



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

**Masteroppgave 2023 30 stp**

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

## **Brygging av surøl med ulike sidestrømmer fra meieriindustrien**

Brewing of sour beer with different side streams  
from dairy industry

Ingrid Voilås

Matvitenskap – Produksjon og utvikling av næringsmidler



## Forord

Denne oppgaven ble skrevet i forbindelse med avslutningen av et femårig studie i matvitenskap og ernæring, retning produksjon og utvikling av næringsmidler ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet. Oppgaven ble skrevet som et samarbeid mellom forskningsgruppen SciFood på KBM og TINE SA. Bryggingen i forbindelse med oppgaven ble utført i bryggeriet i pilotanlegget på fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap. Øvrig laboratoriearbeid ble gjennomført på laben på fakultetet.

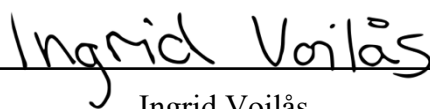
Jeg vil rette en stor takk til min hovedveileder Anne-Grethe Johansen for å være en utømmelig kilde til kunnskap og for å alltid være åpen for store og små spørsmål, både rundt det faglige og livet ellers. Takk for at du har hatt troen på prosjektet hele veien, og at du ville bli med på reisen. Jeg vil også rette en stor takk til biveileder Kim Marius Moe for gode innspill rundt det bryggetekniske og god opplæring i bryggeriet. Foruten vil jeg takke Kari og May for god hjelp med analyser og gode samtaler på laben, og Ola og Marius i pilotanlegget for hjelpen jeg har fått der. Jeg vil også si takk til deltagerne i det sensoriske panelet, og alle øltørste medstudenter som møtte opp på aksept-testen.

Tusen takk til TINE SA for leveranser av melkeråstoff og økonomisk støtte til oppgaven. Uten bidrag av melkeråstoff ville det ikke blitt noe surøl.

Det blir ingen masteroppgave uten et solid nettverk rundt seg, og jeg vil derfor rette en stor takk til mine klassevenninner for gode (lange) lunsjpauser. Dere har gjort det til en lek å komme seg på lesesalen. Sist, men ikke minst vil jeg takke Albert og jentene på loftet for å alltid stille opp og være der når det trengs som mest. Og ikke minst mor, må aldri glemme mor.

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Ås, mai 2023



---

Ingrid Voilås



## Sammendrag

Med en økende produksjon av meieriprodukter, øker også volumet av sidestrømmer som fremstillingen av disse produktene fører med seg. Produksjon av cottage cheese og yoghurt danner en sidestrøm av sur myse som inneholder laktose og myseprotein, i tillegg til at den har et høyt innhold av melkesyre, kalsium og andre mineraler. Ultrafiltrering av melk fører med seg en sidestrøm av melkepermeat som i hovedsak består av laktose og mineraler. Søt ostemyse kan også ultrafiltreres for å ta ut verdifulle myseproteiner. Sidestrømmen av ultrafiltrering av myse blir mysepermeat som inneholder laktose, mineraler og noe melkesyre. Av både økonomiske og miljømessige årsaker er det ønskelig å utnytte disse sidestrømmene best mulig. Hensikten med denne studien var å undersøke hvordan sur myse, melkepermeat og mysepermeat egnet seg til brygging av surøl ved at deler av meskevannet ble byttet ut med melkeråstoff.

Det ble brygget surøl med de tre ulike melkeråstoffene, i tillegg til at det ble brygget en kontroll der sukkerinnholdet fra laktose var erstattet med samme mengde sukrose. Fermenteringen ble gjort ved bruk av gjæren *Saccharomyces cerevisiae* og melkesyrebakterien *Lactobacillus plantarum*. Sammensetningen av melkeråstoffene ble analysert ved kjemiske metoder for å finne ut hvordan variasjoner i sammensetning av melkeråstoff påvirket surølet. Vørter og ferdig produkt ble analysert for å se hvilke sukkerarter som hadde blitt fermentert. I ferdig produkt ble det gjort analyser av flyktige forbindelser, organiske syrer og alkoholprosent. Det ble også gjennomført en sensorisk profilering for å kartlegge smaksprofil for hvert surøl, samt en aksept-test med forbrukere.

Resultatene viste at sur myse bidro med mer melkesyre, protein og mineraler til meskevannet enn det melkepermeat og mysepermeat gjorde, noe som førte til mye påbrenninger på bryggeutstyr og mye bunnfall i vørteren. Smaksprofilen på surøl med melkepermeat og surøl med mysepermeat ble ganske lik, noe som tyder på at melkesyren som er til stede i mysepermeat ikke er av særlig betydning til et slikt formål. Surøl med sur myse fikk et svært høyt innhold av melkesyre, som resulterte i en syrlig smak i surølet. Aksept-testen viste at surøl med mysepermeat ble best likt blant de fire variantene og at kontroll-surølet ble minst likt. Det viser at melkepermeat og mysepermeat har potensiale innen surøl. Sur myse vil derimot kreve ytterligere behandling før den har potensiale i ølbrygging, sett i et industrielt perspektiv.



## Abstract

With an increasing production of dairy products, the volume of co-streams that the production of these products entails also increases. Production of cottage cheese and yoghurt forms a side stream of acid whey which contains lactose and whey protein, in addition to a high content of lactic acid, calcium and other minerals. Ultrafiltration of milk forms a side stream of milk permeate which mainly consists of lactose and minerals. Sweet cheese whey can also be ultrafiltered to extract valuable whey proteins. The side stream from ultrafiltration of whey becomes whey permeate which contains lactose, minerals and some lactic acid. For both economic and environmental reasons, it is desirable to utilize these side streams in the best way possible. The aim of this study was to investigate how acid whey, milk permeate and whey permeate were suitable for brewing sour beer by replacing parts of the mash water with milk raw material.

Sour beer was brewed with these three different milk raw materials, in addition to a control being brewed in which the sugar content from lactose was substituted with the same amount of sucrose. The fermentation was done using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum*. The composition of the milk raw materials was analyzed by using chemical methods to find out how variations in the composition of milk raw materials affected the sour beer. Wort and finished product were analyzed to see which sugars had been fermented. The finished product was analyzed for volatile compounds, organic acids and alcohol percentage. Sensory profiling was also carried out to map the taste profile for each sour beer, as well as an acceptance test with consumers.

The results showed that acid whey contributed with more lactic acid, protein and minerals to the mash water than milk permeate and whey permeate did, which led to a lot of fouling on brewing equipment and a lot of precipitations in the wort. The flavor profile of sour beer with milk permeate and sour beer with whey permeate was quite similar, which suggests that the lactic acid present in whey permeate is not particularly important for such a purpose. Sour beer with sour whey had a very high content of lactic acid, which resulted in a very sour taste in the sour beer. The acceptance test showed that sour beer with whey permeate was the best liked among the four variants and that the control sour beer was the least liked. It shows that milk permeate and whey permeate have potential in sour beer. Acid whey, on the other hand, will require further treatment before it has potential in beer brewing, seen in an industrial perspective.





# Innholdsfortegnelse

Forord .....	I
Sammendrag .....	III
Abstract.....	V
1. Innledning .....	1
1.1 Hensikten med oppgaven .....	2
2. Teori.....	3
2.1 Myse.....	3
2.1.1 Membranfiltrering.....	5
2.1.2 Melkepermeat .....	7
2.1.3 Dagens bruksområder og miljø.....	8
2.1.4 Alternative bruksområder .....	9
2.2 Øl.....	10
2.2.1 Ingredienser i øl .....	10
2.2.2 Bryggeprosessen .....	12
2.2.3 Smakskomponenter i øl .....	15
2.2.4 Surøl.....	17
2.2.5 Øl på meieriråstoffer.....	20
2.3 Sensorisk analyse .....	21
3. Materialer og metoder.....	23
3.1 Forsøksdesign.....	23
3.2 Bryggingen.....	25
3.2.1 Flytskjema for bryggingen.....	25
3.2.2 Resept for bryggingen.....	26
3.2.3 Prøvebrygging.....	27
3.2.4 Hovedforsøk.....	28
3.3 Analyser .....	30
3.3.1 Laktose- og proteininnhold.....	30
3.3.2 pH.....	31
3.3.3 °Brix.....	31

3.3.4	Karbohydrater .....	31
3.3.5	Flyktige forbindelser.....	32
3.3.6	Organiske syrer og karbohydrater.....	33
3.3.7	Aske i melkeråstoff.....	34
3.3.8	Total nitrogen og protein i melkeråstoff.....	35
3.3.9	Kalsiuminnhold i melkeråstoff .....	35
3.3.10	Analyse av modnet produkt.....	36
3.3.11	Tørrstoff.....	36
3.3.12	Sammensetning av meskevann til brygging .....	36
3.4	Sensorikk .....	37
3.4.1	Sensorisk profilering.....	37
3.4.2	Aksept-test .....	40
3.5	Resultatbehandling og statistisk analyse.....	40
4.	Resultater .....	41
4.1	Sammensetning av melkeråstoff .....	41
4.2	Bryggerresultater .....	45
4.3	Produkt .....	49
4.3.1	Sensorisk profilering.....	53
4.3.2	Aksept-test .....	54
5.	Diskusjon .....	57
5.1	Kvalitet og sammensetning av melkeråstoff.....	57
5.2	Observasjoner under brygging .....	59
5.3	Smaksprofil på surøl.....	61
5.4	Valg av gjær og melkesyrebakterie.....	64
5.5	Oppsummering .....	68
6.	Til ettertanke og videre forskning.....	70
7.	Referanser .....	71
8.	Vedlegg.....	i

## 1. Innledning

Kumelk er utgangspunkt for produksjon av svært mange forskjellige meieriprodukter. Gjennom tidene er det stort sett melkefettet som har hatt den største verdien i melkeråstoffet, men i løpet av de siste tiårene har dette begynt å endre seg (Menchik et al., 2019). Meieriprodukter med høyere innhold av protein har en stadig økende interesse, og verdien av proteiner er nå ansett som større enn verdien av melkefett. Årsaken til det er at proteiner fra melk har funksjonelle egenskaper som gjør at det kan benyttes i en rekke ulike produkter. Det kan blant annet brukes til å lage geler, emulsjoner og øke viskositet, og brukes i kjøttprodukter, bakverk, sauser, is krem og andre meieriprodukter. I tillegg har de høy ernæringsmessig kvalitet, og inneholder alle de essensielle aminosyrene. Mange av de proteinkonsentrerte produktene inneholder også lite fett, ofte ned mot 0,1% eller mindre. Eksempler på slike produkter er proteinkonsentrert melk, greske yoghurttyper og cottage cheese (Menchik et al., 2019).

I takt med større interesse øker også produksjonen av meieriprodukter med høyt proteininnhold, og det kommer selvsagt ikke uten en ulempe. For å fremstille et meieriprodukt med høyere proteininnhold kan enten ikke-protein komponenter fjernes, eller produktet kan berikes med proteinholdige ingredienser, fortrinnsvis melkeprotein. Felles for begge metoder er at det blir et overskudd av vann og andre vannløselige komponenter igjen. Slike vannløselige komponenter er i hovedsak laktose og mineraler, og de fjernes som myse eller permeat. Jo mer forbruket av proteinrike meieriprodukter øker, desto større mengder myse og permeat blir til overs (Menchik et al., 2019).

I 2011 ble det årlig produsert rundt 190 millioner tonn myse per år globalt (Baldasso et al., 2011). Så store kvantum gjør det vanskelig for industrien å få utnyttet alt. Myse består av 4,5% til 5% laktose, og grunnet høyt innhold av laktose er det også en utfordring å bli kvitt overskuddet. I dag blir noe av mysen tørket eller benyttet i andre produkter, men store deler blir også brukt til dyrefôr. Dyrene nyter godt av det, men ressursene kunne vært utnyttet bedre. Det er heller ikke særlig økonomisk lønnsomt å benytte et melkeråstoff av høy kvalitet til dyrefôr. På grunn av det høye innholdet av laktose i myse og permeat, kan de ikke bare sendes rett i avløpet. Myse og melkepermeat har høyt kjemisk og biologisk oksygenforbruk, som vil si at det krever mye oksygen for å bryte det ned i naturen. Det er derfor interessant og viktig å finne bedre måter å utnytte hele melkeråstoffet på.

Øl er en alkoholholdig drikk som tradisjonelt fremstilles av malt, vann, humle og gjær. Opprinnelig har malt blitt fremstilt av bygg, men også andre kornslag som for eksempel hvete blir brukt. Andre kilder til karbohydrater kan også brukes, så lenge de inneholder karbohydrater som kan omdannes til fermenterbart sukker. I maltet finnes det flere ulike enzymer, og de to viktigste er  $\alpha$ -amylase og  $\beta$ -amylase. Under meskingen bryter  $\alpha$ -amylase ned stivelse til dekstriner som  $\beta$ -amylase bryter ytterligere ned fermenterbare sukker. Under fermenteringen omdanner gjæren sukkeret til etanol og karbondioksid. Før ble humle tilsatt i øl på grunn av sine antibakterielle egenskaper, men i moderne tid brukes det for å tilføre bitterstoffer og aroma (Pires and Brányik, 2015c).

Surøl er en bred kategori innen øl med stor variasjon innen fremstillingsmåte og smaksprofil, og rommer alt fra lett og lys Berliner Weisse til kraftig og spontanfermentert Lambic (Bossaert et al., 2019). Likevel er det noen fellesnevnerer å finne blant sortene av surøl. De har alle en syrlig smak og har høyere innhold av organiske syrer, oftest melkesyre eller eddiksyre. Dermed har de også en lavere pH enn andre ølsorter. Vanligvis produseres surøl ved å bruke en kombinasjon av gjær og melkesyrebakterier i fermenteringen (Bossaert et al., 2019). Melkesyrebakterier kan fermentere laktose, og det er grunnen til at permeat som er rikt på laktose muligens kan brukes i produksjonen av surøl.

### 1.1 Hensikten med oppgaven

Hensikten med denne oppgaven var å brygge surøl der deler av meskevannet ble byttet ut med ulike laktoseholdige overskuddsråstoffer fra meieriindustrien. Det var ønskelig å se på hvordan kvaliteten på melkeråstoffet påvirket smakprofilen på surølet. Målet var også å se om, og hvordan melkeråstoffet ble omsatt under fermenteringen, med fokus på laktose. Tre typer melkeråstoff ble brukt i bryggingen. Det ble brukt sur myse fra ysting av cottage cheese, permeat fra konsentrering av melk ved bruk av ultrafiltrering, og retentat fra nanofiltrering av mysepermeat, der mysepermeatet stammet fra ultrafiltrering av søt ostemyse. I tillegg ble det brygget en kontroll med sukrose til sammenlikning. Det var også ønskelig å finne ut om melkeråstoffene kunne brukes som de er, eller om det trengs annen forbehandling før de egner seg i surøl.

## 2. Teori

### 2.1 Myse

Myse er en gulgrønn væske som i hovedsak består av løselige komponenter fra melka. Slike komponenter er laktose, myseproteiner, løselige salter og mineraler, og diverse andre komponenter i mindre mengder. Det finnes både søt og sur myse, og de stammer fra produksjon av ulike meieriprodukter. Sød myse er et restråstoff fra produksjon av løpekoagulerte oster som for eksempel gouda og cheddar (Zotta et al., 2020). Sur myse er et restråstoff fra produksjon av syrekoagulerte oster som cottage cheese og ricotta, samt produksjon av gresk yoghurt (Rocha-Mendoza et al., 2021). Tall fra 2011 viste at det årlig ble produsert rundt 190 millioner tonn myse per år globalt (Baldasso et al., 2011), og på grunn av økende konsum av ost og andre meieriprodukter er kvantumet enda større i dag.

Sød myse har vanligvis en pH-verdi mellom 5,9 til 6,4 (Bansal and Bhandari, 2016). Ved produksjon av løpekoagulerte oster tilsettes løpe til melka for at den skal koagulere. Løpe består i hovedsak av enzymet chymosin. Chymosin hydrolyserer  $\kappa$ -kasein slik at det spaltes av, og kaseinet destabiliseres slik at det dannes et gelnettverk (Britten and Giroux, 2022). Når gelnettverket skjæres dannes det ostemasse, og sød myse skilles ut. For produksjon av 1 kg ost produseres det rundt 9 liter sød myse.

Sur myse har vanligvis en pH-verdi rundt 4,5-4,7 (Bansal and Bhandari, 2016, Ryan and Walsh, 2016). Produksjon av syrekoagulerte oster foregår ved at pH i melken senkes, og det kan gjøres på to måter. Det kan enten gjøres ved tilsetning av syre direkte til melken, eksempelvis melkesyre eller eddiksyre. Det andre alternativet er å tilsette melkesyrebakterier som produserer melkesyre og dermed senker pH i melken, eksempelvis ved bruk av *Lactobacillus* spp. (Ryan and Walsh, 2016). Når pH i melk senkes, senkes også ladningen til  $\kappa$ -kasein, som fører til at ladningen på kaseinmicellene nøytraliseres og kaseinet aggregerer med seg selv. Det dannes en syregel, og sur myse presses ut fra gelnettverket (Lucey, 2016). Ved produksjon av yoghurt varmebehandles ofte melken ved en temperatur over 70°C før syrningen, for å denaturere myseproteinene slik at de også blir en del av gelnettverket (Lucey, 2016). Det gjør at sammensetningen av sur myse avhenger av om det er ost eller yoghurt som blir produsert. For hver kg gresk yoghurt som produseres, produseres det rundt 3 kg sur myse (Bansal and Bhandari, 2016).

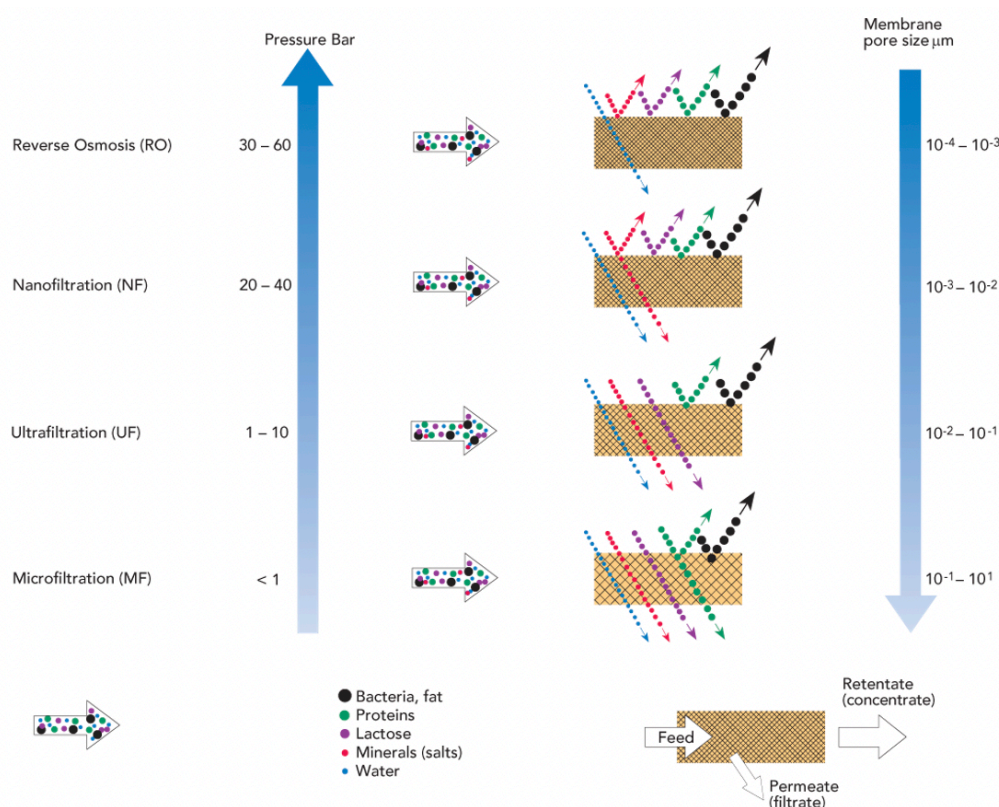
Felles for søt og sur myse er at begge typer inneholder rundt 93% vann (Ryan and Walsh, 2016). Foruten forskjell i pH er det også andre forskjeller mellom søt og sur myse. Söt myse inneholder rundt 4,6 til 5,2% laktose, mens sur myse inneholder rundt 4,4 til 4,7% laktose. Forskjellen skyldes at større deler av laktosen er omdannet til melkesyre av melkesyrebakteriene i sur myse, noe som også fører til høyere innhold av melkesyre i sur myse enn i søt myse (Bansal and Bhandari, 2016, Smith et al., 2016). Sur myse har også et lavere innhold av proteiner enn søt myse. I søt myse er det ca. 6,5 g/L protein, og sur myse ligger litt lavere med ca. 6,1 g/L protein (Bansal and Bhandari, 2016). Sur myse fra yoghurtproduksjon har et lavere innhold av protein enn sur myse fra osteproduksjon, siden myseproteinene er inkorporert i gelnettverket i yoghurt. Innholdet av mineraler er generelt høyere i sur myse enn i søt myse, siden løpelling fører til dannelse av kalsiumkaseinat som binder kalsiumet til ostemassen (Wong et al., 1978). Ved syrefelling dannes det mer ionisert kalsium som fører til at kalsium følger med mysen (Wong et al., 1978). I hovedsak er det kalsium, kalium, natrium og magnesium som finnes i myse (Ryan and Walsh, 2016). Disse forskjellene fører til variasjon i både sensoriske, ernæringsmessige og teknologiske egenskaper, og dermed varierer også bruksområdene for de ulike typene (Menchik et al., 2019).

Det er stor etterspørsel etter meieriprodukter med høyt proteininnhold. Før var det melkefett som var den høyest verdsatte komponenten i melk, men fra siste del av 1900-tallet har proteiner tatt over denne rollen (Hardham, 1998, Beucler et al., 2005). I dag blir gjerne verdien på melk verdsatt ut fra innhold av både fett og protein (Fox et al., 2015). Det har ført til økende produksjon av meieriprodukter med høyt proteininnhold som cottage cheese og gresk yoghurt, noe som også fører til større kvantum av myse. Myse inneholder litt myseproteiner, og det er proteiner av høy kvalitet som er høyt verdsatt. Grunnen til det er at myseproteiner har høy næringsverdi og inneholder alle de essensielle aminosyrene som kroppen trenger (Bansal and Bhandari, 2016). Foruten høy næringsverdi har myseproteiner også mange funksjonelle egenskaper som gjør at de kan benyttes i en lang rekke produkter. De brukes blant annet i iskrem, kaker, sauser, kjøttprodukter og bakevarer (Ryan and Walsh, 2016). De kan også brukes for å danne geler, lage emulsjoner, øke viskositet, forbedre farge og gi bruning ved maillardreaksjoner (Fox et al., 2015). Myseproteiner har med andre ord mange bruksområder og er derfor svært ettertraktede. Siden myse også inneholder mye vann og laktose kan membranfiltrering benyttes for å oppkonsentrere myseproteinene. På den måten kan myseproteinene utnyttes best mulig og få høyere verdi. Ved bruk av ulik behandling kan det produseres tre ulike typer myseproteinpulvere; myseproteinkonsentrat, myseproteinisolat og

mysehydrolysat. Myseproteinkonsentrat inneholder mellom 35 til 80% myseprotein, mens myseproteinisolat inneholder over 90% myseprotein og er tilnærmet fritt for laktose og fett. Mysehydrolysat produseres ved enzymatisk hydrolyse av myseproteinkonsentrat eller myseproteinisolat (Ryan and Walsh, 2016).

### 2.1.1 Membranfiltrering

Membranfiltrering er en metode som er mye brukt i meieriindustrien for å konsentrere og separere væsker. På grunn av melkens sammensetning av komponenter med ulik størrelse er membranfiltrering en god metode for å separere ulike komponenter i ulike strømmer. Prinsippet bak membranfiltrering er at en væske føres over en semipermeabel membran under trykk, som fører til at molekyler som er små nok kan passere gjennom membranen, mens molekyler som er større enn porene i membranen ikke kan passere. Væsken separeres da i to ulike strømmer. Retentat er det som oppkonsentreres, og ikke kan passere over membranen. Permeat er strømmen av det som har passert gjennom membranen, og er vanligvis det som ønskes fjernet fra den opprinnelige væsken. Ved å tilpasse størrelsen på porene i membranen og trykket kan det reguleres hva som passerer over membranen og ikke (Kumar et al., 2013). Figur 1 viser en oversikt over de viktigste forskjellene på ulike typer membranfiltrering som er vanlig å bruke i meieriindustrien; mikrofiltrering (MF), ultrafiltrering (UF), nanofiltrering (NF) og revers osmose (RO).



**Figur 1.** Oversikt over ulike typer membranfiltrering som er vanlig å bruke i meieriindustrien. Mikrofiltrering skjer ved trykk på mindre enn 1 bar og porestørrelse på 0,1 til 10 µm. Ultrafiltrering skjer ved trykk på 1 til 10 bar og porestørrelse på 0,01 til 0,1 µm. Nanofiltrering skjer ved trykk på 20 til 40 bar og porestørrelse på  $10^{-3}$  til  $10^{-2}$  µm. Revers osmose skjer ved trykk på 30 til 60 bar og porestørrelse på  $10^{-4}$  til  $10^{-3}$  µm. Figuren er hentet fra (Bylund, 1995b).

Membranfiltrering er en skånsom metode for melkebehandling, da den ikke krever spesielt høy temperatur på væsken som skal behandles. På den måten unngås blant annet denaturering av proteiner og store sensoriske endringer i produktet. For oppkonsentrering av melk er metoden også energibesparende siden den krever mindre energi til oppvarming (Kumar et al., 2013).

Mikrofiltrering brukes i hovedsak for å fjerne bakterier fra skummet melk, myse og lake. I noen tilfeller brukes det også til å fjerne fett fra myse til produksjon av myseproteinkonsentrat. I mikrofiltrering brukes en membran med porestørrelse på 0,1 til 10 µm og et trykk på mindre enn 1 bar (Bylund, 1995b). Ultrafiltrering brukes for å oppkonsentrere proteiner i melk og myse, og til standardisering av proteininnhold i melk til blant annet ysting og yoghurtproduksjon. Porestørrelsen som brukes til ultrafiltrering er mellom 0,01 til 0,1 µm (Bylund, 1995b). Det vil si at laktose, mineraler og vann vil passere over membranen og bli permeat, mens proteiner og



eventuelt fett vil bli igjen i retentatet. Trykket som brukes til ultrafiltrering er 1 til 10 bar (Bylund, 1995b). Nanofiltrering kan brukes for å fjerne vann og mineraler fra en væske, mens laktose og proteiner oppkonsentreres. Størrelsen på porene i en membran til nanofiltrering er  $10^{-3}$  til  $10^{-2}$   $\mu\text{m}$  store. Trykket som brukes er 20 til 40 bar (Bylund, 1995b). Nanofiltrering kan også brukes for å konsentrere permeat fra ultrafiltrering ved å fjerne vann og mineraler. Det vil da dannes et retentat som i hovedsak inneholder laktose, vann og mindre mengder av protein. Revers osmose brukes for å oppkonsentrere en løsning ved å fjerne vann og små molekyler med lav vekt. Metoden krever svært høy trykk på 30 til 60 bar, og det benyttes en veldig tett membran på  $10^{-4}$  til  $10^{-3}$   $\mu\text{m}$  (Bylund, 1995b). I dagens meieriindustri brukes blant annet revers osmose for å konsentrere myse ved å fjerne vann, slik at retentatet kan benyttes til dyrefôr. Revers osmose kan også brukes til å fjerne mineraler fra en væske. I denne studien var ultrafiltrering brukt for å fremskaffe melkepermeat og mysepermeat. Ved bruk av nanofiltrering var mysepermeat fra ultrafiltrering konsentrert.

### 2.1.2 Melkepermeat

Grunnet høy etterspørsel etter meieriprodukter med høyere proteininnhold blir også behovet for å øke proteininnholdet i melk høyere. Vanligvis er det ultrafiltrering som benyttes til oppkonsentrering av melk, siden det lar vann, laktose og mineraler passere slik at innholdet av protein i melken øker. Ultrafiltrering av melk brukes blant annet til produksjon av proteinkonsentrert melk, eller ved forkonsentrering av melk til produksjon av yoghurt eller kesam. Det kan også brukes til å oppkonsentrere melk før tørking av blant annet melkepulverkonsentrat. Ved å benytte membranfiltrering bevares sammensetningen og næringsverdien av protein, i tillegg til at sensoriske egenskaper opprettholdes (Kumar et al., 2013). Det gir en proteinkonsentrert melk med høyere kvalitet, både sensorisk og ernæringsmessig. Ved produksjon av melkeproteinkonsentrat eller melkeproteinisolat behandles ofte melk med ultrafiltrering før tørking.

Permeat fra ultrafiltrering av myse og melk består i hovedsak av vann, laktose og mineraler. Melkepermeat blir ansett å ha høyere kvalitet enn mysepermeat (Bylund, 1995b). Under ysting tilsettes melken både syre og løpe, mens ved filtrering av melk blir ikke melken tilsatt noen ting (Bylund, 1995b). Mysepermeat har også flere steg i fremstillingsprosessen, og inneholder melkesyre på grunn syreproduksjon i forbindelse med ysting (Bylund, 2023b). Melkepermeat har vanligvis en pH rundt 6,4 til 6,6 (Kalab et al., 1991, Smith et al., 2016), som er litt høyere

enn pH i mysepermeat. Tabell 1 viser en oversikt over omtrentlig innhold av ulike komponenter i søt myse, sur myse, søt mysepermeat og melkepermeat.

