

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne masteroppgaven ble utført ved Ringnes Bryggeri på Gjelleråsen i tidsrommet januar til mai 2013, som en avsluttende del av mastergraden Matvitenskap ved Universitetet for Miljø- og Biovitenskap, institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap.

Oppgaven utforsket mulighetene for å øke skumholdbarheten i Carlsberg Pils ved hjelp av ulike humleekstrakt. Tema for oppgaven er et resultat av Tore Hages entusiastiske og bidragsgivende engasjement i sin rolle som utviklingssjef ved Ringnes Bryggeri.

En spesielt stor takk rettes til Tore Hage, som har vært min veileder ved Ringnes AS. Tore har vært av uvurderlig hjelp under hele oppgaveperioden. Han har alltid vært tilgjengelig, gitt god faglig veiledning, støtte og inspirasjon. Tore besitter en enorm faglig og menneskelig kompetanse, som har hjulpet meg til å presentere en oppgave jeg nå er fornøyd med. Tusen takk!

En stor takk går også til alle ansatte på Ringnes som har gjort det mulig for meg å gjennomføre dette forsøket; Leikny Dimmen og Martin Sørgaard for hjelp med analyser på kjemilaben, Ringnes sensoriske panel, Jan Inge Stenseth for hjelp til utførelse av de sensoriske analysene, Cecilia M. Kippe for god hjelp, inspirasjon og medpassasjer til og fra Ringnes, Kari Wold for gode råd og omtanke, Erik Bråthen, Martin Linnestad og Gunnhild Tolleshaug for god hjelp og samarbeid i de praktiske forsøkene, og alle prosessoperatørene som har gjort forsøkene mulig.

Jeg vil også rette en takk til min hovedveileder, Trude Wicklund.

Til slutt vil jeg takke mine foreldre for omtanke og lån av bil, og min samboer Christoffer Askheim for hans støtte og tålmodighet under oppgaveperioden.

Det har vært utrolig spennende og lærerikt å skrive denne masteroppgaven. Jeg håper Ringnes AS også vil ha nytte av den.

Line Haug Pedersen

Ås, 10.05.2013

Sammendrag

Skum er først og fremst en viktig visuell egenskap ved ølets kvalitet og estetikk. Et skum som har en viss holdbarhet og som henger delvis fast på glassveggen (kling), er en egenskap som er særegent for øl. Ølskummets kvalitet måles ved dets holdbarhet og kling.

Carlsberg Group Quality Department har nylig øket kravet til skumholdbarhet på Carlsberg Pils, noe som har medført et strengere krav til skumholdbarhet på dette ølet enn andre ølprodukter som produseres ved Ringnes Bryggeri. Det vil tidvis være vanskelig å tilfredsstille dette kravet. Det var derfor nødvendig å sette i gang nye tiltak for å sikre at all produksjon av Carlsberg Pils tilfredsstiller kravet til skumholdbarhet. I dette forsøket var det ønskelig å prøve tilsetning av enkelte humleprodukter som kunne forsterke skumholdbarheten, og dette åpnet for følgende problemstilling:

«Vil tilsetning av humleproduktene; kaliumsalt av tetrahydro-iso- α -syrer (Tetra) og kaliumsalt av α -syrer (Alpha Foam) etter fermentering være fordelaktig for skumstabilitet i ferdig pilsner, og er det gunstig med tanke på produksjonsteknikk, sensorisk produktkvalitet og økonomi?».

For å undersøke problemstillingen ble Carlsberg brygget i fullskala, og 4 mg/l Alpha Foam og 2 mg/l Tetra ble tilsatt i separate brygg, in-line etter filter. Et øl ble brygget uten tilsetning og ble brukt som referanse. Ved siden av vanlige rutineanalyser for ølkvalitet, ble NIBEM og hellemetode benyttet for måling av skumholdbarhet. Bitterkomponentene ble analysert ved hjelp av spektrofotometri og high-performance liquid chromatography (HPLC). Sensorisk kvalitet på produktene ble analysert av smakspanelet ved Ringnes bryggeri. Produktkvaliteten og de teknologiske aspektene ved bruk av de to humleproduktene ble vurdert. De økonomiske forutsetningene ble sammenliknet ved å regne ut kostnader per brygg med tilsatt humleprodukt, sammenliknet mot slik Carlsberg Pils brygges i dag.

Resultatene viser at ved tilsetning av 2 mg/l Tetra kan Ringnes ha en sikker produksjon, som alltid vil tilfredsstille krav til skumholdbarheten for Carlsberg Pils. Sensoriske analyser viser også at Tetra ikke gir noen negativ smakseffekt. Tetra tilfører ekstra bitterhet i ferdigvaren og dette medfører dermed lavere humledosering i vørterkjelen og det er derfor dette humleproduktet

som er det mest økonomisk fordelaktige. Ringnes Bryggeri kan spare cirka 40 000 kr pr år ved en overgang til Tetra i sin produksjon av Carlsberg Pils.

Alpha Foam derimot, viser liten effekt på skumholdbarhet og gir den dyreste produksjonen.

Abstract

Foam is an important visual attribute for beer quality and aesthetics. Foam with a good stability and adherence to glass (cling), is specific for beer. The quality of beer foam is measured by its stability and cling.

Carlsberg Group Quality Department has recently increased the claim for foam stability on Carlsberg Pils, which has resulted in a stricter claim to the foam stability of Carlsberg Pils compared to other beer products from Ringnes Brewery. It will periodically be difficult to reach this claim. It was therefore necessary to come up with a new initiative to make sure that the production of Carlsberg Pils satisfies the claimed foam stability. In this master thesis I discuss the potential of adding special hop products to the beer to give better foam stability. The objective of the research is as follows:

«Will an addition of hop products; potassium salt of tetrahydro-iso- α -acids (Tetra) and potassium salt of α -acids (Alpha Foam) added after fermentation, give Carlsberg Pils a better foam stability, and being favourable with respect to manufacturing technique, sensoric product quality and economy?»

Carlsberg Pils was brewed in full-scale and two different hop extracts were dosed separately in-line after filter; Alpha Foam and Tetra, respectively 4 and 2 ppm of each. Beer without addition of a hop product was used as a reference. As well as routine quality analysis of the beer, foam stability was measured by NIBEM Tester and a manual pouring method. The analyses of bitter substances were measured by using spectrophotometry and high-performance liquid chromatography (HPLC). Sensory quality was analyzed by the sensory panel at the Ringnes Breweries. The product quality and technological aspects of the hop products were evaluated.

The economic factors were compared by calculating costs per brew with added special hop products compared with how Carlsberg Pils is brewed today.

According to the results, it is possible to have a production that satisfies the stability claim for Carlsberg, with an addition of 2 ppm Tetra. Sensory analyses show that Tetra does not have any negative effect on taste. Tetra adds extra bitterness in beer which results in lower dosage of hops in the wort kettle, and this is the reason that this hop product is most favourable regard to the economy. According to economical calculations a transition to Tetra in the production of Carlsberg Pils will represent a potential saved value of approximately 40 000 NOK per year.

Alpha Foam had little effect on foam stability and had the highest price for production of Carlsberg Pils.

Innholdsfortegnelse

FORORD	I
SAMMENDRAG	II
ABSTRACT	III
INNHOLDSFORTEGNELSE	V
1 INNLEDNING OG FORMÅL MED OPPGAVEN	1
1.1 GENERELL INNLEDNING	1
1.2 FORMÅLET MED OPPGAVEN	1
2 TEORI	2
2.1 BRYGGING AV ØL	2
2.1.1 Malt og malting	2
2.1.2 Mesking	3
2.1.3 Vørterkoking	3
2.1.4 Gjæring	5
2.1.5 Stabilisering	6
2.1.6 Modning	6
2.1.7 Lagring	6
2.1.8 Filter	6
2.1.9 Tilsetning etter filtrer	7
2.1.10 Nedbrygging	7
2.1.11 Pasteurisering	7
2.1.12 Vann	7
2.2 HUMLE	8
2.2.1 Humlekomponenter	9
2.2.1.1 Humleresiner	9
2.2.1.1.1 α -syrer	9
2.2.1.1.2 β -syrer	10
2.2.1.2 Humleolje	11
2.2.1.3 Polyfenoler	11
2.3 ØLSKUM OG DETS BESTANDDELER	12
2.4 FYSIKKEN I SKUM	13
2.4.1 Skumdannelse	14
2.4.2 Skumfysikk	15
2.4.3 Sammenfall av skum	17
2.4.4 Skumholdbarhet	19
2.4.5 Faktorer som påvirker skum i ølbryggingen	20
2.5 SKUMSTABILISATORER	21
2.5.1 Proteiner	21
2.5.2 Bittersyrer	25
2.5.3 Toverdige kationer	27
2.5.4 Karbohydrater	28

2.5.5 Maillard-reaksjon produkter	29
2.5.6 Lipider.....	29
2.5.7 Etanol	30
2.5.8 pH.....	30
2.6 HUMLEEKSTRAKTER	30
2.6.1 Tetrahop Gold (Tetra).....	31
2.6.2 Alpha Foam	31
2.7 CO ₂ -EKSTRAKSJON	32
2.7.1 CO ₂ -humleekstrakt	34
2.7.1.1 Ikke isomerisert humleekstrakt.....	34
2.7.1.2 Isomeriserte humleekstrakt	35
2.8 BITTERINTENSITET	38
2.8.1 Humleekstraktenes påvirkning på bitterhet.....	40
2.8.2 Aromatilsetning.....	41
2.8.3 Utnyttelse av humleekstraktene	41
3 MATERIALER OG METODER	42
3.1 BRYGGEMETODEN	42
3.2 HUMLETILSETNING	43
3.2.1 Humleprodukter	43
3.2.2 Utregning av humleekstraktenes produktmengde.....	44
3.3 METODER.....	46
3.3.1 Analysemetoder gjennomført i forsøket	46
3.3.2 Usikkerhet ved bruk av analysemetodene	47
3.3.3 Instrumenter.....	48
3.3.4 Virkelig ekstrakt-, tilsynelatende ekstrakt-, og alkoholinnhold. 3.3.4.1. Anton Paar Beer Alcolyzer med DM4500.....	49
3.4 ANALYSE AV VØRTER	50
3.4.1. Virkelig ekstrakt (E _R) og spesifikk vekt i vørter.....	50
3.4.2 Bitterhetsanalyse av vørter	50
3.4.3 pH i vørter	51
3.4.4 Oksygen i vørter	51
3.5 ANALYSER AV GJÆRENDE ØL	52
3.5.1 Virkelig og tils. ekstrakt, alkoholinnhold i øl ved nærinfrarød spektroskopi (NIR)	52
3.5.2 Bitterhet	52
3.5.3 pH.....	52
3.5.4 Måling av celletall med NucleCounter YC-100	52
3.5.5 Diacetyl med GC.....	53
3.6. ANALYSER AV ØL LAGRET PÅ KULDESTABILISERINGSTANK	53
3.6.1. Virkelig- og tils. ekstrakt, alkohol, bitterhet og pH.....	53
3.6.2. Fargemåling av øl.....	53
3.7 ANALYSER AV ØL PÅ FILTERTANK.....	54
3.7.1 Virkelig ekstrakt, alkohol og bitterhet.....	54
3.7.2 Oksygen i filtertank	54
3.7.3 Haze.....	54
3.8 ANALYSER AV FERDIGVARE	55

3.8.1 Virkelig ekstrakt, alkohol, bitterhet og pH	55
3.8.2 Fargemåling	55
3.8.3 CO ₂ -innhold	55
3.8.4 Diacetyl (DA)	56
3.8.5 Analyse av individuelle bitterstoffer (HPLC)	56
3.8.6 Totale Package Oxygen (TPO)	57
3.8.7 Haze i øl	57
3.9 MÅLING AV ØLSKUM	57
3.9.1 Skummåling ved bruk av NIBEM	57
3.9.2 Hellemetode for måling av skumholdbarhet	58
3.10 SENSORISKE TESTER	59
3.10.1 Triangeltest	60
3.10.2 Sensorisk kvalitetskontroll	60
3.11 BREWING ANALYTES PROFICIENCY TESTING SCHEME	61
4 RESULTATER	62
4.1 PRØVEFORSØKET	62
4.2 BRYGGING I FULLSKALA	64
4.2.1 Analyser på kaldvørter	64
4.2.2 Analyser på gjæringstank	64
4.2.3 Analyser på øl lagret på kuldestabiliseringstank	66
4.2.4 Analyser på filtertank (BBT)	67
4.2.5 Analyser av ferdigvarer	68
4.3 MÅLING AV SKUMHOLDBARHET PÅ FERDIGVARENE	70
4.4 HPLC	74
4.5 SENSORISKE ANALYSER	76
4.6 ØKONOMI	78
5 DISKUSJON	81
5.1 PRØVEFORSØKET	83
5.2 ANALYSENE UNDER FORSØKET	83
5.3 BITTERINTENSITET	86
5.3.1 BU målt spektrofotometrisk i ferdigvarer	86
5.3.2 BU målt med HPLC	87
5.4 HUMLEEKSTRAKT FOR BEDRE SKUMHOLDBARHET	88
5.5 SKUMHOLDBARHET NIBEM	90
5.6 SKUMHOLDBARHET HELLEMETODEN	91
5.7 SENSORISK TEST AV RINGNES EKSPERTPANEL	92
5.8 KVALITET	94
5.9 TEKNOLOGISKE UTFORDRINGER	95
5.10 ØKONOMI	96
6 KONKLUSJON	97
7 LITTERATUR	98
8 VEDLEGG	I

VEDLEGG 1 – RESULTATER FRA ANALYSENE AV KALDVØRTER, ØL UNDER GJÆRING OG ØL LAGRET PÅ KULDESTABILISERINGSTANK	II
VEDLEGG 2 - RESULTATER FRA ANALYSER PÅ FILTERTANK OG ANALYSER PÅ FERDIGVARER.	III
VEDLEGG 3 – RESULTATER FRA HPLC-ANALYSEN	V
VEDLEGG 4 – SVARSKJEMA OG RESULTATER FRA KVALITETSKONTROLLTEST – SENSORISKE PREFERANSER	X
VEDLEGG 5 – TRIANGELTEST; SVARSKJEMA OG TABELL	XV

1 Innledning og formål med oppgaven

1.1 Generell innledning

I de siste årene har bryggeprosessen vært under stadig utvikling, og kunnskapen om ølbrygging øker. Skumlaget som dannes ved tapping eller helling av øl, er et biprodukt av bryggingsprosessen, og skumholdbarheten er en viktig komponent for ølets kvalitet og karakter. Ølskum måles ved dets holdbarhet og gardindannelse. Med tanke på at ølbrygging består av flere ulike råstoff og prosesstrinn, gir dette mange faktorer som kan påvirke ølskum i positiv eller negativ retning (Bamforth, 2012).

1.2 Formålet med oppgaven

Ringnes Bryggeri har nylig fått et øket krav til skumholdbarheten på Carlsberg Pils, som medfører et strengere krav til skumholdbarhet på dette ølet. For å sikre at Carlsberg Pils tilfredsstiller dette kravet, og samtidig opprettholde kvalitetsmessige og produksjonstekniske fordeler for dette produktet, settes det i gang nye tiltak. I dette forsøket skal to ulike bittererekstrakt tilsettes Carlsberg pilsner, for å undersøke om skumholdbarhet forsterkes i ferdigvare. Dette åpnet for at denne oppgaven skal omhandle problemstillingen:

«Vil tilsetning av humleproduktene; kaliumsalt av tetrahydro-iso- α -syrer (Tetra) og kaliumsalt av α -syrer (Alpha Foam) etter fermentering være fordelaktig for skumstabilitet i ferdig pilsner, og er det gunstig med tanke på produksjonsteknikk, sensorisk produktkvalitet og økonomi?».

Det skal benyttes én hellemetode og en analytisk skummålingsmetode for sammenlikning av skumholdbarhet i ferdig øl. Andre analytiske målinger blir også tatt hensyn til. I tillegg skal de økonomiske og teknologiske aspektene bli vurdert. I henhold til problemstillingen ble det satt opp følgende hypoteser:

- **Hypotese 1:** Det er ikke mulig å identifisere negative sensoriske forskjeller mellom øl tilsatt kaliumsalt av tetrahydro-iso- α -syre og øl tilsatt kaliumsalt av α -syre sammenliknet med øl produsert uten humleekstrakttilsetning.
- **Hypotese 2:** Det er kaliumsalt av α -syre som viser til de beste egenskapene på Carlsberg Pils med hensyn til skumholdbarhet og kvalitet, og som har minst produksjonstekniske, økonomiske og sensoriske konsekvenser.

2 Teori

2.1 Brygging av øl

«Brygging av øl er verdens eldste bioteknologi», Tore Hage.

Tradisjonelt brygges øl på hovedingrediensene vann, malt, humle og gjær. De tre biokjemiske prosessene som finner sted i bryggingen er; enzymdannelse i spirende korn, enzymnedbryting av stivelse til forgjærbart sukker, og tilslutt gjæringen av sukker til karbondioksid (CO₂) og etanol (Kunze, 2010). Bryggeriindustrien videreutvikles i takt med den teknologiske utviklingen.

Råvarene kan for eksempel endres med hensyn til økt utbytte og høyere fortjeneste, eller nye krav til produktene. For å produsere et øl av høy kvalitet er det viktig med gode råvarer, renslighet, stabile temperaturer og kontinuerlig overvåking (Lewis and Young, 2002).

Hovedprosessene i ølbrygging er: malting, mesking, vørterkoking, gjæring, modning, filtrering og pasteurisering (Kunze, 2010). Råvarene og de ulike prosessene er med på å påvirke sluttproduktet. Bryggeprosessen er i denne oppgaven videre grovt skissert.

2.1.1 Malt og malting

Før kornet kan brukes i ølbrygging må det gjøres om til malt, og prosessen er kalt malting. Malt lages fra bygg eller en annen kornsort, og er en av hovedkomponentene i øl. Hensikten med malting er å utvikle enzymer som har evne til å omdanne stivelsen i kornet til forgjærbare sukkerarter, blant annet maltose og maltotriose (Ødegård, 2010). Malting er en prosess i tre steg. Først blir kornene fuktet. Deretter spirer kornet delvis under kontrollert temperatur og med tilgang til O₂ (Lewis and Young, 2002). Under spiring blir viktige enzymer som β- og α-amylaser og dextrinaseenzymer utviklet. Samtidig vil det skje en degradering av komplekse proteiner til løselige aminosyrer og peptider. Til slutt tørkes maltet. Det er Maillardreaksjonen, en reaksjon mellom reduserende sukker og aminosyrer som skjer under høy temperatur og lav vannaktivitet, som sørger for utviklingen av farge- og smaksstoffer (Ødegård, 2010). Avhengig av temperatur og tørketid, dannes ulike maltsorter.

Det benyttes hovedsakelig fire typer malt; pilsnermalt, bayermalt, karamellmalt og fargemalt. Det er maltet som gir ølet farge, fylde og sødme, og alkohol gjennom omdanning av sukker til

alkohol og kullsyre under gjæringen (Ødegård, 2010). I tillegg vil et høyt proteininnhold i det maltede kornet kunne gi bedre skumholdbarhet (Bamforth, 2012). I et brygg brukes det vanligvis en kombinasjon av flere malttyper. Ved brygging av Carlsberg Pils benyttes pilsnermalt og fargemalt. Pilsnermalt blir fraktet i båt fra Sverige, Danmark eller Finland til siloer på Sjursøya. Derifra fraktes det videre til Ringnes Bryggeri. Maltblandingen transporteres til et bløtekammer, der malten fuktes med varmt vann før det knuses. Maltskallene blir smidigere av fuktigheten og blir i større grad bevart hele, noe som gir bedre utbytte ved avsiling. Mer vann tilsettes, før maltblandingen blir pumpet videre til meskekaret (Ødegård, 2010). Hensikten med malingen er å knuse maltet for at innholdet skal kunne ekstraheres, slik at det blir et høyt utbytte av næringsstoffer.

2.1.2 Mesking

I meskekaret blir knust malt og vann blandet sammen. Maltet fungerer som et velbalansert medium for gjæren, ved at det bidrar med aminosyrer, forgjærbart sukker, enzymer og vitaminer (Kunze, 2010).

Maltet består hovedsakelig av karbohydrater, der stivelsen står for størstedelen. Under meskingen blir den uoppløselige stivelsen omdannet til forgjærbare sukkerarter, ved hjelp av maltets stivelsesspaltende enzymer, α - og β -amylasene. Mesken varmes opp trinnvis, da, α -amylasene aktiveres optimalt ved 72-75 °C og β -amylasene ved 62-65 °C. α -amylasene kutter komplekse stivelsesmolekyler opp i kortere kjeder, mens β -amylasene kutter av to og to glukosemolekyler (maltose) fra enden av sukkerkjeden. Maltose kan forgjæres, og β -amylasene har dermed evnen til å lage forgjærbart sukker (Kunze, 2010). Optimal pH for mesking ligger mellom 5,1 til 5,6. For å justere på pH i meskekaret tilsettes melkesyre og kalsiumklorid (CaCl_2) (Denk et al., 2002). CaCl_2 forbedrer i tillegg utfelling av proteiner, hjelper enzymer, forbedrer humlearoma og er gunstig for gjæra. Når mesken har nådd ønsket temperatur, pumpes den over i et silkar og faste stoffer (korn og skall) siles fra. Væsken som blir igjen kalles vørter (Ødegård, 2010).

2.1.3 Vørterkoking

Vørteren kokes i en vørterkjele i normalt 60 minutter. Humle tilsettes én eller flere ganger under kokingen og er med på å gi ølet bitterhet og aroma. Humleproduktene som tilsettes kan være i

form av pellets, hele kongler eller som flytende ekstrakt, og kan tilsettes separat, eller som en kombinasjon av de ulike produktene. Kokingen løser opp bitterstoffene i humlen og humlens α -syrer omdannes til vannløselige iso- α -syrer, også kalt isomerisering (Benitez et al., 1997).

Under kokingen forekommer Maillardreaksjon og det blir dannet melanoidin, en polymer som gir farge til ølet. I tillegg til isomerisering, skjer det en rekke biokjemiske endringer under vørterkokingen. Enzymene (amylaser, proteaser, β -glukanaser) inaktiveres, vørteren steriliseres, pH reduseres og vann fordampes til vørteren når riktig ekstraktkonsentrasjon (% $^{\circ}$ Plato). Enkelte uønskede smaks- og aromakomponenter vil også dampe bort, for eksempel dimetylsulfid (DMS), som har en karakteristisk maissmak. pH synker mellom 0,2–0,25 pH-enheter, ved at fosfat og polypeptider reagerer med Ca^{2+} og former uløselige sammensetninger som frigjør H^{+} og syrer væsken. Melanoidindannelse og oppløsning av bittersyrer er også med på å senke pH. pH lavere enn 5 kan redusere oppløsning og isomerisering av bitterkomponentene fra humle og fører til dårligere utbytte av iso- α -syrer (Denk et al., 2002).

Proteiner koagulerer under vørterkokingen, som betyr at proteinenes hydrofobe regioner blir gjort tilgjengelige. Koagulering øker proteinenes skumstabiliserende evne. Samtidig vil økt hydrofobisitet føre til minket løselighet i vørteren, som gjør at proteinene kan felles ut og tapes i varmen, for eksempel under forlenget vørterkoking. Mangel på koagulering og utfelling av proteiner gir et øl med høyere tap av skumstabiliserende proteiner, og er svært ødeleggende for skumholdbarhet i ferdig øl (Bamforth, 2012).

High Gravity Brewing (HG) er en bryggeprosesseteknikk som benyttes ved Ringnes Bryggeri. HG går ut på at vørteren brygges ved høyere ekstraktinnhold (sukkerinnhold), cirka 14-16 % Plato, før det senere i prosessen nedbrygges til ønsket ekstraktinnhold (T. Hage, personlig kommunikasjon, 2013). Ved vanlig brygging (ikke HG), er ekstraktinnholdet i vørteren rundt 10-11 % Plato (Kerry, u.å.).

Før vørteren kjøles ned blir det tilsatt sink, er sporstoff som gjæren trenger til forgjæringen (Ødegård, 2010). Ved nedkjøling mister et usynlig koagel sin løselighet og feller ut. Denne utfellingen er kalt kaldtrub, og starter ved cirka 60 °C. Kaldtrub består hovedsakelig av protein-polyfenol sammensetninger. Det er svært ønskelig med rask kjøling, for å felle ut mest mulig

protein. En sakte kjøling vil etterlate mer protein i vørteren, som er med på å danne økt kuldeklarhet, skarp smak og svovelliknende ettersmak i ølet (Goldhammer, 2008).

2.1.4 Gjæring

Før gjæringsprosessen settes i gang renses vørteren for partikler ved bruk av en whirlpool. Whirlpoolen er en sylindrisk beholder som samler humle- og maltrester i bunnen av cylinderen. Den gjenværende vørteren kjøles ned ved bruk av en platekjøler, før den luftes med steril luft (20 % oksygen). Det er nødvendig med oksygen for syntesen av umettede fettsyrer, da oksygen er hovedkomponenten i cellemembranen i gjærceller, og dermed også celledeling (Ødegård, 2010).

Gjær er en encellet organisme, som omdanner sukkeret i vørteren til alkohol og CO₂. Det er to hovedtyper ølgjær; *Saccharomyces cerevisiae* (overgjær) og *Saccharomyces carlsbergensis* (undergjær). Gjær og gjæringsmetode har stor innvirkning på ferdig øl. Overgjær og undergjær gjærer best ved henholdsvis 20-25 og 10-15 °C. Det er viktig å tilsette riktig mengde gjær i kaldvørter. For lite gjær gjør at gjæringen kommer sent i gang, mens for mye gjær fører til mer bunnfall, og resulterer i økt ølsvinn. Gjærkvaliteten er av høy betydning, da en stresset gjær frigjør proteolytiske enzymer som kan ødelegge skumholdbarhet (Bamforth, 2012).

Mange av de biproduktene som dannes under fermenteringen brytes ned igjen. Biprodukt fra fermentering, sammen med humlekomponentene, er avgjørende for smak og aroma i ferdig øl (Kunze, 2010). Under gjæringen dannes gjæringsbiprodukter kalt diacetyl (2,3-butandion) og 2,3-pentanedion. Diacetyl er en smakskomponent, som ved for høye verdier gir ølet en smøraktig aroma. Gjærcellen produserer ikke diacetyl, men skiller ut forløperne til diacetyl, nemlig 2-acetolaktat, under syntesen av aminosyrer (Ødegård, 2011). Etter at forgjærbare sukkerarter er forgjæret, fjernes gjær som har satt seg i bunnen av gjæringstanken. Gjær som er igjen i ølet vil spise opp det utskilte diacetylinnholdet (Ødegård, 2010). Gjæren fjernes i en sentrifuge og ølet kjøles ned til -1,5 °C.

Ved gjærtilsetning reduseres vørterens pH 5,0-5,4, til 4,2-4,6 i det ferdiggjærede ølet. Reduksjon i pH skyldes produksjon av organiske syrer, blant annet eddiksyre og CO₂. Gjærens forbruk av fosfationer, opptak av ammoniumioner og kaliumioner, med tilhørende frigjøring av H-ioner i ølet vil også være med på å redusere pH (Kunze, 2010). Som et resultat av reduksjonen i pH under fermenteringen, bringes en rekke kolloide, oppløste bitre stoffer og polyfenoler til deres

isoelektriske punkt (ladningsnøytral) og blir utfelt som overflateaktive sammensetninger på CO₂-gassboblene i skum eller som et resultat av absorpsjon på gjærcellene (Bamforth, 2012).

2.1.5 Stabilisering

Protein- og polyfenolforbindelser kan felles ut over tid og er med på å redusere holdbarheten til øl. Det er derfor gunstig å fjerne disse stoffene så tidlig som mulig. Mange av forbindelsene fjernes ved bruk av whirlpool, og i lagertank. Ytterligere stabilisering foregår ved å tilsette PVPP og/ eller silicagel. PVPP er et plaststoff som ligner protein, og som kan binde polyfenolene til seg og hindrer at det dannes protein-polyfenol uløselige komplekser. PVPP fjerner alle fenolkomponenter og gjør dem utilgjengelige for proteiner. Silicagel reagerer med proteinene slik at disse blir utilgjengelige for polyfenolene og hemmer utfelling. Silicagelbehandling har liten effekt på skumfremmende komponenter (Ødegård, 2011, Kunze, 2010).

2.1.6 Modning

Etter gjæring gjennomgår ølet modning. Her brytes uønskede biprodukter ned, samtidig som mer kullsyre utvikles og ølet blir mett med karbondioksid. I tillegg blir ølet klarere ved at gjær og humlerester feller ut som bunnfall. Hensikten med modning er å oppnå ønsket kvalitet på ølet (Ringnes, u.å.). Gjæren omdanner diacetyl gjennom acetoin til butandiol, men butandiol påvirker ikke aromaen negativt. Når forgjæringsgraden er nådd og ølet har nådd ned til diacetyl $\leq 0,7$ mg/l er ølet klart for lagring. Ølet kjøles ned til < 8 °C slik at gjæren setter seg i bunn av tanken, omtalt som berme. Deretter slanges ølet og settes til kuldestabilisering (Ødegård, 2011).

2.1.7 Lagring

Under kuldestabilisering blir ølet lagret på sylindronisk tank ved $\leq -1,5$ °C. Ved denne temperaturen og under et bestemt trykk, felles det ut partikler av gjær og protein-polyfenolforbindelser som samles i bunnen av tanken (Ødegård, 2011).

2.1.8 Filter

Ved å pumpe ølet gjennom et filtermedium fjernes uønskede partikler. Hensikten med filtrering er å skape klarhet i ølet og ønsket kvalitet på sluttproduktet. Ved Ringnes bryggeri benyttes filtermaterialet Kiselgur (tysk: Kieselguhr), som er skall av en porøs, fossil alge med stor overflate (Ødegård, 2011). Kiselgur sin høye porøsitet er det som gjør den godt egnet til filtermedium (Kunze, 2010).

Øl filtreres ved temperatur $\leq -1,5$ °C. Den lave temperaturen medfører at utfelte proteiner/polyfenoler holder seg stabile og ikke går i oppløsning under filtreringen. Ulike tilsetningsstoffer kan innblandes i forbindelse med filtreringen, med hensikt å forbedre ølets smak, skum, farge, aroma eller holdbarhet (Ødegård, 2011).

2.1.9 Tilsetning etter filter

Etter endt filtrering kan man tilsette komponenter i ølet med den hensikt å forbedre en eller flere egenskaper ved ølet. Humleprodukt som tilsettes etter filter kalles også «downstream»-produkt (Kunze, 2010). Eksempel på «downstream»-produkt er bitterekstraktene Tetra og Alpha Foam. Risikoen ved tilsetning etter filter er uønskede sensoriske endringer eller uklarhet i ferdigvare.

2.1.10 Nedbrygging

På Ringnes nedbrygges ølet etter filtreringen. Nedbryggingsvannet har stor påvirkning for ølets videre kvalitet, blant annet er det viktig at det vannet som tilsettes er fritt for O₂. Vannet får fjernet O₂ ved at CO₂ (kullsyre) bobles gjennom vannet (Kunze, 2010).

2.1.11 Pasteurisering

Pasteurisering før tappingen dreper mikroorganismer, og er den beste metoden for å sikre holdbarheten av ølet. Flaskepasteurisering foregår ved 60-62 °C i 10-20 minutter, mens platepasteurisering varer i 30 sekunder ved 70 °C (Kunze, 2010).

2.1.12 Vann

Øl består av mer enn 90 % vann og det er derfor viktig med god vannkvalitet. Vannet blir benyttet til malting (under spiringen), mesking, vørterkoking, filtrering, kjøling, pakking og ikke minst vasking av utstyr og prosesslinje. Vannets sammensetning av mineraler og salter er med på å skape særpreg på ølet (Ødegård, 2011). Enkelte mineraler er av stor innflytelse på ølets kvalitet og er viktig for å oppnå en jevn fermentering (Goldhammer, 2008).

Vannet som benyttes til ølproduksjon ved Ringnes bryggeri kommer fra Nedre Romerike Vannverk (NRV) (Ødegård, 2010). Vannet som mottas har en stabil pH-verdi omkring 7,4, og regnes dermed som en god råvannskilde (E. Bråthen, personlig kommunikasjon, 2013).

2.2 Humle

Denne oppgaven vil først og fremst fokusere på hvordan tilsetning av ikke-isomerisert og redusert isomerisert humleekstrakt etter filter påvirker skumholdbarhet i Carlsberg Pils. Først følger imidlertid en gjennomgang av humle, ølskum, skumfysikk, skumstabilisatorer, før innledning av humleekstraktene Alpha Foam og Tetra, prosessering av produktene og avslutningsvis bitterintensitet.

Humle (*Humulus lupulus L.*) gir ølet bitter smak og aroma, og regnes som ølets krydder.

Vi skiller mellom to typer humle; bitterhumle og aromahumle. Under vørterkokingen oppløses bitterstoffene, og bitterhumle må derfor tilsettes tidlig. Stoffene fra aromahumlen derimot, er av flyktige komponenter som fordamper og bør tilsettes ved kokeslutt (Ødegård, 2010).

Det er konglen av hunnplanten som benyttes i ølbrygging (Kunze, 2010). «I blomsten finnes små, gylne kjertler som inneholder lupulin. Harpiksstoffer i lupulinet inneholder bitterstoffer» (Ødegård, 2010). Innholdet av α -syrer i lupulinet sier noe om humlens bitterhet (Biendl and Pinzl, 2008). Komposisjon av humlens tørrvekt er vist i Tabell 2.1.

Tabell 2.1 Sammensetning av tørket humle (Biendl and Pinzl, 2008).

Komponenter	Konsentrasjon (% w/W)
Bitterkomponenter	1,5-18
Humleolje	0,5-2,5
Polyfenoler	3,5
Protein	20,0
Mineraler	8,0
Vann	10

Verdiene varierer med humlesort, dyrkningsområde, høstingspunkt, grad av tørking og lagringsforhold (Benitez et al., 1997). Humle inneholder også cellulose og andre komponenter, men disse er ubetydelig ved ølbrygging (Kunze, 2010).

2.2.1 Humlekomponenter

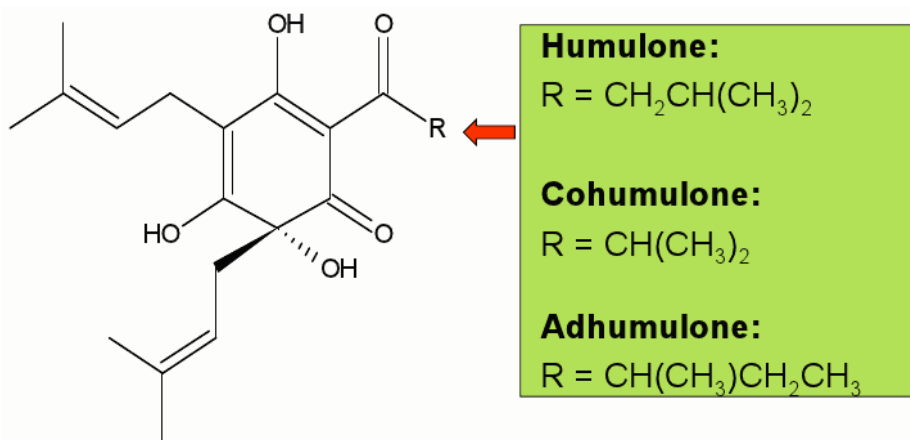
2.2.1.1 Humleresiner

Humleresinene er de mest verdifulle og karakteristiske humlekomponentene. Humleresiner kan deles inn i myke og harde resiner og uspesifiserte resiner, avhengig av deres løselighet. Myke resiner kan løses opp i heksan, mens harde resiner forblir uløselige. Begge fraksjonene er løselige i kald metanol og dietyleter. Humlesyrene, α -syrer og β -syrer, er del av de myke resinene. Humlesyrene er svake syrer med dårlig løselighet i vann og vørter og bidrar med lite bittersmak. Felles for dem er den biokjemiske forløperen 6-deoxy- α -syre (Benitez et al., 1997).

Komponenter som dannes i humleplanten, men som ikke deltar i de primære metabolske prosessene, er kalt sekundære metabolitter. De kan være produsert fra komponenter fra en av de vitale biokjemiske veiene, eller kan rett og slett være avfallsprodukt modifisert for å ha en nytteverdi. De fleste reaksjonene under dannelsen av sekundære metabolitter katalyseres av spesifikke enzymer, og av den grunn anses de ikke som komponenter av primærmetabolismen. Likevel er de nødvendige for plantens liv, utvikling og forplantning. Humle inneholder mengder med sekundære metabolitter som inneholder ulike grupper av organiske syrer. I ølbryggingsammenheng er det humlesyredelen av den myke resinfraksjonen (α - og β -syrer), oljer og polyfenoler som er av interesse (Benitez et al., 1997). Mesteparten av polyfenolforbindelsene er i konglebladene, mens oljer og bitterkomponenter er i lupulinet (Biendl and Pinzl, 2008).

2.2.1.1.1 α -syrer

α -syrene, også kalt humulonene, er av de viktigste bitterkomponentene til ølbrygging fordi de er med på å gi øl dets bitre smak. Resinfraksjonen kan felles ut med blysalt i metanol (Verzele and De Keukeleire, 1991). Fra α -syre er det blitt identifisert fem ulike homologer; humulon, cohumulon, adhumulon, prehumulon og posthumulon. Det er kun sidegruppen R på karbonatom to som skiller homologene fra hverandre, illustrert i Figur 2.1 (Falconer, 2012a). α -syrene er ansvarlig for 90 % av bitterheten i øl, der co-, ad- og vanlig humulon og kan anses som de viktigste komponentene (Goldhammer, 2008).



Figur 2.1 Molekylstrukturen til humulon og dens derivater (Falconer, 2012a).

Innhold av α -syre vises som prosentandel vekt av total humlevekt (w/w), og informasjonen kan benyttes for utregning av humletilsetting i brygget. Humle med α -syre innhold på 5 %, 5-8 % og 8-14 % angir lav, middels eller høyt bitterinnhold. For å redusere produksjonskostnadene er det fordelaktig å bruke humle med høyt α -syreinnhold i ølbryggingen (Goldhammer, 2008).

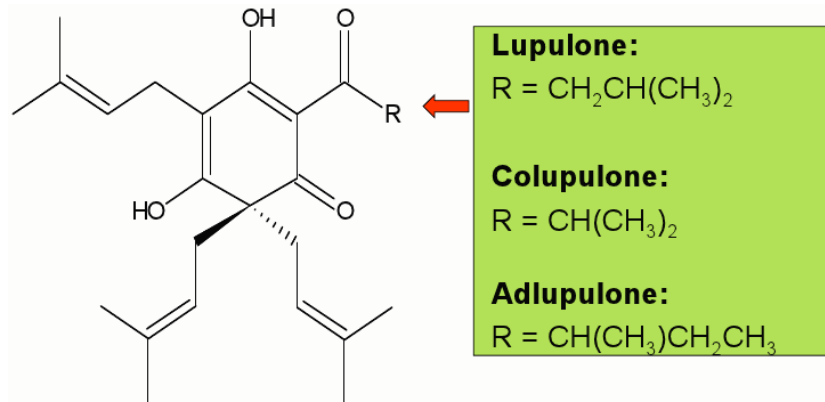
α -syrene har pKa-verdi 4,7 (cohumulon), 5,5 (humulon) og 5,7 (adhumulon). Verdiene gjør at de bare er svakt dissosierte ved pH 5,2 og løseligheten i vørter er lav (Narziss, 1992). Ved pH 5,0 er løseligheten 40 mg/l ved 25 °C og 60 mg/l ved 100 °C, mens ved pH 5,9 og 100 °C er løseligheten 480 mg/l. Under gjæringen produseres det CO₂ og pH senkes til cirka 4,8. Ved denne pH-en blir α -syrene fullstendig uløselige, og de vil feste seg på overflaten til skum og sedimentert gjær (Benitez et al., 1997, Narziss, 1992).

2.2.1.1.2 β -syrer

Den andre delen av de myke resinene er β -syrer, også kalt lupuloner. β -syrer inkluderer også fem homologer; lupulon, colupulon, adlupulon, prelupulon og postlupulon, som vist i Figur 2.2. Når α -syrene felles ut med blysalt i metanol, vil den resterende fraksjonen inneholde β -syrer og uspesifikke myke resinfraksjoner (Verzele and De Keukeleire, 1991).

β -syrer kan ikke isomeriseres, da de mangler tertiæralkoholgruppe på karbonatom seks. Av denne grunn bidrar ikke β -syrer med særlig bitterkraft. I tillegg inneholder β -syrer en ekstra prenyl-sidekjede som bidrar til mindre løselighet (Van Cleemput et al., 2009). Ved vørterens pH er løseligheten cirka 9,0 mg/l ved 100 °C (Benitez et al., 1997). Mesteparten av β -syrene

forsvinner under vørterkokingen, grunnet utfelling eller absorbering på faste stoffer (Goldhammer, 2008). α -syrefraksjonen har dermed en langt høyere bryggeverdi enn β -syrefraksjonen (Van Cleemput et al., 2009).



Figur 2.2 Struktur og homologer av β -syrene (Falconer, 2012a).

Vørterkokingen bryter ned β -syrer og gir mulighet til dannelse av komplekse sammensetninger av oksidasjonsprodukter (Verzele and De Keukeleire, 1991). Noen av oksidasjonsproduktene overlever i ølet og kan bidra med bitterhet, eksempelvis hulupon. Hoveddelen av oksidasjonsproduktene gir en skarp bittersmak og oksidasjon bør unngås. β -syrene har en bakteriostatisk effekt, og kan inhibere vekst av Gram+ bakterier (Benitez et al., 1997).

