering **96**(2): 110-118.

Vriesekoop, F., M. Krahl, B. Hucker and G. Menz (2012). "125th Anniversary Review: Bacteria in brewing: The good, the bad and the ugly." Journal of the Institute of Brewing **118**(4): 335-345.

Ø, N. (2015). "Nøgne Ø -The Beers." from <http://www.nogne-o.com/beers.html>.

Øystrå, Ø. (2013). Øl. Store Norske Leksikon. SNL.no.

## Vedlegg 1

Øl	Alkohol % (v/v)	Densiy (g/cm2)	original plato	co2 (g/l)	EA	ER	ADF	colour value	Haze value	pH
100 -1	0,94	1,00692	3,90	3,42	2,04	2,42	47,73	46,51	197,57	5,03
100 - 3	0,81	1,01	3,74	3,05	2,15	2,46	42,58	35,01	150,21	4,49
100 - 2	0,63	1,01	3,42	3,85	2,17	2,42	36,38	72,68		4,91
gj.snitt	0,793333333	1,007236667	3,68666667	3,44	2,12	2,43	42,23	51,40	115,93	4,81
st.avvik	0	0,581619793	0,24440404	0,40037482	0,07	0,02	5,68	19,31	139,70	0,28
99 -1	1,67	1,01005	5,98	4,377	2,78	3,40	53,56	22,45	77,78	3,97
99-2	1,81	1,00859	5,96	4,095	2,42	3,11	59,33	34,64	120,92	3,97
99-3	1,99	1,00567	5,58	4,118	1,67	2,43	69,98	36,42	140,45	3,90
gj.snitt	1,823333333	1,008103333	5,84	4,19666667	2,29	2,98	60,9566667	31,17	113,05	3,94666667
st.avvik	0,160416126	0,002230187	0,22538855	0,15659608	0,56630381	0,49789557	8,32998399	7,604005523	32,06766128	0,04041452
97,5-1	2,35	1,00505	6,16	3,79	1,53	2,42	74,95	34,01	126,66	3,78
97,5-2	2,59	1,00534	6,62	4,347	1,57	2,55	76,25	29,61	92,27	3,72
97,5-3	2,36	1,00589	6,38	3,4	1,78	2,67	72,15	28,35	96,13	3,88
gj.snitt	2,433333333	1,005426667	6,38666667	3,84566667	1,62666667	2,54666667	74,45	30,65666667	105,02	3,79333333
st.avvik	0,135769412	0,000426654	0,23007245	0,47594783	0,13428825	0,12503333	2,09523268	2,971621331	18,83990711	0,08082904
95-1	3,87	1,01435	11,19	3,569	3,92	5,33	64,97	13,25	8,71	3,73
95-2	4,38	1,01184	11,52	3,695	3,27	4,87	71,58	11,07	3,99	3,65
95-3	3,77	1,01057	10,08	4,063	2,93	4,41	79,97	9,57	2,37	3,65
gj.snitt	4,006666667	1,012253333	10,93	3,77566667	3,37333333	4,87	72,1733333	11,29666667	5,023333333	3,67666667
st.avvik	0,327159492	0,001923599	0,75438717	0,25668918	0,50302419	0,46	7,51758161	1,850441389	3,29389334	0,04618802
b-1	5,96	1,0055	12,8	4,063	1,63	3,77	87,33	9,47	6,04	4
b-2	6,45	1,00552	13,36	4,574	1,59	3,9	88,34	10,15	6,08	3,97
b-3	6,74	1,00584	14,22	4,269	1,69	4,09	88,1	8,01	2,19	3,96
gj.snitt	6,383333333	1,00562	13,46	4,302	1,63666667	3,92	87,9233333	9,21	4,77	3,97666667
st.avvik	0,394250343	0,000190788	0,71526219	0,25709337	0,05033223	0,16093477	0,52766782	1,093434955	2,234435052	0,02081666

Vedlegg 2

ELISA rådata

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,005	1,97	1,72	0,88	1,825	0,456	0	0	0	0	0	0
B	1,55	1,409	1,689	0,291	1,821	0,415	0	0	0	0	0	0
C	1,027	1,121	1,468	0,364	1,482	0,594	0	0	0	0	0	0
D	0,702	0,809	1,506	0,392	1,403	1,794	0	0	0	0	0	0
E	0,36	0,379	0,004	1,547	1,762	1,845	0	0	0	0	0	0
F	2,017	2,079	0,454	1,79	1,207	1,615	0	0	0	0	0	0
G	1,97	2,024	0,921	1,818	1,405	1,627	0	0	0	0	0	0
H	2,004	1,5	0,876	1,651	1,394	1,569	0	0	0	0	0	0

