



Élelmiszertudományi Kar

Sör- és Szeszipari Tanszék

VEGYES KULTÚRÁK ALKALMAZHATÓSÁGÁNAK TANULMÁNYOZÁSA KÜLÖNLEGES SÖRÖK ELŐÁLLÍTÁSA CÉLJÁBÓL

TDK Dolgozat

JOÓ ÁRON

MSc, I. évfolyam



TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0005
TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0023

Témavezető: Dr. Kun Szilárd
egyetemi adjunktus

**Budapest
2012**

Tartalomjegyzék

1 BEVEZETÉS	2
2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
2.1 A sör	3
2.2 A sörök csoportosítása	4
2.2.1 A felsőerjesztésű („ale”) sörök	4
2.2.2 Az alsóerjesztésű („lager”) sörök	4
2.2.3. A spontán erjesztésű sörök	5
2.3 A sör táplálkozás-élettani hatásai	5
2.4 Különleges sörök	7
2.4.1 Különleges sőrfajták, specialitások	7
2.4.2 Savanyú ale sörök	8
2.5 Tejsavbaktériumok és élesztőgombák	10
2.5.1 Tejsavbaktériumok	10
2.5.2 Élesztőgombák	11
2.5.3 Tejsav - élesztő kölcsönhatások	13
3 KÍSÉRLETI CÉLKITŰZÉSEK	15
4 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	16
4.1 Felhasznált törzsek	16
4.2 Alkalmazott tápközegek és oldatok	16
4.3 Alkalmazott vizsgálati módszerek	18
4.3.1 Agardiffúziós kölcsönhatás vizsgálat	18
4.3.2 Optikai denzitás mérése	18
4.3.3 Élősejt-szám meghatározása lemezöntéses és szélesztéses módszerrel	18
4.3.4 pH meghatározása	19
4.3.5 Kiinduló sejtkoncentráció megállapítása	19
4.3.6 Fermentációs körülmények	19
4.3.7 Savfok meghatározása	19
4.3.8 A söranalizátor (Anton-Paar Alcolyzer Plus)	19
4.3.9 Szénhidrát tartalom meghatározása HPLC-vel	20
5 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKEKELÉSÜK	21
5.1 Törzsek szelektálása	21
5.1.1 Kölcsönhatás vizsgálat	21
5.1.2 Szaporodási vizsgálat	22
5.2 Vegyes kultúras erjesztés	25
5.2.1 A vegyes kultúras erjesztés vizsgálata	26
5.2.2 Vegyes kultúras erjesztés a kiválasztott párosításokkal	36
6 ÖSSZEFOGLALÁS	43
7 IRODALOMJEGYZÉK	45
MELLÉKLETEK	47

1 BEVEZETÉS

A legtöbb embernek a sörrel egy aranyárga színű, kesernyős, alkoholos, enyhén szénsavas ital jut eszébe. Ennek ellenére a világon rengeteg féle és fajta sör létezik: a különleges alapanyagokból álló söröktől kezdve, az egyedi ízesítésű sörökön át, a speciális eljárással főzött sörök széles palettája méltán emeli ezt az italt korunk legnépszerűbb italává.

A világon számos ország él az emberiség köztudatában úgy, mint nagy sörfőző nemzet. Ezek az országok évszázadok óta saját sörfőzési technológiák során állítják elő söreiket. A különleges sörök, egyre növekvő keresletük miatt, egyre nagyobb figyelmet igényelnek, mert – bár a tömegsörök egyeduralmát nem fenyegetik – a fogyasztó ekkor találkozik az igényeit igazán és maradéktalanul kielégítő minőségi itallal. Az alapanyagok kiváló minősége, a fűszerek, fűszernövények aromája, illata, a helyesen megválasztott sörélesztő és az aprólékos figyelemmel kísért sörfőzési eljárás csak egy kis része a különleges sörök esetében megkövetelt tulajdonságoknak.

A különleges sörök körében egyre nagyobb teret hódít a vegyes kultúrákkal erjesztett sörök csoportja, ahol a sörélesztő mellett más mikroorganizmus (többnyire tejsavbaktérium) is jelen van. A vegyes kultúrák erjesztését a spontán erjesztésű söröknél alkalmazták először, mára azonban már irányítottan is készítenek vegyes kultúrát tartalmazó különleges söröket, amelyek főleg Németországban és Belgiumban honosak. Ezzel az eljárási formával lehetőség van a sör további, az egészséget kedvezően befolyásoló tulajdonságainak kibővítésére, hiszen a probiotikus tejsavbaktériumoknak számos ismert kedvező mellékhatása van.

Ezek alapján elegendő késztetést éreztem ahhoz, hogy kísérletet tegyek vegyes kultúrák alkalmazásával különleges sörök előállításához. Célul tűztem ki az általam alkalmazni kívánt tejsavbaktériumok és élesztők közti kölcsönhatás megfigyelését, a szelektált törzsekkel vegyes kultúrák erjesztés véghezvitelét, valamint a kész sörlevek tulajdonságainak feltérképezését és ezek érzékszervi bírálatát is.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A sör

A világon számos gabonaalapú erjesztett italfélét gyártanak a gyártási folyamat során alkalmazott fermentációs eljárás és a felhasznált nyersanyagok alapján. Az alkoholosan erjesztett italok két legnagyobb csoportját a borok és a sörök alkotják **(BLANDINO ET AL., 2003)**.

A sör a világ legnépszerűbb alkoholos itala, első ismert receptje a mai Közel-Kelet kietlen szívéből, Mezopotámiából származik. A sörfőzés mestersége több mint 6000 éves múltra tekint vissza, az elmúlt két évtizedben óriási fejlődésen ment keresztül, ennek eredményeként a mai modern söripar egyre nagyobb termelékenységgel, növekvő minőségi színvonallal és korszerű technológiával állítja elő sörök széles palettáját.

A sör négy alapvető hozzávalóból áll: víz, maláta, komló és élesztő, mint segédanyag. Ezek az összetevők nem csak különbözhetnek, de eltérő összetételben is alkalmazhatók, így például a hagyományos árpamalátához egyéb keményítőtartalmú anyagok - kukorica, rizs, zab- is keverhetők, melyek a sör meghatározott tulajdonságát képesek kihangsúlyozni: a zab selymes simaságot, a rozs enyhe fűszeres ízt, a kukorica könnyedséget biztosít **(JACKSON, 2007)**. A pótanyagokat a maláta enzimeinek segítségével kell oldhatóvá tenni, ennek megfelelően a pótanyag egy bizonyos mennyiséget nem haladhat meg (pl. csak 20% árpa alkalmazható pótanyagként) **(NARZISS, 1981)**.

A sörfőző vízben található ásványi anyagok egyensúlya hatással van a maláta, a komló és az erjedési melléktermékek ízkomponenseinek észlelésére, valamint ezek karakterisztikájára **(PAPAZIAN, 2006)**. A sörlében található ásványi anyagok a következők mennyiségük alapján, csökkenő sorrendben: kálium (kb. 600 mg/l), magnézium (kb. 150 mg/l), kalcium (kb. 25 mg/l), nátrium (kb. 10 mg/l). Nyomelemekként a vas, a cink, a mangán és a réz található meg a sörlében összesen kb. 0,1-0,2 mg/l mennyiségben **(TENGE, 2002)**.

A söriparban alkalmazott maláták és komlók sokfélesége ugyancsak számottevő. Minden malátatípusnak megvannak a maga egyéni tulajdonságai, amelyek hozzájárulnak a sör minőségének kialakulásához **(PAPAZIAN, 2006)**. A sörfőzés során alkalmazott maláta általában árpamaláta, melynek különböző típusait (pilseni, bécsi, müncheni, festő, karamell) dolgozzák fel. A maláta sörgyártás-technológiailag legfontosabb enzimsz csoportjai a keményítőbontásban résztvevő enzimek, a sejtfalbontó enzimek és a fehérjebontó enzimsz csoport. A keményítőbontó α - és β -amilázok, a foszforilázok és foszfatázok, illetve az α -glükózidázok kezdik meg a keményítő részleges hidrolízisét. A hemicellulózok csoportjába tartoznak a sejtfalbontó pentozanázok, valamint a β -glükánázok, amelyek mind endoenzimmel (endo- β -glükánáz), mind exoenzimmel

(exo- β -glükánáz) rendelkeznek. A proteázok és peptidázok széles sorát felölelő fehérjebontó enzimek technológiai jelentősége a kismolekulájú nitrogéntartalmú összetevők képzésében rejlik.

A komló szerepe egyrészt a sörlé ízesítésében és derítésében nyilvánul meg, másrészt a sör természetes tartósítószer. A szárított komlótobozban számtalan kicsiny, csillogó és tapadós serleg formájú mirigy található, komlóliszt vagy lupulin. Ezek tartalmazzák a sör számára értékes alkotórészeket: keserű anyagokat, komló olajokat és komló cseranyagokat. A komlóolajok a lupulin értékes alkotórészei. 65-70%-uk terpén-szénhidrogénekből (mircén, szeszkviterpén), a maradék 25-30% oxivegyületekből áll. Illékonyak, nyugtató és gyökfogó hatással rendelkeznek. A komló cseranyagok vízben oldódnak, a lupulinban, a szárban, főleg azonban a komlószirmokban vannak. Ezek

85%-ban antocianogének formájában találhatók meg a komlóban. Polimerizációs indexük kicsi, fehérjekicsapó hatásuk révén komplexet képeznek, amelyek veszélyeztetik a sör kolloidstabilitását. A komló keserűanyagok szintén a lupulin értékes alkotórészei. Keserűsavakból és lágy gyantákból állnak. Az α és β -savak csak szerves oldószerben oldódnak, hő hatására azonban izomerizálódnak. A gyanták keserűsavakból képződnek oxidációs folyamatok során, felosztás szerint lehetnek lágy vagy kemény gyanták.

2.2 A sörök csoportosítása

2.2.1 A felsőerjesztésű („ale”) sörök

Történelmileg a középkorban az „ale” és a „sör” szavaknak két különböző jelentése volt, ahol az ale egy komlózatlan malátatípusú italt jelentett a komlózott sörrel ellentétben. Az ale-t flandriai munkások hozták be Nagy-Britanniába, akik nem kedvelték annyira az angol sörök édeskés ízét. Napjainkban a felső erjesztésű sörök csak pár százalékát teszik ki az összes sörfogyasztásnak, ennek ellenére az ale-ek Nagy-Britanniában, Németországban, Kanada keleti megyéiben, az USA-ban és Belgiumban nagyon gyakoriak. Ale típusú söröknél *Saccharomyces cerevisiae* élesztőfajtát alkalmaznak, a sör erjesztése általában 16°C és 24°C között történik és a beélesztőzés aránya általában alacsonyabb, mint a lager söröknél (PAVSLER & BUIATTI, 2009).

2.2.2 Az alsóerjesztésű („lager”) sörök

A lager típusú sörök a világszerte gyártott sörök 90%-át teszik ki. Az első lépéseket az alsó erjesztésű sörök előállítására felé a 16. században bajor szerzetesek, valamint I. Maximilian herceg rendelete tették. A szerzetesek kísérletet tettek arra, hogy a sört hosszabb időre hideg pincében tárolják. E tárolási módszer révén figyelték meg, hogy egyes élesztők ahelyett, hogy az erjesztőkád tetejére úsztak volna, leülepedtek a tartály aljára. Innen ered a „lager”, vagyis az alsó erjesztés

elnevezése. A lager söröket 7-14°C között erjesztik *Saccharomyces carlsbergensis* (más néven: *Saccharomyces uvarum*) élesztőfajtaival (PAVSLER & BUIATTI, 2009).

2.2.3. A spontán erjesztésű sörök

Spontán erjesztésű sör hallatán a legtöbb sörkedvelőnek a belga *lambic* jut eszébe, amely Belgiumból származik. Magát a spontán erjesztés „technológiáját” azonban néhány történész szerint a rómaiak hozták be a mai Belgium területére. Az eljárás során a sörfőzők kint hagyták söreiket a szabadban, melynek hatására a levegőben található vadélesztők és egyéb mikroorganizmusok beoltódtak a sörbe, megkezdve a spontán erjesztés folyamatát (DE KEERSMAECKER, 1996).

A vad sörök gyakorlatilag próba-szerencse alapon készültek, mivel a levegő olyan mikroorganizmusokat is tartalmaz, amely a sör ízét, aromáját és jellegét kedvezőtlenül befolyásolja. Előállításuk mégis még mindig folyik, hiszen a vadélesztők rendelkeznek olyan speciális, kedvező tulajdonságokkal, amelyekkel a tenyésztett élesztőkultúrák nem. Ezek a tulajdonságok leginkább az ízérzetben jelentkeznek: a sörnek borsos, savas, gyümölcsös, fűszeres, enyhén füstös aromát kölcsönözhet (JACKSON, 2007).

A *lambic* sörben több mint 86 mikroorganizmust azonosítottak, közülük a *Brettanomyces bruxellensis* és a *Brettanomyces lambicus* voltak a legjellemzőbbek. A sörfőzés folyamata általában október és május közé esett, mivel nyáron olyan nem kívánt mikroorganizmusok is jelen vannak a levegőben, amelyek elronthatják a sört (PAVSLER & BUIATTI, 2009).

Napjainkban a spontán fermentáció mind a borgyártásban, mind a sörgyártásban ritka, mivel az ezekhez az italokhoz szükséges starter élesztőtörzset inkább vállalatok által gyártott és szárított formában szerzik be (FARKAS ET AL., 2005).

2.3 A sör táplálkozás-élettani hatásai

A sör nagy mennyiségű vizet tartalmaz, amely az emberi szervezet 70%-át teszi ki. Minden életfolyamathoz, mint pl.: az emésztéshez, a felszívódáshoz, a tápanyagok szállításához, a testszövetek felépítéséhez, az izmok, ízületek működtetéséhez nélkülözhetetlen. A víz tehát tápanyagok oldószere és szállítója is (HEGYESNÉ VECSERI ET AL., 2011; SZLADECSKÓ, 1998).

Ha a sört tovább elemezzük, akkor következő komponensként az alkoholt kell megemlíteni. Az alkoholfogyasztásnak vannak negatív és pozitív oldalai is, azonban a sörnél elsősorban a pozitív hatásáról beszélhetünk, mivel az alkoholos italok közül a legkisebb alkoholtartalommal rendelkezik. A naponta kis mennyiségben fogyasztott alkohol átlagosan 50%-kal csökkenti a szív- és érrendszeri megbetegedések számát, továbbá serkenti az étvágyat, valamint elősegíti a bélműködést. Védőhatása az elsődleges rizikófaktornak tekintett LDL-koleszterin („low-density lipid”) szint

csökkenésén alapszik. Az emberi szervezet képes etanolból energiát előállítani 7 kcal/g értékben, míg ezzel szemben a fehérjék 4 kcal/g, a szénhidrátok pedig csupán 3,75 kcal/g-ot **(HEGYESNÉ VECSERI ET AL., 2011; BAMFORTH, 2002)**.

A sör számos, többségében a malátából származó ásványi anyagokat tartalmaz, ezek közül a legfontosabbak a kálium, a nátrium, a kalcium, és a magnézium. Egy liter sör 1100-2800 mg ásványi anyagot tartalmaz.

A nátrium a membránpotenciál fenntartásához szükséges és az izom-összehúzódásban, valamint az ozmózis irányításában tölt be fontos szerepet. A kálium ezzel szemben a membránpotenciál megfelelő értéken tartásáért felel, ezen kívül a sav-bázis egyensúly irányításában, az izom összehúzódásban és az enzimszabályozásban is részt vesz. A kálium-nátrium koncentráció-viszonya alapján a sör nátriumszegény ételnek számít, aránya alapján a sör olyan diétákba is beilleszthető, amelyeket a magas vérnyomásban, ödémás tünetekben és veseelégtelenségben szenvedőknek javasolják.

Legfontosabb elektrolitként a kalciumot tartják számon. Elengedhetetlen az enzimszabályozáshoz, valamint fontos építőeleme a fogak és a csontok számára. A membránok és membrán-transzportcsatornák a magnézium által stabilizálódnak, emellett fontos szerepet játszik a fehérje- és nukleinsav-szintézisben.

A sörben található nyomelemek közül a sejtvédő, daganatos megbetegedéseket megelőző szelén, a vérvézésben résztvevő vas és réz, valamint a szervezet számára nélkülözhetetlen enzimeket felépítő cink érdemel említést (összesen kb. 0,1-0,2 mg/l).

A sörben fellelhető vitaminok az élesztővel és a malátával kerülnek bele az italba. A riboflavin (0,35 mg/l), a folsav (0,03-0,15 mg/l) vagy a niacin (7mg/l) hiánya jól ismert tünetekkel jár, mivel a riboflavin az összes oxidatív metabolizmus terén koenzimként szolgál, a folsav csökkenti a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulásának kockázatát, a niacin pedig az élő sejtek legfontosabb elektrontranszport-láncának (NAD⁺/NADH) az alkotóeleme. Fontos megemlíteni még a tiamint (0,02 mg/l), a piridoxint (0,6 mg/l) és a pantoténsavat (1,5 mg/l), utóbbi kettő jelentősége azonban kisebb, mivel az emberben ezek mellőzése során hiánybetegség nem lép fel.