2.2.1.2 Humleolje

Humleoljer er kun en liten bestanddel i humlekonglen. Disse skilles ut fra humlens lupulinkjertler under modning, og gir humle dets karakteristiske aroma. Systematisk deles oljene inn i; hydrokarbon fraksjon (50-80 %), oksidert fraksjon (20-50 %) og svovelfraksjon (<1,0 %) (Benitez et al., 1997).

2.2.1.3 Polyfenoler

Polyfenoler finnes hovedsakelig i humlebladene. Felles for polyfenolene er at de er basert på en ryggrad av fenoler, og inneholder vanligvis to eller fler fenolringer (Falconer, 2012a). I vørterkaret stammer cirka 70-80 % av polyfenolinnholdet fra malt, og 20-30 % av innholdet fra humle (Kunze, 2010).

Polyfenolene er vannløselige og løses opp i vørteren umiddelbart etter tilsetning. De kan separeres og bestemmes ved bruk av high-performance liquid chromatography-diode array

detector (HPLC-DAD)(Benitez et al., 1997). Humlepolyfenoler er en stor gruppe kjemiske komponenter og inkluderer anthocyanogener, tanniner, katekiner og flavonoler (Kunze, 2010).

Polyfenolene kan ha positiv og negativ påvirkning på øl. Polyfenolene av lav molekylvekt er naturlige antioksidanter og kan beskytte ølet mot oksidasjon, og dermed forbedre smaksstabiliteten og holdbarheten i ferdig øl. Polyfenolene har negativ påvirkning på ølskum. Malt med lavere polyfenolinnhold vil resultere i mindre tap av skumpositive komponenter under vørterkokingen (Bamforth, 2012). Proantocyanidiner, også kjent som tannoider, er eksempel på polyfenoler som er med på å danne stabile og uløselige sammensetninger med proteiner som feller ut under bryggingen og forårsaker uklarhet i ølet, kalt haze (Benitez et al., 1997).

Haze kan forekomme i to former; «chill haze», såkalt kuldeklarhet, og «permanent haze». Chill haze oppstår når polyfenolene binder seg til proteiner under kjøling. Denne formen løses opp igjen ved oppvarming. Når polyfenolene polymeriseres og vokser seg større, blir de uløselige ved romtemperatur og danner irreversibel «permanent haze» (Benitez et al., 1997).

2.3 Ølskum og dets bestanddeler

«Skum er en dispersjon, der frigjort karbondioksidgass er jevnt fordelt i ølets væskefase, beriket med overflateaktive komponenter» (Barth-HaasGroup, 2005).

Ølskum er en parameter som vurderes svært forskjellig i ulike land, og er i høy grad med på å påvirke ølkonsumentenes førsteinntrykk og kvalitet av ølet.

Skummets kvalitet kommer tydelig frem når ølglasset er fylt til randen, og av den grunn er skummet spesielt



Figur 2.3 Gassbobler i øl (Kolboe, 2012)

viktig når ølet konsumeres fra glass fremfor flaske eller boks. Charles W. Bamforth er professor i ølbrygging ved Davis Universitet i California. Han gjennomførte i tidsrommet 2000-2006 flere studier om ølskum og forbrukernes preferanser med hensyn til dette. Ut i fra studiene og litteratur, kom det frem at amerikanske forbrukere fortrakk et holdbart skum, og at de fleste øldrikkere ikke foretrakk et for høyt skumlag. Mange mente at skum fikk øl til å se kaldere ut, og tendensen var at menn likte skum bedre enn kvinner. I Tsjekkia derimot, viste det seg at

øldrikkene i landet kun brød seg om skummet når væsken begynte å vises gjennom skumtoppen. I Belgia ble det foretrukket store mengder med skum, mens skotter foretrakk veldig lite skum (Bamforth, 2012). Lite studier viser til hvordan vi liker ølskummet her i Norge, men interessen for lokale brygg og produksjonsmetoder har resultert i økning av mikrobryggerier og mindre aktører. Stadig flere forbrukere ønsker å lære mer om øl og man kan anta at i takt med utviklingen er skum også av større interesse. Selv om preferansene på ølskum er meget individuelle, er det i de fleste tilfeller ønskelig med «respektable» mengder med skum.

Når øl drikkes fester det seg et gardinmønster av bobler langs sidene i glasset, også kalt kling. Bamforth viser til at gardiner i glasset er av mindre viktighet, men at det har en betydning for drikkeopplevelsen (Bamforth, 2012).

Øl er unikt fordi det er den eneste alkoholholdige drikkevaren som produserer et holdbart skum. Siden ølskum er et komplekst biprodukt fra ølbryggeprosessen, kan det være utfordrende å lage et bra skum. Skum kan klassifiseres ut i fra egenskapene tekstur, hvithet, gardiner, robusthet og smak, men hovedsakelig vurderes det etter holdbarhet og kling (Kunimune and Shellhammer, 2008). Antall, størrelse og fordeling av boblene i ølskum bestemmer skummets tekstur. Små, runde, homogene og stabile bobler gir inntrykk av en kremaktig konsistens (Barth-HaasGroup, 2005).

2.4 Fysikken i skum

For å forstå og kunne lage et godt ølskum, er det nødvendig å sette seg inn i den grunnleggende fysikken (Bamforth, 2012).

Skum på øl har stor overflate, som er i kontrast med overflatespenning (γ)¹. Overflaten representerer overflateenergi som systemet vil kvitte seg med og skumdannelse blir vanskeligere desto høyere overflatespenning (Bamforth, 2012). Senkning i overflatespenning forsterker skumholdbarheten.

Trykkforskjellen mellom innsiden og utsiden av en boble kalles Laplace-trykket. Effekten skyldes overflatespenningen i grenseflaten mellom væske og gass (Srinivasan et al., 2008).

¹ «Spenningsstilstand som kommer av at trekkraftene mellom molekylene er sterkere i overflaten enn i væsken» (Norsk Ordbok, 2014).

Øl inneholder komponenter som beveger seg inn i bobleveggen og binder den sammen. Disse motvirker kraften av overflatespenningen og kalles dermed overflateaktive, skumstabiliserende komponenter (Bamforth, 2012). Komponentene danner kjemiske bindinger med nabomolekyler og vinner da en viss mengde bindingsenergi. Det koster energi å danne overflate, og dermed senkes overflatespenningen (Srinivasan et al., 2008). De overflateaktive stoffene, òg kalt surfaktanter, er helt uunnværlige for dannelse av skum og holdbarheten av skummet.

2.4.1 Skumdannelse

Under gjæring bryter gjæren ned sukker og danner CO₂ og etanol. CO₂ er en svak syre, nærmere kjent som kullsyre. CO₂ er ansvarlig for en betydelig grad av friskheten og stabiliteten i øl og er derfor en viktig kvalitetsparameter. Sprudlende øl med en god mengde skum har et CO₂-innhold på 4,5-5,0 g/l (Kunze, 2010). Et CO₂-innhold lavere enn 2,0 g/l gir tamt øl (Belitz et al., 2009). For ølprodukter ved Ringes Bryggeri benyttes kullsyrespesifikasjon på 5,1 g/l.



Figur 2.4 Dis som dannes over munningen av nyåpnet øl (Walker, 1981).

Skum er et resultat av dannelse av CO₂-gassbobler som frigjøres ved reduksjon av trykket i flasken eller boksen. Øl er mettet med CO₂, og når korken sprettes av vil overtrykket forsvinne og gassbobler dannes. Jo større mengde CO₂ som frigjøres, jo mer skum dannes. Det samme gjelder trykket. Jo mer trykk, jo mer CO₂ oppløses i øl.

Walker forklarer hvordan gassfrigjøringen er en endoterm prosess, og at systemet kjøles når CO₂ slippes ut. Når flasken åpnes ekspanderer gasslommen i flaskehalsen, og gassen slippes ut i atmosfæren rett ovenfor flaskehalsen. Ekspanderingen krever energi fordi gasslommen må presse seg ut av flaskehalsen, og dette kan bety en forsinkelse av frigjøring av gassen. Ekspansjonen av gassen drives av bevegelsesenergi i egne molekyler. Molekylene flyttes langsommere fordi de mister energi og gasstemperaturen reduseres. På grunn av nedgang av temperatur vil vanndamp kondensere til dråper, og danne en dis som samler seg over munningen av nyåpnet flaskeøl (Walker, 1981).

CO₂ er en gass med høy løselighet i væskefasen, og diffusjon mellom gassboblene vil være rask. Faktisk er gassen 50 ganger mer løselig enn oksygen (O₂) (Gill and Menneer, 1997). Dersom O₂ eller nitrogen (N₂) blandes inn i øl ved skjenking eller tapping vil dette kunne gi en sterkere

skumholdbarhet, ettersom disse gassene har en lav løselighet i væskefasen (Bamforth, 2012). CO₂-boblene tar med seg overflateaktive stoffer etterhvert som de stiger oppover, og legger grunnlag for et skumlag på overflaten (Kunze, 2010).

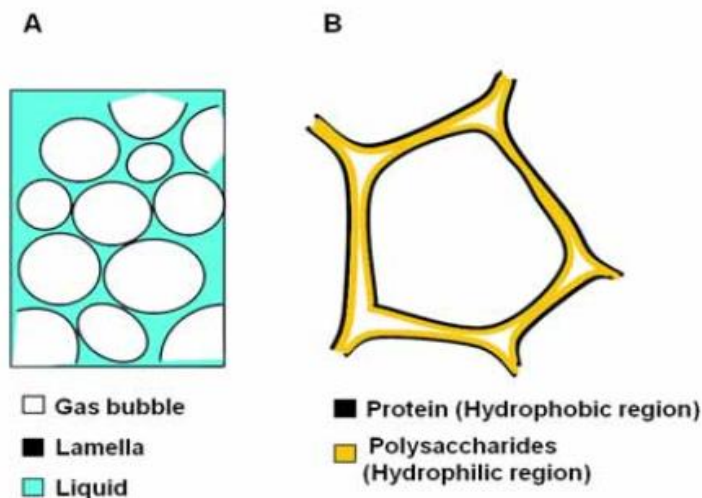
Som nevnt, er det under gjæringen at CO₂ dannes, og gjæringsprosessen kan påvirke skum i ferdigvare på ulike måter. Frigjøres det mye CO₂ i fermenteringstanken, blir mer skum produsert, der gjærens cellevegger griper seg fast til gassboblene og danner et skumlag på overflaten av tanken. Det er uønsket med stor skumdannelse under de tidlige trinnene av gjæringen ettersom dannelse av et tykt lag med skum tar stor plass. Det er dermed viktig at det tas hensyn til skumdannelse i gjæringstanken. Blasco (2011) nevner at overskumming under gjæringen kan ødelegge hygieniske forhold ved å forurense kullsyrerøret på toppen av fermenteringstanken. I tillegg kan overskumming være svært ødeleggende med hensyn til ferdig øl grunnet tap av skumpositive komponenter, eksempelvis hydrofobe polypeptider. Noen bryggerier tilsetter antiskummidler i fermenteringstanken for å hindre nettopp dette (Blasco et al., 2011).

Bamforth (2012) og Blasco et. al (2011) har gjort ulike forsøk på gjærende øl med High Gravity Brewing (HG). Resultatene viste at HG kan være negativt for skumholdbarhet i ferdig øl fordi det stresser gjæren. En stresset gjær kan skille ut fettsyrer og fettsyrer er negativt for skumholdbarhet da de kan utkonkurrere polypeptidene (Bamforth, 2012). Ved HG skiller gjæren ut proteolytiske enzymer i gjærende øl og disse enzymene degraderer hydrofobe polypeptider (skumpositive stoffer). Polypeptider kan også tapes under slanging fra fermenteringstank til lagringstank, ved at de blir sittende fast i veggene i fermenteringstanken (Blasco et al., 2011).

Innhold av CO₂ og temperatur, er to viktige faktorer som påvirker bobledannelse i øl. Et høyere innhold av CO₂ vil skape mer skumdannelse. Mer skum vil bli produsert ved høyere temperatur, ettersom gassløseligheten minker med økende temperatur (Bamforth, 2012).

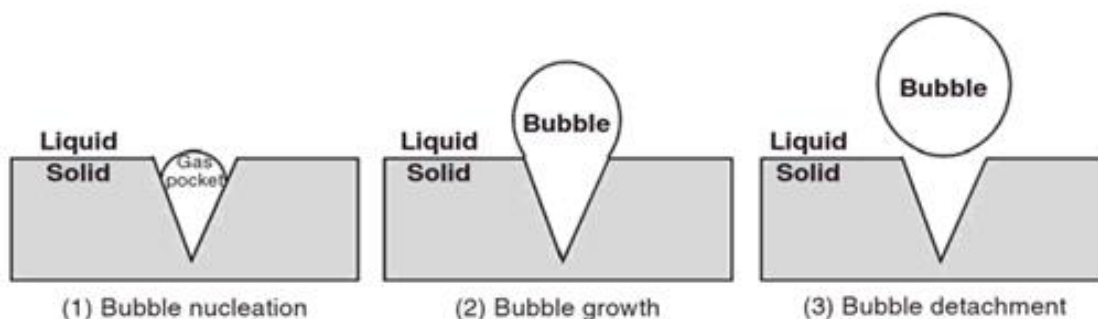
2.4.2 Skumfysikk

CO₂ fanges i væskelommer holdt sammen av tynne viskoelastiske filmer, også kalt lameller. Den viskoelastiske filmen dannes ved hjelp av hydrofobe («vannfryktende») polypeptider, glykoproteiner, bittersyrer derivert fra humle og divalente metallioner (Bamforth, 2012). Figur 2.5 illustrerer skumsammensetningen og hvordan de opptrer.



Figur 2.5 A: Hvordan gassbobler, lameller og væske ligger i forhold til hverandre.
 B: Hvordan de hydrofobe og hydrofile delene er sentrert (Blasco et al., 2011).

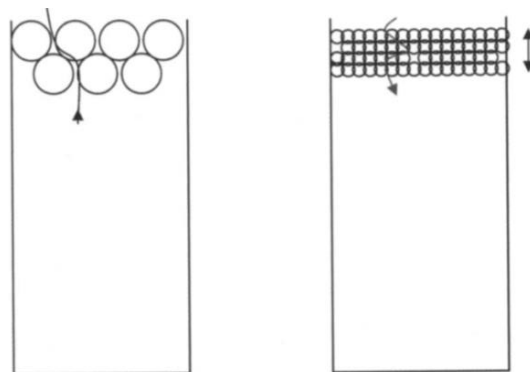
Det er nødvendig med en kraft i form av energi for å produsere ølskum. Selve bobleformasjons opphav er dannelsen av kjernebobler, kalt kjernedannelse. Kjernedannelse er en fysisk reaksjon som oppstår når gass begynner å frigjøres som en respons på endring i trykket, og er avhengig av at et kjernested er tilstede. Kjernested kan være en omformet mikroboble, en partikkel eller en rype i glasset (Bamforth, 2004). Den fysiske reaksjonen er grunnlaget for å danne en «ordentlig» boble, og er helt nødvendig for skumproduksjon. Figur 2.6 i teksten viser enkelt hvordan bobler dannes.



Figur 2.6 Illustrasjon av bobledannelse (Bamforth, 2012).

Den fortsatte stigningen av bobler i glasset omtales som perlende (Bamforth, 2012). Perlende er viktig for det visuelle inntrykket av øl ettersom det etterfyller skum under tiden forbruker drikker av glasset. Skumfysikken og de skumaktive komponentene avgjør hvor holdbart skummet er (Barth-HaasGroup, 2005).

Skum med mange små bobler vil danne flere boblelag, som vist i Figur 2.7. Finfordelte gassbobler med tynne filmer, drenerer kontinuerlig væske fra skummet. Tett skumlag med små bobler danner flere væskeavbrudd, og dreneringen av væske går tregere grunnet en spiralformet flyt gjennom skumlaget. Dreneringshastigheten er også avhengig av viskositeten på væsken i skummet. Økt viskositet er derfor en faktor som kan forbedre skumstabilitet, da en viskøs væske vil gi tregere flyt (Bamforth, 2012). Mengde væske som beholdes i ølskummet er avhengig av tid. Et vått skum vil dreneres hurtig for så å etterlate et solid nettverk av boblevegger. Når lamellene mellom gassboblene har nådd en viss minimumstykkelse stopper dreneringen, og man har fått dannet et stabilt skum. Videre er det overflateelastisiteten som avgjør holdbarheten av skummet (Bryggeriindustriens-Forskningslaboratorium, 1984).



Figur 2.7 Skum med store bobler (til venstre) og skum med små bobler (til høyre).

Figuren viser at et ølskum med små bobler får en spiralformet drenering (Bamforth, 2012).

2.4.3 Sammenfall av skum

Ølskummet begynner å falle sammen så fort det er dannet, men hastigheten på sammenfallet er veldig varierende (Hughes and Baxter, 2001). Skum er nemlig en svært ustabil fase, på grunn av at overflatespenningen motarbeider kreftene som er nødvendig for dens opprettholdelse (Kunze, 2010). Noen komponenter i øl har en skumnegativ effekt. De utkonkurrerer de skumpositive komponentene, og gjør at skummet faller sammen. Ølskumlikningen fra Bamforth nedenunder, viser hvordan de skumpositive- og negative komponentene i øl påvirker skumholdbarheten.

$$\text{Skumholdbarhet} = \frac{\text{Polypeptider+bittersyrer+metallioner (skumpositive)}}{\text{etanol og lipider (skumnegative)}}$$

(Bamforth, 2012).

En av hovedgrunnene til sammenfall av skummet er disproporsjonering. I denne sammenhengen menes gassdiffusjon mellom boblene, som skyldes at boblesystemet ønsker å være i likevekt. Gassdiffusjon er passasjen av gass fra en liten boble til en stor boble, grunnet trykkforskjeller (Bamforth, 2004). Samuelsen sier at «Trykket inne i hver boble bestemmes av overflatespenningen (γ), og av krumminga d^{-1} i celleveggene, der d tilsvarer cellediameteren» (Samuelsen, 2012). Trykk er litt høyere i små bobler sammenliknet med store bobler. Over tid vil dermed diffusjon gjøre at de store boblene vokser på kostnad av de mindre (Samuelsen, 2012). Avhengig av temperatur og type gass som befinner seg inne i boblene, vil det forekomme noe diffusjon gjennom bobleveggene, da bobleveggene i skummet ikke er fullstendig tette for gassen.

En annen årsak til sammenfall av skum kan være koalesens. Ved koalesens er det ustabilitet i filmen mellom boblene, og boblene vil dermed smelte sammen. Både disproporsjonering og koalesens fører til at de små boblene forsvinner, og det blir produsert halvparten så mange store bobler, med ulike størrelser. Koalesens er illustrert i Figur 2.8 (Bamforth, 2012, Barth-HaasGroup, 2005).



Figur 2.8. Hvordan to mindre bobler smelter sammen til en større boble (L. Pedersen, 2013).

Områdene mellom filmene er fylt med væske. Tyngdekraften gjør at væske dreneres ned til ølets væskefase, noe som virker destabiliserende på skumholdbarheten. Avstanden mellom boblene og viskositet av væsken avgjør hvor raskt dreneringen skjer. Etterhvert som væsken drenerer, begynner veggene rundt boblene å røre seg. De treffer bort i hverandre, for så å danne større, mer ustabile bobler (Bamforth, 2012). Drenering gjør også at skummet gradvis tørker ut. Øverste delene av skummet vil tørke ut først og boblefilmene der blir etterhvert så tynne at de faller sammen (Bamforth, 2004).

Store bobler er mindre stabile og danner færre boblelag, noe som øker sjansene for sammenfall av skummet. I følge Bamforth er De Vries-likningen vist nedenunder, den enkleste måten å summere opp faktorene som påvirker disproporsjonering.

$$r_t^2 - r_0^2 = \frac{4RTDS\gamma t}{P\theta} \quad (\text{Bamforth, 2012}).$$

$r_t^2 - r_0^2$ er endring i bobleradius fra start til slutt (målt i sekunder). R , μ og D er konstante. T er absolutt temperatur, γ er overflatespenningen og S er løselighet av gassen. P er trykket tilført skummet, mens væskefilmens tykkelse mellom boblene vises som θ . En høy verdi over brøkstrek, for eksempel høy temperatur og en svært løselig gass, tilsvarer økt disproportionering (Bamforth, 2012).

2.4.4 Skumholdbarhet

Skumholdbarhet viser til proteinenes evne til å stabilisere skum mot gravitasjons- og mekaniske påkjenninger (Srinivasan et al., 2008).

God skumholdbarhet forutsetter tilstedeværelse av de skumpositive komponentene. Et godt samarbeid mellom komponentene senker overflatespenningen og gir en forsterket skumholdbarhet. Bobledannelse, boblesammensmeltning, ugunstige forhold og drenering er hendelser som er med på å påvirke skumdannelse og -holdbarheten (Barth-HaasGroup, 2005). Innhold av skumpositive og -negative komponenter i øl avhenger av råvarer og bryggeprosessen. Det er dermed mange faktorer som er med på å påvirke skum i ferdigvare. Skumholdbarhet i øl kan forsterkes ved tilsetning av humleekstrakt. Eksempel på dette er hexa- og tetrahydro-iso- α -syrer (Kunze, 2010). Disse overflateaktive bitterekstraktene har hydrofobe seter, og vil påvirke ved å gå inn i boblevæggen og danne sterke bindinger med polypeptidene (Bamforth, 2012).

Ølglaset har en innvirkning på ølets estetikk og aroma, men kan også forsterke skumholdbarhet. Evan Evans, professor ved plantevitenskap på Tasmania Universitet, fant at designet på Samuel Adams Boston Lager Perfect Pint glass kan opprettholde skumholdbarheten bedre enn andre glassdesign. Hver gang en konsument tar en slurk av ølet vil det dannes en turbulens i halsen på glasset, som frigjør CO_2 -bobler og etterfyller skummet. I tillegg gjør designet på glasset at bobledannelse forekommer underveis (perlende) (Evans et al., 2012). Samuel Adams Boston Lager Perfect Pint glasset har en høyde på 170 mm og deles inn i fem deler. Den buede toppen (del 1), former en skumtopp over glassets sider. Skumtoppen er vendt ut mot ganen for å maksimere nytelsen av sødmen fra maltet. En liten innsmalning (del 2), bevarer humlearoma og holder



Figur 2.9 Samuel Adams ølglass (Koch, u.å.).

skummet oppe. Glassets bredeste parti, del 3, har en rund form, som sørger for opprettholdelse og bevaring av aromaer. I del fire innsnevres glasset. Glassets nedre del har tynnere vegger og avrundet bunn, som opprettholder den optimale temperaturen i ølet over lengre tid. Bunnen av glasset, del 5, har et laserinnriss, som sørger for konstant bobledannelse og konstant frigjøring av aroma (Koch, u.å.).

2.4.5 Faktorer som påvirker skum i ølbryggingen

Flere teknologiske faktorer under ølbryggingen kan påvirke skum i ferdig øl, vist i tabell 2.2.

Det er viktig at forholdene er optimale under bryggingen for et høyest mulig utbytte av de viktige skumingrediensene (Kunze, 2010). For å unngå tap eller ødeleggelse av ulike komponenter, blir bryggingen nøye fulgt opp ved hjelp av ulike instrumenter og det tas jevnlige analyser. Tabell 2.3 viser at skummet kan ødelegges selv etter ølbryggeprosessen. Gode eksempler på dette er olje og fettrester i tank på puber, møkkete rør til øltank, eller dårlig oppvask av ølglas (Kunze, 2010). Fettmerker fra fingre eller fra lepper som berører innsiden av ølglasset har samme påvirkning.

Tabell 2.2 Faktorer som påvirker ølskum under malting og mesking (Kunze, 2010).

Prosess	Negative faktorer	Positive faktorer
Malting	<ul style="list-style-type: none"> - Høy proteinomdanning > 45 % 	<ul style="list-style-type: none"> - Proteininnhold på 9,5-11 % i malt (tørrstoff) - Proteinomdanning 39-42 % - Lipid transfer proteininnhold (LTP) 2-6µg/l - Dannelse av melanoidin
Mesking	<ul style="list-style-type: none"> - Lipidnedbrytning under innmesking - Lang rast ved 45 °C 	<ul style="list-style-type: none"> - Forebygging av lipidnedbrytning under innmesking. - Mesketemperatur > 60 °C - Hindring av videre proteinnedbrytning - Lipidnedbrytning stoppes - Kortere mesketid

Tabell 2.3 Faktorer som påvirker ølskum under vørterkoking, fermentering, filtrering og tapping (Kunze, 2010).

Prosess	Negative faktorer	Positive faktorer
Vørter	<ul style="list-style-type: none"> - Lang og intensiv koking - Grumsete vørt > 40 EBC 	<ul style="list-style-type: none"> - Høyere innhold av α-syrer og iso-α-syrer. - Forsiktig koking, kort koketid (1t.) - Biologisk syring
Fermentering	<ul style="list-style-type: none"> - Sen fjerning av gjær eller feil ved tilsetting. - Lang kontaktperiode med gjær og grønnøl - For lang og treg fermentering. - «High Gravity», andel døde gjærceller > 5 % - Ingen pasteurisering. 	<ul style="list-style-type: none"> - Kald gjæringstemp. (1-4 °C) - Kontroll av gjærens fysiske forhold. - Lav vørter-pH. - Vital fermenteringsgjær - Kort gjæring og modning.
Filtrering Tapping Ferdig øl	<ul style="list-style-type: none"> - Olje og fett - Overflateaktive stoffer (såpe) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tilsats av humleprodukter etter filter - Andre tilsetninger, for eksempel mer humle el. N₂

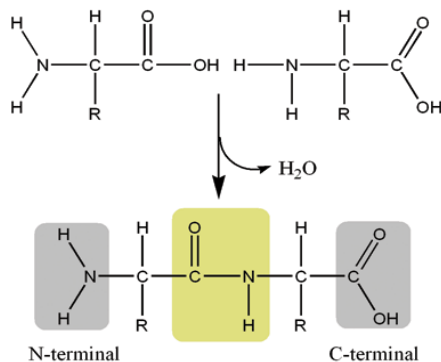
2.5 Skumstabilisatorer

Dannelse og opprettholdelse av skum skyldes innhold av skumpositive, overflateaktive komponenter fra malt og gjær, som ofte er komponenter av høyere molekylærvækt, > 5 kilo Dalton (kDa) (Blasco et al., 2011). De skumpositive komponentene kan være hydrofobe, filmstabiliserende og/eller øke viskositeten. Høy hydrofobisitet gjør at komponentene motarbeider kraften til overflatespenningen, og de har evne til å senke væskers fase- og overflategrensespenninger ved svært lave konsentrasjoner (Bamforth, 2004).

2.5.1 Proteiner

Øl inneholder cirka 500 mg protein per liter, det meste i form av polypeptider og med en molekylvekt mellom 5-100 kDa. De viktigste proteinene kommer fra maltet, og frigjøres under maltingen. I tillegg avledes små mengder polypeptider direkte fra gjær (Blasco et al., 2011). For at et protein skal ha en skumstabiliserende effekt, må det ha evnen til å gå inn i boblevæggen. Proteinene må der kunne folde seg ut, være mobilt og danne interaksjon med andre molekyler, eksempelvis iso- α -syrer (Bamforth, 2004).

Proteiner er bygget opp av kjeder av aminosyrer og aminosyrene er festet sammen via peptidbindinger. Kjeden kalles for polypeptider, og et protein kan inneha et eller flere av disse. Peptidbindingene dannes gjennom en kondenseringsreaksjon mellom karboksylsyregruppen på N-terminal hos den første aminosyren og C-terminal hos den andre aminosyren, som vist i Figur 2.10. Proteinenes aminosyrekjede kan folde seg opp i tredimensjonale strukturer. Struktur og egenskaper bestemmes i hovedsak av aminosyrenes egenskaper og rekkefølgen de har i proteinet (Puntervoll, 2006).



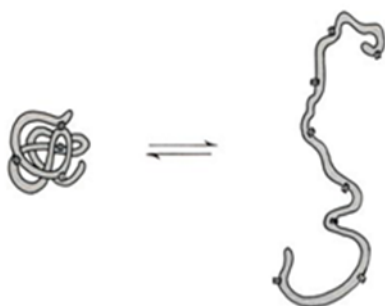
Figur 2.10 Produksjon av peptidbinding (Blicher, 2011).

Aminosyrene består av en R-gruppe og R-gruppen karakteriserer molekylets egenskaper. Det er vanlig å dele aminosyrene inn i to hovedgrupper avhengig om de er hydrofile (vannelskende) eller hydrofobe (vannskyende). Når hydrofobe atomer søker seg mot hverandre, kalles det for en hydrofob effekt (Blicher, 2011).

Proteiner har amfipatisk karakter, det vil si hydrofile og hydrofobe egenskaper. Når et protein støter på en gassboble binder den seg til boblens grenseflate. Den hydrofobe delen av polypeptidet flytter seg fra vannet og beveger seg mot gassboblen, mens den hydrofile delen vil danne interaksjoner med væsken (Bamforth, 2012). Proteinenes interaksjoner i grenseflaten dannes ved hjelp av elektrostatiske eller hydrofobe krefter, hydrogenbindinger eller kovalente bindinger (Blasco et al., 2011). De gjensidige påvirkningene fører til dannelse av en viskoelastisk film rundt gassboblen, som er svært motstandsdyktig mot spenning og som stabiliserer boblene. Proteiner med sterk og sammenhengende film reduserer gassgjennomtrengelighet, og hindrer koalesens og disproporsjonering (Schönberger and Kostecky, 2011). Proteinene kan ha ulike egenskaper, der noen er gode skumdannere, men har dårlige skumholdbarhetsegenskaper og omvendt (Blasco et al., 2011). Siden proteinene er amfolytter, er pH-verdiene under

bryggeprosessen svært viktige for behandling av de nitrogenholdige komponentene.

Polypeptidene kan bære en positiv eller negativ ladning, eller begge deler. Det isoelektriske punktet ligger på pH 6,0 (Lewis and Young, 2002).



Figur 2.11 Denaturering/utfolding av protein (Bamforth, 2012).

Charles Bamforth har i sine forsøk vist at høye konsentrasjoner av proteiner i skum ga en bedre holdbarhet, og at det var de sterkt hydrofobe proteinene som forsterket skumlaget. I sin romlige form er de hydrofobe aminosyrene lokalisert på innsiden av molekylet, mens de hydrofile aminosyrene er på overflaten av molekylet. Under

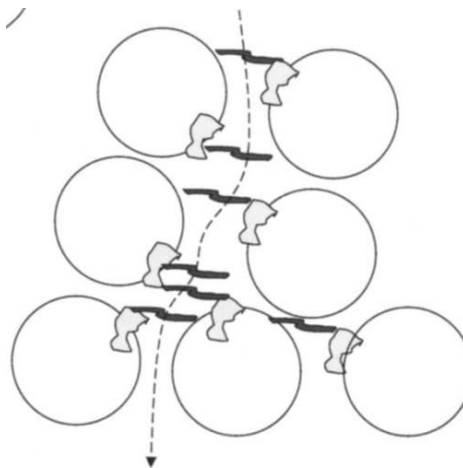
vørterkoking på cirka 100 °C, denatureres proteinet, og det hydrofobe indre blir gjort tilgjengelig (noe som er helt

nødvendig for proteinets skumegenskaper) vist i Figur 2.11. Proteinene blir mindre løselige, men størsteparten beholder sin nødvendige hydrofilisitet til å bli med i ferdig øl (Bamforth, 2004).

Bamforth og Philip Slack gjennomførte et forsøk der proteiner ble isolert fra bygg, ut i fra deres løselighet. Det ble skilt mellom alkoholløselige (hordeiner) og vannløselige (albuminer) proteiner. Resultatene viste at albuminene ga bedre skumholdbarhet, og at denaturering økte skumholdbarheten hos begge (Bamforth, 2012). Protein Z og lipid-transfer-protein (LTP) er eksempler på skumforsterkende albuminer. Noe av dette kan skyldes at de begge er motstandsdyktige mot enzymer, og de vil dermed ikke tapes gjennom proteolyse (oppspalting av protein) i maltingsprosessen (Bamforth, 2012). Molekylvekten til begge ligger mellom 5-40 kDa, og det har vist seg å være god samvariasjon mellom innholdet av proteiner med molekulvekt i dette området og skumholdbarheten (Bryggeriindustriens-Forskningslaboratorium, 1984). LTP med molekulvekt på kDa har sitt opphav i kornets auleronlag og utvikles tidlig under spiringen., Det hydrofobe proteinet er lokalisert i ølskummet, og står for omtrentlig 1 % av bestanddelen av ølets proteiner. LTP har evnen til å frakte lipider og flytte de rundt i membraner (Kunze, 2010). Under vørterkokingen blir LTP denaturet irreversibelt og dets skumpotensial øker. Protein Z har to isomerformer, protein Z4 og Z7, og representerer cirka 2 % av proteininnholdet i øl. Protein Z har en molekulvekt på 40 kDa, og var det første proteinet som ble foreslått å fremme skumholdbarhet. Dette polypeptidet er festet til β -amylase i bygg og er med på å blokkere aktiviteten til enzymet. Under maltingen frigjøres det fra bindingen, og trekkes ut i en fri form til

vørten under mesking (Bamforth, 2012). Det er fortsatt uvisshet om hvor stor betydning disse proteinene har, men Blasco et al. (2011) har i tidligere forsøk vist at LTP er en god skumdanner, mens Protein Z er en god skumstabilisator (Blasco et al., 2011).

Glykoproteiner er en annen type protein, som kan stamme fra bygg eller gjær. Glykoproteinene består av en polypeptidkjede (hydrofob del) med suktermolekyler, eksempelvis mannose, festet til kjeden (hydrofil del). Karbohydratinnholdet varierer mellom 12-64 % og molekylvekten ligger mellom 5-30 kDa (Kunze, 2010). Gjæren frigjør glykoproteiner fra celleveggen til væsken under gjæringsprosessen, noe som i all hovedsak er et resultat av virkningen av enzymet β -glukanase. Gjærens glykoproteiner er tett bundet sammen med 1,6- β -glukan gjennom glykosylfosfatidylinositol (GPI) eller til 1,3- β -glukan gjennom alkali-sensitive bindinger. Glykoproteiner fra bygg frigjøres under malting. Proteinene påvirker skumdannelse grunnet sin naturlige hydrofobisitet (Blasco et al., 2012).



Figur 2.12 Glykoproteinenes skumstabiliserende evne (Bamforth, 2012).

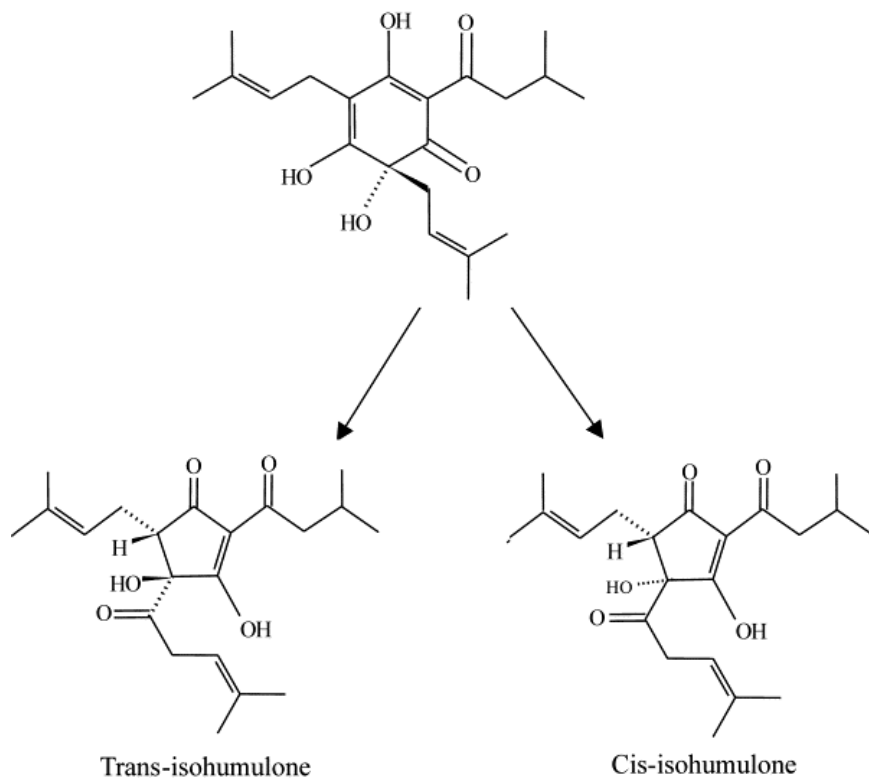
En modell for glykoproteinenes skumstabiliserende evne, illustrert av Charles Bamforth, er vist i Figur 2.12. Glykoproteinene vil orientere sin hydrofobe del på innersiden av boblen mellom væske og luft, og øke boblenes overflatespenning. De hydrofile glykosylerte-delene vil peke ut mot den omkringliggende væsken, danne bindinger seg i mellom, øke den lokale viskositeten og senke drenering av væske (Blasco et al., 2012). Glykoproteiner danner en sterk sammenhengende film med bra elastisitet rundt gassboblen, og har god skumholdbar effekt. (Bryggeriindustriens-Forskningslaboratorium, 1984). Den «sterke» filmen vil i tillegg til å redusere koalesens og hindre redoksreaksjon, en kjemisk reaksjon der et stoff blir redusert og et annet oksidert (Barth-HaasGroup, 2005).

Enkelte essensielle aminosyrer har negativ påvirkning på skum. Eksempel på dette er arginin, lysin og histidin fra malt. Disse aminosyrene kan forstyrre protein-iso- α -syre interaksjonen og hindre gardindannelse i glasset (Schönberger and Kostelecky, 2011).

2.5.2 Bittersyrer

Etter de skumpositive proteinene, er bittersyrer den mest betydningsfulle skumstabiliserende komponenten i øl, og iso- α -syrene er bidragsyterne til dette (Wilson et al., 2011). Humle er viktig for skumegenskapene, men også smaksstabiliteten og holdbarheten i ferdig øl. I tillegg virker de hemmende mot vekst av Gram+ bakterier og beskytter dermed øl mot mikroorganismer (Biendl and Pinzl, 2008).

De overflateaktive bittersyreene fra humle, vannløselige iso- α -syrer, frigjøres under vørterkokingen. En kjemisk prosess omdanner α -syrehomologene til sine respektive iso- α -syrehomologer, og prosessen er kalt isomerisering (Benitez et al., 1997). Isomeriseringen medfører en omorganisering av molekylstrukturen, ved at seksringen (acyloin-ring) i α -syren omdannes til en fem-ring i korresponderende iso- α -syre, som vist i Figur 2.13. Hver α -syre gir opphav til to epimerforbindelser av iso- α -syrer; *trans*- og *cis*-iso- α -syrer (Benitez et al., 1997).



Figur 2.13 Varmeindusert konvertering av humulon (ikke løselig) til isohumulon (løselig)
(Cortacero-Ramírez and Hernáinz-Bermúdez de Castro, 2003).

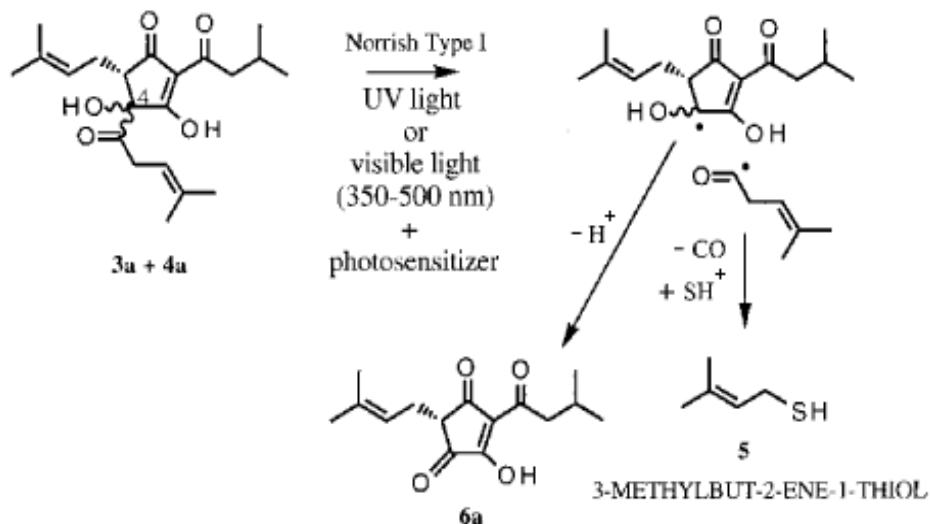
Under vørterkokingen er tid, temperatur og pH med på å påvirke isomeriseringen av bitterkomponentene (Kunze, 2010). Isomeriseringen effektiviseres ved stigende pH og

tilstedeværelse av toverdige metallioner som fungerer som katalysator, eksempelvis magnesium (Mg^{2+}) (Lewis and Young, 2002). Konsentrasjon av iso- α -syrene i øl varierer fra 10 til 100 milligram/liter (Benitez et al., 1997).

Iso- α -syrene har pKa-verdi omkring 3,4 i vandig løsning, og forekommer hovedsakelig som vannløselig salter. Ved en pH 5,0 i vørter vil løseligheten av iso- α -syrene være omtrent 2000 mg/l (Denk et al., 2002). pH høyere enn 3,4 gjør at iso- α -syrene er i dissosiert form, mens ved lavere pH forblir den udisosiert (Benitez et al., 1997). Iso- α -syrene som ikke felles ut under nedkjøling av vørter eller gjæring, blir med i ferdig øl, der de påvirker skumholdbarheten og tilfører bitterhet (Narziss, 1992).