Vedlegg 3

File Name	Sample Id	Acetaldehyde	Acetone	Dimethylsulfide	2-methyl-propanal	1-propanol	Diacetyl	2-butanone	2-butanol
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\111115-005.dat	100-3-EM-1	16,812	0,642	0,003	0,034	6,985	0,543	0,009	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\111115-006.dat	100-3-EM-2	13,773	0,547	0,002	0,018	4,147	0,481	0,022	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\111115-011.dat	100-2-EM-1	3,038	0,462	0,004	0,014	3,799	n.d	0,023	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\111115-012.dat	100-2-EM-2	2,541	0,449	0,006	0,016	3,716	n.d	0,013	0,047
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-005.dat	100-1-EM-2	1,024	0,418	0,004	n.d	4,572	n.d	n.d	0,034
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-012.dat	100-1-EM-1	1,042	0,415	0,005	n.d	4,157	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-008.dat	99-3-EM-1	7,652	0,514	0,014	0,005	7,057	0,000 BDL	0,017	0,041
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-010.dat	99-2-EM-1	8,085	0,557	0,022	0,008	6,618	0,267	0,012	0,569
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-011.dat	99-3-EM-2	7,113	0,48	0,021	0,006	6,466	0,254	0,021	0,566
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\191115-1014.dat	99-1-EM-4	9,889	0,363	0,001	0,01	6,158	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\191115-1017.dat	99-1-EM-3	10,022	0,337	0,002	0,01	6,256	n.d	n.d	0,026
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-003.dat	99-2-2-EM-2	8,774	0,626	0,014	0,009	6,284	0,002	0,008	0,089
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-009.dat	97-2-2-EM-2	9,909	0,582	0,01	0,01	9,829	0,069	0,009	0,023
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-012.dat	97-2-3-EM-1	2,71	0,482	0,006	n.d	9,549	n.d	n.d	0,032
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-003.dat	97-2-1-EM-2	4,49	0,39	0,004	n.d	8,235	n.d	0,008	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-004.dat	97-2-1-EM-1	4,419	0,414	0,004	n.d	8,258	n.d	0,009	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-004.dat	97-2-2-EM-1	9,393	0,552	0,009	0,008	9,852	0,007	0,008	0,028
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\131115-005.dat	97-2-3-EM-2	2,621	0,44	0,006	n.d	9,067	0,06	0,009	0,06
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-009.dat	95-1-EM-2	10,14	0,376	0,01	0,013	15,158	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\191115-1018.dat	95-1-EM-3	16,552	0,579	0,004	0,021	15,757	0,292	0,009	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\111115-004.dat	95-2-EM-2	11,123	0,443	0,004	n.d	15,641	n.d	0,011	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\191115-1016.dat	95-3-EM-3	11,07	0,441	0,005	0,011	12,424	0,068	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\191115-1015.dat	95-3-EM-4	10,897	0,445	0,003	0,011	12,099	0,032	0,017	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-002.dat	B-3-EM-1	3,244	0,226	0,029	n.d	35,422	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-006.dat	B-3-EM-2	3,423	0,212	0,026	n.d	36,089	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-008.dat	B-1-EM-1	2,683	0,227	0,045	n.d	30,458	n.d	n.d	0,025
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\121115-011.dat	B-1-EM-2	2,789	0,236	0,043	n.d	29,793	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\111115-008.dat	B-2-EM-1	3,018	0,257	0,013	n.d	34,320	n.d	0,009	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\111115-002.dat	B-2-EM-1	2,755	0,358	0,019	n.d	32,773	n.d	0,008	n.d