A fenolsavakat, a melanoidineket, a maláta- és élesztőeredetű vitaminokat és a komló bioaktív polifenoljait a sör antioxidánsaiként tartják számon. Ezeket az anyagokat élettani hatásuk alapján három csoportba lehet sorolni: *antikarcinogén hatásként* a rákkeltő vegyületek DNS-károsító hatását gátolják (fenolsavak), megakadályozzák a rákos sejtek szaporodását (humulon, quercetin) és a sejtkárosító enzimek szintézisét (xantohumol, izoxantohumol). A humulon és a lupulon *antimikrobális hatással* rendelkezik: gátolják a sörben a kórokozó baktériumok (*Streptococcus*, *Candida*, *Fusarium*) szaporodását. Antioxidáns hatású a xantohumol az

LDL-koleszterin oxidáció elleni védelme, a humulonok és lupulonok szabadgyök megkötő képességük miatt, valamint a ferulasav 100%-os hatékonysága miatt.

A sör tartalmaz ballasztanyagokat is, amelyeknek szintén jelentős a táplálkozás-élettani szerepük. Ezek az anyagok az ember bélrendszere által termelt enzimei számára emészthetetlen szénhidrátokból és egyéb szerves vegyületekből állnak. A sörcfre többnyire malátaeredetű alacsonyabb és magasabb rendű dextrineket, β -glükánokat és pentózokat tartalmaz ballasztanyagként 1,5 g/l mennyiségben. Legnagyobb jelentőségük az emésztőrendszerre gyakorolt pozitív hatásukban rejlik (TENGE, 2002).

2.4 Különleges sörök

A Magyar Élelmiszerkönyv (*Codex Alimentarius Hungaricus*) pontosan leírja a sör definícióját, viszont különleges sörök helyett már csak az ún. ízesített sörök csoportjával találkozunk, amely a kódex szerint olyan sör, amelynél az ízhatás kialakításához a komló helyett vagy mellett egyéb ízesítőanyagot is felhasználhatnak. Az így előállított sörök részletes jellemzőit a gyártmányalap rögzíti. Az alkoholmentes sörök nem tartoznak ebbe a csoportba.

2.4.1 Különleges sörfajták, specialitások

A különleges borok és pezsgők mellett egyre elterjedtebb, főként külföldön (Cseh Köztársaság, Németország, Belgium, Nagy-Britannia, az Egyesült Államok egyes részei), sörkülönlegességek készítése, amelyekre leginkább a különleges összetevőkből eredő íz, a jóval magasabb alkoholtartalom és nem utolsósorban a speciális sörfőzési technológia a jellemző. A következőkben néhány példát kívánok bemutatni.

A Carlsberg vállalat alá tartozó koppenhágai Jacobsen sörfőzde egyik sörkülönlegessége a Vintage. Ízében a vanília és a karamell dominál, sherry és madeira aromával megbolondítva. Az évente legfeljebb ezerüvegnyi ital tölgyfahordókban érlelődik, alapanyaga a tűzezen füstölt skót maláta. Egy másik nagy luxusmárka az ausztrál Foster's-csoport által 2008 óta főzött Crown Ambassador Reserve Lager. Több exkluzív társához hasonlóan ez a 10,2 V/V% alkoholtartalmú sörkülönlegesség is évekig eltartható, idővel érik is (BEDŐ, 2011).

Találunk még magasabb alkoholtartalommal rendelkező söröket, amelyeket a skót BrewDog és a német Schorschbräu vállalat állít elő. A BrewDog söre („The End of History”) 55 V/V% alkoholtartalmú. Az első korty után valóban a sör jut róla eszünkbe, a magas alkoholtartalom ellenére ez mégsem sörpálinka, mert nem lepárlással, hanem a víz többszöri kifagyasztása mellett főzéssel készül (BEDŐ, 2011).

Különleges búzasörök találhatók Németországban: a Hefeweizen, a Kristallweizen és a Dunkelweizen. A német „hefe” szó az üledékes búzasört hivatott jelölni: „mit hefe” annyit tesz, „élesztővel”. A Hefeweizen aromakarakterisztikája rendkívül sokszínű, a felsőerjesztésű élesztő fűszeres, egyben gyümölcsös ízt kölcsönöz a sörnek. Komlót egyáltalán nem vagy csak nagyon kis mennyiségben alkalmaznak a sörfőzés során, így az élesztős íz jobban dominál. A Hefeweizen magas szén-dioxid tartalma miatt remek szomjoltó, testességét a magas szárazanyag- és alkoholtartalom (4,9-5,5 V/V%) alakítja ki. A Kristallweizen szinte egy az egyben megegyezik a Hefeweizen összes tulajdonságával. Az egyetlen kivétel, hogy a Kristallweizen szűrt, azaz élesztőmentes sörként kerül a fogyasztókhoz. Színét tekintve aranyárga, az élesztő hiánya miatt íze tisztább, kellemesebb. A Dunkelweizen ezzel szemben jóval több különbséggel rendelkezik korábban említett társaihoz képest. Ez a sörfajta müncheni barna malátából készül, amely a sörnek szembetűnő sötétbarna színt ad. Ízét tekintve – szűretlen mivolta miatt – élesztős, emellett enyhén almás-tejkaramell és banánízű. (JACKSON, 2007; PAVSLER & BUIATTI, 2009; PAPAIZIAN, 2006).

2.4.2 Savanyú ale sörök

A következőkben ismertetni fogok néhány fontosabb sörfajtát, elsősorban olyanokat, amelyek szorosan kapcsolódnak dolgozatom témájához. Ezek olyan sörfajták, amelyek vegyes kultúrát tartalmaznak.

A világ minden táján készítenek olyan élelmiszereket, amelyekben kevert kultúra található, ezek között természetesen a sör is felfedezhető. Európában mindössze a belga *lambic*, a savas *ale* és a német *weissbier* készül vegyes kultúrákkal, amely rámutat arra, hogy a sör nem jellemzően olyan ital, amelynek készítése során több mikroorganizmust alkalmaznak (FARKAS, 2007).

2.4.2.1 Lambic sörök

A *gueuze* egy olyan összetett, kellemesen savanyú ízű, kiegyensúlyozott, világos, búza alapú ale sör, amelyet számos, Belgiumból származó mikroba erjeszt (PAVSLER & BUIATTI, 2009).

Ez az ital a *lambic* családnak legelterjedtebb tagja, alkoholtartalma 5% körül van. Sajátossága, hogy fiatal, élénk *lambic* sört kevernek öreg, karakteres ízű *lambic* sörrel, ennek eredménye egy pezsgő jellegű ital. Fontos megemlíteni, hogy a fiatal *lambic* még mindig tartalmaz fermentálható cukrokat, amelyeket az öreg *lambic* komplex élesztői a palackban tovább erjesztenek. Ezt nevezik másodlagos fermentációnak (JACKSON, 2007; FARKAS, 2007; DE KEERSMAECKER, 1996).

Hozzávalóként 30-40%-ban malátázatlan búzát, pilseni malátát és 3 éves komlót alkalmaznak a sörkészítésnél. A „öreg” komlót inkább tartósítószerként használják, mint a keserű íz kialakításához, így a keserűértéket is nehezebb megbecsülni. A spontán fermentáció mellett a házi

és ipari sörfőzésnél inkább tiszta *Saccharomyces* és *Brettanomyces* élesztőtörzseket használnak *Pediococcus* és *Lactobacillus* törzsek mellett (PAVSLER & BUIATTI, 2009). A fenti elkészítés a lambic sörök túlnyomó többségére igaz.

Néhány sőrfajta: a De Cam Oude Geuze egy 6,5% alkoholtartalmú arany színű, tejsavas-ecetes-borsos és grapefruit aromájú sörkülönlegesség, amely csersavas utóízzel rendelkezik. A Lindemans Cuvée René már különlegesebb: 5%-os alkoholtartalma mellé arany sárga szín, savanyú pincearoma, sherry íz és egy kevés rebarbara íz párosul. A Mort Subite Fond Gueuze első hallásra nem tűnik valami vonzónak: a kellemes méz- és zöldlevél illat mellett az ecetes, olajos érzet is jellemző, csípős utóízzel. A Girardin Oude Geuze ezzel szemben már biztatóbb: fa és sherry illat, száraz és savanyú almaíz, valamint keserű, almabor jellegű utóíz jellemzi ezt a sörkülönlegességet (JACKSON, 2007).

A gyümölcsös lambic sörök annyiban különböznek a fent felsorolt gueuze sőrfajtáktól, hogy értelemszerűen gyümölcsöt tartalmaznak, de ez nem jelenti azt, hogy ezek egyszerű gyümölcssörök. A legáltalánosabb gyümölcsös lambicok meggyet (*kriek*), málnát (*framboise*) és szőlőt (*druivenlambik*) tartalmaznak (PAVSLER & BUIATTI, 2009).

2.4.2.2 A „Berliner Weisse”

Európa egyik legismertebb savanyú söre a Németországból származó Berliner Weisse („weissbier”). A búzalapú Berliner Weisse igen ritka sörkülönlegességnek számít, néha még a hazájában, Németországban fellelhető sörbárokban sem lehet kapni, de ha mégis, akkor általában „mit Schuss” jár hozzá. A „mit Schuss” egy adag vörös színű málnaszirupot vagy egy adag zöld színű, szagos mügeből készült szirupot jelent a sörbe. Ez a szokás csak az elmúlt évtizedben vált elterjedté, korábban a Berliner Weisse-szüretlen pilseni sör keverék, az ún. „Stangenbier”, valamint a Berliner Weisse-köménylikőr keverék, az ún. „Weisse mit Strippe” volt népszerű. Ezek azonban mára már nem maradtak meg (JACKSON, 2007).

Alkoholtartalma alacsony (kb. 3%), savanykás, frissítő íze, opálos, arany sárga színe, magas szén-dioxid tartalma (> 0,6%) és stabil habja miatt mégis nagyon kedvelt ital (JACKSON, 2007).

A sörfőzéshez felhasznált örleményben rendszerint 30% búzamaláta és 70% pilseni maláta van. A sörben vegyes kultúras erjesztés megy végbe: felsőerjesztésű élesztő mellé *Lactobacillus delbrückii* tejsavbaktérium kerül, melynek során egy igen savanyú íz alakul ki. Ennek erőssége különböző évjáratú sörök keverésével és hosszabb ideig történő hideg érleléssel növelhető. Keserűértéke rendkívül alacsony (PAVSLER & BUIATTI, 2009).

Nemcsak Németországban, Belgiumban is készül „fehér” sör. A belga fehér ale-ek malátázatlan búzából és malátázott árpából készülnek. Különlegességük abban rejlik, hogy korianderrel és narancshéjjal fűszerezik őket, valamint nemes komlókat alkalmaznak. Ezek a

komlófajták alacsony keserűértéket biztosítanak, jelenlétük a sörben csak nyomokban vagy egyáltalán nem érezhető. A legismertebb belga fehér sör a Hoegaarden (**PAPAZIAN, 2006**).

2.5 Tejsavbaktériumok és élesztőgombák

2.5.1 Tejsavbaktériumok

A tejsavbaktériumok csoportja morfológiailag eléggé rendezetlen, hiszen egyaránt megtalálhatóak rövid és hosszú, pálcika alakú és gömbölyű, kokkusz formájú tejsavbaktériumok (1. táblázat), továbbá az ide tartozó baktériumok mind Gram-pozitívak, túlnyomó többségük nem képez spórát és nem mozognak. Obligát erjesztők, mégis anaerobok, de aerotoleránsak, többnyire főként növényi anyagokban, valamint emberek és állatok nyálkahártyáiban, kommenzalistaként fordulnak elő (**TENGE, 2002**).

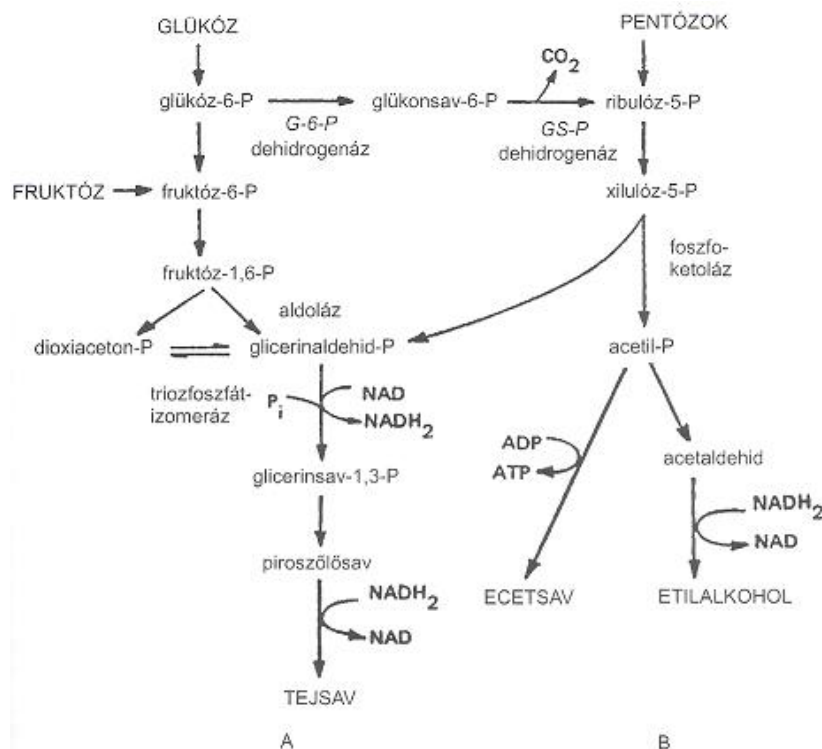
1. táblázat: A tejsavbaktériumok nemzetsége, valamint jellemző alaki és élettani tulajdonságaik (**BLANDINO ET AL., 2003; TENGE, 2002; DEÁK, 2006**)

Nemzetség	Sejtalak	CO ₂ képzés	Szaporodás			
			10°C	45°C	pH 4,4	pH 9,6
<i>Lactobacillus</i>	pálcikák (bacillusz, kokkobacillusz)	±	±	±	±	-
<i>Pediococcus</i>	tetrád	-	±	±	+	-
<i>Lactococcus</i>	kokkusz	-	+	-	±	-
<i>Leuconostoc</i>	kokkuszok láncban	+	+	-	±	-
<i>Carnobacterium</i>	kokkusz	-	+	-	-	-
<i>Enterococcus</i>	kokkusz	-	+	+	+	+
<i>Tetragenococcus</i>	tetrád	-	+	-	-	+
<i>Weisella</i>	kokkusz	+	+	-	±	-
<i>Streptococcus</i>	lánc	-	-	±	-	-

A *Lactobacillus* nemzetség a tejsavbaktériumokon belül messze a legnagyobb csoport, amelyet még három csoportra lehet felosztani: A *Lactobacillus delbrückii*-csoportra, amely obligát homofermentatív, a *Lactobacillus casei-pediococcus*-csoportra, amely fakultatív heterofermentatív, illetve a *Leuconostoc*-csoportra, amely obligát heterofermentatív (**TENGE, 2002**). Az olyan homofermentatív tejsavbaktériumok, mint a *Pediococcus*, a *Streptococcus*, a *Lactococcus* és a *Lactobacillus*, glükózból egyedüli vagy többségi termékként tejsavat, míg a heterofermentatív tejsavbaktériumok, mint a *Weisella*, a *Leuconostoc* vagy néhány *Lactobacillus*, glükózból a tejsav mellett szén-dioxidot, etanolt és ecetsavat is termel (**BLANDINO ET AL., 2003**).

A tejsavbaktériumok általános jellemző tulajdonsága a tejsavas erjedés, amely két lényegesen különböző biokémiai úton mehet végbe, ezt jól szemlélteti az 1. ábra. A glükóz homofermentatív erjesztése a glikolízis szerint történik, ahol a piroszőlősav közvetlenül tejsavvá

redukálódik. A heterofermentatív erjedés első szakasza ezzel szemben a pentózfoszfát utat követi (DEÁK, 2006).



1. ábra: A homo- (A) és heterofermentatív (B) tejsavas erjedés vázlata (DEÁK, 2006)

A tejsavbaktériumok esetén még mindenképpen meg kell említeni, hogy számos törzs rendelkezik probiotikus tulajdonsággal, és ha egy termék – pl. vegyes kultúrával erjesztett ital – ilyen tulajdonsággal rendelkező törzset tartalmaz, akkor mindenképpen nőhet a funkcionalitása.