Iso- α -syrene kan forsterke skumholdbarheten til et proteinrikt skum, fordi de har mange hydrofobe seter som gjør at de kan danne ioniske kryssbindinger med nærliggende hydrofobe polypeptider i bobleveggen. Dette styrker filmen rundt gassboblene og danner dermed et mer holdbart skum (Kunimune and Shellhammer, 2008). Hver av de ulike homologene og isomerene av iso- α -syrene har ulike skumegenskaper, avhengig av deres overflateaktivitet og når de tilsettes i prosessen (Verzele and De Keukeleire, 1991). Blant annet er isocohumulon mindre skumaktiv, sammenlignet med de andre iso- α -syrene og dette kan tas i betraktning ved valg av humlesort til brygging. Et øl tilsatt mye humle vil kunne oppnå en bedre skumholdbarhet, ettersom mer bittersyrer er tilstede (Bamforth, 2012).

Iso- α -syrene er sensitive mot lys. Dersom de utsettes for lyseksponering, for eksempel UV-lys ved bølgelengde 350-500nm, vil de spaltes av ketongruppen på iso- α -syrene og produsere 3-metyl-2-buten-1-tiol (MBT) og dehydrohumulonsyre, vist i Figur 2.14. MBT gir ølet en ødeleggende solsmak og kjennes ved svært lave konsentrasjoner (Kunimune, 2007). For å unngå dette tappes øl i lysbeskyttende emballasje, som mørke flasker eller bokser (Benitez et al., 1997).



Figur 2.14 Dannelse av solsmak i øl (De Keukeleire, 2000).

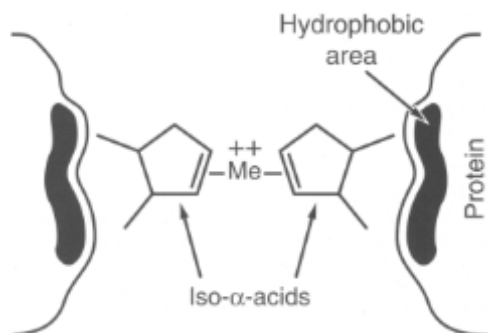
For å hindre degradering av molekylet kan iso- α -syrene endres kjemisk ved reduksjon, hydrogenering, eller begge deler. Ketongruppen på iso- α -syrene kan bli redusert til en hydroksylgruppe ved reaksjon med to hydrogenatomer, som resulterer i lavere polaritet hos molekylet. To alkenylgrupper kan også bli hydrogenert der hver dobbeltbinding brytes ned til to enkeltbindinger med to hydrogenatomer til hver binding. Den kjemiske endringen hindrer UV-nedbrytning og produktene er svært lysstabile. Eksempel på reduserte, hydrogenerte og redusert-hydrogenerte former av iso- α -syrer er rho-, tetra-, og hexa-hydroiso- α -syrer (Kunimune and Shellhammer, 2008). I fravær av α - og iso- α -syrer, vil eksempelvis tetrahydro-iso- α -syrer gi en fullstendig beskyttelse mot utvikling av solsmak (Hopsteiner, 2012b). Grunnet den kjemiske modifiseringen er bittersyrene Tetra og Hexa mer hydrofobe enn tradisjonelle iso- α -syrer, og dermed mer skumstabiliserende (Bamforth, 2012).

2.5.3 Toverdige kationer

Toverdige metallkationer fra malt eller vann, er kjent for å forsterke skumstabiliteten ytterligere. Kationene kryss-bindes til proteinene, og danner en sterkere film rundt gassboblene med bedre viskoelastiske egenskaper (Srinivasan et al., 2008). Eksempel på toverdige kationer er Mn^{2+} , Mg^{2+} og Zn^{2+} (Verzele and De Keukeleire, 1991). Bamforth (2012) har i et tidligere forsøk vist at Sink (Zn^{2+}) er effektiv ved konsentrasjoner på 2 mg/l (Bamforth, 2012).

Modellen fra Hughes og Simpson, Figur 2.15, foreslår at kationene er med på å nøytralisere iso- α -syrenes negative ladning i den molekylære skuminteraksjonen.

Iso- α -syrene kan reagere med toverdige metallioner og proteiner, og danne en skumholdbar sammensetning rundt gassboblene. Denne sammensetningen resulterer i senkning i overflatespenning og er også med på å øke skummets evne til gardinformasjon på glasset (Bryggeriindustriens-Forskningslaboratorium, 1984). Kationer danner kun forbindelse dersom høye nok konsentrasjoner er tilstede (Bamforth, 2004).



Figur 2.15 Hughes og Simpson sin modell illustrerer molekylære interaksjoner i ølskum (Bamforth, 2012).

2.5.4 Karbohydrater

Glukose er sukker i sin enkleste form. Bygg lagrer energi i form av stivelse, der stivelse er polymerer av glukose. Disakkaridet maltose (glukose-glukose), er det primære sukkeret i vørteren, utledet fra nedbrytning av stivelse ved hjelp av amyloseenzymer (Kunze, 2010).

Innholdet av maltderivater (ikke-fermenterte polysakkarider) påvirker viskositeten i øl, og kan virke positivt på skumstabiliteten. Dextriner og β -glukaner er eksempler på polysakkarider som er med på å øke viskositeten. I følge Goldhammer (2008) er det vist at det er nødvendig med mer enn 8-12 % dextriner for å forbedre skummet (Goldhammer, 2008). I bygg finnes det mye β -glukan i celleveggene. β -glukan er et polysakkarid, bestående av glukoseenheter som er holdt sammen av β -1,3 og β -1,4 glykosidbindinger. Ved hjelp av β -glukanase kan β -glukaner brytes ned til glukose (Kunze, 2010). β -glukaner har evne til å øke viskositeten i væsken. Væske dreneres fra skummet og gjør at områdene mellom gassboblene, blir tynnere. Økt viskositet ved hjelp av polysakkarider vil redusere dreneringshastigheten (Schönberger and Kostecky, 2011). Samtidig er det ikke ønskelig med for høy viskositet, da dette kan hindre optimal filtrering (Bamforth, 2012).

2.5.5 Maillard-reaksjon produkter

Melanoidiner er eksempel på et reaksjonsprodukt fra Maillard-reaksjon. Melanoidinproduksjon forekommer hovedsakelig i maltingsprosessen, ved kjølling av maltet, men fortsetter også noe under meskingen og vørterkokingen. Polymeriserte melanoidiner kan reagere med proteinene i skummet, og med dette forsterke skumholdbarheten. Dette kan forklare hvorfor et mørkt øl har sterkere skum sammenliknet med et lyst øl (Bamforth, 2012).

2.5.6 Lipider

Ved siden av vaskemidler, regnes lipider (fett) som skumnegative komponenter. Lipider i øl kan komme fra malt, gjær og noe fra humle, og kalles glyserider, glykolipider, fosfolipider og sterolestere. Lipidene består hovedsakelig av fettsyrer, det vil si hydrokarbonkjeder med en $-COOH$ -gruppe på enden. Kort-, mellom- og langkjedete fettsyrer har henholdsvis 1-6, 5-14 og 6-18 karbonatomer. Gjær kan produsere fettsyrer av lavere molekylvekt under fermentering mens maltnedbrytning danner lengre fettkjeder under mesking (Kunze, 2010). Fra lipidekstraksjon under bryggingen, er det bare små mengder som er igjen i ferdig øl, < 4 mg/l fettsyrer, normalt 1-2 mg/l. Bamforth har forsket på hvordan fettsyrene kan ødelegge ølskum. Resultatene viste at kortere fettsyrer (C6 og C10) har en mindre negativ effekt, mens jo lengre fettsyrene var jo mer ødeleggende var de. Han fant også at korte fettsyrer var mest ødeleggende for kling, mens de lange fettsyrene var mest skumdestabiliserende, og at de umettede fettsyrene hadde sterkere destabiliserende evner (Bamforth, 2009).

Lipidene virker som konkurrerende komponenter i ølskummet. Siden lipidene har hydrofobe områder på sin struktur, vil de oppføre seg mye likt proteinene og migrere inn i boblevæggen. Der, fremfor å stabilisere skummet, vil de forstyrre den skumstabiliserende interaksjonen mellom hydrofobe polypeptider, bittersyrer og kationer, og svekke den elastiske boblefilmen. Lipidene fremmer koalesens og øker ved dette sammenfall av ølskummet (Cooper, u.å.).

En god bryggeprosess forsikrer at svært små mengder med lipider overlever i ferdig øl. Det er en større sannsynlighet for at lipider introduseres når ølet befinner seg i glasset, for eksempel rester av vaskemiddel (Kunze, 2010).

2.5.7 Etanol

Under fermentering produserer gjæren etanol. Et alkoholinnhold over 5 % regnes som skumnegativt materiale da det reduserer fastheten til skummet, laget av de hydrofobe proteinene. I tillegg danner etanol en mindre dynamisk overflatespenning, som fører til økt drenering av væske (Kunimune, 2007). Et øl med høy alkoholprosent vil dermed kunne ha en dårligere skumholdbarhet (Bamforth, 2012).

2.5.8 pH

pH har vist å ha en påvirkning på ølskur. Proteiner og humle har amfipatisk struktur, og deres overflateaktivitet og ladning endres med pH. Under gjæringen senkes pH, blant annet grunnet CO₂-dannelse. En pH lavere enn 5 kan resultere i større oppløsning av humlesyrer (høyere hydrofobisitet) og proteinladningen blir optimal for å bevege seg inn i bobleveggen og danne interaksjoner (Bamforth, 2009). Bamforth og Kanauchi har funnet at en pH rundt 3,8-4,6 i ferdigvare gir gode skumholdbarhetsforhold (Bamforth, 2009).

Mange faktorer kan påvirke skumholdbarhet i øl, og Bamforths øllikning beskriver dette. Han forklarer at det er viktig med en balanse mellom de skumpositive og skumnegative komponentene, da balanse resulterer i god skumholdbarhet. For eksempel kan et øl laget av 100 % malt og mye humle ha god skumholdbarhet, selv om det har et høyt innhold av alkohol (Bamforth, 2012).

2.6 Humleekstrakter

Humleekstrakter kan tilsettes i vørterkjelen eller senere i ølbryggeprosessen. Humleprodukt som tilsettes helt på slutten av ølbryggingen, for eksempel kjemisk modifiserte humleprodukter, kan påvirke øl ved å danne et mer stabilt skum (Bamforth, 2012).

I 1516 i Bayern ble det vedtatt en lov, kalt «den tyske renhetsloven» (tysk: Reinheitsgebot). Loven bestemte at all øl skulle produseres utelukkende med bygg, humle og vann som råmaterialer. Dette inkluderte humle i form av pellets eller ekstrakt. Kjemisk modifiserte humleprodukter er ikke tillatt i henhold til loven (Biendl and Pinzl, 2008), for eksempel tetrahydro-iso- α -syre (THIAA) som er reduserte isomeriserte α -syre.

2.6.1 Tetrahop Gold (Tetra)

Humleproduktet Tetra er en ren, vandig 9-10 % -løsning av kaliumsalt av tetrahydro-iso- α -syre (THIAA) produsert fra CO₂-humleekstrakt. Produktet er kjemisk modifisert og har blitt forsket på i flere år. Metning av dobbeltbindingene danner en økt hydrofobisitet av molekylstrukturen, og gjør at THIAA er mindre løselige sammenliknet med iso- α -syre, noe som har vist seg å gi skumpositiv effekt (Falconer, 2012b). Kunimune og Shellhammer (2008) er blant dem som har vist at Tetra har sterkere skumstabiliserende egenskaper sammenliknet med iso- α -syre (Kunimune and Shellhammer, 2008). Keukeleire (2000) fant også at THIAA er mindre utsatt for oksidasjon (Keukeleire, 2000). Det trengs kun svært lave konsentrasjoner for å produsere et mer holdbart skum (Hopsteiner, 2012b).

2.6.2 Alpha Foam

Alpha Foam er en ren, vandig 20 % -løsning av kaliumsalt av stabile α -syre produsert fra CO₂-ekstrakt. Produktet anses som en naturlig skumforsterker fra humle, og har blitt testet til å gi økt skumholdbarhet og gardiner ved lave konsentrasjoner, uten å endre bitterintensiteten eller kvaliteten av ferdigvare (Wilson et al., World Brewing Congress 2012). Humleproduktet er svært nytt på ølmarkedet, og det er derfor lite studier som beskriver bruken av produktet.

Både Tetra og Alpha Foam kan tilsettes før eller etter filtrering. Den tyske humleleverandøren Hopsteiner, mener en tilsetning før filtrering vil være bedre for klarheten av ølet, men dette kan føre til at bitterekstrakter forsvinner under filtreringen (Hopsteiner, 2012b). Tilsetning etter filtrering derimot, medfører minst tap av humleproduktene.

Tetra og Alpha Foam er alkalisk med sin pH på henholdsvis 9,5 ($\pm 1,0$) og 8,5. Fortynning av produktene bør i følge patentene unngås, men er det nødvendig brukes demineralisert vann og en pH-justering til 10-11 (Tetra) og 8-9 (Alpha) med den sterke basen kaliumhydroksid (KOH) eller kaliumkarbonat (K₂CO₃). pH-justering med natriumhydroksid (NaOH) må ikke brukes, da det kan fremstille dårlige løselige salter med mange humlesyre (Hopsteiner, 2012b).

Produktspesifikasjonen til humleekstraktene er vist i Tabell 2.4.

Tabell 2.4 Produktspesifikasjon av Tetra og Alpha Foam (Hopsteiner, 2012a, Hopsteiner, 2012b).

	Tetra	Alpha Foam
Farge	Gul til gyllen	
Utseende	Homogen, klar vannløselig. Flytende ved romtemperatur.	
Konsentrasjon	9,0 ± 0,5 % (w/w) av tetra	20 ± 1 % (w/w) av α-syrer
pH	9,5 ± (1,0)	8,5 ± 0,5
Viskositet	2-6 mPas (ved 20 °)	6 mPas (ved 20 °C)
Tetthet	1,017 (± 0,005) g/ml	1,05 (± 0,02) g/ml (ved 20 °C)
Løselighet	Løselig i pH justert, demineralisert vann	
Mengde igjen i ferdigvare	60-80 %, avhengig av tid og effektiviteten av dosering	60-70 %, avhengig av tid og dosering
Lysstabilitet	Beskyttelse mot «solsmak», i fravær av iso-α-syrer.	Nei.
Skumforsterkning	Ja, ved tilsetning av 3-5 mg/l	Ja, ved tilsetning 3-4 mg/l
Bitterhet	Gir sensorisk utslag. 1,0-1,7 ganger bitrere enn normal iso-α-syre.	Ingen sensorisk endring
Kvalitet	Godkjent kvalitetsstandard (Hopsteiner)	
Pakking	20 kg plastikkdunk	
Tilsetning	Etter fermentering eller filtrering	
Lagring	Forseglet, uten tilgang til sollys 15-25 °C. Holdbar 1 år.	Forseglet, uten tilgang til sollys. 5-10 °C. Holdbar 1 år.

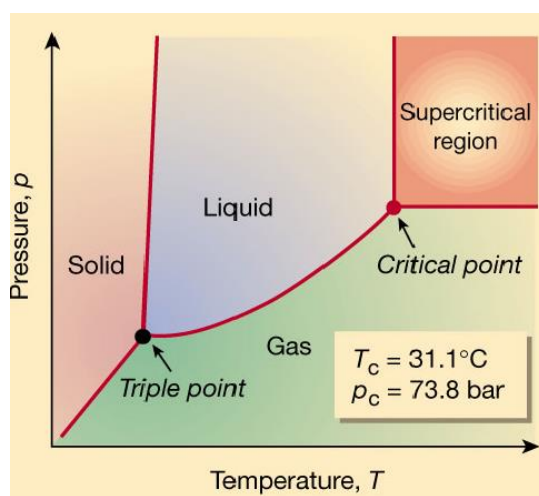
2.7 CO₂-ekstraksjon

Ekstraksjon er en metode som benyttes for å løse opp bestemte komponenter fra et fast stoff ved bruk av et egnet løsemiddel. Humleekstrahering separerer ønskelig humlemateriale fra cellulosemateriale. Hovedmålet er å separere de myke resinene, α- og β-syrene, fra humlekonglene (Kunze, 2010).

Løsemidlene som benyttes mest i dag, er flytende eller superkritisk karbondioksid (CO₂) og etanol (Kunze, 2010). CO₂ er et naturlig løsemiddel, i tillegg til at det er et lett tilgjengelig biprodukt fra ølbryggeprosessen, og kan gjenbrukes (PierreFabreLaboratories, 2008). α - og β -syrer er svært løselige i flere løsemiddel, men vann benyttes ikke da løseligheten til humlekomponentene er for lav (Verzele and De Keukeleire, 1991). Etanol kan blandes med vann og får som følge av dette en polar karakter. Polariteten til CO₂ derimot, endres med temperatur- og trykkforhold (Benitez et al., 1997). Ved å benytte CO₂-ekstraksjon oppløses humleresinene og humleolje fullstendig (Kunze, 2010).

CO₂ forekommer prinsipielt i to tilstander som kan benyttes for ekstraksjon, der begge tilstandene finner sted under økt trykk. Flytende CO₂-ekstraksjon foregår med temperatur på cirka 20 °C og trykk på rundt 70 bar, da CO₂ ikke er flytende under normalt trykk (Kunze, 2010). I det "kritiske punkt", blir karbondioksid en superkritisk flytende substans. En tilstand som verken er gass eller væske, men som har egenskapene av begge (Barth-HaasGroup, 2010a). Dette er vist i Figur 2.16 som «Supercritical region». Superkritisk CO₂ dannes ved trykk over 73 bar og temperaturer over 31 °C (Biendl and Pinzl, 2008). De beste løselighetsegenskapene for humleekstraksjon er oppnådd med superkritisk CO₂, og et trykk på 120 bar (Kunze, 2010).

De grunnleggende funksjonene i utvinning med komprimert CO₂ er vist i trykk- og temperaturlikevektskurven i Figur 2.16 (Benitez et al., 1997)



Figur 2.16 Fasediagram for superkritisk CO₂ (Qiu, 2007).

Superkritisk CO₂-ekstraksjon foregår ved at humlepellets fylles inn i et ekstraksjonsapparat med et stabilt lufttrykk. Via en pumpe, blir flytende CO₂ trukket fra buffertanken og hevet til ekstraksjonstrykket, cirka 225 bar. En varmeveksler oppnår ekstraksjonstemperaturen og det fremstilte superkritiske CO₂ pumpes gjennom ekstraksjonsapparatet der den passerer gjennom pellets og løser opp bitter- og aromakomponenter. Komponentene går videre til en separasjonstank der trykket senkes, før CO₂ fordampes (Benitez et al., 1997). Når ekstraksjonen er avsluttet, kan CO₂ gå tilbake til sin naturlige gassform, og etterlater seg ekstraktet fra humlen.

2.7.1 CO₂-humleekstrakt

Ved å benytte CO₂-ekstraksjon, kan CO₂-humleekstrakt utvinnes fra humle eller humlepellets. Ekstraktet inneholder α - og β -syrer og essensielle humleoljer, og har som hensikt å tilby bryggeren et konsentrert humleprodukt, som kan være med på å skape en fleksibel og effektiv bryggeprosess. Bryggeegenskapene til den opprinnelige humlen blir opprettholdt, slik at aroma og bitterheten fra humle blir bevart i det prosesserte humleekstraktet. CO₂-ekstraktet kan benyttes delvis, eller som en fullstendig erstatning for hel humle eller humlepellets (BarthHaas-Group, 2010a, De Keukeleire, 2000).

Det er flere fordeler med CO₂-ekstraksjon. Det er blant annet billig, og du får en renere form av α -syrer og mindre av oksidasjonsprodukter. CO₂-ekstrakter er mindre komplekse sammenliknet med hel humle eller pellets, og er godt egnet for videre prosessering av downstream-produkter (Falconer, 2012b). I CO₂-humleekstrakt, for eksempel isomerisert kjeleekstrakt (PIKE), ligger α -syreinholdet på cirka 35-55 %, β -syreinholdet varierer mellom 5-40 % og humleoljeinnhold ligger på cirka 4-12 % (Falconer, 2012a).

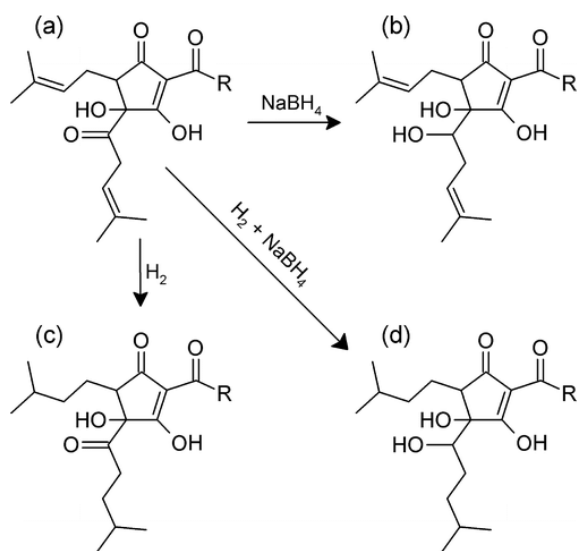
2.7.1.1 Ikke isomerisert humleekstrakt

Alpha Foam er kaliumsalt av α -syrer isolert fra CO₂-ekstrakt, og er et ikke isomerisert humleekstrakt. Patenter for fremstillingen av 20 % -løsning Alpha Foam har blitt beskrevet på ulike måter. Hensikten er å fjerne β -syrene og humleoljene, og danne et rent α -syreekstrakt. Grunnleggende beskriver patentene at CO₂-ekstraktet fra humle blandes med deionisert vann som er tilsatt alkalisk løsning, eksempelvis kaliumlut (KOH). Kaliumlutet hever pH, slik at mesteparten av α -syrene løses opp. Deretter fjernes α -syrene, og pH-verdien blir videre redusert for å fjerne mesteparten av de oppløste β -syrene. Tilslutt surgjøres α -syrene ved at pH senkes

ned til cirka 2. Wilson et al. (2011) viser til at det er optimalt med kjølig oppbevaring, da ren form av α -syrer kan være svært ustabile (Wilson et al., 2011).

2.7.1.2 Isomeriserte humleekstrakt

Utgangsmateriale for isomeriserte humleprodukter er pellets eller ekstrakt fra CO₂-ekstraksjon, og isomeriseringen foregår ved hjelp av Magnesium (Mg) som katalysator. Produktene inneholder, i stedet for α -syrer, korresponderende mengde iso- α -syrer (Biendl and Pinzl, 2008). Rho-, Tetrahydro- og Hexahydro-iso- α -syrer er reduserte isomeriserte humleprodukter, vist i figur 2.17 (Benitez et al., 1997). Navnene skyldes antall hydrogen atomer som ble tatt opp under reduksjonen. Løseligheten av de redusert isomerisert produktene kan settes opp som følgende rhoiso- α -syre > iso- α -syre > tetrahydro-iso- α -syre > hexa-iso- α -syre (Falconer, 2012b). Det er mulig å lage en blanding av de ulike reduserte isomeriserte produktene, for å møte spesifikke krav (Benitez et al., 1997).

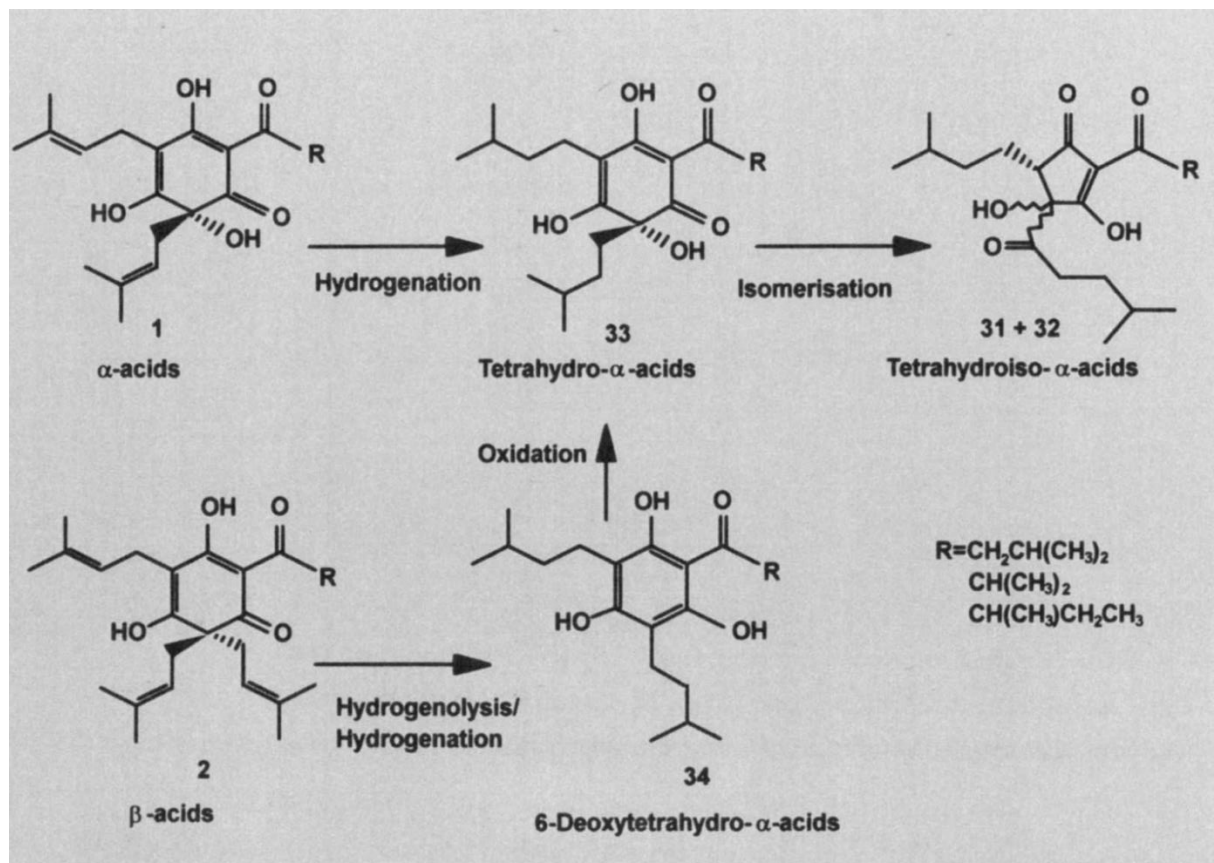


Figur 2.17 (a) iso- α -syre, (b) rho (c) tetrahydro-iso- α -syre (d) hexahydro-iso- α -syre (Kunimune and Shellhammer, 2008).

Redusert isomeriserte humleekstrakter har fått utbredt aksept. Hensikten med reduksjonen er en kjemisk forandring av iso- α -syrenes struktur, som gir humleprodukt med gode skumholdbarhetsegenskaper og en beskyttelse mot «solsmak». Det finnes flere ulike patenter som beskriver produksjon av disse humleproduktene (Kunimune and Shellhammer, 2008).

10 % -løsning av Tetra lages ved at CO₂-ekstrakt separeres til rene α - og β -syrer og renses, for å selektivt fjerne uløselige humleresiner. Dette foregår oftest med spesifisert pH i en alkalisk løsning (Benitez et al., 1997). α - og iso- α -syrer er surere enn β -syrer og vil dermed felles ut.

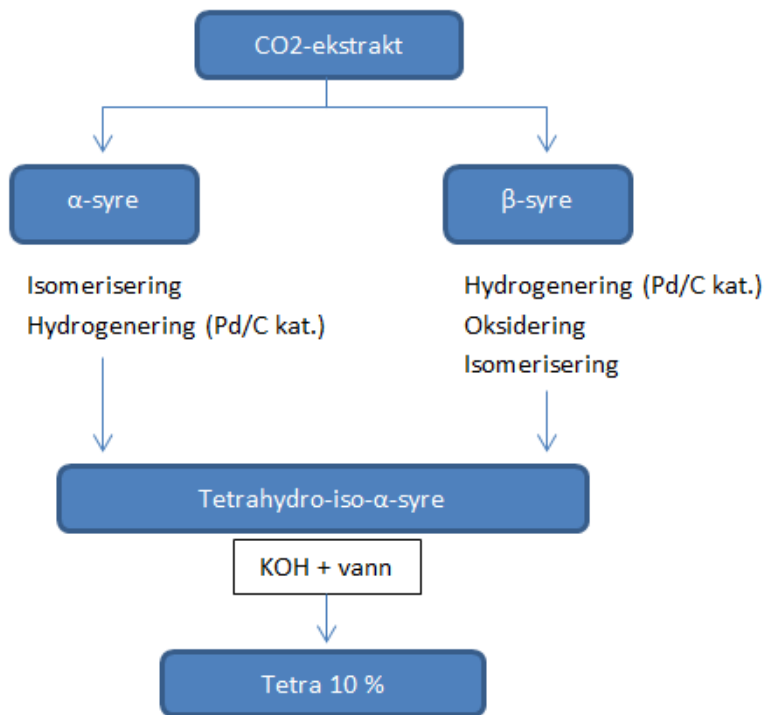
Tetra kan fremstilles fra α -syrer eller β -syrer, vist i Figur 2.18. α -syrer går igjennom hydrogenering og isomerisering før de blir tetrahydro-iso- α -syrer, og disse stegene kan gå om hverandre (Falconer, 2012b).



Figur 2.18 Fremstilling av tetrahydroiso- α -syrer fra α -syrer og fra β -syrer (Benitez et al., 1997).

Ved produksjon av Tetra 10 % etter Hopsteiners resept, skjer isomerisering før hydrogenering, som illustrert i flytdiagrammet i Figur 2.19. Isomeriseringssteget innebærer at α -syrer varmes opp og katalyseres ved bruk av magnesiumsalt. Iso- α -syrene blir separert fra de gjenværende komponentene, og oppløst i 30 % konsentrert alkalisk vannløsning. Videre skjer en kjemisk reaksjon, der iso- α -syrene blir hydrogenert (Biendl and Pinzl, 2008). Ved hydrogenering konverterer *cis*- og *trans*-iso- α -syrer til sine respektive *cis*- og *trans*-tetrahydro-iso- α -syrer. Prosessen foregår i metanol, ved hjelp av palladium på karbon (Pd/C) katalysator.

Palladium på karbon er en form av palladium som har evne til å absorbere hydrogen og fungerer godt som katalysator (Verzele and De Keukeleire, 1991). Når palladium-metallet er fordelt over finfordelt/oppløst karbon, er arealet større og dermed blir katalysatoren mer aktiv (Tilset, u.å.).



Figur 2.19 Produksjon av kaliumsalt av Tetra etter Hopsteiners resept (Falconer, 2012b).

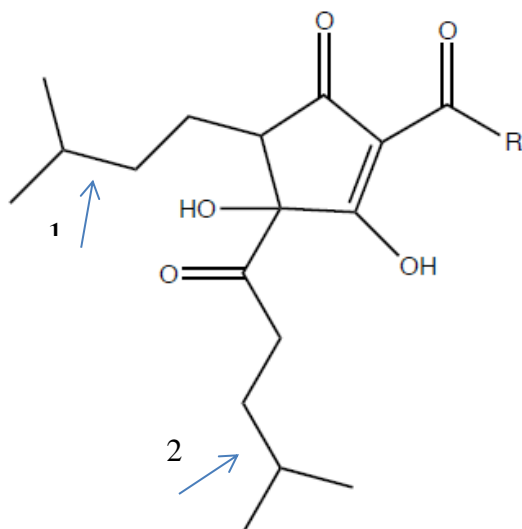
Dobbeltbindingene i THIAAs fjerde og femte sidekjede blir redusert (opptak av hydrogenatomer), og gir opphav til fire hydrogen-enkeltbindinger (Keukeleire, 2000). Deretter blir katalysatoren filtrert bort. Etter fordamping av løsemiddelet, blir bunnfallet rekrystallisert fra iso-oktan (Verzele and De Keukeleire, 1991).

Produksjon av kaliumsalt av THIAA, kan også forløpe via base og magnesiumsalt-katalysert isomerisering av tetrahydro- α -syre (THAA), som er produsert fra hydrogenering av α -syrene (Benitez et al., 1997).

Figur 2.18 og 2.19 viser også at THIAA kan utvinnes av β -syrer gjennom oksidering og hydrogenering. En fremgangsmåte for å utnytte de ikke-bitre β -syrene som potensiell kilde for bidrag til bitter øl (Verzele and De Keukeleire, 1991).

Ratio THIAA til tetrahydro-isoco- α -syre avhenger av komposisjon av råmateriale, og er vanligvis noe lavere for β -syrer (Verzele and De Keukeleire, 1991). Konverteringen fra β -syrer til tetrahydroiso- α -syrer gjennomføres i en flertrinnsprosess. Første steg omfatter hydrogenering av β -syrene til 6-Deoxytetrahydro- α -syrer, med (Pd/C) katalysator. Videre blir de sistnevnte syrene oksidert av pereddiksyre til tetrahydro- α -syre og isomerisert (Benitez et al., 1997)

Tilslutt kommer THIAA i kontakt med deionisert vann og kaliumhydroksid. Dette resulterer i et ekstrakt hvor THIAA er tilstede som kaliumsalter (Falconer, 2012b). Magnesiumsalt-løsningene blir omdannet slik at magnesiumionene blir byttet ut med kaliumioner til en kaliumsaltløsning (Benitez et al., 1997).



Figur 2.20 THIAA. Pil 1 og 2 viser hvor redusering av THIAA skjer. Reduksjon av dobbeltbinding ved pil 1 er gunstig for skumholdbarhet, mens reduksjon av dobbeltbindingen ved pil 2 hindrer fotolyse-splittelse og formasjon av MBT (Falconer, 2012b).

2.8 Bitterintensitet

Bitterhet er en av grunnsmakene i øl og kvaliteten på bitterheten av ølet kan være avgjørende for hvor godt konsumenter liker eller ikke liker ølet. Mens søte og salte smaker er indikatorer på noe spiselig, indikerer faktisk bitre smaker noe som ikke bør spises. Mennesker har en naturlig avsky for bitre smaker, da bitterhet kan være kjennetegn på noe giftig (Grønli, 2004).

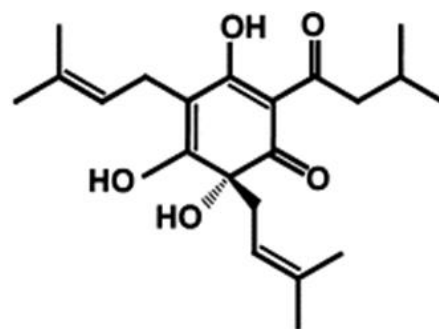
De myke humleresinene bidrar med bitterhet i øl, og den dominerende kilden til bitterhet får man først og fremst fra humlens iso- α -syrer. Iso- α -syrer er avledet fra α -syrer, men α -syrer i seg selv har vist seg ikke å ha noen bitterhet (Kunze, 2010). Avhengig av ønsket bitterhet, kan iso- α -syreinnholdet variere fra 5 til 100 mg/l i ferdig øl (Biendl and Pinzl, 2008).

Mye av β -syrene går tapt under bryggingen, og de produserer dermed svært lite bitterhet under vørterkokingen sammenliknet med α -syrer. Verzele og De Keukeleire (1991), har klart å identifisere at noen β -syreomdanningsprodukter bidrar med bittersmak. Disse genereres under vørterkokingen, fermenteringen eller lagringen. Eksempel på dette er hulupon. Hulupon er

oksidert derivat av β -syre, som kan oksideres videre til hulupinsyre, som gir bitter smak. Hulupon har ved siden av bittersmak, en effekt på overflatespenning i øl og kan bidra med skumdannelse (Verzele and De Keukeleire, 1991).

En behagelig ølsmak kommer frem ved en balanse mellom mange flyktige og ikke-flyktige kjemiske komponenter som er opprinnelig i eller avledet fra råvarer brukt i ølbryggingen. Store mengder røstet malt kan gi en bitterkarakter mot brent mokka, til ølet. Uten humle eller andre urter som gir bitterhet, vil ølet bli for søtt og mektig i følge Van Opstaele et al. (Van Opstaele et al., 2010).

De ulike homologene og isomerene av iso- α -syrer har ulik bitterkraft, der humulon og cohumulon bidrar med mest bitterhet i øl (Schönberger and Barth, 2009). Humlesorter med høyere innhold av cohumulon gir eksempelvis en kraftigere bittersmak, mens humle med humulon og adhumulon gir en mer rund og mild bittersmak (Goldhammer, 2008). Etersom cohumulon påvirker øl med skarpere bittersmak, er det i dag blitt mer vanlig å dyrke humle med relativt lave nivåer av cohumulon, nærmere bestemt < 20-25 % av α -syreinnholdet (Kunze, 2010).



Figur 2.21 Humulon. Øvre del høyre på humulon, er det som gir bittersmaken på tunga (T.Hage, 2013). (Yamamotoa et al., 2000).

Schönberger og Barth (2009) har funnet at det er viktig å ta hensyn til pH ved smakssammenlikning av de ulike homologene. Avhengig av pH, vil ulike mengder isohumulon eller isocohumulon dissosiere, noe som vil påvirke bitterhetens intensitet og kvalitet. Cohumulon og isocohumulons polare karakter og bedre løselighetsegenskaper resulterer i et høyere utbytte under ølbryggeprosessen, sammenliknet med utbyttet for humulon og isohumulon. Iso- α -syreinnholdet fra cohumulon vil dermed være større per mg/liter fra cohumulon enn fra humulon. Øl med større mengde dissosiert isocohumulon vil ha en sterkere og mer intens bitterhet, og det vil resultere i svært ulike øltyper (Schönberger and Barth, 2009).

Humlens bitterhet og aromaolje (eksempelvis linalool) er smaker med en hydrofob karakter. Den hydrofobe karakteren gjør at en stor andel bitterhet og aroma vil samle seg i ølets skumlag.

Ølskummet er av den grunn mer bittert enn ølet, som skyldes at de bitre, hydrofobe iso- α -syrene

er konsentrert her. Spor av maissmak (dimetylsulfid) og såkalt lagringssmak (trans-2-nonenal) kan også konsentreres i skummet, men disse smakene er av negativ betydning for ulike lager- og pilssorter. Hydrofile smaker som malt og karamell, og de fruktige esterene, for eksempel banan (isoamyl-acetat) vil fremheves ved fravær av skum. Lite eller ingen skumdannelse er negativt da det i tillegg vil forsterke oppfatningen av uønsket diacetylsmak. Hvordan aromaene i øl kommer frem, avhenger av om ølet drikkes fra boks, flaske eller glass og videre formen på ølglaset (Evans et al., 2012).

Bitterhet kan måles ved at bitterkomponentene ekstraheres i et organisk løsemiddel, og bestemmes kvantitativt spektrofotometrisk. Analysen uttrykker bitterintensiteten i enheter, kalt BU (Bittering Units). BU inkluderer også andre humleavledete komponenter som kan bidra eller ikke bidra med bitterhet. En annen analytisk metode er high-performance liquid chromatography (HPLC), som brukes for å finne spesifikt innhold av α -syrer, iso- α -syrer eller andre humleprodukter i ølet (Benitez et al., 1997).

Det er stor variasjon mellom øl fra ulike deler av verden. Det er også stor variasjon mellom øl brygget på store bryggerier sammenliknet med øl brygget på mikrobryggerier. Flertallet av øl i dag ligger mellom 6-30 BU (Schönberger and Kostelecky, 2011). I Carlsberg Pils er det normalt med en BU omkring 19.

2.8.1 Humleekstraktens påvirkning på bitterhet

1 mg/l av ren iso- α -syre har en BU på cirka 0,7. Selv om α -syre-sammensetninger kan eller ikke kan bidra til det som oppfattes som bitterhet, vil de bidra til den analytiske bitterheten (Benitez et al., 1997). Det vil si at øl med samme BU kan gi ulik opplevelse av bittersmak.

Bitterintensiteten av humleprodukter tilsatt senere i bryggeprosessen er noe varierende sammenliknet med tradisjonelle iso- α -syrer. Sett at iso- α -syrene har en bitterfaktor på 1, har rho bitterfaktor på 0,7, hexahydro på 1,1 og tetrahydro på 1,1-1,7 i følge Kunze (Kunze, 2010). Etter Barth-Haas Group resept regnes Tetra til å gi en økt bitterhet på 1,0-1,7. Alpha Foam gir en registrert økning i BU på 0,6, men uten å endre den sensoriske bitterheten (Hopsteiner, 2012a). Humleekstraktet gir utslag på analysen, men påvirker ikke smakseffekten av ølet (Hopsteiner, 2012a). Med økt bitterintensitet kan den sensoriske kvaliteten av ferdigvare endres.

Ringnes Bryggeri tilsetter i dag en 10 % -løsning av Tetra i Ringnes Pils etter filter. Dette gir grunnlag for å kunne regne ut humleekstrakttilsetningen i Carlsberg Pils, og vil bestemme riktig dosering av Tetra og Alpha Foam. Ettersom Tetra har en sterkere bitterhet, vil dette gi utslag på smak og smakseffekten må derfor vurderes. I dette forsøket skal det brygges to brygg, et med Tetra og et med Alpha Foam. For å oppnå tilsynelatende lik bitterhet på sluttproduktene skal det tilsettes mindre humle i vørterkjelen i brygget med Tetra.

2.8.2 Aromatilsetning

Humlearomaen i øl er avledet fra humleolje. De flyktige komponentene i oljen fordampes hurtig når humle tilsettes i vørterkaret, og humlearoma tilsettes derfor sent i vørterkokingen for å få med mest mulig av humlearomaen. Tørrhumling (engelsk «dry hopping») er en bryggemetode, der humle blir tilsatt det ferdige ølet like før tapping. Denne bryggemetoden tilfører noe av de opprinnelige humlekomponentene direkte i ferdig øl og ølet får da en særegen humlekarakter (Schönberger and Kostelecky, 2011). I Carlsberg Pils tilsettes et glass humlearoma etter cirka 45 minutter koketid. Dette er med på å gi Carlsberg sin karakteristiske smak (T. Hage, personlig kommunikasjon, 12. mars 2013).