**Tabell 1.** Omtrentlig sammensetning og pH i søt myse, sur myse, søt mysepermeat og melkepermeat (g/L myse).

<i>Komponent</i>	<i>Søt myse</i>	<i>Sur myse</i>	<i>Søt mysepermeat</i>	<i>Melkepermeat</i>
<i>pH</i>	5,9-6,4 <sup>1</sup>	4,5-4,7 <sup>1,2</sup>	6,2-6,5 <sup>3,5</sup>	6,4-6,6 <sup>3,4</sup>
<i>Tørrstoff (g/L)</i>	63,0-70,0 <sup>1</sup>	63,0-70,0 <sup>1</sup>	48,7 <sup>5</sup>	50,3-55,3 <sup>4</sup>
<i>Laktose (g/L)</i>	46,0-52,0 <sup>1</sup>	44,0-47,0 <sup>1,6</sup>	49,0 <sup>6</sup>	45,0-47,0 <sup>4</sup>
<i>Total protein (g/L)</i>	6,5-6,6 <sup>1</sup>	6,1-6,2 <sup>1</sup>	1,2-2,3 <sup>5</sup>	2,3-4,3 <sup>4</sup>
<i>Melkefett (g/L)</i>	0,2-0,5 <sup>1</sup>	0,3 <sup>1</sup>	<0,1 <sup>6</sup>	<0,1 <sup>7</sup>
<i>Mineraler (aske) (g/L)</i>	5,0-5,2 <sup>1,6</sup>	7,5-7,9 <sup>1</sup>	5,0 <sup>6</sup>	-
<i>Kalsium (g/L)</i>	0,4-0,6 <sup>1</sup>	1,2-1,6 <sup>1</sup>	0,5 <sup>3</sup>	0,4 <sup>3</sup>
<i>Fosfat (g/L)</i>	0,5-1,0 <sup>1</sup>	2,0 <sup>1</sup>	-	-
<i>Melkesyre (g/L)</i>	1,4-2,0 <sup>1,6</sup>	6,4 <sup>1</sup>	1,4 <sup>6</sup>	0,5-0,8 <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bansal and Bhandari (2016); <sup>2</sup>Ryan and Walsh (2016); <sup>3</sup>Smith et al. (2016); <sup>4</sup>Kalab et al. (1991); <sup>5</sup>Barile et al. (2009); <sup>6</sup>Hargrove et al. (1976); <sup>7</sup>Menchik et al. (2019)

### 2.1.3 Dagens bruksområder og miljø

I likhet med myse er det også svært store kvantum av permeat til overs etter membranfiltrering av melk og myse. På grunn av det høye innholdet av laktose og mineraler i myse og permeat er det vanskelig å kvitte seg med disse restråstoffene. I dag tørkes deler av det til pulver, mens andre deler blir behandlet med revers osmose for å fjerne vann. Vannet kan da sendes i avløpet, mens konsentratet kan benyttes til dyrefôr. Det resulterer i bruk av mye energi for å lage et produkt av ganske lav verdi. Før det ble klart hvor høy kvalitet og verdi myseproteiner har ble myse og permeat sett på som avfall. Industrien fant den billigste måten å kvitte seg med mysen på, og det var å spre den ut over landarealer som gjødsel, dumpe den i innsjøer, sjøer eller elver. Store kvantum ble også brukt til dyrefôr (Smithers, 2008). Å bruke myse og permeat som dyrefôr er ikke nødvendigvis en negativ ting, men det finnes måter å bruke ressursene på slik at de får en høyere verdi.

Det er en stor påkjenning for miljøet dersom myse og permeat blir sluppet ut i naturen. Biologisk- og kjemisk oksygenforbruk for myse og permeat er høyt. Biologisk oksygenforbruk er mengden oksygen som trengs for at mikroorganismer skal bryte ned et organisk materiale. Kjemisk oksygenforbruk er mengden oksygen som trengs for at et materiale skal bli oksidert i naturen, og innebærer både biologisk og ikke-biologisk materiale. Søt myse fra ysting har et biologisk oksygenforbruk på 27 til 60 g/L, og et kjemisk oksygenforbruk på 50 til 70 g/L (Zotta et al., 2020). Høyere laktoseinnhold fører også til høyere oksygenforbruk. På grunn av dette kan myse og permeat gjøre skader i naturen. Det påvirker liv både på land og i vann, og er spesielt skadelig for fisk og planter. Høyt innhold av mineraler i myse og permeat kan skade jordsmonnet og vegetasjon. I tillegg kan det føre til dårlig lukt (Ryan and Walsh, 2016).

I dag finnes det strenge regler for dumping av ubehandlet myse og permeat. Reglene begynte å tre i kraft for rundt 40 år siden, og tvang meieriindustrien til å tenke nytt og finne nye bruksområder for myse og permeat. Det førte også til at industrien skjønnte hvor stor verdi myseproteiner har. Myse gikk fra å være et bi-produkt til å bli et tilleggs-produkt.

Permeat kan blant annet tørkes til pulver ved at det behandles med revers osmose, inndampes og eventuelt krystalliseres før det spraytørkes. Ved å forbehandle permeat på den måten brukes kun 10 til 15% av energien sammenliknet med å spraytørke permeat uten forbehandling (Bylund, 2023a). Pulveret kan brukes til blant annet bakverk, kjøtt og kryddermiks i stedet for rent laktosepulver på grunn av det høye innholdet av laktose. Fordelen med å tørke permeat til pulver er at transportkostnader blir lavere, og produktet får økt holdbarhet (Ryan and Walsh, 2016). Deler av permeatet brukes fremdeles til dyrefôr, men det jobbes stadig med å finne nye bruksområder som øker verdien på permeat.

#### 2.1.4 Alternative bruksområder

Permeat fra melk og myse kan blant annet brukes til produksjon av bioetanol. I dag produseres det bioetanol på blant annet mais, men det krever høy varmebehandling for å bryte ned cellulose til fermenterbart sukker. For permeat trengs det ikke høy varmebehandling i forkant. I tillegg kan permeat benyttes fremfor å bruke mais, som heller kan brukes til matproduksjon (Ryan and Walsh, 2016). Produksjon av etanol fra mysepermeat gjøres allerede i blant annet Irland, Danmark og New Zealand. Metodene varierer, men de har noen fellesnevner. Etter at myseproteinene er filtrert ut av mysen kan mysepermeatet fermenteres til etanol ved bruk av ulike gjærarter som fermenterer laktose. Typiske gjærarter som brukes er *Kluyveromyces*

*marxianus*, *Kluyveromyces fragilis* og bakterien *Streptococcus fragilis* (Ryan and Walsh, 2016). Etter fermenteringen må blandingen destilleres for å fraksjonere ut etanol. I noen tilfeller behandles permeatet med revers osmose før fermenteringen for å øke konsentrasjonen av laktose, og dermed effektiviteten av fermenteringen. Å bruke mysepermeat på denne måten er en ypperlig måte å kvitte seg med et biprodukt på, men per dags dato er det ikke lønnsomt siden det er billigere å produsere mais eller sukkerør. Etanol produsert fra fermentering av myse og permeat kan brukes til for eksempel brensel, legemiddelindustri, kosmetikk, industrielle løsninger som blekk, og som nytelsesmiddel (Ryan and Walsh, 2016). Hvis overskudd av melkeråstoffer kan brukes til å produsere industriell etanol, bør det også kunne brukes til å produsere nytelsesmidler til humant konsum.

## 2.2 Øl

Øl er en fermentert, alkoholholdig drikk med lange tradisjoner. Første gang konsum av øl ble beskrevet var rundt år 2800 f.Kr, men mye tyder på at ølet har sin opprinnelse lenge før den tid. I dag finnes øl i mange varianter og med store variasjoner, men slik har det ikke alltid vært. I 1516 ble det innført en såkalt «renhetslov» i Tyskland, som tilsa at øl bare skulle inneholde malt, humle og vann. Gjærens rolle i øl ble ikke oppdaget før lenge etter 1516. Denne loven har blitt endret over tid, og er i dag mer enn tradisjon enn en faktisk lov. I Tyskland er det flere bryggerier som fremdeles brygger etter loven, selv om den ikke er gjeldende lenger. Andre bryggerier har derimot begynt å stille spørsmål til lovens verdi i et mer globalisert marked, der øl forhandles på tvers av landegrenser. Konsumentpreferanser blant yngre generasjoner har sett ut til å endre seg i senere tid, og flere bryggerier har derfor beveget seg bort fra renhetsloven for å dekke et større marked (Eble and de Vries, 2018).

### 2.2.1 Ingredienser i øl

I tradisjonelt øl er det malt som er kilden til fermenterbart sukker. I hovedsak benyttes bygg til produksjon av malt, men også andre kornslag kan brukes, for eksempel hvete. Malt fremstilles ved at kornet bløtlegges slik at germineringen starter. Under germineringen vil enzymene i kornet aktiveres slik at det starter en nedbrytning av stivelse- og proteinlagre i kornet. Når kornet har spiret nok til at enzymene er aktivert, blir kornet tørket. Hvor kraftig maltet tørkes avgjør hvilken type malt som produseres. Malt som er forsiktig tørket på lav temperatur blir det som kalles pilsnermalt, og det gir mye enzymatisk aktivitet i meskingen. Ved kraftigere tørking

på høyere temperatur reduseres den enzymatiske aktiviteten, men maltet vil da tilføre mer smak og farge til ølet (Pires and Brányik, 2015c).

Vannkvaliteten som brukes i ølbrygging kan være med å påvirke resultatet på ølet, både kjemisk og mikrobiologisk. Mange bryggerier har derfor sin egen vannkilde for å ha kontroll på kvaliteten, og sikre at vannet ikke er kilden til spolert øl (Pires and Brányik, 2015c). Mineralene fra vannet spiller også en viktig rolle for smaksprofilen på ølet (Montanari et al., 2009). Noen bryggerier tilsetter eller fjerner mineraler fra vannet før brygging for å sikre at bryggeresultatet blir så likt som mulig hver gang. I denne studien ble det brukt kommunalt springvann fra Ås sin vannkilde i Oppegård.

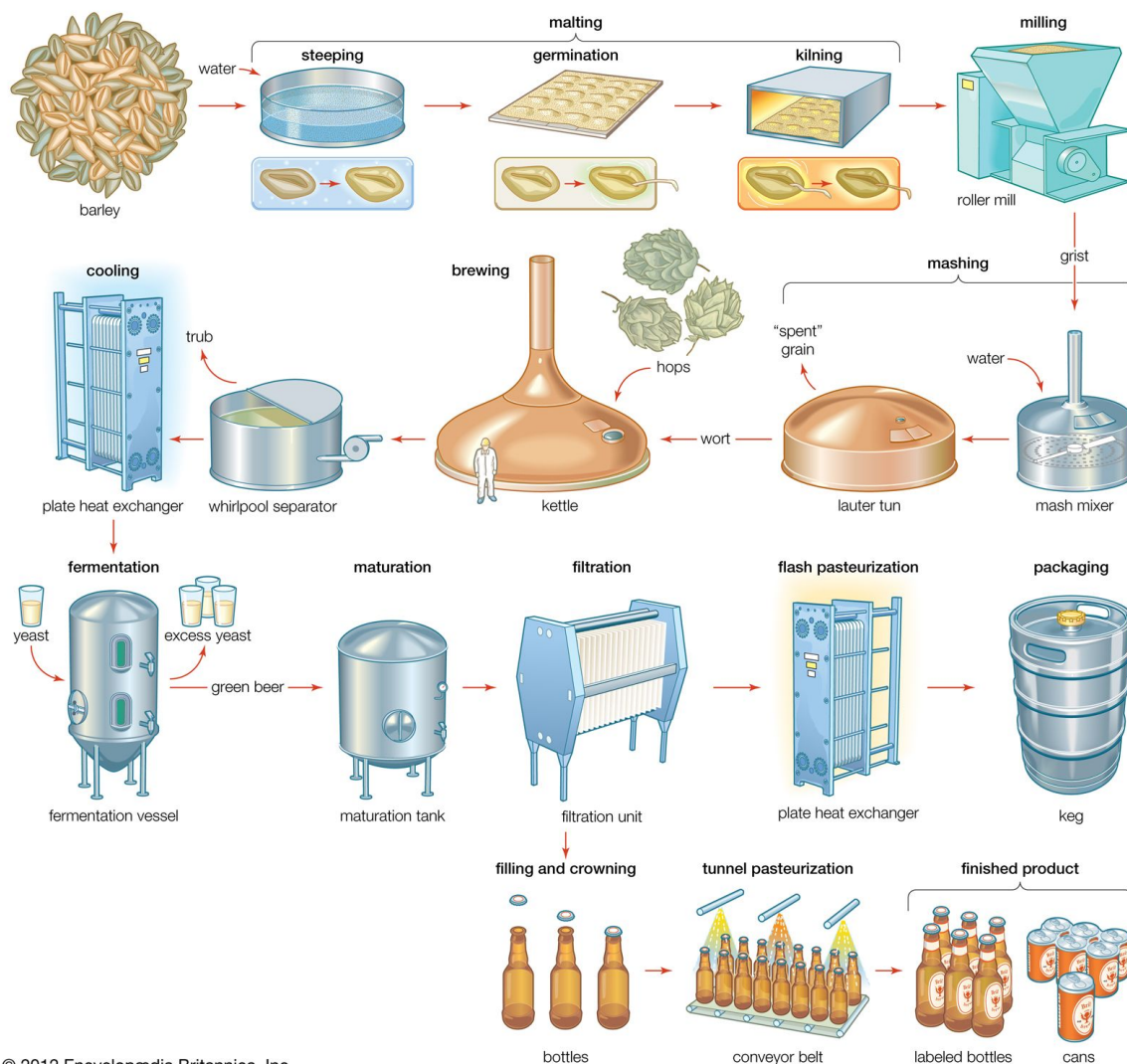
Opprinnelig ble humle brukt i øl på grunn av sine antibakterielle egenskaper, siden humlen tilfører iso- $\alpha$ -syrer under vørterkoking (Sakamoto and Konings, 2003). I dag brukes humle i hovedsak for å tilføre aroma og bitterstoffer til ølet. Det er blomsten fra hunnplanten av *Humulus lupulus* som brukes, og det finnes flere ulike sorter med ulikt innhold av  $\alpha$ -syrer. Noen slag tilfører mest bitterstoffer på grunn av  $\alpha$ -syrer, mens andre i hovedsak bidrar med aromastoffer fra essensielle oljer. Ved å tilsette humle tidlig i vørterkokingen tilføres mest bitterstoffer, og dersom humle tilsettes mot slutten av vørterkokingen tilføres det mer aroma. Årsaken til det er at  $\alpha$ -syrer omdannes ved isomerisering til mer løselige iso- $\alpha$ -syrer under vørterkokingen, og det tilfører bitterstoffer til vørteren. Grunnet god løselighet på iso- $\alpha$ -syrer blir de værende i vørteren gjennom vørterkokingen. Aromakomponenter som tilføres fra humle er i hovedsak flyktige komponenter og  $\beta$ -syrer. De fordamper lettere, og bør derfor tilsettes mot slutten av vørterkokingen for å ikke forsvinne ut av vørteren (Sakamoto and Konings, 2003). I dag brukes for det meste humle i form av pellets, da det gir bedre holdbarhet på humlen (Pires and Brányik, 2015c).

Øl kan deles inn i to hovedgrupper; Ale og Lager. Hovedforskjellen mellom de to gruppene er hvilken gjær som brukes i fermenteringen. *Saccharomyces cerevisiae* er den aller mest brukte gjærtypen innen brygging, og brukes for å lage ale-typer øl. Fermenteringen skjer vanligvis rundt 18°C til 25°C. Til produksjon av lager-typer øl brukes en gjær som kalles *Saccharomyces pastorianus*. Fermenteringen skjer da rundt 7°C til 15°C. Lengden på fermenteringen avhenger av ølets alkoholstyrke og gjærtype, og tar vanligvis fra et par dager til noen uker. Lager-typer trenger generelt lenger tid på fermentering enn Ale-typer (Pires and Brányik, 2015a, Stewart,

2016). Tilstedeværelse av andre typer mikroorganismer i tradisjonelt øl blir sett på som kontaminering, men kan derimot være ønskede i andre øltyper som for eksempel surøl (Bokulich and Bamforth, 2013). Eksempler på slike mikroorganismer er melkesyrebakterier, eddiksyrebakterier og gjær av typen *Brettanomyces* (Bossart et al., 2019).

## 2.2.2 Bryggeprosessen

Ølbrygging er en sammensatt prosess som består av flere steg. Først må bygg gjennom en maltingsprosess for å aktivere enzymer. Deretter blir knust malt mesket med vann. Masken fjernes og vørteren tilsettes humle og kokes, før den avkjøles og tilsettes gjær for fermentering. Til slutt pakkes ølet på passende emballasje. En skjematisk oversikt over bryggeprosessen fra korn til ferdig øl er vist i figur 2.



**Figur 2.** Skjematisk fremstilling av bryggeprosessen fra bygg, gjennom malting, mesking, vørterkoking, fermentering og pakking. Figuren er hentet fra Young (2023).

Før kornet som skal benyttes til ølbrygging kan brukes må det gjennom en maltingsprosess. Malting foregår ved at kornet bløtlegges slik at det begynner å spire, og deretter tørkes. Bløtlegging gjøres ved at kornet legges i vann i 2 til 3 dager, og vendes med jevne mellomrom for å fukte kornet. Temperatur under bløtlegging og spiring er ofte rundt 12°C til 18°C. Etter bløtlegging holdes kornet fuktig i 3 til 5 dager slik at det begynner å spire. Da aktiveres enzymene i kornet slik at nedbrytning av stivelsen starter, og spiren på kornet begynner å vokse. Under spiringen må kornet vendes med jevne mellomrom for å unngå at spirene vokser inn i hverandre. Når spiren har vokst til ca. 3/4 til 7/8 av kornets lengde er kornet rikt på enzymer, og stivelsen i kornet har fått god tilgjengelighet. Spiringen stoppes ved at kornet tørkes. Temperatur og tid på tørkingen avhenger av hvilken type malt som skal produseres. Vanlig pilsnermalt tørkes ved en temperatur rundt 70°C i 2 til 3 timer. Da bevares den enzymatiske aktiviteten godt. Mørkere malttyper tørkes på høyere temperatur, og mister derfor mye eller all enzymatisk aktivitet. Under tørking skjer det ikke-enzymatiske bruningsreaksjoner, også kalt maillardreaksjoner, mellom aminosyrer og sukker i maltet, og det bidrar til utvikling av farge og aroma på det ferdige ølet (Briggs et al., 2004a, Adams et al., 2016). Det gir også maltet god holdbarhet og stabilitet, og gjør at det lettere kan fraktes over lange avstander (Briggs et al., 2004b, Pires and Brányik, 2015c).

Brygging av øl foregår ved at det først produseres en vørter som deretter fermenteres. Først knuses malt ved bruk av mølle, for å sørge for større kontaktflate mellom maltet og meskevannet. Maltet bør ikke knuses for fint, siden det kan føre til at maltet klistrer seg sammen og gir dårlig sirkulasjon under meskingen. Det kan også føre til uklar vørter. Gjennom mesking omdannes stivelse fra kornet til fermenterbart sukker. Mesking skjer ved at malt tilsettes i meskevannet og holdes ved bestemt temperatur over tid for at enzymene skal bryte ned stivelse til mindre karbohydrater. De viktigste enzymene i mesking er  $\alpha$ -amylase og  $\beta$ -amylase.  $\alpha$ -amylase bryter ned stivelse til mindre karbohydrater og dekstriner, og gjør stivelsen mer tilgjengelig for  $\beta$ -amylase ved å danne flere bindingssteder. Optimal temperatur for  $\alpha$ -amylase er i området mellom 72°C til 75°C.  $\beta$ -amylase bryter ned stivelse fra den ikke-reduserende enden, i tillegg til at den kan bryte ned dekstriner til maltose. Optimal temperatur for  $\beta$ -amylase er 60°C til 65°C (Pires and Brányik, 2015c). For å sikre at begge disse enzymene virker så godt som mulig, bør meskingen skje ved optimumstemperaturene deres. Mot slutten av mesketiden kan temperaturen økes til rundt 75°C til 80°C for å inaktivere enzymene (Pires and Brányik, 2015c).

Etter mesking fjernes masken fra meskeket. Masken skylles ofte med vann på 75°C til 80°C for å få med siste rest av fermenterbart sukker over i vørteren for å få et høyere utbytte. Vørteren består nå av fermenterbart sukker som glukose, maltose og maltotriose, i tillegg til mindre mengder av andre komponenter som proteiner og ikke-fermenterbare dekstriner (Pires and Brányik, 2015c).

Neste steg i prosessen er vørterkoking, som foregår ved at vørter varmes opp til kokepunktet og kokes i 30 til 120 minutter. Hensikten med vørterkoking er å sterilisere vørteren, inaktivere enzymer, felle ut proteinaggregater og fordampe bort vann og uønskede flyktige stoffer som for eksempel dimetylsulfid. Maillardreaksjonene fortsetter under vørterkokingen slik at det utvikles mer farge og aroma (Briggs et al., 2004a). Under vørterkokingen tilsettes også humle for å tilføre aroma og bitterstoffer i form av  $\alpha$ -syrer til ølet. Etter vørterkoking avkjøles vørteren og tilsettes luft, før den overføres til desinfisert gjæringskar og tilsettes gjær. Det settes gjærlås på gjæringskarene slik at fermenteringen skjer i et anaerobt miljø (Pires and Brányik, 2015c).

Hvor lenge fermenteringen foregår avhenger av hvilken type gjær som benyttes, mengde fermenterbart sukker i vørteren og temperaturen fermenteringen foregår ved. Under fermenteringen dannes det etanol, karbondioksid, høyere alkoholer, estere og andre flyktige aromakomponenter. Når fermenteringen er ferdig tappes ølet på flasker eller fat, slik at karbondioksid som produseres forblir oppløst i ølet. Det kan også tilsettes ekstra karboneringssukker ved flasking for å sikre riktig karbonering i det ferdige ølet. Alternativt kan kullsyre tilsettes direkte i ferdig fermentert øl (Pires and Brányik, 2015c). Dersom ølet skal tilsettes annen smak, som for eksempel frukt, bær eller krydder, tilsettes det ofte mot slutten av fermenteringen.

I løpet av det siste tiåret har det vært en global økning av antall mikrobryggerier, og selv i land der ølbrygging ikke har vært så utbredt tidligere har det blitt startet mikrobryggerier. På grunn av økt globalisering ser folk ut til å ha gått lei av industriell, masseprodusert øl og har derfor begynt å bli mer interessert i unike, spesielle øltyper av høy kvalitet fra mikrobryggerier (Villacreces et al., 2022). Trenden er spesielt utbredt blant yngre generasjoner. Et mindre bryggeri gir større mulighet til å eksperimentere med ingredienser i ølet. Mikrobryggerier bruker ulike typer malt, gjærstammer, humle, frukter, bær, kryddere og urter, og har mulighet til å eksperimentere mer enn det store industrielle ølprodusenter har. Et mindre bryggeri gjør det også enklere å eksperimentere med utstyr og teknikker, da investeringer i utstyr ikke er like



kostbare som i storskala. Forbrukere har ofte høyere betalingsvilje for øl som er produsert i småskala (Villacreces et al., 2022).

Blant dagens øldrikkere ser det ut til å ha oppstått en trend rundt alkoholfritt øl, eller øl med lavere alkoholinhold (Bellut et al., 2021). I dag drikkes øl mer for smaksopplevelsen sin skyld, enn for alkoholen sin skyld, noe som åpner opp for å eksperimentere mer med ulike smaksprofiler på øl (Salanță et al., 2020). Å tilsette juice eller pure av frukter og bær til øl har blitt spesielt populært de siste årene, spesielt innen surøl (Bellut et al., 2021).

### 2.2.3 Smakskomponenter i øl

Under brygging skjer det ulike prosesser som fører til dannelse av kjemiske smakskomponenter som påvirker smaksprofil i ferdig øl. Det er viktig med balanse mellom forbindelsene for at ølet skal bli velsmakende. Dersom enkelte forbindelser dominerer vil det ødelegge balansen og smaken på ølet (Pires et al., 2014). Tabell 2 viser en oversikt over noen flyktige komponenter i øl som påvirker smaksprofil.

**Tabell 2.** Flyktige komponenter i øl som påvirker smaksprofil. Sensorisk profil og terskelverdi for hver komponent (mg/L) er oppgitt i tabellen.

<b>Gruppe</b>	<b>Smakskomponent</b>	<b>Sensorisk profil</b>	<b>Terskelverdi (mg/L)</b>
<i>Estere</i>	<i>Isoamylacetat</i>	Banan <sup>1</sup>	1,2-2 <sup>1</sup>
	<i>Isobutylacetat</i>	Banan, søt <sup>2</sup>	1,6 <sup>2</sup>
	<i>Etylacetat</i>	Fruktig, løsemiddel <sup>1</sup>	25-30 <sup>1</sup>
<i>Høyere alkoholer</i>	<i>n-propanol</i>	Alkohol, søt <sup>1</sup>	600 <sup>1</sup>
	<i>2-metyl-1-propanol</i>	Løsemiddel <sup>1</sup>	100 <sup>1</sup>
	<i>2-metyl-1-butanol</i>	Alkohol, vin <sup>2</sup>	65 <sup>2</sup>
	<i>3-metyl-1-butanol</i>	Alkohol, banan <sup>1</sup>	50-65 <sup>1</sup>
<i>Organiske syrer</i>	<i>Melkesyre</i>	Syrlig, skarp, bitter <sup>4</sup>	400 <sup>3</sup>
	<i>Eddiksyre</i>	Sur <sup>5</sup> , eddik <sup>2</sup>	175 <sup>3</sup>
	<i>Sitronsyre</i>	Sur, sitronjuice <sup>4</sup>	350 <sup>3</sup>
<i>Andre</i>	<i>Acetaldehyd</i>	Eple, grønne blad, fruktig <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>
	<i>Dimethylsulfide</i>	Kokt kål, mais <sup>2</sup>	33000 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pires et al. (2014); <sup>2</sup>Yonezawa and Fushiki (2002); <sup>3</sup>Engan (1974); <sup>4</sup>Da Conceicao Neta et al. (2007)

Estere i øl forekommer i svært lav konsentrasjon, men er likevel med på å påvirke smaken på ølet i stor grad. Det skyldes at estere har lav terskelverdi for smak. Terskelverdi for smak er den laveste konsentrasjonen av stoffet som må være tilstede for at det skal påvirke smaken i ølet (Yonezawa and Fushiki, 2002). Estere tilfører fruktig smak til øl, men hvis konsentrasjonen blir for høy kan de påvirke smaken i ølet negativt. I hovedsak dannes estere under fermentering av vørter ved at det dannes acetyl-CoA ved oksidativ dekarboksylering av pyruvat. Acetyl-CoA blir enzymatisk esterifisert med en alkohol slik at det dannes en acetat-ester (Pires and Brányik, 2015b).

Høyere alkoholer er alkoholer med mer enn to karbonatomer i karbonkjeden, og er den gruppen av smakskomponenter i øl som utgjør mest av smaksprofilen. Under fermentering av vørter fjerner gjæren aminogruppen på aminosyrer for syntese av nye strukturer. Aminosyrene blir omdannet til  $\alpha$ -ketosyrer som inngår i en irreversibel reaksjon der høyere alkoholer dannes som biprodukt (Pires and Brányik, 2015b). Flere av de høyere alkoholene gir smak av alkohol i ølet, og noen av de gir fruktig eller søt smak også (Pires et al., 2014).

Organiske syrer oppstår under fermenteringsprosessen i øl, spesielt i sitronsyresyklusen. Hvilke organiske syrer som finnes i øl avhenger i stor grad av gjæren som brukes, og hvilke forhold fermenteringen skjer ved. Eddiksyre syntetiseres tidlig i fermenteringen, men brukes av gjæren under fermenteringen slik at innholdet av eddiksyre er lavere ved slutten av fermenteringen. Melkesyre dannes i hovedsak under den mest aktive delen av fermenteringen (Willaert, 2012). For høy konsentrasjon av organiske syrer kan gi syrlig smak på ølet, noe som ikke er ønsket i de fleste ølsorter. Unntaket er surøl, der organiske syrer er ønsket (Tonsmeire, 2014c).

Andre flyktige forbindelser som påvirker smak i øl er acetaldehyd og dimetylsulfid. Dimetylsulfid er en svovelforbindelse som stammer fra maltet. Den er varmelabil og vil som regel fordampe ut under maltingen eller under vørterkokingen. I de fleste ølsorter er dimetylsulfid en uønsket komponent ettersom den gir smak av kokt kål eller mais (Yonezawa and Fushiki, 2002). Acetaldehyd er også uønsket i de fleste ølsorter siden det har en gress-aktig smak. Komponenten dannes under fermenteringen, men mengden pleier å avta utover i modningen. Forhøyet innhold av acetaldehyd i øl kan skyldes for høy fermenteringstemperatur, dårlig kvalitet på gjæren eller at det er tilsatt for mye gjær (Briggs et al., 2004c).

Mineraler inngår som ikke-flyktige komponenter, og bidrar til å utvikle både smaksprofil og farge i øl. Rundt 75% av mineralene i øl kommer fra maltet, og rundt 25% kommer fra vannet som brukes (Montanari et al., 2009). Hvilke mineraler som finnes i maltet avhenger av dyrking, klima, høsting, lagring og malting. Kalsium bidrar i hovedsak med å senke pH i vørteren under vørterkoking, siden det reagerer med fosfat og protein fra maltet og feller ut. Fosfat og magnesium er viktige for at gjæren skal fungere optimalt under fermenteringen. Fosfat er spesielt viktig for at gjæren skal kunne danne ATP og cellestrukturer, og virker som en buffer mot endringer i pH. Hvor mye, og hvilke mineraler som er ønsket i øl varierer med hvilken type øl som brygges (Montanari et al., 2009).

#### 2.2.4 Surøl

Surøl er en gruppe innenfor øl med litt andre egenskaper enn mer tradisjonelle øltyper. Gruppen er stor, og har bred variasjon både innen smaksprofil og fremstillingsmetode. Surøl har en syrlig smak, som skyldes tilstedeværelse av organiske syrer. Dermed har surøl lavere pH enn andre ølsorter. Tilstedeværelse av syrer stammer ofte fra melkesyrebakterier eller andre syreproduserende mikroorganismer som for eksempel eddiksyrebakterier. Tonsmeire (2014c) definerer surøl som øl med en pH på 3,1 til 3,9. Vanligvis produseres surøl med en kombinasjon av gjær og melkesyrebakterier. Mikroorganismer som blir sett på som kontaminering i tradisjonelle øltyper er derimot ofte ønsket i surøl, og gir ølet en mer kompleks smak (Bossaert et al., 2019).