2.5.2 Élesztőgombák

Az élesztőgombák egysejtű élőlények, működésük szerint a sporogének (spóráképzők) és az asporogének (nem spóráképzők) csoportjába sorolhatók. A sporogének csoportjába tartoznak a sörélesztők, ezek felső- és alsóerjesztésű élesztőkre különíthetők el. Az élesztő általában gömbölyű vagy ovális alakú, ásványi anyagokat és vitaminokat tartalmaz, enzimei közt megtalálhatjuk a hidrolázokat, a transzferázokat, az oxidoreduktázokat, a liázokat, az izomerázokat és a ligázokat (NARZISS, 1981).

Az élesztőgombák heterotróf aerob szervezetek, a fajok mintegy fele fakultatív anaerob és jellegzetes alkoholos erjesztést végez. A glikolízis útján képződött piroszőlősav acetaldehiddé decarboxileződik, majd etil-alkohollá redukálódik. Az erjedés másodlagos termékei (glicerin, diacetil, etil-acetát) fontosak az erjesztett italok aromájának kialakításában (DEÁK, 2006).

Az élesztő az egyszerű szénhidrátokat diffúzióval veszi fel, a szacharózt invertáz enzim bontja le a sejtfal közelében glükózzá és fruktózzá. A maltóznak és a maltotrióznak külön szállítórendszerei vannak a maltózpermeáz és maltotriózpermeáz révén. Ezeknek az enzimeknek a jelenlétéhez az élesztőnek adaptálódni kell a két szénhidráthoz. Ez úgy lehetséges, ha az élesztőt a főerjedés után azonnal újra felhasználják, vagy szaporítása sörlemben történt (NARZISS, 1981).

Az alsó- és felsőerjesztésű sörélesztőknek számos, egymáshoz képest különböző tulajdonsága van, amelyeket elsősorban az alkalmazott sörélesztő törzsek genetikailag meghatározott tulajdonságai okoznak. Az 2. táblázat bemutatja ezeket a tulajdonságokat.

2. táblázat: Az alsóerjesztésű (lager) és felsőerjesztésű (ale) sörélesztő törzsek fiziológiai és genetikai jellemzői (DEÁK, 2006)

Tulajdonság	Alsóerjesztésű (lager) sörélesztő	Felsőerjesztésű (ale) sörélesztő
Faji besorolás	<i>S. pastorianus</i> (syn.: <i>S. carlsbergensis</i>) és <i>S. cerevisie</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Szelekció iránya	alkohol tolerancia	alkohol tolerancia
Ploiditás	diploid, poliploid, aneuploid	diploid, aneuploid
Spórázás	gyenge	jó
Spórák életképessége	rossz	rossz
Csomósodás (flokkuláció)	erős	gyenge vagy nincs
Szaporodási ráta	lassú	lassú
Erjesztés	gyors	gyors
Melibióz hasznosítás	pozitív	negatív
Maltóz hasznosítás	kiváló, a maltózfelvételt nem gátolja (represszálja)	átlagos, a maltózfelvétel glükózrepresszió alatt áll
Maltotrióz hasznosítás (transzport)	jó	gyenge
Valintranszport	gyenge	gyenge
Fenol aroma termelése	nincs (ferulasav dekarboxiláz aktivitás hiányzik)	nincs (ferulasav dekarboxiláz aktivitás hiányzik)
Erjesztés 8°C-on	jó	gyenge
Erjesztés 37°C-on	nincs	van

A sörgyártáshoz felhasznált élesztőnek számos szempontnak kell megfelelnie. A jó sörélesztő az alábbi tulajdonságokkal rendelkezik:

- Nagy erjesztési sebesség alacsony sejthozam mellett
- Jó maltóz és maltotrióz-erjesztő képesség
- A kéntartalmú vegyületek csökkent metabolizmusa
- Jó alkoholtolerancia
- Jó erjesztőképesség 8-15°C között

- Jó stressztűrő képesség az etanollal, ozmotikus és gravitációs nyomással szemben
- Megfelelő és stabil aromatermelési szint
- Az adott technológiának megfelelő flokkulációs képesség
- Genetikai stabilitás az erjesztés során **(DEÁK, 2006; RUSSELL ET AL., 1987)**

2.5.3 Tejsav - élesztő kölcsönhatások

Vegyes kultúrák esetében, az élesztők, baktériumok és gombák közti kölcsönhatások nem csak faji, hanem nemzetségi szinten is végbemegy. A vegyes kultúrák szerepe számos gabonalapú ital készítésénél megfigyelhető. Például Egyiptomban, Törökországban és Kelet-Európa egyes országaiban népszerű a „Bouza”, amely egy halványsárga színű, savanyú, alkoholos búzaital. Vizsgálatok kimutatták, hogy a Bouza alacsony pH-ja (3,9-4,0) a tejsavas erjesztésnek, míg az alkohol kialakulása, valamint a 1,5-2%-os fehérjetartalom az élesztős erjesztésnek köszönhető. Ilyen a rizsbor is, amely a világ talán legismertebb rizsből készült itala Japánban és Kínában. A cefrét természetes (spontán) tejsavas erjesztés alá vetik, ennek során számos aerob baktériumok, vadélesztők, tejsavbaktériumok és szaké élesztők kerülnek bele **(BLANDINO ET AL., 2003; PRADO ET AL., 2008)**. Még a Boza-t említeném meg, amely egy bolgár eredetű alacsony alkoholtartalmú, bézs színű, édes, enyhén savanyú ital, amelyet árpából, zabból, kölesből, kukoricából, búzából vagy rizsből állítanak elő erjesztéssel. Bizonyították, hogy a Boza a bakteriocin termelő tejsavbaktériumok jelentős forrása, mivel számos tejsavbaktériumot (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* és *Weisella* nemzetségeket) sikerült izolálni néhány *Candida*, *Geotrichum* és *Saccharomyces* nemzetségű élesztő mellett **(BOTES ET AL., 2007; KRAHL ET AL., 2009)**.

A legtöbb, a témával foglalkozó tanulmány a különböző mikroorganizmusok alkoholos fermentációra és késztermékre gyakorolt hatását vizsgálta **(FARKAS ET AL., 2005)**.

NAKAMURA ÉS HARTMAN (1961) a *Saccharomyces cerevisiae* : *Lactobacillus plantarum* és a *Saccharomyces cerevisiae* : *Lactobacillus casei* törzsek kölcsönhatásait vizsgálta kétféle tápközegben, különböző pH értékeken és hőmérsékleteken, 48 órás inkubációs idővel. Ezek mellett sejtszámlálást is végeztek, ami a vizsgálat fő célja volt. A kísérletek során párosításonként négyféle variációt vizsgáltak: élesztős mono- és kevert kultúra az első tápközegben, valamint élesztős mono- és kevert kultúra a második tápközegben. Megállapították, hogy 37°C-os inkubálás során az élesztőszám a kevert kultúrákban rohamosan csökkent, amelyet a tápanyagok után folytatott versengésre, a baktériumok által termelt gátló hatású anyagcseretermékekre (tejsav) és a hőmérsékletre, valamint a fizikai környezet megváltozására vezettek vissza.

Narendranath már célirányosan figyelte az etanoltermelés mértékét tejsav-élesztő kölcsönhatás alapján. Az általa kiválasztott 12 tejsavbaktérium és *Saccharomyces cerevisiae* élesztő

kölcsönhatás-vizsgálata során megállapította, hogy kevert kultúrák erjesztés és nagyobb mennyiségű tejsavbaktérium jelenléte során nem következett be számottevő változás a szénhidrát hasznosításban, míg monokultúrák élesztő fermentációja során igen. Narendranath a méréseit fajsúlyvizsgálatra alapozta, ugyanis a glükóz alkohollá és szén-dioxiddá alakulása során a cefre oldott anyagai eltűntek, mely során lecsökkent a cefre fajsúlya. További kísérletek alapján azt is megállapította, hogy öt különböző tejsavbaktérium változó koncentrációjú búzacefrében élesztő távollétében életben marad, élesztő jelenlétében azonban a fermentáció végeztével elpusztulnak. A pusztulási ráta ráadásul emelkedett a tejsav-koncentráció megnövekedésével együtt, etanol jelenléte mellett **(NARENDRANATH, 2000)**.

Farkas és társai kevert élesztőtörzsek (*Saccharomyces cerevisiae* : *Saccharomyces ludwigii*(1) és *Saccharomyces cerevisiae* : *Torulopsis delbrueckii*(2)) kölcsönhatását vizsgálták az etanoltermelés szempontjából. Kísérletükből egyértelműen megállapították, hogy míg monokultúrák erjesztésénél az alkoholtartalom csak 1 V/V% körül mozgott, addig az 1-es kevert kultúrák erjesztésénél a másodlagos fermentáció során 1,6-3,71 V/V%, a 2-esnél 2,68-4,52 V/V% alkoholtartalmat sikerült elérni **(FARKAS ET AL., 2005)**.

3 KÍSÉRLETI CÉLKITŰZÉSEK

A sör világszerte kedvelt ital, a sörkülönlegességek pedig egyes országokban igazi kuriózumnak számítanak. A különleges borok és pezsgők mellett egyre elterjedtebb, főként külföldön, sörkülönlegességek készítése, amelyekre leginkább a különleges összetevőkből eredő íz, a jóval magasabb alkoholtartalom és nem utolsósorban a speciális sörfőzési és erjesztési technológia jellemző.

A világ minden táján készítenek olyan élelmiszereket, amelyekben kevert kultúra található, ezek között természetesen a sör is előfordul. Európában mindössze a belga *lambic*, a savas *ale* és a német *weissbier* készül, amely rámutat arra, hogy a sör nem jellemzően olyan ital, amelynek készítése során több mikroorganizmust alkalmaznak.

Ezeknek tudatában elég eltökéltséget éreztem magamban ahhoz, hogy kísérletet tegyek egy kevert kultúrával erjesztett különleges sör előállítására. A kísérlet során az alábbi célkitűzéseket fogalmaztam meg:

- Tejsavbaktérium és *Saccharomyces* törzsek összegyűjtése különböző forrásokból
- Tejsavbaktérium törzsek szelektálása
 - kölcsönhatás vizsgálat
 - szaporodóképesség alapján
- Vegyes kultúras erjesztés tervezése és a megfelelő párosítások kiválasztása
- Vegyes kultúras erjesztés optimalizálása beoltási sejtkoncentráció tekintetében

3.1 Kísérlet helye

Kísérleteimet a Budapesti Corvinus Egyetem Sör- és Szeszipari tanszékének hallgatói, valamint fermentációs laboratóriumaiban végeztem.

4 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1 Felhasznált törzsek

Tejsavbaktérium törzsek:

- *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (Chr. Hansen)
- *Lactobacillus casei* 01 (Chr. Hansen)
- *Lactobacillus plantarum* 299v (AFP*)
- *Lactobacillus delbrückii* spp. *bulgaricus* (KÉKI)
- *Lactobacillus curvatus* 2775 (AFP)
- *Lactobacillus sakei* 2313 (KÉKI)
- *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* SF1 (ICT**)
- *Lactobacillus curvatus* 2768 (AFP)
- *Lactobacillus plantarum* 2142 (AFP)
- *Lactobacillus casei* Shirota (University of Utrecht)
- *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* TH3 (Chr. Hansen)

* Dairy Institute of the Agricultural Faculty of Perugia

** Institute of Chemical Technology of Prague

Saccharomyces élesztő törzsek:

- *Saccharomyces cerevisiae* W66 (BCE, Sör- és Szeszipari Tsz.)
- *Saccharomyces cerevisiae* WS 34/70 (Weihenstephan, Freising)
- *Saccharomyces cerevisiae* W120 (BCE, Sör- és Szeszipari Tsz.)
- *Saccharomyces carlsbergensis* 843 (NCAIM)
- *Saccharomyces pastorianus* 805 (NCAIM)

4.2 Alkalmazott tápközegek és oldatok

1. Laboratóriumi tápközegek:

MRS (de Man-Rogosa-Sharpe) tápleves

MRS „por” (BBL)	52,3 g
Desztillált víz	1000 ml

MRS agarhoz a fent említett összetevőkön kívül 15 g agar-agart is adagolni kellett.
Sterilezés 121 °C-on 15 percig.

YEPD (Yeast-Extract-Pepton-Dextrose) tápleves

Élesztőkivonat	5 g
Pepton	5 g
Glükóz	10 g
Desztillált víz	1000 ml

YEPD agarhoz a fent említett összetevőkön kívül 15 g agar-agart is adagolni kellett.
Sterilezés 121°C-on 15 percig.

TPY (Trypticase-Phytone-Yeast) agar

Trypticase	10 g
Phytone	5 g
Glükóz	5 g
Élesztőkivonat	2,5 g
Tween 80	1 ml
Cisztein-HCl	0,5 g
K ₂ HPO ₄	2 g
MgCl ₂ *6H ₂ O	0,5 g
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,25 g
CaCl ₂	0,15 g
FeCl ₃	0,03 g
Agar	15 g
Desztillált víz	1000 ml

pH=6,8; Sterilezés 121°C-on 15 percig.

RBC (Rosebengal-Chloramphenicol) agar

RBC „por” (Merck)	32,2 g
Desztillált víz	1000 ml

pH=6,8; Sterilezés 121°C-on 15 percig.

M17 agar

„M17 Broth”	37,25 g
Desztillált víz	1000 ml

pH=6,2; Sterilezés 121°C-on 15 percig.

Laktózoldat M17 agarhoz

Laktóz	10 g
Desztillált víz	100 ml

Sterilezés 121°C-on 15 percig.

Fiziológiás sóoldat:

NaCl	8,5 g
Desztillált víz	1000 ml

Az előkészített kémcsövekbe 4,5 ml sóoldat került, amit egy 121°C-os 15 perces sterilezés követett.

2. Sörlé:

A komlózatlan és a komlózott sörleveket infúziós cefrézési eljárással készítettük pilseni malátából, majd 121°C-on 15 percig sterilizáltuk.

4.3 Alkalmazott vizsgálati módszerek

4.3.1 Agardiffúziós kölcsönhatás vizsgálat

Az előkészített, folyékony agarokat a megfelelő kultúrával beoltottam (laktobacillusoknál 1 V/V%, *Saccharomyces* törzseknél 3 V/V%, *Streptococcus* törzsnél ugyancsak 1 V/V % mennyiséget), majd kiöntöttem őket steril Petri-csészékbe. Miután az agar megszilárdult, 8 mm átmérőjű lyukakat fúrtam az agarba, ezt követően mindegyikbe 120 µl sejtsuszpenziót pipettáztam a megfelelő kultúrából. A csészéket másfél-két óráig a diffúzió elősegítése érdekében hűtőben tároltam, majd az agarban lévő mikroorganizmus hőmérsékleti optimumán (élesztőknél 30°C-on, laktobacillusoknál és a *Streptococcus* törzsnél 37°C-on) inkubáltam.

4.3.2 Optikai denzitás mérése

A felhasznált törzsek szaporodásának mértékét 600 nm-en mért abszorbancia változás alapján vizsgáltam α-Helios típusú spektrofotométer segítségével.

4.3.3 Élősejt-szám meghatározása lemezöntéses és szélesztéses módszerrel

Az előre elkészített és sterilizált táptalajokat felolvasztottam, felhasználásukig 35-40°C-os vízfürdőben tároltam. A beoltott sörlevekkel az előre meghatározott időpontokban mintát vettem, vortex berendezéssel homogenizáltam, végül tízszeres hígítási sort készítettem belőlük fiziológiás sóoldatban.

Lemezöntésnél a hígítási sor meghatározott tagjaiból 100 µl-t pipettáztam üres Petri-csészékbe, amelyekhez aztán 18-20 ml tápagart öntöttem. Az elkeveredést a Petri-csészék körkörös mozdításával segítettem elő.

Szélesztés esetében a már megszilárdult agarra vittem fel a 100 µl-nyi mintát, amelyet lelángolt szélesztő bottal kentem szét. Lemezöntés és szélesztés után a mintákat fejjel lefelé *Lactobacillus*ok esetében 30°C-on, élesztőknél 37°C-on, 72 óráig inkubáltam. A Petri-csészékben kinőtt telepeket megszámláltam, dokumentáltam és táblázatba foglaltam.

4.3.4 pH meghatározása

A beoltott sörlevek közül azok erjedése során mintát vettem és Mettler Toledo SevenMulti™ típusú berendezéssel megmértem a pH értéküket. A mérések elején a készüléket két standard (pH=4,0; pH=9,0) segítségével kalibráltam.

4.3.5 Kiinduló sejtkoncentráció megállapítása

A kiinduló sejtkoncentrációt tejsavbaktériumok esetében Thoma-kamrával immerziós olaj használata mellett, élesztők esetében pedig Bürker-kamrával állapítottam meg.