File Name	Sample Id	Ethylacetate	2-methyl-1-propanol	3-methyl-butanol	2-methyl-butanol	2,3-pentadiene	Acetoin	3-methyl-1-butanol	2-methyl-1butanol
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-11115-005.dat	100-3-EM-1	2,517	27,772	0,010	0,007	0,318	3,192	23,251	7,864
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-11115-006.dat	100-3-EM-2	0,474	11,566	0,004	0,004	0,196	3,074	4,639	4,417
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-11115-011.dat	100-2-EM-1	0,422	7,786	0,004	0,003	n.d.	0,636	4,856	3,204
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-11115-012.dat	100-2-EM-2	0,433	7,784	0,003	n.d.	n.d.	2,038	4,875	3,234
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-005.dat	100-1-EM-2	0,764	5,066	0,001	n.d.	n.d.	n.d.	5,702	1,891
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-012.dat	100-1-EM-1	0,795	4,824	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,499	1,858
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-008.dat	99-3-EM-1	2,351	23,173	0,005	n.d.	n.d.	n.d.	24,958	6,86
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-010.dat	99-2-EM-1	1,726	20,688	0,002	n.d.	n.d.	n.d.	21,014	5,881
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-011.dat	99-3-EM-2	2,218	22,248	0,006	n.d.	n.d.	n.d.	24,053	6,641
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-19115-1014.dat	99-1-EM-4	1,65	17,77	0,006	n.d.	n.d.	n.d.	16,165	4,729
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-19115-1017.dat	99-1-EM-3	1,669	18,162	0,007	0,004	n.d.	n.d.	16,532	4,835
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-003.dat	99-2-2-EM-2	2,085	20,226	0,006	0,003	n.d.	n.d.	20,623	5,877
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-009.dat	97-2-2-EM-2	3,278	36,343	0,007	n.d.	n.d.	n.d.	30,688	8,425
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-012.dat	97-2-3-EM-1	2,996	30,373	0,003	n.d.	n.d.	n.d.	23,45	6,928
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-003.dat	97-2-1-EM-2	3,043	36,775	0,004	0,001	0,011	n.d.	29,604	8,158
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-004.dat	97-2-1-EM-1	3,179	37,592	0,004	0,001	n.d.	n.d.	30,107	8,239
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-004.dat	97-2-2-EM-1	3,185	35,889	0,005	0,002	n.d.	n.d.	30,421	8,39
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-13115-005.dat	97-2-3-EM-2	2,882	29,605	0,004	n.d.	n.d.	n.d.	22,855	6,791
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-009.dat	95-1-EM-2	6,181	83,645	0,012	0,002	n.d.	n.d.	69,707	15,278
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-19115-1018.dat	95-1-EM-3	5,128	85,041	0,018	n.d.	n.d.	n.d.	70,95	15,681
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-11115-004.dat	95-2-EM-2	8,271	74,255	0,013	0,003	0,018	n.d.	73,531	17,336
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-19115-1016.dat	95-3-EM-3	5,71	67,751	0,013	0,005	n.d.	n.d.	60,775	14,989
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-19115-1015.dat	95-3-EM-4	5,307	65,571	0,013	0,005	n.d.	n.d.	59	14,503
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-002.dat	B-3-EM-1	26,578	41,449	0,009	n.d.	n.d.	1,074	56,472	15,918
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-006.dat	B-3-EM-2	26,208	41,75	0,009	n.d.	n.d.	n.d.	56,813	16,125
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-008.dat	B-1-EM-1	22,391	35,058	0,009	0,004	0,018	n.d.	49,495	14,042
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-12115-011.dat	B-1-EM-2	22,31	34,566	0,008	0,004	n.d.	2,201	48,99	13,75
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-11115-008.dat	B-2-EM-1	20,475	34,025	0,009	n.d.	n.d.	n.d.	50,162	13,861
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\1-11115-002.dat	B-2-EM-1	21,311	33,332	0,007	n.d.	n.d.	0,576	48,930	13,755

File Name	Sample Id	Isobutyl acetate	Hexanal	isoamyl acetate	Ethyl hexanoate	3-carene	R-(+)-limonene	Ethyl heptanoate
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-111115-005.dat	100-3-EM-1	0,006	0,008	0,022	0,024	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-111115-006.dat	100-3-EM-2	0,005	0,008	0,009	0,010	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-111115-011.dat	100-2-EM-1	0,012	0,008	0,005	0,008	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-111115-012.dat	100-2-EM-2	0,008	0,006	0,005	0,007	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-005.dat	100-1-EM-2	0,016	0,014	0,012	0,013	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-012.dat	100-1-EM-1	0,015	0,014	0,012	0,015	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-008.dat	99-3-EM-1	0,006	0,011	0,016	0,042	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-010.dat	99-2-EM-1	0,008	0,069	0,009	0,031	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-011.dat	99-3-EM-2	0,009	0,064	0,015	0,041	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-191115-1014.dat	99-1-EM-4	0,006	0,016	0,007	0,026	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-191115-1017.dat	99-1-EM-3	0,006	0,017	0,007	0,027	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-003.dat	99-2-2-EM-2	0,007	0,025	0,014	0,044	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-009.dat	97-2-2-EM-2	0,006	0,007	0,013	0,049	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-012.dat	97-2-3-EM-1	0,007	0,016	0,017	0,049	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-003.dat	97-2-1-EM-2	0,005	0,01	0,014	0,042	n.d	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-004.dat	97-2-1-EM-1	0,005	0,012	0,015	0,043	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-004.dat	97-2-2-EM-1	0,006	0,019	0,014	0,051	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-131115-005.dat	97-2-3-EM-2	0,006	0,016	0,017	0,047	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-009.dat	95-1-EM-2	0,012	0,009	0,047	0,064	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-191115-1018.dat	95-1-EM-3	0,011	0,008	0,035	0,049	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-111115-004.dat	95-2-EM-2	0,012	0,005	0,055	0,060	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-191115-1016.dat	95-3-EM-3	0,009	0,006	0,041	0,054	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-191115-1015.dat	95-3-EM-4	0,009	n.d	0,035	0,048	0,001	n.d	n.d
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-002.dat	B-3-EM-1	0,047	0,004	0,911	0,126	n.d	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-006.dat	B-3-EM-2	0,045	0,003	0,889	0,122	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-008.dat	B-1-EM-1	0,031	0,005	0,726	0,121	n.d	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-121115-011.dat	B-1-EM-2	0,031	0,005	0,716	0,122	0,001	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-111115-008.dat	B-2-EM-1	0,022	0,005	0,514	0,084	n.d	n.d	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\01-111115-002.dat	B-2-EM-1	0,024	0,005	0,556	0,089	0,001	n.d	n.d