2.8.3 Utnyttelse av humleekstraktene

Humleutnyttelse er et mål på effektiviteten på hvor mye α -syre tilsatt som blir isomerisert til iso- α -syre i vørter og i øl (Benitez et al., 1997). Humleutnyttelse kan også brukes om tilsetting av «downstream»-produkt, men da i sammenheng hvor mye av humleekstraktet som er igjen i ferdig øl. HPLC benyttes for å bestemme utnyttelse av humleekstraktene. Dersom humleekstraktene blir tilsatt før filter, tapes noe av bitterekstraktet i filteret. Ettersom Tetra og Alpha Foam i dette forsøket skal tilsettes etter filter, kan det forventes å gi høyere utbytte enn spesifikasjonene til humleleverandøren, da spesifikasjonene tar utgangspunkt i tilsetting før filter (Hopsteiner, 2012b).

3 Materialer og metoder

3.1 Bryggemetoden

Forsøket ble gjennomført etter vanlig prosedyre på Ringnes Bryggeri. En blanding av lys pilsnermalt og fargemalt ble brukt i forsøksbryggene, som er vanlig for Carlsberg Pils.

Humlepellets og kaliumsalt av isomerisert kjeleekstrakt (PIKE) ble tilsatt i starten av vørterkokingen og et glass med Carlsbergs humlearoma ble tilsatt ved kokeslutt.

Humleproduktene Alpha Foam og Tetra ble tilsatt in-line etter filter. For å få best resultat i henhold til bitterhet i ferdig produkt ble det brygget to brygg, med ulike mengder humletilsetning under vørterkokingen.

- Brygg 1: Vanlig humletilsetning, Alpha Foam tilsettes 53 000 l av brygget etter filter.
- Brygg 2: Lavere humletilsetning, Tetra tilsettes 92 000 l av brygget etter filter.

Alt ble brygget i fullskala. Det ble produsert en parallell av Alpha Foam og en av Tetra. To paralleller ble produsert uten tilsetning, men med ulik humletilsetning i vørteren. Bryggene ble gjæret i 3-bryggstanker som rommer cirka 125 000 l, med High Gravity Brewing(HG)-metoden. HG-faktoren var på 1,45 (45 % vann).

Hensikten var å produsere Carlsberg Pils med tilsetning av humleekstraktene Alpha Foam og Tetra med hensyn til økt skumholdbarhet, der begge sluttproduktene fikk omtrentlig lik bitterhet.

De to bryggene ble gjæret med undergjæren *Saccharomyces carlsbergensis*, med stamme fra Carlsberg, rendyrket ved Carlsberg Bryggeri. I brygg 1 og 2, ble henholdsvis generasjonsgjær 9 og 10 tilsatt. Generasjonsgjærnummeret forteller hvor mange ganger gjæren har blitt brukt. Ølet ble videre stabilisert, modnet, lagret, filtrert, tilsatt humleprodukt in-line, før det ble nedbrygget, pasteurisert og tappet på flasker. Ferdigvarene ble oppbevart på kjølelager til alle analysene var gjennomført. Et døgn før analyse, ble ølprøvene til måling av skumholdbarhet med NIBEM satt ved romtemperatur, mens øl til skummåling med hellemetoden og sensorisk testing ble satt til 10 °C. Bryggeprosessen ble fulgt fra vørter til ferdigvare. Det var viktig å kontrollere at bryggene hadde et omtrentlig likt prosessforløp, slik at sammenlikningsgrunnlaget ble relativt likt.

3.2 Humletilsetning

3.2.1 Humleprodukter

I vørterkjelen i brygg 1 ble det tilsatt 10 kg, og brygg 2 ble det tilsatt 7 kg av Pellets Type 90, kjøpt inn fra den engelske humleleverandøren Lupofresh Limited. Humlesorten i pelletsen var Zeus, dyrket i USA 2010. Følgeseddelen oppga at produktet inneholdt 16,7 % α -syrer. I tillegg ble det tilsatt 2 kg PIKE i begge brygg. Humlesorten i PIKE var Zeus, dyrket i 2010, og inneholdt 500 g α -syrer per boks. Etter 45 minutter koketid ble det tilsatt et glass med 60 ml Carlsberg Aroma.

Alpha Foam ble levert fra den tyske humleleverandøren Hopsteiner. Produktet er en ren, vandig løsning av kaliumsalt av α -syrer, produsert fra CO₂-humleekstrakt. Ut i fra analysesertifikatet inneholdt produktet 19,7 % α -syrer, 0,5 % iso- α -syrer og 0,2 % β -syrer, analysert ved hjelp av HPLC, som beskrevet i metode 7.8 i Analytica European Brewery Convention (EBC) (2010). Analysesertifikat bekrefter riktig kvalitet og renhet av planteproduktet. Totalt ble det levert 5 kg av 20 % -løsning av Alpha Foam, pakket i lystette plastikkbokser. En boks inneholdt 1 kg Alpha Foam. I brygg 1 ble det tilsatt 4 mg/l Alpha Foam in-line etter filter, og utregningen er vist i Tabell 3.1. I kontakt med Hopsteiner (e-post, 15.mars 2013), er prisen på produktet 14,00 euro per kg 20 % -løsning av Alpha Foam (EUR/ kg 20 % -løsning av Alpha Foam). Dette tilsvarer omtrent 106,00 norske kroner per kg.

Tetra ble levert fra den amerikanske humleleverandøren Barth-Haas Group. Produktet er solgt som organisk løsemiddelfri 10 % vandig løsning av kaliumsalt av tetrahydro-iso- α -syre. Varedeklarasjon til Tetra oppga at produktet ble produsert i juni 2012. Produktet er solgt i 20 kg plastikkdunker og lagres ved 15-25 °C. Ringnes Bryggeri hadde allerede kjøpt inn Tetra, da dette humleproduktet benyttes i Ringnes Pils. I brygg 2 ble det tilsatt 2 mg/l Tetra in-line etter filter, og utregningen er vist i Tabell 3.1. Prisen på produktet er 14,50 euro per kg 10 % -løsning av Tetra (EUR/ kg 10 % -løsning av Tetra), som tilsvarer omtrent 110 norske kroner per kg (e-post, 15. mars 2013).

Begge humleekstraktproduktene var fremstilt med superkritisk CO₂ ekstraheringsprosess (Hopsteiner, 2012).

3.2.2. Utregning av humleekstraktenes produktmengde

Tabell 3.1. Bryggvolum, gjærgenerasjon og -vedsetting, type og kilo humleprodukt, utregning av mengde humleekstrakttilsetning, opplevd bitterhet, og humleekstraktkostnader per volum brygget.

Parameter	Brygg 1 – Alpha Foam og uten tilsetning	Brygg 2 - Tetra Og uten tilsetning
Totalvolum (l)	225260	251730
Volum i brygg med tilsetning(l)	53 000	92 000
Gjærstamme	Carlsberg	Carlsberg
Gjærgenerasjon	9	10
Celletall høstet gjær 10 ⁶ /ml	1250	1140
% levende celler	90	94
Gjærvedsetting (millioner celler per ml kaldvørter)	9,9	10,8
Humlepellets / PIKE (kg)	10 / 2	7 / 2
Humleekstrakt	<u>20 %</u> kaliumsalt-løsning av rene α -syrer*	<u>10 %</u> kaliumsalt-løsning av tetrahydro-iso- α -syre**
Humletilsetning etter filter	4 mg/l	2 mg/l
Utregnet mengde humleekstrakt etter filter (kg)	4 ppm av 20 % -løsning: $4 \frac{mg}{l} \times 53\,000\ l = 212\,000\ mg$ $212\,000\ mg \times 5 = 1\,060\,000\ \mu l$ $1\,060\,000\ \mu l$ tilsvare <u>1,06 kg</u>	2 ppm av 10 % -løsning: $2 \frac{mg}{l} \times 92\,000\ l = 184\,000\ mg$ $184\,000\ mg \times 10 = 1\,840\,000\ \mu l$ $1\,840\,000\ \mu l$ tilsvare <u>1,84 kg</u>
Opplevd bitterhet ***	19,6	20,7
Humlekostander per liter humleekstrakt(NOK)	0,00212	0,0022
Humleekstraktkostnader per volum brygget (NOK)	112,4 NOK per 53 000 liter	202,4 NOK per 92 000 liter

* Analysert ved bruk av HPLC (oppgitt i e-post 15. mars).

** Ifølge UV-spektroskopi (oppgitt i e-post 15. mars).

*** Målt spektrofotometrisk. Tetra ble utregnet ved å addere tilsatt mengde Tetra, multiplisert med analysefaktor på 1,7.

Utregning av mengde humleekstrakt, tilsetning i de to bryggene og opplevd bitterhet er vist i Tabell 3.1. Mengde humleprodukt som skulle tilsettes vørterkjelen og etter filter, ble regnet ut i fra bryggvolum, konsentrasjon av humleekstraktet og ønsket BU i ferdigvare.

Ekstraktinnholdet ble satt til $14,5 \pm 0,4$ % P frem til kuldestabiliseringstank og til $10,06 \pm 0,4$ % P i ferdig produkt. Alpha Foam har ingen påvirkning på bitterhet. BU på lagertank ble derfor satt til 27 ± 4 ved tilsetning av Alpha Foam, som er normale verdier for Carlsberg Pils. Tetra gir (1,0)-1,7 ganger økt bitterhet. For og nå en endelig BU på 18 ± 3 var det nødvendig å redusere BU på brygg 2 til omtrent 24 på lagertank før nedbrygging. Tabell 3.2 viser volum på brygg tilsatt Tetra, tilsatt Alpha Foam og uten tilsetning, og BU under de ulike bryggeprosessertrinnene.

Tabell 3.2 BU og analysefaktor² i brygg tilsatt Alpha Foam, tilsatt Tetra og uten tilsetning, og haze og CO₂-innhold i ferdigvare.

	Brygg 1 - tilsatt Alpha Foam	Brygg 2 - tilsatt Tetra	Brygg 1 - uten Alpha Foam
Volum per brygg (l)	53 000	92 000	80 000
Mengde humleekstraktprodukt (kg)	1,06	1,84	0
Analysefaktor	1,0	1,0 + 1,7	1,0
BU i kaldvørter	40	32	40
BU i gjæringstank	34	27	34
BU i kuldestabiliseringstank	26	23	26
Nedgang BU kaldvørter til BU kuldestabiliseringstank	14	9	14
BU i ferdigvare	19,6	20,7	18,2
Ekstraktinnhold i ferdigvare (% °P)	2,92	2,92	2,97
Haze i ferdigvare	0,207	0,221	0,207
CO ₂ i ferdigvare (g/l)	4,96	4,94	4,95

² Faktor som tilsatt mengde humleekstrakt multipliseres med.

3.3 Metoder

3.3.1. Analysemetoder gjennomført i forsøket

Det ble utført analyser av kaldvørter før gjærvedsetting, daglige analyser av gjærende øl, analyser av øl lagret på kuldestabiliseringstank, øl lagret på filtertank (BBT) og av ferdigvare. Disse analysene er beskrevet i kapittel 3.4-3.9.

Vørter ble analysert for virkelig ekstraktinnhold (E_R), bitterenheter (BU), pH og oppløst oksygen (O_2). Under gjæringsforløpet ble det tatt ut daglige prøver av gjærende øl for måling av E_R , og temperatur i tanken ble avlest med omtrent 24 timers mellomrom. I tillegg ble gjærende/modnings øl analysert for, alkoholinhold, pH, BU og diacetyl. Øl på kuldestabiliseringstank ble analysert for E_R , tilsynelatende (tils.) ekstrakt (E_A), alkohol, BU, pH og farge. Øl på filtertank, ble analysert for E_R , alkohol, BU, haze og oppløst O_2 . Ferdigvaren ble analysert for E_R , alkohol, BU, pH, farge, haze, total oksygeninnhold (TPO), kullsyreinnhold (CO_2), diacetyl og skumholdbarhet ved bruk av hellemetode og NIBEM skummåler. Det ble også gjennomført sensoriske analyser og måling av individuelle bitterkomponentene (HPLC) av ferdigvarene. Tabell 3.3 viser en oversikt over analysene som ble brukt.

Tabell 3.3. Oversikt over analysene som ble utført på bryggene og ferdigvare.

Analyse	Kaldvørter	Gjærende øl	Øl lagret på kuldestabiliseringstank	Filtertank BBT	Ferdigvare
Virkelig ekstrakt(E _R)	x	x	x	x	x
Tils.ekstrakt (E _A)		x	x		
Alkohol		x	x	x	x
Bitterstoff (BU)	x	x	x	x	x
pH	x	x	x		x
Oppløst oksygen	x			x	
Gjærcelletall		x			
Diacetyl (DA)		x			x
Farge			x		x
CO ₂ -innhold					x
Skumholdbarhet; NIBEM og hellemetode					x
HPLC					x
TPO					x
Haze				x	x
Sensoriske analyser					x

3.3.2 Usikkerhet ved bruk av analysemetodene

Kvaliteten til analysene som brukes er viktig. Usikkerhet rundt analysemetodene er oppgitt i noen av underkapitlene. Termer hentet i fra ISO (International Organization for Standardization)-standardene ISO-3534-1, 5725-2 og ISO 5725-4 har European Brewery Convention (EBC) trykt med tillatelse fra den Internasjonale Organisasjonen for Standardisering, ISO (2010).

Med presisjon menes samsvar mellom uavhengige testresultater, oppnådd med en måleprosedyre under spesifiserte betingelser. Under presisjon benyttes uttrykkene; repeterbarhet (r) og reproduserbarhet (R). Repeterbarhet definerer samsvar mellom testresultatene av påfølgende målinger av den samme målestørrelse utført under samme målebetingelser. Reproduserbarhet definerer samsvar mellom resultatene av påfølgende målinger av den samme målestørrelsen utført under ulike målbetingelser (EBC, 2010).

Presisjonsgrense: R_{95} og r_{95} er verdier som er \leq den absolutte forskjellen mellom to testresultater oppnådd under reproduserbarhetsforhold (R_{95}) og repeterbarhetsforhold (r_{95}), som kan forventes ved en sannsynlighet på 95 % (EBC, 2010).

3.3.3 Instrumenter

Tabell 3.4 Instrumenter brukt under forsøket.

Instrument	Hva måles
Anton Paar Beer Alcoalyzer med DMA 4500	Virkelig ekstrakt (E_R) Tilsynelatende ekstrakt (E_A) Alkoholinnhold
pH-meter	pH
Spektrofotometer	Bitterenheter (275 nm) Farge (430)
High-performance liquid chromatography (HPLC)	Individuelle bitterstoffer
NucleoCounter YC-100	Gjærcelletall
Gasskromatografi (GC)	Innhold av diacetyl
Anton Paar CarboQC	CO ₂ -innhold
NIBEM Foam Stability Tester	Skumholdbarhet
Manuell hellemetode	Skumholdbarhet
Sigrist hazemeter	Haze
Haffmans OGM	Oppløst oksygen
Haffmans c-TPO O ₂ -måler	Total oksygenbelastning

Tabell 3.4 viser hvilke instrumenter som ble brukt i forsøket, og hva de målte.

Først følger en nærmere beskrivelse av Anton Paar Beer Alcolyzer med DM4500, før oppsett av de ulike analysemetodene. Flere analyser henviser til ulike kvalitetsstyringsdokumenter (Q-doc). Kvalitetsstyringsdokument er utarbeidet av Ringnes Bryggeri og informerer om hensikt, prøveoppbeidelse, kontroll og kalibrering, og usikkerhet ved bruk av bestemte analyser.

3.3.4. Virkelig ekstrakt-, tilsynelatende ekstrakt-, og alkoholinnhold.

3.3.4.1. Anton Paar Beer Alcolyzer med DM4500

Anton Paar Beer Alcolyzer med DM4500 ble benyttet til å måle alkoholinnhold (% v/v) i gjærende og alkoholholdig øl, og ekstraktinnhold i vørter og øl (%P). Opparbeidelsen er detaljert beskrevet i Q-doc 4374 og metode 9.2.6 og 9.4 i Analytica EBC (2010). Alcolyzer benyttes til nøyaktig å bestemme alkoholinnhold uttrykt som prosent av totalt volum (ABV) og alkoholprosenten uttrykt som prosent av total masse (ABW). Instrumentet regnet også ut tils. ekstrakt (E_A), virkelig ekstrakt (E_R), tils. forgjæringsgrad (ADF) og virkelig forgjæringsgrad (RDF) (Ringnes, 2012a).

Anton Paar Beer Alcolyzer består av tre hovedkomponenter: et roterende karusellbrett, en tetthetsmåler (DMA 4500) og Alcolyzer NiR-enheten. Karusellbrettet roterer sakte, og prøvene ble automatisk pumpet opp og gjennom målingssystemet. Instrumentet bestemte spesifikk vekt av en prøve ved hjelp av et U-formet rør. Prøven ble ført inn i røret, som svingte ved en frekvens avhengig av tetthet i prøven. En nøyaktig bestemmelse av frekvensen bestemmer tettheten til prøven (Paar, u.å., Ringnes, 2012a).

Nær InfraRød Spektroskopi (NIR) bestemmer alkoholinnhold (ABW). NIR-stråling (800-2500 nm) fra en lyskilde blir separert til spesifikke bølgelengder i instrumentet. Alkoholinnholdet av prøven måles spektrofotometrisk ved å bestemme absorbansen i et alkoholspesifikt område innenfor NIR-spekteret. Instrumentet måler alkoholinnholdet i prøven, omregnet til prosent av total masse ut ifra den målte absorbansen. En kalibreringslikning, utarbeidet fra standardløsning med kjent alkoholkonsentrasjon, ble benyttet til dette (EBC, 2010).

Dimensjonene alkohol og tettheten i prosent av total masse, måles direkte i instrumentet. Prøvens innhold av tils. ekstrakt (E_A) ble bestemt av tettheten til prøven. Alkoholprosenten av totalvolum (ABV) ble kalkulert ut ifra prøvens alkoholprosent av totalmasse (ABW). Virkelig ekstrakt (E_R) kalkuleres ut ifra alkoholprosenten og tils. ekstrakt (E_A). Instrumentet klarte å regne seg tilbake

til det opprinnelige ekstraktet, stamvørteren, ut ifra det virkelige ekstraktinnholdet og alkoholprosenten. Videre kan virkelig forgjæringsgrad (RDF) regnes ut ved hjelp av virkelig ekstraktinnhold og alkoholprosenten (EBC, 2010).

Til prøveopparbeidelsen ble 200 ml av hver vørter- eller ølprøve filtrert gjennom et filterpapir i en trakt, for å fjerne uønskede partikler og gass som kan skape blokkeringer i instrumentet. Prøven ble videre ristet i en ristemaskin av merket Gallenkamp i 20 minutter. Ristingen fjerner CO₂, ettersom CO₂ kan medføre ustabile målinger. Én prøve ble fylt i prøveglass og plassert på Anton Paar karusellbrett for analyse, etterfulgt av to prøveglass med destillert vann. Vann brukes for å fjerne rester av prøvene (Ringnes, 2012a).

Anton Paar Beer Alcolyzer-instrumentet med DMA 4500 måler prøvene nøyaktig. Analysen viser alle resultater av de beskrevne parameterne ovenfor, og det er ikke nødvendig med ytterligere utregninger. Alkohol- (ABV) og ekstraktinnholdet ble oppgitt med to desimaler. Repeterbarheten for de ulike målingene i Anton Paar Alcolyzer er opprinnelig ekstrakt 0,03 %P, virkelig ekstrakt 0,01 %, tetthet 0,000005 g/cm³ og alkohol 0,01 % (AntonPaar, 2012). I følge Q-doc 4374, er et forventet avvik innenfor ±0,05% vol for alkohol og ±0,1 %P for stamvørter og ekstrakt.

3.4 Analyse av vørter

3.4.1. Virkelig ekstrakt (E_R) og spesifikk vekt i vørter

Virkelig ekstrakt (E_R) og spesifikk vekt i vørteren ble analysert ved hjelp av Anton Paar Beer Alcolyzer med DMA 4500, etter metode beskrevet i Q-doc 4374 og metode 9.4 i Analytica EBC. Analysemetodene er detaljert beskrevet i kapittel 3.3.4.1.

3.4.2 Bitterhetsanalyse av vørter

Bitterstoffene ble bestemt spektrofotometrisk ved Ringnes Bryggeri. Vørterens innhold av bitterhetsstoff ble målt med type Biochrom Libra S22 Visible Spectrophotometer, og utført etter Q-doc 2174 og metode 8.8 i Analytica EBC (EBC, 2010).

Tre parallelle prøver ble tatt ut til analyse av bitterhet (BU). Vørterprøvene ble sentrifugert i 20 minutter ved en hastighet på 4000 rpm for å fjerne urenheter og eventuelle humleavledelede komponenter før måling av bitterstoffinnhold (Ringnes, 2012b).

Analysen bestemmer innholdet av bitterenheter, hovedsakelig iso- α -syrer (Benitez et al., 1997). Ved prøveopparbeidelse ble 10 ml av vørterprøven pipettert over i en 10 ml EM-kolbe. Vørteren ble tilsatt 20 ml isooktan (2,2,4-trimetylpentan) og 1 ml 3 molar(M) saltsyre (HCl). Det organiske løsemiddelet isooktan ekstraherer bitterstoffene fra vørteren, mens saltsyren surgjør vørteren. En kork ble satt på kolbene for å unngå fordamping. Prøvene ble ristet i 20 minutter, hvilt i 10 minutter ved 20 °C før de ble avlest med spektrofotometer. Absorpsjonen til isooktanlaget ble bestemt ved bølgelengde 275, som er området der humlekomponentene absorberer UV-lys, mot en referanse med ren isooktan (Ringnes, 2012b).

Bitterhet (BU) ble regnet ut ved å multiplisere vørterens absorbans ved 275 nm med faktor 50. Carlsberg Pils ble tilsatt PIKE og ølprøvene må multipliseres med en analysefaktor på 55, for å justere for opplevd bitterhet. BU oppgis i nærmeste heltall og tilsvarer omtrentlig masse av iso- α -syrer i mg per liter (Ringnes, 2012b).

Ringnes Bryggeri har utarbeidet en intern presisjonsverdi, som er basert på standardavviket av 20 analyser utført på Ringnes Pils 0,33 l flaske. For analysene av ferdig øl ble usikkerhet ved 1 standardavvik for BU-analysen angitt som 1,15, og akseptable verdier ligger innenfor ± 2 BU. Vørterprøver kan være mer unøyaktig grunnet uklarhet i prøvene (Ringnes, 2012b).

3.4.3 pH i vørter

pH i vørter ble bestemt av et pH-meter med kombinert glasselektrodesystem, av type PHM210 Standard pH-meter, utført etter Q-doc 2163 og metode 1.5 og 8.17 i Analytica EBC (2010) (Ringnes, 2012f).

pH-meteret ble kalibrert med buffere med pH 4 og pH 7, ved 20 °C. Prøvene ble målt ved 20 °C og resultatene ble oppgitt med to desimaler. Analytica EBC har oppgitt presisjonsverdiene r_{95} og R_{95} på henholdsvis 0,022 og 0,121 (EBC, 2010).

3.4.4 Oksygen i vørter

Oksygenmåling i vørter foregår in-line, for å sikre riktig oksygenmengde for gjærvekst. Vørteren settes i kontakt med sensor in-line, som måler mengde oppløst oksygen ved hjelp av Haffmanns OMG. Analysen er utført etter Q-doc 2167, og resultatene ble lest på dataskjerm i brygghuset.

3.5 Analyser av gjærende øl

Det ble tatt ut daglig prøver av gjærende øl for å måle ekstraktinnhold. Innholdet av DA ble målt ved endt gjæring. Temperatur i gjæringstanken ble avlest daglig.

3.5.1 Virkelig og tils. ekstrakt, alkoholinnhold i øl ved nærinfrarød spektroskopi (NIR)

Virkelig og tils. ekstrakt og alkoholinnhold i gjærende øl ble analysert ved hjelp av Anton Paar Beer Alcoycer, etter metode beskrevet i Q-doc 4374. Metodene er detaljert beskrevet i kapittel 3.3.4.1.

3.5.2 Bitterhet

Analysen av bitterhet i øl ble utført etter standardmetode beskrevet i Q-doc 2174 og metode 9.8 i Analytica EBC (2010). Prinsipp, instrumenter og resultatbearbeidelse var de samme som for bitterhetsanalysen av vørter, beskrevet i 3.4.2 Bitterhetsanalyse av vørter. Prøveopparbeidelsen er noe ulik for analyse av vørter.

Ved bitterhetsanalyse av gjærende øl var det viktig å få med skummet, da bitterstoffene kan befinne seg der. Ølprøvene ble tilsatt noen dråpet oktanol og ristet lett. Oktanolen avgasser skummet og blander det med prøven. Videre ble det tilsatt 20 ml isooktan og 1 ml 3 M HCl (Ringnes, 2012b). Videre prøveopparbeidelse er beskrevet i kapittel 3.4.2.

3.5.3 pH

Metoden for pH-måling av gjærende øl ble utført etter Q-doc 2163 og metode 9.35 i Analytica EBC. Prinsippet og resultatbearbeidelsen er den samme som for pH-måling av vørter, beskrevet i kapittel 3.4.3. Prøveopparbeidelsen er noe ulik. Ølprøve ble først filtrert, deretter ble cirka 200 mL fylt i en 500 mL glasskolbe, og avkarbonisert ved hjelp av risteapparat 20 ± 1 °C. pH ble så målt ved 20 °C (Ringnes, 2012f). Ved pH 3,94-4,42 er r_{95} 0,025 og R_{95} 0,133 (EBC, 2010).

3.5.4 Måling av celletall med NucleCounter YC-100

Instrumentet NucleCounter YC-100 utfører analyse av gjærcelletall, utarbeidet av Carlsberg Group. Dette er vanlig prosedyre ved bryggeriet. NucleCounter måler det totale innhold av gjærceller og gjærens levedyktighet. Måling av gjærcelletall benyttes for å kontrollere at riktig mengde gjær er blitt vedsatt i fermenteringstanken, for å følge gjæringsprosess og celletilvekst, og for å se til at innholdet av døde gjærceller ikke er for høyt (Carlsberg Breweries, 2012b).

Under prøveopparbeidelse ble en fortynnet prøve med gjærende øl pipettert inn i en NucleoCounter kasett og dekket med propidiumiodid (PI). PI binder seg til DNA fra gjærens døde celler og fluoriserer ved 530 nm. NucleoCounteren avslører dette. I løpet av to målinger oppga NucleoCounter det totale antall (ikke-døde og døde) gjærceller per ml i prøven, og ut i fra dette kan man bestemme gjærens levedyktighet (Carlsberg Breweries, 2012b).

3.5.5 Diacetyl med GC

Q-doc 2189 gir beskrivelse av gasskromatografisk bestemmelse av diacetyl (DA), 2,3-pentadion og deres forløpere i øl ved Ringnes AS. Konsentrasjon av diacetyl ble bestemt av headspace gasskromatografi i en GC av instrumentet Thermo Scientific TRACE GC Ultra, med Triplus Autosampler. Analysen ble gjennomført som beskrevet i Q-doc 2189, utarbeidet av Ringnes Bryggeri (Ringnes, 2012c).

Ølet ble filtrert gjennom foldefilter. Videre ble 5 ml tatt ut med pipette og overført til et infusjonsglass. Prøver med kjent konsentrasjon av diacetyl ble brukt for å kontrollere gasskromatografiens stabilitet. Kontrollprøvene var de to første prøverørene plassert i autoprøvetakeren og ble gjentatt for hver tiende vanlig prøve. Diacetyl ble målt én gang under gjæringsprosessen og hadde benevning i ppb, uttrykt i nærmeste heltall (Ringnes, 2012c).

3.6. Analyser av øl lagret på kuldestabiliseringstank

Etter gjæring og modning ble ølet sentrifugert og overført til kuldestabiliseringstank for lagring. På kuldestabiliseringstank ble det tatt analyser av ølets ekstrakt-, alkohol- og BU-innhold. I tillegg ble pH og farge målt.

3.6.1. Virkelig- og tils. ekstrakt, alkohol, bitterhet og pH

Analysene av ekstrakt, alkohol, BU og pH i øl fra lagringstank ble utført som beskrevet i del 3.5 Analyser av gjærende øl.

3.6.2. Fargemåling av øl

Fargemåling av øl på kuldestabiliseringstank ble gjennomført spektrofotometrisk, av instrumentet Biochrom Libra S4 visible Spectrophotometer. Analysen gjøres etter standardmetode, beskrevet i Q-doc 2164 og metode 9.6 i Analytica EBC. Spektrofotometrisk

absorpsjon måles ved bølgelengde 430 nm, og fargen rapporteres i EBC-enheter (Ringnes, 2012d).

Under prøveopparbeidelsen ble ølet filtrert gjennom foldefilter før det ble avkarbonisert. Prøven ble videre filtrert ved hjelp av en sprøyte igjennom et membranfilter (0,45µm) av cellulosemateriale. Før ølanalysen ble spektrofotometeret innstilt på 430 nm og nullstilt med destillert vann, til en konsentrasjon på 0,0. En ren kyvette ble fylt med ølprøven og satt i prøveholderen, med klar side vendt mot lyskilden. Absorbansen ble avlest på instrumentets display ved å trykke på «konsentrasjon». Fargen i EBC-enheter ble så regnet ut ved å multiplisere absorbansen med faktor 25. Dette gjøres av instrumentet (Ringnes, 2012d).

I fargeområde 8-120 (EBC), er r_{95} og R_{95} henholdsvis 0,022 m og 0,085 m, der m er gjennomsnittsverdiene for de analyserte prøvene (EBC, 2010).

3.7 Analyser av øl på filtertank

Etter lagring ble ølet filtrert og slanget til filtertank. Analyser av ekstrakt, alkohol, oppløst O₂ og BU ble målt.

3.7.1 Virkelig ekstrakt, alkohol og bitterhet

Analyser av virkelig ekstrakt (E_R), alkohol og bitterenheter i øl på filtertank ble utført som beskrevet under del 3.5 Analyser av gjærende øl.

3.7.2 Oksygen i filtertank

Oksygen i øl fra filtertank ble utført ved hjelp av Haffmans c-DGM O₂-måler. Oksygenmålingen foregikk on-line, i den hensikt å sikre produkter med riktig kvalitet. Instruksen er beskrevet i Q-doc 7515. Innhold av O₂ ble oppgitt i ppb. Det ble tatt ut to parallelle målinger for en sikker kontroll (Ringnes, 2009).

3.7.3 Haze

Haze er en analyse for å måle uklarhet i øl. Haze ble målt ved bruk av instrumentet Sigris LabScat Process-photometer. Resultatene ble oppgitt i EBC-enheter. Prosedyren er utarbeidet av Ringnes Bryggeri og beskrevet i Q-doc 2204 (Ringnes, 2012i).

Hazemeteret ble kalibrert på forhånd mot ukklarhetsstandard. Ukklarhet ble målt i filtrert øl, helt over i en glassflaske og vurdert etter en hazeskala. CO₂-bobler gir utslag på prøven og må fjernes. Den rene glassflasken ble satt i hazemeteret, som holdt 20 °C og verdien ble lest av i vinduet. Lav EBC, henholdsvis 0-0,5 tilsvarer brilliant farge. Resultater for haze i øl rapporteres med 1 desimal. Øl med farge > 20 EBC vurderes som uklar/klar ut fra visuell kontroll (Ringnes, 2012i).

3.8 Analyser av ferdigvare

Etter filtrering ble brygget tilsatt humleekstrakt (Alpha Foam eller Tetra) før nedbrygging og tilslutt tapping på boks eller flaske. Ferdigvarene ble analysert for ekstrakt, alkoholinnhold, BU, pH, farge, CO₂-innhold, DA, haze, TPO og skumholdbarhet. I tillegg ble det utført sensoriske analyser. Ferdigvarer ble sendt til Carlsberg Central laboratorium i Strasbourg for analyse av individuelle bitterstoffer med HPLC.

3.8.1 Virkelig ekstrakt, alkohol, bitterhet og pH

Analyser av ferdigvarens ekstrakt, alkohol, bitterhet og pH ble utført som beskrevet under kapittel 3.5. Analyser av gjærende øl.

Kontrollkort for presisjonsverdien av BU-analyser av ferdig øl ved Ringnes Bryggeri er opprettet på grunnlag av standardavviket av 20 målinger, utført på et brygg («standard pils» eller referanseøl). Akseptable verdier ligger innenfor ± 2 BU (Ringnes, 2012b). Spesifikasjoner øl Ringnes AS – Helårsprodukter, dokument nr. 6731, oppga at øl tilsatt 2 mg/l Tetra gir 22 BU i opplevd bitterhet.

3.8.2 Fargemåling

Filtrert øl avkarboniseres før fargemåling. Fargemåling ble opparbeidet som beskrevet i kapittel 3.6.2 Fargemåling av øl.

3.8.3 CO₂-innhold

Kullsyre(CO₂)-analyse bestemmer oppløst mengde CO₂ i ferdig øl. Kullsyreinnhold i øl bestemmes ved hjelp av Anton Paar instrumentet, type CarboQC, etter standardmetode utarbeidet av Carlsberg Breweries. Analysen er viktig med hensyn til tapping og sensorisk opplevelse.

Anton Paar har utviklet denne metoden som er en trykk/temperatur metode, det vil si at ved en bestemt temperatur er mengde oppløst gass i en væske proporsjonal med partialtrykket til gassen over væsken. Temperatur til væsken og partialtrykket til karbondioksidgassen bestemmes ved likevekt. Videre kan konsentrasjon av oppløst CO₂ utregnes (Murer, 2005). Resultatene har benevnningen g/l og oppgis med to desimaler. Repeterbarhet for analysen ved bruk av Anton Paar CarboQC er 0,01 g/l CO₂ (Carlsberg Breweries, 2012a).

Prosedyren er demonstrert i "ID: CO₂ in beer - carbo QC" fra Carlsberg Operation Manual utarbeidet av Carlsberg Breweries. Et målekammer fylles opp med ølprøve, forsegles og ekspanderer 10 %. Prøven røres kraftig før temperatur-/trykkmåling, og en trykklikevekt oppnås. CO₂ bygger opp et trykk i gassfasen, grunnet høy løselighet. Det målte trykket blir automatisk korrigert for volumøkning i instrumentet og konvertert til CO₂ % vol/vol ved å multiplisere gassens løselighet. Metoden tar utgangspunkt i at andre gasser er tilstede (Carlsberg Breweries, 2012a).

3.8.4 Diacetyl (DA)

Analyse av DA i ferdigvare ble utført som beskrevet under kapittelet 3.5.5 Diacetyl med GC.

3.8.5 Analyse av individuelle bitterstoffer (HPLC)

Alle ferdigvarene ble sendt til Carlsbergs sentrallaboratorium i Strasbourg i Frankrike. Ølprøvenes individuelle bitterstoffer ble separert og analysert ved hjelp av high-performance liquid chromatography (HPLC). Metode 7.8 og 7.9 i Analytica EBC forklarer prøveopparbeidelse av analysen (EBC, 2010).

For å detekterer de ulike α -, iso- α - og tetrahydro-iso- α -syrene, ble det brukt revers-fase HPLC som separerer de ulike bittersyrene og detekterer disse ved en UV bølgelengde på henholdsvis 314 og 270 nm.

Tillaging av kalibreringskurve ble laget med konsentrasjoner av humleekstrakt med kjent innhold av α -syrer og β -syrer, og disyclohexylamin iso- α -syrekompleks. Arealområdene på grafen tilsvarte konsentrasjonen for hver syrefamilie (EBC, 2010).

EBC Analysis Committee gjennomførte i 2001 et samarbeidsforsøk der 14 laboratorier analyserte 4 ølprøver hver, der prøvene inneholdt en type av isomerisert eller redusert isomerisert

α -syre. Presisjonsverdiene (% m/m) for bittersyrene ble bestemt fra disse verdiene, der r_{95} og R_{95} er henholdsvis 0,52 og 2,89 for iso- α -syrer, og 0,26 og 0,83 for tetrahydro-iso- α -syrer (EBC, 2010).

3.8.6 Totale Package Oxygen (TPO)

TPO er en analyse som måler total oksygenbelastning og oppløst kullsyre i øl tappet i boks eller flaske. Dette ble målt med instrumentet Haffmans c-TPO O₂-måler. Total oksygen ble regnet ut av instrumentet etter måling av oppløst oksygen i ølet (DO), headspace volum (HS Volume) og oksygen i headspace (HSO). Instruksen er beskrevet i Q-doc 8219 (Ringnes, 2010).

Oksygen ble målt for å oppnå riktig kvalitet på ferdig produkt. Mengde O₂ i tappet produkt må holdes lavt for å hindre oksidasjon, som er med på å gi negativ innvirkning på sensorisk kvalitet. Prosedyren ble foretatt i prøver før tunellpasteur og boksvvarmer, og ble gjennomført senest to timer etter tapping (Ringnes, 2010).

TPO har en kontrollgrense på ≤ 250 ppb for Carlsberg Pils, oppgitt i Ringnes AS spesifikasjonstabell for ferdigvarer.

3.8.7 Haze i øl

Analyse av ferdigvarens uklarhet ble opparbeidet som beskrevet i kapittel 3.7.3 Haze.

3.9 Måling av ølskum

Måling av skumholdbarhet er begrenset til observasjon eller praktisk metode, grunnet skummets uensartede natur. Det finnes derfor ikke en universal måte å måle skumholdbarhet på. En av variablene er måten å danne skummet; naturlig vs. kunstig. Naturlig metode er en metode som fokuserer på forbrukernes sanseintrykk og etterligner den virkelige oppfatningen av skum. En vanlig kunstig metode er at ølet blir presset gjennom en smal åpning ved bruk av en gass.

3.9.1 Skummåling ved bruk av NIBEM

NIBEM skumholdbarhetsanalyse er EBCs offisielle metode for å måle skumholdbarhet i ferdigvare. Måling av skumholdbarhet ble analysert ved hjelp av NIBEM-meter, utført etter metode 9.42 beskrevet i Analytica EBC (2010) og Q-doc 2206. Instrumentet er designet av Haffman.

Standard omgivelsestemperatur var satt til $20 \pm 0,5$ °C. Haffmans NIBEM skumholdbarhetstest målte tiden (i sekunder) på skumkollaps over en distanse på 30 mm. Øl ble åpnet med instrumentet Impack 2000 flaskeåpner. Et standard NIBEMglass (innside diameter: 60mm, innside høyde: 120mm) ble fylt helt opp med skum ved at et gasstrykk på 2,0 bar presset prøven gjennom en Impack 2000 Sampler Device slange. Det ble dannet uniforme og små bobler. Etter at glasset var fylt opp med skum ble det umiddelbart plassert i NIBEM-instrumentet for å starte analysen. NIBEM målte automatisk degraderingen av skummet. En plate med tre elektroder ble senket ned til kontakt med skumoverflaten og fulgte degraderingen av skummet. Når skum kollapset, forsvant kontakten mellom elektrodene og ga signal på å senkes ytterligere for å gjenoppta kontakt (kontinuerlig), helt til den nådde væskens overflate. Målingen startet direkte etter 10mm under kanten av standardglasset, for å minimere variasjonen av de første skumsammenfallene. Skumkollapstid (distanse 30 mm) ble uttrykt i sekunder og lest av i vinduet (Ringnes, 2012h).

EBC Analysis Committee gjennomførte i 2002 et samarbeidsforsøk der 11 laboratorier analyserte ølprøver på 5 nivåer i området 160 til 310 s. Presisjonsverdiene for skumholdbarhet i ferdigvare ble bestemt fra disse verdiene, som er r_{95} (s) 11,2 og R_{95} (s) 22,2 (EBC, 2010).

3.9.2 Hellemetode for måling av skumholdbarhet

I dette forsøket ble det benyttet en hellemetode. Dette var for å se på skumdannelse ved naturlig overføring fra ølflaske til glass, og sammenlikne mot NIBEM. Hellemetoden er antatt å gi en mer riktig analyse av reel skumholdbarhet i et ølglass. Bilder fra metoden er vist i Figur 3.1.

Ølet som ble benyttet til denne metoden var lagret ved temperatur på 10 °C. Hellemetoden ble utført ved at ølhalsen pekte nære glasskanten, for så å sikte væsken mot midten av glassets bunnflate. Videre skulle man helle øl i glasset helt til det skummet over glasskanten. Glasset rommet 0,5l.

Når ølet var tømt over i glasset, ventet jeg 3-4 sekunder, før stoppeklokken ble satt i gang. Dette for at boblene skulle få stabilisert seg. Så ble skummets høyde målt med en linjal. Tiden ble stoppet da ølvæsken kunne skimtes i overflate av skummet.

Hellemetoden er etter inspirasjon fra Evans et al. (Evans et al., 2012).



Figur 3.1 Bilder fra hellemetode. a) Glasset benyttet b) Hellestart c) Helleslutt d) Måling av skummets høyde e) Skummets overflate ved slutt f) Visuell måling av gardiner i glasset

3.10 Sensoriske tester

Det ble gjennomført sensorisk kvalitetskontroll og en triangeltest på ferdigvare tilsatt Alpha Foam og Tetra, samt en ferdigvare uten tilsetning. Dette for å avdekke hvilke eventuelle smaksfeil som ble observert og for å bestemme om det var signifikante forskjeller mellom de enkelte ferdigvarene. Prøvene ble servert i glass med et volum på 50-100 ml. Romtemperert vann til munnskylling og smaksnøytrale kjeks var tilgjengelig under de to sensoriske testene. Ølet var temperert til 10 °C før analysen, som er standardtemperatur for sensoriske ølprøver ved Ringnes Bryggeri. Sensoriske tester ble utført av Ringnes Bryggeri sitt sensoriske ekspertpanel.

3.10.1 Triangeltest

Triangeltest ble brukt for å avdekke eventuelle forskjeller mellom ferdigvarene. Hensikten var å se om tilsetningen av humleekstraktene ga utslag på enkelte smaksegenskaper. Panelet fikk utdelt 3 prøver, hvorav to var identiske og én var forskjellig fra de to. De skulle finne den avvikende prøven, uten at det ble utgitt informasjon om forskjellen. Prøvene ble servert samtidig og smakt på i gitt rekkefølge som panelleder ga beskjed om. For hver triangeltest var det 6 ulike serveringsrekkefølger. Dommerne fylte ut et skjema etter endt testing (Ringnes, 2012e).