4.3.6 Fermentációs körülmények

A vegyes kultúrák erjesztései során 1:1, valamint 1:0,1 arányban alkalmaztam *Lactobacillus* és *Saccharomyces* törzseket, amelyek kiinduló sejtkoncentrációja 10^6 - 10^7 tke/ml nagyságrendű volt. A szaporodási és az erjedési vizsgálatokat 30°C-os termosztátban végeztem el. Az erjesztések során a lombikokra kotyogókat helyeztem. A fenti vizsgálatok illetve leírások igazak a monokultúrák fermentációira is.

4.3.7 Savfok meghatározása

A késztermékek titrálható savasságát meghatároztam a Soxhlet-Henkel-féle savfok (SH°) megállapításával. 20 ml erjesztett sörlevet kimértem titráló lombikba, majd 0,1 mol/dm³ NaOH-al elvégeztem a titrálást fenolftalein indikátor jelenlétében. A fogyást megszoroztam kettővel, így megkaptam a minta savfokát (SH°).

4.3.8 A söranalizátor (Anton-Paar Alcolyzer Plus)

A vegyes kultúrák erjesztési vizsgálatok során söranalizátorral határoztam meg a minták alkoholtartalmát, extrakt-tartalmát, valamint a valódi erjedésfokot. A söranalizátor két részből áll: az alapberendezésből (felső egység) és a sűrűségmérőből (alsó egység).

Az alsó egységben egy oszcilláló U csöves sűrűségmérő állapítja meg a minta sűrűségét öt tizedes pontossággal, 0-3 g/cm³ méréstartományban. A felső egységben egy olyan spektrofotométer található, amely a NIR (közeli infravörös) spektrum egy keskeny, alkoholra specifikus tartományát, majd egy megfelelő algoritmus segítségével az alkohol koncentrációját 0-12 V/V% tartományban méri. A söranalizátor a kapott sűrűség és alkoholtartalom értékekből az ún. Tabarié-képlet segítségével származtatja a többi (kb. 30) paramétert. Ezek közül a sörök analízisének az alábbi értékek a legfontosabbak:

- alkohol (V/V %)
- alkohol (m/m %)
- E_r: valódi extrakt-tartalom (m/m %)
- E_a: látszólagos extrakt-tartalom (m/m %)
- p: valódi extrakt-tartalom (Plato %)
- RDF: valódi erjedésfok (%)
- ADF: látszólagos erjedésfok (%)
- energiatartalom (kcal/kg; kcal/100ml; kJ/100ml)

4.3.9 Szénhidrát tartalom meghatározása HPLC-vel

A HPLC olyan automatizált, nagynyomású kromatográfiás eljárás, amely számos anyag, köztük fehérjék, poliszacharidok, nukleinsavak, aminosavak, szerves savak, vitaminok stb. meghatározására alkalmasak. Kísérleteim során az általam készített sörminták glükóz, fruktóz, maltóz és maltotrióz mennyiségének meghatározására használtam. Az egyes anyagok minősége a retenciós időkből, mennyisége a csúcs alatti területből határozható meg. A mintákat 0,45 µm-es mikroszűrőn leszűrtem. A meghatározott térfogatú mintákat beinjektáltam, lefuttattam őket, majd a kapott kromatogramokat kiértékeltem.

HPLC rendszer felépítése és jellemzői:

➤ Felépítése:

- Pumpa: Waters 600
- Detektor: RI detektor, 410 nm
- Oszlop: Aminex HPX-87H
- Integrátor program: Millenium 4.0 for Windows

➤ Jellemzői:

- Mozgó fázis: 5 mM H₂SO₄
- Áramlási sebesség: 0,5 ml/min
- Mintatérfogat: 20µl
- Oszlop hőmérséklet: 45°C
- Detektor hőmérséklet: 45°C

5 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Kísérleteim célja az volt, hogy vegyes kultúra (tejsavbaktérium - élesztő) alkalmazásával különleges sört állítsak elő. Ennek megfelelően első lépésként kölcsönhatás és szaporodó képesség vizsgálat alapján kiválasztottam, illetve szűkítettem a további vizsgálatokhoz felhasználni kívánt tejsavbaktérium és élesztő törzsek számát. Ezt követően vegyes kultúras erjesztéseket végeztem 16 féle párosításban. Végül a megfelelő párosítás kiválasztása után optimalni kívántam az erjesztés lefolyását. Az erjesztés folyamatát pH méréssel, sejtszám meghatározással és egyes esetekben HPLC-vel, valamint sőranalizátorral követtem nyomon.

5.1 Törzsek szelektálása

5.1.1 Kölcsönhatás vizsgálat

Vegyes kultúras erjesztés során az egyik legfontosabb dolog a kölcsönhatás vizsgálat, amely választ ad arra, hogy az alkalmazott mikrobák milyen hatást fejtenek ki egymásra. Céлом az volt, hogy meghatározzam a tejsavbaktériumok, az élesztők és a *Streptococcus thermophilus* egymásra gyakorolt hatását az összes lehetséges variáció alapján.

A kísérletekből egyértelműen kiderült, hogy a *Lactobacillus* törzsekre sem az élesztők, sem a *Streptococcus thermophilus* nem fejtett ki gátló hatást. Viszont, amikor a *Lactobacillus* kultúrák hatását vizsgáltam *Saccharomyces* törzsekre és *Streptococcus thermophilus* törzssre, akkor már kaptam gátlási zónákat. A *Lactobacillus* törzsek a *Streptococcus thermophilus* és az NCAIM 805 élesztőtörzs esetén mutattak gátlási zónát az agardiffúziós vizsgálat során. Ezeket az eredményeket szemlélteti a **3. táblázat**. A feltisztulási zónák átmérője 15 mm és 24 mm között alakultak, 22 mm-es átlagátmérővel. A legnagyobb gátlásokat a *Lb. sakei* 2313 mutatta a *Streptococcus thermophilus* törzsszel, valamint a *Lb. curvatus* 2775 az NCAIM 805 élesztőtörzsszel szemben. A legkisebb feltisztulási zóna a *Lb. curvatus* 2768 törzsnél *Streptococcus thermophilus* törzsszel szemben volt észlelhető.

3. táblázat: *Lactobacillus*-ok által kialakított gátlási zónák átmérője a kölcsönhatás vizsgálat során

<i>Lactobacillus</i> -ok	GÁTLÁSI ZÓNÁK [ømm]	
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>S. pastorianus</i> NCAIM 805
<i>Lb. delb. ssp. bulgaricus</i>	21	22
<i>Lb. curvatus</i> 2768	15	22
<i>Lb. plantarum</i> 2142	20	20
<i>Lb. plantarum</i> 299v	19	22
<i>Lb. curvatus</i> 2775	19	23
<i>Lb. sakei</i> 2313	24	20
<i>Lb. casei</i> Shirota	18	20
<i>Lb. par. ssp. paracasei</i>	19	20
<i>Lb. casei</i> 01	23	18
<i>Lb. acidophilus</i> LA-5	19	19

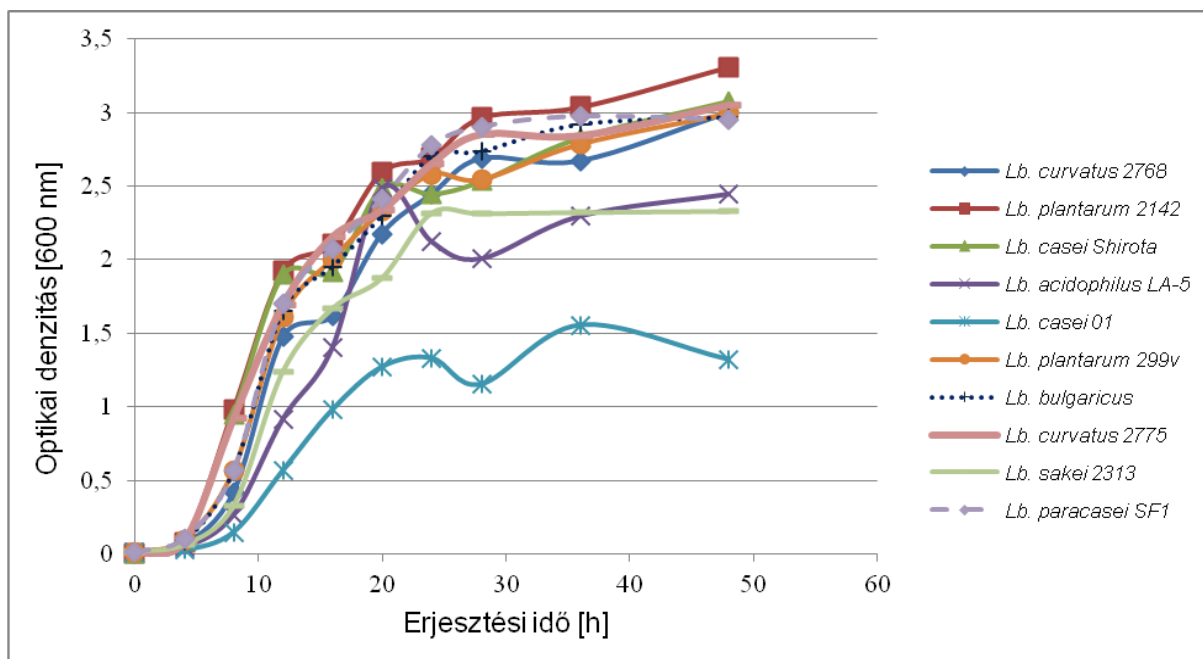
Abban az esetben, amikor a *Streptococcus* törzs hatását vizsgáltam a *Lactobacillus*-okra és élesztőkre, akkor ez a törzs csak az egyik élesztővel szemben mutatott antagonista hatást. A *Streptococcus thermophilus* törzs szintén *Saccharomyces pastorianus* NCAIM 805 kultúrára fejtett ki csekély gátló hatást, amely szemmel látható, de nem volt mérhető. Továbbá meg kell említeni, hogy a *Str. thermophilus* törzsre az alkalmazott élesztők egyike sem váltott ki gátló hatást (lásd 1. és 2. melléklet).

A kölcsönhatás vizsgálat alapján történt szelektálás eredményeként a *Str. thermophilus* törzset és a *S. pastorianus* NCAIM 805 élesztőtörzset kivettem a felhasználni kívánt törzsek csoportjából, mert egy kevert kultúras erjesztés során nem kívánatos, ha két kultúra gátló hatást fejt ki egymásra.

5.1.2 Szaporodási vizsgálat

Lactobacillus törzsek vizsgálata

A vizsgálat során az volt a célom, hogy a *Lactobacillus* törzseket komlózatlan sörlében történő szaporodási képességük alapján válasszam ki a kevert kultúras erjesztéshez. A kísérlethez 12 m/m% extrakt-tartalmú sörlevet alkalmaztam.



2. ábra: *Lactobacillus*-ok szaporodása komlózatlan sörlében

Az **2. ábrán** tejsavbaktériumok szaporodási görbéi láthatóak. Megfigyelhető, hogy a *Lb. sakei* 2313, a *Lb. acidophilus* LA-5 és a *Lb. casei* 01 szaporodási görbéinek lefutása eltérő volt a többihez képest. A *Lb. casei* 01 lassú növekedést mutatott, valószínűleg a sörlé nem nyújtott számára megfelelő tápközeget. Ezt támasztja alá a **4. táblázatban** szereplő szaporodási sebesség és generációs idő értékek. A *Lb. sakei* 2313 és *Lb. acidophilus* LA-5 törzseknél az erjesztés 20. illetve 24. órájáig megfelelő szaporodást tapasztaltunk, amit a szaporodást jellemző paraméterek is bizonyítanak: a *Lb. acidophilus* LA-5 érte el a legnagyobb szaporodási sebesség értéket, és így a generációs idő tekintetében is kiemelkedő volt, valamint az *Lb. sakei* 2313 törzs is elfogadható értékekkel rendelkezik a többi törzzsel összehasonlítva. Viszont a 20. és a 24. óra után a törzsek stationer fázisba kerültek és az erjesztés végéig nem változott az elért OD értékük. A végső OD érték is érzékelteti, hogy ezen törzsek a többihez képest valószínűleg gyorsabban kimerítették a tápközeg számukra felvehető tápanyagforrásait és növekedésük megállt. Ezzel szemben a többi tejsavbaktérium szaporodási görbéinek lefutása közel azonosnak mondható. A szaporodási sebesség értékek 0,42 1/h és 0,62 1/h között változtak, valamint a végső abszorbancia értékek 3,00 körül alakultak. Ezek közül leginkább a *Lb. plantarum* 2142 emelkedik ki, amely a tápközeghez történő gyors adaptálódás mellett szinte folyamatos szaporodási képességet és növekvő abszorbancia értéket mutatott.

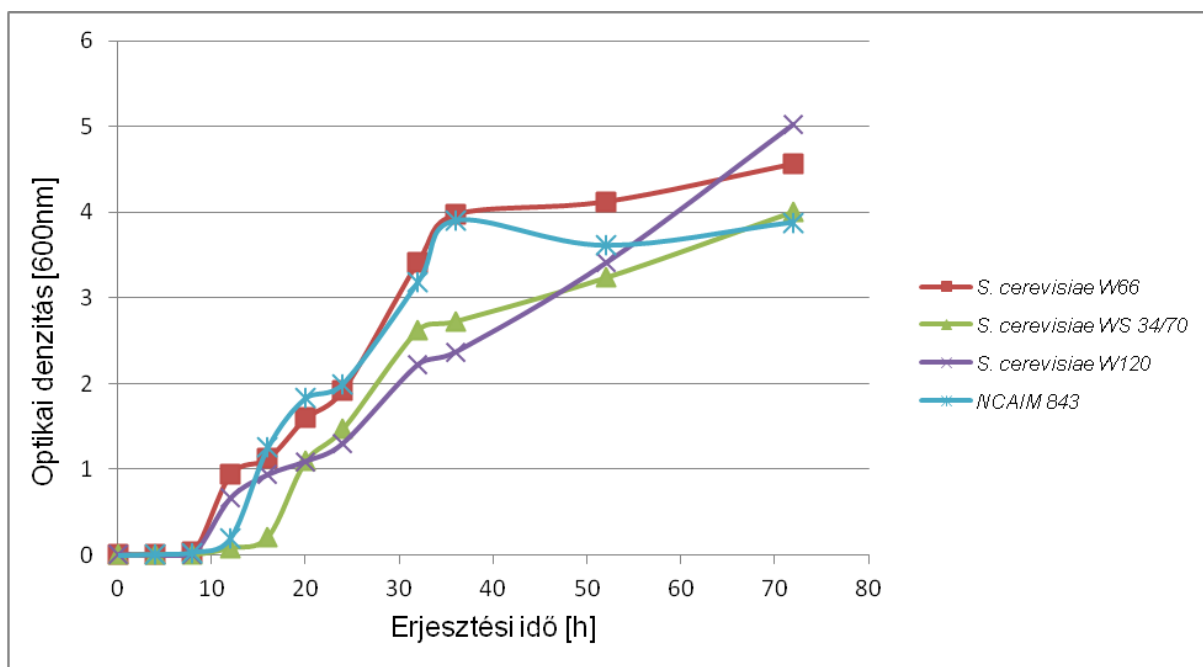
4. táblázat: *Lactobacillus* törzsek szaporodását jellemző paraméterek és a végső OD értékek

Törzs	μ [1/óra]	t_g [óra]	Végső OD
<i>Lb. acidophilus</i> LA-5	0,72	0,96270442	2,448
<i>Lb. casei</i> 01	0,38	1,82407153	1,32
<i>Lb. plantarum</i> 299v	0,57	1,21604769	2,992
<i>Lb. delbrückii ssp. bulgaricus</i>	0,55	1,2602676	2,968
<i>Lb. curvatus</i> 2775	0,47	1,47478124	3,056
<i>Lb. sakei</i> 2313	0,46	1,5068417	2,328
<i>Lb. paracasei ssp. paracasei</i> SF1	0,59	1,17482573	2,952
<i>Lb. curvatus</i> 2768	0,42	1,65035043	3
<i>Lb. plantarum</i> 2142	0,62	1,11797932	3,312
<i>Lb. casei</i> Shirota	0,58	1,19508135	3,08

Összességében kijelenthető, hogy a *Lb. sakei* 2313, a *Lb. acidophilus* LA-5 és a *Lb. casei* 01 tejsavbaktériumokon kívül az összes tejsavbaktérium jól hasznosították a sörlevet, mint komplex tápközeget, a tápanyagforrás megfelelő volt. E szaporodási vizsgálat alapján a következő négy törzset választottam ki a vegyes kultúras erjesztésekhez: *Lb. delbrückii ssp. bulgaricus*, *Lb. paracasei ssp. paracasei* SF1, *Lb. plantarum* 2142, *Lb. casei* Shirota.

Saccharomyces törzsek vizsgálata

Általunk felhasználni kívánt *Saccharomyces* törzsek szaporodó képességét is megvizsgáltam, amelynek eredménye a **3. ábrán** látható.