File Name	Sample Id	Phenylethyl alcohol	Ethyl octanoate	Beta-citronellol	Ethyl nonanoate	Ethyl decanoate
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-111115-005.dat	100-3-EM-1	6,117	0,002	0,006	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-111115-006.dat	100-3-EM-2	1,897	0,001	0,006	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-111115-011.dat	100-2-EM-1	2,430	0,001	0,023	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-111115-012.dat	100-2-EM-2	2,618	0,001	0,011	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-005.dat	100-1-EM-2	1,632	0,002	0,009	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-012.dat	100-1-EM-1	1,938	0,002	0,009	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-008.dat	99-3-EM-1	6,31	0,01	0,006	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-010.dat	99-2-EM-1	5,228	0,005	0,02	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-011.dat	99-3-EM-2	5,717	0,01	0,011	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-191115-1014.dat	99-1-EM-4	4,562	0,004	0,011	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-191115-1017.dat	99-1-EM-3	4,511	0,004	0,007	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-003.dat	99-2-2-EM-2	5,42	0,006	n.d.	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-009.dat	97-2-2-EM-2	8,849	0,006	0,011	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-012.dat	97-2-3-EM-1	5,248	0,009	0,013	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-003.dat	97-2-1-EM-2	7,155	0,007	0,008	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-004.dat	97-2-1-EM-1	7,059	0,007	0,007	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-004.dat	97-2-2-EM-1	8,704	0,006	n.d.	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-131115-005.dat	97-2-3-EM-2	4,304	0,009	0,011	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-009.dat	95-1-EM-2	29,752	0,005	0,012	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-191115-1018.dat	95-1-EM-3	28,318	0,007	0,014	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-111115-004.dat	95-2-EM-2	18,548	0,007	0,004	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-191115-1016.dat	95-3-EM-3	17,693	0,006	0,008	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-191115-1015.dat	95-3-EM-4	16,379	0,005	0,01	n.d.	n.d.
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-002.dat	B-3-EM-1	50,88	0,032	0,011	0,001	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-006.dat	B-3-EM-2	51,746	0,035	0,009	0,002	0,001
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-008.dat	B-1-EM-1	37,72	0,045	0,006	0,003	0,002
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-121115-011.dat	B-1-EM-2	36	0,05	0,009	0,002	0,002
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-111115-008.dat	B-2-EM-1	40,763	0,035	0,009	0,003	0,002
C:\Enterprise\Projects\headspace\Result\101-111115-002.dat	B-2-EM-1	35,904	0,026	0,011	0,002	n.d.

## Vedlegg 4

Alder:

Kjønn:

Dato:

Smak ølene fra venstre til høyre.

Skyll munnen for hver smak.

Smak kun en gang pr servering.

Marker i tabellen hvilken øl som var ulik de to andre.

Alle øl settene har 2 like øl og en ulik.

NR	Venstre	Midtre	Høyre
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			

NR	Venstre	Midtre	Høyre
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			

## Vedlegg 5

Alder: \_\_\_\_\_ Kjønn: \_\_\_\_\_ Drikket du vanligvis øl?: \_\_\_\_\_ Øl nr 1 \_\_\_\_\_

Ølen skal beskrives med egne ord i feltene under i stikkordsform.

Beskriv ølen først, og svar på spørsmålene til slutt.

Smak på ølen på samme måte du vanligvis drikker øl.

En slurk skal svelges for en best mulig smaksopplevelse.

Ta tiden du trenger.

Smak		Farge

Munnfølelse

--

Kryss av om du ville kjøpt denne ølen om:

Andre alternativer til lik pris

Dyrrere enn andre alternativer

Billigere enn andre alternativer

Som eneste alternativ






Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)