For rundt 9000 år siden ble surøl oppdaget, da øl i hovedsak kun bestod av vann og korn. Før humle ble brukt i øl var det ingen kontroll på hvilke mikroorganismer som stod for fermenteringen, noe som førte til at det meste av øl ble surt i løpet av få dager eller uker (Tonsmeire, 2014e). I løpet av det 19. århundre ble mer rene kulturer brukt til fermentering, noe som ga mer kontroll over bryggingsprosessen. Det førte til at lager-øltyper som for eksempel pilsner ble produsert i industriell skala, og forbruket av slike øltyper tok over for mer tradisjonelt surøl. Kun noen få typer surøl overlevde, og surøl ble sett på som et fattigmanns-øl som ble konsumert av bønder. Mot slutten av 1900-tallet snudde trenden, og interessen for spesialøl og surøl ble igjen økende. I dag er mange forbrukere villige til å betale mer for øl som er produsert på mer tradisjonelle måter da de ofte har en mer kompleks smak. Det fører til at ølet drikkes i mindre kvantum og til mer spesielle anledninger. De aller mest ettertraktede surøl-variantene er spontanfermenterte varianter (Tonsmeire, 2014e).

Melkesyrebakterier spiller en viktig rolle i produksjon av surøl, spesielt slekten *Lactobacillus* (Bossart et al., 2019). *Lactobacillus* er en slekt av gram-positive bakterier med stav- eller kokkform og de kan deles inn i homofermentative og heterofermentative. Homofermentative melkesyrebakterier produserer i hovedsak melkesyre via glykolysen når de fermenterer glukose. De heterofermentative melkesyrebakteriene produserer omtrent like mengder av melkesyre, karbondioksid og etanol eller eddiksyre fra glukose, og kan fermentere både via glykolysen og pentosefosfatveien (Adams et al., 2016, Vinderola et al., 2019). Det finnes også fakultativt heterofermentative melkesyrebakterier som i hovedsak produserer melkesyre via glykolysen, men som også kan danne mindre mengder karbondioksid og etanol eller eddiksyre. Ved produksjon av surøl gir *Lactobacillus* en rask senkning i pH, og en ren, syrlig smak med lite bismak. Flere ulike arter kan brukes til surøl, men de mest brukte er *Lactobacillus plantarum*, *Lb. brevis* og *Lb. delbrueckii* (Tonsmeire, 2014d, Bossart et al., 2019).

*Lactobacillus plantarum* er en fakultativ heterofermentativ, fakultativt anaerob melkesyrebakterie med stavform (Todorov and Franco, 2010, Vinderola et al., 2019). Den er mesofil, som vil si at den vokser mellom 15 og 45°C, og den kan fermentere glukose, maltose og sukrose, som alle er viktige sukkerer innen brygging (Todorov and Franco, 2010). I tillegg kan den fermentere laktose siden den har  $\beta$ -galaktosidaseaktivitet. Det gjør at *Lb. plantarum* kan spalte disakkaridet laktose til glukose og galaktose, og fermentere det (Vinderola et al., 2019). En studie gjort med *Lb. plantarum* i vin viste at veksten til *Lb. plantarum* begynte å avta ved rundt 8,0% etanol. Studien viste også nedgang i vekst ved pH under 4,0 (Succi et al., 2017).

Som nevnt tidligere brukes humle i øl fordi det tilfører iso- $\alpha$ -syrer med antibakterielle egenskaper til ølet. Iso- $\alpha$ -syrer er i hovedsak antibakterielle mot gram-positive bakterier, og grunnet det må mengden humle begrenses dersom det skal produserer surøl ved bruk av melkesyrebakterier (Sakamoto and Konings, 2003). Dersom innholdet av iso- $\alpha$ -syrer i vørteren blir for høyt vil melkesyrebakteriene dø, eller vokse svært dårlig.

Det finnes flere måter å produsere surøl på og den vanligste metoden er kjelesyrning (Bossart et al., 2019). Kjelesyrning vil si at vørter med lite eller ingen humle kokes opp raskt, for så å tempereres og fermenteres med melkesyrebakterier til ønsket surhet er oppnådd. Vanligvis er det snakk om 24-48 timer, og temperaturen avhenger av hvilken melkesyrebakterie som brukes. Når ønsket surhet er nådd kokes vørteren på nytt slik at syrningen stoppes, og da kan det tilsettes

mer humle for å tilføre aroma og bitterstoffer. Etter det siste koketrinnet fermenteres vørteren med gjær. Ved bruk av denne metoden unngås problemstillingen med at iso- $\alpha$ -syrer kan ta knekken på melkesyrebakteriene. På den andre siden kan smaksutviklingen bli begrenset siden melkesyrebakteriene inaktiveres før gjæren tilsettes. Det er også en god metode for å kunne gi melkesyrebakteriene optimale betingelser under fermentering, med tanke på temperatur og oksygenering. Kjelesyrning er en rask metode å produsere surøl på, men smaksprofilen kan bli noe begrenset. I tillegg fører denne metoden til at meskekaret er okkupert under syrningen, noe som vil gi dårligere kapasitet i en industriell skala (Bossaert et al., 2019). Bryggerier som også produserer ikke-surøl prøver ofte å unngå melkesyrebakterier i bryggekarene sine, da det kan være vanskelig å få bryggekarene helt rene mellom batcher. Melkesyrebakterier fra kjelesyrning kan da kontaminere den neste batchen med øl, og det er derfor best å holde melkesyrebakterier borte fra bryggekar til produksjon av ikke-surøl (Bossaert et al., 2019).

En annen metode som kan brukes for produksjon av surøl er samgjæring med gjær og melkesyrebakterier. Da produseres vørter på vanlig måte, og avkjølt vørter inokuleres med gjær og melkesyrebakterier før den fermenteres i syv til åtte uker. Ved bruk av denne metoden er det viktig å tilpasse forholdet mellom gjær og melkesyrebakterier slik at ikke den ene utrydder den andre. Betingelsene for fermenteringen må være et kompromiss mellom gjær og melkesyrebakterier, og kan ikke tilpasses på samme måte som det kan ved bruk av kjelesyrning. Problemstillingen med humlemengde er en utfordring ved denne metoden, men på den positive siden tilføres aldri melkesyrebakterier til bryggekar, og bryggekar okkuperes heller ikke i like lang tid. Ved bruk av denne metoden er melkesyrebakteriene aktive lenger, og kan være med på å utvikle ulike smaker og aromaer i ølet og gjøre ølet mer kompleks. (Bossaert et al., 2019).

Spontan fermentering er en tredje metode som kan benyttes til produksjon av surøl. Ved spontan fermentering tilsettes ingen mikroorganismer til vørteren direkte. Mikroorganismene som fermenterer ølet stammer fra miljøet til bryggeriet, og kan for eksempel overføres fra fatet som vørteren fermenteres i. Spontanfermentert øl har en særdeles kompleks smak og aroma, og det er vanskelig å etterligne smaken av spontanfermentert øl ved bruk av rene kulturer. Ølstiler som er produsert ved spontan fermentering er blant annet Lambic og Gueuze (Bossaert et al., 2019).

Berliner Weisse er et typisk surøl som i hovedsak produseres ved kjelesyrning. Det er av tysk opprinnelse, og er et lett og lyst øl. Berliner Weisse produseres ved å bruke rundt 30% hvetemalt og 70% pilsnermalt. Ølet har lavt innhold av humle og inneholder rundt 3% alkohol. Det skal være godt sprudlende, ha en lett munnfølelse og omtales ofte som «Nordens Champagne». Ved produksjon av Berliner Weisse deles ofte vørteren i to, der den ene halvparten fermenteres med *Lactobacillus*-arter, mens den andre halvparten fermenteres med gjær. Etter fermentering blandes de sammen igjen, før ølet tappes på flasker. På den måten får både melkesyrebakteriene og gjæren fermentere ved sine optimale betingelser, noe som sørger for en effektiv fermentering for begge mikroorganismene. Det gjør det også enklere å kontrollere syrningen, og stoppe syrningen når ølet har blitt passe surt (Bossaert et al., 2019).

#### 2.2.5 Øl på meieriråstoffer

På grunn av miljøutfordringer og store kvantum av restråstoffer fra meieriindustrien, er det ønskelig å finne nye måter å bruke restråstoffene på. Siden de inneholder mye sukker i form av laktose, kan de brukes som sukkerkilde i ølbrygging. Potensialet er stort, men det finnes noen utfordringer.

Fermenterbart sukker i øl stammer som oftest fra malt, men det er også mulig å bruke andre kilder til sukker. Om sukkeret er fermenterbart eller ei, avhenger av hvilke gjær som brukes og hvilke sukkerarter den kan fermentere. Den mest brukte ølgjæren, *S. cerevisiae*, kan fermentere blant annet maltose, glukose og galaktose, men ikke laktose (Crumplen et al., 1990, Stewart, 2014). Laktose er et disakkarid som består av en glukose-enhet og en galaktose-enhet bundet sammen av en  $\beta$ -1,4-glykosidbinding. For at *S. cerevisiae* skal kunne fermentere laktose må bindingen mellom glukose og galaktose spaltes. Det kan gjøres ved hydrolyse med enzymet laktase, som spalter bindingen mellom glukose og galaktose. Sukkeret blir da tilgjengelig for *S. cerevisiae*, og kan fermenteres (Lawton and Alcaine, 2019). Ulempen med denne metoden er at hydrolyse er kostbart, og at det derfor er mye billigere å bruke andre kilder til sukker enn laktose (Crumplen et al., 1990).

Selv om ikke *S. cerevisiae* kan fermentere laktose, finnes det likevel andre måter å bruke laktoseholdige råstoffer i øl på. Å bruke en gjærart som kan fermentere laktose er en mulighet, og eksempler på slike gjærarter er *Brettanomyces bruxellensis* og *Kluyveromyces marxianus*. *B. bruxellensis* er en gjær som først og fremst er å finne i spontanfermentert øl. I vin er den uønsket, men i øl viser den seg å kunne tilføre kompleks og god smak. Den tåler lav pH, har en

energieffektiv metabolisme og kan produsere større mengder etanol på kortere tid (Steensels et al., 2015). *K. marxianus* har evne til å fermentere laktose, og har vist seg å være tilpasningsdyktig med tanke på høyere fermenteringstemperaturer og høyere alkoholkonsentrasjoner. I dag brukes den til blant annet produksjon av etanol til industrielt bruk. Det trengs flere studier på mikroorganismen for å kartlegge hvordan egenskaper varierer mellom arter før *K. marxianus* kan brukes i større skala, men forskningen er allerede på god vei (Karim et al., 2020).

Det har blitt forsket på surøl ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet tidligere, noe som bidro til å tenke at surøl også kunne være interessant i forbindelse med ølbrygging med myse og permeat. Dysvik (2019) forsket på hvordan produksjon av surøl kunne moderniseres ved bruk av blandet fermentering med gjær og melkesyrebakterier. Studien ble gjennomført ved NMBU. Produksjon av spontanfermentert surøl tar ofte opptil flere år og bærer preg av dårlig prosesskontroll. Studien til Dysvik (2019) gikk derfor ut på å undersøke om det var mulig å produsere surøl på kortere tid og med bedre kontroll over prosessen.

Siden surøl har et bredt spekter av varianter og smaker, er det et spennende felt å eksperimentere og forske innenfor. Interessen og kjøpsviljen for surøl øker (Bellut et al., 2021), noe som også gir et påskudd til å utvikle utvalget innen produktgruppen. Øl som er fermentert med *S. cerevisiae*, og inneholder laktose i det ferdige produktet er ikke noe nytt. Inspirasjonen bak denne studien var derfor å produsere et øl der laktosen var blitt fermentert i det endelige produktet. Siden *S. cerevisiae* ikke kan fermentere laktose ble det tenkt at melkesyrebakterier kunne benyttes for å fermentere laktosen, noe som gjorde at valget havnet på surøl.

### 2.3 Sensorisk analyse

Sensorisk analyse er et redskap som brukes for å kartlegge menneskers respons på ulike matvarer gjennom syn, smak, lukt, hørsel og berøring. Det gir verdifull informasjon blant annet i forbindelse med produktutvikling og kvalitetsarbeid og kan brukes for å kartlegge egenskaper hos produkter, både innen lukt, smak, tekstur og farge. Metoden kan brukes for å finne sammenhenger mellom hvilke prosesser eller ingredienser som gir hvilke smaker eller egenskaper i produktet. Den kan også brukes for å finne ut hvilke egenskaper som er ønsket eller uønsket i et produkt for at konsumenten skal like produktet, dersom ulike sensoriske analyser sees i sammenheng med hverandre (Lawless and Heymann, 2010c).

Sensoriske analyser kan deles inn i to hovedgrupper; analytiske og hedoniske. Til analytiske metoder brukes et trent panel, mens til hedoniske metoder brukes konsumenter. Analytiske metoder skal gi en objektiv vurdering av sensoriske egenskaper, og det brukes definerte egenskaper for å vurdere produktet. Ved hedoniske metoder kan produkter evalueres med egne kriterier, og det er lov å stille spørsmål om blant annet preferanser, forventninger og om konsumenten liker produktet eller ei (Lawless and Heymann, 2010c).

Hensikten med hedoniske metoder er å finne ut om det er noen klare preferanser blant alternativene som serveres, uten at faktorer som merke, emballasje eller leverandør påvirker svaret. Prøvene må derfor serveres på en nøytral, ugjenkjennelig måte. Hedoniske metoder kan gjennomføres på flere måter, og den enkleste metoden er ved å servere konsumenten to prøver og be de velge den de foretrekker. Andre metoder som kan benyttes er triangeltest, der konsumenten får servert tre prøver der to av de er like. Konsumenten skal velge ut den prøven som avviker fra de to andre. Metoden kan brukes for å detektere mindre forskjeller, for eksempel ved utskiftning av ingredienser i et produkt. En tredje mulighet er å servere flere ulike prøver og be konsumenten rangere de eller hvor godt likt de er, eller evaluere de på en skala fra eksempelvis «liker ikke» til «liker godt» (Lawless and Heymann, 2010a, Lawless and Heymann, 2010d).

Analytiske metoder krever mer ressurser og er mer tidkrevende enn hedoniske metoder. Til gjengjeld gir de mer spesifikk informasjon om egenskapene til produktet. Resultater fra analytiske metoder kan sammen med resultater fra hedoniske metoder eller instrumentelle målinger analyseres statistisk gjennom en regresjons- eller korrelasjonsanalyse, og gi ut mye informasjon om et produkt. En analytisk metode som er mye brukt er sensorisk profilering, der det brukes et trent panel som kalibreres for den spesifikke produktgruppen som skal analyseres. Deltagerne i panelet skal aldri få spørsmål om de liker produktet eller ei. De skal kun vurdere hvor intens hver enkelt egenskap er i hver prøve (Lawless and Heymann, 2010b).



## 3. Materialer og metoder

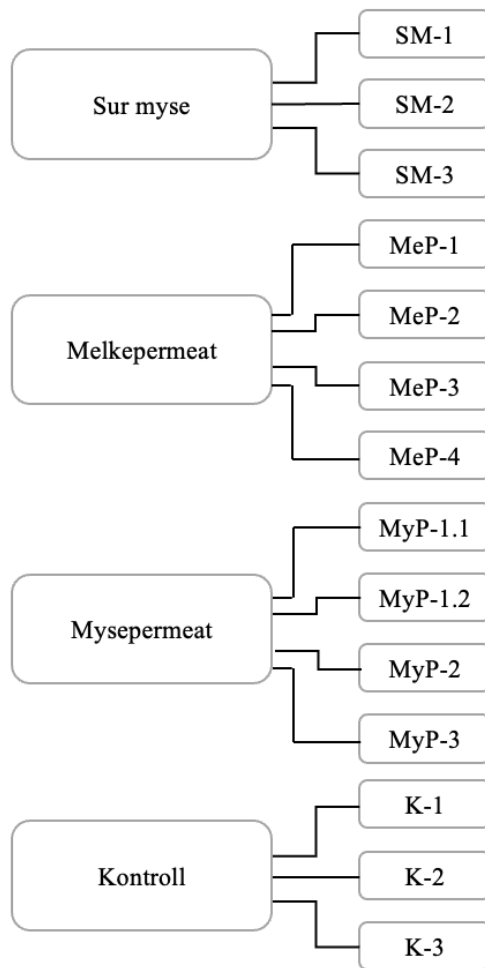
### 3.1 Forsøksdesign

I denne studien ble det brygget surøl med sukkerkilde fra tre ulike melkeråstoff. Det var fortrinnsvis restråstoff fra filtrering av myse og melk, men også sur myse direkte fra produksjon av cottage cheese. De tre melkeråstoffene som ble valgt var: 1) sur myse fra produksjon av cottage cheese, levert av TINE Frya, 2) permeat fra ultrafiltrering av melk, levert av TINE Brumunddal og

3) retentat fra nanofiltrering av mysepermeat, der mysepermeatet stammet fra ultrafiltrering av søt ostemyse, levert av TINE Verdal. Sur myse inneholdt også noe skyllevann fra produksjonen. Det ble brygget kontroll-surøl, med sukrose som sukkerkilde. Heretter vil retentat fra nanofiltrering av mysepermeat bli omtalt som mysepermeat.

Bryggingen ble gjennomført i pilotanlegget på KBM, NMBU. I forkant av hovedforsøket ble det gjennomført en prøvebrygging, for å vurdere om laktose kunne være en egnet sukkerkilde til brygging av surøl.

Forsøksoppsett for hovedforsøket er vist i figur 3. Det ble brygget tre gjentak med hvert melkeråstoff. I tillegg ble det brygget et ekstra gjentak med melkepermeat, samt to paralleller av samme batch på første brygging med mysepermeat. Årsaken til at det ble brygget et ekstra gjentak av melkepermeat var at temperaturmåleren i bryggeriet sluttet å virke under siste steg i meskingen når temperaturen skulle økes til 78°C. Brygget ble overført til nytt bryggekar og fullført der. Totalt ble det brygget 14 brygg med surøl.

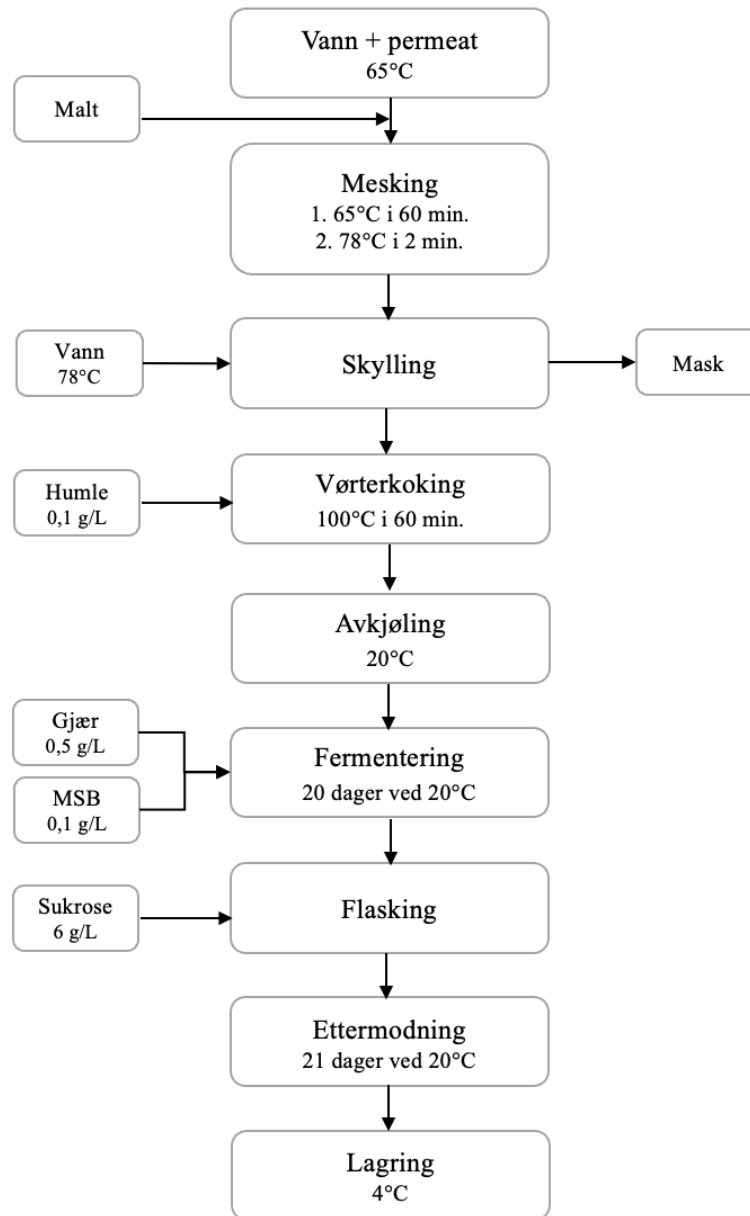


**Figur 3.** Forsøksoppsett basert på melkeråstoff og gjentak. SM=sur myse. MeP=melkepermeat. MyP=mysepermeat. K=kontroll. Nummeret bak forkortelsene indikerer gjentak for hver variant. MyP-1.1 og MyP-1.2 er paralleller brygget på samme batch av melkeråstoff.

## 3.2 Bryggingen

### 3.2.1 Flytskjema for bryggingen

Flytskjema for bryggingen som ble gjennomført i studien er vist i figur 4. Flytskjemaet ble laget med utgangspunkt i Bryggeri- og drikkevareforeningen (2018), og er et standard flytskjema for brygging av øl, foruten tilsetning av melkesyrebakterier til vørteren.



**Figur 4.** Flytskjema for bryggingen som ble gjort i studien. Flytskjemaet er laget med utgangspunkt i Bryggeri- og drikkevareforeningen (2018) og er et standard flytskjema for brygging av øl. MSB=melkesyrebakterie. Gjær som ble brukt var *Fermentis SafAle US-05*. Melkesyrebakterie som ble brukt var *Lallemand WildBrew Sour Pitch*.

### 3.2.2 Resept for bryggingen

Ved bruk av appen Brewfather (Versjon 2.9.0, Warpkode AS, Florø, Norge) ble resept for bryggingen beregnet. I appen ble det lagt inn hvilken ølstil som skulle brygges, samt ingredienser og mengder. Bryggemaskinen og bryggeprosessen som skulle benyttes ble også lagt inn i appen. Ut fra det tok appen høyde for svinn, utbytte og avdamping, og dermed beregnet den volum av meskevann og skyllevann som skulle brukes i bryggingen. Ut fra det ble resepten for hovedforsøket som vist i tabell 3.

**Tabell 3.** Resept for brygging av 25L surøl. Maltet ble knust på valsemølle med 1,5 mm avstand mellom valsene.

<i>Ingrediens</i>	<i>Mengde</i>
<i>Pilsnermalt</i>	2,4 kg
<i>Hvetemalt</i>	1,2 kg
<i>Melkeråstoff</i>	400 g sukker totalt (formel 1)
<i>Meskevann</i>	22,6 L – volum melkeråstoff (formel 2)
<i>Skyllevann</i>	11,6 L
<i>Humle</i>	0,1 g/L ferdig vørter
<i>Gjær</i>	0,5 g/L ferdig vørter
<i>Melkesyrebakterie</i>	0,1 g/L ferdig vørter

I forsøket ble det brukt pilsnermalt fra BestMalz (Tyskland) og hvetemalt fra Weyermann (Tyskland). Humlen som ble brukt i forsøket var pellets av typen Fuggle med 4,2%  $\alpha$ -syre (Finest co, England). Gjæren som ble brukt i forsøket var tørrgjær av typen SafAle US-05 (Fermentis, Frankrike) som er en kommersiell *S. cerevisiae*. Melkesyrebakterien som ble brukt i forsøket var WildBrew Sour Pitch (Lallemand Brewing, Canada) som er en tørr, kommersiell *Lb. plantarum*.

Til bryggingen ble det brukt kommunalt springvann fra NMBU sin vannkilde i Oppegård. Vannet ble målt til en pH på ca. 8,0. Sukkermengden ble satt til 400 g per batch på 25 L vørter. Det ble valgt siden laktose og sukrose har samme molare masse, samt at melkeråstoffene som ble benyttet hadde ulikt innhold av laktose.

Formel 1 viser utregning for volum av melkeråstoff (L) til meskevann for å få 400 g sukkerkilde i meskevannet.

$$(Formel 1) \quad \text{Volum melkeråstoff (L)} = \frac{400g}{\text{mengde laktose i melkeråstoff}(\frac{g}{L})}$$

Formel 2 viser volum av vann (L) for å få 22,6 L meskevann totalt.

$$(Formel 2) \quad \text{Volum vann (L)} = 22,6L - \text{volum melkeråstoff (L)}$$

### 3.2.3 Prøvebrygging

I forkant av prøvebryggingen ble det gjennomført en liten ølsmaking for å bli litt kjent med surøl og dets smak og potensiale. Det ble smakt på tre ulike varianter. Det første som ble smakt på var Vocation Cooler Shaker Passionfruit Milkshake IPA (Vocation Brewery, England, u.å.), som var et øl av typen Milkshake IPA med smak av pasjonsfrukt og kokos som inneholdt laktose. Det andre som ble smakt på var Boon Framboise (Brouwerij Boon, Belgia, 2020), som var et spontanfermentert surøl med bringebær. Det siste ølet som ble smakt på var Boon Oude Geuze (Palm Breweries NV, Belgia, 2019), som var et spontanfermentert surøl uten ekstra smakstilsetning. Ølsmakingen ble gjennomført i planleggingsfasen av studien, da det enda ikke var avgjort om surølet skulle tilsettes smak eller ikke. Det ble derfor smakt på smakstilsette øl, i tillegg til rent surøl. Fra ølsmakingen var det tydelig at tilsetning av bringebær hadde en maskerende effekt på den syrlige smaken som opprinnelig finnes i surøl. For å unngå at eventuell smakstilsetning skulle maskere smaken fra melkeråstoffet ble det valgt å utelukke smakstilsetning i denne studien.

For å bli bedre kjent med bryggeprosessen og få et inntrykk av hva som kunne forventes av resultater ble det gjennomført en prøvebrygging i forkant av hovedforsøket. Under prøvebryggingen ble det brygget en batch av kontroll-surøl og en batch av surøl med rekombinert kommersielt mysepermeatpulver (TINE SA, Norge). Hver batch var på 25 L.

Mysepermeatpulver ble rekombinert med vann dagen før prøvebryggingen. Det ble blandet 0,6 kg mysepermeatpulver med 12,0 L vann, for å lage en mysepermeatløsning med 4% laktose. Løsningen ble oppbevart på kjøll ved 4°C over natten for å sikre god reabsorbering av pulveret. Før brygging ble det rekombinerte mysepermeatet ble målt med digitalt refraktometer (MA885

Wine Refractometer, Milwaukee, USA), og viste seg å ha et sukkerinnhold på 5,0%. I henhold til formel 1 og formel 2 ble det brukt henholdsvis 8,0 L av mysepermealøsningen og 14,6 L vann til meskevannet.

I prøvebryggingen ble det brukt 2,0 kg pilsnermalt og 1,0 kg hvetemalt til 25 L ferdig vørter. Maltet ble knust på valsemølle med 1,5 mm avstand mellom valsene. Mesking ble gjennomført på 65°C i 45 min. etterfulgt av 77°C i 15 min. Mengden skyllevann som ble brukt var 10,8 L. Vørterkoking ble gjennomført i henhold til flytskjema for hovedforsøket i figur 4.

Etter vørterkoking og avkjøling ble hver batch tilsatt gjær og deretter ristet kraftig, før hvert batch ble fordelt på to gjæringskar. I det ene gjæringskaret av hver batch ble melkesyrebakterier tilsatt med en gang. I det andre gjæringskaret ble melkesyrebakterier tilsatt etter tre dager. Fermenteringen ble gjennomført ved 17°C. Etter 21 dager ble ølet tilsatt karboneringssukker i form av sukrose (6 g/L surøl) og tappet på flasker. Det ble så ettermodnet i 28 dager ved romtemperatur på ca. 20°C før det ble satt på kjølerom på 4°C for videre lagring.

Det ferdige ølet ble smakt på, vurdert og analysert, og ut fra resultatene ble det gjort noen endringer til hovedforsøket. Ettersom surølet var litt tynt i smaken ble maltmengden økt med 0,4 kg pilsnermalt og 0,2 kg hvetemalt til hovedforsøket. Mesketiden ble økt til 60 minutter, etterfulgt av 2 minutter utmesking ved 78°C. Tidspunktet for tilsetning av melkesyrebakterier viste seg å ikke påvirke smaken på surølet i særlig stor grad. Det ble derfor bestemt at gjær og melkesyrebakterier skulle tilsettes på likt i hovedforsøket.

#### 3.2.4 Hovedforsøk

I forkant av hver brygging ble melkeråstoffene analysert ved bruk av MilkoScan™ FT1 FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) (Foss, Hillerød, Danmark) på program for myse, for å måle laktoseinnholdet i melkeråstoffet. Melkeråstoff ble også målt med digitalt refraktometer. Ut fra laktoseinnholdet på FTIR ble volum av permeat til meskevannet beregnet ved bruk av formel 1. Volum av vann til meskevannet ble beregnet ved bruk av formel 2. Malt ble veid ut i henhold til tabell 3 og knust på valsemølle med 1,5 mm avstand mellom valsene.

Bryggemaskinene som ble brukt var av typen Brewtools B40pro (Apparatus AS, Grimstad, Norge). Ved brygging av brygg SM-1 var volumet av sur myse for lite til å brygge hel batch. Det ble derfor brygget halv batch på 12,5 L, og hele resepten ble halvert. Av den grunn ble bryggemaskinen Beer Brew BB30 Automatic (Anergi AS, Grimstad, Norge) benyttet i stedet, da denne var bedre egnet for volumet som ble brygget. Sur myse til brygging av SM-1 hadde blitt pasteurisert ved 72°C i 15 sekunder i forkant av bryggingen. Pasteuriseringen ble gjort i pilotanlegget på KBM, NMBU. Øvrige batcher av sur myse var ikke pasteurisert før brygging.