3. ábra: Élesztő törzsek szaporodóképességének vizsgálata komlózatlan sörleiben

Az ábrán jól látható, hogy mind a négy élesztőtörzsnek eltérő a lappangási ideje, ezen kívül hosszabbak is, mint a tejsavbaktériumok esetében (a *Saccharomyces cerevisiae* W66 és a *Saccharomyces cerevisiae* W120 8 órás adaptációs ideje a *Lactobacillus*-ok átlagos 4 órájával szemben). A leghosszabb lappangási ideje a *Saccharomyces cerevisiae* WS 34/70 élesztőtörzsnek volt (12 óra). A görbék exponenciális szakaszai egységesnek tekinthetők, a *Saccharomyces cerevisiae* W120 inkább egy fokozatos, elhúzódó növekedési fázist mutatott. A stationer fázis a *Saccharomyces cerevisiae* W66 és a *Saccharomyces carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzseknél a 36. órában következett be, ezzel szemben a *Saccharomyces cerevisiae* WS 34/70 és W120 törzsek 36 óra után egy rendkívül intenzív szaporodási rátát mutattak. A vizsgálat eredménye alapján az alkalmazott színsörle ideális volt az élesztőtörzsek számára, mint tápközeg.

5. táblázat: Élesztő törzsek szaporodását jellemző paraméterek és a végső OD értékek

Törzs	μ [1/óra]	t_g [óra]	Végső OD
<i>S. cerevisiae</i> W66	0,43	1,61197019	4,56
<i>S. cerevisiae</i> WS 34/70	0,49	1,41458608	4,01
<i>S. cerevisiae</i> W120	0,34	2,03866818	5,03
<i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843	0,46	1,5068417	3,88

Az **5. táblázatban** a *Saccharomyces* élesztőtörzsek szaporodási sebességét, a generációs idejüket és a tápközeg végső az abszorbancia értékét mutatom be. A *S. cerevisiae* W120 alacsony szaporodási sebességével és magas generációs idejével kitűnik a többi élesztőtörzs közül, amelyek előbb említett értékei nagyjából azonosnak mondhatók. Ennek ellenére a *S. cerevisiae* W120 érte el a legmagasabb optikai denzitást (5,03), míg a *S. carlsbergensis* NCAIM 843 a legalacsonyabbat (3,88). A vizsgálati eredmények alapján megállapítható az alkalmazott sörle ideális volt az élesztőtörzsek számára, mint tápközeg.

5.2 Vegyes kultúrás erjesztés

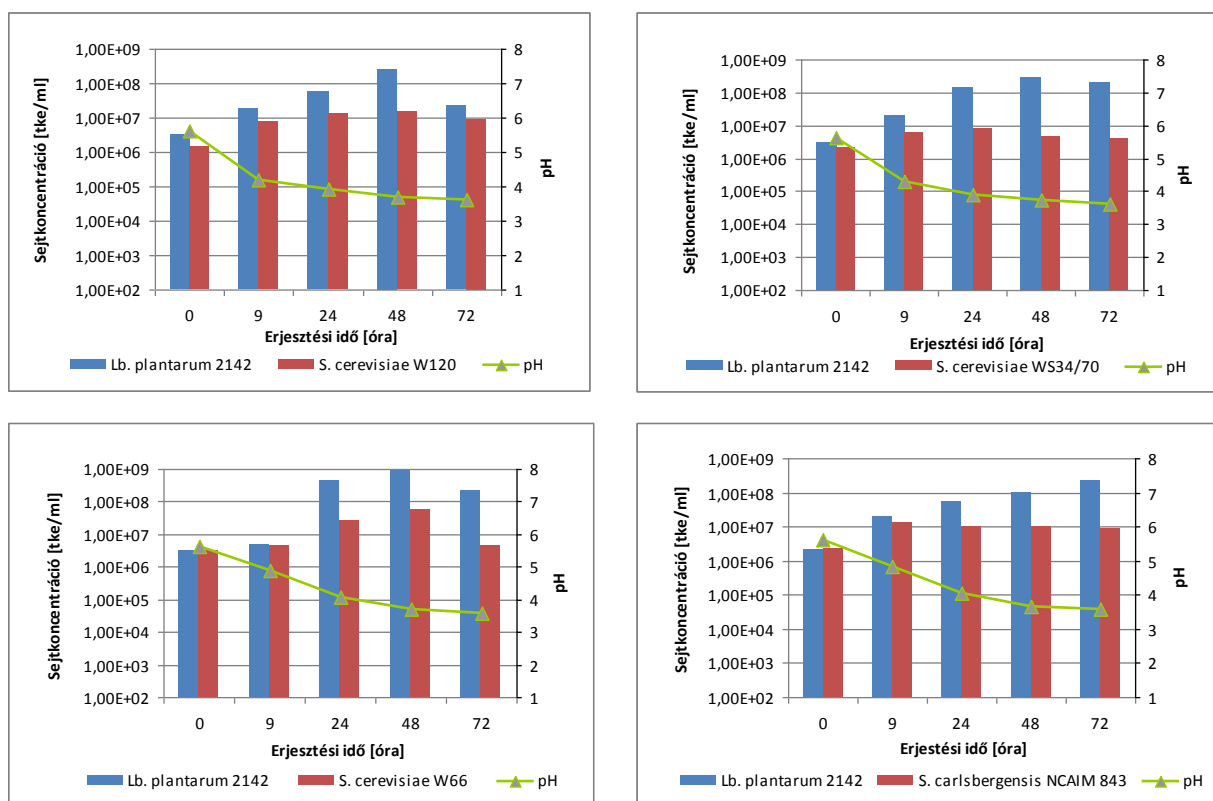
Az vegyes kultúrás erjesztéseket az általam kiválasztott tejsavbaktériumok (*Lb. delbrückii* ssp. *bulgaricus*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* SF1, *Lb. plantarum* 2142, *Lb. casei* Shirota) és élesztőtörzsek (*S. cerevisiae* W66, *S. cerevisiae* WS 34/70, *S. cerevisiae* W120, *S. carlsbergensis* NCAIM 843) összes lehetséges párosításával végeztem el.

5.2.1 A vegyes kultúras erjesztés vizsgálata

Vegyes kultúras erjesztés során fontos megvizsgálni, milyen hatással vannak a tejsavbaktériumok és az élesztők egymásra, illetve egymás életképességére. A kiválasztott törzsekkel összesen 16 féle kevert kultúras erjesztést végeztem, tápközegként 12% extrakt-tartalmú, pilseni malátából készült komlózatlan sörlevet alkalmaztam. A *Lactobacillus* és a *Saccharomyces* törzseket 1:1 arányban oltottam be a sörlebe. A beoltási sejtkoncentrációt 10^6 nagyságrendben kívántam beállítani.

- **Lb. plantarum 2142 és Saccharomyces élesztőtörzsek vegyes kultúras erjesztése**

A *Lb. plantarum* 2142 és a különböző élesztőkkel történő párosítás során kapott sejtkoncentrációkat és pH értékeket szemlélteti a **4. ábra**.



4. ábra: *Lb. plantarum* 2142 és élesztőtörzsek vegyes kultúras erjesztése

Az **4. ábra** alapján megfigyelhető, hogy a *Lb. plantarum* 2142 a 0. és a 48. óra között szaporodását tekintve folyamatosan növekvő tendenciát mutatott, *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzsszel együtt erjesztve a növekedés még a 72. órában is látható volt. A többi élesztőtörzs mellett a 72. órában jól észrevehető sejtkoncentráció csökkenés történt. A 10^6 sejtkoncentrációval beoltott *Lb. plantarum* 2142 sejtszámában *S. cerevisiae* WS 34/70, *S. cerevisiae* W120 és *S.*

carlsbergensis NCAIM 843 élesztőtörzsekkel való erjesztése során a 9. órában már egy nagyságrendi változás történt. A *Lb. plantarum* 2142 + *Saccharomyces cerevisiae* W66 élesztőtörzs párosítása esetén a *Lb. plantarum* 2142 törzs az erjesztés 48. órájára elérte a 10^9 tke/ml nagyságrendet és ezzel a többi párosításhoz képest egy nagyságrenddel nagyobb sejtszámot mutatott.

Az élesztőtörzsek – akárcsak a *Lactobacillus*-ok – 10^6 tke/ml sejtkoncentrációról indultak. Az élesztőknél lassú szaporodást tapasztaltam, a *Lb. plantarum* 2142 és az élesztőtörzsek közötti sejtkoncentráció különbség az idő előrehaladtával folyamatosan nőtt a tejsavbaktérium javára. Szaporodásuk lefutását tekintve a tejsavbaktériummal nagyjából hasonló tendenciát mutattak, ellenben a *Saccharomyces cerevisiae* WS 34/70 sejtkoncentrációja, amely egy nagyságrendet sem változott, majd a 24. óra után csökkenni kezdett, míg a *Saccharomyces carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzs sejtkoncentrációja a 9. és a 72. óra között közel stagnáló értéket mutatott. Összeségében megállapítható, hogy a *Lb. plantarum* 2142 + *S. cerevisiae* W120 és a *Lb. plantarum* 2142 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 párosítás tekinthető elfogadhatónak, ugyanis az élesztő a laktobacillusszal leginkább ezeknél mutatott párhuzamos növekedést.

A pH értékek 0. és 72. óra között folyamatosan csökkentek a kiinduló pH 5,62 értékről pH 3,63-3,57 érték közé, ez jelzi a tejsavbaktériumok jó növekedését.

**6. táblázat: Alkoholtartalom, extrakt-tartalom és valódi erjedésfok alakulása
Lb. plantarum 2142 és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése során**

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. plantarum</i> 2142 + <i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843			<i>Lb. plantarum</i> 2142 + <i>S. cerevisiae</i> W66		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	1,83	7,85	27,03	2,04	6,13	34,74
48	3,03	6,70	53,98	3,14	4,96	50,47
72	4,53	4,56	61,61	4,67	4,19	64,37
144	4,56	4,02	64,78	4,85	3,85	67,12

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. plantarum</i> 2142 + <i>S. cerevisiae</i> WS 34/70			<i>Lb. plantarum</i> 2142 + <i>S. cerevisiae</i> W120		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	2,07	7,63	30,15	1,69	5,95	31,30
48	3,02	4,94	49,61	2,81	4,35	51,04
72	4,17	4,41	60,43	3,99	4,44	59,21
144	4,45	4,00	64,32	4,33	3,97	63,85

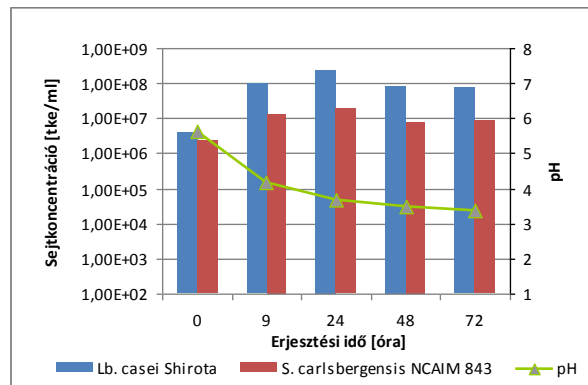
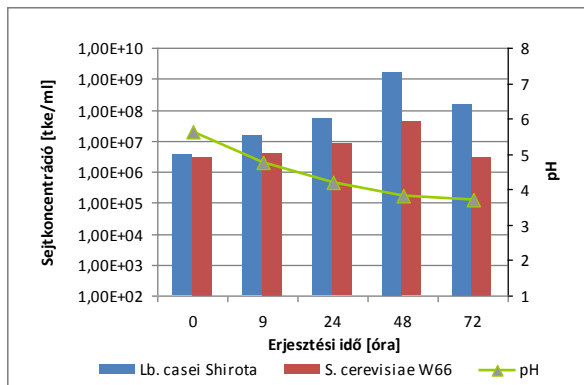
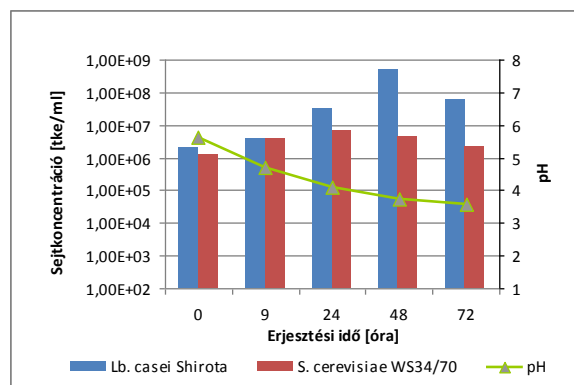
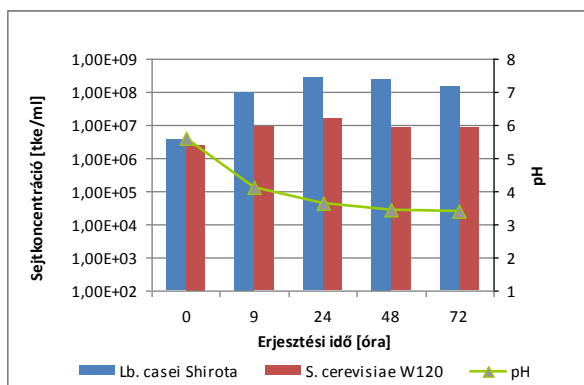
A **6. táblázat** eredményeiből világosan látszik az élesztők anyagcsere tevékenységei által előidézett folyamatos alkoholtartalom-növekedés, amely jelentős mértékben lelassul a 72. és a 144. óra között. Az extrakttartalom folyamatos csökkenése mellett a végerjedés fok fokozatos emelkedését (átlag 65%-ig) lehetett megfigyelni. A párosítások között az értékek alakulását tekintve nincs számottevő különbség, az alkoholtartalmak 4,5 V/V%, az extraktartalmak 4,0 m/m% körüli értékeket mutattak.

Ha a HPLC eredményeket nézzük, akkor megállapítható, hogy mind a négy vegyes kultúra esetében teljes fruktóz felhasználás történt, azonban a HPLC *Lb. plantarum* 2142 + *S. cerevisiae* W120 és *Lb. plantarum* 2142 + *S. cerevisiae* WS 34/70 vegyes kultúráknál nyomokban megmaradt glükózt mutatott ki. A maltózt és a maltotriózt is hasznosította az összes vegyes kultúra, maltózból 100 ml-enként átlagosan 0,1 g, míg maltotriózból 100 ml-enként átlagosan 0,04 g maradt a sörlemben.

- ***Lb. casei* Shirota és élesztőtörzsek vegyes kultúrás erjesztése**

A *Lb. casei* Shirota és a különböző élesztőkkel történő párosítás során kapott sejtkoncentrációkat és pH értékeket szemlélteti az **5. ábra**. Az diagramok alapján megállapítható, hogy a *Lb. casei* Shirota a *S. cerevisiae* W120 és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzsek mellett gyorsabb, ütemesebb szaporodást mutatott és már a 24. órában elérte maximális sejtkoncentrációját, majd a sejtszáma ezt követően csökkent. A másik két élesztőtörzs mellett lassú, fokozatos növekedés volt látható és a 48. órában detektáltuk a legmagasabb sejtszámot, amely 72. órára egy nagyságrendet csökkent. A *Lb. casei* Shirota a legmagasabb sejtkoncentrációt ($1,61 \cdot 10^9$ tke/ml) a *S. cerevisiae* W66 élesztő mellett a 48. órában érte el.

Az élesztő törzsek a *S. cerevisiae* WS 34/70 kivételével az erjesztés során a kezdeti 10^6 tke/ml nagyságrendű sejtkoncentrációhoz képest egy nagyságrendű szaporodást mutattak. A *S. cerevisiae* W66 törzsnél egy lassab növekedést detektáltam – a többi törzs már 24. órában elérte maximumát –, ennek ellenére a legmagasabb sejtkoncentrációt ($4,17 \cdot 10^7$ tke/ml) ez a törzs mutatta a 48. órában.



5. ábra: *Lb. casei* Shirota és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése

Ahogy az előző párosításnál is itt is a legkedvezőbb vegyes kultúrának a *Lb. casei* Shirota + *S. cerevisiae* W120 és a *Lb. casei* Shirota + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 párosítás tekinthető, mivel az élesztőtörzsek szaporodása ezeknél voltak legkevésbé gátolva.

A pH értékek a 0. és 72. óra között folyamatosan csökkentek a kiinduló pH 5,62 értékről pH 3,71-3,39 érték közé. Ez a pH-tartomány volt mind közül a legnagyobb.

A **7. táblázat** eredményei gyakorlatilag megegyezik a 6. táblázatban foglaltakkal: az egyre növekvő alkoholtartalom mellett az extrakttartalmak folyamatos csökkenése és a valódi erjedés fokok egységes növekedése figyelhető meg. *Lb. casei* Shirota és *S. cerevisiae* W66 élesztőtörzs vegyes kultúrák erjesztése során elértük az 5 V/V% alkoholtartalmat (5,06 V/V%) és itt mértük a legnagyobb erjedésfokot is. Ezen értékeket alátámasztja a törzs szaporodásánál tapasztaltak.