Det ble utført tre triangeltester med kombinasjonene Alpha Foam – Carlsberg, Tetra – Carlsberg og Alpha Foam - Tetra.

Følgende nullhypoteser ble satt opp:

og testet mot alternativene:

H_0 : Carlsberg uten = Alpha Foam

H_0 : Carlsberg uten \neq Alpha Foam

H_0 : Tetra = Alpha Foam

H_0 : Tetra \neq Alpha Foam

H_0 : Carlsberg uten = Tetra

H_0 : Carlsberg uten \neq Tetra

Dommerne krysset av i et skjema for den prøven de mente var mest avvikende. Svarene ble summert og sammenliknet med en tabell som viste antall korrekte identifikasjoner som var \geq det tallet oppgitt i tabellen under angitt signifikansnivå. Vanlig signifikansnivå er på 5 %. Tabellen viste at dersom 9 dommere deltok måtte 6 svare riktig (Ringnes, 2012e). Vedlegg 5 viser svarskjema og tabell til triangeltesten.

3.10.2 Sensorisk kvalitetskontroll

Kvalitetskontrolltest brukes til kvalitetskontroll av ferdigvare. Test av ferdigvarenes sensoriske kvaliteter ble utført av 9 dommere fra Ringnes sitt sensoriske ekspertpanel. Testen hadde i hensikt å beskrive eventuelle forskjeller som var tilstede i produktene, og få en helhetsvurdering av bittersmak (Ringnes, 2012g).

Paneldommerne kjenner til de ulike ølsortenes korrekte lukt og smak. Det ble informert om på forhånd at det var Carlsberg Pils som skulle bedømmes og de brukte dermed sin kunnskap om denne ølen som en «memory standard» under alle bedømmelsene. «Memory standard» tilsvarer referanse på hvordan en Carlsberg Pils skal lukte og smake (Ringnes, 2012g).

De tre prøvene av Carlsberg Pils var kodet med batchnummer. Paneldommerne smakte på et øl av gangen i den oppsatte rekkefølgen. Dommerne vurderte hvor godt de likte ølprøvene på en skala fra 1-9, der 9 er «svært god» og 1 er «udrikkelig». I tillegg ble ølprøvene vektet ut i fra ulike sensoriske offtaster. For eksempel ble et øl gitt karakter 7 «god», og vektet 1 på offtaste «vannete». Ølkarakterer fra 6 og opp til 9 var innenfor tilfredsstillende kvalitet og kunne ikke vektes mer enn 2 i offtaste. En fullstendig oversikt over analyseskjemaet benyttet i analysen finnes i Vedlegg 4.

3.11 Brewing Analytes Proficiency Testing Scheme

Brewing Analytes Proficiency Testing Scheme (BAPS) er en stor tredjeparts ringanalyse. BAPS sender annenhver måned ut like ølprøver til rundt 70 bryggerier rundt i verden, og bryggeriene foretar analyser av de samme prøvene. Det primære målet for BAPS er å overvåke en rekke analyser, for å undersøke bryggerilaboratoriene sin egen kvalitet på analysen. Resultatene utgir hvor bra analysene gjennomføres. I tillegg vil BAPS få informasjon om effekten av metodene benyttet og hjelpe til i utviklingen av nye metoder (T. Hage, personlig kommunikasjon, 2013).

Tabell 3.5 Resultater fra BAPSrundene; 224, 226, 228 og 230.

Runde	Lab ID	Sted	Metode	Mean value	Resultat (sec.)	z-score
224	BA0386	Ringnes Gjelleråsen	NIBEM 30mm	250	238	-1,00
226	BA0386	Ringnes Gjelleråsen	NIBEM 30mm	255	217	-2,11
228	BA0386	Ringnes Gjelleråsen	NIBEM 30mm	271	270	-0,06
230	BA0386	Ringnes Gjelleråsen	NIBEM 30mm	260	274	0,06

Tabell 3.5 viser resultater fra Ringnes Bryggeri på Gjelleråsen og z-score fra analyse av skumholdbarhet. Z-score regner ut standardavvik for de ulike analysene gjennomført, der $z \leq 2,00$ er akseptable resultater, $2,00 < z < 3,00$ er usikre resultater og $z \geq 3,00$ er uakseptable resultater. BAPS runde 226 viste et dårlig resultat, mens de to siste rundene 228 og 230 viste gode resultater. BAPS Scheme kjemirapport inneholder resultater fra de ulike analysene. Alle ensartede vurderinger er gjennomført i samsvar med prinsippene fastsatt i ISO 13528 og IUPAC Harmonized PT Protocol (BAPS, 2013).

4 Resultater

4.1 Prøveforsøket

Den ble først gjennomført et prøveforsøk i småskala;

Forsøk med tilsetning av de skumstabiliserende humleekstraktene:
redusert isomerisert Tetra, og ikke isomerisert Alpha Foam.

Alpha Foam: 4 ppm av 20 % konsentrasjon. $4 \text{ mg/l} \times 0,3 \text{ l} = 1,2 \text{ mg}$
 $1,2 \text{ mg} \times 5 = \underline{6\mu\text{l}}$

Tetra: 2 ppm av 10 % konsentrasjon. $2 \text{ mg/l} \times 0,3 \text{ l} = 0,6 \text{ mg}$
 $0,6 \times 10 = \underline{6\mu\text{l}}$.

Det ble tilsatt 6 μl av Alpha Foam- og Tetraløsning per 0,3 l flaske for begge humleekstraktene.

Det ble brukt to ulike analyser for måling av skumholdbarhet; NIBEM og måling av skumholdbarhet ved bruk av en spesifikk hellemetode. Disse er nærmere beskrevet i Kapittel 3.9.1 og 3.9.2. Gjennomsnittet av resultatene fra første prøveforsøk er vist i Tabell 4.1.

Tabell 4.1 Resultater fra første prøveforsøk.

Øltype	Tilsetning	NIBEM (sec.)	Hellemetode (sec.)	Gardiner i glasset
Carlsberg pils	Alpha Foam	270	330	God
	uten	256	450	God
	Tetra	283	480	Svært god

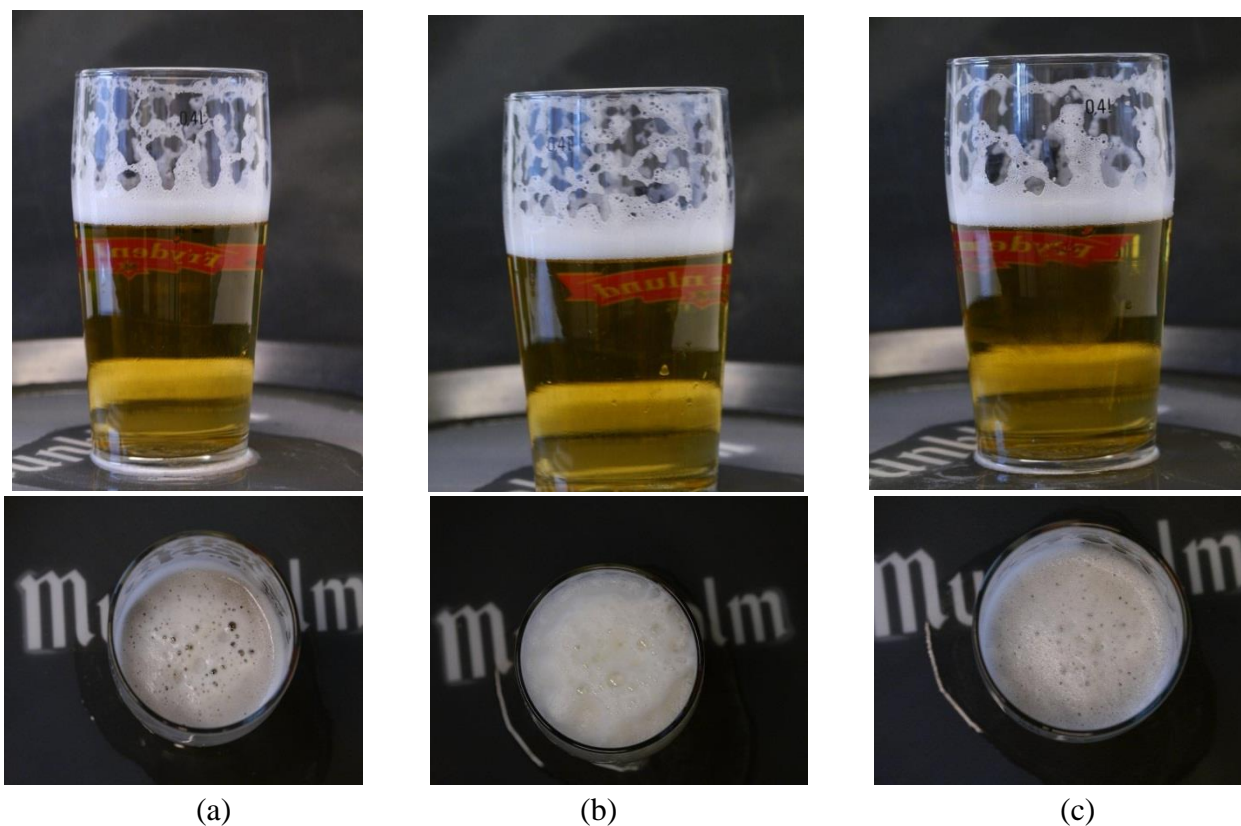
Ved første prøveforsøk ble det registrert at Alpha Foam hadde større sprekker i gardinene og varierende skumholdbarhetsresultater, både på NIBEM og hellemetode. Alpha Foams NIBEM-målinger viste lavest og høyest tid på henholdsvis 252s og 283s. Resultatene tydet på dårlig innblanding av Alpha Foam. Det var tydelig at Tetra hadde en effekt på skumholdbarhet og gardiner. En gjentakning av forsøket med bedre blanding ble gjennomført. Gjennomsnittet av resultatene fra andre prøveforsøk er vist i Tabell 4.2

Tabell 4.1 Resultater fra andre prøveforsøk.

Øltype	Tilsetning	NIBEM (sec.)	Hellemetode (sec.)	Gardiner i glasset
Carlsberg pils	Alpha Foam	266	520	God
	uten	259	360	God
	Tetra	285	500	Svært god

Ved prøveforsøk to ble flaskene ristet bedre etter tilsetning. Ølet tilsatt Alpha Foam hadde gardiner festet opptil toppen av glasset, og viste en mindre variasjon med NIBEM-målingene og hellemetode. Tetra hadde fortsatt god effekt på skumholdbarhet og gardiner, og hadde svært små skummålingsvariasjoner.

I henhold til hellemetode, ble det ventet 3-4 sekunders før tidtakingen startet. Skumlaget var da cirka $8\text{ cm} \pm 0,3$ for alle testene.



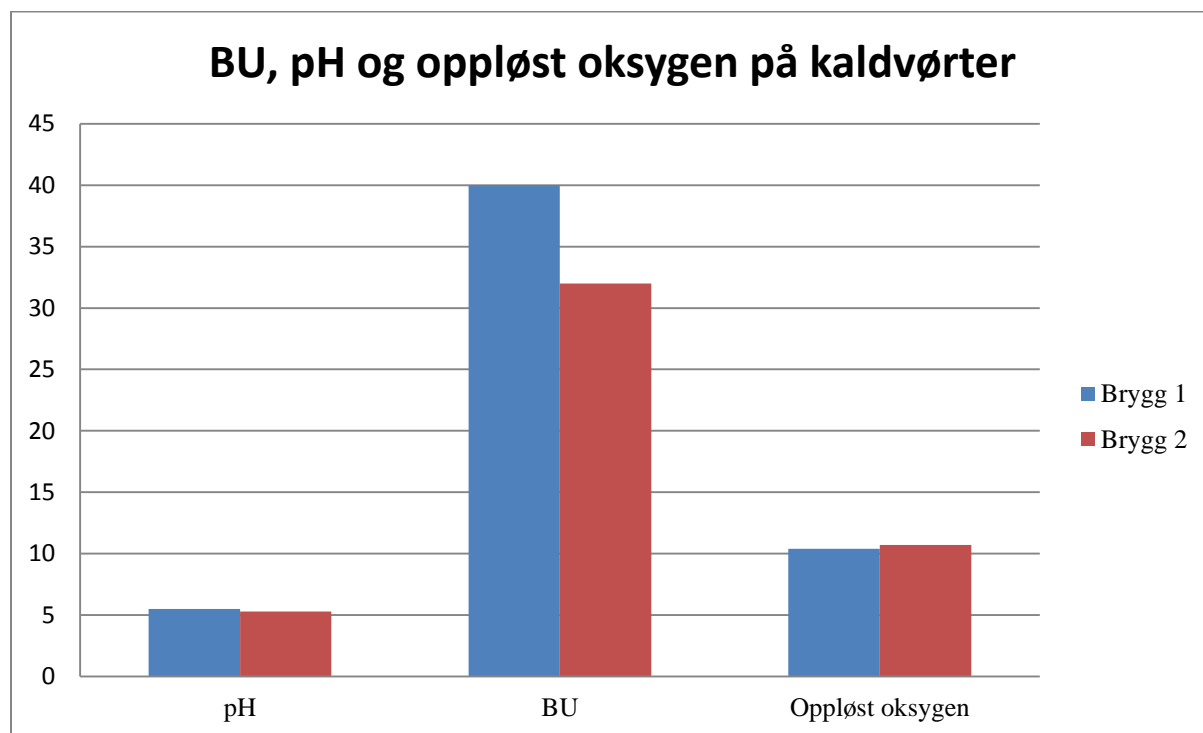
Figur 4.1 De tre øverste bildene viser gardindannelse i glasset under hellemetoden, mens de tre nederste bildene viser skumtopp etter endt helling. Ferdigvare tilsatt Alpha Foam, Tetra og uten tilsetning vises henholdsvis som (a), (b) og (c).

4.2 Brygging i fullskala

4.2.1 Analyser på kaldvørter

Det ble brygget to brygg, der ett brygg skulle tilsettes Alpha Foam og et annet brygg skulle tilsettes Tetra. De to bryggenes BU, pH og oppløst oksygen (ppb) ble målt på kaldvørter.

Resultatene fra analysene vises i Figur 4.2.



Figur 4.2 pH, BU og oppløst oksygen (ppb) på kaldvørterprøvene fra brygg 1 som skulle tilsettes Alpha Foam og brygg 2 som skulle tilsettes Tetra.

Figur 4.2 viser at pH og innhold av oppløst oksygen (ppb) var svært likt for de to bryggene på kaldvørter. Brygg 2 skiller seg ut ved å ha en mye lavere BU. BU i brygg 1 lå på 40, mens brygg 2 hadde en BU på 32.

4.2.2 Analyser på gjæringstank

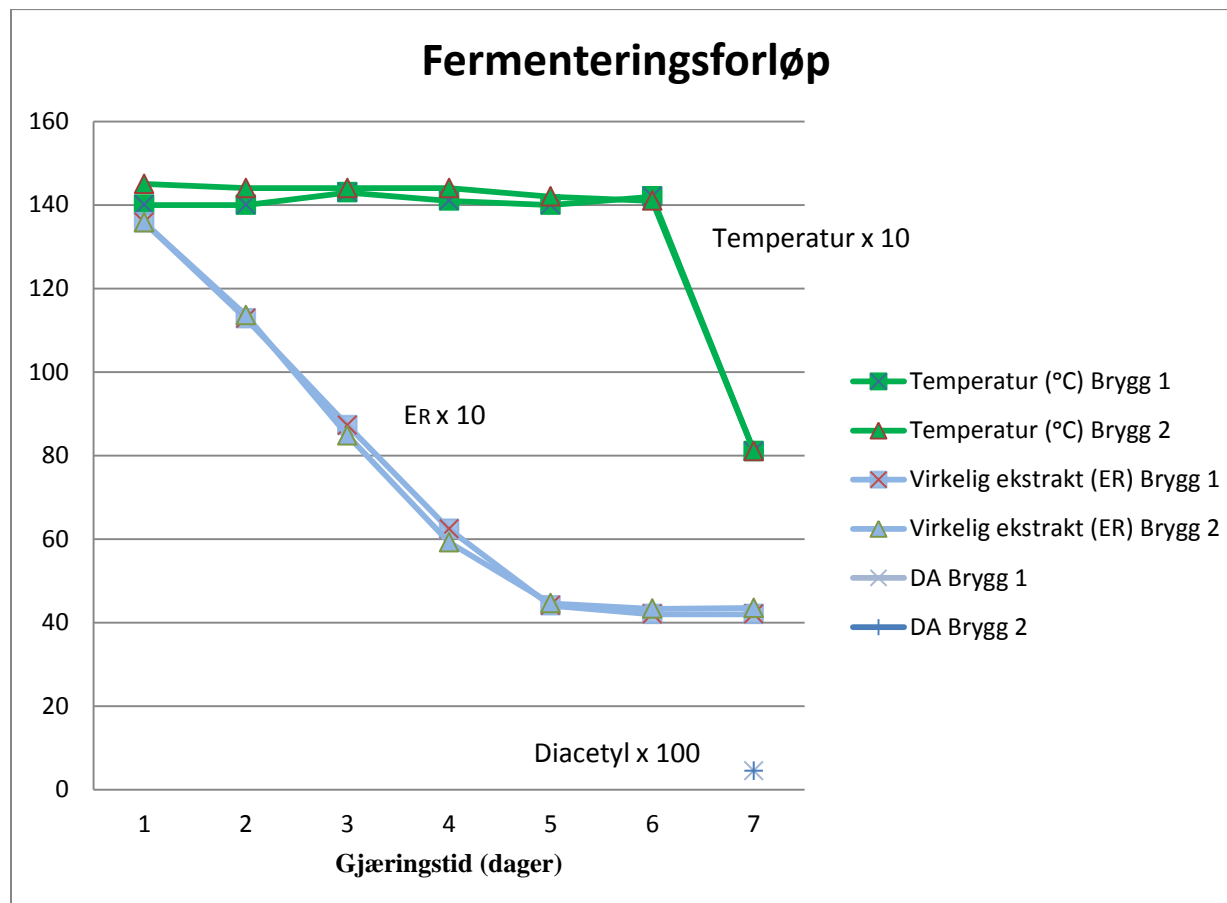
Gjærmengde som skulle vedsettes ble regnet ut i fra konsentrasjon på det som ble høstet, gjærmengde (kg), celletall (10^6 /ml) og volum i bryggtanken.

Eksempelet i likningen nedenunder viser hvor mye gjær som ble vedsatt i brygg 2.

$$\frac{12\ 000}{125\ 660\ l} = 0,096 \rightarrow 9,6\ \text{ml} / l. \quad \frac{9,6 \times 1140 \times 10^6}{1000} = 12 \times 10^6 / \text{ml} \ (\times 0,90) = \underline{10,8\ \text{millioner celler per ml.}}$$

Tallene for å regne ut hvor mye gjærmengde som skulle vedsettes er hentet fra Tabell 3.1

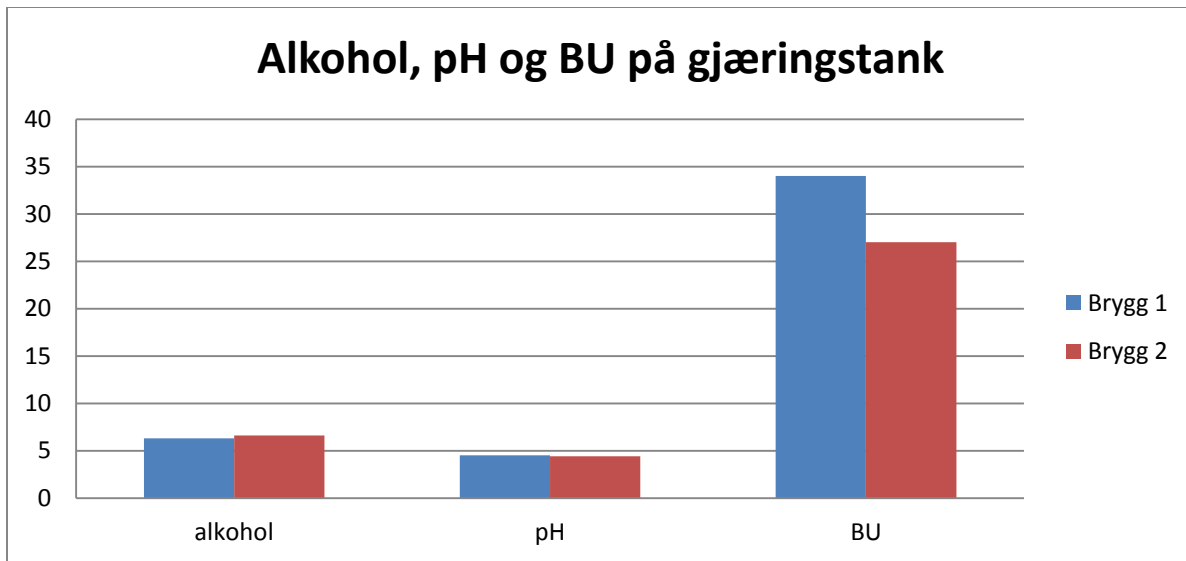
De to bryggenes temperatur- og ekstraktforløp ble analysert daglig under gjæringen. Resultatene vises i Figur 4.3. Verdiene temperatur og virkelig ekstrakt er multiplisert med 10, mens diacetylverdien er multiplisert med 100. Dette ble gjort for å få et mer oversiktlig diagram.



Figur 4.3 Bryggenes innhold av virkelig ekstrakt (x 10) og temperatur (°C x 10) dag for dag under gjæringen. Kaldvørteren vises ved dag 1 og diacetyl (ppm x 100) ved endt gjæringsdag.

Resultatene fra gjæringsforløpet viser at det var lite variasjoner i temperaturforløpet til de to bryggenes. Virkelig ekstrakt var også svært likt under gjæringsforløpet. Innhold av diacetyl var helt identisk og indikatormerkene til Alpha Foam og Tetra vises derfor som én i Figur 4.3.

Det gjærende ølet ble også analysert for alkoholinnhold, pH og BU. Resultatene er vist i Figur 4.4.

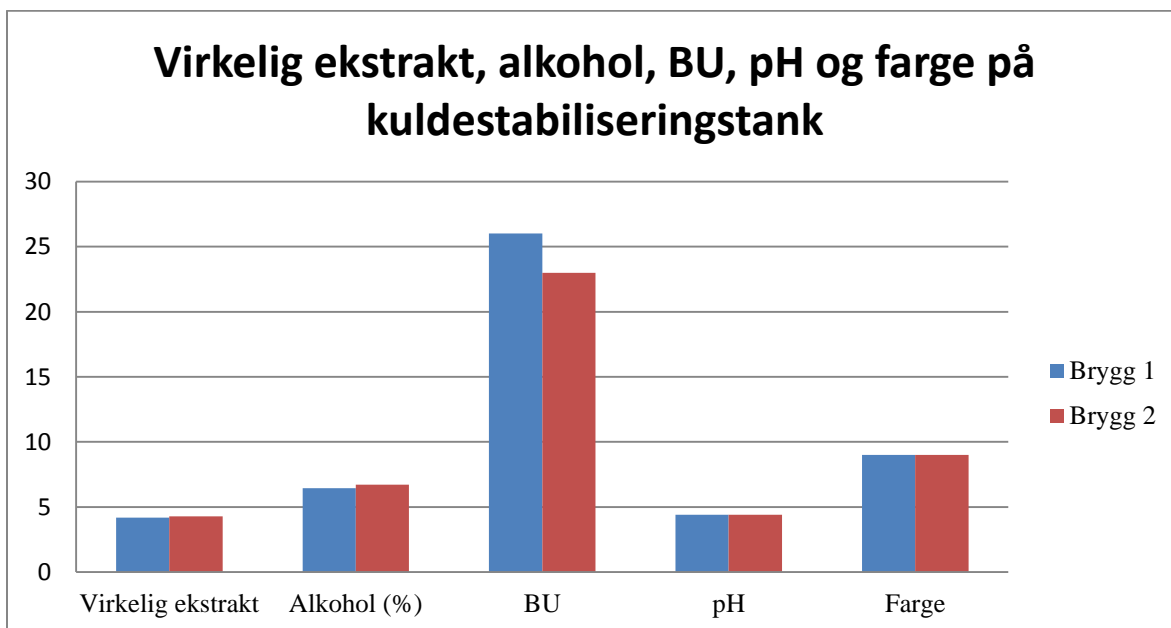


Figur 4.4 Alkoholinnhold (%), pH og BU for brygg 1 og 2 på gjæringstank.

Figuren viser at brygg 1 hadde høyest BU-verdi på 34 BU, mens brygg 2 hadde en BU på 27. Begge bryggene hadde tilsynelatende likt alkoholinnhold og en lik pH etter endt fermentering.

4.2.3 Analyser på øl lagret på kuldestabiliseringstank

Da bryggene var på kuldestabiliseringstank ble de analysert for innhold av virkelig ekstrakt, alkoholinnhold, BU, pH og farge. Resultatene fra analysene vises i Figur 4.5.



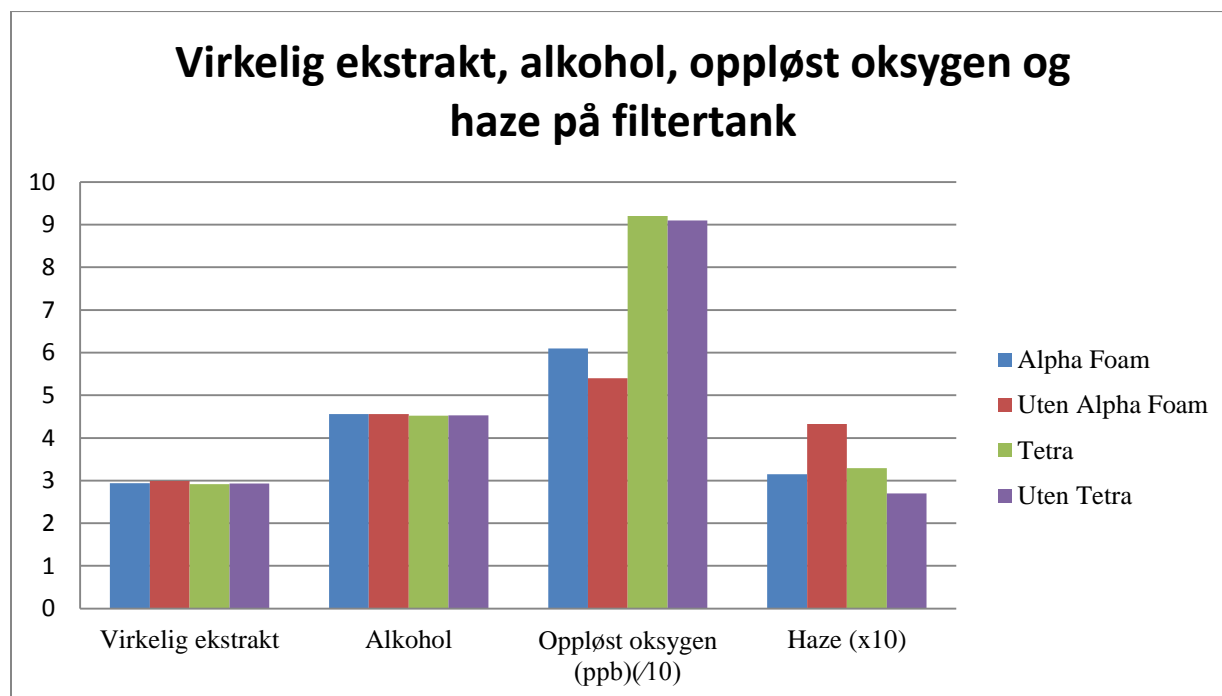
Figur 4.5 Virkelig ekstrakt (% P), alkoholinnhold (%), BU, pH og farge (EBC) for brygg 1 og brygg 2 på kuldestabiliseringstank.

Resultatene i Figur 4.5 viser at virkelig ekstrakt, alkoholinnhold, pH og farge var tilnærmet likt for de to bryggene på kuldestabiliseringstank. Brygg 2 som skulle tilsettes Tetra etter filter hadde en lavere BU, på henholdsvis 23. Høyest BU ble målt i brygg 1 på 26 BU.

Rådata som ble brukt til å lage figurer til analyser på kaldvørter, gjæringstank og kuldestabiliseringstank foreligger som Vedlegg 1.

4.2.4 Analyser på filtertank (BBT)

Virkelig ekstrakt, alkoholinnhold, pH, innhold av oppløst oksygen (DO) og haze ble analysert i alle filtertankene. Verdien oppløst oksygen ble dividert på 100, mens verdien haze ble multiplisert med 10, for å få et mer oversiktlig diagram med alle de ulike verdiene. Resultatene fra dette vises i Figur 4.6.



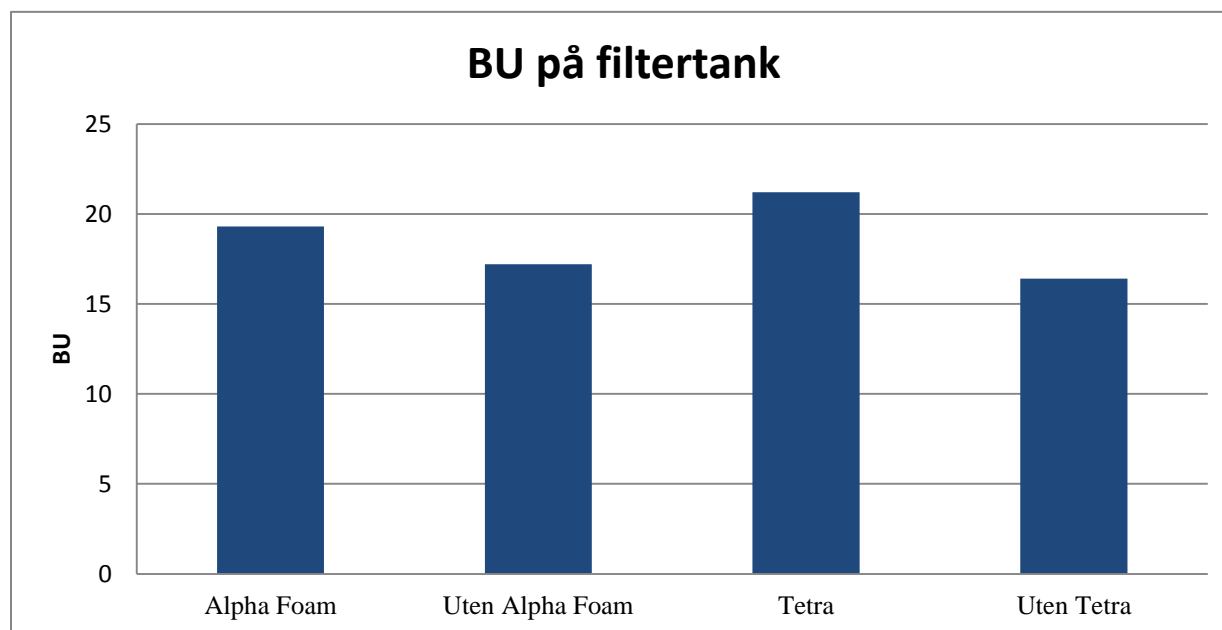
Figur 4.6 Virkelig ekstrakt (% P), alkoholinnhold (%), oppløst oksygen (/10) og haze (x10) for brygg 1 med og uten Alpha Foam, og for brygg 2 med og uten tetra på filtertank.

Resultatene i Figur 4.6 viser at virkelig ekstrakt og alkoholinnholdet var tilnærmet likt for de 4 prøvene på filtertank. Haze varierte for de ulike filtertankene, der lavest haze ble målt i filtertank uten tilsetning av Tetra. Høyest haze ble målt i filtertank uten tilsetning av Alpha Foam.

Bryggene med og uten tilsetning av Tetra hadde høyere DO-verdier på filtertank sammenliknet med de to andre bryggene. Filtertank uten tilsetning av Alpha Foam hadde lavest DO-verdi.

BU i prøvene på filtertank ble analysert spektrofotometrisk. Ferdigvare tilsatt Tetra ble medregnet bitterhet fra humleekstraktet, og utregningen er vist nedenunder:

$18 (275\text{nm}) + 1,85 \text{ kg} \times 1,7 = \underline{21,2}$. Resultatene vises i Figur 4.7.

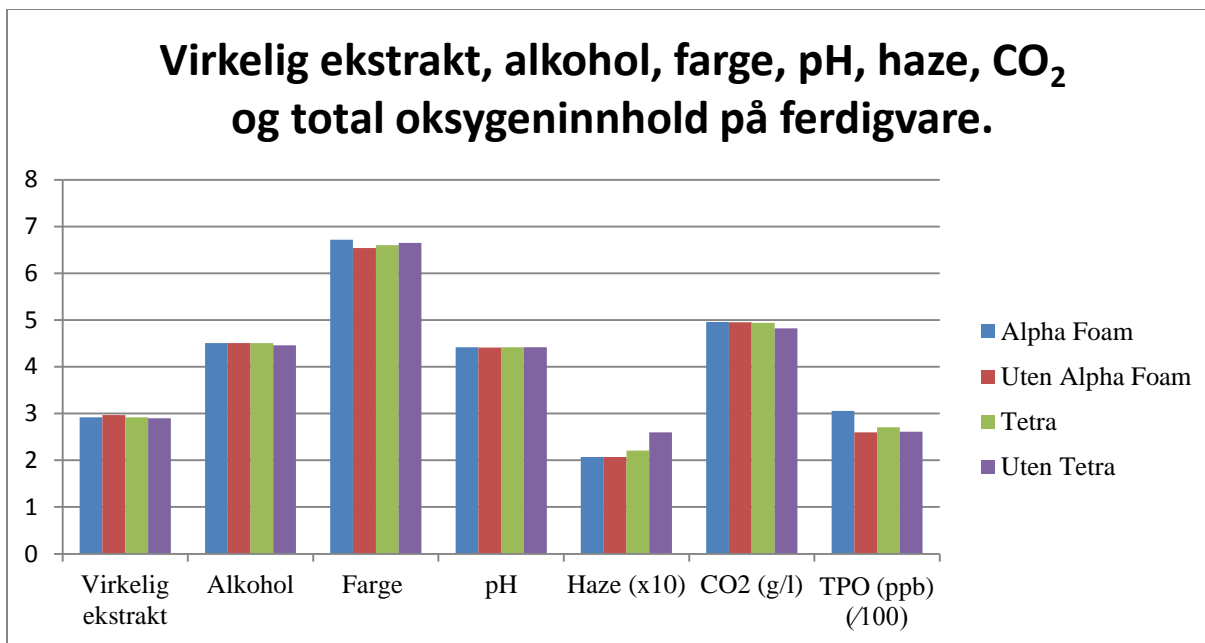


Figur 4.7 BU for alle bryggene på filtertank.

Figur 4.7 viser at det var stor forskjell i BU fra den spektrofotometriske målingen. Brygget som var tilsatt Tetra hadde klart høyest BU-verdi på 21,2. Lavest BU ble målt i brygget uten tilsetning av Tetra på 16,4. Brygget med og uten tilsetning av Alpha Foam lå nærmest BU-spesifikasjonen til Carlsberg Pils, med en BU på henholdsvis 19,3 og 17,2.

4.2.5 Analyser av ferdigvarer

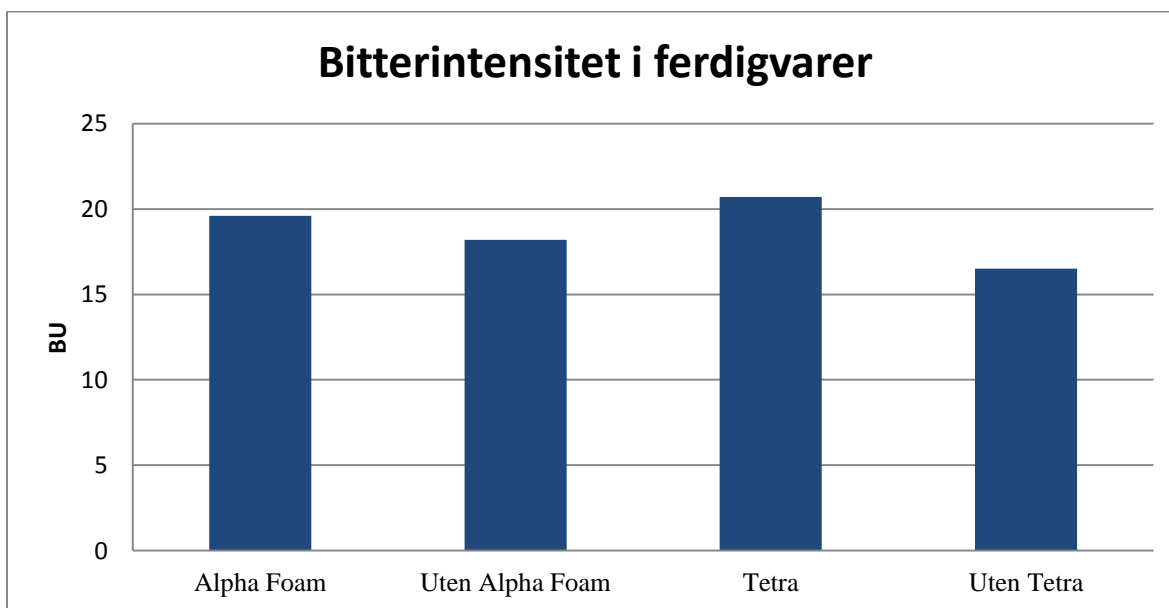
Virkelig ekstrakt, alkoholinnhold, pH, farge, CO₂-innhold og total oksygeninnhold (ppb) ble målt i ferdigvarene. Verdien haze ble multiplisert med 10, mens verdien total oksygeninnhold (TPO) ble dividert på 100 for å få et oversiktlig diagram med de ulike resultatene. Resultatene fra analysen vises i Figur 4.8.



Figur 4.8 Virkelig ekstrakt, alkoholinhold, farge, pH, haze (x10), CO₂-innhold, og TPO i ferdigvarene.

Figur 4.8 viser at verdiene virkelig ekstrakt, alkohol, farge, pH og CO₂-innholdet var svært like for de 4 ferdigvarene. Haze hadde små variasjoner, der ferdigvare uten tilsetning av Tetra hadde høyest hazeverdi. Brygget med Alpha Foam skilte seg ut ved å ha en noe høyere TPO-verdi.

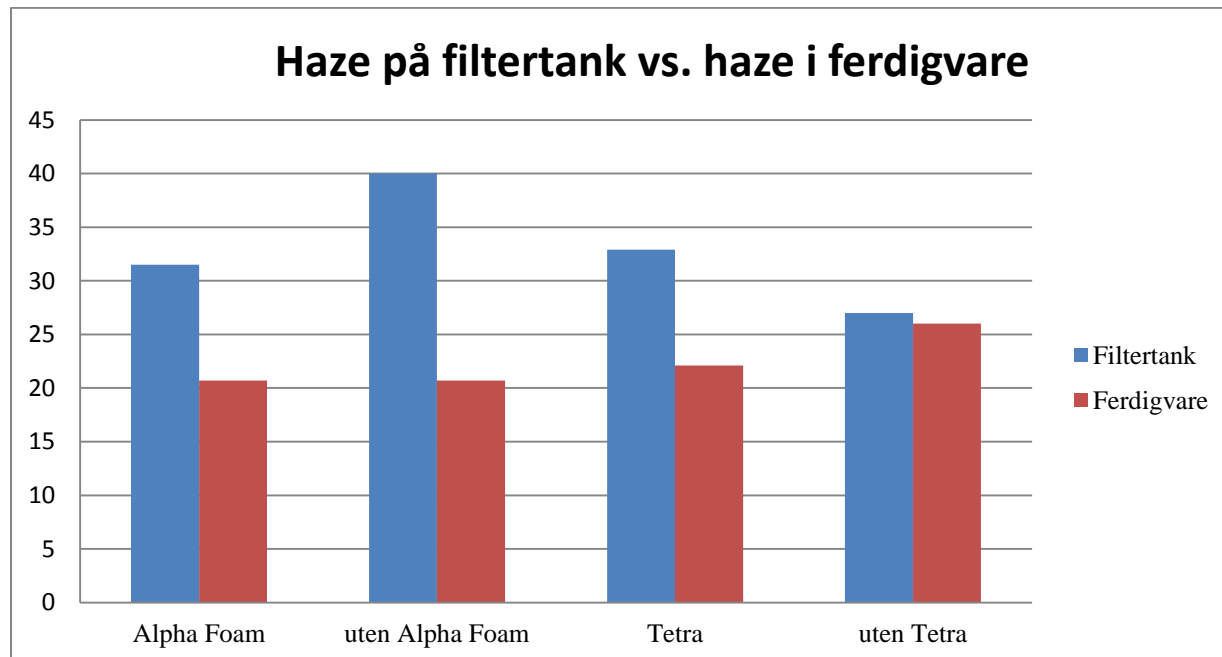
Figur 4.9 viser resultatene av BU i ferdigvarene, analysert spektrofotometrisk.



Figur 4.9 BU i Carlsberg Pils med og uten tilsetning av humleekstraktene Alpha Foam og Tetra.

Resultatene fra de spektrofometriske analysene av BU i ferdigvarer viser at Carlsberg tilsatt Tetra hadde høyest BU. Lavest BU ble målt i brygget uten tilsetning av Tetra.

Haze i ferdigvarene ble målt med Sigrist Process-Photometer. Figur 4.10 viser haze i bryggene på filtertank sammenliknet med haze i ferdigvare. Verdiene er multiplisert med 100 for å få et mer oversiktlig bilde.

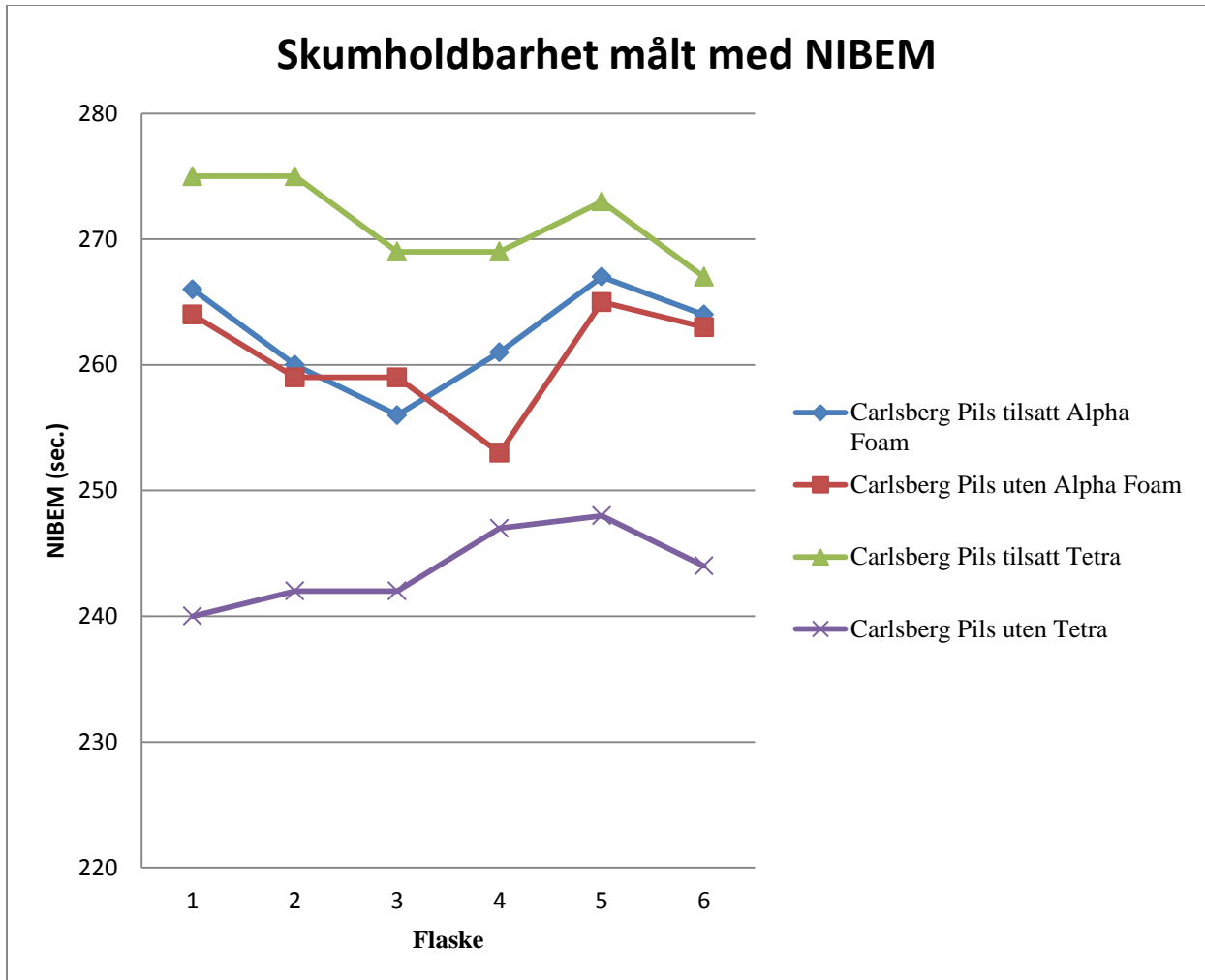


Figur 4.10 Haze (x 100) i Carlsberg Pils med Alpha Foam og uten Alpha Foam, Tetra og uten Tetra.

Figur 4.10 viser både haze fra ølprøve tatt fra filtertank og haze på ferdigvarene, og illustrerer nedgang i haze for hvert brygg. Alle ferdigvarene hadde lavere hazeresultater på ferdigvare. Ferdigvare uten Alpha Foam hadde størst nedgang i haze, mens ferdigvare uten Tetra hadde lavest nedgang. Carlsberg Pils med og uten tilsetning av Alpha Foam hadde de laveste hazeresultatene på ferdigvare, men forskjellene for alle ferdigvarene var små.

4.3 Måling av skumholdbarhet på ferdigvarene

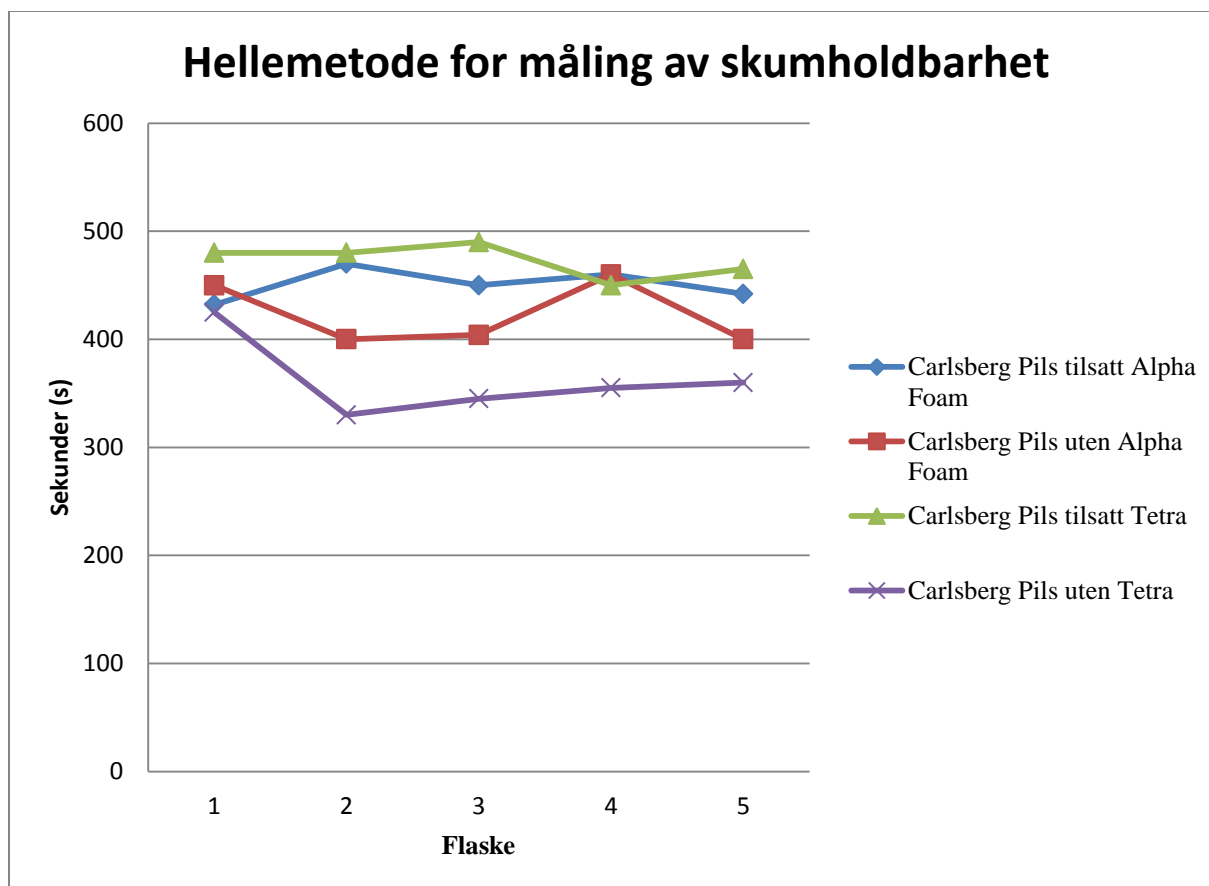
For å teste skumholdbarhet i ferdigvarene ble NIBEM skummåler og hellemetode benyttet. Resultatene fra analysene vises i Figur 4.11 og Figur 4.12.



Figur 4.11 Skumholdbarhet i ferdigvare analysert ved bruk av NIBEM skummåler.

Figur 4.11 indikerer at det var store forskjeller på skumholdbarhet mellom de ulike ferdigvarene. Carlsberg Pils uten tilsetning av Tetra kom dårligst ut ved alle målingene, mens Carlsberg tilsatt Tetra hadde gjennomgående de beste resultatene. Med og uten tilsetning av Alpha Foam viste varierende resultater, men Carlsberg Pils tilsatt Alpha Foam hadde noe sterkere skumholdbarhetsverdier.

Videre ble det brukt en hellemetode for måling av skumholdbarhet. Resultatene er vist i Figur 4.12.



Figur 4.12 Skumholdbarhet i ferdigvare med hellemetoden.

Resultatene vist i Figur 4.12 fra hellemetoden brukt for måling av skumholdbarhet indikerer store variasjoner, med uklare tendenser. Carlsberg uten Tetra hadde gjennomgående den laveste målingen, mens Carlsberg tilsatt Tetra har i gjennomsnitt den høyest målingen av de fire ferdigvarene. Uten tilsetning av Alpha Foam har to lengre skumholdbarhetstider, men tidene varierer uten klar tendens. Carlsberg tilsatt Alpha Foam viser en variabel kurve.

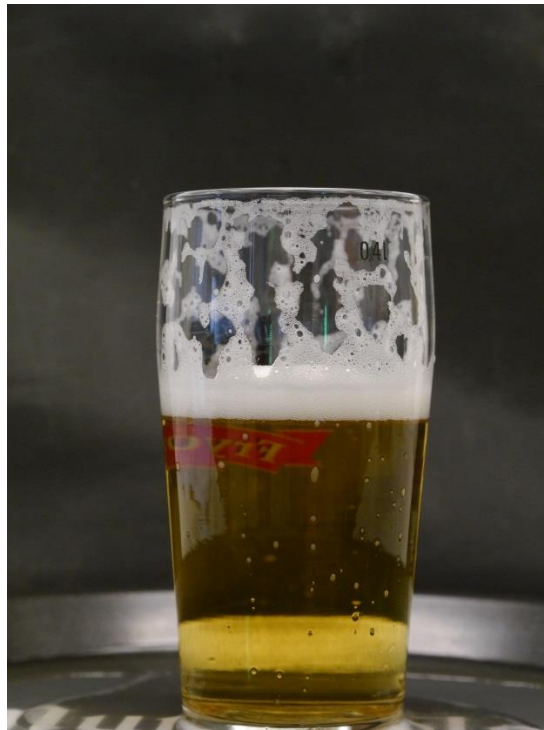
Under hellemetoden ble det også observert gardinmønster i glasset. Carlsberg Pils tilsatt Tetra hadde den tettete gardinformasjonen. De resterende prøvene hadde hengende gardiner, med svært store sprik.

Rådata som ble brukt til å lage figurer til analyser på filtertank og av ferdigvarer foreligger som Vedlegg 2.

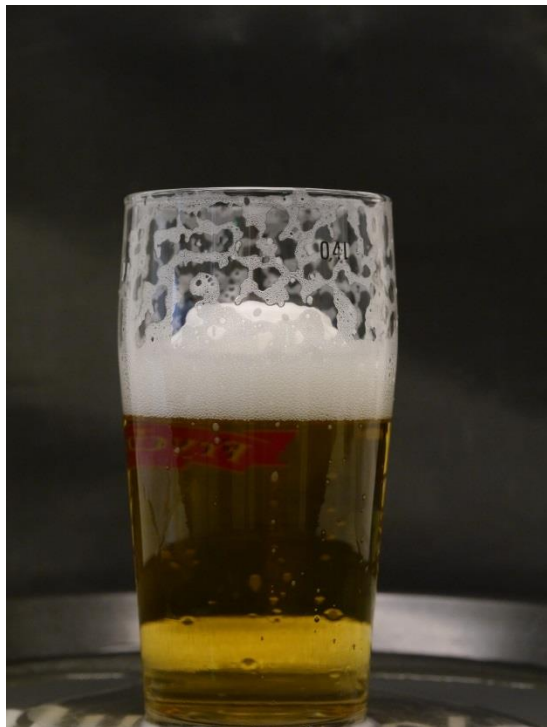
Gardinresultatene fra forsøket er vist i Figur 4.13.



(a)



(b)



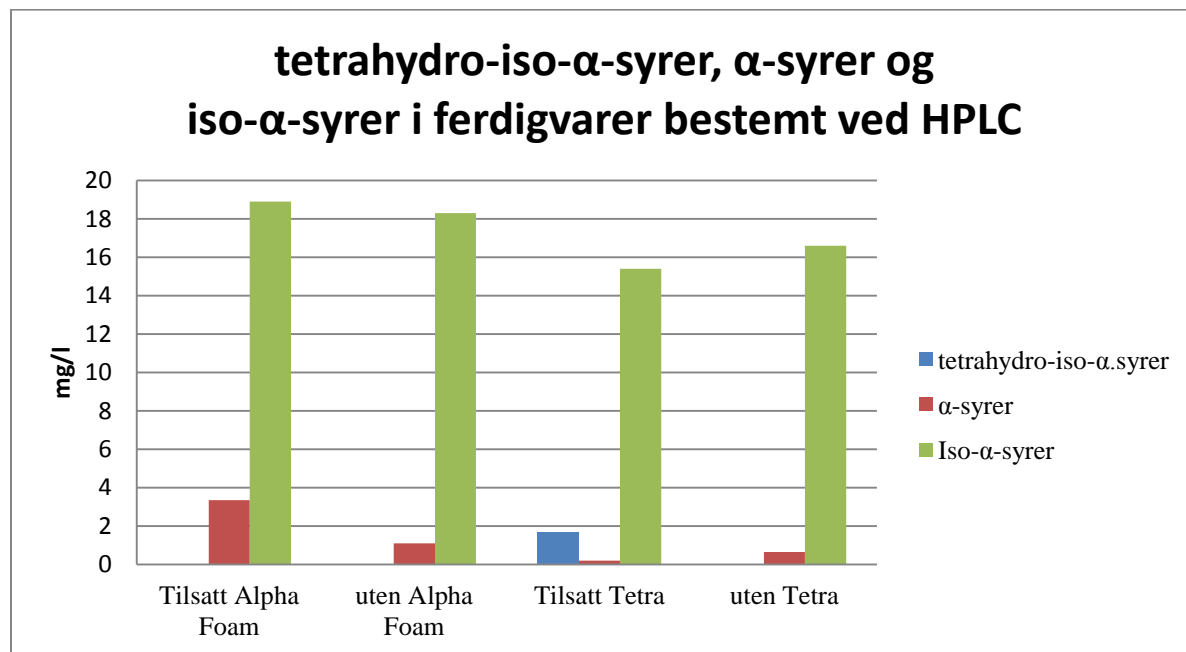
(c)

Figur 4.13 Gardiner i glasset: (a) Uten tilsetning, (b) Alpha Foam (c) Tetra

Ut i fra Figur 4.13 kan man se at Tetra lagde det tettteste gardinmønsteret i glasset. Ferdigvare med og uten tilsetning av Alpha Foam hadde større sprik og mer hengende gardiner.

4.4 HPLC

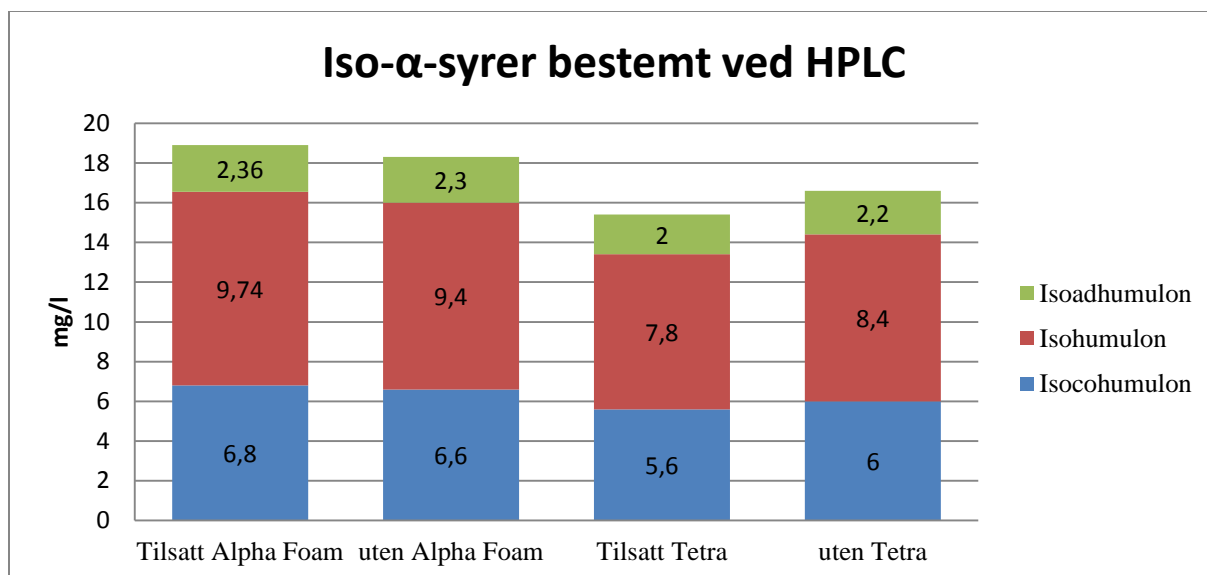
Ferdigvarer ble sendt til Carlsberg sentrallab i Strasbourg i Frankrike. Det ble utført HPLC analyser av alle ølprøvene. Innholdet og nivået av tetrahydro-iso- α -syrene, α -syrene og iso- α -syrene er vist i Figur 4.14.



Figur 4.14 Totalinnholdet av tetrahydro-iso- α -syrer, α -syrer og iso- α -syrer i ferdigvarene.

Figur 4.14 viser at alle ferdigvarene hadde et lite innhold av α -syrer. Totalinnholdet av α -syrer og iso- α -syrer var høyest i ferdigvaren tilsatt Alpha Foam. Lavest innhold av α -syrer og iso- α -syrer var i ferdigvaren tilsatt Tetra. Ferdigvaren tilsatt Tetra hadde til gjengjeld høyest innhold av tetrahydro-iso- α -syrer. Ferdigvarene med og uten tilsetning av Alpha Foam og uten tilsetning av Tetra hadde ikke noe innhold av tetrahydro-iso- α -syrer.

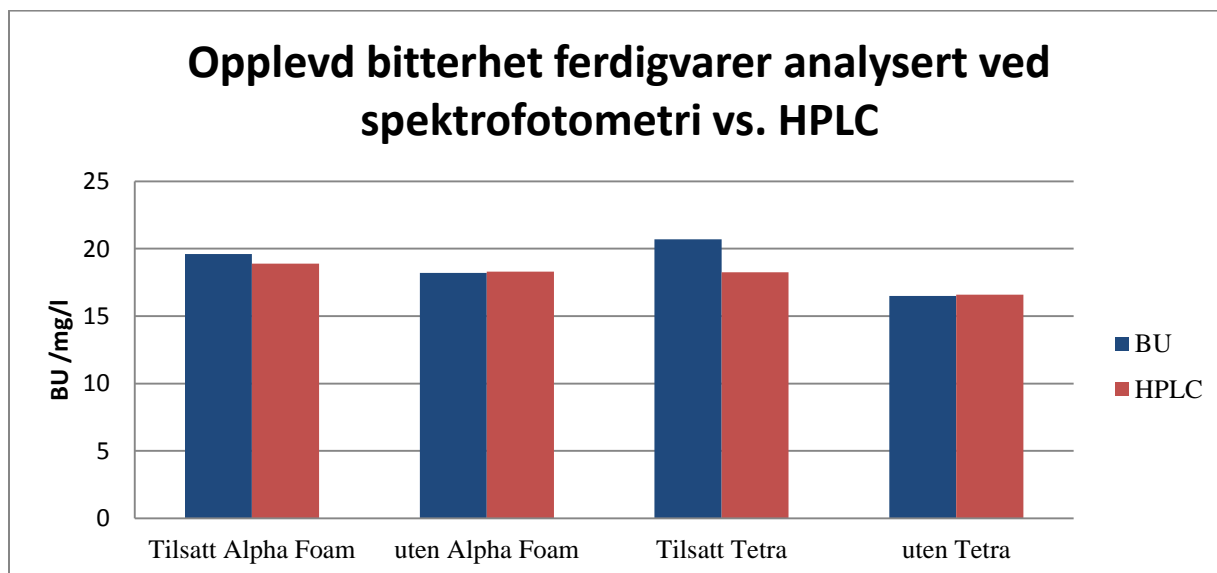
HPLC-analysen målte innholdet av de enkelte iso- α -syrene i ferdigvarene, og resultatene er vist i Figur 4.15.



Figur 4.15 Det totale innholdet og de enkelte homogene av iso- α -syrer (mg/l) i ferdigvarene, bestemt ved HPLC.

Figuren viser at ferdigvare tilsatt Alpha Foam hadde høyest innhold av alle de ulike homogene av iso- α -syrene. Det var høyest innhold av isohumulon og lavest innhold av isoadhumulon i alle ferdigvarene.

Carlsberg sentrallab utførte analyse av opplevd BU i ferdigvarene ved bruk av HPLC (kromatografisk metode). Resultatene fra spektrofotometrisk analysemetode og HPLC-analyse er vist i Figur 4.16.



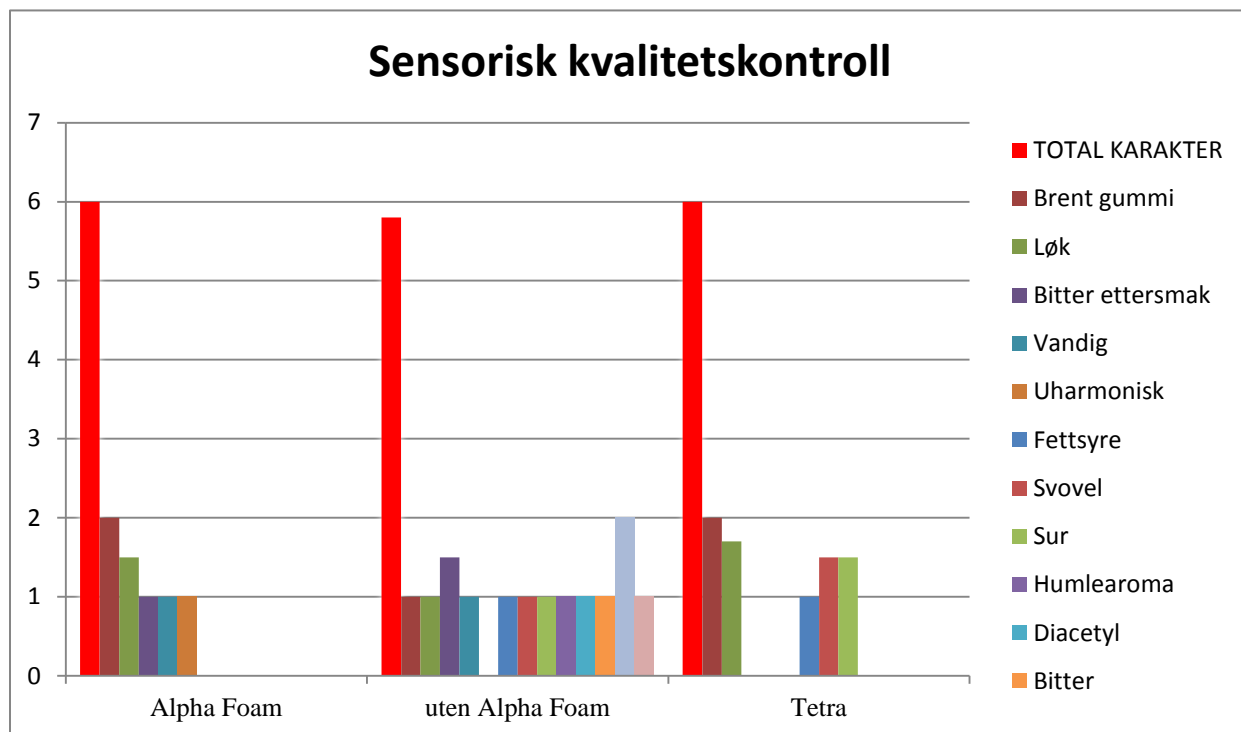
Figur 4.16 Opplevd bitterhet målt spektrofotometrisk (275 nm) og ved HPLC (mg/l).

Figur 4.16 viser at det var forskjeller i resultatene fra BU målt spektrotometrisk og BU analysert ved HPLC. Det var større forskjeller for bittersyreinnholdresultatene av ferdigvarene ved BU-analysen enn ved HPLC analysen. Resultatene for bittersyreinnholdet fra BU-analysen var høyere på ferdigvare tilsatt Alpha Foam og tilsatt Tetra, mens resultatene var lavere for ferdigvarene uten tilsetningen. Ferdigvaren tilsatt Alpha Foam hadde høyest resultat fra HPLC-analysen, mens uten tilsetning av Tetra hadde lavest resultat. Uten Alpha Foam og tilsatt Tetra hadde likt resultat ved HPLC-analysen.

Rådata brukt til å lage figurer fra HPLC-analysen foreligger som Vedlegg 3.

4.5 Sensoriske analyser

Ringnes sensoriske ekspertpanel utførte kvalitetskontrolltest på de tre ferdigvarene Carlsberg tilsatt Tetra, Carlsberg tilsatt Alpha Foam og Carlsberg uten tilsetning. Panelets dommere fikk utdelt et svarskjema. De bedømte ut i fra en skala hvor tilfredsstillende prøven var sammenliknet opp mot Carlsberg Pils memory-standard. Paneldommernes gjennomsnittbedømmelse av ferdigvarenes egenskaper vises i Figur 4.17.



Figur 4.17 Ferdigvarenes total karakter, og de enkelte offtastene som ble vektet under sensorisk kvalitetskontroll.

Figur 4.17 Viser at total karakter for ferdigvarene var tilsynelatende lik, på henholdsvis 6,0, 5,8 og 6,0. De ulike ferdigvarene hadde ulike sensoriske offtaste som ble vektlagt. Det ble maksimalt vektlagt 2 i gjennomsnitt. Bitter smak og ettersmak ble kun vektlagt på ferdigvarene med og uten tilsetning av Alpha Foam. Det var ingen klare tendenser til produkter med markante feil. Produktet uten Alpha Foam hadde flest bemerkninger på ulike offtaste.

Svarskjema kvalitetskontrolltest og rådata fra resultater av kvalitetskontrolltest brukt til å lage figurer foreligger som Vedlegg 4.

Det ble også utført en triangeltest. Det ble bedt om å bedømme om de merket noe forskjell prøvene. Resultatene er vist Tabell 4.3.

Tabell 4.3 Resultater fra triangeltest på ferdigvarene. IS = ikke signifikant, S = signifikant ved signifikansnivå på 5 %.

	Parallell	Ant. Dommere	Minst ant. korrekte identifikasjoner	Ant. korrekte identifikasjoner	Signifikant
1	Referanse - Tetra	9	6	3	IS
2	Tetra - Alpha Foam	9	6	5	IS
3	Referanse - Alpha Foam	9	6	0	IS

Tabell 4.3 bekrefter at det ikke var nok dommere som klarte å identifisere riktig prøve til at resultatet ble signifikant, ved et signifikantnivå på 5 %. Panelet mente at det var svært vanskelig å kjenne forskjell mellom prøvene.

Rådata fra triangeltest, svarskjema og tabell som viser antall korrekte svar som er nødvendig for signifikans på forskjellige nivåer ved triangeltest foreligger som Vedlegg 5.

4.6 Økonomi

De årlige humlekostnadene i Carlsberg Pils og ferdigvare totalt med tilsetning av humleekstraktene Tetra og Alpha Foam ble sammenlignet, ved å regne ut kostnadene for det volumet av Carlsberg Pils som brygges hvert år. Bryggvolumet for Carlsberg Pils og ferdigvare totalt per år ble oppgitt av Tore Hage og bryggvolum per tank ble oppgitt av Erik Bråthen. Prisen for humleproduktene tilsatt vørterkjelen ble tatt fra Cecilia Midtsund Kippe sin masteroppgave «Produksjonstekniske, kvalitetsmessige og økonomiske fordeler og ulemper ved bruk av forskjellige typer humleprodukter i moderne ølproduksjon». Kippe var tidligere masterstudent på Ringnes Bryggeri.

Mengde α -syrer fra pellets (kg) og α -syrer fra PIKE tilsatt vørterkjelen ble kalkulert ved å multiplisere mengde humleprodukt tilsatt vørterkjelen (kg) med innhold av α -syrer oppgitt på følgeseddelen til humleproduktene. Utreignet mengde pellets (kg) og PIKE (kg) tilsatt vørterkjelen for hvert brygg ble så addert for å finne totalmengden α -syrer. Ved tilsetning av Tetra og Alpha Foam ble det tatt hensyn til opplevd bitterhet og nedbryggingsfaktor. Det tidligere prøvoforsøket bekreftet at doseringen var ok. Utrengningsresultatene er vist i Tabell 4.4.

Tabell 4.4 Utrengningsresultater for å komme frem til α -syrer tilsatt fra pellets og PIKE. Alpha Foam og Tetra vises som kg/l.

	Brygg 1 - Alpha Foam			Brygg 2 - Tetra		
	PIKE	Pellets	Alpha Foam (20 %)	PIKE	Pellets	Tetra (10 %)
Humleprodukter tilsatt (kg)	2	10	0,2 kg/ 10 000 l*	2	7	0,2 kg/ 10 000 l**
Iso-/ α -syrer i produktet (%)	50	16,7	19,7	50	16,7	
Iso-/ α -syrer tilsatt vørterkjelen (kg)	1	1,67		1	1,17	
Totalt iso-/ α -syrer tilsatt vørterkjelen fra PIKE/pellets (kg)	2,67			2,17		
Piece humlearoma	1			1		

* Tilsettes etter filter

** Tilsettes etter filter

Ved å benytte kilosprisen for α -syrer oppgitt i Kippes masteroppgave, ble det regnet ut pris per liter α -syrer i vørterkjelen. Pris per kg α -syrer ble multiplisert med kg tilsatt per brygg, dividert på liter per brygg. Samme utregning ble brukt for å regne ut pris per liter av humleekstraktene Tetra og Alpha Foam. Tilslutt er humlekostander per brygg vist. Resultatene er vist i tabell 4.5.

Tabell 4.5 Prisen for humleproduktene per kg og per liter i ferdigvare.

	Brygg 1 - Alpha Foam	Brygg 2 - Tetra
Pris per kg α -syrer (NOK)	625	625
Pris per piece humlearoma	516	516
Pris per kg humleekstraktløsning (NOK)	106	110
Pris per l α -syrer tilsatt i vørterkjelen	0,0260	0,0245
Pris per l humleekstrakt (NOK)	0,00212	0,0022

Utregningene til volum er vist i Tabell 4.6. Prisen for humlearoma ble multiplisert med totalt antall Carlsbergbrygg per år.

Tabell 4.6 Volum ferdigvare og Carlsberg pils som brygger per år og BU i ferdigvare.

Volum totalt ferdigvare per år (l)	100 000 000
Volum Carlsberg Pils per år (l)	13 800 000
Volum Carlsberg Pils per brygg	60 900
BU ferdigvare*	18±3

* Målt spektrofotometrisk

Kostnader for humleprodukter i Carlsberg Pils per brygg (NOK) og per år (NOK/år) ble regnet ut, ved å multiplisere pris per liter med volum Carlsberg Pils som brygges i året. Det ble også regnet på kostnader for humleprodukter totalt i all ferdigvare per år (NOK/år). Det ble tatt

utgangspunkt i resultater/tall fra 2012 (resultater ble oppgitt av Erik Bråthen, personlig kommunikasjon, 2013). De årlige humlekostnadene for Carlsberg Pils tilsatt Tetra og Alpha Foam ble sammenliknet. Resultatene fra utregningene er vist i Tabell 4.7.

Tabell 4.7 Humlekostnader per brygg og årlige humlekostander når Tetra og Alpha Foam er tilsatt i Carlsberg Pils og all ferdigvare. Differanse mellom tilsetningene og kostnadsforskjellen ble sammenliknet.

	Brygg 1 - Alpha Foam	Brygg 2 - Tetra	Brygg 3 - Carlsberg Pils i dag
Kostnader for humleprodukter Carlsberg Pils per år (NOK/år)	524 232	454 819	495 053
Kostnader for humleprodukter totalt per år (NOK/år)	2 950 000	2 400 000	2 740 147
Differanse mellom brygg 1 og brygg 2 Carlsberg	+ 69 413	- 69 413	
Differanse fra dagens Carlsberg Pils	+ 29 179	- 40 234	
Differanse fra dagens brygg totalt	+ 209 853	- 340 147	

Tabell 4.7 viser at Ringnes Bryggeri faktisk kan spare cirka 40 000 kroner ved å bruke Tetra som humletilsetning i Carlsberg Pils. Alpha Foam derimot, kommer med et tillegg på 30 000 kroner ved differanse fra dagens brygging av Carlsberg Pils.

5 Diskusjon

Carlsberg Group Quality Department har nylig øket kravet til skumholdbarhet på Carlsberg Pils. Dette medfører at det er strengere krav til skumholdbarhet på dette ølet enn andre produkter som produseres ved Ringnes Bryggeri. Slik som Carlsberg Pils brygges i dag vil det tidvis kunne være problemer med å tilfredsstille dette kravet. Det er derfor nødvendig å sette i gang nye tiltak for å sikre at all produksjon av Carlsberg Pils tilfredsstiller kravet til skumholdbarhet. Av den grunn, var det i dette forsøket ønskelig å prøve tilsetning av enkelte humleekstrakter som kunne forsterke skumholdbarheten (Hage, personlig kommunikasjon, 2013).

I denne masteroppgaven ble det først gjennomført et prøveforsøk, dette for å se hva jeg kunne forvente av resultatene av fullskalaproduksjon. Videre ble Carlsberg Pils produsert i fullskala, og det ble tilsatt to ulike humleekstrakter etter filter. I brygg 1 ble humleekstraktet Alpha Foam tilsatt, og i brygg 2 ble humleekstraktet Tetra tilsatt. Det ble kun benyttet én konsentrasjon, henholdsvis 4 og 2 mg/l, av de to ulike humleekstraktene. Disse bryggene ble sammenliknet med et brygg uten tilsetning. Brygg 1 uten tilsetning av Alpha Foam ble brukt som referanse da det ble brygget på samme måte som Carlsberg Pils blir i dag.

Bryggene ble sammenliknet med hensyn til humleproduktenes kvalitetsmessige og produksjonsmessige fordeler. I tillegg ble sensorisk produktkvalitet og økonomiske synspunktene av ferdigvarene vurdert. I henhold til problemstillingen til oppgaven, ble det satt opp to hypoteser:

- Hypotese 1: Det er ikke mulig å identifisere negative sensoriske forskjeller mellom øl tilsatt kaliumsalt av tetrahydro-iso- α -syrer og øl tilsatt kaliumsalt av α -syrer sammenliknet med øl produsert uten.
- Hypotese 2: Det er kaliumsalt av α -syre som viser til de beste egenskapene på Carlsberg Pils med hensyn til skumholdbarhet og kvalitet, og som har minst produksjonstekniske, økonomiske og sensoriske konsekvenser.

Brygg 2 uten tilsetning av Tetra hadde lavere humledosering i vørterkjelen, ettersom Tetra tilfører ølet en ekstra bitterhet. Humledoseringen ble senket slik at bitterheten før tilsetningen skulle legge seg på Carlsbergs laveste BU-spesifikasjon. Dette brygget ble ikke benyttet i

sensorisk testing, siden lavere humletilsetning og uten tilsatt bitterekstrakt ville gi merkbare utslag på ferdigvare. Videre har jeg også valgt å ikke trekke inn dette brygget i diskusjonen, ettersom brygget faller utenfor Carlsberg normalen. Iso- α -syrene fra humle påvirker skumholdbarheten og ved et lavere nivå av bittersyrer gir det dermed dårligere resultater på denne ferdigvaren.

Ringnes prøvde i et forsøk i 1996, ledet av utviklingssjef Tore Hage, å øke skumholdbarhet ved tilsetning av isomerisert redusert humleekstrakt (Tetra). Det isomeriserte humleekstraktet er som nevnt med på å gi øket bitterhet til produktet, som kan ha negative konsekvenser med hensyn til den sensoriske kvaliteten. Alpha Foam (rene α -syrer) er et nytt produkt på markedet, og det var derfor interessant å utforske dette nærmere.

Brygg 1 og brygg 2 ble til 4 ulike brygg og ferdigvarer. For å danne et så godt sammenlikningsgrunnlag som mulig for de enkelte ferdigvarene, ble det utført vørter- og ølanalyser under hele bryggeprosessen. Brygg 1 og brygg 2 ble analysert for BU og ekstraktinnhold i alle stegene, mens de fire bryggene ble analysert for haze, oppløst O_2 og BU på lagertank. I tillegg til analysene av virkelig ekstrakt, alkohol, pH, farge, CO_2 -innhold, total oksygeninnhold, ble alle ferdigvarene analysert ved bruk av NIBEM og hellemetode for måling av skumholdbarhet. BU ble analysert for å sammenlikne humleekstraktenes påvirkning på endelig BU i ferdigvare og om det påvirket den sensoriske kvaliteten. Det var også interessant å se om humledoseringen i vørterkjelen i brygg 2 justerte BU på kuldestabiliseringstank ned til ønsket BU.

Med hensyn til analyseparameterne som ble benyttet var det ønskelig at bryggene skulle være så like som mulig. Forskjeller i for eksempel CO_2 - og alkoholinnhold kan påvirke ølskummet og eventuelt forstyrre sammenlikning av ferdigvarene. Alkoholinnhold kan i tillegg være med på å gi smaksforskjeller i ferdigvarene. pH og temperatur kan påvirke utfelling av polypeptider i gjæringstanken og påvirke utbytte av skumpositive komponenter som gjør det vanskelig å sammenlikne skumholdbarhet i ferdigvare og kvaliteten av humleekstraktene tilsatt (Benitez et al., 1997).

5.1 Prøveforsøket

Jeg kunne ut i fra prøveforsøkene bekrefte at begge humleproduktene hadde en positiv påvirkning på skumholdbarhet i øl. Ved andre prøveforsøk ble flaskene ristet godt etter tilsetning, og dette ga en positiv effekt.

Det som er vanskelig med måling av skum, er å måle skum slik at resultatene gjenspeiler en virkelig opplevelse. En hellemetode tatt i bruk i dette forsøket, nettopp fordi metoden skaper en naturlig oppfatning av ølskum. En kunstig skumdannelse, som ved bruk av NIBEM skummåler, produserer et «ikke-typisk» skum for forbruker. Ved slike analyser er det nødvendig med veldig mye skum for å få et nøyaktig mål på skumholdbarhet, og øl overføres derfor fra flaske til et standardglass ved hjelp av gasstrykk gjennom en dyse.

Tetra dannet det tettete gardinmønsteret i glasset under begge prøveforsøkene. Uheldigvis var også Tetraskummet litt stivere, sammenliknet med de to andre ferdigvarene. Carlsberg uten tilsetning hadde store mellomrom i gardinmønsteret. Ved første prøveforsøk dannet Carlsberg tilsatt Alpha Foam store gap i gardinmønsteret, som antakelig skyldes den dårlige innblandingen. I det andre prøveforsøket viste nemlig samme ferdigvare gardiner som festet seg helt opp til kanten av glasset og et tettere mønster.

Det var viktig å ta i betraktning at tidene ved hellemetoden for måling av skumholdbarhet ga svært ulike resultater, som antakelig skyldes ulik utførelse av skumdannelsen. Det er likevel interessant å gjennomføre bruk av hellemetode, ettersom det viser hvordan humleekstraktene påvirker ølskum for forbruker. Jeg fikk erfart at det var nødvendig med en god innblanding ved tilsetning av Alpha Foam, for at ekstraktet skulle gi en skumforsterkende effekt. Ettersom Alpha Foam er et svært nytt humleprodukt, er det til dags dato gjort få studier av dette humleekstraktet.

5.2 Analysene under forsøket

Kaldvørter fra begge bryggene ble analysert for BU, pH og oppløst oksygen (O_2). pH og oppløst O_2 i tanken hadde helt jevne resultat og lå innenfor Ringnes sine spesifikasjonsnivåer. BU på Carlsberg Pils på kaldvørter skal ligge på 37 ± 4 . Det ble oppgitt i Barth-Haas Groups produktspesifikasjon at Tetra ville gi en forsterket bitterhet på 1,0-1,7 (sammenliknet med iso- α -syrer), slik at Tetra ble justert ned til laveste BU-spesifikasjon fra starten av. Tetra benyttes allerede i Ringnes Pils, og dette ble brukt som et utgangspunkt for hvor vi skulle legge oss med

hensyn til humledosering i brygg 2. For å regulere Tetraproduktets bitterintensitet ble det tilsatt mindre humle i vørterkjelen i brygg 2, og det var dermed forventet at BUen skulle være på laveste BU-spesifikasjon. Likevel var BU litt lavere enn antatt, da den lå 1 BU under laveste tillatte verdi. Dette kan skyldes usikkerhet ved bruk av BU-analysen, eller at vørterprøven hadde mye uklarhet.

Ringnes sin interne presisjonsverdi har usikkerhet ved 1 standardavvik på 1,15 BU, og akseptable verdier ligger innenfor ± 2 BU (T. Hage, personlig kommunikasjon, 2013). Dermed kunne resultatet være 2 BU høyere eller lavere enn målt. BU i brygg 1 var innenfor de gitte spesifikasjonene.

I gjæringstanken ble det vedsatt omtrent lik mengde gjær. De første gjæringsdøgnene var gjærcellene i vekstfase. Ekstraktinnholdet gikk gradvis ned under gjæringen ettersom dette var næring for gjæren. Gjærens enzymer gjæret vørterens forgjærbare sukker og dannet alkohol. Samtidig sank pH-en i fermenteringstanken grunnet dannelse av organiske syrer.