Første bryggedag ble det brygget fire brygg. Øvrige bryggedager ble det brygget to brygg. Tabell 4 viser oversikt over hvilke brygg som ble brygget hvilke dager. Rekkefølgen på bryggingen ble randomisert i forhold til hvilken bryggemaskin som ble brukt.

**Tabell 4.** Oversikt over hvilke brygg som ble brygget de ulike dagene. SM=sur myse. MeP=melkepermeat. MyP=mysepermeat. K=kontroll. MyP-1.1 og MyP-1.2 er paralleller av samme batch melkeråstoff.

<i>Bryggedag</i>	<i>Brygg</i>
1	MyP-1.1
	MyP-1.2
	MeP-1
	K-1
2	SM-1
	MyP-2
3	K-2
	MeP-2
4	MeP-3
	K-3
5	SM-2
	MyP-3
6	MeP-4
	SM-4

Mengde melkeråstoff som skulle brukes i meskevannet ble målt opp og tilsatt i bryggekarer. Deretter ble det tilsatt vann til totalt volum i bryggekarer var 22,6 L. Sirkulasjonen i karet ble startet for å sikre jevn oppvarming i kjelen. Meskevannet ble varmet opp til 65°C, og maltrøret ble satt oppi bryggekarer. Så ble maltet tilsatt i maltrøret og meskingen foregikk på 65°C i 60 minutter, etterfulgt av utmesking ved 78°C i 2 minutter. Maltrøret ble løftet ut av vørteren og plassert over bryggekarer for skylling. Masken ble skylt med 11,6 L skyllevann på 78°C ± 2°C før maltrøret med mask ble fjernet. Vørteren ble så kokt i 60 minutter. Helt i starten av vørterkokingen ble det tilsatt humle av mengde 0,1 g/L ferdig vørter. Det ga en forventet endelig IBU på 1,1.

Etter 60 minutter og ferdig vørterkoking ble vørteren avkjølt ved bruk av sirkulasjonssystemet i bryggekarer. I Brewtools B40pro var kjølesystemet en rørmotstrømskjøler, mens i BeerBrew BB30 Automatic var det en kjølespiral som ble nedsenket i vørteren. Når vørteren var avkjølt til ca. 20°C ble den overført i et rent og desinfisert gjæringskar. Desinfisering ble gjort med Sure San desinfeksjonsmiddel (2 mL/L vann) (Vitale Norge AS, Holter, Norge) utblandet i kaldt vann. Gjæringskaret ble ristet kraftig for å tilføre luft til vørteren, før det ble tilsatt gjær og melkesyrebakterier. Det ble satt lokk og gjærlås på gjæringskarene, før de ble satt til fermentering ved 20°C i 20 dager.

Etter 20 dager ± 1 dag ble surølet stukket om til et rent og desinfisert gjæringskar for å fjerne bunnfall. Sukkerlake til karboneringssukker ble laget ved å veie opp sukrose (6 g/L surøl) i en kjele og tilsette ca. 2 dl vann. Blandingen ble kokt i 20 sekunder for å desinfisere den, før den ble tilsatt varm direkte i ølet. Sukkerlaken ble blandet godt inn, før ølet ble tappet på rene, desinfiserte 0,5 L flasker som ble korket og satt til ettermodning ved 20°C. Etter ytterligere 21 dager ble ølet satt på 4°C for lagring.

### 3.3 Analyser

#### 3.3.1 Laktose- og proteininnhold

I forkant av hver brygging ble innhold av laktose og protein i melkeråstoff analysert ved bruk av FTIR. Analysen ble gjort på program kalibrert for myse, og ble brukt siden metode for HPLC ikke var operativ når bryggingen skulle starte. Grunnet usikkerhet rundt nøyaktigheten på disse målingene ble melkeråstoff også analysert ved standard laboratoriemetoder for tørrstoff, laktose og protein i etterkant av brygging.



### 3.3.2 pH

pH ble målt i melkeråstoff, avkjølt vørter og produkt. pH-meteret som ble benyttet var Orion Star A211 (Thermo Fisher Scientific, USA). Alle prøver ble målt ved romtemperatur.

### 3.3.3 °Brix

I forbindelse med brygging ble mengde oppløste stoffer målt ved bruk av digitalt refraktometer. °Brix ble målt i melkeråstoff, meskevann, i vørter etter skylling av mask, i avkjølt vørter og i ferdig produkt.

### 3.3.4 Karbohydrater

Ved bruk av høytrykks væskrokromatografi (HPLC) ble innhold av karbohydrater målt. Det ble målt innhold av karbohydrater i melkeråstoff, vørter og produkt. I melkeråstoff ble HPLC brukt for å bekrefte laktoseinnholdet målt med FTIR, mens det ble målt i vørter og produkt for å se hvilke karbohydrater som ble brukt under fermenteringen. Analysen ble gjort i henhold til Knudsen (1997) med noen modifikasjoner.

Prøvene ble blandet godt før det ble veid ut 1,00 g prøve i 50 mL Nunc-rør (Thermo Fisher Scientific, USA). Det ble tilsatt 30 mL 96% etanol (PROLABO, BDH, VWR) og 9,0 mL ionebyttet vann. Prøvene ble mikset i en vendemaskin i 30 min., og deretter satt på isbad i en time. 4,0 mL av supernatanten ble målt ut og tilsatt 2,0 mL indrestandardløsning (arabinose 1,00 mg/mL). Prøvene ble filtrert gjennom Sep-Pak Plus C18 kolonne (Waters, Irland). I forkant av filtreringen ble kolonnen vasket med 2 mL metanol (Merck, USA) etterfulgt av 5 mL ionebyttet vann. De første 2 mL prøve ble samlet opp i to eppendorfrør (1 mL i hvert rør), og tørket på vakuumsentrifuge (Savant SPD2010, SpeedVac concentrator, Thermo Fisher Scientific, USA) ved 55°C til de var tørre. Før videre behandling ble eppendorfrørene oppbevart på kjøll ved 4°C, for å samle opp prøver før videre analyse.

Pelleten ble løst opp i 400 µL ionebyttet vann i hvert eppendorfrør, og fikk så stå ca. 30 minutter på benken for å sikre at alt av karbohydrater ble løst opp skikkelig. Prøven ble deretter filtrert med 0,2 µm GPH membrane filter (Pall Corporation, Washington, USA) over i et HPLC-rør forseglest med plastkork med silikon/PTFE septa (VWR). Til HPLC-instrumentet ble det injisert 10 µL prøve.

Etter opparbeidelse ble prøvene separert ved bruk av en Nucleogel Sugar Pb kolonne (Macherey-Nagel, Tyskland) oppvarmet til 80°C. Systemet som ble brukt til HPLC var Agilent 1200 series, bestående av pumpesystem, autosamplere med kjøling, kolonneovn og RI-detektor. Prøvene ble oppbevart ved 5°C i autosampleren før injisering. Mobilfasen som ble brukt var ionebyttet vann med en hastighet på 0,4 mL/min.

For kalibrering ble det preparert standardløsninger på samme måte som prøvene som skulle analyseres. Komponentene i prøvene ble kvantifisert og identifisert på bakgrunn av retensjonstid sammenliknet med standardløsningene. Karbohydratene som ble benyttet til standardløsning var sukrose, glukose, maltose, laktose, arabinose og fruktose (Merck, USA).

### 3.3.5 Flyktige forbindelser

Innholdet av flyktige forbindelser ble målt ved bruk av headspace gasskromatografi (HSGC). Flyktige forbindelser ble målt i melkeråstoff, vørter og produkt. Metoden som ble brukt er beskrevet av Dysvik et al. (2020b).

Prøvene ble først filtrert gjennom foldefilter mens de stod på kjøll. Filtratet ble overført til 15 mL Nunc-rør (Thermo Fisher Scientific, USA), og sentrifugert på 1960 x g i 20 minutter ved 4°C. Fra supernatanten ble det veid ut 10,00 g i headspace-flasker (Machery Nagel, Dueren, Tyskland), som ble forseglet med teflonbelagt septa med aluminiumsring (PFTA/Si septa, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA).

Prøvene ble analysert ved bruk av Agilent Technologies 7679A automatisk headspace sampler med et 8860 GC system (Agilent Technologies) og en flamme ioniseringsdetektor. Benyttet programvare var Open LAB EZC (Agilent Technologies).

Bæregassen som ble benyttet var helium 6,0 (Aga, Norge) med en flow på 5,0 mL/min. Headspace badtemperatur var 50°C, manifoldtemperatur var 60°C. Ekvilibreringstiden var på 45 minutter, og med 70 shakes/min ble prøvene mikset under oppvarming. Injeksjonstiden var på 0,5 min og trykket på headspaceflaskene var 10 PSI før injeksjon.

Til separering av komponentene ble det benyttet en CP-SIL 5CB GC kolonne (Varian, Middelburg, Nederland). Lengden på kolonnen var 25 meter og den indre diameteren var 0,53 mm med en filmtykkelse på 5,0  $\mu\text{m}$ . Følgende temperaturprogram ble benyttet under analysen: 35°C, 5 min; økning med 10°C/min til 40°C, 2 min; økning med 15°C/min til 70°C, 2 min; økning med 30°C/min til 130°C, 4 min; økning med 30°C/min til 160°C, 4 min; økning med 10°C/min til 180°C, 2 min; økning med 10°C/min til 200°C, 2 min.

Flyktige komponenter i prøvene ble separert på grunn av ulik flyktighetsgrad og affinitet til den stasjonære fasen i kolonnen. Basert på kalibrering med standardløsninger ble de ulike flyktige komponentene kvantifisert og identifisert. Følgende standardløsninger ble benyttet: acetaldehyd, diacetyl, etylacetat, 2-butanon, 2-hexanol, 2-metyl-butanal, 2-metyl-1-butanol, 2-metyl-1-propanal, 3-metyl-butanal, 3-metyl-1-butanol, 2-metyl-1-propanol, isobutyl acetat, hexanal, isoamyl acetat, ethyl hexanoate, 3-carene, R-(+)-limonene, ethyl heptanoate, etyl octanoate,  $\beta$ -citronellol, etyl nonanoate, etyl decanoate, phenyletyl alcohol (Sigma-Aldrich), acetoin, aceton, etanol, 1-butanol, 1-propanol, 2-butanol, dimetylsulfid og 2,3-pentadion (Merck, Tyskland).

### 3.3.6 Organiske syrer og karbohydrater

Innholdet av organiske syrer og karbohydrater ble analysert i melkeråstoff og modnet produkt ved bruk av high performance liquid chromatography (HPLC). Metoden som ble benyttet er beskrevet av Grønnevik et al. (2011) med noen modifikasjoner.

Prøvene med melkeråstoff ble blandet godt før 1,00 g ble veid inn i et 10 mL rør. I røret ble det tilsatt 2,5 mL ionebyttet vann, 200  $\mu\text{L}$  0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Merck, Tyskland) og 8,0 mL acetonitril (Merck). Prøvene ble først ristet for hånd, og deretter satt til vending i en MultiRS-60 BIOSAN vendemaskin (Montebello Diagnostics A/S, Oslo, Norge) i 30 min., etterfulgt av sentrifugering i romtemperatur ved 1470 x g i en Kubota 2010 sentrifuge (Kubota Corporation, Tokyo, Japan).

Supernatanten ble filtrert gjennom 0,2  $\mu\text{m}$  PTFE Membran (Acrodisc CR 13 mm Syringe Filter, PALL, Storbritannia) over i et HPLC-rør. Til analysen ble det brukt et HPLC-instrument av typen Agilent Technologies 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Singapore), bestående av pumpe (Agilent Technologies), autosampler (Agilent Technologies), kolonneovn (Agilent Technologies), DAD-UV detektor (Agilent Technologies), og RI-detektor (Agilent

Technologies). Benyttet programvare var OpenLab CDS (Agilent Technologies). 25 µL av prøven ble injisert og separert ved bruk av en Aminex HPX-87H kolonne (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). For å beskytte kolonnen ble prøvene først kjørt gjennom en forkolonne av typen Cation-H refill (Bio Rad Laboratories). Temperaturen i kolonnen var satt til 32°C. Som mobil fase ble det benyttet 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck), med en hastighet på 0.4 mL/min.

For kalibrering ble det preparert standardløsninger på samme måte som prøvene som ble analysert. Komponentene i prøvene ble identifisert og kvantifisert ut fra retensjonstid sammenliknet med standardløsningene. Karbohydrater som ble benyttet til standardløsninger var maltose, fruktose, laktose, glukose og galaktose (Merck). Organiske syrer som ble benyttet til standardløsning var sitronsyre, orotinsyre, pyrodruesyre, ravsyre, melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre og pyro-glutaminsyre (Sigma-Aldrich, Kina). Eddiksyre ble detektert ved hjelp av en RI-detektor, mens organiske syrer ble detektert ved hjelp av en DAD-UV detektor.

### 3.3.7 Aske i melkeråstoff

Mengde aske i melkeråstoff ble analysert i henhold til AOAC (1999) med noen modifikasjoner.

Digler ble først tørket over natt i varmeskap på 102°C ± 1°C. Prøvene ble blandet godt ved risting, før det ble veid inn ca. 5,0 g prøve i digel, i tre paralleller for hver prøve. Prøvene ble tørket i tørkeskap ved 102°C ± 1°C i 20 timer for å fjerne vann. Prøvene ble deretter satt i muffelovn ved 550°C til de var fullstendig forasket, ca. 3-4 timer. Så ble prøvene avkjølt i eksikator i ca. en time, før de ble veid. Utrekning av mengde aske i melkeråstoff ble beregnet ved bruk av formel 3.

(Formel 3)

$$\% \text{ Aske} = \frac{\text{vekt digel med tørr prøve (g)} - \text{vekt av digel (g)}}{\text{vekt digel med prøve (g)} - \text{vekt av digel (g)}} \times 100$$

### 3.3.8 Total nitrogen og protein i melkeråstoff

Total nitrogen i melkeråstoff ble opparbeidet og analysert i henhold til IDF (2001).

Det ble veid inn 1,0 g prøve i oppslutningsrør, i tre paralleller for hver prøve. I hvert rør ble det tilsatt en Kjeldahl-tablett (Kjeltabs Auto AA11, Thompson & Capper Ltd. Cheshire, England) og 3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Før hver serie ble det kjørt to blanke prøver og tre prøver med skummet melk. Oppslutningsrørene ble satt i varmeblokk av typen Foss Tecator (Nerliens Meszansky AS, Höganäs, Sverige) med avsug og kokt ved 420°C i 1 time og 15 minutter. Rørene ble avkjølt, og deretter ble et og et rør satt inn manuelt i destillasjonsapparatet Kjeltec™ 8400 (Foss, Höganäs, Sverige), hvor prøven automatisk ble destillert.

Beregning av total nitrogen i prøve ble gjort i henhold til formel 4. Beregning av proteininnhold ble gjort ved bruk av proteinfaktor for meieriprodukter. Proteinfaktor er en omregningsfaktor som er basert på innholdet av nitrogen i protein. Formel 5 viser omregningformel fra % Total nitrogen til % Protein.

$$(Formel 4) \quad \% \text{ Total nitrogen} = \frac{\text{Titervolum (mL 0,05 M HCl)} * 0,07}{\text{Vekt innveid prøve (g)}}$$

$$(Formel 5) \quad \% \text{ Protein} = \% \text{ Total nitrogen} * 6,38$$

### 3.3.9 Kalsiuminnhold i melkeråstoff

Analyse av kalsiuminnhold i melkeråstoff ble utført i henhold til Visser (1976).

Det ble pipettert ut 10 mL myse som ble tilsatt 40 mL destillert vann, 10 mL bufferløsning og en liten spatelspiss med Erichromsvart T. Titrering ble gjort med EDTA til løsningen skiftet farge fra rosa til blå. Det ble titrert tre paralleller av hver prøve. 1 mL titerløsning tilsvarte 0,4 mg Ca<sup>2+</sup>.

### 3.3.10 Analyse av modnet produkt

I modnet surøl ble gjort en standard øl-analyse der det ble analysert for ekstrakt, etanol, farge og apparent degree of fermentation (ADF). Analysen ble gjort ved bruk av DMA 4500M density meter, koblet til en PBA sampling unit, en Alcoalyzer Beer ME modul og en CarboQC ME modul. Utstyret ble styrt av Generation M instrument programvare versjon V2.42 (Anton Paar, Graz, Østerrike, 2014). Ferdig modnet produkt ble målt rett fra flasken ved romtemperatur. Det ble analysert en flaske av hver prøve.

### 3.3.11 Tørrstoff

Tørrstoff ble analysert i henhold til IDF standard 21B (IDF, 1987). Det ble målt tørrstoff i melkeråstoff, vørter og ferdig øl. Siden vørteren inneholdt noen større partikler som samlet seg i bunn av gjæringskaret under fermenteringen ble tørrstoff også målt i prøver av sentrifugert vørter. Vørteren ble sentrifugert ved 3000 x g i 10 minutter i romtemperatur før prøvene ble veid ut.

Før prøvene ble veid ut ble de ristet godt. Sentrifugerte prøver og ferdig produkt ble ikke ristet. Prøvene ble veid ut i aluminiumsskåler, med tre paralleller av hver prøve. Det ble veid ut ca. 5,0 g i hver skål. Prøvene ble satt i ovn på  $102^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  i minst 20 timer. Deretter ble prøvene avkjølt i eksikator i ca. 30 minutter før de tørre prøvene ble veid. Utregning for tørrstoff i prøve ble gjort i henhold til formel 6.

$$(Formel 6) \quad \% Tørrstoff = \frac{\text{vekt skål med tørr prøve (g)} - \text{vekt av skål (g)}}{\text{vekt skål med prøve (g)} - \text{vekt av skål (g)}} \times 100$$

### 3.3.12 Sammensetning av meskevann til brygging

Mengde melkeråstoff til meskevann ble beregnet ut fra innhold av laktose på FTIR, slik at meskevannet fikk et laktoseinnhold på 1,7%. For å kunne sammenlikne bidraget fra de ulike melkeråstoffene med hverandre ble de vektet med en vektingsfaktor, ut fra mengden melkeråstoff som ble tilsatt i meskevann. Formel for utregning av vektingsfaktor er vist i formel 7. Vektingsfaktor for hvert enkelt melkeråstoff og batch finnes i vedlegg 4.

$$(Formel 7) \quad Vektingsfaktor = \frac{\text{Mengde melkeråstoff i meskevann (L)}}{\text{Total mengde meskevann (L)}}$$

### 3.4 Sensorikk

For å kartlegge hvordan de ulike melkeråstoffene påvirket smaksprofilen på ølet ble det gjennomført en sensorisk profilering. For å finne ut om produktene som ble laget hadde potensiale på markedet ble det gjennomført en aksept-test med forbrukere.

#### 3.4.1 Sensorisk profilering

Det ble gjennomført en sensorisk profilering av ølet 6 uker  $\pm$  1 dag etter brygging. Det ble etablert et fast panel bestående av 10 utrente, men øl-interesserte studenter og ansatte ved KBM, NMBU. Antall personer i panelet varierte noe grunnet sykdom osv, men det var alltid minst 6 paneldeltagere til stede ved hver runde av sensorisk profilering. Det ble gjennomføre fire runder med profilering.

I forkant av den sensoriske vurderingen ble panelet kalibrert etter et kommersielt surøl av typen Sour Suzy (Lervig, Stavanger, Norge). Dette ølet ble brukt som referanse, og før den sensoriske profileringen ble panelet enige om hvor på skalaen dette surølet befant seg på hver av de definerte egenskapene.

Den sensoriske analysen ble gjennomført på sensorikklaben på KBM, NMBU. Hver kandidat fikk utdelt et glass vann, et glass med referanseøl og bølge til å spytte i. Prøvene ble servert i halvfulle vannglass av plast og hadde en temperatur på  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  ved servering. For å unngå at prøvene mistet kullsyren og ble for varme ble det servert en og en prøve. Hver prøve ble servert i to replikater. I tillegg fikk kandidatene en usaltet kjeks til å nøytralisere munnen med halvveis i vurderingen. Alle prøver måtte spyttes ut. Figur 5 viser oppsett på sensorikklab for sensorisk vurdering. Nøytral kjeks, ark med verdier for referanse-øl, spyttbølge, vannglass og glass for referanse-øl stod klart i båsen når deltagerne kom inn i rommet. Hver prøve ble servert gjennom luken, en om gangen.



*Figur 5. Oppsett på sensorikklab for sensorisk profilering. Nøytral kjeks, ark med verdier for referanse-øl, spytebøtte, vannglass og glass for referanse-øl stod i båsen når deltagerne kom inn i rommet. Hver prøve ble servert gjennom luken, en om gangen (Foto: Ingrid Voilås).*

Rekkefølgen som prøvene ble servert i ble randomisert mellom hver runde med profilering, men alle deltagere fikk servert prøvene i samme rekkefølge for samme runde. Skjemaet som ble brukt for å hente inn resultater ble laget ved bruk av Nettskjema (Universitetet i Oslo, Oslo). Hver prøve fikk et tilfeldig tresifret nummer. Egenskapene som ble brukt, og beskrivelse av de er vist i tabell 5 under. Totalt var det 21 egenskaper som ble vurdert. Surølet ble vurdert på hver egenskap på en sifret skala fra 1 til 9. Utsnitt av spørreskjema som ble brukt finnes i vedlegg 1.



**Tabell 5.** Egenskaper som ble brukt til sensorisk profilering og beskrivelse av hver enkelt egenskap.

	<b>Egenskap</b>	<b>Beskrivelse</b>
<i>Farge</i>	<i>Fargeintensitet</i>	Intensiteten av fargen i prøven
<i>Lukt</i>	<i>Total intensitet</i>	Styrken av all lukt i prøven
	<i>Sur</i>	Relatert til en frisk, balansert lukt grunnet tilstedeværelse av organiske syrer
	<i>Malt</i>	Lukt av malt
	<i>Fruktig</i>	Lukt av frukt (sitrus, ananas, pære, eple og rabarbra)
	<i>Parfyme</i>	Lukt av blomster og parfyme
	<i>Gjær</i>	Lukt av gjær
	<i>Tekstur</i>	<i>Fylde</i>
<i>Skum</i>		Mekanisk teksturmessig egenskap knyttet til skumdannelse
<i>Karbonering</i>		Mekanisk teksturmessig egenskap knyttet til musserende følelse i munnen
<i>Astringent</i>		Organoleptisk egenskap som gir snerpene munnfølelse
<i>Smak</i>	<i>Total intensitet</i>	Styrken av all smak i prøven
	<i>Søt</i>	Relatert til den grunnleggende smaken søt (sukrose)
	<i>Syrlig</i>	Relatert til den grunnleggende smaken syrlig (sitronsyre)
	<i>Bitter</i>	Relatert til den grunnleggende smaken bittert (koffein)
	<i>Malt</i>	Smak av malt
	<i>Fruktig</i>	Smak av frukt (sitrus, ananas, pære, eple, rabarbra)
	<i>Parfyme</i>	Smak av blomster og parfyme
	<i>Gjær</i>	Smak av gjær
	<i>Alkohol</i>	Smak av alkohol eller sprit (etanol)
	<i>Ettersmak</i>	Smak som oppstår 10 s etter svelging av prøven

### 3.4.2 Aksept-test

Aksept-test ble gjennomført på brygg SM-2, MeP-3, MyP-3 og K-3 7 uker  $\pm$  1 dag etter brygging. Det var 52 forbrukere som deltok på aksept-testen. Hver prøve ble servert i 30 mL medisinbeger, med ca. 20 mL i hvert beger og en temperatur på  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Hver prøve var nummerert med et tilfeldig tresifret nummer, og prøvene ble servert i randomisert rekkefølge. Forbrukerne som deltok i aksept-testen ble på forhånd informert om at det var surøl som skulle vurderes, og det ble derfor tatt utgangspunkt i at alle deltagere likte surøl og smaken av det.

Skjema brukt for å innhente svar ble laget ved bruk av Nettskjema (Universitetet i Oslo, Oslo). For hver prøve skulle forbrukeren svare på hvor godt de likte prøven på en skala fra 1 til 9, der 1 var «misliker ekstremt», 5 var «verken liker eller misliker» og 9 var «liker ekstremt godt». Forbrukeren skulle også svare på påstanden «Jeg ville kjøpt dette produktet i butikk». Mulige svaralternativer på påstanden var «Helt enig», «Litt enig», «Verken enig eller uenig», «Litt uenig» og «Helt uenig». Til slutt fikk forbrukeren et åpent spørsmål om det var noen grunner for at de ville/ikke ville kjøpt produktet. Spørreskjema som ble brukt finnes i vedlegg 2.

### 3.5 Resultatbehandling og statistisk analyse

Microsoft Office Excel (2016) ble benyttet til å behandle rådata ved å regne ut gjennomsnitt og standardavvik, samt å lage radarplot. Øvrige figurer ble laget i RStudio (2022) ved bruk av pakken ggplot2. Statistiske analyser ble også gjort ved bruk av RRstudio. For alle analyser ble det benyttet et signifikansnivå på  $P < 0,05$ . Enveis variansanalyse (ANOVA) ble benyttet for å finne signifikant forskjell mellom prøver grunnet en variabel. For å finne forskjeller mellom de ulike prøvene innad for en analyse ble det brukt Tukeys test.

## 4. Resultater

For å vurdere hvorvidt sur myse, melkepermeat og mysepermeat egnet seg til brygging av surøl ble melkeråstoffenes sammensetning analysert. Vørter og ferdig øl ble også analysert for å undersøke utgangspunktet før fermenteringen, og hvordan ferdig produktet ble. Det var blant annet ønskelig å finne ut om laktosen fra melkeråstoffet ble fermentert i surølet.

### 4.1 Sammensetning av melkeråstoff

Melkeråstoffene som dannet utgangspunktet for dette forsøket kom fra ulike kilder og hadde derfor ulik sammensetning. Sammensetning av melkeråstoff slik de ble levert fra meieriene er vist i tabell 6.

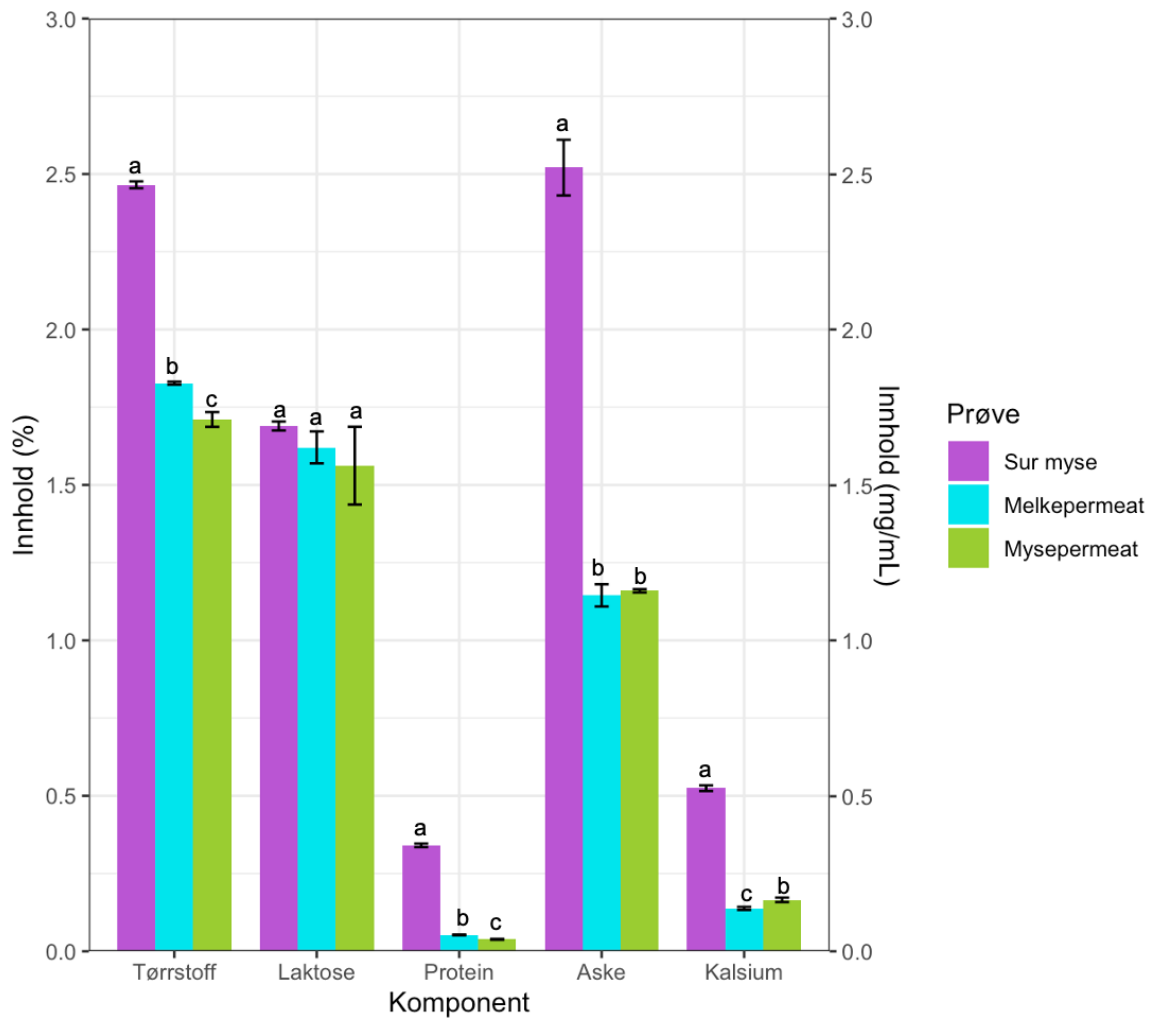
**Tabell 6.** Tabellen viser sammensetning av melkeråstoffene som ble brukt i denne studien med standardavvik. Tallene er gjennomsnitt av alle leverte batcher ( $n=3$  for sur myse og mysepermeat,  $n=4$  for melkepermeat). *n.d.* = ikke detektert. Ulik bokstav innad for hver komponent indikerer at innholdet av den gitte komponenten er signifikant ulikt for melkeråstoffene ( $P < 0,05$ ). Laktosemåling med metode for både HPLC og FTIR er vist i tabellen.