**7. táblázat: Alkoholtartalom, extrakt-tartalom és valódi erjedésfok alakulása
Lb. casei Shirota és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése során**

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. casei</i> Shirota + <i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843			<i>Lb. casei</i> Shirota + <i>S. cerevisiae</i> W66		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	2,30	6,47	36,22	2,46	7,31	34,92
48	2,98	4,58	51,20	4,4	6,50	52,49
72	4,09	4,39	60,13	4,62	4,03	65,00
144	4,42	4,16	63,26	5,06	3,89	67,80

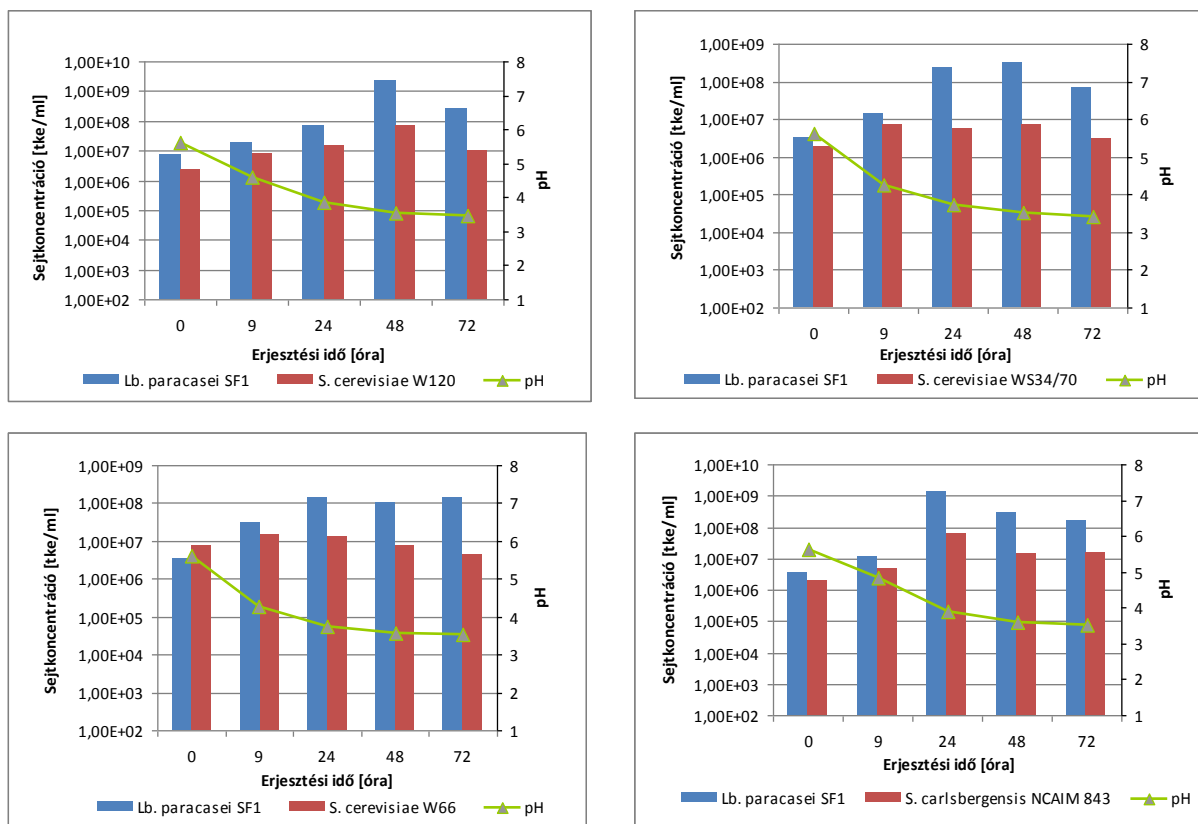
Erjesztési idő (h)	<i>Lb. casei</i> Shirota + <i>S. cerevisiae</i> WS 34/70			<i>Lb. casei</i> Shirota + <i>S. cerevisiae</i> W120		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	1,75	7,79	26,27	2,16	6,50	34,72
48	3,49	5,41	50,93	2,84	4,84	48,56
72	4,33	4,43	61,25	3,92	4,34	59,29
144	4,64	3,79	66,48	4,35	4,00	63,79

Teljes fruktóz és glükóz felhasználás történt a négy vegyes kultúra erjesztése során, ezen felül a *Lb. casei* Shirota + *S. cerevisiae* W66 vegyes kultúra a sörlemben található összes maltózt is hasznosítani tudta, ami meg is mutatkozik a nagyobb alkoholtartalomban. A többi vegyes kultúra – bár nem teljesen – de jól felhasználta a maltózt, valamint a maltotrióz legnagyobb részét. A *Lb. casei* Shirota + *S. cerevisiae* W120 vegyes kultúrák erjesztés során maradt meg a legtöbb maltotrióz a sörlemben (0,12 g/100ml).

- ***Lb. paracasei* ssp. *paracasei* SF1 és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése**

Az élesztők *Lb. paracasei* SF1 tejsavbaktériummal való vegyes kultúrák erjesztése változó eredményeket mutatott, ezekről az **6. ábra** ad tájékoztatást. A *Lb. paracasei* SF1 sejtkoncentrációja *S. cerevisiae* W66 élesztőtörzs esetében már a 24. órától kezdve stagnáló volt. A *Lb. paracasei* SF1 a *S. cerevisiae* WS 34/70 élesztőtörzs jelenlétében a 9. és a 48. óra között fokozatos szaporodást mutatott, sejtkoncentrációja közel két nagyságrendet emelkedett, ezt követően azonban nem őrizte meg életképességét. A *S. cerevisiae* W120 élesztő mellett a tejsavbaktérium kultúra legintenzívebben a 24. és a 48. óra között szaporodott, és sejtszáma ezen időközben két nagyságrenddel növekedett. Az *Lb. paracasei* SF1 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843

párosítás esetén a tejsavbaktérium törzs három nagyságrendnyi sejtkoncentráció változása figyelhető meg 24. órára, amelyet meredek csökkenés követ az erjesztés végéig.



6. ábra: *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* SF1 és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése

Az élesztők sejtszáma *S. cerevisiae* WS 34/70 élesztő kivételével egy nagyságrenddel növekedett, a legnagyobb értéket a *S. cerevisiae* W120 érte el 48. órában ($7 \cdot 10^7$ tke/ml). A *S. cerevisiae* WS 34/70 csekély szaporodást mutatott, amelyet jól bizonyít, hogy sejtkoncentrációja a 9. óra után már nem változott. A *S. cerevisiae* W66 élesztőtörzs szaporodásánál is hasonló tendencia figyelhető meg. Annak ellenére, hogy a *S. cerevisiae* W66 kiinduló sejtkoncentrációja nagyobb volt, mint a *Lb. paracasei* SF1 sejtkoncentrációja, a 9. órára a tejsavbaktérium szaporodásban máris lehagyta az élesztőt.

A *S. carlsbergensis* NCAIM 843 egy elnyújt lappangási szakasz után a 24. órára érte el szaporodóképességének csúcspontját. A *Lb. paracasei* SF1 élesztőkkel való vegyes kultúrák erjesztése alapján megállapítható, hogy az alkalmazott tejsavbaktérium a *S. cerevisiae* W120 és a *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzsszel mutatott leginkább párhuzamos növekedési tendenciát.

A pH értékek 0 és 72 óra között folyamatosan csökkentek a kiinduló pH 5,62 értékről pH 3,52-3,43 érték közé.

**8. táblázat: Alkoholtartalom, extrakt-tartalom és valódi erjedésfok alakulása
Lb. paracasei SF1 és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése során**

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. paracasei</i> SF1 + <i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843			<i>Lb. paracasei</i> SF1 + <i>S. cerevisiae</i> W66		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	2,14	7,68	30,73	2,64	5,74	42,44
48	3,76	5,33	53,14	3,13	4,03	55,65
72	4,48	4,46	61,88	4,35	3,96	64,02
144	4,74	4,13	65,40	4,57	3,91	65,48

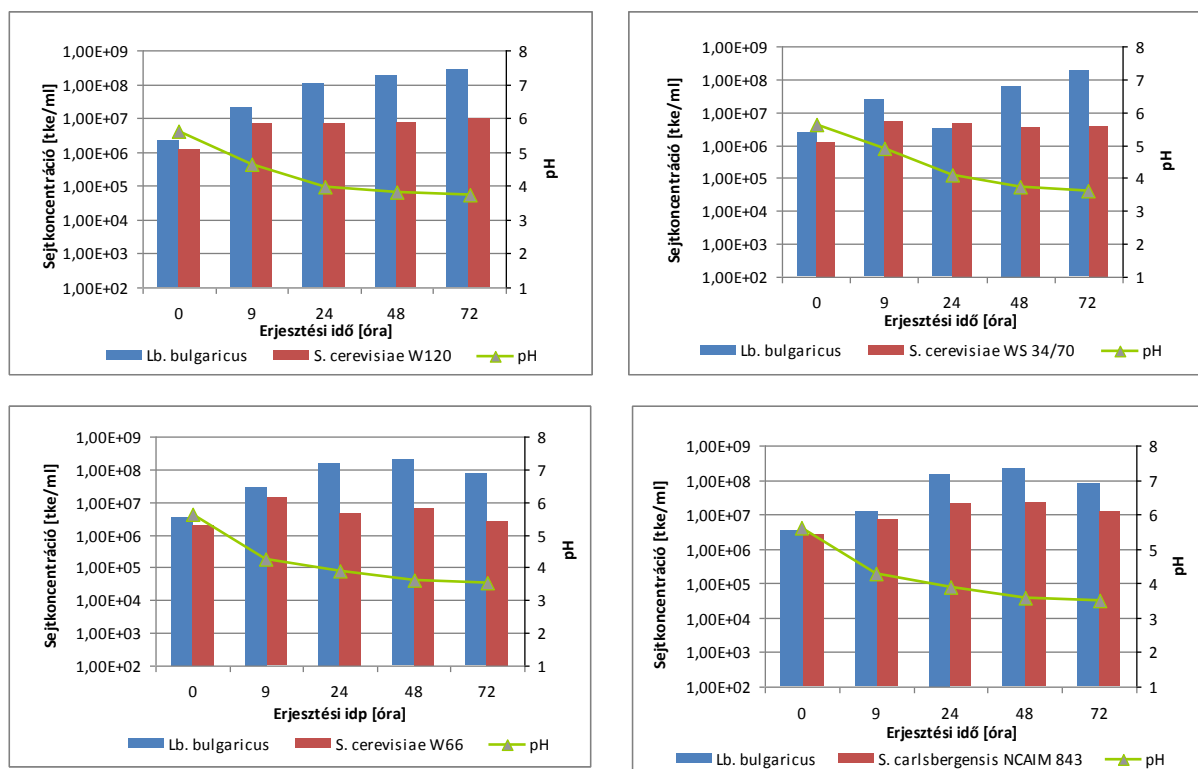
Erjesztési idő (h)	<i>Lb. paracasei</i> SF1 + <i>S. cerevisiae</i> WS 34/70			<i>Lb. paracasei</i> SF1 + <i>S. cerevisiae</i> W120		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	2,32	7,05	34,43	2,14	7,99	29,88
48	3,32	5,30	50,19	3,24	5,87	46,96
72	4,09	4,26	60,84	4,34	4,74	59,61
144	4,49	4,09	64,01	4,60	3,97	65,25

A **8. táblázat** ismételten a fermentáció normális lefutását bizonyítja. Folyamatos alkoholtartalom növekedés, csökkenő tendenciájú extrakttartalom és végig növekedő erjedés fok jellemzi a *Lb. paracasei* SF1, élesztőkkel való vegyes kultúrák erjesztését is. Látható, hogy a 144. órára a valódi erjedés fokok egységesen 65% körül vannak. A párosítások között ezen értékek nem adnak egyértelmű különbségeket.

A HPLC eredmények alapján kiderül, hogy a különböző szénhidrátokat a *Lb. paracasei* SF1 + *S. cerevisiae* WS 34/70 vegyes kultúra volt képes a legkevésbé hasznosítani, itt ugyanis a sörlében a glükóz, a maltóz és a maltotrióz mellett fruktóz is maradt (0,08 g/100ml), amelyet a többi vegyes kultúra kivétel nélkül felhasznált. Talán ennek tudható be az az igen csekély különbség, ami a 8. táblázatban szereplő adatok között van. A többi vegyes kultúrák erjesztés során sem fruktóz, sem glükóz nem maradt a sörlében, valamint a maltóz és a maltotrióz legnagyobb mennyisége is szépen leerjedt.

- **Lb. delbrückii spp. bulgaricus és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése**

A *Lb. delbrückii spp. bulgaricus* és a különböző élesztőkkel történő párosítás során kapott sejtkoncentrációkat és pH értékeket szemlélteti a **7. ábra**, amely szolgál néhány olyan új eredménnyel, amelyek a korábbi párosításoknál nem voltak láthatók.



7. ábra: *Lb. delbrückii spp. bulgaricus* és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése

Első lépésben megfigyelhető, hogy a *Lb. bulgaricus* a *S. cerevisiae* W120 élesztő mellett állandó szaporodóképességet mutatott, a 72. órában sejtkoncentrációja $2,72 \cdot 10^8$ tke/ml volt. Ugyanezen tejsavbaktérium *S. cerevisiae* WS 34/70 élesztőtörzs mellett – a 24. órában bekövetkezett sejtkoncentráció-csökkenést leszámítva – szintén végig szaporodott, $1,91 \cdot 10^8$ tke/ml értékig. *S. cerevisiae* W66 és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 mellett a *Lb. bulgaricus* sejtkoncentráció változása hasonló képet adott egymással, mint lefutásban, mint tke/ml értékükben: 48. óráig folyamatos szaporodás, ahol a 24. és a 48. óra között stagnálás figyelhető meg. Az előbbi vegyes kultúrák erjesztésénél a tejsavbaktérium $7,8 \cdot 10^7$ tke/ml, utóbbinál $8,02 \cdot 10^7$ tke/ml végső sejtkoncentrációt ért el.

Az élesztők sejtkoncentrációinak alakulása nagyon változatos képet mutatott. Sem a *S. cerevisiae* W120, sem a *S. cerevisiae* W66 szaporodása nem volt egyenletes, előbbi sejtkoncentrációja a 9. óra után változatlan maradt. A *Saccharomyces cerevisiae* WS 34/70 a 9. óra után már inkább egy csökkenő rátát mutatott. Ezzel szemben a *S. carlsbergensis* NCAIM 843

egészen a 48. óráig képes volt a szaporodásra. A fenti ábrából egyértelműen kiderül, hogy a *Lb. bulgaricus* és a *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzs tekinthető megfelelő párosításnak.

A pH értékek elsősorban a laktobacillusz törzsek tevékenységének köszönhetően folyamatosan csökkentek: a kiinduló pH 5,62 értékről pH 3,73-3,52 érték közé.

A **9. táblázatban** az alkoholtartalom, extrakttartalom és valódi erjedésfok alakulása látható. Érdeemes megfigyelni, hogy a *Lb. bulgaricus* + *S. cerevisiae* W66 vegyes kultúra csupán csak 3,63 V/V% alkoholtartalmat ért el, annak ellenére, hogy a nagy átlag az összes elvégzett vegyes kultúrák erjesztést figyelembe véve 4,4-4,8 V/V% körüli volt. Ezzel szemben ugyanezen tejsavbaktérium, *S. cerevisiae* WS 34/70 élesztőtörzsszel „közösén” egy igen magas, 5,3 V/V%-os alkoholtartalmat produkált. A másik figyelmet érdemlő eredmény a *Lb. bulgaricus* + *S. cerevisiae* W66 vegyes kultúrának az extrakttartalma: a 48. órától egészen a 144. óráig alig történt változás.

A vegyes kultúrák szaporodásukhoz teljes mértékben felhasználták az összes fruktóz- és glükóz forrást, valamint kiválóan hasznosították a maltózt és a maltotriózt is, mint a tápanyagokat. Ezen *Lb. bulgaricus* + *S. cerevisiae* W120 vegyes kultúrák erjesztés során a maradék maltotrióz tartalom olyan kicsi volt, hogy az a HPLC számára nem volt meghatározható, vagyis kimutatási határ alatti érték volt.

**9. táblázat: Alkoholtartalom, extrakt-tartalom és valódi erjedésfok alakulása
Lb. bulgaricus és élesztőtörzsek vegyes kultúrák erjesztése során**

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. bulgaricus</i> + <i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843			<i>Lb. bulgaricus</i> + <i>S. cerevisiae</i> W66		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	2,09	6,68	33,37	2,36	6,21	37,81
48	3,03	4,86	50,08	3,13	4,15	54,91
72	3,88	4,32	59,21	4,15	4,11	61,63
144	4,42	4,17	63,16	3,63	3,09	65,54

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. bulgaricus</i> + <i>S. cerevisiae</i> WS 34/70			<i>Lb. bulgaricus</i> + <i>S. cerevisiae</i> W120		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0	0	11,66	0
24	1,74	8,06	25,50	2,07	7,95	29,30
48	2,83	5,11	53,40	3,08	5,65	46,70
72	4,67	3,98	65,49	4,35	4,69	59,98
144	5,30	4,48	65,64	4,40	3,86	64,85

Az elvégzett vegyes kultúrák erjesztések összegzéseként megállapítható, hogy a tejsavbaktériumok sejtkoncentrációja minden esetben nagyságrendekkel meghaladta az élesztőké, közöttük valószínűleg egyfajta versengés volt megfigyelhető. Ugyanakkor az élesztők is megfelelő anyagszere tevékenységet folytattak a tejsavbaktériumok mellett, amit jól mutat a fokozatosan növekvő alkoholtartalom, illetve hogy a mért maltóz és maltótrióz szénhidrátok mennyisége jelentősen lecsökkent a fermentáció végére. Mivel párosítások között az alkoholtartalom, extrakt-tartalom és valódi erjedésfok alapján igazán nem lehet egyértelmű különbségeket felfedezni, ezért a párosítások kiválasztását elsősorban a növekedési potenciáljuk alapján végeztem el. A megfelelő értékelés érdekében a kapott sejtkoncentrációkból a 24., a 48. és a 72. órában arányokat képeztem. A kiszámolt arányokat **10. táblázatban** mutatom be. Azokra a párosításokra esett a választásom, ahol a sejtkoncentrációban egyhez közeli érték, valamint az arányok között csekély differencia mutatkozott. Ennek megfelelően a *Lb. plantarum* 2142 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843, a *Lb. casei* Shirota + *S. carlsbergensis* NCAIM 843, valamint a *Lb. delbrückii ssp. bulgaricus* + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 párosításokat választottam ki a további vizsgálatok elvégzéséhez. A *Lb. paracasei* SF1 + *Saccharomyces* kevert kultúrákkal erjesztett sörlevek közül még a fenti módszer alapján sem tudtam egyértelmű következtetéseket levonni a sejtkoncentráció értékek erős variabilitása miatt, így ezek közül egyik párosítás sem került kiválasztásra további kísérletek megvalósításához.

10. táblázat: Kevert kultúrák sejtkoncentráció aránya a 24., 48. és a 72. órában

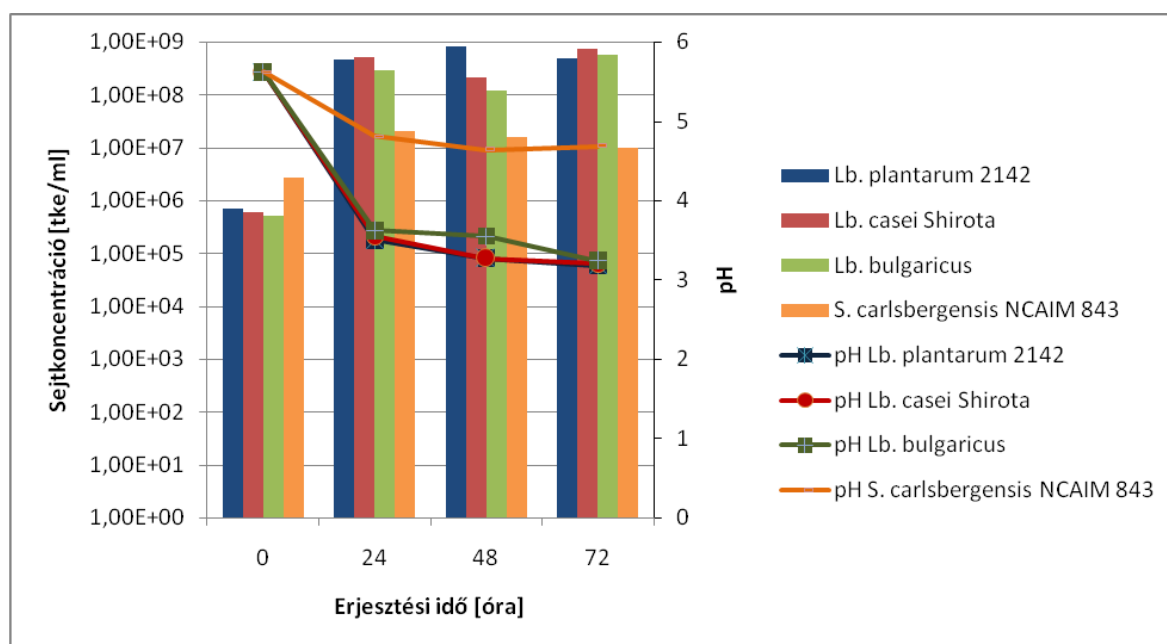
<i>Kevert kultúrák</i>		<i>Sejtkoncentráció arányok</i>		
		24. óra	48. óra	72. óra
<i>Lb. plantarum</i> 2142 + <i>Saccharomyces</i>	2142+W120	1.09	1.17	1.06
	2142+WS34/70	1.18	1.20	1.25
	2142+W66	1.16	1.16	1.25
	2142+NCAIM 843	1.11	1.14	1.02
<i>Lb. casei</i> Shirota + <i>Saccharomyces</i>	Shirota+W120	1.17	1.21	1.18
	Shirota+WS34/70	1.10	1.31	1.23
	Shirota+W66	1.12	1.21	1.27
	Shirota+NCAIM 843	1.15	1.15	1.14
<i>Lb. par. ssp. paracasei</i> SF1 + <i>Saccharomyces</i>	SF1+W120	1.10	1.19	1.20
	SF1+WS34/70	1.24	1.24	1.21
	SF1+W66	1.14	1.16	1.23
	SF1+NCAIM 843	1.17	1.19	1.14
<i>Lb. delb. spp. bulgaricus</i> + <i>Saccharomyces</i>	Bulg+W120	1.17	1.20	1.20
	Bulg+WS34/70	0.98	1.19	1.26
	Bulg+W66	1.23	1.22	1.23
	Bulg+NCAIM 843	1.12	1.13	1.12

5.2.2 Vegyes kultúras erjesztés a kiválasztott párosításokkal

Az 5.2.1 pontban megfogalmazott eredmények alapján három párosítást (*Lb. plantarum* 2142 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843, a *Lb. casei* Shirota + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 és a *Lb. bulgaricus* + *S. carlsbergensis* NCAIM 843) választottam ki, amelyekkel újabb erjesztéseket végeztem, ahol megváltoztattam – ezzel kívántam optimalni - a beoltási arányokat 0,1:1 arányban (tejsavbaktérium:élesztő). Erre azért volt szükség, mert a kapott fermentlevek, termékek erőteljes savas ízérzetet és illatot adtak.

Első ízben azonban arra is keresetem a választ, hogy az általam alkalmazott törzsek, milyen szaporodási képességet mutatnak monokultúras erjesztés során.

Monokultúras erjesztések



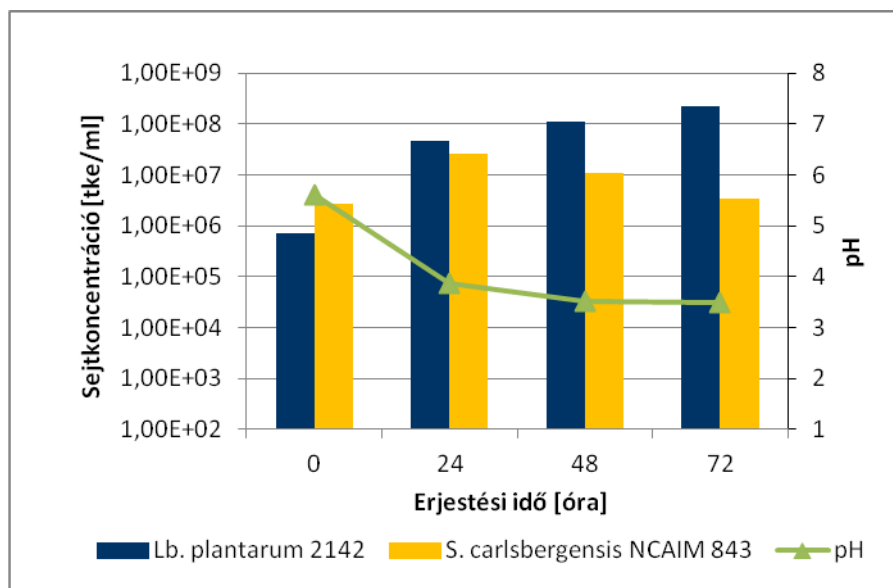
8. ábra *Lactobacillus*-ok és *Saccharomyces carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzs szaporodásának vizsgálata monokultúraként

A **8. ábrán** megfigyelhető, hogy monokultúras erjesztések során a *Lactobacillus* törzsek sejtszáma a 24. órára három nagyságrenddel nőtt: a kezdeti 10⁵ tke/ml sejtszámról 10⁸ tke/ml értékre ugrott. A *Lb. plantarum* 2142, a *Lb. bulgaricus* és a *Lb. casei* Shirota törzsek 24. és 72. óra között végig 10⁸ tke/ml nagyságrendű sejtszámmal rendelkeztek. A legnagyobb sejtkoncentrációt a *Lb. plantarum* 2142 érte el a 48. órában (8,14*10⁸ tke/ml). A törzsek megfelelő anyagszere tevékenységét jelzi a folyamatos pH csökkenés: a kezdeti pH=5,62 mindegyik törzs esetében pH=3,2 körüli értékre csökkent.

A *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzs 10^6 tke/ml nagyságrendről indult, a 24. órára a sejtkoncentráció csupán csak egy nagyságrenddel emelkedett. A 24. óra után végig egy csökkenő tendencia figyelhető meg, a 72. órára a sejtkoncentráció visszaesik 10^6 tke/ml nagyságrendre ($9,85 \cdot 10^6$ tke/ml). A fermentáció alatt a sörlé pH értéke tejsavbaktériumokhoz képest ugyan kisebb ütemben, de folyamatosan csökkent egészen pH=4,68 értékig. Az élesztő a 72. órára viszonylag magas, 3,31 V/V% alkoholtartalmat produkált. Az extrakt-tartalom az erjesztés során 4,39 m/m%-ra csökkent, míg a valódi erjedésfok 57,80%-ra emelkedett, ezek nem közelítették meg azt az átlagértéket, amelyet az élesztő az alkalmazott tejsavbaktériumokkal, vegyes kultúras erjesztés során értek el.

Vegyes kultúras erjesztések 0,1:1 arányú beoltási sejtszámmal

- *Lb. plantarum* 2142 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843



9. ábra: *Lb. plantarum* 2142 és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúras erjesztése

A *Lb. plantarum* 2142 folyamatosan növekvő sejtkoncentrációja figyelhető meg a **9. ábrán**. A kiindulási 10^5 tke/ml sejtkoncentráció a 24. órára kettő, a 48. órára ezen felül újabb egy nagyságrenddel emelkedett. A *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzs sejtkoncentrációja a 24. órára egy nagyságrenddel nőtt (10^6 tke/ml értékről 10^7 tke/ml értékre). A 24. óra után az élesztőtörzs már nem volt képes szaporodni, amelyet a 72. óráig tartó sejtkoncentráció-csökkenés egyértelműen mutat. Az erjesztés során a pH érték a kezdeti 5,62-ről pH=3,49-re csökkent, a minta savfoka 19,99 SH° volt.

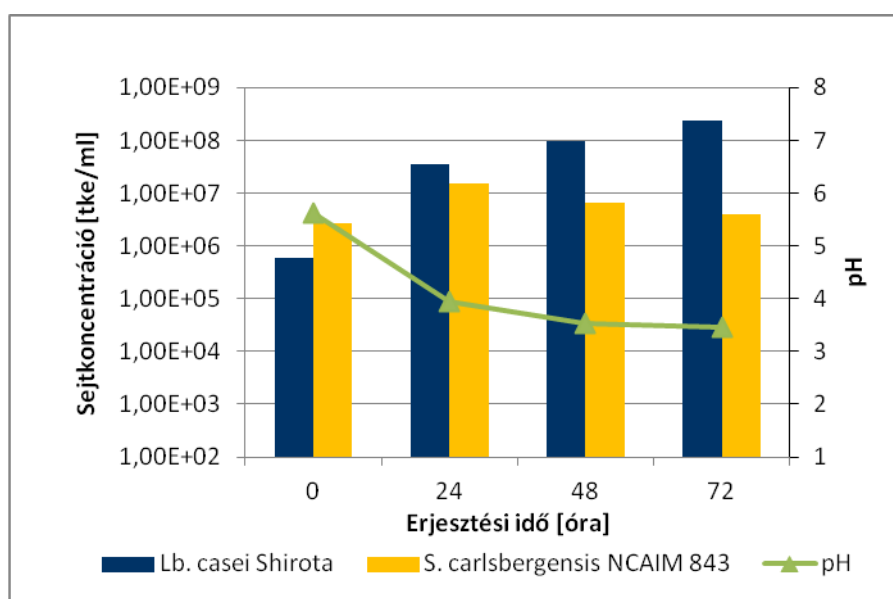
Ezen törzsek vegyes kultúrák értékeit monokultúrák értékükkel összehasonlítva megállapítható, hogy a *Lb. plantarum* 2142 kevésbé volt képes a növekedésre *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzs jelenlétében, mint „egyedül”: monokultúrák erjesztés során a *Lb. plantarum* 2142 sejtkoncentrációja a 48. órában $8,14 \cdot 10^8$ tke/ml volt, míg vegyes kultúrák erjesztés esetében ugyanebben az órában csak $1,14 \cdot 10^8$ tke/ml. A *S. carlsbergensis* NCAIM 843 szaporodása hasonló tendenciát mutatott, mint monokultúráként.

**11. táblázat: Alkoholtartalom, extrakttartalom és valódi erjedésfok alakulása
Lb. plantarum 2142 és *S. carlsbergensis* NCAIM 843
vegyes kultúrák erjesztése során**

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. plantarum</i> 2142 + <i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt- tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0
24	1,34	6,95	23,46
48	3,27	5,58	48,47
72	3,99	4,55	58,57
144	4,20	4,31	61,20

A **11. táblázatban** a sörlé alkoholtartalmának, extrakttartalmának és valódi erjedésfokának változása látható. Megfigyelhető egyre növekvő alkoholtartalom és valódi erjedésfok, valamint az egyre csökkenő extrakttartalom, amely a kultúrák megfelelő aktivitását bizonyítja. A fenti táblázatot összehasonlítva a 6. táblázat ugyanezen törzsek vegyes kultúrák erjesztésének eredményeivel megállapítható, hogy az első esetben az erjesztési folyamat hatékonyabban lezajlott, hiszen az ott mért alkoholtartalom és valódi erjedésfok magasabb, illetve az extrakttartalom alacsonyabb volt.

- *Lb. casei* Shirota + *S. carlsbergensis* NCAIM 843



10. ábra: *Lb. casei* Shirota és *Saccharomyces carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúrák erjesztése

A *Lb. casei* Shirota szaporodási rátája *S. carlsbergensis* NCAIM 843 élesztőtörzs mellett nagy hasonlóságot mutat a *Lb. plantarum* 2142 törzsével. A **10. ábrán** látható a tejsavbaktérium folyamatosan növekvő sejtkoncentrációja, nagyságrendje kettővel nőtt a 0. órától a 24. órára és egyel a 48. órától a 72. órára. Az alkalmazott élesztőtörzs csak a 24. órában lépte túl a 10⁷ tke/ml értéket, a 24. óra után folyamatos sejtkoncentráció-csökkenés mutatkozott. A pH érték az erjesztés előrehaladtával csökkent, pH=5,62-ről egészen pH=3,46-ig. A savfok ennél a párosításnál lett a legnagyobb: 25,99 SH°.

Összehasonlítva a monokultúrák és a vegyes kultúrák erjesztéseket megállapítható, hogy vegyes kultúrában a *Lb. casei* Shirota törzs lassúbb szaporodást mutat, mint monokultúrában: a 0. és 24. órák között tapasztalható három nagyságrendnyi sejtkoncentráció növekedés vegyes kultúrák erjesztés esetében csak két nagyságrendnyi volt. A *S. carlsbergensis* NCAIM 843 törzs esetén mind monokultúráként, mind vegyes kultúrában hasonló szaporodó és erjesztőképességet tapasztaltam, tehát a *Lactobacillus* törzs nem befolyásolja növekedési aktivitását.

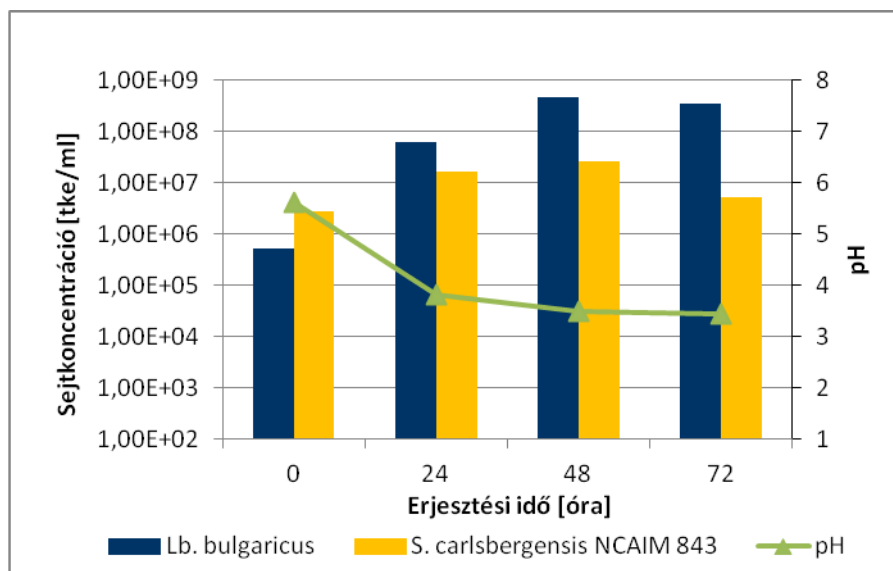
A sörlé alkoholtartalmának, extrakttartalmának és valódi erjedésfokának változása *Lb. casei* Shirota és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúrák erjesztése során a **12. táblázatban** látható.

12. táblázat: Alkoholtartalom, extrakttartalom és valódi erjedésfok alakulása *Lb. casei* Shirota és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúrák erjesztése során

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. casei</i> Shirota + <i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0
24	1,46	7,06	24,82
48	3,37	5,35	50,32
72	3,91	4,46	58,64
144	4,26	4,29	61,64

Ennél az erjesztésnél szintén elmondható, hogy a korábbi erjesztéshez képest itt is alacsonyabbak ill. magasabbak voltak az értékek: ennek a fermentációnak a végén alacsonyabb lett az alkoholtartalom és a valódi erjedésfok, valamint magasabb lett az extrakttartalom. Ezen vegyes kultúránál mért adatok nagyon hasonlóak az előző párosításnál kapott értékekkel.

- *Lb. bulgaricus* + *S. carlsbergensis* NCAIM 843



11. ábra: *Lb. bulgaricus* és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúrák erjesztése

A 11. ábrán látható, hogy a *Lb. bulgaricus* már nem végig növekvő tendenciával szaporodott, a 72. órában egy enyhe sejtkoncentráció csökkenés figyelhető meg. A *Lb. bulgaricus* az előző két kultúrával ellentétben gyorsabb szaporodást produkált és sejtkoncentrációja már a 48. órában elérte a 10⁸ tke/ml nagyságrendet. A *S. carlsbergensis* NCAIM 843 sejtkoncentrációja a 24.

és a 48. órában nőtt 10^7 tke/ml nagyságrend fölé. A pH érték folyamatos csökkenése volt jellemző ebben az esetben is pH=5,62-ről pH=3,45-ig, míg a sörle savfoka csupán csak 12,99 SH° értékű lett.

A *Lb. bulgaricus* esetén is elmondható, hogy az élesztő mellett lassúbb ütemű növekedést mutatott, mint monokultúráként. Viszont a maximális sejtkoncentrációt nézve a *Lb. bulgaricus* itt ($4,5 \cdot 10^8$ tke/ml) is elérte azt az értéket, mint monokultúras erjesztés ($5,38 \cdot 10^8$ tke/ml) során. Jelen vegyes kultúra esetén is megállapítható, hogy az élesztő szaporodásának lefolyását a *Lb. plantarum* 2142 vagy a *Lb. casei* Shirota törzshöz hasonlóan nem befolyásolta.

**13. táblázat: Alkoholtartalom, extrakttartalom és valódi erjedésfok alakulása
Lb. bulgaricus és *S. carlsbergensis* NCAIM 843
vegyes kultúras erjesztése során**

Erjesztési idő (h)	<i>Lb. bulgaricus</i> + <i>S. carlsbergensis</i> NCAIM 843		
	Alkohol (V/V%)	Extrakt-tartalom (m/m%)	Valódi erjedésfok (%)
0	0	11,66	0
24	1,48	7,13	24,87
48	3,22	5,11	50,37
72	3,42	4,29	56,27
144	3,81	4,26	59,11

A 13. táblázat mutatja a sörle alkoholtartalmának, extrakttartalmának és valódi erjedésfokának változását *Lb. casei* Shirota és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúras erjesztése során. Az adatok alapján elmondható, hogy az erjesztés megfelelő lefolyású volt. Összehasonlítva ezen adatokat az előző (9. táblázat) ugyanezen törzsekkel végzett erjesztéssel megállapítható, hogy az előző sokkal jobban sikerült, mint a jelenlegi: a valódi erjedésfok nem érte el a 60%-ot, míg alkoholtartalom nem haladta meg a 4 V/V%-ot.

Ebben a fejezetben kapott eredmények alapján egyértelműen megállapítható, hogy *Lactobacillus* törzsek a *S. carlsbergensis* NCAIM 843 törzs mellett lassúbb ütemű szaporodást mutattak. Az élesztő növekedését nem befolyásolta a *Lactobacillus* jelenléte. Ez alapján elmondható, hogy versengés alakulhatott ki a vegyes kultúras erjesztés során alkalmazott törzsek között. A három párosítás közül az erjesztés lefolyását tekintve talán a *Lb. bulgaricus* és *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúra lenne kiemelhető, de egyértelmű kiválasztásához további vizsgálatok elvégzése szükséges.

A fogyasztók számára meghatározó tényező az érzékszervi tulajdonságok és ezért én is kíváncsi voltam, hogy az általam erjesztett sörlevek milyen benyomást nyújtanak. Ennek érdekében egy rögtönzött érzékszervi bírálatot elvégeztünk a tanszéken.

Érzékszervi benyomások ismertetése:

Ahogy már említettem, a leerjedt sörleveket a Sör- és Szeszipari tanszéken egy nem hivatalos érzékszervi bírálat alá vetettük. A két fő vizsgálati szempont az íz és az illat volt. Az egyöntetű bírálat szerint a sörlevek mindegyike igen savanyú volt, ami a tejsavbaktériumoknak volt köszönhető. Íz tekintetében a *Lb. plantarum* 2142 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúras erjesztéssel készült sörleve bizonyult a leginkább fogyaszthatónak. Ez volt a legharmónikusabb a három párosítás közül. Illatban a vélemények megoszlottak: míg a *Lb. bulgaricus* + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 illatra a legjobbnak minősült, addig a *Lb. casei* Shirota + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúras erjesztéssel készült sörlében néhány mellékízt (karamell, melanoidinek) lehetett érzékelni. Ezen vizsgálat is bizonyította, hogy további optimálás vizsgálatokat kell végezni a megfelelő párosítás kiválasztásához.

6 ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám során vegyes kultúra (tejsavbaktérium - élesztő) alkalmazásával különleges sört kívántam előállítani. Első lépésként kölcsönhatás és szaporodó képesség vizsgálat alapján kiválasztottam, illetve szűkítettem a további vizsgálatokhoz felhasználni kívánt tejsavbaktérium törzsek számát. Ezt követően vegyes kultúras erjesztéseket végeztem 16 féle párosításban. Végül a megfelelő párosítás kiválasztása után optimálni kívántam az erjesztés lefolyását. Az erjesztés folyamatát pH méréssel, sejtszám meghatározással és sőranalizátorral, valamint egyes esetekben HPLC-vel követtem nyomon.

A 11 tejsav és 5 élesztő törzs egymásra gyakorolt hatását vizsgáltam meg, melynek eredményeként megállapítottam, hogy a *Str. salivarius ssp. thermophilus* és a *S. pastorianus* NCAIM 805 nem vonható be a vegyes kultúras erjesztésbe.

Ezt követően a fennmaradt törzsek szaporodását vizsgáltam komlózatlan sörleiben. A kapott eredmények alapján 4 tejsavbaktériumot (*Lb. plantarum* 2142, *Lb. casei* Shirota, *Lb. paracasei ssp. paracasei* SF1, *Lb. delbrückii ssp. bulgaricus*) választottam ki szaporodást jellemző paraméterek alapján a megmaradt 4 élesztőtörzs mellé, vegyes kultúras erjesztés elvégzésére.

Az elvégzett vegyes kultúras erjesztések összegzéseként megállapítható, hogy a tejsavbaktériumok sejtkoncentrációja minden esetben nagyságrendekkel meghaladta az élesztőkét, közöttük valószínűleg egyfajta versengés volt megfigyelhető. Ugyanakkor az élesztők is megfelelő anyagcsere tevékenységet folytattak a tejsavbaktériumok mellett, amit jól mutat a fokozatosan növekvő alkoholtartalom, illetve hogy a mért maltóz és maltótrióz szénhidrátok mennyisége jelentősen lecsökkent a fermentáció végére. Eredményeim alapján a *Lb. plantarum* 2142 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843, a *Lb. casei* Shirota + *S. carlsbergensis* NCAIM 843, valamint a *Lb. delbrückii ssp. bulgaricus* + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 párosításokat választottam ki a további vizsgálatok elvégzéséhez.

A vegyes kultúras erjesztés lefolyását kívántam optimálni és ennek érdekében megváltoztattam a beoltási arányokat 0,1:1 arányban (tejsavbaktérium:élesztő). Erre azért volt szükség, mert a kapott termékek erőteljes savas ízérzetet és illatot adtak. A vegyes kultúras erjesztés megkezdése előtt monokultúras erjesztésekkel vizsgáltam a törzsek szaporodóképességét, majd az eredményeket összehasonlítottam ezek vegyes kultúras erjesztése során kapott eredményeivel. A két erjesztési folyamat során még egyértelműbbé vált a tejsavbaktériumok és az élesztők közötti versengés megléte, hiszen a *Lactobacillus* törzsek egyénileg nagyobb sejtkoncentrációt produkáltak, mint együttesen.

A leeresztett sörleveket nem hivatalos érzékszervi bírálat alá vettem. Az egyöntetű vélemény szerint a sörlevelek mindegyike igen savanyú volt, ami a tejsavbaktériumoknak volt köszönhető. Íz tekintetében a *Lb. plantarum* 2142 + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 a legharmonikusabb a három párosítás közül. Illatban a vélemények megoszlottak: míg a *Lb. bulgaricus* + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 illatra a legjobbnak minősült, addig a *Lb. casei* Shirota + *S. carlsbergensis* NCAIM 843 vegyes kultúrák erjesztéssel készült sörlében néhány mellékízt (karamell, melanoidinek) lehetett érzékelni.

A fogyasztók által is elfogadható érzékszervi tulajdonságok kialakításához további optimalizációs vizsgálatok szükségesek.

7 IRODALOMJEGYZÉK

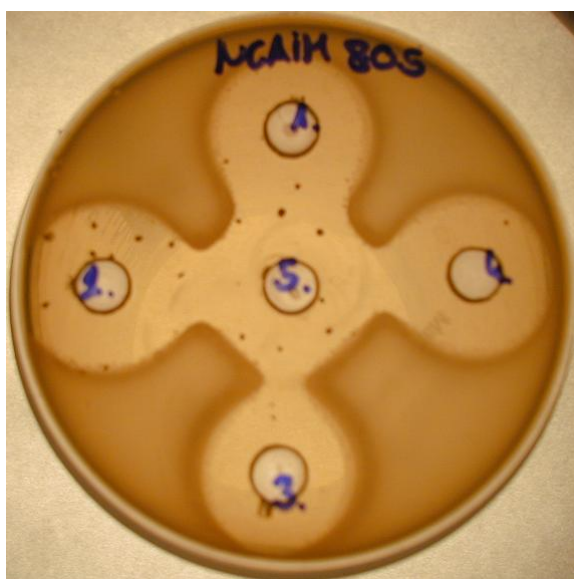
- BAMFORTH C. W. (2002): Nutritional aspects of beer - a review. *Nutrition Research*, 22, 227-237.
- BEDŐ I. (2011): Kiszűrés. HVG 2011/03, 34-35. p.
- BLANDINO A., AL-ASEERI M. E., PANDIELLA S. S., CANTERO D., WEBB C. (2003): Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36, 527-543.
- BOTES A., TODOROV S. D., von MOLLENDORFF J. W., BOTH A., DICKS L. M. T. (2007): Identification of lactic acid bacteria and yeast from boza. *Process Biochemistry*, 42, 267-270.
- DEÁK T. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 382. p.
- DE KEERSMAECKER J. (1996): The mystery of lambic beer. *Scientific American Magazine*, 275, 74-80.
- FARKAS G., REZESSY-SZABÓ J. M., ZÁKÁNY F., HOSCHKE Á. (2005): Interaction of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* strains in an alcoholic fermentation process. *Acta Alimentaria*, Vol. 34 (1), pp. 81-90.
- FARKAS G. (2007): Új technológiai lehetőségek alkoholszegény sörök előállítására. Doktori értekezés, *Budapesti Corvinus Egyetem. Budapest*. 140 p.
- HEGYESNÉ VECSERI B., KISS ZS., KUN SZ., FOGARASI A. L. (2011): Alakor a sörkészítésben. *Biokultúra folyóirat*, 22 (3). Biokontroll Hungária Nonprofit Kft., http://www.biokontroll.hu/cms/index.php?option=com_content&view=article&id=1094%3Aalakor-a-soerkeszitesben&catid=118%3A Tudomanyatermelesnek&Itemid=43&lang=hu
- JACKSON M. (2007): Sör. Budapest: M-ÉRTÉK Kiadó. 288. p.
- KRAHL M. D., EGGLE G., ASSENHEIMER T., BACK W. (2009): Novel malt-based beverages. *TU München, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising, German*
- NAKAMURA L. K., HARTMAN P. A. (1961): *Lactobacillus*: Yeast Interrelationships. *Journal of Bacteriology*, 81(4):519
- NARENDRANATH N. V. (2000): Effects and management of lactobacilli in yeast-catalyzed ethanol fermentations. (Diss.), *University of Saskatchewan, Saskatoon*
- NARZISS L. (1981): A sörgyártás. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 346. p.
- PAPAZIAN C. (2006): Beer styles: their origins and classification. pp. 41-74. in: Handbook of brewing (Second Edition) by PRIEST F. G., STEWART G.G. (eds.), *CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, Florida* p. 829
- PAVSLER A., BUIATTI S. (2009): Non-lager and lager beer. pp. 17-43. in: Beer in health and disease prevention by PREEDY V. R. (eds.), Elsevier, *San Diego, California*, 1101. p.
- PRADO F. C., PARADA J. L., PANDEY A., SOCCOL C. R. (2008): Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41, 111-123.

RUSSELL I., JONES R., STEWART G. G., (1987): Yeast – the primary industrial microorganism. pp. 2-19. in: Biological research on industrial yeasts Volume I. by STEWART G. G., RUSSELL I., KLEIN R. D., HIEBSCH R. R. (eds.), *Boca Raton, Florida, 33431, CRC Press, 209. p.*

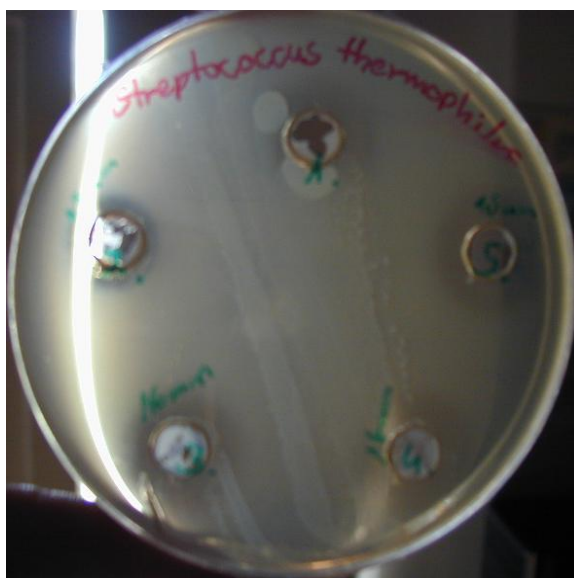
SZLADECSKÓ GY.-né (1998): Mikrobiológia és táplálkozás élettan. Budapest: Agrárszakoktatási Intézet. 143. p.

TENGE, C. (2002): Entwicklung einer Technologie zur Herstellung alternativer Fermentationsgetränke auf Würzebasis mittels selektierter und characterisierter Lactobazillen. (Diss.), *TU München, Freising-Weihenstephan*

MELLÉKLETEK



1. melléklet: *Lactobacillus* törzsek (1.-10.) és *Str. thermophilus* törzs (11.*) gátló hatása *S. pastorianus* NCAIM 805 élesztőre



2. melléklet: *Lactobacillus* törzsek (1.-10.) gátló hatása *Str. thermophilus* törzsre