Temperaturforløpet til de to bryggene og den målte virkelig ekstrakt var tilsynelatende lik hele veien, noe som gjorde at sammenlikningsgrunnlaget var optimalt fra gjæringen.

Diacetylinnholdet ble målt ved endt gjæring og begge bryggene var innenfor gitt spesifikasjon. Det er nødvendig med et lavt diacetylnivå for ikke å påvirke smak i ferdigvare (Kunze, 2010).

På kuldestabiliseringstank ble det målt for virkelig ekstrakt, alkohol, BU, pH og farge.

Analyseresultatene virkelig ekstrakt, alkohol, pH og farge var tilnærmet like, og lå innenfor gitte spesifikasjoner for Carlsberg pils.

Fra kaldvørter til kuldestabiliseringstank var det en BU-nedgang. BU på kuldestabiliseringstank til brygg 2 ble igjen målt til å være svært lav, men som nevnt var dette tatt med i beregningen.

Med tidligere erfaringer fra Tetratilsetning i Ringnes Pils, ble det tatt utgangspunkt i å legge seg på en BU omkring 23-24 for å oppnå ønsket bitterintensitet i ferdigvare, og dette traff spot-on.

Brygg 1 hadde en nedgang på 14 BU, men lå fortsatt innenfor Carlsbergs normalverdier.

Redusert BU kan skyldes at iso- α -syrer har festet seg på for eksempel proteiner og felt ut, slik at utbytte ble lavere (Benitez et al., 1997).

Etter kuldestabiliseringstank ble bryggene filtrert og humleekstraktene ble tilsatt direkte etter filter før nedbrygging. Siden ekstraktene ble tilsatt etter filter, var det svært interessant å måle

haze (uklarhet) for å se om humleproduktet påvirket klarhet i øl på lagertank og videre ferdigvare. Ut i fra spesifikasjonene til Barth-Haas Group og Hopsteiner bør humleekstraktene tilsettes før filter for å unngå at det dannes uklarhet i ølet. Ettersom man mister noe humleekstrakt gjennom filteret vil mer av ekstraktet være igjen i ferdigvaren ved tilsetning etter filter. I dette forsøket ble det ikke observert noe tegn til øket uklarhet på øl fra lagertank til ferdigvare tilsatt Tetra eller Alpha Foam, og jeg kan derfor bekrefte at tilsetning av lave konsentrasjoner ikke vil være ødeleggende for ferdigvarens klarhet. Likevel skal det nevnes at Alpha Foam utbytte var lavere enn antatt.

Alle ferdigvarene viste i tillegg en nedgang i uklarhet fra filtertank til ferdigvare, noe som antakelig skyldes en høyere temperatur på ferdigvarene. Oppvarming resulterer i at noe kuldeklarhet løses opp. Resultatene for oppløst oksygen i filtertank lå under kontrollgrense. Dersom disse nivåene hadde vært over kontrollgrensen, kunne det gitt smaksforskjeller på ferdigvarene.

Analyseresultatene fra filtertank- og ferdigvareprøvene hadde identisk innhold av alkohol og virkelig ekstrakt. I tillegg hadde alle ferdigvarene like mye CO₂ (g/l) noe som forbedret sammenlikningsgrunnlaget for skumdannelse og de sensoriske egenskapene av ferdigvarene. TPO-nivåene var relativt like for ferdigvarene, men var noe høyere for ferdigvare tilsatt Alpha Foam. Dette gir kun utslag på holdbarhet av ferdigvaren, og er ikke med på å påvirke skumholdbarhet (T. Hage, personlig kommunikasjon, 2013).

BU i ferdigvarene analysert spektrofotometrisk var innenfor BU-spesifikasjon for Carlsberg Pils, der ferdigvaren tilsatt Tetra hadde høyest BU, ferdigvare tilsatt Alpha Foam lå i midten og ferdigvaren uten tilsetningen hadde lavest BU. Dette var å forvente da det er beskrevet i litteraturen at tetrahydro-iso- α -syre og α -syre gir en registrert økning i målt BU (Hopsteiner, 2012a, Hopsteiner 2012b).

Bryggeprosessen ble gjennomført som forventet. De ulike resultatene fra analysene hadde ingen signifikante forskjeller og ga et godt grunnlag for å sammenlikne ferdigvarenes skumholdbarhetsegenskaper og sensoriske kvalitetsegenskaper, med hensyn på humletilsetningen etter filter.

Det er flere fysiske, kjemiske og brygge/maltingsprosessfaktorer som kan påvirke skum, og det vil av den grunn kunne være vanskelig å anslå akkurat hva som medfører et dårlig skum ved enkelte tilfeller (Bamforth, 2012). I dette forsøket var resultatene hele veien innenfor spesifikasjonen gitt for Carlsberg pils (sett bort i fra BU). Riktig pH under bryggeprosessen, og optimal etanolkonsentrasjon og CO₂-innhold i ferdigvare gjør det gjennomførbart å sammenlikne ferdigvarene. Det må også tas i betraktning eventuell usikkerhet ved analysemetodene benyttet i forsøket.

5.3 Bitterintensitet

Bitterintensitet i ferdigvarene ble analysert både spektrofotometrisk og ved bruk av HPLC. Spektrofotometrisk metode brukes ved Ringnes Bryggeri som rutineanalyse for alle vørter- og ølprøver. HPLC brukes for separasjon av de enkelte humlesyrene og kan blant annet påvise ulike homologer av iso- α -syrer og reduserte isomeriserte α -syrer (EBC, 2010).

Det som var interessant ved måling av bitterintensitet, var å se om humleekstraktene hadde noen påvirkning på bitterhet selv om det ikke vises i analysene, eller omvendt.

Alpha Foam skal ikke påvirke bitterheten i ferdig øl. Wilson et. al fant at humleekstraktet ikke påvirker bitterhet helt opp til 14 mg/l (Wilson et al, 2011). Etersom det i dette forsøkt ble tilsatt 4 mg/l var det dermed ikke å forvente smaksendring på ferdigvaren. Tetrahydro-iso- α -syrer tilfører ekstra bitterhet i ølet (Barth-HaasGroup, 2010).

5.3.1 BU målt spektrofotometrisk i ferdigvarer

BU-målingene bestemt spektrofotometrisk viste at ferdigvarene med og uten tilsetning av Alpha Foam hadde en svak oppgang i BU fra filtertank til ferdigvare, men Tetra hadde en svak nedgang. Filtertank og ferdigvare skal tilsvare samme produkt og variasjon i BU skyldes mest antakelig usikkerhet ved målingen. BU-måling spektrofotometrisk måler hovedsakelig iso- α -syrer, men andre ekstraherte komponenter som absorberer lys ved denne bølgelengden kan også bli målt, eksempelvis α -syrer (Benitez et al., 1997). Dette kan gi utslag på målingen.

Blant ferdigvarene var det Tetra som hadde høyest BU, og lavest BU ble målt i ferdigvare uten Alpha Foam. Forskjellene var imidlertid ikke store. Dette viser at humledoseringen i vørterkjelen i brygg 2 var perfekt med hensyn til tilsetning av bitterekstraktet Tetra.

5.3.2 BU målt med HPLC

HPLC-metoden gjennomført på Carlsberg sentrallaboratorium ses på som en svært nøyaktig analysemetode. Metoden har i følge EBC en r_{95} på 0,52 for iso- α -syrer og 0,26 for tetrahydro-iso- α -syrer, sammenliknet med 1,15 for den spektrofotometriske metoden brukt ved Ringnes Bryggeri (EBC, 2010).

Resultatene fra HPLC-analysen viste at brygget tilsatt Alpha Foam hadde et α -syreinnhold på 3,35 mg/l, mens brygget uten Alpha Foam hadde et innhold på 1,1 mg/l. Alpha Foam-brygget ble tilsatt 4 mg/l etter filter og hadde dermed et tap på omkring 45 %. Ut i fra Hopsteiners resept anbefales det å tilsette Alpha Foam før filter for å unngå haze, men dette resulterer i et tap på mellom 30-40 % (Hopsteiner, 2012a).

Dette forsøket viste at Alpha Foam ikke påvirket klarheten i ølet ved tilsetning etter filter, men samtidig dro det kun nytte av 56 % av produktet. Utnyttelsen av α -syrene var ikke særlig god, og resultatene fra måling viser også liten effekt på skumholdbarheten, dette er nærmere beskrevet i kapittel 5.4 Skumholdbarhet. Det er vanskelig å forklare det store α -syre tapet, men en grunn kan være usikkerhet ved analysemetoden. Eventuelt kan en dårlig innblanding av ekstraktet ha ført til at noen flasker inneholdt mye Alpha Foam, mens andre inneholdt mindre. Men dette er kun spekulasjoner, ettersom jeg sendte inn én ferdigvare av denne prøven til HPLC. Det hadde ved et gjentakende forsøk vært ønskelig å danne en kraftigere innblanding etter filter og videre sett på om resultatene fra skumholdbarhetsmålingene ble de samme. Men en negativ faktor er at tilsetning av Alpha Foam koster mer enn tilsetning av Tetra, noe jeg kommer tilbake til i delkapittelet 5.10 Økonomi.

De resterende ferdigvarene hadde et α -syreinnhold $\leq 1,1$ mg/l. Noe av α -syrene vil være igjen etter vørterkokingen, ettersom isomeriseringen er en saktegående prosess. Mesteparten av gjenværende α -syrer fjernes fra løsningen ved å binde seg til sedimentert gjær, og den medfølgende senking i temperatur og pH i lagertank minker løseligheten ytterligere. De fleste vanlige lager pils har svært lave konsentrasjoner av α -syrer (Wilson et al., 2011). Siden omtrent alle α -syrene fra humle i PIKE var isomerisert til iso- α -syrer under prosesseringen av produktet er det å anta at α -syrene kom fra pelletsen. Det gjenværende α -syreinnholdet vil eventuelt kunne påvirke skumholdbarheten i positiv retning.

Iso- α -syreinnholdet var høyest i brygget tilsatt Alpha Foam og brygg uten tilsetning hadde kun et litt lavere innhold. Lavest iso- α -syreinnhold ble målt i brygget tilsatt Tetra. Dette stemmer overens med at det var lavere humletilsetning i vørterkjelen i brygget som skulle tilsettes Tetra, og dermed mindre α -syre som kunne isomeriseres.

Tetrahydro-iso- α -syreer ble kun påvist i ferdigvare tilsatt Tetra. Ettersom tetrahydro-iso- α -syreer er kjemisk modifiserte bittersyreer (som ikke finnes naturlig i humle), var dette å forvente. HPLC analysen viste at Tetra hadde et innhold på 1,68 mg/l i ferdigvare som var tilsatt 2 mg/l. Dette tilsvarer kun et tap på 15 % i ferdigvaren.

Ut i fra HPLC-analysen har alle ferdigvarene en opplevd bitterhet på 18 ± 1 , noe som var akkurat det vi ønsket å oppnå med forsøket. Dette bekrefter at tilsetning av stabil løsning med fullstendig naturlige α -syreer (Alpha Foam) ikke endrer målt bitterintensitet i ferdigvare. Dette stemmer også overens med tidligere forsøk utført av Wilson et al. (Wilson et al., World Brewing Congress 2012). Ferdigvare tilsatt Tetra hadde det laveste innholdet av iso- α -syreer, men siden Tetra-ekstraktet omtrent gir en 15 % økning i bitterhet, oppnår Carlsberg Pilsen dermed samme opplevd bitterhet ved tilsetning av svært lav konsentrasjon. I tillegg ga produktet tilsatt Tetra en klar forsterket skumholdbarhet.

HPLC analysene ga også kromatografier for de ulike ferdigvarene som viste innholdet av de enkelte homologene av iso- α -syrene og tetrahydro-iso- α -syrene. Resultatene viste at andelen av de ulike iso- α -syrehomologene isocohumulon, isohumulon og isoadhumulon var svært likt fordelt. Alle ferdigvarene hadde høyest innhold av isoco- og isohumulon og lavest innhold av isoadhumulon. Dette gjaldt også ferdigvaren tilsatt Tetra, selv om total iso- α -syreinnholdet var noe lavere. Dette kan skyldes at alle bryggene ble tilsatt lik humlesort fra både pellets og PIKE.

5.4 Humleekstrakt for bedre skumholdbarhet

I bryggeriindustrien er det behov for et produkt som ikke er bittert, men med skumforsterkende egenskaper. Wilson mener at mange bryggere ønsker å tilsette naturlige produkter i sin øl, det vil si produkter som er fremstilt gjennom en naturlig prosess, fremfor ved katalytisk hydrogenering (Wilson et al., 2011). Det var først antatt at Alpha Foam (kaliumsalt av rene α -syreer) var et rent produkt og godkjent i henhold til den tyske renhetsloven. Men det kom frem senere i prosessen at produktet kun er godkjent innenfor den tyske renhetsloven dersom det tilsettes i vørterkjelen

(T. Hage, personlig kommunikasjon, 2013). Dermed var ikke resultatene like interessante som først antatt. Tetra er et kjemisk modifisert produkt, og er ikke godkjent i henhold til den tyske renhetsloven.

Humleproduktene som ble tilsatt har veldig lav løselighet i øl. For å oppnå et høyt utbytte av Alpha Foam og Tetra i ferdig øl, må ekstraktene tilsettes etter fermentering, før eller etter filter. I mange år har α -syrer i form av humlekongle, -pellets og ulike -ekstrakter blitt tilsatt vørterkjelen, med den hensikt å isomerisere de lavt løselige, bitre α -syrene til sterkt bitre, vannløselige iso- α -syrer. Som nevnt er en liten andel α -syrer igjen etter vørterkokingen, og de gjenværende α -syrene i vørterkjelen vil fjernes fra løsningen ved å binde seg til sedimentert gjær under fermenteringen (Benitez et al., 1997). Wilson viser til at de fleste lager øltyper normalt har mindre enn 1 mg/l α -syrer i ferdigvare (Wilson et al., 2011). Tetrahydro-iso- α -syrer har mange hydrofobe seter, som gjør at de vil felles ut dersom de tilsettes tidlig i bryggeprosessen. På Ringnes Bryggeri var det ønskelig med høyest mulig utbytte av α -syrer og tetrahydro-iso- α -syrer i ferdigvarene, og bittersyrene ble derfor tilsatt etter filter. Wilson et. al (2012) gjennomførte et forsøk med Alpha Foam, og fant at det ikke bitre og upolare produktet forsterket skumholdbarhet og gardiner ved veldig lave konsentrasjoner, uten å skape et «uklart» øl. I tillegg endret det verken bitterhet eller kvalitet (Wilson et al., World Brewing Congress 2012). Hazeresultatene fra øl tilsatt Alpha Foam viste at ferdigvaren ikke var påvirket av tilsetningen.

En av fordelene med å bruke naturlige α -syrer, er at ølskummet får et naturlig utseende. Tetra derimot, kan produsere et unaturlig og stivt skum, som mange ikke foretrekker. Tetrahydro-iso- α -syrer har i tidligere forsøk vist skumforsterkende effekter. Weiss et al. prøvde i sitt forsøk å tilsette Tetra i ulike doseringer, 10, 15 og 20 mg/l og det ble registrert økende skumholdbarhet med økende konsentrasjon. Samtidig viste en tilsetning høyere enn 10 mg/l et stivt skum (Weiss et al., 2002). Etersom det kun ble tilsatt 2 mg/l i dette forsøket var et stivt skum ikke å forvente. I prøvoforsøket ble det observert tendenser til stivt skum, men fra fullskalaproduksjon ble det ikke observert. Grunnen til at det ikke var stivt skum fra fullskala kan være at ølet da var brygget ned til samme bitterintensitet som vanlig Carlsberg pils, og man fikk dermed inntrykk av en kremete tekstur.

5.5 Skumholdbarhet NIBEM

NIBEM skummåler er både reproduserbar og pålitelig og R_{95} (s) er som nevnt tidligere 22,2 (EBC, 2010). Presisjonsverdiene for hellemetoden er ikke spesifisert og NIBEM skummåleretest er derfor en mer nøyaktig analysemetode.

Hopsteiner som er humleleverandør av Alpha Foam, har gjennomført NIBEM skumtest på øl tilsatt iso- α -syrer, rene α -syrer og tetrahydro-iso- α -syrer mot en referanse. Alle ølprøvene var tilsatt 3 mg/l av nevnte humlesyrer, og de fant da at tetrahydro-iso- α -syrer ga en sterkere skumholdbarhet sammenliknet med de andre humlesyrene. Det var derfor å forvente at Tetra skulle gi gode resultater (Hopsteiner, 2012a).

Tetra hadde den klart sterkeste effekten på skumholdbarhet av de fire ferdigvarene. Ved å tilsette 2 mg/l av Tetra til lavere humledosert Carlsberg Pils viste NIBEM-resultatene at skumholdbarheten økte, sammenliknet med de andre resultatene. Tetra hadde i gjennomsnitt 271 sekunders holdbarhet per måling, mens ølet uten tilsetning hadde 260 sekunder. Tetra viste en forsterket effekt på skummet, og resultatene fra dette forsøket styrker dermed tidligere forsøk og litteraturen, om at Tetra forsterker skumholdbarhet i ferdigvare.

Brygget med tilsetning av Alpha Foam hadde mindre effekt på skumholdbarhet. Resultatet fra skummålingen viste i gjennomsnitt 10 sekunder lavere holdbarhet enn Tetra, og var tilsynelatende likt resultatene fra ferdigvare uten tilsetning (vanlig humletilsetning). Ettersom ferdigvare med og uten Alpha Foam hadde så like resultater, kan jeg ikke fastslå at Alpha Foam hadde noen tydelig effekt på skumholdbarheten. Dette samsvarer ikke helt med tidligere forsøk. Som nevnt gjennomførte Wilson et al. i 2012 et forsøk, der de viste at ved å tilsette Alpha Foam etter fermentering, ville det påvirke skumholdbarhet og gardiner ved svært lave konsentrasjoner. De brukte 3 og 5 mg/l i sine forsøk. Jeg brukte 4 mg/l, men resultatene fra fullskalaforsøket viste lite forsterket effekt.

Etter gjennomført prøveforsøk, fant jeg ut at Alpha Foam-ekstraktet trengte en god innblanding. Resultatene fra fullskala var vesentlig dårligere enn forventet, og det kan virke som om innblandingen og det lave utbytte av humleekstraktet var grunnen til at det ikke ble de resultatene som man kanskje forventet. Laminær vs. turbulent strøm i røret og innstrømning i

BBT er faktorer som er med på å påvirke innblandingen (T. Hage, personlig kommunikasjon, 2013).

De svingende resultatene og tilsynelatende like resultatene fra ferdigvare med og uten tilsetning av Alpha Foam gjør at jeg ikke kan bekrefte at α -syre er mer effektive enn iso- α -syre til å forbedre skumholdbarhet og gardindannelse av Carlsberg Pils.

Begge humleekstraktene ble tilsatt på samme måte, men kun Tetra hadde høyt utbytte i ferdigvare og viste merkbar forsterket skumholdbarhetseffekt. Det kan være svært vanskelig å få til en god innblanding når humleekstraktet tilsettes etter filter, i tillegg til at det er svært små mengder som tilsettes. Ekstraktene ble kun skylt ned i et rør, før det ble ført videre i filtertanken. Det kunne vært interessant å tilsette Alpha Foam før filter for å se om innblanding ble bedre, selv om tapet av α -syrene da vil være noe høyere.

Prøver som benyttes til NIBEM skummåler holder en temperatur på 20 °C og skumresultatene er svært temperaturavhengig. α -syrene påvirkes av temperatur, og fungerer bedre ved lavere temperaturer (Wilson et al., World Brewing Congress 2012). Ved kaldere temperaturer øker skumholdbarheten. Det kunne vært interessant og prøve NIBEM ved ulike temperaturer, for å se om utfallet ble det samme.

5.6 Skumholdbarhet hellemetoden

Hellemetoden for måling av skumholdbarhet i ferdigvare er en svært lite repeterbar og reproduserbar metode. Metoden påvirkes av de minste endringer under forsøkene, slik som hellevinkel, hellehøyde, omgivelsesforhold, hastighet på hellingen, variasjon i boblestørrelse, overflaten som ølprøven kommer i kontakt med, teknikers helling, med mer. I tillegg varierer boblestørrelsen enormt sammenliknet med NIBEM. Det var likevel interessant å bruke hellemetoden for å få en virkelighetsoppfatning av skummet og hvordan humleekstraktet faktisk påvirket Carlsberg pilsen.

Tetra hadde igjen den beste effekten på skumholdbarhet med et gjennomsnitt på 475 sekunder, sammenliknet med øl uten tilsetning på 420 sekunder. Alpha Foam viste til lavere effekt, på 449 sekunder i gjennomsnitt. Begge prøvene tilsatt humleekstrakt holdt lenger skumholdbarhet

sammenliknet med NIBEM, og hellemetoden viste for ferdigvarene en sterk forbedring av øl med tilsetning sammenliknet med øl uten tilsetning.

Prøvene som ble brukt til hellemetoden holdt en temperatur på 10 °C. α -syrene har en sterkere skumholdbarhet ved 10 °C sammenliknet med 20 °C (Wilson et al., World Brewing Congress 2012). Brygget tilsatt Alpha Foam hadde bedre resultater på hellemetoden sammenliknet med NIBEM, og det kan kanskje være av den grunn.

Ettersom gassløseligheten avtar med økende temperatur og CO₂ er en svært løselig gass, var det ønskelig å bruke en lavere temperatur for bedre resultater. I tillegg er 10 °C standard temperatur for sensorikk, og en mer reell temperatur med tanke på forbruker og drikkevaner. I hellemetoden for måling av skumholdbarhet innblandes det O₂ fra lufta. O₂ er en gass av mindre løselighet, og kan derfor påvirke resultatene positivt. Det kan også være grunnen til at resultatene fra hellemetoden holdt en lengre tid sammenliknet med resultatene fra NIBEM.

Hydrogenbindinger mellom molekylene i ølet vil øke viskositeten og dermed senke hastigheten på dreneringen. Det var tydelig at både tetrahydro-iso- α -syrene og α -syrene har reagert med glykoproteinene i ølet til en kompleks utfelling, som økte skummets evne til adsorpsjon på glasset (Bamforth, 2004). Med tanke på gardindannelse i glasset var det Tetra som hadde den beste effekten. Gardinmønsteret ble kun målt visuelt, og er derfor en svært unøyaktig måling. Tetra kunne se litt stivt ut i kantene, men dannet et tett og fint mønster etter hvert som det falt sammen. Alpha Foam prøven og prøven uten tilsetning av Alpha Foam hadde derimot store sprik i gardinene.

5.7 Sensorisk test av Ringnes ekspertpanel

Det ble brukt to ulike sensoriske tester for å undersøke om det var noen sensoriske og kvalitetsmessige forskjeller på øl tilsatt humleekstraktene. Kvalitetskontrolltest avdekket eventuelle smaksfeil og triangelttest avdekket om det var mulig å merke seg noen forskjell mellom ølprøvene.

I kvalitetskontrolltesten bedømte dommerne i det sensoriske panelet sensoriske egenskaper og intensitet sammenliknet mot ideell Carlsberg Pils. Eventuelle smaksfeil ble vektet fra 0 til 5. Det var helt ukjent for paneldommerne at det var tre ulike Carlsberg og hva som var tilsatt.

Ferdigvarene som ble testet hadde tilnærmet lik total karakter, der ferdigvaren uten tilsetning hadde en anelse dårligere utfall i den sensoriske testen sammenliknet med de to andre ferdigvarene. Lukt og smaksegenskapene humlearoma, fettsyre, diacetyl, svovel, brent gummi, løk og sur var blant egenskapene som ble vektlagt som smaksfeil. Det var ingen av smakene som ble vektlagt mer enn en til to ganger, og det var derfor ingen tendens i at det var noen markante feil med prøven.

Bitter og bitter ettersmak ble vektet som smaksfeil på ferdigvare med og uten tilsetning av Alpha Foam, men ikke på Tetra ferdigvaren. Dette var mer å forvente i ferdigvare tilsatt Tetra, ettersom Tetra kan påføre en sterkere bitterintensitet. Dette bekrefter at humledosering i vørterkjelen var riktig tilpasset og at Tetra kan benyttes uten å påvirke den sensoriske kvaliteten av ferdigvaren. En litt skarp bittersmak kan eventuelt skyldes innhold av isocohumulon (Schönberger and Kostecky, 2011).

Ferdigvare tilsatt Alpha Foam og ferdigvare tilsatt Tetra kom begge like godt ut av kvalitetskontrolltesten med lik total karakter. Disse prøvene hadde mest tendenser til løksmak, men uten å være ødeleggende for ferdigvaren.

Etter Hopsteiner resept skal ikke Alpha Foam påvirke smakseffektene i ølet. Det er også gjort et forsøk av Wilson et al., som bekreftet at Alpha Foam ikke påvirker smaksprofilen, selv om humleekstraktet kan gi utslag på spektrofotometrisk BU måling. α -syre kan runde av bitterintensiteten i produktet med en lengre og rundere bitterhet (Kippe, 2012). Derfor kan det være innholdet av α -syrene som har gjort at smakspanelet har merket noe. Men som nevnt er ikke dette en ødeleggende egenskap og derfor ikke en utslagsgivende smaksfeil.

Triangeltesten viste at det ikke var nok dommere som klarte å identifisere riktig prøver til at forskjellene ble signifikant ved et signifikansnivå på henholdsvis 1 og 5 %. Resultatene fra Ringnes sensoriske ekspertpanel viste dermed at det ikke var noen statistisk signifikante sensoriske forskjeller mellom prøvene, og ut i fra dette er det rimelig å anta at det ikke er mulig å merke noen forskjell mellom ferdigvarene. I parallellen referanse mot Alpha Foam var det ingen korrekte identifiseringer. Dette resultatet vipper mot negativt utfall, da det tyder på at det var en forskjell mellom 2 prøver som skulle være like. Ettersom ingen av dommerne har krysset av på

den ulike prøven fra to like, kan det tyde på at det var en prøve som merket seg ut, som panelet krysset ut i skjemaet.

Av kommentarene til prøvene, ble det ikke observert noen klar trend. En av dommerne hadde klart å merke ut begge Tetra-prøvene i triangeltesten, og skrevet i kommentar at prøvene hadde mer skum. Dette synes jeg var en veldig interessant observasjon, ettersom det gir et tegn på at Tetra-ekstraktet har positiv effekt på skummet, selv om prøvene ble tilberedt cirka ti minutter før smakstesten startet.

Alt i alt var prøvene svært like, og det var ingen klare smaksfeil ved noen av ferdigvarene. Årsaken til et så likt utfall i triangeltesten kan skyldes bitterintensitet blant prøvene. Alle ferdigvarene hadde nemlig en svært lik opplevd bitterintensitet (fra HPLC), og det var dermed ingen av ferdigvarene som skilte seg ut. Dette kom meget klart fram i triangeltesten.

5.8 Kvalitet

Ut i fra den sensoriske bedømmelsen, kom det fram at alle ferdigvarene var svært like og at det ikke var signifikante forskjeller i de tre ferdigvarenes smaks kvalitet. Det optimale hadde vært å bruke et større smakspanel og videre forbrukertest med 150-200 forbrukere. Ettersom Ringnes sensoriske ekspertpanel er et godt trent panel ser jeg på resultatene som svært representative.

Carlsberg Pils uten tilsetning var det produktet som kom dårligst ut i smakspanelet, men kun med 0,2 poeng under, og alle ferdigvarene lå innenfor tilfredsstillende krav. Ferdigvare tilsatt Alpha Foam og Tetra hadde tilnærmet samme utfall og med hensyn til kvalitet var det ingen prøve som ble best eller dårligst likt, noe som kan skyldes de svært like bitterhetsprofilene.

Humleproduktene tilsatt vørterkjelen var produsert av høyalfasorten Zeus. Zeus har gjennomsnittlig god lagringsholdbarhet og forholdet mellom xanthohumol (hard resin) og α -syrer er lav (Hopsteiner, 2003).

Med hensyn til skumholdbarhet var det humleekstraktet Tetra som kom best ut. I henhold til tilsatt mengde ble det dratt nytte av omtrentlig 85 % av Tetra i ferdigvare, men kun 56 % av Alpha Foam. Ut i fra resultatene for måling av skumholdbarhet var det Tetra som ga de beste skumholdbarhetsegenskapene. Tilsetningen av 2 mg/l av Tetra gir forsterket skumkvalitet og ingen smaksendring dersom humledoseringen i vørterkjelen reduseres.

Alpha Foam viste dårligere skumholdbarhetsegenskaper. Resultatene fra skummålingen var varierende og det var ingen markant forbedring. En årsak kan som nevnt være innblandingen, men ettersom utbytte var over 50 % er det å anta at humleekstraktet rett og slett ikke strekker til. Det var interessant å teste ut humleproduktet, ettersom Wilson et al. har vist en skumforsterkende effekt.

5.9 Teknologiske utfordringer

I denne oppgaven ble det lagt vekt på oppbevaring, lagring og dosering under bedømmelse av humleekstraktens egenskaper.

Alpha Foam bør lagres i lystette, forseglete plastikkdunker ved 5-10 °C. Patenten fra Wilson et al. (2011) beskriver at ved lagring < 10 °C vil produktet kun tape 1-2 % α -syrer etter seks måneder. Mesteparten av tapet skyldes dannelse av iso- α -syrer. Under optimale lagringsforhold er uåpnet Alpha Foam holdbar i ett år uten forringelse av kvalitet. En dunk som er åpnet vil imidlertid ha mye kortere levetid (Wilson et al., World Brewing Congress 2012). Alpha Foam har en konsentrasjon på 20 %, som i følge Wilson et al. er bra for langvarig fysisk og kjemisk stabilitet, og dette er dermed med på å forlenge holdbarhet av produktet (Wilson et al., 2011).

Tetra har en holdbarhet på ≤ 1 år under de samme lagringsforhold. Optimal lagringstemperatur ligger mellom 15-25 °C, der forlenget lagring ved høyere temperatur vil føre til forringelse av produktet. Tetra er solgt som en 10 % vandig løsning. Ved denne konsentrasjonen er tetrahydro-iso- α -syrer tilbøyelig til å felle ut i løsningen under lagring (Benitez et al., 1997). Begge produktene har omtrent lik lagringsstabilitet, men Alpha Foam krever en noe lavere lagringstemperatur. Ringnes Bryggeri produserer cirka 15 % Carlsberg av totale ølproduksjon i året. Ettersom Tetra allerede benyttes i Ringnes vil det ikke være noe problem å få brukt opp dette humleproduktet i løpet av ett år. For Alpha Foam kan det ligge et problem i å få brukt opp en 20 kg plastikkdunk i løpet av kort tid.

α -syrene er mindre stabile i øl over lengre tid. Wilson et al. (2011) har vist at 55 % av α -syrene tapes under lagring ved romtemperatur over 8 måneder. En høyere lagringstemperatur resulterer i raskere tap. Selv om konsentrasjon av α -syrer i produktet avtar noe raskt under lagring av øl ved disse temperaturene, gir det ikke nødvendigvis utslag på skumholdbarhet i følge patenten (Wilson et al., 2011). Ettersom Alpha Foam ikke har noen påvirkning på bitterheten, vil ikke

dette gi utslag der. Tetra har god kjemisk holdbarhet og bitterstabilitet i ferdig øl. Det kan skyldes at det er svært stabilt når det er redusert.

Både Alpha Foam og Tetra oppbevares i 20 kilos plastdunker. De krever lite lagringsplass og det kreves dermed ikke noen høyere strømkostnader til kjøling av kjølelageret. I tillegg vil jeg anta at det ikke blir noe høyere transportkostnader.

Med hensyn til teknologisk kompleksitet er doseringen av humleekstraktene en svært enkel prosess. Ekstraktene er flytende og lette å håndtere. Produktene blir veid ut i romtemperert tilstand og tilsettes in-line etter filter. Ekstraktene bør ikke etterlates i rørene ved lave temperaturer (Hopsteiner, 2012b). Ettersom det tilsettes svært små mengder kan det være litt utfordrende med en god innblanding. Det er i tillegg nødvendig med en god skylling etter tilsetning for å sørge for at alt ekstrakt er med videre til filtertank.

Med hensyn til rengjøring av doseringspumper, er det mest fordelaktig å benytte varmt, svakt alkalisk demineralisert vann etter bruk (Hopsteiner, 2012b). Ringnes Bryggeri har per dags dato ikke slikt utstyr, men dette kan for eksempel vurderes dersom humleekstrakt etter filter skal tas i bruk i flere ølsorter.

5.10 Økonomi

Humleekstraktet Tetra benyttes allerede på Ringnes bryggeri, med hensikt å forsterke skumholdbarheten. Det var derfor interessant å forsøke med dette humleekstraktet i Carlsberg Pils. Resultatene fra masteroppgaven har vist at det er humleproduktet Tetra som gir best utfall med hensyn til skumholdbarheten. I tillegg ga dette ekstraktet det rimeligste utfallet.

Hovedgrunnen til det, var at Tetra tilfører en «gratis bitterhet» til ferdigvaren, slik at humledosering kunne reduseres til laveste BU-spesifikasjon på lagertank. Med hensyn til både økonomi og skumholdbarhet er det derfor mest fordelaktig å benytte Tetra i Carlsberg Pils i fremtiden. Ved å endre humletilsetningen i vørterkjelen, samt tilsette Tetra i Carlsberg Pils som det ble gjort i denne oppgaven, vil bryggeriet spare omtrent 40 000 kroner i året. Dersom Ringnes velger å bruke Tetra i all ølproduksjon vil de kunne spare omtrent 340 000 kroner i året.

6 Konklusjon

På grunn av tidsbegrensningen ble det kun brygget en parallell av hvert brygg. Dersom det hadde vært bedre tid, hadde det vært ønskelig å gjenta forsøket, der jeg hadde fokusert på en bedre innblanding ved tilsetning av Alpha Foam, for å øke utbytte av bitterekstraktet. Det hadde da vært interessant å se skumholdbarhetsresultatene på nytt.

Resultatene fra forsøket konkluderer med at Tetra hadde best effekt på skumholdbarhet, mens Alpha Foam viste liten effekt.

Opplevd bitterhet ble tilsynelatende lik for alle Carlsberg pilsene som ble produsert, noe som tydet på riktig humledosering. I henhold til de sensoriske testene, kom ferdigvarene godt ut. Selv om det var tilsatt ulike bitterekstrakt i to av ferdigvarene viste testene at det var svært liten forskjell mellom de ulike Carlsberg pilsene som ble brygget.

Alpha Foam kom dårligst ut med hensyn til kostnadene. Humleekstraktet ga det dyreste utfallet, i tillegg til at det ikke viste til noen forsterket effekt på skumholdbarhet. Skumholdbarheten ble forsterket ved bruk av Tetra, uten endring på bitterintensitet og smaksprofil i ferdigvare. I tillegg var det dette humleekstraktet som kom best ut med hensyn til økonomi, da man totalt sett reduserer kostnader ved å bruke Tetra i ølbrygging. Dette skyldtes at det trengtes en lavere humledosering i vørterkjelen, siden Tetra tilfører ekstra bitterhet til ferdigvare.

Ut i fra forsøkene kunne hypotese 1 verifiseres;

Det er ikke mulig å identifisere negative sensoriske forskjeller mellom øl tilsatt kaliumsalt av tetrahydro-iso- α -syrer og øl tilsatt kaliumsalt av α -syrer sammenliknet med øl produsert uten humleekstrakttilsetning.

Hypotese 2 måtte etter endt forsøk forkastes;

Det er kaliumsalt av α -syre som viser til de beste egenskapene på Carlsberg Pils med hensyn til skumholdbarhet og kvalitet, og som har minst produksjonstekniske, økonomiske og sensoriske konsekvenser.

Ved tilsetning av 2 mg/l Tetra kan Ringnes ha en sikker produksjon, som alltid vil tilfredsstillende krav til skumholdbarhet for Carlsberg Pils.

7 Litteratur

- ANTONPAAR. 2012. *Density meters* [Online]. www.antonpaar.com. Available: http://www.antonpaar.com/Density-Meters-DMA-Generation-M/Density-Meter/60_Corporate_en?product_id=144 [Accessed 25.02 2013].
- BAMFORTH, C. W. 2004. The Relative Significance of Physics and Chemistry for Beer Foam Excellence Theory and Practice. *World Brewing Congress, San Diego, CA*, The Institute & Guild of Brewing, 110(4), p. 259-266.
- BAMFORTH, C. W. 2009. *Beer - A Quality Perspective (Handbook of Alcoholic Beverages)*, California USA, London UK, Academic Press of Elsevier, p. 1-34. ISBN: 978-0-12-669-201-3.
- BAMFORTH, C. W. 2012. *Foam*, University of California, Davis, American Society of Brewing Chemists, p. 1-72. ISBN: 978-1-938119-00-2.
- BAPS, 2013. *BAPS Chemistry - Brewing Analytes Proficiency Scheme Report*, Campden Bri food and drink innovation.
- BARTH-HAASGROUP. 2005. *Foam & Foam Enhancement* [Online]. Barth-Haas Group. Available: www.barthhaasgroup.com/johbarth/images/pdfs/foam_enhancement.pdf [Accessed 24.02.2013].
- BARTH-HAASGROUP. 2010. *CO2 Hop Extract* [Online]. Available: <http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/specs/en/04%20CO2spec%20July%20EN%202010.pdf> [Accessed 18.01 2013].
- BARTH-HAASGROUP. 2010. *Tetrahop Gold* [Online]. <http://www.barthhaasgroup.com>. Available: <http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/specs/en/08%20Tetrahopspec%20EN%20July%202010.pdf> [Accessed 08.03 2013].
- BELITZ, H. D., GROSCH, W. & SCHIEBERLE, P. 2009. *Alcoholic Beverages. Food Chemistry*. Springer, 4 ed., p. 1-13, ISBN-13: 978-3540699354
- BENITEZ, J. L., FORSTER, A., KEUKELEIRE, D. D., MOIR, M., SHARPE, F. R., VERHAGEN, L. C. & WESTWOOD, K. T. 1997. *Hops and Hop Products*, Verlag Hans Carl, Nürnberg, Tyskland. ISBN: 3-418-00758-9.
- BIENDL, M. & PINZL, C. 2008. *Hops and Health, Uses, Effects History*, Wolznach German Hop Museum, Wolznach, Tyskland. ISBN: 978-3-929749-06-9.
- BLASCO, L., VEIGA-CRESPO, P., SÁNCHEZ-PÉREZ, A. & VILLA, T. G. 2012. Cloning and Characterization of the Beer Foaming Gene CFG1 from *Saccharomyces pastorianus*. *Agricultural and Food Chemistry*, 60, 12, p. 10796-10807.
- BLASCO, L., VINAS, M. & VILLA, T. G. 2011. Proteins influencing foam formation in wine and beer: the role of yeast. *International microbiology*, 14(2), p. 61-71. ISSN: 1139-6709.

- BLICHER, T. 2011. *Proteinstruktur* [Online]. Biotech Academy. Available: <http://www.biotechacademy.dk/undervisningsprojekter/amp/teori/proteinstruktur.aspx> [Accessed 12.02 2013].
- BRYGGERIINDUSTRIENS-FORSKNINGSLABORATORIUM 1984. *Årsrapport* s. 14-18.
- CARLSBERG BREWERIES 2012a. *Methods of Analysis: CO2 in Beer- Carbo QC*. Carlsberg Operation Manual, ID: CO2 in beer - carbo QC.
- CARLSBERG BREWERIES 2012b. *Yeast Cell Counts and Viability, NucleCounter*. Carlsberg Operation Manual, ID: 0c29d497-d42c-4a74-86b8-3318ace64889.
- COOPER, u.å. The Science of Good Head, Paragraph Publishers Limited, Beer Production [Online]. Available: http://www.tastingbeers.com/school/beer_production/12009207.html [Accessed 13.02.2013]
- CORTACERO-RAMÍREZ, S., HERNAÍNIZ-BERMÚDEZ, M., 2003. *Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods*, Trends in Analytical Chemistry, Elsevier B.V, 22(7+8), s. 440-455.
- DE KEUKELEIRE, D. 2000. Fundamentals of Beer and Hop Chemistry. *Química Nova* [Online]. University of Gent - Faculty of Pharmaceutical Sciences - Laboratory of Pharmacognosy and Phytochemistry - Belgium. 23(1), p 108-112
Available: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v23n1/2152.pdf> [Accessed 29.01.2013].
- DENK, V., FELGENTRAEGER, H. G. W., FLAD, W., LENOEL, M., MICHEL, R., MIEDANER, H., STIPLER, K., HENSEL, H., NARZISS, L. & O'ROURKE, T. 2002. *Wort Boiling and Clarification*, Verlag Hans Carl, Nürnberg, Tyskland, p. 1-40 ISBN: 3-418-00790-2.
- EUROPEAN BREWERY CONVENTION 2010. *Analytica EBC*. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg.
- EVANS, D. E., OBERDIECK, M., REDD, K. S. & NEWMAN, R. 2012. Comparison of the Rudin and NIBEM Methods for Measuring Foam Stability with a Manual Pour Method to Identify Beer Characteristics That Deliver Consumers Stable Beer Foam. *Journal American Society of Brewing Chemists.*, 70(1), p. 70-78.
- FALCONER, R. 2012a. 2. Chemistry & Uses in Brewing, *Diploma Brewmaster Course Module 1 - Raw Materials - Hops*. Steiner Hops LTD., The Scandinavian School of Brewing, Copenhagen: Hopsteiner.
- FALCONER, R. 2012b. 5. Isomerised & Special, *Diploma Brewmaster Course Module 1 - Raw Materials - Hops*. Steiner Hops LTD, The Scandinavian School of Brewing, Copenhagen: Hopsteiner.
- GILL, C.B., MENNEER, I.D 1997. Advances in Gas Control Technology in the Brewery, BRF International [Online]. Available: <http://superphobic.com/uploads/documentsOLD/Advances%20in%20Gas%20Control%20in%20the%20Brewery3.pdf> [Accessed 08.05.2013].
- GOLDHAMMER, T. 2008. Hops. I: *The Brewer's Handbook*. 2.utg. Apex Publishers, Clifton, ISBN(13): 978-0-9675212-3-7.

- GRØNLI, K. S. 2004. *Maten smaker mer når du er sulten* [Online]. forskning.no. Available: <http://www.forskning.no/artikler/2004/februar/1077111534.85> [Accessed 18.02 2013].
- HOPSTEINER. 2003. *Zeus* [Online]. Hopsteiner. Available: <http://hopsteiner.com/pdf/us/Zeus.PDF> [Accessed 02.04 2013].
- HOPSTEINER. 2012a. *Alpha Foam* [Online]. New York, Mainburg, Epping: Hopsteiner Trading PRC. Available: http://www.hopsteiner.com/products/pdf/2012/51_03_AlphaFoam.pdf [Accessed 01.02 2013].
- HOPSTEINER. 2012b. *Tetra Iso-Extract (Tetra)* [Online]. Available: http://www.hopsteiner.com/products/pdf/2012/13_08_Tetra.pdf.
- HUGHES, E.S. & BAXTER, E.D. 2001. *Beer Quality, Safety and Nutritional Aspects*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, Great Britain. p 14-30. ISBN: 0-85404-588-0
- KIPPE, M.C., 2012 *Produksjonstekniske kvalitetsmessige og økonomiske fordeler og ulemper ved bruk av forskjellige typer humleprodukter i moderne ølproduksjon*. Universitetet for miljø- og biovitenskap, Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap.
- KOCH, J., u.å. The Boston Beer Company, Boston, MA, Samuel Adams, Brewing the American Dream [Online]. Available: <http://www.samueladams.com/brewery-and-craft/our-glass> [Accessed 12.03.2013]
- KOLBOE, B. 2012. *Fra dødsstraff til eksporteventyr* [Online]. aperitif.no. Available: <http://www.aperitif.no/content/view/full/232910> [Accessed 14.02 2013].
- KUNIMUNE, T. 2007. *Foam Enhancing Properties of Hop Bitter Acids and Propylene Glycol Alginate*. Thesis, Master of Science in Food Science and Technology, Oregon State University.
- KUNIMUNE, T. & SHELLHAMMER, T. H. 2008. Foam-Stabilizing Effects and Cling Formation Patterns of Iso- α -acids and Reduced Iso- α -acids in Lager Beer. 56(18), p. 8629-8634.
- KUNZE, W. 2010. *Technology Brewing & Malting*, Tyskland, 4 utg. Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin, Germany. ISBN: 978-3-921690-64-2.
- LEWIS, M. J. & YOUNG, T. W. 2002. *Brewing*, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, Kluwer Academic/ Plenum Publishers. ISBN: 0-306-47274-0.
- NARZISS, L. 1992. *Die Bierbrauerei Zweiter Band: Die Technologie der Wurzebereitung*. 7.ed. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. p. 63-92. ISBN: 3-432-85007-7.
- NORSK ORDBOK 2014, *Universitetet i Oslo*, [Online] search: overflatespenning. Available: http://no2014.uio.no/perl/ordbok/no2014_resultatliste.cgi?soek=overflatespenning [Accessed 04.05.2013].
- MURER, G. 2005. Measuring dissolved gases in packaged beverages. *Brauwelt International*, 8. [Online] Available: <http://www.anton-paar.com/Web/Document/download/705?cInng=en> [Accessed 20.03.2013]

- PAAR, A. u.å. *Alcolyzer Beer Analyzing System* [Online]. Available: http://www.anton-paar.com/Alcolyzer-Beer-Analyzing-System/Alcohol-Meter/60_Corporate_en?product_id=346 [Accessed 25.02 2013].
- PIERREFABRELABORATORIES. 2008. *Supercritical Carbon Di oxide* [Online]. Available: <http://www.supercritical-solutions.com/en/supercritical-co2> [Accessed 04.02 2013].
- PUNTERVOLL, P. 2006. *Protein* [Online]. UiB. Available: <http://gensidene.uib.no/protein.html> [Accessed 12.02 2013].
- QIU, Z. 2007. *Changes in Physical State - phase transitions - Laura Qiu* [Online]. Enterprise Wiki. Available: <http://wikis.lawrence.edu/display/CHEM/Changes+in+Physical+State+-+phase+transitions+-+Laura+Qiu>. [Accessed 14.02.2013].
- RINGNES 2009. *CO2 og O2 i øl, Haffmans*. Brukermanual, kategori Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr. 7515, 1 ed. Ringnes database: Ringnes.
- RINGNES 2010. *Total oksygenbelastning i øl. Haffman c-TPO*. Brukermanual, kategori Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr. 8219, 1 ed. Ringnes database: Ringnes.
- RINGNES 2012a. *Alkohol, ekstrakt og stamvørter (Anton Paar Alcolyzer med DMA 4500)*. Brukermanual, kategori kontrollinstruks/Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr. 4374, 4 ed. Ringnes database: Ringnes.4819.
- RINGNES 2012b. *Bitterstoffinnhold i vørter og øl*. Brukermanual, kategori Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr. 2174, 8. ed. Ringnes database: Ringnes.
- RINGNES 2012c. *Diacetyl i øl - gasskromatografisk metode*. Brukermanual, kategori Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr 2189, 6. ed. Ringnes database: Ringnes
- RINGNES 2012d. *Farge i vørter og øl (Fotometrisk metode)*. Brukermanual, kategori Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr. 2164, 7. ed. Ringnes database: Ringnes.
- RINGNES 2012e. *Forskjellstest - triangeltest*. Brukermanual, kategori Analyser Sensorisk, kvalitetsstyringsdokument nr 2062, 3.ed. Ringnes database: Ringnes.
- RINGNES. u.å. *Malting* [Online]. Ringnes.no. Available: <http://www.ringnes.no/omol/olskolepanett/olbrygging/Sider/Malting.aspx> [Accessed 17.01 2013].
- RINGNES 2012f. *pH i vørter og øl*. Ringnes kvalitetsstyringsdokument nr. 2163. Ringnes database: Ringnes.
- RINGNES 2012g. *Sensorisk analyse, Generelt*. Brukermanual, kategori Analyser sensorisk, kvalitetsstyringsdokument nr 2057, 4 ed. Ringnes database: Ringnes.
- RINGNES 2012h. *Skummåling i øl med NIBEM*. Brukermanual, kategori Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr. 2206, 4. ed. Ringnes database: Ringnes.

- RINGNES 2012i. *Uklarhet i øl (haze)*. Brukermanual, kategori Analyser kjemisk, kvalitetsstyringsdokument nr 2204, 6 ed., Ringnes database: Ringnes.
- SAMUELSEN, E. J. 2012. Skum. *Særtrykk frå Naturen 136, nr 6 2012* [Online] Institutt for fysikk, NTNU, p. 307-314. Available: <http://www.ntnu.no/documents/10422/17018165/ArtSKUMiNATUREN.pdf> [Accessed 02.03.2013].
- SCHÖNBERGER, C. & BARTH, J. 2009. *Why cohumulone is better than its reputation* [Online]. www.barthhaasgroup.com.I: Brauwelt International, 27(3), p.159-160. Available: http://www.barthhaasgroup.com/johbarth/images/pdfs/2009_BWI_Cohumulon.pdfDr. [Accessed 18.02 2013].
- SCHÖNBERGER, C. & KOSTELECKY, T. 2011. 125th Anniversary Review: The Role of Hops in Brewing. *Journal institute of Brewing and Distilling*, 117(3), p. 259-267.
- SRINIVASAN, D., PARKIN, K. L. & FENNEMA, O. R. 2008. *Fennema's Food Chemistry*, U.S, CRC Press Taylor & Francis Group, 4.ed, p. 279, 783-849. ISBN-13: 978-0-8493-9272-6
- TILSET, M. u.å. *Palladium* [Online]. UiO: Kjemisk Institutt, Det matematisk-Naturvitenskapelige fakultet. Available: <http://www.mn.uio.no/kjemi/tjenester/kunnskap/periodesystemet/vis.php?e=Pd&vis=alt> [Accessed 12.02 2013].
- VAN CLEEMPUT, M., CATTOOR, K., DE BOSSCHER, K., HAEGEMAN, G, DE KEUKELEIRE, D. and HEYERICK, A. 2009, Reviews: Hop (*Humulus lupulus*)-Derived Bitter Acids as Multipotent Bioactive Compounds, *Journal of Natural Products*, American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy, 72, p. 1220-1230.
- VAN OPSTAELE, F., ROUCK, G. D., DE CLIPPELEER, J., AERTS, G. & COOMAN, L. D. 2010. Analytical and Sensory Assessment of Hoppy Aroma and Bitterness of Conventionally Hopped and Advanced Hopped Pilsner Beers *The institute of Brewing & Distilling*, 116, 14.
- VERZELE, M. & DE KEUKELEIRE, D., 1991. *Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids*, Amsterdam, Nederland, Elsevier Science Publishers B.V. ISBN: 0-444-88165-4.
- WALKER, J. 1981. *Reflection on the Rising Bubbles in a Bottle of Beer* [Online]. <http://www.sas.org/>: The Society for Amateur Scientists. Available: <http://jesseenterprises.net/amsci/1981/12/1981-12-fs.html> [Accessed 18.02 2013].
- WEISS, A., SCHONBERGER, C., MITTER, W., BIENDL, M., BACK, W. & KROTTENTHALER, M. 2002. Sensory and Analytic Characterisation of Reduced, Isomerised Hop Extracts and their Influence and Use in Beer. *The institute of Brewing & Distilling*. 108(2). xx-xx.
- WILSON, R., SMITH, R., SCHWARZ, H., MAYE, J. & STEINER, S. S. World Brewing Congress 2012. A Natural Foam Enhancer From Hops. Oregon Convention Center, Portland, OR USA.P-142.
- WILSON, R. J. H., SCHWARZ, H. & SMITH, R. 2011. *NATURAL AND STABLE SOLUTIONS OF ALPHA-ACIDS AND THEIR USE FOR THE IMPROVEMENT OF FOAM QUALITY OF BEER*

[Online]. United States Patent Application Available: <http://appft1.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HITOFF&d=PG01&p=1&u=/netahtml/PTO/srchnum.html&r=1&f=G&l=50&s1=20110287152.PG NR>.
<http://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2011149968&recNum=1&maxRec=&office=&prevFilter=&sortOption=&queryString=&tab=PCTDescription> [Accessed 14.02 2013].

YAMAMOTOA, K., WANGA, J., TOBEB, H. & YAMAMOTOA, S. 2000. *Suppression of cyclooxygenase-2 gene transcription by humulon of beer hop extract studied with reference to glucocorticoid* [Online]. Department of Biochemistry, The University of Tokushima, School of Medicine, Tokushima, Japan. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014579399017275> [Accessed 18.02 2013].

ØDEGÅRD, C. 2010. Del 1 Brygghus. *Fagopplæring*. Ringnes Bryggeri.

ØDEGÅRD, C. 2011. Del 2 Grønnøl, Filter og Pasteur. *Fagopplæring*. Ringnes Bryggeri.

8 Vedlegg

	Innhold i vedlegg	Merknader
Vedlegg 1	Resultater fra analysene av kaldvørter, øl under gjæring og øl lagret på kuldestabiliseringstank.	
Vedlegg 2	Resultater fra analyser på filtertank og analyser på ferdigvarer.	Sec. = sekunder Gj. snitt = gjennomsnitt SD = standardavvik
Vedlegg 3	Resultater fra HPLC-analysen	Carlsberg A – tilsatt Alpha Foam Carlsberg B – uten Alpha Foam Carlsberg C – tilsatt Tetra Carlsberg D – uten Tetra
Vedlegg 4	Svarskjema og resultater fra kvalitetskontrolltest – sensoriske preferanser	Gj.snitt. = gjennomsnitt TFS = Totale flavour score SAT = satisfied
Vedlegg 5	Svarskjema, tabell triangeltest og resultater fra triangeltest	

Vedlegg 1 – Resultater fra analysene av kaldvørter, øl under gjæring og øl lagret på kuldestabiliseringstank

Analysar av vørter og gjærende øl ved endt gjæring

Analyse	Kaldvørter		Gjærende øl (endt gjæring)	
	Brygg 1	Brygg 2	Brygg 1	Brygg 2
Virkelig ekstrakt (ER)	14,26 % P	14,56	4,21	4,33
Tilsynelatende ekstrakt (EA)		14,55	1,95	1,98
Alkohol (%)			6,32	6,6
Bitterstoff (BU)	40	32	34	27
pH	5,5	5,3	4,5	4,4
Oppløst oksygen (ppb)	10,4	10,7		
Gjærcelletall			9,9 x 10 ⁶ / ml	10,4 x 10 ⁶ / ml
Diacetyl (DA)			0,05	0,045

Temperatur (°C) og virkelig ekstrakt i kaldvørter (dag 0) og under gjæringen.

Gjæringsdøgn	Brygg 1		Brygg 2	
	Temperatur	Virkelig ekstrakt (E _R)	Temperatur	Virkelig ekstrakt (E _R)
0	14,0	13,58	14,5	13,58
1	14,0	11,28	14,4	11,36
2	14,3	8,72	14,4	8,48
3	14,1	6,24	14,4	5,92
4	14,0	4,41	14,2	4,46
5	14,2	4,2	14,1	4,33
6	8,1	4,2	8,1	4,35

Virkelig ekstrakt, tils. ekstrakt, alkohol (% vol), BU (målt spektrofotometrisk), pH og farge (EBC) i bryggene på kuldestabiliseringstank

	Kuldestabiliseringstank	
Analyse	Brygg 1	Brygg 2
Virkelig ekstrakt (ER)	4,17	4,29
Tils. ekstrakt (EA)	1,88	1,9
Alkohol (%)	6,44	6,72
Bitterstoff (BU)	26	23
pH	4,4	4,4
Farge (EBC)	9	9

Vedlegg 2 - Resultater fra analyser på filtertank og analyser på ferdigvarer.

Analyser gjennomført på filtertank og på ferdigvarene. BU er målt spektrofotometrisk (Tetra multiplisert med 1,7).


Analyse	Filtertank				Ferdigvare			
	tilsatt Alpha Foam	uten Alpha Foam	tilsatt tetra	uten Tetra	tilsatt Alpha Foam	uten Alpha Foam	tilsatt tetra	uten Tetra
Virkelig ekstrakt (ER)	2,94	2,99	2,92	2,9	2,92	2,97	2,92	2,9
Alkohol (%)	4,56	4,56	4,52	4,5	4,51	4,51	4,51	4,46
Bitterstoff (BU)	19,3	17,2	21,2	16,4	19,6	18,2	20,7	16,5
pH	4,41	4,39	4,4	4,4	4,42	4,41	4,41	4,42
Oppløst oksygen (ppb)	61	54	92	91				
Haze	0,315	0,40	0,329	0,3	0,207	0,207	0,221	0,26
Diacetyl					0,01	0,012	0,012	0,014
Farge					6,72	6,54	6,6	6,65
CO2-innhold (g/l)					4,96	4,95	4,94	4,82
Totale Package Oxygen (TPO) (ppb)					306	260	271	261

Skumholdbarhet målt med NIBEM og hellemetoden.

	Carlsberg			
NIBEM (sec.)	tilsatt Alpha Foam	uten Alpha Foam	tilsatt Tetra	uten Tetra
1	266	264	275	240
2	260	259	275	242
3	256	259	269	242
4	261	253	269	247
5	267	265	273	248
6	264	263	267	244
Gj.snitt.	262,33	260,50	271,33	243,83
SD	4,13	4,46	3,44	3,13

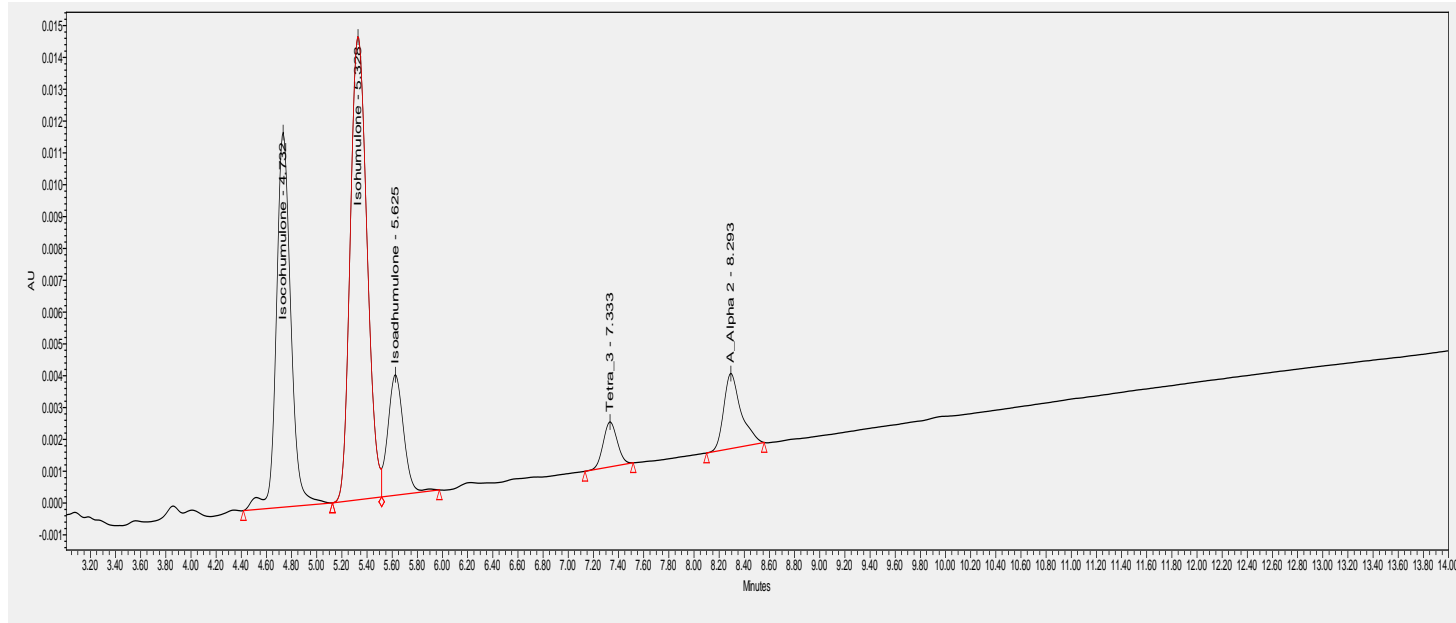
	Carlsberg			
Hellemetode (sec.)	tilsatt Alpha Foam	uten Alpha Foam	tilsatt Tetra	uten Tetra
1	425	450	480	425
2	470	400	480	330
3	450	404	490	345
4	456	450	460	355
5	442	400	465	360
Gj.snitt.	448,6	420,8	475	363
SD	16,70	26,71	12,25	36,50

Vedlegg 3 – Resultater fra HPLC-analysen

CARLSBERG GROUP CENTRAL LABORATORY Brasseries Kronenbourg 68 route d'Oberhausbergen BP 13 67037 Strasbourg Cedex 2 France		 GROUP DEVELOPMENT			
ANALYSIS REPORT		04 April 2013			
Correspondant :	Sabine Koehl Central Lab Manager Dir +33 3 88 27 43 93 sabine.koehl@carlsberg.fr				
Customer :					
Contacts	Tore.Hage@ringnes.no				
		03.04.2013			
		Bière			
		Carlsberg A dluo 16/12/13 09h48	Carlsberg B dluo 16/12/13 14h35	Carlsberg C dluo 18/12/13 11h25	Carlsberg D dluo 20/12/13 22h53
		890000316914	890000316916	890000316917	890000316918
Tetra HPLC (W/V)	mg/l	0	0	1,68	0
Alpha acids (W/V)	mg/l	3,35	1,1	0,2	0,65
Iso alpha acids (W/V)	mg/l	18,9	18,3	15,4	16,6
Perceived bitterness EBU	EBUG	18,9	18,3	18,256	16,6

Carlsberg A

Lot SAP: 890000316914

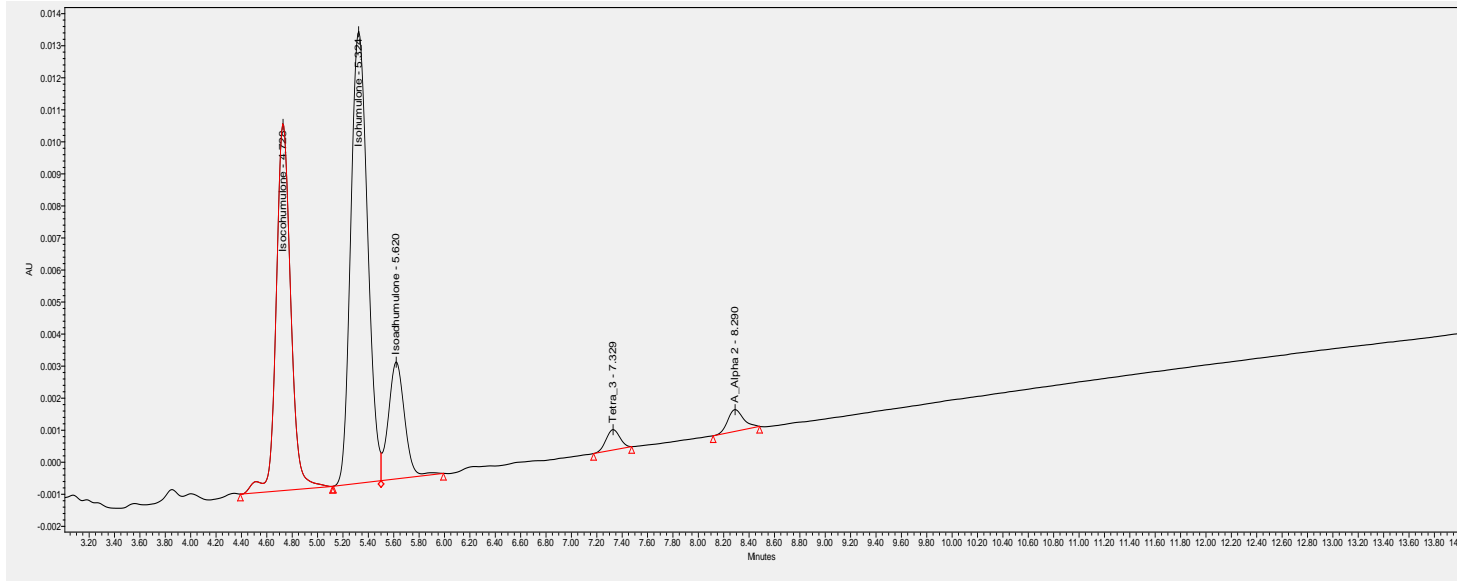


	Name	Retention Time	Area	% Area	Height	Int Type	Amount	Units	Peak Type	Peak Codes
1	Isocohumulone	4.732	94296	31.87	11779	bb			Found	Q20
2	Isohumulone	5.328	135280	45.73	14567	bv			Found	Q20
3	Isoadhumulone	5.625	32828	11.10	3789	vb			Found	Q20
6	A_Alpha 1	7.333	10914	3.69	1412	bb			Found	Q20
8	A_Alpha 2	8.293	22516	7.61	2362	bb			Found	Q20
9	Isolone		262404	88.70	30136	Group	18.867	mg/l	Group	

Acides Alpha=3.35 mg/l

Carlsberg B

Lot SAP: 890000316916

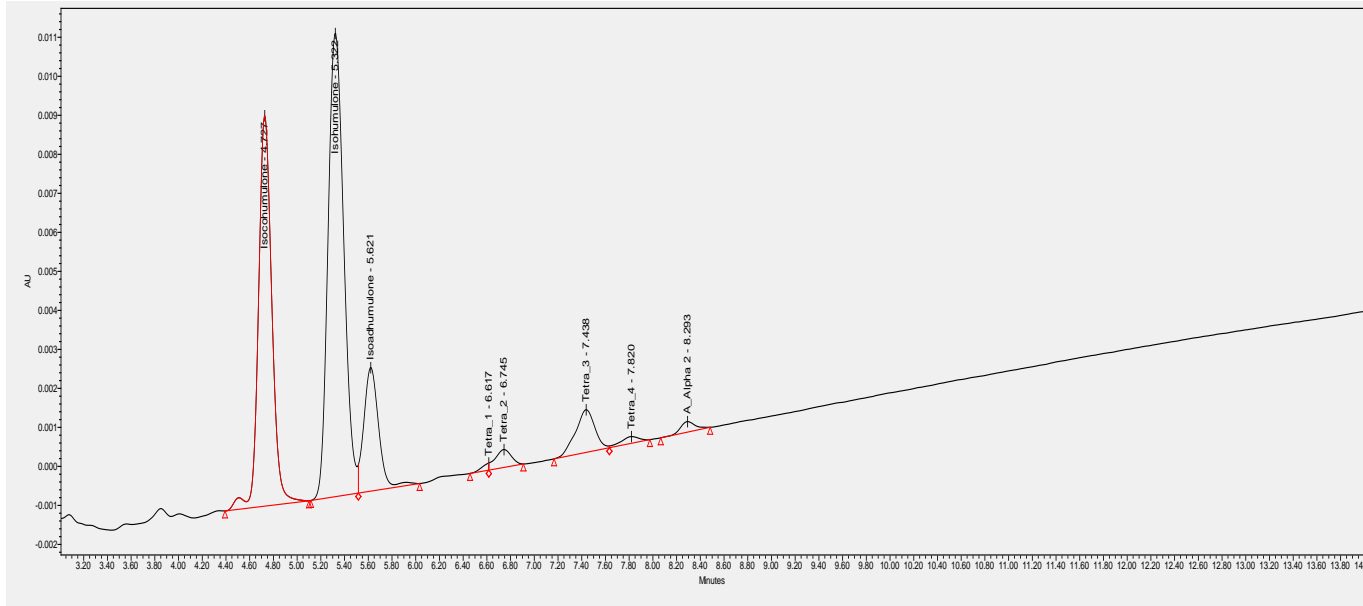


	Name	Retention Time	Area	% Area	Height	Int Type	Amount	Units	Peak Type	Peak Codes
1	Isocohumulone	4.728	91639	34.60	11463	bb			Found	Q20
2	Isohumulone	5.324	130230	49.17	14105	bv			Found	Q20
3	Isoadhumulone	5.620	32332	12.21	3653	vb			Found	Q20
6	A_Alpha 1	7.329	4791	1.81	636	bb			Found	Q20
8	A_Alpha 2	8.290	5878	2.22	680	bb			Found	Q20
9	Isolone		254201	95.97	29220	Group	18.262	mg/l	Group	

Acides Alpha=1.1 mg/l

Carlsberg C

Lot SAP: 890000316917

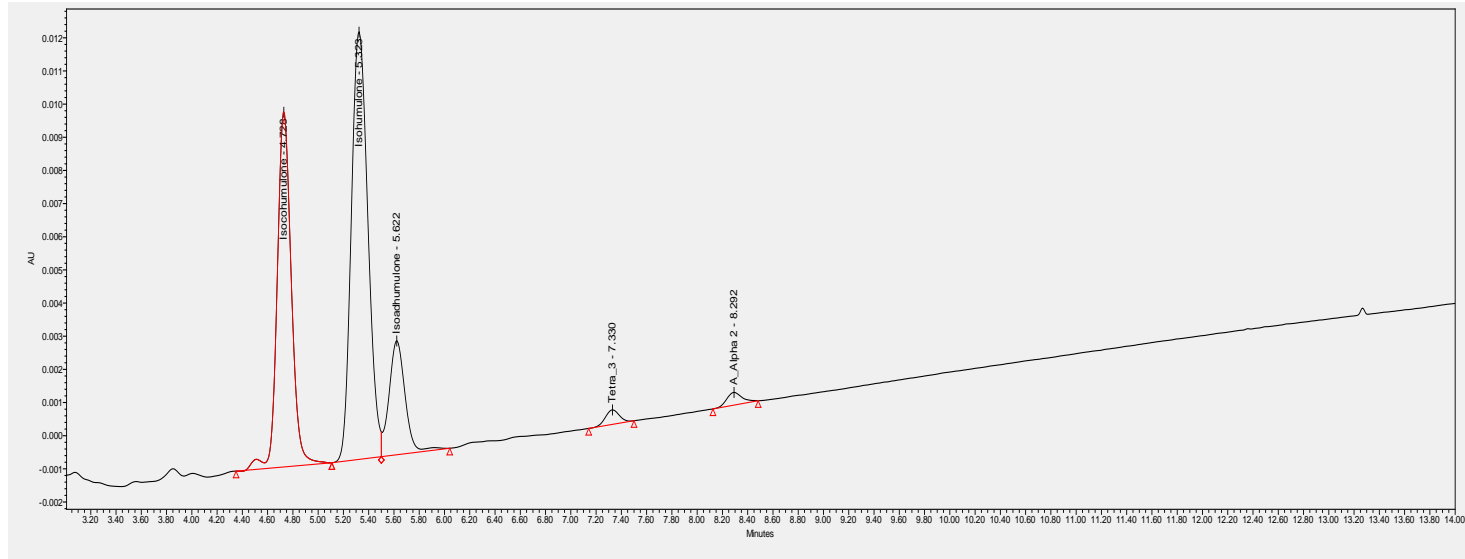


	Name	Retention Time	Area	% Area	Height	Int Type	Amount	Units	Peak Type	Peak Codes
1	Isocohumulone	4.727	78326	33.08	10031	bb			Found	Q20
2	Isohumulone	5.322	109385	46.19	11893	bv			Found	Q20
3	Isoadhumulone	5.621	27448	11.59	3174	vb			Found	Q20
4	Tetra_1	6.617	731	0.31	183	bv			Found	I06 Q20
5	Tetra_2	6.745	4382	1.85	458	vb			Found	Q20
6	Tetra_3	7.438	12371	5.22	1094	bv			Found	Q20
7	Tetra_4	7.820	1852	0.78	172	vb			Found	Q20
8	A_Alpha 2	8.293	2302	0.97	269	bb			Found	Q20
9	Isolone		215159	90.86	25097	Group	15.385	mg/l	Group	
10	Tetralone		19337	8.17	1908	Group	1.684	mg/l	Group	Q10

Acides Alpha=0.2 mg/l

Carlsberg D

Lot SAP: 890000316918



	Name	Retention Time	Area	% Area	Height	Int Type	Amount	Units	Peak Type	Peak Codes
1	Isocohumulone	4.728	83464	35.08	10732	bb			Found	Q20
2	Isohumulone	5.323	117559	49.41	12902	bv			Found	Q20
3	Isoadhumulone	5.622	30353	12.76	3441	vb			Found	Q20
6	A_Alpha 1	7.330	3340	1.40	437	bb			Found	Q20
8	A_Alpha 2	8.292	3205	1.35	383	bb			Found	Q20
9	Isolone		231376	97.25	27075	Group	16.580	mg/l	Group	

Acides Alpha=0.65 mg/l

Vedlegg 4 – Svarskjema og resultater fra kvalitetskontrolltest – sensoriske preferanser

Prøvene bedømmes ut i fra skjema for avvikende smak.

		Sensorisk analyse for avvikende smak																									
Serie nr.:		1		2		2		3		3		3		4		5		6		7		0					
Glass nr.:		a		b		c		d		e		f		g		h		i		j		0					
Identitet:		Tuborg Lite		Tuborg		Tuborg		Carlsberg		Carlsberg		Carlsberg		R. skjærgård		R. sommer		L.D.Ice		Ringnes pils		0					
T=Term nr.	V = Vekting	T	V	T	V	T	V	T	V	T	V	T	V	T	V	T	V	T	V	T	V	T	V				
										Gammel skala -3 +1				Ny skala 1-9													
										TFS	Karakteristikk	TFS	Karakteristikk	Vekting smaksfeil		Total vekting											
Helhetsvurdering:										+1 SAT	Spesielt god	9	Svært god														
										0 SAT	Normalt for denne type øl	8	Veldig god	Maks 1		Maks 2											
												7	God	Maks 2		Maks 3											
												6	Tilfredsstillende	Maks 2, Maks 1 linje med 2		Maks 4											
										-1 NQS	Med feil innenfor akseptable grenser	5	OK	Maks 3, Min 1 linje med 2		Min 3 Maks 5											
												4	Ikke tilfredsstillende	Maks 3, Min 1 linje med 2, Maks 1 linje med 3		Min 3 Maks 7											
												3	Dårlig	Maks 4, Min 1 linje med 3		Min 3 Maks 9											
										-2 NS	Uakseptable feil	2	Svært dårlig	Min 1 linje med 4 eller Min 2 linjer med 3		Min 4 Maks 10											
										-3 NS	Graverende feil	1	Udrikkelig	Min 1 linje med 5 eller Min 2 linjer med 3		Min 5											

Total karakter av de ulike prøvene.

Svarskjema Carlsberg d = tilsatt Alpha foam

Svarskjema Carlsberg e = tilsatt Tetra

Svarskjema Carlsberg f = uten Alpha Foam

Sensorisk analyse, Ringnes Bryggeri						Fredag 05.04.2013			
Serie	Glasskode	Sort	Emballasje	Batchnr.	Tappedato	Plant	TFS	FR	Vurdering
1	a	Tuborg Lite	0,5 bx	14163522	01.04.2013	3101	6,7	SAT	
2	b	Tuborg	0,5 bx	14163348	28.03.2013	3101	6,3	SAT	
2	c	Tuborg	0,33 bx	14163043	22.03.2013	3101	6,4	SAT	
3	d	Carlsberg	0,5 bx	14153026	18.03.2013	3101	6,0	SAT	
3	e	Carlsberg	0,33 bx	14163022	20.03.2013	3101	6,0	SAT	
3	f	Carlsberg	0,5 bx	14163031	18.03.2013	3101	5,8	SAT	
4	g	R. skjærgård	0,5 bx	14163337	25.03.2013	3101	6,3	SAT	
5	h	R. sommer	0,33 bx	14163340	27.03.2013	3101	6,6	SAT	
6	i	L.D.ice	0,5 bx	14163350	26.03.2013	3101	6,1	SAT	
7	j	Ringnes pils	0,5 bx	14163341	24.03.2013	3101	6,6	SAT	

Vises nedenunder i nummerert rekkefølge.

Sensorisk analyse, Ringnes Bryggeri		Fredag 05.04.2013															
Identitet:		Carlsberg															
Dommer:		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Gj.snitt	Score	TFS	TO
Helhet:		6	6	6	5	6	6	7	6	6						6,0	SAT
1 Aromatisk, frukt, blomster																	
2 Kvae, nøtter, gress																	
3 Korn																	
4 Karamellisert, røstet																	
5 Fenol																	
6 Såpe, fettsyre, diacetyl																	
	610 Fettsyre								1					1,0	Noticeably		
	611 Kaprylsyre				2									2,0	Markedly		
	613 Isovaleric													#DIV/0!	#DIV/0!		
	614 Smørsyre (butyric)													#DIV/0!	#DIV/0!		
	620 Diacetyl													#DIV/0!	#DIV/0!		
7 Svovel																	
	700 Svovel	1												1,0	Noticeably		
	710 Sulfitt													#DIV/0!	#DIV/0!		
	721 H2S													#DIV/0!	#DIV/0!		
	722 Mercaptan													#DIV/0!	#DIV/0!		
	724 Lyssmak													#DIV/0!	#DIV/0!		
	726 Brent gummi						2							2,0	Markedly		
	729 Løk			2	1	2			1					1,5	Markedly		
	730 Kokte grønnsaker (DMS)													#DIV/0!	#DIV/0!		
	740 Gjær													#DIV/0!	#DIV/0!		
8 Gammelt, oksidert, mugg																	
9 Sur, syrlig																	
10 Søt																	
11 Salt																	
12 Bitter																	
	1200 Bitter													#DIV/0!	#DIV/0!		
	1219 Etter bitter						1			1				1,0	Noticeably		
13 Munnfølelse																	
14 Fyldighet																	
	1411 Vanndig		1											1,0	Noticeably		
	1479 Uharmonisk		1											1,0	Noticeably		
	1480 Ukarakteriserbar													#DIV/0!	#DIV/0!		
	1490													#DIV/0!	#DIV/0!		

Sensorisk analyse, Ringnes Bryggeri		Fredag 05.04.2013															
Identitet:		Carlsberg															
Dommer:		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Gj.snitt	Score	TFS	TO
Helhet:		5	6	6	6	6	6	6	6	7						6,0	SAT
1 Aromatisk, frukt, blomster																	
2 Kvae, nøtter, gress																	
3 Korn																	
4 Karamellisert, røstet																	
5 Fenol																	
6 Såpe, fettsyre, diacetyl																	
	610 Fettsyre								1					1,0	Noticeably		
	611 Kaprylsyre													#DIV/0!	#DIV/0!		
	613 Isovaleric													#DIV/0!	#DIV/0!		
	614 Smørsyre (butyric)													#DIV/0!	#DIV/0!		
	620 Diacetyl													#DIV/0!	#DIV/0!		
7 Svovel																	
	700 Svovel	2	1											1,5	Markedly		
	710 Sulfitt													#DIV/0!	#DIV/0!		
	721 H2S													#DIV/0!	#DIV/0!		
	722 Mercaptan													#DIV/0!	#DIV/0!		
	724 Lyssmak													#DIV/0!	#DIV/0!		
	726 Brent gummi						2							2,0	Markedly		
	729 Løk				2	2				1				1,7	Markedly		
	730 Kokte grønnsaker (DMS)													#DIV/0!	#DIV/0!		
	740 Gjær													#DIV/0!	#DIV/0!		
8 Gammelt, oksidert, mugg																	
9 Sur, syrlig																	
	910 Eddik													#DIV/0!	#DIV/0!		
	920 Sur	1							2					1,5	Markedly		
10 Søt																	
11 Salt																	
12 Bitter																	
13 Munnfølelse																	
14 Fyldighet																	
	1411 Vanndig								1					1,0	Noticeably		
	1479 Uharmonisk													#DIV/0!	#DIV/0!		
	1480 Ukarakteriserbar													#DIV/0!	#DIV/0!		
	1490													#DIV/0!	#DIV/0!		

Sensorisk analyse, Ringnes Bryggeri		Fredag 05.04.2013															
Identitet:		Carlsberg															
Dommer:		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Gj.snitt	Score	TFS	TO
Helhet:		6	6	6	6	6	6	6	5	5						5,8	SAT
1 Aromatisk, frukt, blomster																	
	110 Alkoholisk													#DIV/0!	#DIV/0!		
	120 Løsemiddel													#DIV/0!	#DIV/0!		
	130 Ester													#DIV/0!	#DIV/0!		
	131 Isoamylacetat													#DIV/0!	#DIV/0!		
	132 Etylhexanoat													#DIV/0!	#DIV/0!		
	133 Etylacetat													#DIV/0!	#DIV/0!		
	140 Fruktig													#DIV/0!	#DIV/0!		
	150 Acetaldehyd													#DIV/0!	#DIV/0!		
	162 Geraniol													#DIV/0!	#DIV/0!		
	170 Humlearoma									1				#DIV/0!	#DIV/0!		
2 Kvae, nøtter, gress																	
3 Korn																	
4 Karamellisert, røstet																	
5 Fenol																	
6 Såpe, fettsyre, diacetyl																	
	610 Fettsyre				1									1,0	Noticeably		
	611 Kaprylsyre													#DIV/0!	#DIV/0!		
	613 Isovaleric													#DIV/0!	#DIV/0!		
	614 Smørsyre (butyric)													#DIV/0!	#DIV/0!		
	620 Diacetyl				1									1,0	Noticeably		
7 Svovel																	
	700 Svovel	1												1,0	Noticeably		
	710 Sulfitt													#DIV/0!	#DIV/0!		
	721 H2S													#DIV/0!	#DIV/0!		
	722 Mercaptan													#DIV/0!	#DIV/0!		
	724 Lyssmak													#DIV/0!	#DIV/0!		
	726 Brent gummi				1									1,0	Noticeably		
	729 Løk									1				1,0	Noticeably		
	730 Kokte grønnsaker (DMS)													#DIV/0!	#DIV/0!		
	740 Gjær													#DIV/0!	#DIV/0!		
8 Gammelt, oksidert, mugg																	
9 Sur, syrlig																	
	910 Eddik													#DIV/0!	#DIV/0!		
	920 Sur				1									1,0	Noticeably		
10 Søt																	
11 Salt																	
12 Bitter																	
	1200 Bitter				1									1,0	Noticeably		
	1219 Etter bitter									1				1,5	Markedly		
13 Munnfølelse																	
	1310 Alkalisk													#DIV/0!	#DIV/0!		
	1330 Metallisk													#DIV/0!	#DIV/0!		
	1360 Kullsyre											2		2,0	Markedly		
14 Fyldighet																	
	1411 Vanndig			1						1				1,0	Noticeably		
	1479 Uharmonisk													#DIV/0!	#DIV/0!		
	1480 Ukarakteriserbar			1										1,0	Noticeably		
	1490													#DIV/0!	#DIV/0!		

Vedlegg 5 – Triangeltest; svarskjema og tabell

TRIANGELTEST

Sensorisk smakspanel Ringnes Bryggeri, 12/4-2013

Navn: _____ Dommer nr: _____

Prøveomgang nr: _____ Dato: _____

Du får servert tre prøver, hvorav to er identiske, og den tredje er forskjellig fra disse to.

Se, lukt og smak på dem i den rekkefølgen du får beskjed om. Kryss av nedenfor for hvilken prøve du mener er **ulik** de to andre.

Dersom du ikke merker forskjell, må du gjette.

Prøve nr.	XXX	XXX	XXX
Hvilken prøve er ulik de to andre?			

Tabell over antall korrekte identifikasjoner som er nødvendige for et signifikansnivå på forskjellige nivåer av triangeltest.

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