<b>Komponent</b>	<b>Sur myse</b>	<b>Melkepermeat</b>	<b>Mysepermeat</b>
<b>Tørrstoff (% w/w)</b>	$2,68 \pm 0,02^c$	$5,60 \pm 0,04^b$	$19,03 \pm 0,69^a$
<b>Laktose (%) (HPLC)</b>	$1,83 \pm 0,01^c$	$4,87 \pm 0,17^b$	$18,30 \pm 1,73^a$
<b>Laktose (%) (FTIR)</b>	$1,93 \pm 0,02^c$	$5,43 \pm 0,04^b$	$19,85 \pm 0,71^a$
<b>Protein (%)</b>	$0,37 \pm 0,01^b$	$0,16 \pm 0,00^c$	$0,44 \pm 0,02^a$
<b>Aske (mg/mL)</b>	$2,74 \pm 0,13^b$	$3,51 \pm 0,10^b$	$12,89 \pm 0,31^a$
<b>Kalsium (mg/mL)</b>	$0,57 \pm 0,02^b$	$0,42 \pm 0,02^b$	$1,84 \pm 0,12^a$
<b>Melkesyre (mg/L)</b>	$2133,48 \pm 24,48^a$	n.d.	$2166,80 \pm 77,40^a$
<b>Sitronsyre (mg/L)</b>	$800,92 \pm 6,19^c$	$1761,28 \pm 42,44^b$	$6277,44 \pm 219,28^a$

Mysepermeat hadde signifikant høyere innhold av alle komponenter bortsett fra melkesyre i forhold til sur myse og melkepermeat. Årsaken var at mysepermeatet var behandlet med nanofiltrering, og derfor var mer oppkonsentrert enn sur myse og melkepermeat. Sur myse kom fra en strøm av sur myse iblandet skyllevann fra produksjon, og hadde derfor et signifikant lavere innhold av både tørrstoff og laktose sammenliknet med de andre melkeråstoffene.

Innholdet av protein var signifikant lavest i melkepermeat. Sur myse inneholdt signifikant mer kalsium enn melkepermeat. Det var ikke signifikant forskjell på innhold av melkesyre i sur myse og mysepermeat. Melkesyre ble ikke detektert i melkepermeat. Innholdet av sitronsyre var signifikant høyere i mysepermeat og signifikant lavere i sur myse sammenliknet med melkepermeat. Standardavviket for alle analyser av mysepermeat var høyere enn standardavvik for sur myse og melkepermeat, noe som skyldes større variasjoner mellom de ulike batchene av mysepermeat i forhold til sur myse og melkepermeat. Innhold av laktose målt ved FTIR viste seg å være noe høyere enn innholdet av laktose analysert ved HPLC. Mengden melkeråstoff som skulle brukes i meskevannet ble bestemt ut fra innholdet av laktose i melkeråstoffet målt med FTIR, for at mengden tilsatt sukker skulle bli det samme for alle varianter.

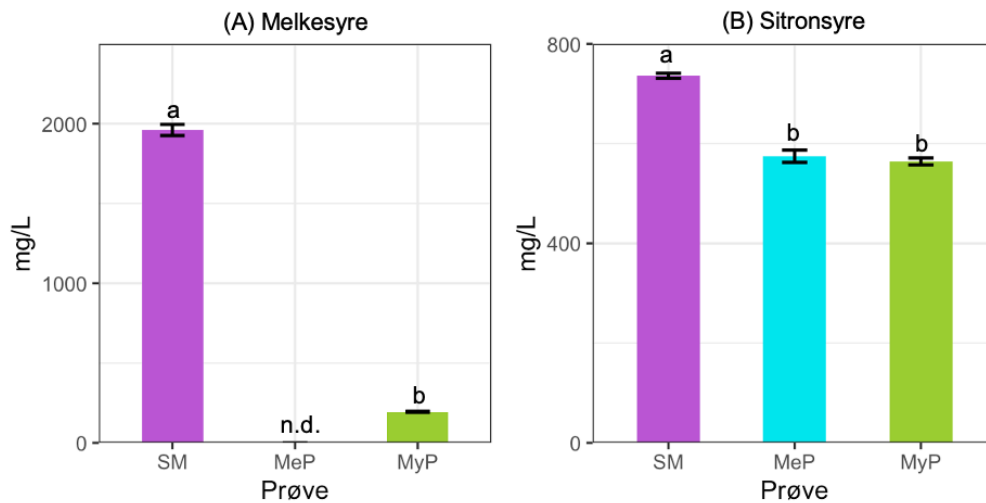
Innholdet av de ulike komponentene i hvert melkeråstoff ble vektet med vektingsfaktor. Det ble gjort for å vise innhold av hver komponent i forhold til volum av melkeråstoff som ble benyttet til meskevannet. Figur 6 viser sammensetning av tørrstoff, laktose, protein, aske og kalsium i meskevann med melkeråstoff som ble benyttet til brygging av surøl.



**Figur 6.** Innhold av tørrstoff, laktose (HPLC), protein, aske og kalsium i meskevann benyttet til brygging av surøl. Tørrstoff, laktose og protein er målt i %. Aske og kalsium er målt i mg/mL. Standardavvik vises med de svarte feillinjene i figuren. Tallene er gjennomsnitt av alle leverte batcher ( $n=3$  for sur myse og mysepermeat,  $n=4$  for melkepermeat). Stolper med ulik bokstav innad for hver komponent er signifikant forskjellige ( $P < 0,05$ ).

Tallene bekrefter at det ikke var signifikant forskjell mellom laktoseinnhold i meskevannet til de ulike variantene. Meskevann med sur myse hadde signifikant høyere innhold av tørrstoff, protein, aske og kalsium i forhold til de andre melkeråstoffene. Tørrstoff og protein var signifikant lavere i meskevann med mysepermeat enn det var i sur myse og melkepermeat. Innholdet av aske var ikke signifikant forskjellig i meskevann med melkepermeat og mysepermeat. Det var signifikant lavere innhold av kalsium i meskevann med melkepermeat enn i mysepermeat.

Innhold av melkesyre og sitronsyre i meskevann i henhold til mengde melkeråstoff benyttet i meskevann er vist i figur 7.

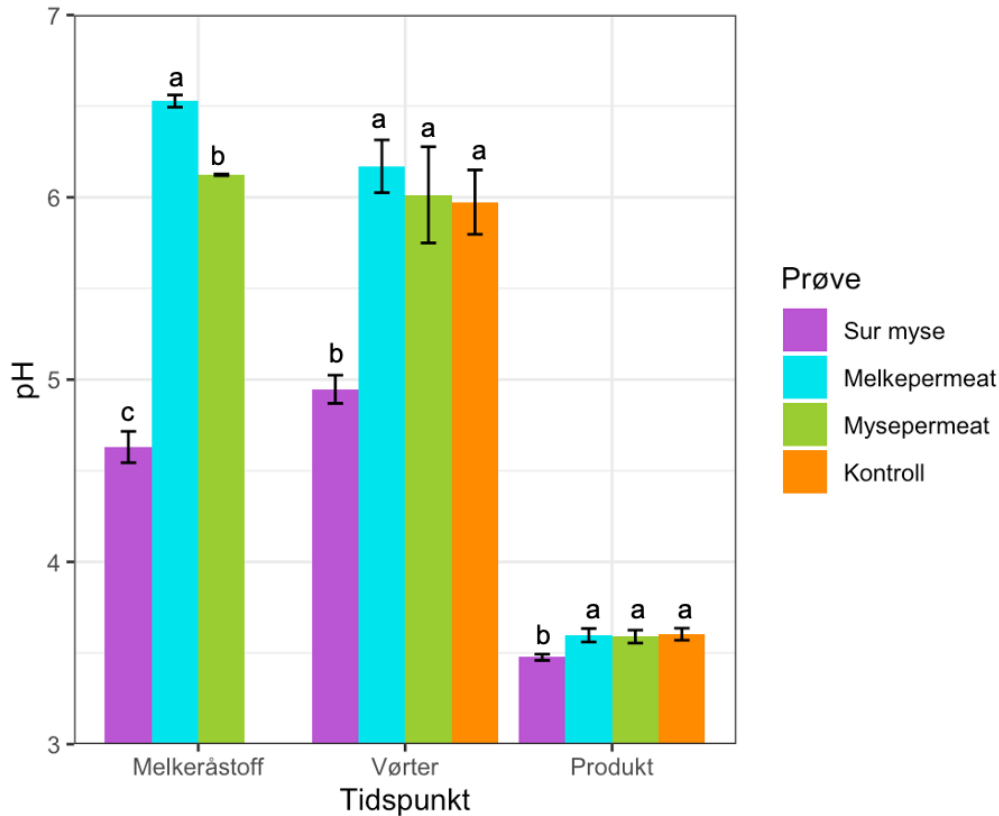


**Figur 7.** Innhold av melkesyre og sitronsyre i meskevann til brygging av surøl, målt i mg/L. Standardavvik er vist med de svarte feillinjene i figuren. n.d.=ikke detektert. Merk at skalaen for mg/L er ulik for de ulike organiske syrene. Tallene er gjennomsnitt av alle leverte batcher ( $n=3$  for sur myse og mysepermeat,  $n=4$  for melkepermeat). Stolper med ulik bokstav innad for hver komponent er signifikant forskjellige ( $P < 0,05$ ).

Innholdet av melkesyre var signifikant høyere i meskevann med sur myse enn i mysepermeat. Det ble ikke detektert melkesyre i meskevann med melkepermeat. Meskevann med sur myse hadde signifikant høyere innhold av sitronsyre enn melkepermeat og mysepermeat, der det ikke var signifikant forskjell. Det ble ikke detektert eddiksyre i noen av melkeråstoffene.

## 4.2 Bryggeresultater

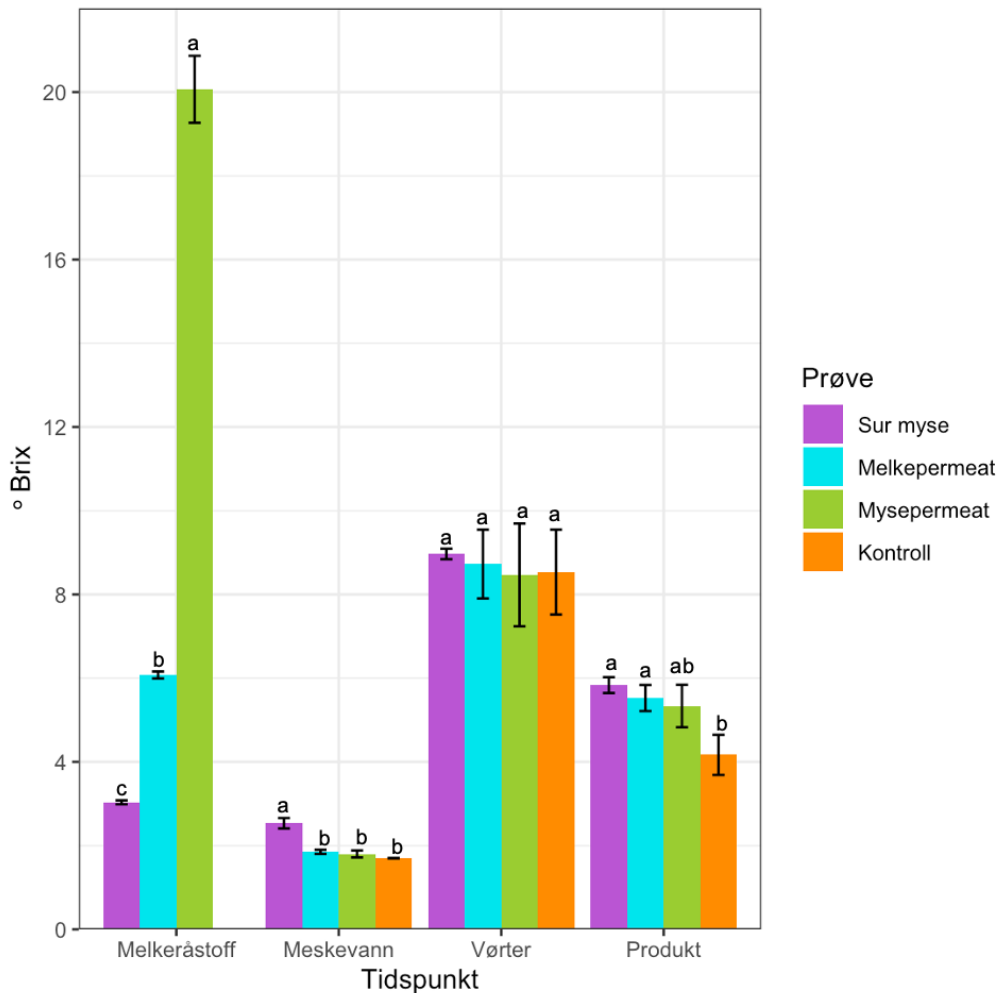
pH ble målt i melkeråstoff, vørter og produkt. Figur 8 viser målt pH ved de ulike tidspunktene for de fire variantene som ble brygget. Det ble ikke målt pH i sukrose til brygging av kontroll-surøl, siden sukrose er en ikke-ionisk komponent og derfor ikke påvirker pH i en løsning.



**Figur 8.** pH i melkeråstoff, vørter og produkt for hver surøl-variant. Standardavvik vises med de svarte feillinjene i figuren. pH for melkeråstoff er gjennomsnitt av alle leverte batcher ( $n=3$  for sur myse og mysepermeat,  $n=4$  for melkepermeat). pH for vørter og produkt er gjennomsnitt av alle brygginger bortsett fra parallell 1.1 for mysepermeat ( $n=3$  for sur myse, mysepermeat og kontroll,  $n=4$  for melkepermeat). Stolper innad for hvert tidspunkt med ulik bokstav er signifikant forskjellige ( $P < 0,05$ ). Det ble ikke målt pH i sukrose for brygging av kontroll-surøl.

Det var signifikant forskjell i pH hos alle tre melkeråstoff, der melkepermat var høyest på ca. pH 6,5 og sur myse var lavest på ca. pH 4,7. Vørter og produkt av sur myse hadde signifikant lavere pH en de andre variantene. Springvannet i bryggeriet på NMBU hadde en pH på ca. 8,0, og siden sukrose ikke påvirker pH i en løsning gir det grunnlag til å tro at pH i meskevannet for kontrollen lå rundt 8,0.

°Brix ble målt i melkeråstoff, meskevann, vørter og produkt. Figur 9 viser målt °Brix på de ulike tidspunktene for de fire surøl-variantene som ble brygget. Det ble ikke målt °Brix i sukrose til brygging av kontroll-surøl. °Brix måler mengden oppløste stoffer i en løsning, og °Brix kan derfor ikke måles i ren sukrose, men teoretisk vil ren sukrose ha en °Brix på 100°Bx.



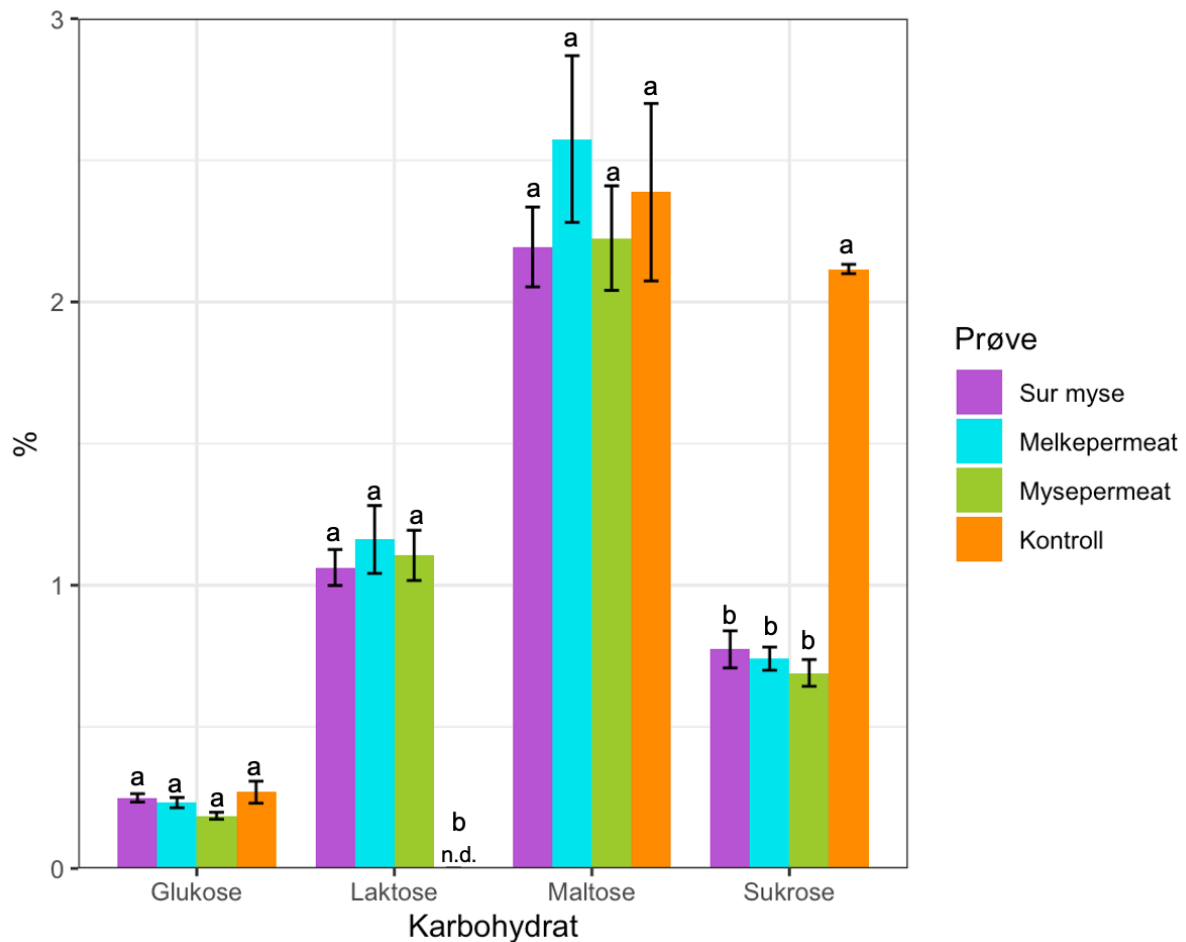
**Figur 9.** °Brix i melkeråstoff, meskevann, vørter og produkt for hver variant. Standardavvik vises med de svarte feillinjene i figuren. Tallene for melkeråstoff er gjennomsnitt av alle leverte batcher ( $n=3$  for sur myse og mysepermeat,  $n=4$  for melkepermeat). Tallene for meskevann, vørter og produkt er gjennomsnitt av alle brygginger bortsett fra parallell 1.1 for mysepermeat ( $n=3$  for sur myse, mysepermeat og kontroll,  $n=4$  for melkepermeat). Stolper innad for hvert tidspunkt med ulik bokstav er signifikant forskjellige ( $P < 0,05$ ). Det ble ikke målt °Brix i sukrose for brygging av kontroll-surøl.

Det var signifikant forskjell i °Brix for alle melkeråstoff. Meskevann til brygging av surøl med sur myse hadde signifikant høyere °Brix enn meskevann til de andre variantene, trolig på grunn av høyere innhold av oppløste stoffer som proteiner og mineraler i meskevannet. Forskjellene



i °Brix jevnet seg ut gjennom bryggingen og det var ikke signifikant forskjell i °Brix i vørter. I produkt var °Brix i surøl med sur myse og melkepermeat signifikant ulike fra °Brix i kontroll-surøl. Surøl med mysepermeat var ikke signifikant forskjellig fra noen av de andre surøl-variantene.

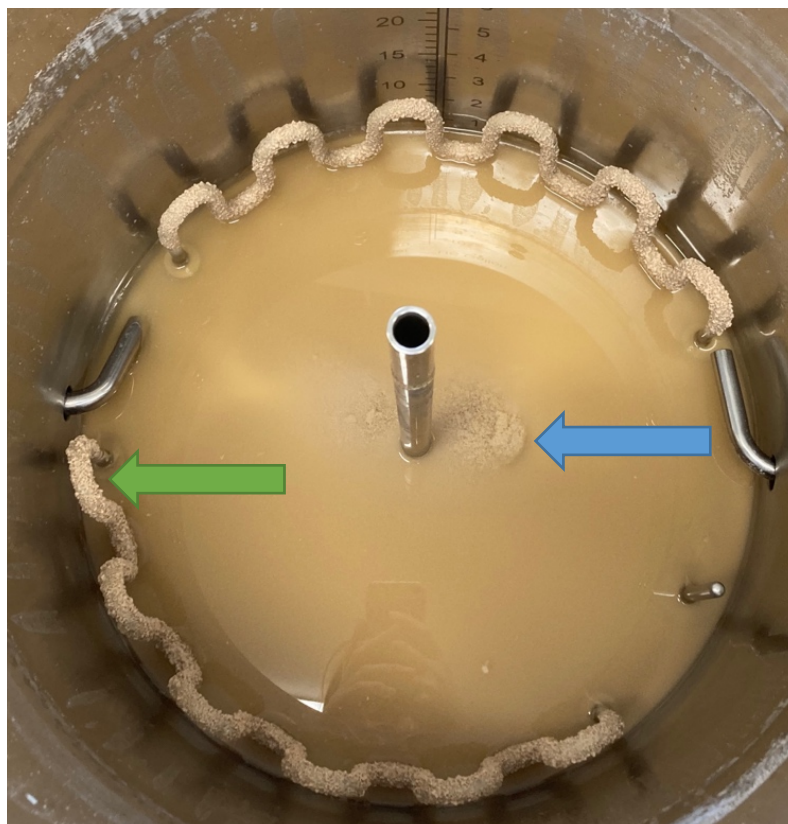
Innhold av glukose, laktose, maltose og sukrose i vørter ble analysert, og resultatet vises i figur 10.



**Figur 10.** Innhold av glukose, laktose, maltose og sukrose i vørter. Standardavvik vises med de svarte feillinjene i figuren.  $n=2$  for sur myse, mysepermeat og kontroll, og  $n=3$  for melkepermeat. Stolper innad for hvert karbohydrat med ulike bokstaver er signifikant forskjellige ( $P < 0,05$ ).

Det var ikke signifikant forskjell i innhold av de ulike karbohydratene i vørtere med melkeråstoff. Det ble ikke detektert laktose i kontroll-vørter, siden den var uten melkeråstoff. Innholdet av sukrose var derimot signifikant høyere i kontroll-vørter, siden den var tilsatt sukrose i stedet for melkeråstoff.

Etter vørterkoking ble vørteren avkjølt i bryggekarer før den ble tappet over på gjæringskar. Under tapping til gjæringskar ble det observert forskjeller i tap av produkt mellom variantene grunnet mye bunnfall. Figur 11 viser bunnen av bryggekarer og varmelementet etter at vørter av sur myse ble tappet over på gjæringskar.

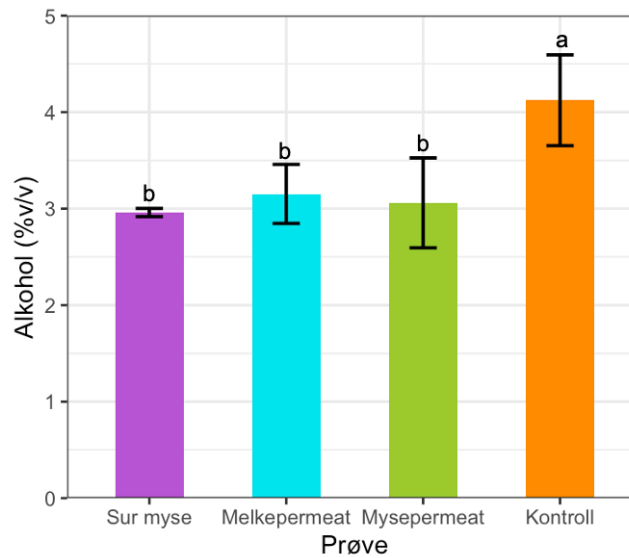


**Figur 11.** Bunn av bryggekarer og varmelementet etter at vørter med sur myse ble tappet over på gjæringskar. Figuren viser påbrenninger på varmelementet, merket med grønn pil. Figuren viser også utfellinger som har gitt bunnfall i bryggekarer, merket med blå pil (Foto: Ingrid Voilås).

Etter brygging av surøl med sur myse var varmelementet dekket med påbrenninger som var vanskelige å fjerne. Slike påbrenninger ble ikke observert ved brygging av de andre surøl-variantene. Det var også betydelig mye mer bunnfall i bryggekarer etter brygging av surøl med sur myse enn det var ved brygging av de andre surøl-variantene.

### 4.3 Produkt

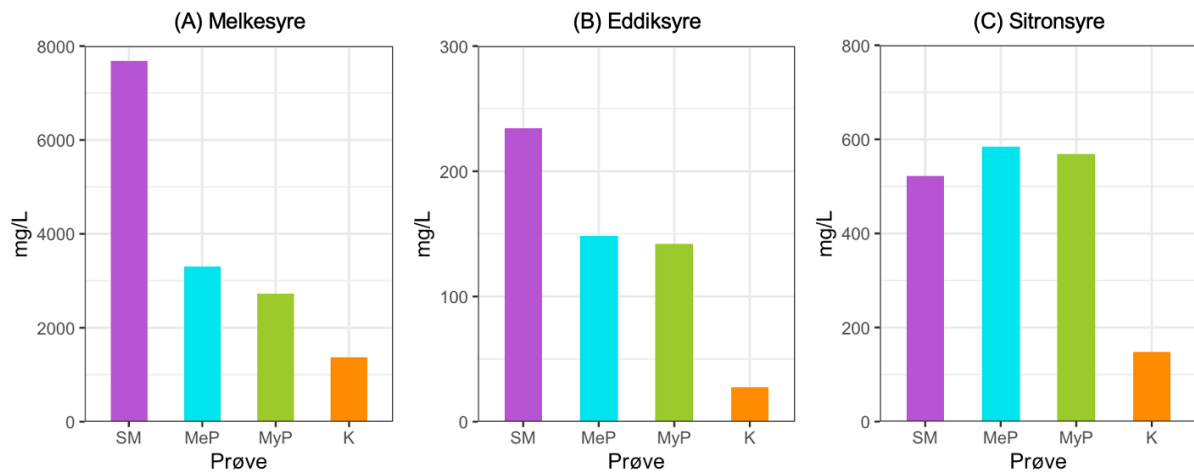
Innhold av alkohol i de ulike variantene av surøl 6 uker etter brygging er vist i figur 12.



**Figur 12.** Innhold av alkohol (% v/v) i produkt. Standardavvik vises med de svarte feillinjene i figuren. Tallene er gjennomsnitt av alle brygg uten parallell 1.1 av mysepermeat ( $n=3$  for sur myse, mysepermeat og kontroll,  $n=4$  for melkepermeat). Stolper med ulik bokstav er signifikant forskjellige ( $P < 0,05$ ).

Innholdet av alkohol (% v/v) var signifikant høyere i kontroll-surøl, med et innhold på litt over 4,0% alkohol. Surøl-variantene med sur myse, melkepermeat og mysepermeat var ikke signifikant forskjellige, og hadde et alkoholinnhold på ca. 3,0%.

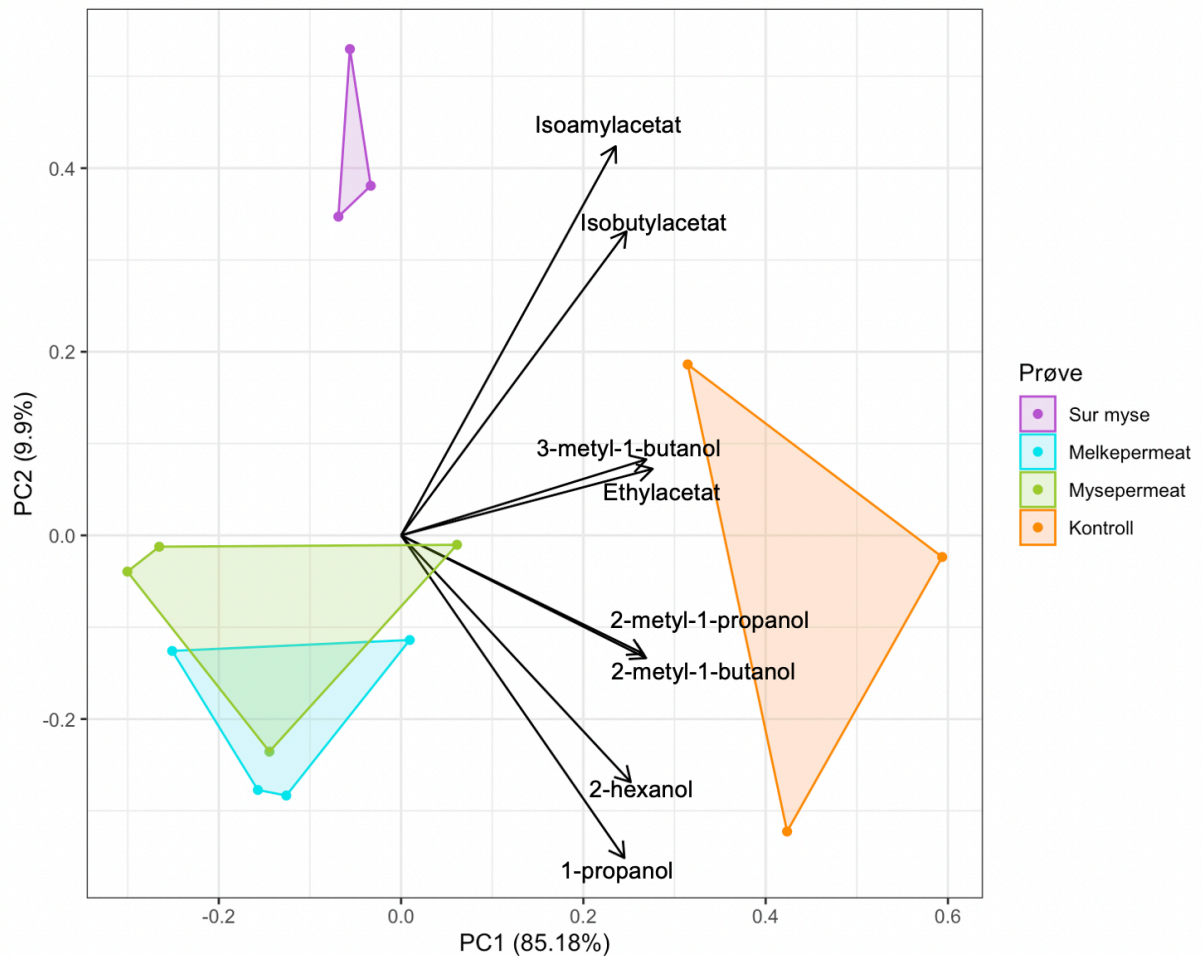
Det ble analysert innhold av organiske syrer i produkt 10 uker etter brygging. Resultatet er vist i figur 13.



**Figur 13.** Innhold av organiske syrer i surøl 10 uker etter brygging. Merk at skalaen for mg/L er ulik for de ulike organiske syrene. (A) Melkesyre; (B) Eddiksyre; (C) Sitronsyre. Resultatet viser kun målinger gjort på surøl fra bryggedag 2 og 3, derav kun et gjentak for hver variant. SM=Sur myse; MeP=Melkepermeat; MyP=Mysepermeat; K=Kontroll.

Kontroll-surøl hadde lavest innhold av alle de organiske syrene blant surøl-variantene. Innholdet av melkesyre og eddiksyre var høyest i surøl med sur myse. Innholdet av sitronsyre var høyere i alle varianter av surøl med melkeråstoff i, enn i kontroll-surøl.

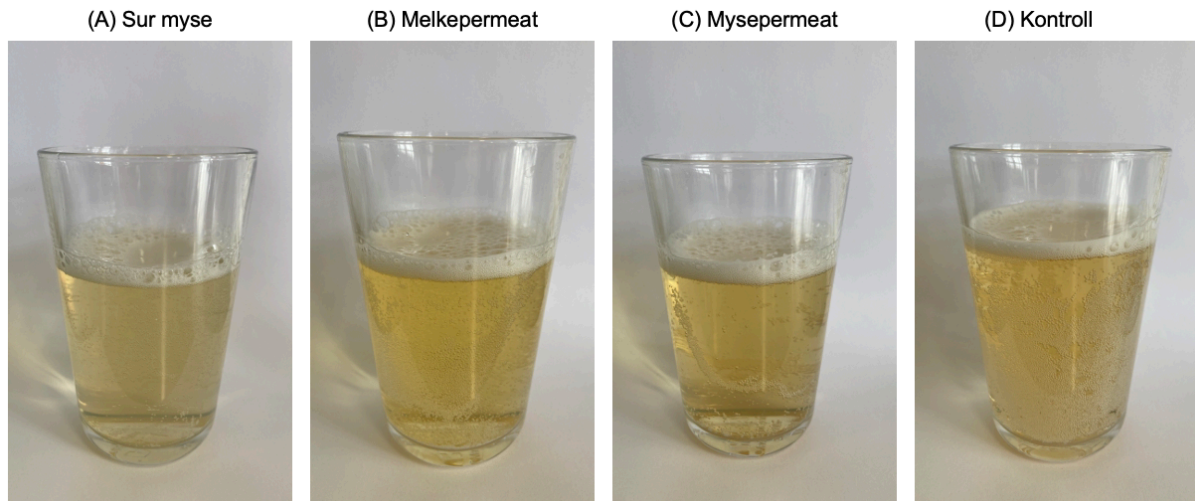
Variasjon i innhold av flyktige forbindelser i surøl ble analysert, og resultatet er vist i figur 14.



**Figur 14.** Variasjon i innhold av flyktige komponenter i produkt av de fire surøl-variantene.  $n=3$  for sur myse og kontroll,  $n=4$  for melkepermeat og mysepermeat. Figuren viser også replikatvariasjon, beskrevet ved principal component analysis (PCA). PC1 forklarer 85,15% og PC2 forklarer 9,9% av variasjonen. Alle flyktige komponenter er signifikant forskjellige i de ulike surøl-variantene ( $P < 0,05$ ). Acetaldehyd, dimetylsulfid og 3-metyl-butanal ble fjernet fra figuren siden de ikke var signifikant ulike i noen av variantene.

Surøl med melkepermeat og surøl med mysepermeat overlapper noe når det gjelder flyktige forbindelser. Surøl med sur myse skiller seg ut fra mysepermeat og melkepermeat, og hadde høyere innhold av isoamylacetat og isobutylacetat enn de andre surøl-variantene. Kontroll-surøl hadde generelt høyere innhold av alle de flyktige forbindelsene enn surøl-variantene med melkeråstoff. P-verdier for ANOVA for flyktige forbindelser i surøl er vist i vedlegg 11.

Figur 15 viser de ulike surøl-variantene, helt over i glass ved en temperatur på 4°C.



**Figur 15.** Surøl ved 4°C helt over i glass. Bildene er tatt rett etter at ølet ble helt over i glasset.

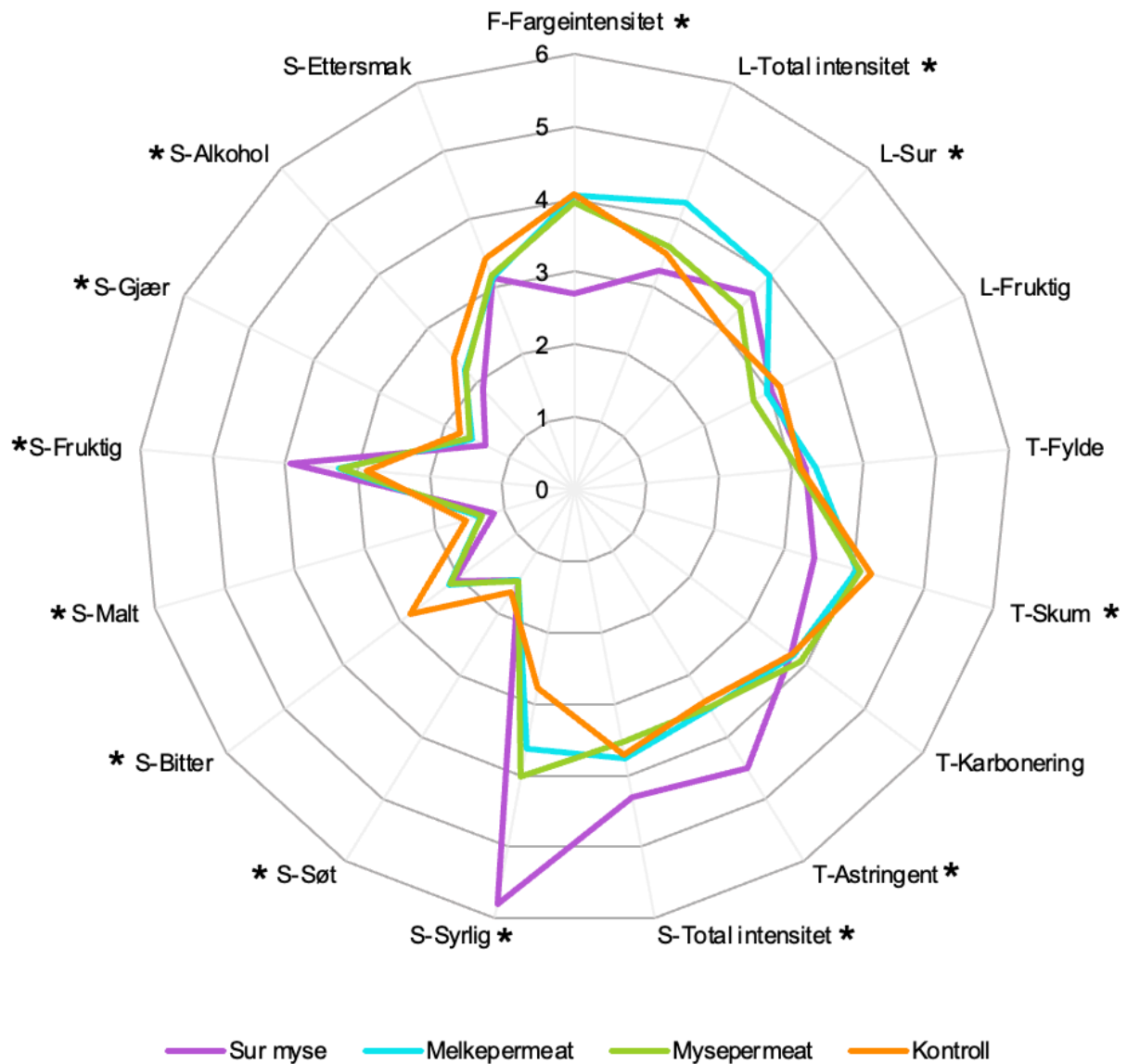
Surøl med sur myse hadde en lysere farge enn de andre variantene, og skummet falt litt fortere sammen etter at ølet ble helt over i glass. Øvrige surøl-varianter var relativt like på skumdannelse. Surøl med melkepermeat var noe gulere i fargen, og kontrollen noe brunere enn surøl-varianten med mysepermeat.

Innholdet av glukose, maltose, laktose og sukrose ble også målt i ferdig produkt. Glukose, maltose og sukrose ble ikke detektert i noen av de ferdige surøl-variantene, noe som tyder på at alt ble omsatt under fermenteringen. Det var ikke signifikant forskjell i innhold av laktose fra vørter til produkt ( $P < 0,05$ ) for noen av surøl-variantene med melkeråstoff i. Det tyder på at laktose ikke var blitt fermentert i ferdig produkt. Laktose ble ikke detektert i produkt av kontroll-surøl. P-verdier for innhold av laktose i vørter mot produkt finnes i vedlegg 13. Endelig innhold av laktose i surøl med melkeråstoff var  $1,37 \pm 0,07$  %. Det var ikke signifikant forskjell ( $P < 0,05$ ) i laktoseinnhold mellom surøl-variantene med melkeråstoff.

Etter 10 ukers modning ble bryggene fra bryggedag 2 og 3 igjen analysert for innhold av alkohol, karbohydrater og melkesyre for å se om det hadde skjedd noen endringer fra 6 til 10 ukers modning. I tillegg ble pH målt. Det hadde ikke skjedd noen signifikante endringer på noen analyser, og det er derfor ikke vist noen resultater fra analysene.

### 4.3.1 Sensorisk profilering

Det ble gjennomført en sensorisk profilering av surøl ved bruk av en skala fra 1 til 9, der 1 var lite av egenskapen og 9 var mye av egenskapen. Diagrammet i figur 16 viser den sensoriske profilen for de fire ulike surøl-variantene.

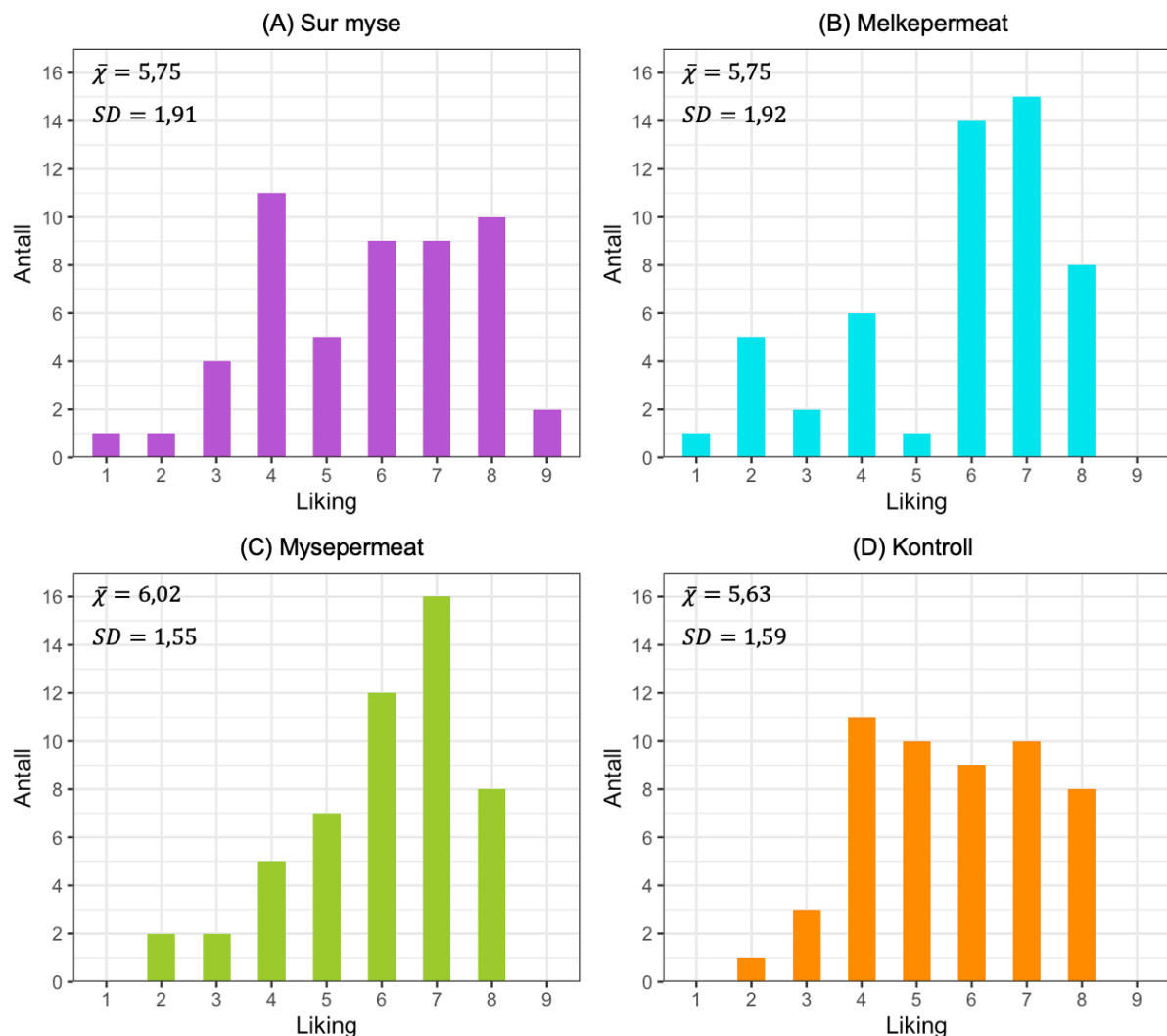


**Figur 16.** Spindelveddiagram for sensorisk profilering av surøl. Tallene er gjennomsnitt av alle brygg uten parallell 1.1 av mysepermeat ( $n=3$  for sur myse, mysepermeat og kontroll,  $n=4$  for melkepermeat) og gjennomsnitt av alle dommere ( $n=10$ ). F=Farge. L=Lukt. T=Tekstur. S=Smak. Egenskaper merket med \* betyr signifikant forskjell ( $P < 0,05$ ) mellom minst to varianter av surøl for den aktuelle egenskapen. P-verdier finnes i vedlegg 14. Egenskapene maltlukt, parfymelukt, gjærlykt og parfymesmak ble utelatt fra spindelvedsplotet, ettersom de ikke var signifikant forskjellige i noen av variantene.

Fargeintensitet i surøl med sur myse var signifikant lavere enn i de andre variantene. Luktintensitet var signifikant høyest i surøl med melkepermeat. Skumdannelsen var signifikant lavere i surøl med sur myse. Astringent, total intensitet av smak og syrlig smak var signifikant høyere i surøl med sur myse enn i de andre variantene. Bittersmak og maltsmak var signifikant høyere i kontroll-surøl. Ingen av egenskapene for smak var signifikant forskjellige mellom surøl med melkepermeat og surøl med mysepermeat.

#### 4.3.2 Aksept-test

Det ble gjennomført en aksept-test med surøl fra bryggedag 4 og 5. Fordelingen av liking fra 1 til 9, der 1 var misliker ekstremt og 9 var liker ekstremt, er vist i figur 17.

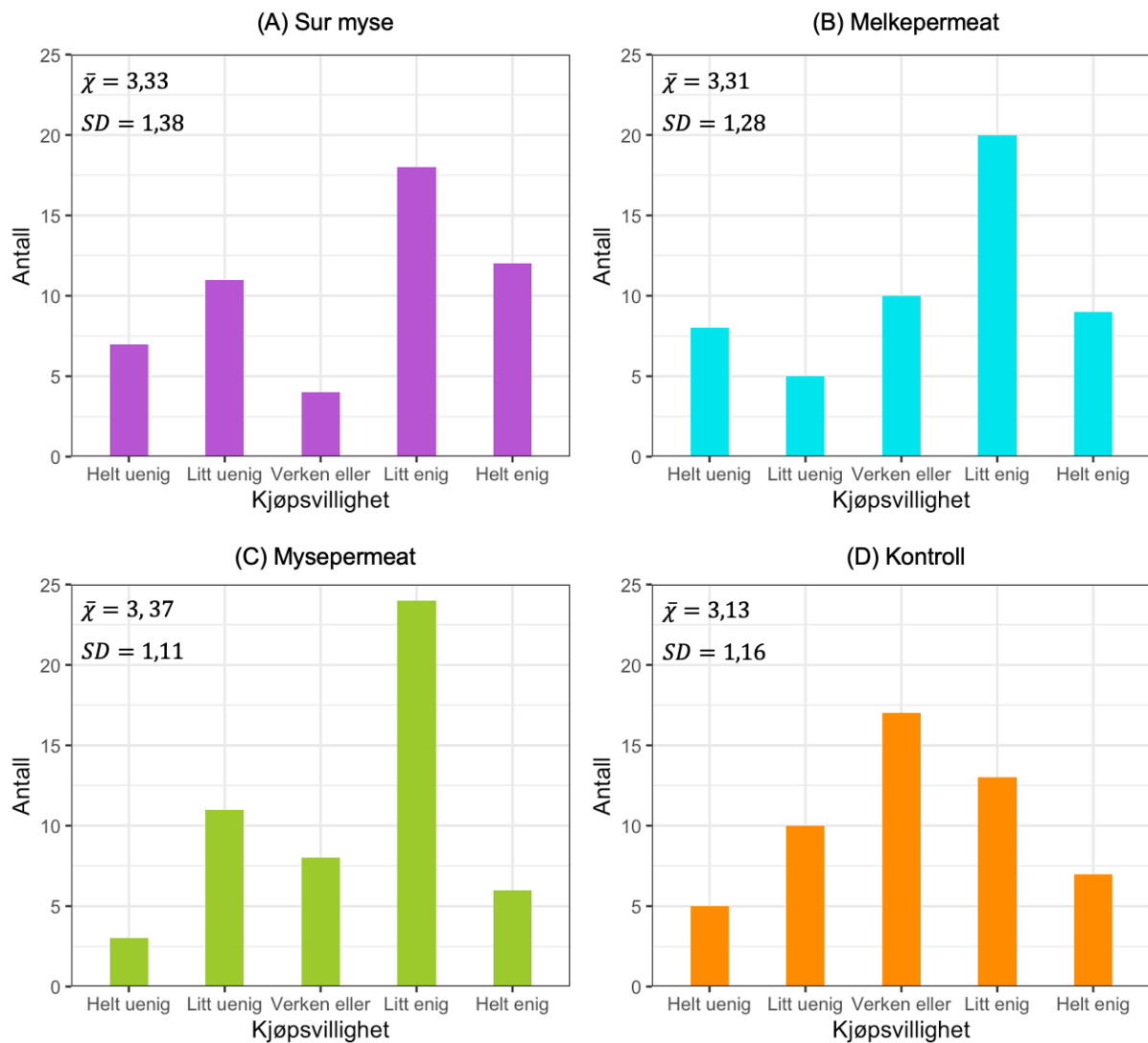


**Figur 17.** Fordeling av liking for surøl.  $\bar{x}$  viser gjennomsnittlig aksept-verdi for hvert surøl. SD=Standardavvik. Benyttet skala gikk fra 1 (misliker ekstremt) til 9 (liker ekstremt). Surøl fra bryggedag 4 og 5 ble benyttet, og antall deltagere var  $n=52$ . Ingen av variantene var signifikant forskjellige på liking ( $P < 0,05$ ). (A) Sur myse; (B) Melkepermeat; (C) Mysepermeat; (D) Kontroll.



Surøl med mysepermeat fikk den høyeste gjennomsnittlige likingen blant de fire variantene, og kontroll-surøl fikk den laveste. Surøl med sur myse og surøl med melkepermeat fikk samme vurdering. Det var ikke signifikant forskjell mellom liking for noen av surøl-variantene ( $P > 0,05$ ).

Forbrukerne ble også spurt om de ville kjøpt hvert enkelt produkt. Fordelingen av kjøpsvillighet fra «helt uenig» til «helt enig» er vist i figur 18.



**Figur 18.** Fordeling av kjøpsvillighet for hvert surøl. Hver stolpe viser antall forbrukere som svarte det aktuelle alternativet for hver enkelt prøve. Surøl fra bryggedag 4 og 5 ble benyttet, og antall deltagere var  $n=52$ . (A) Sur myse; (B) Melkepermeat; (C) Mysepermeat; (D) Kontroll. Figuren viser også gjennomsnitt og standardavvik for kjøpsvillighet for hver surøl-variant, der «Helt uenig» tilsvarer 1 og «Helt enig» tilsvarer 5. Ingen av variantene var signifikant forskjellige på kjøpsvillighet ( $P < 0,05$ ).

Fleste forbrukere svarte at de var «litt enig» i at de ville kjøpe surøl med melkeråstoff i, og «verken enig eller uenig» for kontroll-surøl. Gjennomsnittlig kjøpsvillighet var høyest for surøl med mysepermeat, og det var også denne varianten som hadde det minste standardavviket. Kjøpsvilligheten for kontroll-surøl var lavest, og surøl med sur myse hadde størst standardavvik. Det var ikke signifikant forskjell i kjøpsvillighet for noen av variantene ( $P < 0,05$ ).

## 5. Diskusjon

I denne studien ble det brygget surøl der deler av meskevannet ble byttet ut med ulike laktoseholdige overskuddsråstoff fra meieriindustrien. Hensikten med studien var å se hvordan kvaliteten på de ulike melkeråstoffene påvirket smaksprofilen på surøl. Målet var også å finne ut om, og hvordan melkeråstoffet ble omsatt under fermenteringen, med fokus på laktosen. Det ble benyttet tre ulike melkeråstoff fra industrien; sur myse fra produksjon av cottage cheese, melkepermeat fra ultrafiltrering av melk og retentat fra nanofiltrering av mysepermeat, der mysepermeat stammet fra ultrafiltrering av søt ostemyse. For sammenlikning ble det laget et kontroll-surøl uten melkeråstoff, der sukkerinnhold fra laktose ble erstattet med sukrose.

### 5.1 Kvalitet og sammensetning av melkeråstoff

Melkeråstoffene som ble benyttet i denne studien hadde blitt behandlet ulikt før de ble mottatt i pilotanlegget på KBM, NMBU. Sur myse ble hentet ut fra en strøm der det også befant seg noe skyllevann fra produksjonen, og den var derfor noe fortynnet. Den eneste behandlingen sur myse hadde fått på meieriet var fjerning av ostestøv. Normalt brukes sidestrømmen med sur myse til dyrefôr, og den blandes derfor med strømmer av andre restråstoffer på meieriet. Sur myse til brygging av SM-1 var pasteurisert i pilotanlegget på KBM, NMBU i forkant av bryggingen, noe de andre batchene av sur myse ikke var. Pasteurisering i forkant av mesking så ikke ut til å ha noen påvirkning på surølet, da meskesteget i praksis er en LTLT-pasteurisering på 63°C i 30 minutter (Bylund, 1995a). Melkepermeat stammet fra ultrafiltrering av skummetmelk, og hadde som forventet et laktoseinnhold på ca. 4,9% (Kalab et al., 1991). Mysepermeatet som ble benyttet i denne studien ble levert som et retentat etter nanofiltrering av mysepermeat, der mysepermeatet stammet fra ultrafiltrering av søt ostemyse. Mysepermeatet hadde derfor et laktoseinnhold på ca. 18,3%, som var langt høyere enn melkepermeat. Grunnet oppkonsentreringen var også innhold av protein, aske og kalsium høyere i mysepermeat enn i melkepermeat. For å vurdere de ulike melkeråstoffene opp mot hverandre, og se hvorvidt de egnet seg til ølbrygging, ble det brukt et volum av melkeråstoff som totalt ga 1,7% laktose i meskevannet. Siden laktoseinnholdet i sur myse var lavere enn i de to andre melkeråstoffene ble det tilsatt et større volum av sur myse til meskevannet for brygging av surøl med sur myse. Det resulterte i et signifikant høyere innhold av protein, aske og kalsium i meskevann med sur myse, i forhold til meskevann til de andre variantene. Meskevann med melkepermeat og mysepermeat var relativt like på innhold av protein, aske og kalsium.

Det var flere forskjeller mellom melkeråstoffene som ble benyttet i denne studien. Sett i forhold til hvor mye melkeråstoff som ble benyttet i meskevannet, var det relativt små forskjeller mellom melkepermeat og mysepermeat. Den største forskjellen var at det var melkesyre i mysepermeat og ikke melkesyre i melkepermeat. Grunnet innhold av melkesyre i mysepermeat var pH noe lavere i mysepermeat enn i melkepermeat. Melkepermeat blir ansett å ha høyere kvalitet enn mysepermeat siden melkepermeat gjennomgår færre steg i prosessen fra melk til permeat (Bylund, 1995b). Før dannelsen av mysepermeat tilsettes melken løpe, syrekultur eller syrer, mens melk til filtrering ikke blir tilsatt noen av delene. Det innebærer at melkepermeat ikke inneholder melkesyre over de nivåer som naturlig finnes i melk, og heller ikke er utsatt for proteinnedbrytning som følge av tilsetning av starterkultur (Bylund, 1995b). Ulikheter i fremstillingsprosess fører også til at den organoleptiske smaksprofilen til melkepermeat er noe annerledes enn den til mysepermeat (O'Donoghue and Murphy, 2023). Som forventet var pH i sur myse lavere enn pH i melkepermeat og mysepermeat, grunnet syrefelling ved produksjon av cottage cheese (Bansal and Bhandari, 2016). I forhold til mengden melkeråstoff som ble benyttet i meskevannet var også innholdet av melkesyre høyere i meskevann med sur myse enn i meskevann med melkepermeat og mysepermeat.

Nanofiltrering av mysepermeat blir gjort industrielt som en del av prosessen med å tørke mysepermeat til permeatpulver. Nanofiltrering brukes for å redusere innholdet av mineraler og øke tørrstoffinnholdet i mysen. Det var derfor forventet at mysepermeat skulle ha lavere innhold av mineraler i tørrstoffet enn melkepermeat, siden mineraler er små nok til å passere gjennom membranen som brukes til nanofiltrering (Bylund, 1995b). En studie gjort av Suárez et al. (2006) undersøkte hvordan nanofiltrering kunne brukes for å fjerne mineraler fra permeat av myse og melk. Resultatene fra studien til Suárez et al. (2006) viste at nanofiltrering av søt mysepermeat kunne redusere innholdet av aske og mineraler med opptil 27%. Innholdet av aske i melkepermeat og mysepermeat var ikke signifikant forskjellig i vår studie, sett ut fra mengden av melkeråstoff som ble brukt i meskevannet. Det vil si at det ikke ble funnet noen variasjon i innhold av mineraler mellom melkepermeat og mysepermeat i meskevann i vår studie. Grunnen til at mysepermeat ble levert som et retentat fra nanofiltrering var at det var det mest økonomisk lønnsomme tidspunktet for meieriet å hente ut produktet fra prosesslinjen på. Oppkonsentrering av permeat gjør volum til transport mindre, noe som videre vil føre til lavere transportkostnader.

I forkant av brygging ble innhold av laktose i melkeråstoff målt ved bruk av FTIR fremfor HPLC. Årsaken var at metoden for HPLC ikke var operativ når bryggingen skulle starte. Melkeråstoffene ble likevel analysert med HPLC i etterkant, for å kunne sammenlikne laktoseinnholdet i melkeråstoffene med vørter og ferdig produkt. Ved å sammenlikne HPLC og FTIR kom det frem at FTIR viste et høyere innhold av laktose i alle melkeråstoffer enn det HPLC gjorde. Høyere innhold av laktose i melkeråstoff ga større feilmargin mellom FTIR og HPLC, og høyest var den for mysepermeat. Det var dermed ingen lineær sammenheng mellom resultatene målt med de forskjellige metodene. Dersom melkeråstoffet hadde blitt analysert med HPLC i forkant av bryggingen ville trolig innholdet av laktose i de ulike surøl-variantene blitt mer nøyaktig. Feilmarginen mellom laktosemålinger gjort ved FTIR og HPLC førte til at det faktiske laktoseinnholdet i meskevannet ble noe lavere enn planlagt, men det var ikke signifikant forskjell mellom de ulike variantene.

For å sjekke at sukkerinnholdet i meskevannet var likt før malttilsetning ble meskevannet målt med refraktometer. Meskevann med melkepermeat, mysepermeat og kontroll var ikke signifikant forskjellig fra hverandre. Meskevann med sur myse hadde derimot signifikant høyere °Brix enn meskevann med de andre variantene. Det skyldes sannsynligvis at et refraktometer måler total mengde oppløste stoffer i gram per 100 g løsning (Son et al., 2009). Signifikant høyere °Brix i meskevann med sur myse kunne derfor være en indikasjon på at innholdet av mineraler og protein var høyere i meskevann til sur myse enn det var for de andre variantene. Det stemte overens med innholdet av tørrstoff, proteiner og mineraler som ble analysert i sur myse.

## 5.2 Observasjoner under brygging

Ved brygging av surøl med sur myse ble det observert mye påbrenninger på varmeelement. Vørter av sur myse hadde også mye bunnfall i forhold til det som ble observert ved brygging av de andre surøl-variantene. I en studie gjort av Chandrapala et al. (2015) ble det undersøkt hvordan de fysiske og kjemiske egenskapene til sur myse ble påvirket av ulike temperaturer mellom 15°C og 90°C, og pH-verdier fra 3,0 til 10,5. I studien (Chandrapala et al., 2015) ble først ble pH i sur myse justert ved bruk av 0,1 M NaOH eller 0,1 M HCl. Deretter ble prøvene satt på vannbad ved 15, 25, 40 eller 90°C i 20 minutter, for så å bli sentrifugert ved 22 000 x g i 20 minutter. Etter sentrifugering ble supernatanten analysert, og viste at varmebehandling av sur myse ved 90°C ga økt grad av proteinaggregering (Chandrapala et al., 2015). Under

bryggingen i vår studien ble vørteren kokt i 60 minutter. Funnene til Chandrapala et al. (2015) gir derfor grunn til å tro at påbrenninger på varmeelement og utfellinger under brygging bestod av utfelte proteiner. Studien til Chandrapala et al. (2015) viste også at det var en proporsjonal nedgang i innhold av oppløst kalsium og fosfat når sur myse ble behandlet ved 90°C. På grunnlag av funn fra Chandrapala et al. (2015) sin studie, bestod trolig påbrenningene og utfellingene fra bryggingen i vår studie også av kalsiumfosfat. Det ville vært interessant å gjøre analyser for å finne ut hva påbrenningene og bunnfallet bestod av, men det ble ikke gjort i denne studien siden det ikke ble tatt ut prøver av påbrenninger eller bunnfall. Det ville også vært interessant å analysere innholdet av protein og kalsium i ferdig surøl, for å se hvor mye av protein og kalsium fra sur myse som faktisk ble felt ut under bryggingen. Det ble ikke gjort i denne studien siden fokuset lå på hvorvidt laktosen fra melkeråstoffet ble fermentert i surølet, og hvordan fermentering av laktosen påvirket smaksprofilen på surølet. Viktigheten av mineraler i øl, og hvordan mineralene fra melkeråstoff har påvirket det ferdige surølet blir diskutert i neste kapittel.

For å få bort påbrenningene på varmeelementet måtte det skrubbes hardt og lenge med børste og svamp. Bryggekarer fikk stå med basisk vaskemiddel og sirkulasjon av vann ved ca. 60°C en times tid før skrubbing, men det så ikke ut til å ha noen særlig effekt på å få bort påbrenningene. Sett i et industrielt perspektiv vil det gjøre ølbrygging med sur myse problematisk, da det å bruke lang tid på vask fører til lavere effektivitet i produksjonen og dermed lavere inntekter. Melkepermeat og mysepermeat viste ikke slike påbrenninger på bryggeutstyret, og vil derfor være mer egnet til ølbrygging i industriell skala.

For at sur myse skal ha noe potensiale innen ølbrygging i storskala må den behandles slik at kraftige påbrenninger blir redusert. Sur myse hadde trolig vært bedre egnet dersom den hadde blitt ultrafiltrert i forkant, for å minske innholdet av proteiner og mineraler. Ultrafiltrering av sur myse har vist seg å være utfordrende siden membranen som brukes fort blir tett. I en studie gjort av Kuo and Cheryan (1983) ble det undersøkt hvordan temperatur, pH og sentrifugering påvirket ulike faktorer under filtrering av sur myse. Studien til Kuo and Cheryan (1983) viste at ultrafiltrering av sur myse var mer effektiv dersom pH ble justert til pH 7 eller pH 2-3 i forkant av ultrafiltreringen, og at selve filtreringen ble gjort ved 50°C fremfor 30°C eller 40°C. Sentrifugering i etterkant av pH-justering, før filtrering, viste seg også å være hensiktsmessig for å minske tetting av membran (Kuo and Cheryan, 1983).

En annen studie gjort av Crowley et al. (2019) så på hvordan hydrosyklonteknologi kunne benyttes for å utvinne kalsiumfosfat fra sur myse. Fra før av brukes blant annet hydrosyklonteknologi til å utvinne stivelse fra mel (Crowley et al., 2019). I studien til Crowley et al. (2019) ble ultrafiltrert sur myse fra produksjon av cottage cheese og gresk yoghurt nøytralisert til pH 7,0 med 40% NaOH for å felle ut kalsiumfosfat, ved en temperatur på 60°C. Deretter ble hydrosyklonteknologi benyttet for å separere mineraler fra permeatet, og sortere mineralene etter størrelse. Mineralene ble tørket til melkemineralpulver, som i hovedsak bestod av kalsiumfosfat. Melkemineralpulver kan brukes som ingrediens i ulike matvarer (Crowley et al., 2019). Det gjenstående produktet fra prosessen er i hovedsak laktose, som videre kan benyttes til for eksempel ølbrygging. Ved å behandle sur myse på den måten, i forkant av brygging, vil trolig kraftige påbrenninger på bryggeutstyr og mengden bunnfall bli begrenset. Med andre ord er det sannsynligvis mulig å bruke sur myse i ølbrygging, den må bare behandles på andre måter i forkant av bryggingen.

Alle fire batcher av surøl som ble brygget på bryggedag 1 hadde lavere innhold av alkohol og lavere °Brix i både vørter og produkt, sammenliknet med surøl som ble brygget de andre bryggedagene. Det kan være forklaringen på at noen av resultatene i resultatdelen har større standardavvik, siden alle brygg bortsett fra MyP-1.1 likevel ble inkludert i studien. MyP-1.1 ble fjernet siden det var en av to paralleller av samme batch med mysepermeat. Alle brygg ble brygget etter resepten i denne studien (tabell 3). Meskingen på bryggedag 1 var trolig årsaken til lavere alkoholinhold og lavere °Brix i det ferdige surølet. En mulig forklaring på det lave utbyttet er at knusingsgraden av maltet kan ha vært mindre enn planlagt og at utbyttet fra maltet til vørteren derfor ble lavere. En annen faktor kan ha vært lavere sirkulasjon i bryggekarret, og dermed lavere utbytte fra maltet.

### 5.3 Smaksprofil på surøl

Surøl brygget på sur myse viste mer enn dobbelt så høyt innhold av melkesyre sammenliknet med de andre surøl-variantene. Innholdet av eddiksyre var også høyest i surøl med sur myse. Det var forventet at sur myse skulle gi et surøl med mer syrlig smak enn de andre variantene, på grunn av den lave pH-verdien på melkeråstoffet i utgangspunktet. Lavere pH i sur myse resulterte i lavere pH i både vørter og surøl brygget med sur myse. Både melkesyre og eddiksyre i surøl med sur myse lå over terskelverdien for smak, på henholdsvis 400 og 175 mg/L. Det kan forklare hvorfor surøl med sur myse ble vurdert som svært mye surere enn de andre surøl-

variantene. Høye konsentrasjoner av melkesyre gir en syrlig smak som grenser mot skarp og bitter (Da Conceicao Neta et al., 2007). Det er mulig at sur myse hadde egnet seg bedre til ølbrygging dersom det ble benyttet en melkesyrebakterie som produserte mindre melkesyre, ettersom innholdet av melkesyre i sur myse var høyt allerede.

Brygging av surøl med melkepermeat og mysepermeat ga produkter med lik smaksprofil. Surøl med melkepermeat hadde høyere luktintensitet enn de andre variantene, ellers var de sensoriske forskjellene mellom surøl med melkepermeat og surøl med mysepermeat minimale. Det kan tyde på at variasjonen i kvalitet mellom mysepermeat og melkepermeat ikke har noen stor betydning ved brygging av surøl. Ved produksjon av surøl dannes det likevel melkesyre fra melkesyrebakteriene, så litt melkesyre til stede fra start vil ikke utgjøre noen signifikant forskjell i det ferdige produktet.

Astringens er en kompleks sensorisk egenskap som kjennetegnes av en tørr, ru og prikkende følelse i munnen, og kjennes ofte etter svelging av innholdet (Habschied et al., 2021). Det er flere faktorer som kan gi mer astringens i et produkt, blant annet lav pH, mineraler, organiske syrer og dehydrerende midler som etanol. Surøl med sur myse hadde lavere pH og inneholdt mer organiske syrer enn de andre variantene. Det var derfor forventet at surøl med sur myse skulle ha mer astringent smak enn de andre surøl-variantene, og det viste seg også å være tilfellet ut fra den sensoriske profileringen.

Mineraler spiller en viktig rolle for smaksprofil og fargeutvikling i øl. Ved bruk av melkeråstoff til brygging av surøl, ble det tilført enda mer mineraler til meskevannet enn det ville blitt ved bruk av rent springvann. Det skyldes at melkeråstoffene inneholder større mengder av blant annet kalsium, magnesium og fosfor. Sur myse inneholder mer enn dobbelt så mye kalsium som det melkepermeat og mysepermeat gjør (Jelen, 2011, Menchik et al., 2019), og det stemmer også overens med det som ble observert i melkeråstoffene brukt i denne studien. Det var forventet at bruk av sur myse kunne gi utfordringer under brygging grunnet høyt innholdet av mineraler, spesielt med tanke på kalsium (Montanari et al., 2009).

Kalsium spiller en spesielt viktig rolle i ølbrygging. Under meskingen danner kalsium uløselige komplekser med fosfat, slik at kalsiumfosfat felles ut (Montanari et al., 2009). Dermed senkes pH under meskingen. Under bryggingen dannes det også komplekser mellom kalsium og syregruppen på proteiner slik at de feller ut. Det fører til at det frigjøres  $H^+$  sånn at pH i vørteren



senkes. Innholdet av kalsium, fosfat og protein i den løselige fasen reduseres dermed under bryggingen (Montanari et al., 2009). På grunnlag av det var det trolig protein og kalsiumfosfat som hadde festet seg på varmeelementet ved brygging av surøl med sur myse, som diskutert tidligere.

Innholdet av protein, kalsium og melkesyre var høyest i meskevann til brygging av surøl med sur myse, som følge av sammensetningen til sur myse. Fargeintensiteten på surøl med sur myse ble vurdert som signifikant lavere, altså mindre utviklet, enn fargen i de andre surøl-variantene. Fargen på øl skyldes i stor grad produkter av maillardreaksjoner (Briggs et al., 2004a), der reduserende sukkere reagerer med primære aminogrupeer og forårsaker bruning (BeMiller and Huber, 2017). Maillardreaksjoner påvirkes av både temperatur, tid og pH. Reaksjonene skjer raskere når det tilføres varme, og lavere pH senker reaksjonsfarten (BeMiller and Huber, 2017). Tid spiller også inn på maillardreaksjonene, og lenger tid ved høyere temperatur gir mer bruning (BeMiller and Huber, 2017). Lavere fargeintensitet på surøl med sur myse sammenliknet med de andre surøl-variantene skyldes trolig lav pH under mesking og vørterkoking. Det kan ha ført til mindre fargeutvikling grunnet mindre forekomst av maillardreaksjoner. Lav pH i vørter med sur myse skyldes høyt innhold av melkesyre, men også at pH ble senket ytterligere på grunn av utfelling av kalsium og protein under vørterkoking, som nevnt tidligere.

Analyse av flyktige komponenter i surøl viste at kontroll-surøl uten melkeråstoff hadde signifikant høyere innhold av flyktige komponenter enn de øvrige surøl-variantene med melkeråstoff. Kontroll-surøl inneholdt mer av høyere alkoholer som 2-metyl-1-butanol og 3-metyl-1-butanol. Disse er kjent for å gi alkoholsmak i øl (Yonezawa and Fushiki, 2002, Pires et al., 2014). Ifølge den sensoriske profileringen hadde kontroll-surøl uten melkeråstoff mer smak av alkohol og mer ettersmak, enn surøl-variantene med melkeråstoff. Flyktige komponenter som 2-metyl-1-butanol, 3-metyl-1-butanol og 2-metyl-1-propanol er produkter som stammer fra fermentering av *S. cerevisiae* (Kobayashi et al., 2008). Siden kontroll-surøl uten melkeråstoff ble tilsatt sukrose i stedet for laktose har *S. cerevisiae* hatt mer sukker å fermentere i kontrollen enn i surøl-variantene med melkeråstoff. Endelig alkoholinnhold i kontrollen var derfor rundt 4,0%, mens surøl-variantene med melkeråstoff fikk et endelig alkoholinnhold på ca. 3,0%. Det kan være forklaringen på hvorfor innholdet av flyktige komponenter var høyest i kontroll-surølet. For å få resultater som var bedre sammenliknbare rundt innhold av flyktige komponenter og alkohol ville det trolig vært bedre å lage et kontroll-surøl som kun inneholdt malt, og ingen ekstra sukkerkilde. Da ville ikke *S. cerevisiae* hatt ekstra

sukker å fermentere. Melkesyrebakterien som ble brukt i denne studien, *Lb. plantarum*, er fakultativt heterofermentativ. Det vil si at den i hovedsak danner melkesyre når den fermenterer glukose, og i tillegg produserer mindre mengder av karbondioksid og etanol eller melkesyre (Todorov and Franco, 2010). Ved å ikke tilsette sukrose til kontroll-surølet ville de ulike variantene sannsynligvis ende opp med en mer lik alkoholprosent og mer likt innhold av flyktige smakskomponenter, ettersom *Lb. plantarum* ikke har noen særlig stor påvirkning på alkoholprosent.

Det ble gjennomført sensorisk profilering og aksept-test etter henholdsvis 6 og 7 uker i denne studien. Trolig ville smaksprofilen på ølet endret seg dersom produktet fikk modne lenger. En lenger modning kunne gitt produktene mer kompleksitet i smaken (Tonsmeire, 2014b). Når det brukes samgjæring mellom gjær og melkesyrebakterie, kan det utvikles andre smaker enn det som dannes ved å bruke gjær eller melkesyrebakterier alene (Bossaert et al., 2019). Det kunne derfor vært interessant å gjøre flere runder med sensorisk profilering for å se om smaksprofilen utviklet seg. Hvorvidt melkeråstoff bidrar til at surølet egner seg mer eller mindre til modning ville også vært interessant å finne ut av.

Tilsetning av melkeråstoff til surøl har uten tvil hatt en innvirkning på smaksprofilen til ølet. Fra aksept-testen så det ut til at det var en positiv utvikling, som gjorde at flere konsumenter var interessert i ølet. Å utvikle surøl i en slik retning kan åpne opp for å lage en ny nisje, der det kan eksperimenteres med smaker og råstoffer for å utvikle nye spennende surøl-varianter. At melkeråstoffet har påvirket smaksprofilen på surølet er å anse som positivt. Dersom det ikke hadde hatt noen innvirkning på smaksprofilen, ville det ikke vært noen hensikt i å tilsette melkeråstoff i det hele tatt.

#### 5.4 Valg av gjær og melkesyrebakterie

I følge Tonsmeire (2014c) er definisjonen på surøl blant annet at ølet har høyere innhold av organiske syrer, og derfor har en lavere pH mellom 3,1 og 3,9. Ølet som ble produsert i denne studien hadde en endelig pH på ca. 3,5, som vil si at studien lyktes med å produsere surøl med melkeråstoff. I dette forsøket ble det brukt en gjær av arten *S. cerevisiae*, som er den mest brukte gjæren innen ølbrygging (Pires and Brányik, 2015a). Den kan fermentere mange ulike sukkerarter som glukose, fruktose, maltose, sukrose og maltotriose. På grunn av manglende  $\beta$ -galaktosidaseaktivitet kan den ikke fermentere laktose (Stewart, 2014). For at laktosen også

skulle bli fermentert ble *Lb. plantarum* tilsatt i vørteren. *Lb. plantarum* ble valgt fordi den har god toleranse for etanol og i hovedsak danner melkesyre under fermentering (Succi et al., 2017). I tillegg danner den andre komponenter under fermentering som bidrar til å gi ølet karakteristisk smak, men likevel holde smaken «ren» (Bossaert et al., 2019).

Det var ikke signifikant forskjell i innhold av laktose mellom vørter og produkt for noen av surøl-variantene. Det tyder på at laktosen ikke ble fermentert slik som det var tenkt ut fra forsøksoppsettet. I følge Todorov and Franco (2010) er *Lb. plantarum* en melkesyrebakterie som fermenterer laktose, i tillegg til at den fermenterer glukose, maltose og sukrose. Teknisk salgssjef Andrew Paterson i Lallemand Brewing (e-post, 28. april 2023) bekrefter at den stammen av *Lb. plantarum* som brukes i deres WildBrew Sour Pitch, kan fermentere laktose. Siden det var den samme kommersielle WildBrew Sour Pitch som ble brukt i vår studie, var det forventet at både glukose, maltose, sukrose og laktose skulle vært fermentert i det ferdige produktet. Innhold av melkesyre og eddiksyre i produktet økte, og pH sank som følge av syreproduksjonen. Det tyder på at melkesyrebakterien fermenterte de andre sukkerartene i vørteren, men ikke laktosen. Alle variantene av surøl hadde en endelig pH-verdi rundt 3,5, der varianten med sur myse hadde den signifikant laveste pH-verdien.

Succi et al. (2017) gjennomførte en studie der ulike stammer av *Lb. plantarum* ble undersøkt for deres evne til å overleve de pH-verdier og etanolkonsentrasjoner som vanligvis finnes i vin. Vin har ofte lav pH og høyt innhold av etanol, og er derfor sammenliknbart med miljøet i surølet som ble brygget i vår studie. Studien til Succi et al. (2017) fant ut at vekst av *Lb. plantarum* avtok betydelig ved pH-verdi under 4,0. Det kan derfor tyde på at miljøet i modnet surøl ble for surt til at *Lb. plantarum* kunne vokse, og at laktosen derfor ikke var blitt fermentert i det ferdige produktet.

I en studie gjort av Dysvik et al. (2020a) ble det undersøkt hvordan ulike melkesyrebakterier responderte på ulike bryggerelaterte stressfaktorer i samgjæring med *S. cerevisiae*. De bryggerelaterte stressfaktorene som ble undersøkt var pH, innhold av etanol og innhold av  $\alpha$ -syrer fra humle. Hver enkelt faktor ble undersøkt for seg selv og i kombinasjon med flere stressfaktorer. Dysvik et al. (2020a) brukte den samme kommersielle utgaven av *Lb. plantarum* som ble brukt i denne studien, Lallemand sin WildBrew Sour Pitch. Resultatene fra studien til Dysvik et al. (2020a) viste at *Lb. plantarum* bidro til rask fermentering av karbohydrater. Studien viste også *Lb. plantarum* ikke bidro til å forstyrre *S. cerevisiae* sin fermentering, siden

endelig innhold av alkohol var det samme som i referansen. Referansen i studien til Dysvik et al. (2020a) var kun tilsatt *S. cerevisiae* og ikke noen melkesyrebakterie. Dysvik et al. (2020a) sin studie viste at etter 21 dagers fermentering hadde surøl med *Lb. plantarum* en pH i underkant av 4,0, og antallet levende celler av *Lb. plantarum* ble redusert fra rundt  $10^7$  CFU/mL til i underkant av  $10^5$  CFU/mL. Det tyder på at melkesyrebakteriene begynte å dø på grunn av lav pH, og gir grunn til å tro at det er det som har skjedd i vår studie også.

Plumed-Ferrer et al. (2008) gjennomførte en studie der det ble undersøkt hvordan to ulike stammer av *Lb. plantarum* evnet å tilpasse seg nye miljøer, ved å dyrke *Lb. plantarum* på ulike medier. Det ene mediet som ble benyttet var flytende griseføder. Griseføderet bestod av tre deler vann blandet med en del tørt griseføder bestående av rundt 69% bygg, 18% konsentrert flytende myse, 12,8% soyabønnemel og 0,2% vitaminer og mineraler (Plumed-Ferrer et al., 2008). Resultatene fra studien til Plumed-Ferrer et al. (2008) viste at laktose og sukrose fra flytende griseføder var de foretrukne sukkerartene i fermenteringen til begge stammene av *Lb. plantarum*, selv om det var glukose til stede i griseføderet. Georgieva et al. (2009) gjennomførte en studie der tekniske egenskaper til åtte ulike stammer av *Lb. plantarum* ble kartlagt. Studien undersøkte blant annet enzymatisk aktivitet, og fant ut at alle de åtte stammene av *Lb. plantarum* som ble undersøkt hadde høyest  $\beta$ -galaktosidase- og glukosidase-aktivitet. Den enzymatiske aktiviteten for andre karbonkilder var lavere, og på grunnlag av det antyder studien (Georgieva et al., 2009) at *Lb. plantarum* foretrekker å fermentere glukose og laktose fremfor andre karbonkilder. Grunnet funnene til Plumed-Ferrer et al. (2008) og Georgieva et al. (2009) var det forventet at *Lb. plantarum* skulle fermentere noe av laktosen i vørteren som ble produsert i vår studie også, før den sannsynligvis ble inhibert av for lav pH.

Ved produksjon av noen ølsorter, spesielt mørkere varianter som stout og porter, tilsettes laktose i produktet. Det gjøres fordi det kan bidra til å gjøre ølet fyldigere ved å øke viskositeten og munnfølelsen (Dominici et al., 2022). Laktose gjør også produktet litt søtere og mindre bittert (Nickerson, 1976). Søtningsgraden til laktose er på 0,2 til 0,4 sammenliknet med sukrose, som vil si at det trengs mer laktose for å gi samme søthet som sukrose (Dominici et al., 2022). Det var ikke nødvendigvis negativt at laktosen ikke hadde blitt fermentert i det ferdige produktet. Siden noen øl- og surøl-varianter på markedet selges med tilsatt laktose, kan det å bruke permeat til et slikt formål kan være en mulighet. Ved å øke mengden laktose fra permeat i meskevannet kan det endelige produktet få et høyere innhold av laktose. Det kan bidra til å gi produktet en søtere og rundere smak (Nickerson, 1976, Dominici et al., 2022), og kan for

eksempel være et alternativ ved produksjon av milkshake IPA. Fra den sensoriske profileringen ble kontroll-surølet evaluert med en signifikant høyere bitterhet enn surøl-variantene med melkeråstoff. Det kan derfor tyde på at laktosen i det ferdige produktet bidro til å gi produktet litt mindre bitterhet, men laktosen så ikke ut til å ha noen særlig innvirkning på sødme eller fylde. Dersom innholdet av laktose i produktet hadde vært høyere ville det trolig hatt større innvirkning på sødme og fylde i surølet.

For at laktosen skulle blitt fermentert i surølet kunne det vært en mulighet å benytte en annen gjær enn *S. cerevisiae*. Som nevnt tidligere kan *K. marxianus* fermentere laktose, og det kunne vært interessant å se hvordan den ville fungert til en slik fermentering som ble gjort i vår studie. *K. marxianus* har god toleranse for etanol, og det har blitt rapportert at den kan tåle opptil 120 g/L etanol (Karim et al., 2020). Den har også god toleranse for lav pH og evner å tilpasse seg nye miljøer raskt. Det gjenstår fremdeles mye forskning for å kartlegge egenskaper, gener og enzymer til ulike stammer av gjærarten, men i fremtiden kan det se ut til at *K. marxianus* kan være en god erstatning for *S. cerevisiae* (Karim et al., 2020).

I vår studie ble det benyttet samgjæring som fermentering, der gjær og melkesyrebakterie ble tilsatt i vørteren på likt. En alternativ metode som kunne blitt brukt er kjelesyrning, der syring med melkesyrebakterier skjer mellom mesking og vørterkoking (Bossaert et al., 2019). Ved den metoden blir kontrollen på senkningen i pH bedre, og fermenteringen kan stoppes ved ønsket pH ved å koke vørteren. Sur myse kunne muligens blitt brukt til en slags kjelesyrning, uten et faktisk syrningssteg siden sur myse allerede gir lav pH i vørter. En annen mulighet kunne vært å tilsette gjær til vørteren først, og så tilsatt melkesyrebakterier på et senere tidspunkt når det meste av de andre sukkerartene hadde blitt fermentert. Da hadde *Lb. plantarum* blitt mer tvunget til å fermentere laktose, fremfor å fermentere de samme sukkerartene som gjæren fermenterte. I tillegg kunne det ført til at pH i produktet ikke ble fullt så lav som i denne studien. For surøl med sur myse spesielt, kunne det vært fordelaktig med en høyere pH enn det som ble testet i denne studien for å unngå at produktet blir for surt.

## 5.5 Oppsummering

Denne studien tok for seg muligheten for å brygge surøl, der deler av meskevannet var byttet ut med ulike overskuddsprodukter fra meieriindustrien. Studien så også på hvorvidt laktosen hadde vært en del av fermenteringen i det endelige produktet. Melkeråstoffene som ble benyttet var sur myse fra produksjon av cottage cheese, melkepermeat fra ultrafiltrering av skummet melk og retentat fra nanofiltrering av mysepermeat, der mysepermeatet stammet fra ultrafiltrering av søt ostemyse.

Sammensetningen av de ulike melkeråstoffene var signifikant forskjellig, noe som også gjorde at de ga ulike bryggeresultater. Den største forskjellen mellom melkepermeat og mysepermeat var at mysepermeat inneholdt melkesyre, noe melkepermeat ikke gjorde. I forbindelse med produksjon av surøl så ikke denne forskjellen ut til å ha noen særlig innvirkning, da smaksprofilen på surøl med melkepermeat og mysepermeat var lik. Den eneste forskjellen mellom de to var at surøl med melkepermeat hadde høyere luktintensitet og mer sur lukt enn surøl med mysepermeat.

Sur myse hadde høyere innhold av melkesyre enn melkepermeat og mysepermeat, noe som også ga et øl med signifikant høyere forekomst av syrlig smak og astringens. Smaksintensiteten på surøl med sur myse var også signifikant høyere enn de andre surøl-variantene. Ved brygging av surøl med sur myse oppstod det utfordringer med påbrenninger og mye bunnfall. Årsaken var trolig høyt innhold av proteiner, kalsium og fosfat i sur myse, som førte til utfellinger under vørterkokingen. På grunnlag av det bør sur myse gjennomgå forbehandling med for eksempel ultrafiltrering, før den benyttes i ølbrygging i industriell skala. Melkepermeat og mysepermeat viste ikke tendenser til slike utfordringer under brygging.

Aksept-testen som ble gjennomført viste at alle surøl-variantene med melkeråstoff ble foretrukket framfor kontroll-surølet. Surøl med mysepermeat skåret høyest både på liking og kjøpsvillighet, mens variantene med sur myse og melkepermeat fulgte tett etter. Det kan derfor konkluderes med at mysepermeat og melkepermeat har potensiale i ølbrygging. Sur myse, slik det ble brukt i denne studien, ga derimot et øl med litt for syrlig smak og litt for mye utfordringer under brygging. Sur myse har trolig også potensiale i surøl, men det kreves ytterligere studier for å optimalisere prosessen.

Dagens øldrikkere ser ut til å være på konstant jakt etter nye øl-varianter og smaksopplevelser, og trenden innen øl i dag er lavere alkoholprosent og mer spennende smaksprofil (Salaňă et al., 2020, Bellut et al., 2021). Folk drikker ikke lenger bare for alkoholen sin skyld, men for opplevelsen. Det gjør også at betalingsviljen er større for spesialøl basert på ekte håndverk (Bossaert et al., 2019). Det kan derfor se ut til at tiden er inne for å introdusere surøl med melkeråstoff i, for å gjøre markedet innen surøl og spesialøl enda større.

## 6. Til ettertanke og videre forskning

I denne studien ble det tatt prøver og gjort analyser av melkeråstoffet, vørteren og produktet. Fokus i oppgaven lå på starten og slutten av prosessen, med mindre fokus på hva som skjedde underveis i fermenteringen. For fremtidige studier bør det tas ut flere prøver underveis i fermenteringen, og ved flasking, for å finne ut når og ved hvilken pH-verdi *Lb. plantarum* slutter å fermentere sukker. En egen studie på *Lb. plantarum* sin toleranse for etanol og pH, og hvilke sukkere den foretrekker å fermentere ville vært optimalt. Årsaken til at laktosen ikke ble fermentert var trolig at *Lb. plantarum* ble inhibert av for lav pH. Ved grundigere studier på melkesyrebakterien kan prosessen optimaliseres bedre.

Det vil være interessant å se hvordan større mengder av melkeråstoff påvirker det ferdige ølet. Siden sur myse og permeat finnes i så store kvantum, vil det vært interessant å se om det er mulig å bruke mer av melkeråstoffet i øl, og sikre at ølet fremdeles får en god smaksprofil. I denne studien ble det ikke tilsatt andre smaker til ølet, for å sørge for at smaken som melkeråstoffene brakte med seg kom skikkelig frem. For fremtidig eksperimentering vil det vært interessant å prøve tilsetning av ulike friske frukter eller bær, som bringebær, pasjonsfrukt, rabarbra osv. Kanskje det kan være med på å gi surølet andre spennende smaker. Tilsetning av frukter eller bær bidrar til å gi ølet mer kompleksitet og det er viktig at frukten eller bærene som tilsettes komplimenterer med smakene som allerede er der fremfor å dekke over dem (Tonsmeire, 2014a). Interessen for øl og surøl som er tilsatt juice eller pure av frukter og bær er stadig økende, og vil trolig bare øke mer i årene som kommer (Bellut et al., 2021).

Denne studien tok for seg en gjærtype og en melkesyrebakterie i produksjon av surøl med melkeråstoff. For fremtidige studier vil det være interessant å prøve andre gjærarter som for eksempel *K. marxianus*, og andre melkesyrebakterier. Kanskje bruk av andre gjærarter kan frembringe andre smaksprofiler fra melkeråstoffene enn det som ble funnet i denne studien? Det er heller ikke sikkert at den beste metoden for brygging av surøl med melkeråstoff er å tilsette melkeråstoffet som en del av meskevannet. En studie på surøl med melkeråstoff brygget ved kjelesyrning vil være spennende, og kan kanskje gjøre potensialet til melkeråstoffene enda større.



## 7. Referanser

- Adams, M. R., Moss, M. O. & McClure, P. 2016. Fermented and Microbial Foods. *In: Adams, M. R., Moss, M. O. & McClure, P. (eds.) Food microbiology, 4th Edition*. Cambridge, UK: Royal society of chemistry.
- AOAC 1999. Ash of milk-Gravimetric method, method 945.46. *AOAC International Gaithersburg, MD, USA*, 10.
- Baldasso, C., Barros, T. & Tessaro, I. 2011. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278, 381-386.
- Bansal, N. & Bhandari, B. 2016. Functional Milk Proteins: Production and Utilization—Whey-Based Ingredients. *In: McSweeney, P. L. H. & O'Mahony, J. A. (eds.) Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects, 4th Edition*. New York, US: Springer.
- Barile, D., Tao, N., Lebrilla, C. B., Coisson, J.-D., Arlorio, M. & German, J. B. 2009. Permeate from cheese whey ultrafiltration is a source of milk oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 19, 524-530.
- Bellut, K., Lynch, K. M. & Arendt, E. K. 2021. Alcoholic Beverages: Production, Trends, Innovations. *In: Lavelle, C., This, H., Kelly, A. L. & Burke, R. (eds.) Handbook of Molecular Gastronomy*. CRC Press.
- BeMiller, J. N. & Huber, K. C. 2017. Carbohydrates. *In: Damodaran, S. & Parkin, K. L. (eds.) Fennema's Food Chemistry, 5th Edition*. Boca Raton: CRC Press.
- Beucler, J., Drake, M. & Foegeding, E. A. 2005. Design of a beverage from whey permeate. *Journal of food science*, 70, S277-S285.
- Bokulich, N. A. & Bamforth, C. W. 2013. The microbiology of malting and brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77, 157-172.
- Bossaert, S., Crauwels, S., De Rouck, G. & Lievens, B. 2019. The power of sour—a review: old traditions, new opportunities. *BrewingScience*, 72, 78-88.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A. & Stevens, R. 2004a. Chemistry of wort boiling. *In: Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A. & Stevens, R. (eds.) Brewing: science and practice*. Boca Raton, USA: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LCC.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A. & Stevens, R. 2004b. Malts, adjuncts and supplementary enzymes. *In: Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A. & Stevens, R. (eds.) Brewing: science and practice*. Boca Raton, USA: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LCC.

- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A. & Stevens, R. 2004c. Metabolism of wort by yeast. *In: Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A. & Stevens, R. (eds.) Brewing: science and practice*. Boca Raton, USA: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LCC.
- Britten, M. & Giroux, H. J. 2022. Rennet coagulation of heated milk: A review. *International Dairy Journal*, 124, 105179.
- Bryggeri- og drikkevareforeningen 2018. *Bransjeoverenskomst for produksjon av øl for små og mellomstore bryggerier*.
- Bylund, G. 1995a. Heat exchangers. *In: Bylund, G. (ed.) Dairy Processing Handbook*. Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Bylund, G. 1995b. Membrane filters *In: Bylund, G. (ed.) Dairy Processing Handbook*. Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Bylund, G. 2023a. Milk and Whey Powder. *In: Bylund, G. (ed.) Dairy Processing Handbook. Online version*. Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Bylund, G. 2023b. Whey Processing. *In: Bylund, G. (ed.) Dairy Processing Handbook. Online version*. Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Chandrapala, J., Duke, M. C., Gray, S. R., Zisu, B., Weeks, M., Palmer, M. & Vasiljevic, T. 2015. Properties of acid whey as a function of pH and temperature. *Journal of Dairy Science*, 98, 4352-4363.
- Crowley, S. V., Molitor, M. S., Kalscheuer, R., Lu, Y., Kelly, A. L., O'Mahony, J. A. & Lucey, J. A. 2019. Size classification of precipitated calcium phosphate using hydrocyclone technology for the recovery of minerals from deproteinised acid whey. *International Journal of Dairy Technology*, 72, 142-151.
- Crumplén, R., Crumplén, C., D'Amore, T., Goring, T., McKee, R. & Stewart, G. 1990. Lactose fermentation and the possible use of whey as an adjunct in beer production. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 48, 95-99.
- Da Conceicao Neta, E. R., Johanningsmeier, S. D. & McFeeters, R. F. 2007. The chemistry and physiology of sour taste—a review. *Journal of food science*, 72, R33-R38.
- Dominici, S., Marescotti, F., Sanmartin, C., Macaluso, M., Taglieri, I., Venturi, F., Zinnai, A. & Facioni, M. S. 2022. Lactose: Characteristics, Food and Drug-Related Applications, and Its Possible Substitutions in Meeting the Needs of People with Lactose Intolerance. *Foods*, 11, 1486.

- Dysvik, A. 2019. Modern sour beer production: mixed fermentations with yeast and lactic acid bacteria. *Faculty of Chemistry Biotechnology and Food Sciences, Norwegian University of Life Sciences*, 2019:104.
- Dysvik, A., La Rosa, S. L., Liland, K. H., Myhrer, K. S., Østlie, H. M., De Rouck, G., Rukke, E.-O., Westereng, B. & Wicklund, T. 2020a. Co-fermentation involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* species tolerant to brewing-related stress factors for controlled and rapid production of sour beer. *Frontiers in Microbiology*, 11, 279.
- Dysvik, A., Rosa, S. L. L., Buffetto, F., Liland, K. H., Myhrer, K. S., Rukke, E. O., Wicklund, T. & Westereng, B. 2020b. Secondary Lactic Acid Bacteria Fermentation with Wood-Derived Xylooligosaccharides as a Tool To Expedite Sour Beer Production. *J. Agric. Food Chem.* 2020, 68, 301-314.
- Eble, P. & de Vries, H. 2018. How One of The World's Oldest Food Safety Standards Approaches Expiration. *EURAS Proceedings 2018—Standards for a Smarter Future*, 5-15.
- Engan, S. 1974. Organoleptic threshold values of some organic acids in beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 80, 162-163.
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H. & O'Mahony, J. A. 2015. Milk Proteins. In: Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H. & O'Mahony, J. A. (eds.) *Dairy Chemistry and Biochemistry, 2nd Edition*. Switzerland: Springer.
- Georgieva, R., Iliev, I., Haertlé, T., Chobert, J.-M., Ivanova, I. & Danova, S. 2009. Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *International Dairy Journal*, 19, 696-702.
- Grønnevik, H., Falstad, M. & Narvhus, J. A. 2011. Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 21, 601-606.
- Habschied, K., Košir, I. J., Krstanović, V., Kumrić, G. & Mastanjević, K. 2021. Beer polyphenols—Bitterness, astringency, and off-flavors. *Beverages*, 7, 38.
- Hardham, J. 1998. Effect of protein standardisation of milk by addition of UF milk permeate on the composition and storage stability of UHT processed milk. *Australian journal of dairy technology*, 53, 22.
- Hargrove, R., McDonough, F., Lacroix, D. & Alford, J. 1976. Production and properties of deproteinized whey powders. *Journal of Dairy Science*, 59, 25-33.
- IDF 1987. Milk, Cream and Evaporated Milk: Determination Of Total Solids Content *IDF*, 21B:1987.
- IDF 2001. Milk-Determination of nitrogen content-Part 1: Kjeldahl method. *IDF*, 20, 2001.

- Jelen, P. 2011. Whey processing| utilization and products. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 731-737.
- Kalab, M., Caric, M. & Milanovic, S. 1991. Composition and structure of demineralized spray-dried milk permeate powder. *Food structure*, 10, 6.
- Karim, A., Gerliani, N. & Aider, M. 2020. Kluyveromyces marxianus: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology. *International Journal of Food Microbiology*, 333, 108818.
- Knudsen, K. E. B. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science Technology* 67, pp 319-338.
- Kobayashi, M., Shimizu, H. & Shioya, S. 2008. Beer volatile compounds and their application to low-malt beer fermentation. *Journal of bioscience and bioengineering*, 106, 317-323.
- Kumar, P., Sharma, N., Ranjan, R., Kumar, S., Bhat, Z. & Jeong, D. K. 2013. Perspective of membrane technology in dairy industry: A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26, 1347.
- Kuo, K. P. & Cheryan, M. 1983. Ultrafiltration of acid whey in a spiral-wound unit: Effect of operating parameters on membrane fouling. *Journal of Food Science*, 48, 1113-1118.
- Lawless, H. T. & Heymann, H. 2010a. Acceptance Testing. In: Lawless, H. T. & Heymann, H. (eds.) *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices, 2nd Edition*. New York, USA: Springer.
- Lawless, H. T. & Heymann, H. 2010b. Descriptive Analysis. In: Lawless, H. T. & Heymann, H. (eds.) *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices, 2nd Edition*. New York, USA: Springer.
- Lawless, H. T. & Heymann, H. 2010c. Introduction. In: Lawless, H. T. & Heymann, H. (eds.) *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices, 2nd Edition*. 2. edition ed. New York, USA: Springer
- Lawless, H. T. & Heymann, H. 2010d. Preference Testing. In: Lawless, H. T. & Heymann, H. (eds.) *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices, 2nd Edition*. New York, USA: Springer.
- Lawton, M. & Alcaine, S. 2019. Leveraging endogenous barley enzymes to turn lactose-containing dairy by-products into fermentable adjuncts for Saccharomyces cerevisiae-based ethanol fermentations. *Journal of dairy science*, 102, 2044-2050.
- Lucey, J. A. 2016. Acid coagulation of milk. In: McSweeney, P. L. H. & O'Mahony, J. A. (eds.) *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects, 4th Edition*. New York, USA: Springer.

- Menchik, P., Zuber, T., Zuber, A. & Moraru, C. I. 2019. Composition of coproduct streams from dairy processing: Acid whey and milk permeate. *Journal of dairy science*, 102, 3978-3984.
- Montanari, L., Mayer, H., Marconi, O. & Fantozzi, P. 2009. Minerals in beer. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier.
- Nickerson, T. 1976. Use of milk derivative, lactose, in other foods. *Journal of Dairy Science*, 59, 581-587.
- O'Donoghue, L. T. & Murphy, E. G. 2023. Nondairy food applications of whey and milk permeates: Direct and indirect uses. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.
- Pires, E. & Brányik, T. 2015a. The Brewing Yeast. In: Pires, E. & Brányik, T. (eds.) *Biochemistry of Beer Fermentation*. Switzerland: Springer International Publishing AG
- Pires, E. & Brányik, T. 2015b. By-products of Beer Fermentation. In: Pires, E. & Brányik, T. (eds.) *Biochemistry of Beer Fermentation*. Switzerland: Springer International Publishing AG.
- Pires, E. & Brányik, T. 2015c. An Overview of the Brewing Process. In: Pires, E. & Brányik, T. (eds.) *Biochemistry of Beer Fermentation*. Switzerland: Springer International Publishing AG
- Pires, E. J., Teixeira, J. A., Brányik, T. & Vicente, A. A. 2014. Yeast: The soul of beer's aroma—A review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. *Applied microbiology and biotechnology*, 98, 1937-1949.
- Plumed-Ferrer, C., Koistinen, K. M., Tolonen, T. L., Lehesranta, S. J., Kärenlampi, S. O., Mäkimattila, E., Joutsjoki, V., Virtanen, V. & Von Wright, A. 2008. Comparative study of sugar fermentation and protein expression patterns of two *Lactobacillus plantarum* strains grown in three different media. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 5349-5358.
- Rocha-Mendoza, D., Kosmerl, E., Krentz, A., Zhang, L., Badiger, S., Miyagusuku-Cruzado, G., Mayta-Apaza, A., Giusti, M., Jiménez-Flores, R. & García-Cano, I. 2021. Invited review: Acid whey trends and health benefits. *Journal of Dairy Science*, 104, 1262-1275.
- Ryan, M. P. & Walsh, G. 2016. The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15, 479-498.
- Sakamoto, K. & Konings, W. N. 2003. Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International journal of food microbiology*, 89, 105-124.

- Salanță, L. C., Coldea, T. E., Ignat, M. V., Pop, C. R., Tofană, M., Mudura, E., Borșa, A., Pasqualone, A. & Zhao, H. 2020. Non-alcoholic and craft beer production and challenges. *Processes*, 8, 1382.
- Smith, S., Metzger, L. & Drake, M. 2016. Evaluation of whey, milk, and delactosed permeates as salt substitutes. *Journal of dairy science*, 99, 8687-8698.
- Smithers, G. W. 2008. Whey and whey proteins—from ‘gutter-to-gold’. *International dairy journal*, 18, 695-704.
- Son, H.-S., Hong, Y., Park, W., Yu, M. & Lee, C. 2009. A novel approach for estimating sugar and alcohol concentrations in wines using refractometer and hydrometer. *Journal of food science*, 74, C106-C111.
- Steensels, J., Daenen, L., Malcorps, P., Derdelinckx, G., Verachtert, H. & Verstrepen, K. J. 2015. Brettanomyces yeasts—From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. *International journal of food microbiology*, 206, 24-38.
- Stewart, G. G. 2014. SACCHAROMYCES| Saccharomyces cerevisiae. In: Batt, C. A. & Tortorello, M.-L. (eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd Edition. Elsevier.
- Stewart, G. G. 2016. Saccharomyces species in the Production of Beer. *Beverages*, 2, 34.
- Suárez, E., Lobo, A., Álvarez, S., Riera, F. A. & Álvarez, R. 2006. Partial demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by nanofiltration at pilot-plant scale. *Desalination*, 198, 274-281.
- Succi, M., Pannella, G., Tremonte, P., Tipaldi, L., Coppola, R., Iorizzo, M., Lombardi, S. J. & Sorrentino, E. 2017. Sub-optimal pH preadaptation improves the survival of Lactobacillus plantarum strains and the malic acid consumption in wine-like medium. *Frontiers in Microbiology*, 8, 470.
- Todorov, S. D. & Franco, B. D. G. D. M. 2010. Lactobacillus plantarum: Characterization of the species and application in food production. *Food Reviews International*, 26, 205-229.
- Tonsmeire, M. 2014a. Adding Fruits and Vegetables. In: Tonsmeire, M. (ed.) *American sour beer: Innovative techniques for mixed fermentations*. Boulder, Colorado: Brewers Publications.
- Tonsmeire, M. 2014b. Aging and Blending. In: Tonsmeire, M. (ed.) *American sour beer: Innovative techniques for mixed fermentations*. Boulder, Colorado: Brewers Publications.
- Tonsmeire, M. 2014c. Getting Started. In: Tonsmeire, M. (ed.) *American sour beer: Innovative techniques for mixed fermentations*. Boulder, Colorado: Brewers Publications.

- Tonsmeire, M. 2014d. Know Your Microbes. In: Tonsmeire, M. (ed.) *American sour beer: Innovative techniques for mixed fermentations*. Boulder, Colorado: Brewers Publications.
- Tonsmeire, M. 2014e. Sour Beers: A Primer. In: Tonsmeire, M. (ed.) *American sour beer: Innovative techniques for mixed fermentations*. Boulder, Colorado: Brewers Publications.
- Villacreces, S., Blanco, C. A. & Caballero, I. 2022. Developments and characteristics of craft beer production processes. *Food bioscience*, 45, 101495.
- Vinderola, G., Ouwehand, A., Salminen, S. & von Wright, A. 2019. *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*, Crc Press.
- Visser, F. 1976. Method for the manufacture of rennet-free cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 30, 41-54.
- Willaert, R. 2012. Biochemistry of beer fermentation. *Food biochemistry and food processing*, 627-653.
- Wong, N., LaCroix, D. & McDonough, F. 1978. Minerals in whey and whey fractions. *Journal of dairy science*, 61, 1700-1703.
- Yonezawa, T. & Fushiki, T. 2002. Testing for taste and flavour of beer. *Analysis of taste and aroma*, 29-45.
- Young, T. W. 2023. *Beer* [Online]. <https://www.britannica.com/topic/beer>: Encyclopedia Britannica. [Accessed 13th of April 2023].
- Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C. & Gullo, M. 2020. Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied microbiology and biotechnology*, 104, 2749-2764.

## 8. Vedlegg

Oversikt over vedlegg

**Vedlegg 1:** Spørreskjema brukt til sensorisk profilering av surøl

**Vedlegg 2:** Spørreskjema brukt til aksept-test av surøl

**Vedlegg 3:** Rådata sammensetning av melkeråstoff

**Vedlegg 4:** Vektingstall

**Vedlegg 5:** Rådata pH-målinger

**Vedlegg 6:** Rådata °Brix-målinger

**Vedlegg 7:** Rådata for innhold av sukker i vørter

**Vedlegg 8:** Rådata for alkoholinnhold i produkt

**Vedlegg 9:** Rådata for organiske syrer i produkt

**Vedlegg 10:** Rådata for flyktige komponenter i produkt

**Vedlegg 11:** P-verdi fra ANOVA for flyktige forbindelser i produkt.

**Vedlegg 12:** Rådata for innhold av laktose i produkt

**Vedlegg 13:** P- verdi for Tukeys test for innhold av laktose i vørter og produkt.

**Vedlegg 14:** P-verdi fra ANOVA for egenskaper til sensorisk profilering.

**Vedlegg 15:** P-verdier fra ANOVA for aksept-test.



## Vedlegg 1

Prøvenummer (tre siffer) \*

### Farge

Fargeintensitet



Verdi



### Lukt

Total intensitet \*



Verdi



**Figur A.** Utsnitt av spørreskjema brukt til sensorisk profilering av surøl.

## Vedlegg 2

Begynn med prøven til venstre og jobb deg mot høyre i rekken.

Prøvenummer \*

Kryss av for hvilken prøve du smaker på nå.

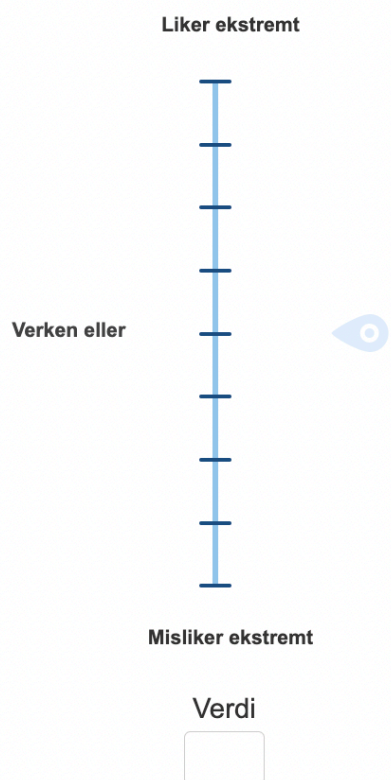
421

311

248

663

Hvor godt liker du denne prøven? \*



**Figur B.** Spørreskjema brukt til aksept-test av surøl. Figuren fortsetter på neste side.

Svar på følgende påstand: Jeg ville kjøpt dette produktet i butikk. \*

- Helt enig
- Litt enig
- Verken enig eller uenig
- Litt uenig
- Helt uenig

Er det noen grunner for at du vil/ikke ville kjøpt dette produktet?

**Figur B.** Spørreskjema brukt til aksept-test av surøl.

## Vedlegg 3

**Tabell A.** Rådata sammensetning på melkeråstoff. n.d.=ikke detektert.

Melkeråstoff	Replikat	Tørrstoff (%)	Laktose (%) (HPLC)	Laktose (%) (FTIR)	Protein (%)	Aske (%)	Kalsium (mg/mL)	Melkesyre (mg/L)	Sitronsyre (mg/L)
Sur myse	1	2,67	1,83	1,91	0,36	0,26	0,55	2163,10	799,52
Sur myse	2	2,67	1,82	1,92	0,38	0,27	0,57	2103,16	794,14
Sur myse	3	2,71	1,84	1,95	0,38	0,29	0,59	2134,18	809,11
Melkepermeat	1	5,58	4,59	5,43	0,16	0,34	0,40	n.d.	1694,68
Melkepermeat	2	5,56	4,93	5,40	0,16	0,36	0,43	n.d.	1754,56
Melkepermeat	3	5,60	4,96	5,41	0,16	0,36	0,43	n.d.	1793,69
Melkepermeat	4	5,66	5,03	5,49	0,19	0,35	0,43	n.d.	1802,18
Mysepermeat	1	18,05	16,18	18,85	0,42	1,25	1,68	2062,36	5967,35
Mysepermeat	2	19,48	20,42	20,29	0,46	1,30	1,95	2190,64	6436,00
Mysepermeat	3	19,56	18,31	20,42	0,45	1,32	1,90	2247,40	6428,96

## Vedlegg 4

**Tabell B.** Verdier brukt for å vekte mengden melkeråstoff i forhold til mengden som ble brukt i meskevann.

<b>Melkeråstoff</b>	<b>Replikat</b>	<b>Vektingstall</b>
Sur myse	1	0,929204
Sur myse	2	0,920354
Sur myse	3	0,907080
Melkepermeat	1	0,327434
Melkepermeat	2	0,327434
Melkepermeat	3	0,327434
Melkepermeat	4	0,323009
Mysepermeat	1	0,092920
Mysepermeat	2	0,088496
Mysepermeat	3	0,088496

## Vedlegg 5

*Tabell C. Rådata pH-målinger.*

<b>Prøve</b>	<b>Replikat</b>	<b>Melkeråstoff</b>	<b>Vørter</b>	<b>Produkt</b>
Sur myse	1	4,52	4,84	3,47
Sur myse	2	4,64	4,98	3,50
Sur myse	3	4,73	5,02	3,46
Melkepermeat	1	6,49	6,40	3,66
Melkepermeat	2	6,51	6,00	3,57
Melkepermeat	3	6,53	6,13	3,57
Melkepermeat	4	6,58	6,15	3,59
Mysepermeat	1.1	6,12	6,17	3,62
Mysepermeat	1.2	6,12	6,30	3,56
Mysepermeat	2	6,13	5,78	3,57
Mysepermeat	3	6,12	5,96	3,64
Kontroll	1	-	6,20	3,64
Kontroll	2	-	5,77	3,56
Kontroll	3	-	5,95	3,61

## Vedlegg 6

*Tabell D. Rådata °Brix-målinger.*

<b>Prøve</b>	<b>Replikat</b>	<b>Råstoff</b>	<b>Meskevann</b>	<b>Vørter</b>	<b>Produkt</b>
Sur myse	1	3,0	2,5	8,8	5,7
Sur myse	2	3,0	2,4	9,1	6,1
Sur myse	3	3,1	2,7	9	5,7
Melkepermeat	1	6,0	1,9	7,5	5
Melkepermeat	2	6,0	1,8	9,2	5,7
Melkepermeat	3	6,1	1,9	9	5,8
Melkepermeat	4	6,2	1,8	9,2	5,6
Mysepermeat	1	19,0	1,9	7,1	4,7
Mysepermeat	2	19,0	1,9	7,2	4,7
Mysepermeat	3	20,6	1,8	9,7	5,9
Mysepermeat	4	20,6	1,7	8,5	5,4
Kontroll	1	-	1,7	7,1	3,5
Kontroll	2	-	1,7	9,3	4,4
Kontroll	3	-	1,7	9,2	4,6

## Vedlegg 7

**Tabell E.** Rådata for innhold av glukose, laktose, maltose og sukrose i vørter. Verdier merket med rød farge er uteliggere, og ble derfor utelatt fra figur 10. Verdier for mysepermeat-1.1 ble også utelatt siden det var en av to paralleller.

Prøve	Replikant	Glukose	Laktose	Maltose	Sukrose
Sur myse	1	0,46	2,04	4,36	1,49
Sur myse	2	0,23	1,00	2,05	0,71
Sur myse	3	0,26	1,13	2,34	0,84
Melkepermeat	1	0,22	1,26	2,26	0,69
Melkepermeat	2	0,31	1,34	3,56	1,00
Melkepermeat	3	0,22	0,99	2,50	0,74
Melkepermeat	4	0,26	1,23	2,97	0,79
Mysepermeat	1.1	0,19	1,21	1,99	0,61
Mysepermeat	1.2	0,17	1,19	2,04	0,64
Mysepermeat	2	0,38	1,68	4,59	1,27
Mysepermeat	3	0,20	1,02	2,41	0,74
Kontroll	1	0,23	0,00	2,07	2,13
Kontroll	2	0,41	0,00	3,81	2,86
Kontroll	3	0,31	0,00	2,70	2,10



## Vedlegg 8

**Tabell F.** Rådata for innhold av alkohol i produkt. Verdi merket med rød ble utelatt fra figur 12 siden det var en parallell.

Sample	Replikat	Alkohol (%)
Sur myse	1	3,02
Sur myse	2	2,93
Sur myse	3	2,93
Melkepermeat	1	2,63
Melkepermeat	2	3,4
Melkepermeat	3	3,26
Melkepermeat	4	3,32
<b>Mysepermeat</b>	<b>1.1</b>	<b>2,42</b>
Mysepermeat	1.2	2,45
Mysepermeat	2	3,58
Mysepermeat	3	3,15
Kontroll	1	3,46
Kontroll	2	4,5
Kontroll	3	4,41

## Vedlegg 9

**Tabell G.** Rådata for innhold av organiske syrer i produkt etter 10 uker. Merk at det kun ble analysert ett brygg av hver variant.

<b>Prøve</b>	<b>Replikant</b>	<b>Melkesyre (mg/L)</b>	<b>Eddiksyre (mg/L)</b>	<b>Sitronsyre (mg/L)</b>
Sur myse	1	7678,54	234,15	521,29
Melkepermeat	2	3300,75	148,46	583,61
Mysepermeat	2	2726,52	141,77	569,48
Kontroll	2	1365,84	27,35	148,74

## Vedlegg 10

**Tabell H.** Rådata for innhold av flyktige komponenter (HSGC) i produkt.

Sample	Replikant	Acet- aldehyde	Dimethyl- sulfide	1- propanol	Ethyl- acetate	2- methyl- 1- propanol	3- methyl- butanal	3- methyl- 1- butanol	2- methyl- 1- butanol	Isobutyl acetate	2- hexanol	Isoamyl acetate
Sur myse	1	12,308	0,008	10,593	4,730	30,359	0,011	43,723	7,506	0,038	0,675	0,325
Sur myse	2	1,360	0,019	12,154	5,046	30,808	0,000	37,433	7,376	0,048	0,764	0,278
Sur myse	3	1,456	0,026	12,017	4,258	32,420	0,000	40,032	8,104	0,039	0,638	0,269
Melke- permeat	1	1,330	0,031	12,374	3,093	25,630	0,000	25,036	5,700	0,014	0,695	0,100
Melke- permeat	2	1,405	0,018	14,659	4,127	34,210	0,000	31,938	7,085	0,018	0,809	0,099
Melke- permeat	3	1,252	0,022	13,581	3,360	31,608	0,000	33,844	8,007	0,012	0,834	0,099
Melke- permeat	4	1,563	0,022	14,211	4,857	32,682	0,000	37,146	8,013	0,030	1,206	0,228
Myse- permeat	1	0,577	0,026	11,162	3,093	26,131	0,000	24,844	6,043	0,016	0,647	0,110
Myse- permeat	2	0,431	0,025	10,861	2,851	27,926	0,000	23,367	5,785	0,014	0,575	0,077
Myse- permeat	3	7,371	0,013	14,342	5,364	39,630	0,005	42,319	9,476	0,034	1,063	0,257
Myse- permeat	4	2,591	0,020	12,704	3,500	37,135	0,000	33,818	8,683	0,014	0,859	0,102
Kontroll	1	3,976	0,021	15,246	6,563	73,582	0,004	48,159	14,571	0,074	1,109	0,340
Kontroll	2	2,251	0,014	18,72	8,201	86,507	0,004	62,493	19,573	0,078	1,508	0,437
Kontroll	3	4,49	0,014	17,218	7,299	81,936	0,005	59,515	19,195	0,047	1,393	0,284

## Vedlegg 11

**Tabell I.** P-verdi fra ANOVA for flyktige forbindelser (HSGC) i produkt.

<b>Komponent</b>	<b>P-verdi</b>
Acetaldehyd	0,568
Dimethylsulfid	0,488
1-propanol	0,002
Ethylacetat	0,001
2-metyl-1-propanol	0,000
3-metylbutanal	0,292
3-metyl-1-butanol	0,002
2-metyl-1-butanol	0,000
Isobutylacetat	0,000
2-hexanol	0,010
Isoamylacetat	0,003

## Vedlegg 12

*Tabell J. Rådata for innhold av laktose i produkt. n.d. = ikke detektert.*

<b>Prøve</b>	<b>Replik</b>	<b>Laktose (%)</b>
Sur myse	1	1,35
Sur myse	2	1,27
Sur myse	3	1,44
Melkepermeat	1	1,33
Melkepermeat	2	1,43
Melkepermeat	3	1,32
Melkepermeat	4	1,52
Mysepermeat	1,1	1,33
Mysepermeat	1,2	1,36
Mysepermeat	2	1,43
Mysepermeat	3	1,35
Kontroll	1	n.d.
Kontroll	2	n.d.
Kontroll	3	n.d.

## Vedlegg 13

*Tabell K. P-verdier for Tukeys test for innhold av laktose i vørter og produkt for hvert melkeråstoff.*

<b>Variant</b>	<b>P-verdi</b>
Sur myse	0,061
Melkepermeat	0,069
Mysepermeat	0,076

## Vedlegg 14

**Tabell L.** P-verdi fra ANOVA for egenskaper til sensorisk profilering. F=Farge; L=Lukt; T=Tekstur; S=Smak.

<b>Egenskap</b>	<b>P-verdi</b>
F-Fargeintensitet	0,000
L-Total intensitet	0,002
L-Sur	0,009
L-Fruktig	0,140
L-Malt	0,904
L-Parfyme	0,572
L-Gjær	0,963
T-Fylde	0,791
T-Skum	0,013
T-Karbonering	0,874
T-Astringent	0,000
S-Total intensitet	0,000
S-Syrlig	0,000
S-Søt	0,013
S-Bitter	0,000
S-Malt	0,001
S-Fruktig	0,002
S-Gjær	0,028
S-Alkohol	0,002
S-Ettersmak	0,122
S-Parfyme	0,149

## Vedlegg 15

**Tabell M.** *P-verdier fra ANOVA for aksept-test.*

	<i>P- verdi</i>
<i>Liking</i>	<i>0,723</i>
<i>Kjøpsvilje</i>	<i>0,790</i>







**Norges miljø- og biovitenskapelige universitet**  
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet  
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway