

Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar
Sör- és Szeszipari Tanszék



**Különböző kereskedelembe kapható
élesztőkészítmények hatása a meggypálinka
minőségére**

Készítette:

Szabó Bernadett

Témavezetők:

Dr. Nguyen Duc Quang egyetemi docens
Kovács Attila PhD hallgató
Panyik Gáborné dr. egyetemi adjunktus

Budapest
2014

Tartalomjegyzék

1	BEVEZETÉS.....	2
2	IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	3
2.1	A meggy	3
2.1.1	Botanikai leírás.....	3
2.1.2	A termésminőséget befolyásoló tényezők.....	4
2.1.3	A gyümölcs beltartalmi jellemzői	5
2.1.3.1	Cukor-, sav- és szárazanyag-tartalom.....	5
2.1.3.2	Antioxidánsok, színanyagok.....	6
2.1.3.3	Aromavegyületek	7
2.2	Élesztők szerepe az erjedésben.....	9
2.2.1	Általános jellemzés.....	9
2.2.2	Élesztők hatása az aromaprofilra.....	13
2.2.3	Természetes mikrobióta, fájlesztők	16
2.2.4	Az erjedés	17
2.3	Párlatok.....	19
2.3.1	A párlatok jellemzése	19
2.3.2	A lepárlás elmélete	19
2.3.3	A csonthéjas gyümölcsök párlatainak aromavilága	20
2.4	Érlelés hatása az aromaanyagokra.....	20
3	CÉLKITŰZÉSEK.....	21
4	ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	22
4.1	Fájlesztők.....	22
4.2	Az erjedési dinamika vizsgálata	22
4.2.1	Modellcefre összeállítása.....	23
4.2.2	A tömegcsökkenés vizsgálata.....	24
4.2.3	A szárazanyag-tartalom mérése.....	24
4.2.4	pH érték mérése	24
4.2.5	Redukálócukor-tartalom meghatározása BCA-módszerrel.....	24
4.2.6	Műszeres analízisek.....	26
4.2.6.1	HPLC technika	26
4.2.6.2	GC-FID technika	26
4.2.7	Párlatok előállítása.....	27
4.2.8	A párlatok alkoholtartalmának meghatározása	27
5	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS	28
5.1	Alkoholos fermentáció dinamikája.....	28
5.1.1	A pH mérés eredményei	28
5.1.2	A cefre tömegcsökkenése	28
5.1.3	A szárazanyag tartalom változása	30
5.1.4	BCA-módszerrel meghatározott redukálócukor tartalom	31
5.1.5	HPLC analízisek.....	33
5.2	A párlatok jellemzése	37
5.2.1	Alkoholtartalom.....	37
5.2.2	GC-FID módszer adaptálása és alkalmazása.....	38
5.2.3	A párlatok kromatogramjainak vizsgálata.....	39
6	ÖSSZEFOGLALÁS.....	44
7	FELHASZNÁLT IRODALOM	46

1 BEVEZETÉS

A Kárpát-medence mikroklímája és ökológiai tulajdonságai egyaránt kedvezőek a növénytermesztés számára: a kiváló minőségű, aromában gazdag gyümölcstermés jó alapanyagot biztosít a párlatkészítők részére. A megjelenő új fogyasztói trendek az egészséget pozitívan befolyásoló, kiváló minőségű, változatos palettájú termékeket részesítik előnyben, melyekben az aromakarakter szinte ujjlenyomat-szerűen jelenik meg. A különféle borok, szeszes italok és párlatok reneszánszukat élik. A borkészítés és a pálinkakészítés technológiája nem választható el egymástól hermetikusan, sőt az egyéb fermentált termékek előállításánál is szembesülünk ugyanazokkal az alapvető vonásokkal, vagyis a kiindulási anyagból biokémiai és enzimes reakciók sorozatán keresztül egy teljesen új tulajdonságokkal rendelkező termékhez jutunk. A gyártó részéről cél az állandó minőségű, hibátlan és utánozhatatlan termékek előállítása és forgalmazása, ezért jut domináns szerephez az ezeket a szempontokat támogató gyártástechnológia: többek között a biztonságos erjedésvezetés. Ehhez azonban az egyes évfázisok különbözősége révén eltérő fizikai és kémiai összetételű alapanyag miatt elengedhetetlen a megfelelő cefrekezelés és a fájlesztők alkalmazása. Az egyes tájegységek és alapanyagok jellegzetességeihez kiválóan alkalmazkodni tudó *Saccharomyces cerevisiae* törzsek széles választéka áll rendelkezésre a borkészítők számára a piacon. A különbség az egyes törzsek között nem csupán a környezeti optimumokban keresendő, hanem a végtermékre nézve is más és más mindegyik, így eltérő lehet például az alkoholkihozatal vagy az aromafelszabadító-képesség. Egy-egy adott stílusú bor vagy párlat előállításánál manapság többnyire liofilizált élesztőkészítményeket alkalmaznak. Tekintve, hogy a fogyasztói preferenciák az adott termék egyediségére irányulnak, indokolt lehet ezen élesztőkészítmények tulajdonságainak vizsgálata és összehasonlítása egy olyan modellcefrében, amely maga is kiváló aromavilággal rendelkezik. A kapott eredmények pozitívan segíthetik elő akár a nagyobb kapacitású főzdek, akár a házi pálinkakészítők döntését, amikor a meglehetősen színes kínálatnak örvendő fájlesztők közül kell helyesen választaniuk.

Ilyen megfontolásból TDK-munkámban célul tűzttem ki különböző kereskedelembe kapható fájlesztő készítmények összehasonlító vizsgálatát, különös tekintettel az erjedési dinamikára és a végtermék aromakarakterére.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A meggy

2.1.1 Botanikai leírás

A csonthéjas gyümölcsök közül magas beltartalmi értékük miatt kiemelkedő jelentőségű cseresznye és meggy illetve a velük rokon fajok a rózsafélék családján belül a *Prunoideae* alcsalád *Prunus* L. nemzetségébe sorolhatók be. A meggynek (*Prunus cerasus* /L./) számos fajtája ismert, termesztése jelentős múltra tekint vissza hazánkban (Surányi, 2003). Az európai meggyfajták a mediterrán szigetekről egészen Oroszország északi részéig elterjedtek, és ezen a földrajzi területen belül az egyes gyümölcsök karakterében nagy diverzitás mutatkozik (Beaver et al, 1995).

A meggy fája közepesen nagy, ágai lehetnek felfelé állók vagy lelógók, levele fényes, hosszúkás, tojásdad alakú vagy elliptikus. A virágzatot 2, 4 esetenként 5 virág alkotja. A szíromlevelek nagysága fajtánként eltérhet, színük általában fehér, de némely faj esetén rózsaszín vagy piros virág is előfordul. A virágok többnyire önmeddők. A termés csonthéjas, nagysága fajtánként különböző. Az exokarpium felülete sima, fényes, a terméshús lédús, színe a vöröstől a feketéig változhat, íze savanykás, ritkán édeskés vagy keserű. Léteznek festőlevű fajták is. A kőmag kerekded, a csonthéj felülete, színe terméshúshoz való kötöttsége fajtaspecifikus. A magot körülvevő endokarpium már az érés korai szakaszában kősejtekből álló, kemény szövetté szilárdul (Surányi, 2003). Az érés ideje fajtánként eltérő. A korai fajták június elején-közepén érnek, míg a kései fajták, így a Debreceni bőtermő, a Kántorjánosi 3 és az Újfehértói fürtös érési ideje július közepén van (Apostol és Brózik, 2001).

Lucas 1867-es fajrendszerezése alapján megkülönböztetünk valódi fameggyeket, bokormeggyeket és fajhibrideket. Ez utóbbi csoportba sorolhatók a félcseresznyék és a félmeggyek. A valódi fameggyek egy részét a festőlevű, sötét héjú fajták teszik ki, így például a Cigánymeggy-klónok, másik részét pedig a világos levű, világos héjú üvegmeggyek, például a Pándy-klónok (Apostol, 2003).

A népszerű Pándy meggy mellett Magyarországon a hetvenes évektől a hibridek kezdtek elterjedni, melyek közül a kellemesen édes-savas ízű, harmonikus aromájú Érdi bőtermő a legjelentősebb. Korai érése és harmonikus íze miatt jelentős még a Meteor korai továbbá a zamatos, feketés bordó héjú Érdi jubileum. A szelektált fajták közül kiemelkedő

a nagy gyümölcsű Debreceni bőtermő, a magas savtartalommal rendelkező Kántorjánosi 3 valamint az Újfehértói fürtös. A választékban ma már mind élelmiszeripari feldolgozásra, mind friss fogyasztásra alkalmas fajták megtalálhatók (Apostol és Brózik, 2001).



1. ábra: A meggy (*Prunus cerasus* L.) a. virágzata, b., c. termése, d. kőmagja
/Forrás: wikipedia.com/

2.1.2 A termésminőséget befolyásoló tényezők

Az adott termőhely ökológiai tényezői, így a napfényes órák száma, a középhőmérséklet, a csapadékmennyiség és a mikroklima továbbá a földrajzi szélesség, a fekvés, a tengerszint feletti magasság, a talaj minősége, a széljárás és egyéb biotikus tényezők alapvetően meghatározzák, mely fajták termeszthetők az adott területen. Az egyes évjáratok eltérőek, és domináns szerepet játszanak a gyümölcsminőség meghatározásában. Fontos, hogy a növény vegetációs szakaszaiban megfelelő tápanyagellátás, fény- és hőmérsékletviszonyok legyenek. Jó évjárat esetén a gyümölcs cukor- és savtartalma optimális, aromája karakteres, íze harmonikus, az adott fajtára jellemző (Panyikné, 2013).

Magyarország meggytermése 2012-ben 53.425 tonna volt (KSH, 2014), ami az elmúlt évek termés mennyiségét tekintve átlagosnak mondható. Hazánk világviszonylatban a 3. legnagyobb meggytermelőnek számít, és nemzetközileg is elismert, kiváló magyar

fajtákkal büszkélkedhet. Az egyes fajták vízigénye jelentősen eltér. A termesztéshez átlagosan évi 500-600mm csapadék szükséges. Ez a szélsőségesen száraz évektől eltekintve az ország minden részén adott, ahogyan a szükséges évi 8-10°C középhőmérséklet is. A talaj minősége szempontjából elmondható, hogy a meggy nem kedveli a tömör alapkőzetet, a tömött agyagréteget, a szélsőséges talajkémhatást és az erősen meszes talajt sem, ideálisnak a laza kavicsréteg tekinthető. Fontos, hogy a talajban a nitrogén/kálium hányados értéke 2 legyen. A termés hozamra a kálium hat a legerőteljesebben, de számos kísérlet alátámasztja, hogy a nitrogén- vagy műtrágyázott fák is szignifikánsan többet termettek az átlagosnál (Kállayné, 2003). A tavasszal vagy nyár elején adagolt normál vagy magas dózisú nitrogén jó hatással van a levélzetre, a virágzásra és a termésre is, míg a kései nitrogéntrágyázásnak számos kedvezőtlen hatása lehet, az erjesztésnél is komoly limitáló faktort jelent (Lindhard és Hansen, 1997).

2.1.3 A gyümölcs beltartalmi jellemzői

2.1.3.1 Cukor-, sav- és szárazanyag-tartalom

Általánosságban véve a gyümölcsök alkotóelemei között megtalálható a víz, szerves savak, lipidek, szénhidrátok, fehérjék, rostok, különböző ásványi anyagok, vitaminok és antioxidáns hatású vegyületek. Ezen összetevők aránya függ a fajtától, környezeti tényezőktől, klímaviszonyoktól, érettségi állapottól, a kertészeti gyakorlattól és a betakarítás utáni kezeléstől. (Jenks és Bebeli, 2011)

Meggy esetén a gyümölcsméretet, a húskeménységet, a gyümölcs sav- és cukortartalmát a gyümölcskötődés, a fa gyümölcs/levél aránya nagy mértékben befolyásolja. A túl nagy terméssel berakódott fák a gyümölcs ízetlen és puha lesz (Surányi, 2003). A gyümölcs érése kémiai, fiziológiai, biokémiai, morfológiai változások láncolata, mely meghatározza az egyes fajták minőségi paramétereit (Pedisic et al, 2007). A titrálható savtartalom, a szárazanyag-tartalom, a héj színének változása jó indikátora az érés előrehaladottságának. Milosevic és munkatársai 5 különböző érettségi állapotban vizsgálták az Oblacsinszka és a Cigánymeggy gyümölcseinek fizikai és kémiai paramétereit, és megállapították, hogy a vízzel oldható szárazanyag-tartalom nő, míg a titrálható savtartalom csökken az érettség előrehaladtával. Az érés utolsó fázisában a Cigánymeggy esetén a szárazanyag-tartalomra 16,2 Brix°; az Oblacsinszka esetén 16,8 Brix° körüli értéket kaptak, míg régebbi méréseknél ezen fajták klónjainak gyümölcseinél

14 és 19 Brix° közötti értékeket mértek. A titrálható savtartalom alacsonyabb értéket ért el, mint a korábbi, Nikolic és társai által végzett mérések során, ahol 1 és 2% közötti értéknek adódott. A különbség oka az eltérő termőhely lehet (Milosevic et al, 2012; Nikolic et al, 2011). A meggy tipikusan savas gyümölcsnek számít, az összes savtartalom fajtától függően 19 és 29 g/l között változhat. A meggy savtartalmát elsősorban az L-almasav adja, a citromsav mennyisége elenyésző (Eksi et al, 1980; Velioglu és Yildiz, 1996).

2.1.3.2 Antioxidánsok, színyanyagok

A meggy gyümölcse jelentős antioxidáns kapacitással rendelkezik. Színét az antocianinoknak köszönheti, melyekből eddig 6-félét sikerült megkülönböztetni az egyes fajták esetén (Will et al, 2007). Ezek koncentrációja – szintén fajtától függően – 200 és 800 PPM között mozog. A meggy legfontosabb antocianinja a cianidin-3-(2-glikozilrutinozid), ami egy triglikozid, míg más gyümölcsökben az antocianinok monoglikozidokként vannak jelen (Toydemir et al, 2013). A meggy levéből mért antioxidáns kapacitás is igen magas, és elsősorban a polifenolok jelenlétének köszönhető, de hozzájárulnak az antocianin frakciók is (Damar és Eksi, 2012). Jelentős még a procianidinek, elsősorban a katechin és az epikatechin jelenléte. Kérdés, hogy a gyümölcsfeldolgozás műveletei hogyan hatnak ezekre a komponensekre. Mérésekkel igazolták, hogy a préselt, hőkezelt, szűrt és tisztított meggylé átlagos metabolit összetétele nagyban hasonlít az eredeti gyümölcshöz, a cianidin-3-(2-glikozilrutinozid) 87%-a átkerül a lébe, az epikatechinnek pedig 62%-a. A legnagyobb antocianin veszteség a szűrésnél következett be, és a procianidinek is jelentős koncentrációban voltak megtalálhatóak a gyártási melléktermékben, de ez a teljes anyagmennyiségnek igen kis részét teszi ki, ezért elhanyagolható (Toydemir et al, 2013). Az antocianinok hatékony extrakciójához hosszú idő és alkohol jelenléte szükséges, ezért van az, hogy például vörösbor készítésénél néhány napig héjonerjesztik a szőlőt, hogy az antocianinok magas koncentrációban legyenek jelen a késztermékben (Sims és Bates, 1994).

A beltartalmi értékek nagyban fajtafüggőek. A Magyarországon termesztett fajták közül az Érdi bőtermő húsa középkevény, finoman rostos, sötétpiros és bőlevű, közepesen festőlevű. Ízre kimondottan kellemes, édes-savas, harmonikus meggy-íz jellemzi. Az Újfehértói fürtös tipikusan magasabb cukortartalommal rendelkezik, míg a Kántorjánosi 3-nak a titrálható savtartalma magasabb, ami mellett jól kijön a tipikus meggy-íz. A

Debreceni bőtermő méretét, tetszetősségét, ízét tekintve az újfehértói és a Pándy között helyezkedik el. A Pándy egy spontán létrejött fajta, 1970-ig az ország legkeresettebb, első számú meggyfajtája volt. Napjainkban klónjait szaporítják, kiváló gyümölcs áruparaméterekkel rendelkezik. A Cigánymeggy a Kárpát-medencében spontán kialakult, őshonos, fekete festőlevű, nagyon savas, apró szemű, légyártásra alkalmas fajta. Az Érdi jubileum húsa kemény, és túlérés esetén sem puhul meg, színanyagai hőkezeléssel szemben is meglehetősen stabilak. Savanykás-édeskés, fűszeres meggy-íz jellemzi, szárazanyag tartalma mind közül ennek a fajtának a legmagasabb: 22-23 ref%, sava a teljes érettségben 2,1°% (érés kezdetén 12-13-as ref% mellett 0,9-1,1°%sav). Hasonlóan magas szárazanyag-tartalma van még a Csengődinek (18-20 ref%) (Surányi, 2003).

2.1.3.3 Aromavegyületek

A zamat, az aroma és az íz rokon fogalmak. A növényi termések aromája többnyire nagyszámú illékony és nem-illékony vegyület összetett interakciójának eredménye, az íz és illat pontos eredete azonban nem ismert. Az aromát befolyásolja a fajta, a termesztési körülmények, a posztharvest folyamatok és minden, ami hatással van a növény fiziológiájára. Az aromaanyagokat két csoportra lehet osztani. Ennek megfelelően megkülönböztetünk elsődleges aromaanyagokat, melyek szabályozott enzimes folyamatok révén keletkeznek az ép növényi szövetben; és másodlagos vegyületeket, melyek mechanikai sérülés hatására szabadulnak fel. Az aromakomponensek az érés során keletkeznek, vannak közöttük zsírsav-származékok, fenolos vegyületek és terpének, míg a szöveti sérüléssel keletkezettek elsődleges vagy másodlagos metabolitok enzimes degradációjával, autooxidációjával állnak elő lipidekből, aminosavakból, fenolos és terpenoid vegyületekből (Christensen et al, 2011). A gyümölcs zamatát az íz és az aroma adja. Az íz a cukrok és savak közötti egyensúllyal áll szoros összefüggésben, míg az aroma az illékony komponensektől függ. Ideális esetben a termést a teljes érettség állapotában szüretelik, hiszen az éretlen gyümölcsben kisebb a cukrok és a kellemes aromájú, illékony vegyületek mennyisége (Jenks és Bebeli, 2011).

Minden gyümölcsnek megvan a sajátos, karakteres, csak az adott gyümölcsre jellemző aromája, mely az érés során kialakuló vegyületeknek köszönhető. Az érettségi állapot megállapításának legjobb módszere ezen vegyületek mennyiségi és minőségi azonosítása, valamint az érett gyümölcsre jellemző általános összetétel pontos ismerete. A

komponensek, melyek hozzájárulnak a friss gyümölcs aromatikájának kialakításához, a gyümölcs súlyának csupán 0,001-0,01%-át teszik ki, jelentőségük mégis meghatározó a minőségre nézve (Zhang et al, 2007). A friss meggy domináns aromakomponensei között szerepel a benzaldehid, a benzyl-alkohol, az eugenol, a linalool, a hexanal, a transz-2-hexenal, a 2-transz-6-cisz-nonadienal és a phenylacetaldehid (Petersen és Poll, 1999; Matheis és Buchanan, 1992). Az aromakomponensek koncentrációjának változását a cseresznye gyümölcsének érése során nyomonkövetve látható, hogy amikor még zöld a gyümölcs, elsősorban a zöld karakterért felelős komponensek, így a transz-2-hexenal, a hexanal, a cisz-3-hexenal, a transz-2-hexen-1-ol, stb. dominálnak, a 6 szénatomszámú aldehidek aránya igen magas, 37% körüli. A színesedés kezdetén ez az arány 84%-ra nő, és megjelennek az 5 szénatomos alkoholok. A fogyasztásra alkalmas állapotban a 6 szénatomos aldehidek aránya jelentősen csökken, a benzaldehid mennyisége nő, és számos új komponenssel, köztük észterekkel (ethyl-butanoate, ethyl-octanoate, phenylethyl-acetate) gazdagodik az aromavilág. A teljes érettség fázisában a transz-2-hexenal, a transz-2-hexenol a benzaldehid és az etil-acetát és a különböző alkoholok aránya a legmagasabb. Az alkoholok jelenléte a gyümölcs romlására utal. Az aroma ebben a fázisban kezd stabilizálódni. Az egyes aromakomponensek tehát eltérően viselkednek a gyümölcs érése során, az aldehidek mennyisége először növekszik, majd csökken, az észterek és alkoholok mennyisége az érés előrehaladtával növekszik (Zhang et al, 2007). Párlatkészítés szempontjából tehát lehetséges, hogy a teljes érettség előtt kell leszedni a gyümölcsöt, mert ilyenkor optimális az aromaösszetétele, noha ez alacsonyabb alkoholkhozatalhoz vezet (Panyikné, 2013).

A gyümölcsök és más növényi részek nagy részére igaz, hogy az aromaanyagok nem kizárólag a szabad állapotú illékony komponensekből, hanem a nem-illékony, vagyis glikozidos kötésben lévő prekursorokból is származhatnak. Ezek aránya például a cseresznyefélék esetén nagyobb, mint a szabad, illékony aromakomponensek aránya, és glikokonjugátok formájában felhalmozódva potenciális aromaanyag forrást jelentenek (Wen et al, 2013). Meggy esetén 2-8-szor nagyobb mennyiségben vannak jelen, mint a szabad aromaanyagok (Schwab et al, 1990). A flavonolok, az antocianinok, a terpenoid vegyületek, az alkoholok nagy része, a norizoprenoidok, úgy mint az alfa- és a béta ionon valamint az alfa- és a béta-damascenone továbbá az illékony szerves savak rendre glikozidok formájában találhatók meg a növényi nyersanyagokban, s bár az aromaprekurzorok pontos helye a gyümölcsön belül még nem tisztázott, nagy valószínűséggel a vakuolumokban halmozódnak fel. A prekursorok felépítésüket tekintve

egy szénhidrát részből állnak, ami leggyakrabban béta-D-glükopiranoz (glükóz) vagy alfa-L-arabinofuranóz, ehhez kapcsolódik glikozidos kötéssel a potenciálisan aroma aktív rész (Spagna et al, 1997). A glikozidos kötések hasadásával tehát egy cukor és egy ún. aglikon rész keletkezik. Ez az aglikon rész vagy már önmagában aromaaktív, vagy további kémiai átalakulások során válik azzá, módosítván így az egész aromaprofilt (Sarry és Günata, 2004).

A glikozidos kötés hasadását előidéző hidrolízis lehet savas vagy enzimikus. Az aromaprekurzorok felszabadítását bármelyik előidézhetsé, (Ugliano et al, 2006), ám fermentáció során bizonyos komponensekre nézve az enzimikus hidrolízis hatékonyabb lehet. Ez alól kivételt képeznek a harmadrendű alkoholok (Daenen et al, 2008). A savas hidrolízis a közeg pH értéknek és hőmérsékletének függvényében megy végbe, viszont sebessége a szubsztráttól is függ. A harmadrendű alkoholok, így például a linalool, a linalool-oxidok és az alfa-terpineol gyorsabban és könnyebben hidrolizálódnak, tehát például egy két éve érlelt borban ezek már teljesen elhidrolizálódtak, míg az elsőrendűek - például a geraniol és a nerol - nem (Park & Noble, 1993).

Wen és munkatársai (2013) kísérleteik alapján arra a megállapításra jutottak, hogy a cseresznye gyümölcsének főbb aromakomponensei közül 11 kivételével mindegyik megtalálható szabad és glikozidosan kötött formában is. A szabad frakcióban főleg aldehideket, alkoholokat és 6 szénatomszámú komponenseket azonosítottak (hexanal, transz-hexenal, cisz-hexenol, stb.), melyek mechanikai sérülés útján szabadulnak fel a növényi szövetből. A glikozidosan kötött frakciót elsősorban alkoholok és terpénvegyületek alkották, így például a benzyl-alkohol, a geraniol, az eugenol, a 2-phenyl-1-etanol, a béta-citronellol és a geranial (Wen et al., 2013).

2.2 Élesztők szerepe az erjedésben

2.2.1 Általános jellemzés

Az élesztők egysejtű szervezetek, alakjuk többnyire gömbszerű vagy ovális, 4-6µm sejtátmérővel. Jellegzetes ivartalan szaporodási formájuk a sarjadzás, ivaroson pedig spóráképzéssel szaporodnak: meiózis után 4 spóra képződik (Deák, 1998). Az élesztők fakultatív anaerob szervezetek, levegő jelenlétében, és attól elzárva is képesek szaporodni, de anaerob körülmények között amennyiben van rendelkezésre álló cukorforrás, inkább

erjesztenek – az ilyenkor keletkező sejttömeg elhanyagolható nagyságú (Békési és Pándi, 2005).

Az élesztősejt életműködésének feltétele, hogy a tápanyagok vizes oldatban legyenek, mert csak így képes felvenni azokat, még hozzá a sejt falon keresztül, diffúzióval. Az élesztők szaporodásukhoz szénhidrátokat igényelnek. Szénforrásként egyszerű cukrokat használnak, nitrogénigényük szerves és szervetlen forrásból is kielégíthető, tudják hasznosítani a nitrátot is. Koenzim- és fehérjeszintézishez kénvegyületekre is szükségük van, legfontosabb kénvegyület a szulfát, de némely faj a szulfitot is képes felvenni és hasznosítani. Az élesztőgombáknak jelentős még a foszfor-, kálium-, magnéziumigénye, vitaminigényük fajoként változó. A cefre összetétele nem biztos, hogy minden évjárat és termőhely esetén megfelel ezeknek a kritériumoknak, így elengedhetetlen a tápanyag-utánpótlás. A tápanyagok jelentik a szaporodáshoz és cukorbontáshoz szükséges létfontosságú anyagokat, így megfelelő adagolás esetén minimális lesz a kiejedt cefrében a maradék cukortartalom, javul az alkoholkihozatal, optimális lesz az erjedés dinamikája (Panyikné, 2013). Fontos azonban megemlíteni, hogy a növekedéshez optimális feltételek nem minden esetben eredményeznek maximális termékképződést, tehát a tápanyagszükséglet nem ugyanaz, ha a mikroba erjeszt, vagy ha aerob körülmények között szaporodik (Békési és Pándi, 2005).

A tápanyagok hasznosításának első lépése azok transzportja a sejtmembránon át az élesztősejtbe, vagy azt megelőzően a nagyobb molekulák extracelluláris lebontása kisebbekre, és a termékek felvétele. A sejtmembrán permeabilitása korlátozott, a legtöbb anyag átjutását transzportrendszerek biztosítják. Specifikus átvivők működnek a diffúzióban és az aktív transzportban is, például permeázok és egyéb transzporterek. Az aktív transzport ATP-t használ az ionok felvételére vagy leadására, így protongradiens jön létre, amit a másodlagos aktív transzportrendszerek különböző molekulák, aminosavak, cukrok, stb. transzportjára fordítanak. A transzport lehet a protonokkal egyirányú (szimport) vagy ellentétes (antiport). Az élesztőgombákban a transzportrendszerek minden típusa működik. Az *Saccharomyces cerevisiae* a monoszacharidokat közvetített diffúzióval, a diszacharidokat aktív transzporttal veszi fel. A glükóz transzportjában egy kis és egy nagy affinitású rendszer különböztethető meg. Az első konstitutív, a másodikat kinázok aktiválják, vagy a glükóz represszálja. A galaktóz közvetített transzportja indukálható. A maltóz aktív transzportja H^+ -szimport, a szacharózt a sejt invertázzal hidrolizálja a sejten kívül, és csak a keletkező monoszacharidokat veszi fel. A *Saccharomyces cerevisiae* ipari törzsei csak mono- és diszacharidokat tudnak hasznosítani,

esetleg még a három alegységből álló raffinózt, a sörélesztők a maltotriózt is, de ennél nagyobb tagszámú oligomereket már nem. A *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* STA génjének köszönhetően glükóamilázt termel, ami képes a dextrineket sejten kívül hidrolizálni, de az alfa-1,6 kötéseket ez sem képes bontani. Az aminosavak felvételében az általános aminosav-permeázon kívül számos aminosavnak specifikus átvivője is van (Deák, 1998).

A szénhidrátok erjesztése biokémiaailag anaerob anyagcsere-folyamat, vizsgálata azonban a gyakorlatban teljesen anaerob körülmények között nem valósítható meg. Az erjedés kimutatása az alkoholtermeléssel együtt keletkező szén-dioxid kimutatásán alapul (gázképződés). A vizsgált cukrok általában a következők: glükóz, galaktóz, szacharóz, maltóz, laktóz, raffinóz, ritkán melibióz, trehalóz, inulin vagy egyéb. Az élesztők erjesztési képessége variabilis. Sok faj erőteljesen erjeszt (például a *Saccharomyces* fajok), mások csak gyengén vagy lassan, sőt az ismert fajok harmada egyáltalán nem (*Basidiomycetes*). Az egyes cukrok erjesztésének képességét csak egy vagy néhány gén határozza meg és gyakran az enzimek sem konstitutívak, hanem indukálhatók, ami a cukrok erjesztéséhez való alkalmazkodást tette lehetővé, vagy épp ellenkezőleg: mutáció révén elveszett az erjesztési képesség. Az egyes szénhidrátok erjesztésének biokémiai útja számos lépésben azonos, pl. a glükózé, fruktózé, mannózé. Ha egy élesztő erjeszti bármely cukrot, biztos erjeszti a glükózt is, de ez az állítás fordítva már nem igaz (Deák, 1998).

A szénforrások katabolizmusa biztosítja az élesztősejtek szaporodásának három fő szükségletét: a sejtanyagok összetevőiként szolgáló köztestermékeket, a szintézishez nélkülözhetetlen redukáló kapacitást (redukált koenzimeket) és az energiaforrást (ATP). Az ATP-t a glikolízis és a légzés nyújtja. Glikolízis során egy molekula hexóz 2 piruváttá alakul, és 2 ATP képződik. Alkoholos erjesztéskor a gombák ezt a piruvátot alakítják át etanollá, légzéskor szén-dioxiddá és vízzé. A sejtekben a katabolikus és anabolikus folyamatok összefüggenek, és hatékony szabályozás alatt állnak (Deák, 1998).

A külső szénforrások hasznosítását kódoló gének több kópiában, több kromoszómán helyezkednek el, de egy-egy törzsben az azonos gének nem mindegyike aktív. A *Saccharomyces cerevisiae* törzsekben a szacharóz hasznosításáért felelős SUC génekből 6, a maltóz felvételéért felelős (MAL) génekből 5, a melibiózéból (MEL) pedig 7 található. A SUC gének által kódolt invertáz a szacharóz és a raffinóz hasznosításában szerepel. Két változata van, az erősebben glikozilált forma a periplazmás térben, a másik a citoplazmában található. A MAL gének minden helyén 3 gén alkot egy csoportot: a maltóz- permeáz, a maltáz és az aktivátor fehérje gén. Az invertáz szintézise konstitutív, a

galaktóz és maltóz gének pedig induktívak. A glükóz a szacharóz, a maltóz és a galaktóz hasznosítását is represszálja. A glükóz általi katabolit represszió nem csak a szénforrások hasznosításában fontos gének kifejeződését szünteti meg, hanem számos más fehérje, enzim szintézisét is. A *Saccharomyces cerevisiae* a glükózerjesztéshez alkalmazkodott, mégis erőteljes a katabolit repressziója. Ezt tükrözi a *Crabtree*-effektus is: amíg glükóz van a rendszerben, addig erjeszt, még aerob körülmények között is, miközben számos gén represszálva van. A glükóz a cAMP szint hirtelen megnövekedését okozza, ez csökkenti a fruktóz-1,6-foszfátáz aktivitását, így nő a fruktóz-1,6-foszfát szint, aktiválódik a foszfofruktokináz, ez serkenti az alkoholos erjesztést. Gátlódik továbbá az izocitrát-liáz, melynek révén csökken az aerob légzés mértéke. Az effajta glükózérzékeny élesztőknél a légzést már kis koncentrációban jelen lévő glükóz (<0,4%) is represszálja, oxigén jelenlététől függetlenül. Az ún. *Pasteur-effektus* fellépésekor a foszfofruktokináz enzim aktivitását gátolja a nagy mennyiségű ATP, gátlódik továbbá a glükóz transzport is, így csökken a glükózfelhasználás mértéke, aerob körülmények között. Az alkoholtermelés megszűnésének hátterében az alkohol-dehidrogenáz működéséhez szükséges redukált koenzimek piruvát-dehidrogenázhoz való kötődése áll, így a piruvát redukálódása acetaldehiddé, majd etanollá nem megy végbe, hanem a koenzim A-hoz kapcsolódva a mitokondriumba jut, és szén-dioxiddá alakul (Deák, 1998).

A hagyományosan erjesztett italok világszerte különböző cukorforrásokból, különböző klimatikus viszonyok mellett és eltérő technológiai komplexitással készülnek, azonban általában mindegyikükben közös, hogy az erjesztésben *Saccharomyces cerevisiae* törzsek vesznek részt. A különböző földrajzi helyekről izolált *Saccharomyces cerevisiae* törzsek eltérő fiziológiai tulajdonságokat mutatnak, ami azt jelzi, hogy képesek adaptálódni az eltérő környezeti körülményekhez. A különböző fermentációk jelentős eltérést mutatnak karakterisztikájukban, aminek az eltérő cukorösszetétel, hőmérséklet, pH és nitrogénforrások állnak a hátterében. Ezekhez az eltérő körülményekhez való adaptálódás szelektív nyomást jelentett, aminek következtében változások következtek be az élesztő genomjában is. Nem csak nukleotid szubsztitúcióval kialakult új allélek megjelenéséről, hanem génduplikációról és egyéb átalakulásokról van szó. A gének kópiaszámának változása elsősorban a szubtelomer régióban és az intrakromoszomális régióban volt megfigyelhető. Különböző tájakról származó *Saccharomyces cerevisiae* törzsek genomját összehasonlítva a flokkulációért felelős FLO génekben, maltóz transzportereket kódoló génekben, egyéb cukor transzportereket kódoló génekben és az arginin illetve prolin katabolizmusért felelős génekben figyeltek meg eltérést (Ibanez et al, 2014). Belátható,

hogy az adaptáció révén bekövetkezett genetikai változásokban elsősorban a sejt homeosztázisáért felelős géncsaládok, az ionok, cukrok, fémek transzportjáért felelős gének és metabolikus funkciókkal kapcsolatban álló géncsaládok érintettek (Winzeler et al, 2003). Noha ezeknek a géncsaládoknak nincs köztük létfontosságú funkciók ellátásához, mégis nagy szerepet játszanak az egyes környezeti paraméterekhez való adaptálódásban (Barrio et al, 2006).

2.2.2 Élesztők hatása az aromaprofilra

A gyümölcsben lévő aromaprekurzorok enzimes hidrolízisében az alfa-L-arabinofuranozidáz (EC 3.2.1.55) és a béta-D-glükoprinozidáz (EC 3.2.1.21.) kiemelkedő jelentőségű, *Aspergillus niger* eredetű glikozidázok. A glikozidázok hatásmechanizmust tekintve lehetnek exo- vagy endoglikozidázok. Az enzimes hidrolízis lehet egy vagy kétlépéses reakció. Kétlépéses reakció diglikozidos kötés esetén megy végbe, amikor első lépésben az exoglikozidázok valamelyike felhasítja az intermolekuláris kötést, és felszabadul a béta-glükozid valamint a cukor-rész. Második lépésben a béta-glükozidáz katalizálja a béta-glükozid hidrolízisét, felszabadul az aglikon rész és glükóz. Egylépéses reakció esetén lehasad az aglikon rész és visszamarad a cukor-rész (Spagna et al., 1997). A különböző *Saccharomyces* törzsek eltérő hidroláz aktivitást mutatnak (Sarry&Günata, 2004), az eredmény azonban a nem-*Saccharomyces* törzseknél sokkal számottevőbb (Rosi et al., 1994), de ezeknek inkább a spontán erjesztett italoknál van jelentőségük.

A szeszes italok aromaanyagai nem csupán a gyümölcsből származnak, hanem az alkoholos fermentáció során is keletkeznek, az élesztő metabolikus aktivitása révén - tehát a koncentrációjuk az élesztő piruvát-dekarboxiláz aktivitásától is függ (Christoph&Christoph-Bauer, 2011). Különböző *Saccharomyces cerevisiae* törzsekkel fermentált Cabernet Sauvignon borok aromaprofilját GC-MS analitikának alávetve Liang és munkatársai bebizonyították, hogy a törzsspecifikus aromaprofil elemzés hatékony eszköze lehet a starterszelekciónak, így optimalizálható a fermentáció, és a törzsek screenelése is leegyszerűsödik (Liang et al., 2013). Már korábbi kutatások során is világossá vált, hogy ugyanazt a közeget eltérő *S. cerevisiae* törzsekkel fermentálva a végtermék aromaprofilja törzsenként más és más lesz (Suzzi et al, 2012). A borélesztők közül a szelektált fajok termelik a borban kívánatos aromaanyagokat, míg a kellemetlen komponensek keletkezése háttérbe szorul. Jóllehet a közeg összetétele és a fermentációs

körülmények nagyban befolyásolják a bor karakterét, az élesztőtörzs megválasztásával az aromaprofil kedvezően befolyásolható, sőt egy bizonyos törzsszel erjesztve akár adott stílusú bor is előállítható (Regodon-Mateus et al, 2006), hiszen a fermentatív aromakompozíciót az élesztőtörzs megválasztása befolyásolja legnagyobb mértékben. Az érzékszervi profil szempontjából a szekunder metabolitok koncentrációjának enyhe változása is nagy eltéréseket indukál a végtermékben.

Az erjesztett italok szempontjából legfontosabb aromavegyületek között kell megemlíteni az acetát-észtereket, melyek az élesztősejten belül keletkeznek, acetil-koenzimA és etanol kondenzációs reakciójával. A reakciót két alkohol O-acetil-transzferáz katalizálja (Peddie, 1990). A szintén fontos etil-észterek képződése három tényezőtől függ: az acil-koenzimA és etanol koncentrációjától és a hidrolízishez valamint a szintézishez elengedhetetlen enzimek aktivitásától (Saerens et al, 2008). Azonos fermentációs körülményeket alapul véve elmondható, hogy ezek a reakciók az élesztő genetikai hátterétől függenek, tehát a késztermék etil-észter koncentrációja a kiválasztott *Saccharomyces cerevisiae* törzstől függ (Liang et al., 2013).

A magasabbrendű alkoholok mérsékelt koncentrációja kellemes aromát kölcsönöz az italnak, és képződésük szoros kapcsolatban áll az élesztők metabolizmusával. Ez az összefüggés a törzsszelekció alapjául szolgálhat (Romano et al., 2003). A magasabbrendű alkoholok közül az izoamil-alkohol és az izobutanol kiemelkedő fontosságú. Alkoholos fermentáció során leucinból és izoleucinból is képződhetnek, ám a szintézisnek ez az útja igen ritka, és mindkét termék jobbra cukorból képződik, piruváton keresztül (Hazelwood et al, 2008). A 2,3-butándiol képződése élesztőtörzsenként egyedi, törzsre jellemző vonás, így szintén alkalmas *Saccharomyces cerevisiae* törzsek elkülönítésére (Romano et al, 1998).

Az aromakomponensek koncentrációját a gyümölcsfajtán és az élesztőtörzsön kívül a fermentáció hőmérséklete, a cefrekezelés minősége, a mikroelemek és tápanyagok, vitaminok koncentrációja is befolyásolja. A vontatott, akadozó fermentáció oka legtöbbször a nitrogénhiány (Bisson et al., 1999) és az inokulum kis mennyisége (Cuinier et al, 1983). Az inokulum mérete kulcsparaméter a fermentáció során (Medina et al, 1997). Számos kísérleteredmény arra utal, hogy nagyobb mennyiségű inokulum magasabb etanol- és glicerinkoncentrációt eredményezett (Radler és Schütz, 1982), illetve borokban nagyobb lett a magasabbrendű alkoholok koncentrációja az inokulum növelésével (Erten et al., 2006). A közegben növelve az asszimilálható nitrogén tartalmat és az inokulum nagyságát, fokozott sejtszaporodás tapasztalható (Carrau et al, 2010). Az észterek, a szabad

aldehidekre, terpénvegyületekre, alkoholokra, metil-kezonokra jellemző, melyek akár hidroxid-csoportokkal is reagálhatnak, de képesek a hélix-szerkezetbe is beülni, és az adott vegyülethez hidrogénhidakkal vagy hidrofób kölcsönhatással kapcsolódni. A kötés erőssége a makromolekula és az aromakomponens kémiai tulajdonságaitól függ, a hidrofób komponensek különösen hajlamosak az ilyesfajta kötések kialakítására. Chalier és munkatársai kísérletei arra engednek következtetni, hogy például az etil-hexanoát és a béta-ionon mannoproteinek jelenlétében kevésbé illékony, míg például az izoamil-acetátra nincs hatással a mannoproteinek jelenléte. Ez a fajta retenció függ az élesztőtörzstől is, azonban meglehetősen magas mannoprotein koncentráció szükséges a jelenség megnyilvánulásához (Chalier et al, 2007).

2.2.3 Természetes mikrobióta, fájélesztők

A gyümölcsök felületén lévő meglehetősen változatos mikrobiótát számos mikroba alkotja, melyek a széllel, a talajrészecskék, rovarok, madarak, stb. közvetítésével kerülnek a gyümölcsre. A néhány vadélesztő mellett elsősorban penészek és baktériumok találhatók meg nagyobb számban. A penészek a sérült felületen telepednek meg, a baktériumok közül pedig az ecetsav-, vajsav- és tejsavbaktériumoknak van jelentősége. Az általuk termelt kellemetlen aromájú anyagcsere termékek (különböző alkoholok, észterek, illósavak) miatt működésük visszaszorítandó. A vadélesztők erjesztőképessége kicsi, némelyikük lebontja a keletkezett alkoholt, szerves savakat, ezért ezek jelenléte sem kívánatos. Az optimális erjedésvezetés, a megfelelő aromaanyagok termelődése és a biztonságos erjedés szempontjából ajánlott fájélesztőket alkalmazni. Ezek a természetből szelektált *S. cerevisiae* fajok hidegtűrők, savtűrők, nyomástűrők, tolerálják a magas alkohol- és cukortartalmat, tehát alkalmazkodtak a szélsőséges erjesztési körülményekhez, kizárható velük a káros mikrobióta tevékenysége. Ehhez azonban meg kell felelni olyan alapvető követelményeknek, mint a jó szaporodási és erjesztési képesség, elegendő mértékű alkoholképzés, aromatermlés/-felszabadítás, elenyésző mértékű glicerín- is illósav termelés (Panyikné 2013; Békési és Pándi, 2005). A leggyakrabban használt sütőélesztő (*S. cerevisiae*) hőmérséklet-optimuma 25-30°C, de vannak hidegtűrő fajok, melyek 5-9°C-on képesek szaporodni. A borélesztők hőmérséklet-optimuma általában 1-20°C, és elviselik a 18-19 (V/V)% alkoholtartalmat is. Általánosságban az élesztők az alacsony hőmérsékletet kedvelik jobban, 36°C-on már leáll a szaporodásuk, 50°C-on bekövetkezik a sejtpusztulás.

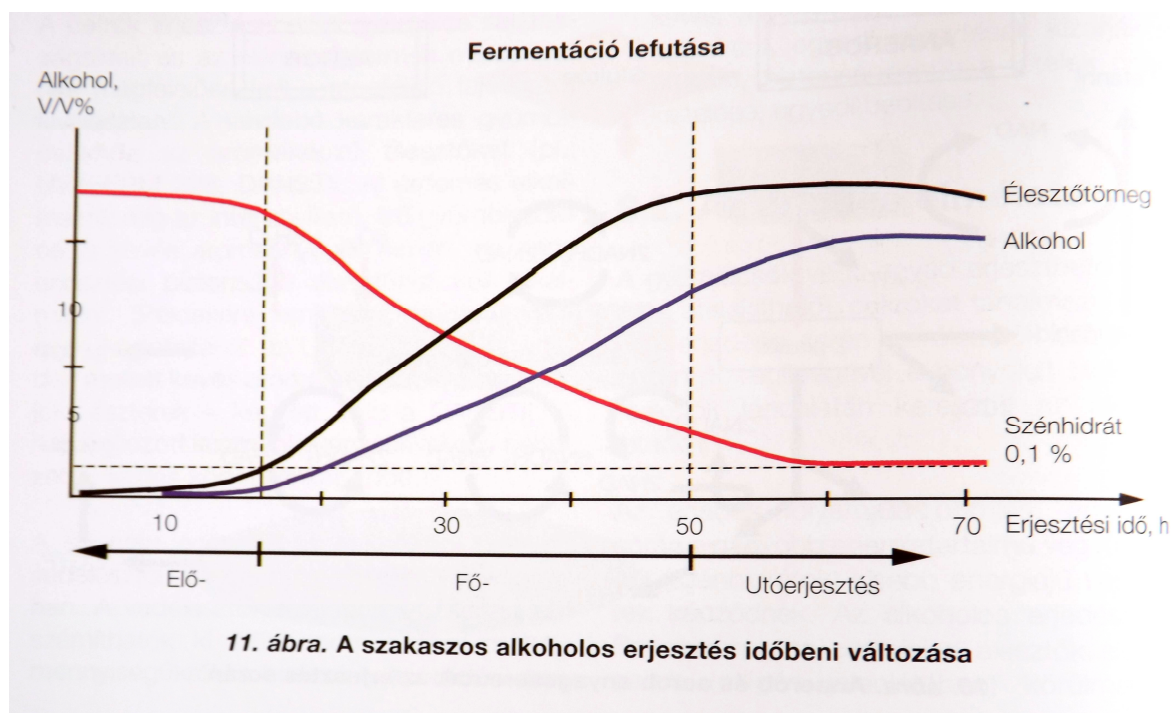
Az élesztők a gyengén savas közeget kedvelik, pH optimumuk 4,5 körül van (Békési és Pándi, 2005).

2.2.4 Az erjedés

Az erjedés egy természetes biokémiai folyamat, melyben mikrobák tevékenységének eredményeként anyagcseretermékek keletkeznek. Az erjedésnek több típusa ismert, azonban a párlatkészítés szempontjából az alkoholos erjedésnek van jelentősége, melynek során az élesztő a cefre cukortartalmát bontja (Békési és Pándi, 2005). Az élesztőkben a glükóz erjesztése az ún. Embden-Meyerhof-úton történik, azaz glikolízissel. A glikolízis az egyik legjelentősebb energiatermelő folyamat az élő sejtekben, és a sejtek citoplazmájában játszódik le. A piruvátig való lebontás két szakaszban megy végbe. Először megtörténik az egyszerű, hat szénatomos cukrok foszforilezése, ez az energiaigényes rész, hiszen 2 ATP-t igényel, majd a bontásuk két triózfoszfátra. Innen oxidációval történik az átalakulás piruváttá, közben 4 ATP szabadul fel. Mindehhez először a szénhidrátot át kell alakítani a glikolízisbe való bekapcsolódáshoz. Az erjedési folyamatok a piruvátból indulnak ki, ami aerob körülmények között acetyl-CoA-vá alakul át, anaerob körülmények között viszont az élesztősejtekben dekarboxileződve acetaldehiddé redukálódik, szén-dioxid távozása mellett. Az acetaldehidet az alkoholdehidrogenáz etanollá redukálja. A folyamat során 2 ATP képződik (Sarkadi, 2007). Az oxigén – szén-dioxid anyagcsere is a sejtfalon keresztül történik (Deák, 2008). A reakció hőtermeléssel jár, 12 lépésből áll, és az élesztő 12 enzimjének közreműködése szükséges hozzá. Az alkoholos erjedés során nem csupán etanol keletkezik a cefrében, hanem kis koncentrációban képződnek aldehidek, ketonok, magasabbrendű alkoholok, szerves savak és észterek, melyek a fermentáció „melléktermékei”, és termékenként eltérő arányuk miatt tekinthetők úgy, mint egy ujjlenyomat (Békési és Pándi, 2005).

Az erjedés három szakaszra különíthető el (3. ábra). Az *előerjedés* fajélesztős beoltás esetén csupán 4-5 óráig tart, de az időtartam a hőmérséklet, a módszer és a mátrix függvénye is. Spontán erjedés esetén akár 20 óra is lehet. Ilyenkor jelentős az élesztőszaporodás, ezért a folyamat oxigénigényes, és megindul a cukorbontás, de ez még a szaporodó sejtekre fordítódik. A hőmérséklet emelkedik, a cefre enyhén buborékos. A *főerjedés* vagy más néven zajos erjedés két-három napig tart. A nagyszámú élesztősejt immár anaerob körülmények között megkezdí a cukor erjesztését, a cefre hőmérséklete és

térfogata nő, a képződő szén-dioxid erőteljes habzást okoz. A cukortartalom csökkenésével párhuzamosan emelkedik az alkoholkoncentráció, és a cukortartalom jelentős része a főerjedés végére átalakul alkohollá és szén-dioxiddá. Az *utóerjedés* során a hőmérséklet csökken, a maradék cukor is etanollá alakul, az élesztők élettevékenysége a képződő alkohol gátló hatása miatt megszűnik. A cefréből érett cefre lesz, az erjedés lezárul (Békési, 2005; Panyikné, 2013).



3. ábra: Az erjedés lefutása

/Forrás: Panyikné, 2013/

Ha a cukorforrások az erjedés végére teljesen kimerülnek, megindul a malolaktikus fermentáció. Az almasav tejsavvá alakulása kedvez az értékes aromakomponensek, így a laktátok képződésének, és az aromaprofil kialakulásához a lizált élesztők fehérjéből felszabadult aminosavak is közvetetten hozzájárulnak, hiszen belőlük kozmaolajok képződnek, melyek a szerves savakkal szintén kellemes észtereket képeznek. A legfontosabb kozmaolajok: n-propanol, izopropil-alkohol, izoamil-alkohol, butanol (Panyikné, 2013). A malolaktikus fermentációval csökken az etil-hexanoát, a hexil-acetát és a 2-feniletal-acetát koncentráció, míg az etil-laktáté, és a dietil-szukcináté valamint az ecetsavé növekszik (Christoph és Christoph-Bauer, 2011). Ezért ha a kiejedt cefrét

huzamosabb ideig tároljuk, magasabb lesz a párlat észtertartalma, ha hamar lepároljuk, friss, gyümölcsös karakterű aromaprofilhoz jutunk (Panyikné, 2013).

A kierjedt cefre kb. 200 komponenst tartalmaz. Ezek között illékony és nem illékony vegyületek egyaránt előfordulnak, a lepárlás során ezeket kell egymástól elválasztani. Az illékony komponensek között az aromaprofilt pozitívan és negatívan befolyásoló komponensek egyaránt találhatóak. Az illékony komponensek között az etanol a legkiemelkedőbb, gyümölcscefrék esetén ez 3 és 8 (V/V)% között változik. Az erjedés során képződött etanol egy része a savakkal észtereket képez. A cefrében megjelenő metanoltartalom a pektinbontás természetes velejárója, akárcsak az acetaldehid, ami az erjedés mellékterméke. A szerves savak közül a gyümölcsben jelen lévő almasav, citromsav, borkősav; valamint az erjedés során képződő ecetsav, tejsav, borostyánkősav, fumársav egyaránt megtalálhatók az érett cefrében. Az ecetsav maximális koncentrációja 0,5g/liter lehet, efelett baktériumos fertőzésre vagy oxidációra lehet következtetni. A cefre nitrogéntartalmú vegyületekben igen szegény - mivel az élesztők felhasználják azokat - és glicerintartalma is minimális (Panyikné, 2013).

2.3 Párlatok

2.3.1 A párlatok jellemzése

A desztillált szeszes italok általában szénhidrát tartalmú mezőgazdasági nyersanyagok feldolgozásával, majd a köztes termék desztillációjával készülnek, alkoholtartalmuk 30 és 50 (V/V)% között mozog. Aromájuk a nyersanyagtól, az alkoholos fermentációtól, a desztillációtól, a tárolástól és az érleléstől függ (Békési és Pándi, 2005).

2.3.2 A lepárlás elmélete

A gyümölcs és a cefre aromaanyagai desztillációs technikával kerülnek a párlatba. A desztilláció művelete a komponensek illékonyságának különbözőségén alapul. A relatív illékonyság megmutatja, hogy adott hőmérséklet és nyomásértéken a folyadékelegy egyik komponense hányszor illékonyabb a másikinál, és számszerűen jelzi a komponensek közötti szétválaszthatósági hajlamot. Értékét két komponens egyensúlyi arányának hányadosával kapjuk meg. Az egyensúlyi arány az adott komponens gőzfázisban lévő móltörtjének és folyadékfázisban lévő móltörtjének hányadosaként áll elő. A folyadékkal

egyensúlyban lévő gőzfázisban a nagyobb tenziójú, avagy alacsonyabb forráspontú elegyek koncentrációja nagyobb, mint a folyadékfázisban (Fonyó-Fábry, 2004). A gőzfázisban lévő anyagot párlatkészítés során hűtéssel cseppfolyósítják. A folyamat során az elegy összetétele - és így a forráspontja is - állandóan változik. A desztilláció során általában az alacsonyabb forráspontú alkotók mennek át elsőként a párlatba (Békési és Pándi, 2005).

2.3.3 A csonthéjas gyümölcsök párlatainak aromavilága

A csonthéjas gyümölcsök párlatainak aromaprofilját elsősorban a benzaldehid koncentráció határozza meg. A benzaldehid a magban lévő amigdalín enzimes degradációjával keletkezik. A kőmag roncsolása után az amigdalín amigdalín-hidroláz működése révén glükózra és prunazínra bomlik. A prunazint tovább bontja a prunazín-hidroláz glükózra és mandelonitrilre. A folyamat végén ebből szabadul fel a benzaldehid és a hidrogéncianid, enzimátikus úton vagy spontán (Haisman et al., 1967). Korábbi tanulmányok során megfigyelték, hogy a *Saccharomyces cerevisiae* által termelt béta-glükozidáz nem képes elhidrolizálni az amigdalint (Duerksen et al., 1958), a meggyben lévő endogén hatásmechanizmusú béta-glikozidáz azonban igen, ám az így keletkező benzaldehid nagy része tovább redukálódott benzil-alkohollá (Moll, 1991). A szintén aromaaktív hidrogéncianid a toxikus etil-karbamát prekursora. Azok a párlatok, melyeknek alacsonyabb a benzaldehid koncentrációja, sokkal több gyümölcsös és virágos jegyet hordoznak, mivel jobban érvényesülnek az olyan vegyületek, mint például az etil-hexanoát, a gamma-dekalakton, a gamma-dodekalakton, a geraniol és az eugenol (Christoph és Christoph-Bauer, 2011).

2.4 Érlelés hatása az aromaanyagokra

Érlelés során oxidatív, redukív, kondenzációs és észtereződési reakciók sokasága megy végbe. Sok aromakomponens érzékeny az oxidációra, ezért fontos az érlelés módjának kiválasztása. Tárolás esetén csak a párlat pihentetése a cél, mert ilyenkor az aromakarakter még nem letisztult, karcos. Fahordós érlelés esetén számolni kell azzal, hogy a fa anyagából különféle vegyületek oldódhatnak be a párlatba, módosítván ezzel annak aromavilágát. A változások sora még készrepalackozás után is folytatódik (Panyikné, 2013).

3 CÉLKITŰZÉSEK

Az élelmiszerpiacon fokozottan keresett különleges szeszes italok előállítása, továbbá a nyersanyag klímaviszonyok miatt évenkénti változó minősége megköveteli az italipartól a fajélesztők alkalmazását. A különféle fajélesztő készítmények egyre nagyobb számban és változatosságban jelennek meg a kereskedelemben. Ezen készítmények előállítói – túl azon, hogy a színes választék, melyet kínálnak kiváló marketingfogás – felhasználási javaslatokkal igyekeznek segíteni az adott stílusú ital készítéséhez szükséges élesztőtörzs kiválasztását.

Az eredetvédett pálinkák egyedülálló aromavilága kuriózumnak számít a szeszes italok körében, a piacon fellelhető termékek karakterisztikájának változatossága meglehetősen sokrétű, és olyan értéket képvisel, mely mindenképpen megőrizendő. Hogy ezen termékek vonzereje sokáig fenntartható legyen, mindenképpen fontosnak tartottam olyan jellegű kutatómunkát elvégezni, mely segíthet a különleges aromavilág kialakulási folyamatának megismerésében, az azt befolyásoló tényezők leírásában. TDK-munkámban célul tűztem ki különböző kereskedelemben kapható fajélesztő készítmények vizsgálatát, különös tekintettel az erjedési dinamikára és a végtermék aromakarakterére. A következő feladatok elvégzését találtam indokoltnak:

- modellcefrék elkészítése, és erjesztés a rendelkezésre álló élesztőkészítményekkel,
- az erjedés folyamatos nyomon követése,
- az élesztőtörzsek összehasonlító vizsgálata az erjedési dinamika alapján,
- az illékony komponensek meghatározásához GC-FID módszer adaptálása, a kalibráció elkészítése a rendelkezésre álló standard anyagokkal,
- a kierjedt cefrék desztillálása, a keletkezett illókomponensek vizsgálata,
- a párlatok összehasonlító értékelése a kapott spektrum alapján.

4 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1 Fajélesztők

A 12-féle vizsgálni kívánt szárított fajélesztő készítményt a Herbs and Fox valamint a Kokoferm Kft. bocsátotta rendelkezésemre. A törzsek kivétel nélkül *Saccharomyces cerevisiae* törzsek voltak, melyeket a gyártó egyedi megnevezéssel látott el. A törzsek pontos megnevezése és az egyes törzsekre jellemző tulajdonságok a gyártói specifikációkban szerepelnek, azonban a törzs pontos megnevezése nem minden esetben publikus. A készítmények ajánlott adagolása 20g/hl. 1g készítmény 10^6 élesztősejtet tartalmaz.

Herbs and Fox termékek:

- VIN-O-Ferm Arom (FA)
- VIN-O-Ferm Roses (ROS)
- VIN-O-Ferm UB Arom (VUB)
- Fermiblac Arom (FB): *Saccharomyces cerevisiae* SM102.
- Fermiflor (FF): *Saccharomyces cerevisiae* JB3, jelentős észterképzés, elsősorban feniletil-acetát és izobutil-acetát szintézis jellemzi.
- Collectin Cépage Sauvignon (S): *Saccharomyces cerevisiae* L2868, kénvegyületek aromaprekurzorainak intenzív felszabadítása, "zöld", Sauvignon-jelleg kialakítása jellemzi.

Kokoferm Kft. termékei:

- UVAFERM PM: gyümölcsös rozéborokhoz ajánlott termék
- UVAFERM SLO: gyors, killeraktív élesztőtörzs
- UVAFERM 228: intenzív aromafelszabadítás jellemzi
- UVAFERM CM: fűszeres, gyümölcsös jelleg kialakítása jellemzi
- UVAFERM CGC62: nagyon illatos, észteres, gyümölcsös jelleg kialakítására képes
- UVAFERM SC: jelentős az észterképzése

A kísérleteket élesztőgyártónként különböztetve, törzsenként 3 párhuzamos erjesztéssel végeztem el.

4.2 Az erjedési dinamika vizsgálata

A fajélesztők élettevékenységének (szaporodás és erjedés) vizsgálatához egy olyan közegre van szükség, melyben az optimális körülmények biztosítottak az élesztők számára,

ugyanakkor jelen esetben ez a közeg lesz a kiindulási és a késztermék is, ennek változásait kell tehát nyomon követni az erjedés során.

4.2.1 Modellcefre összeállítása

Az erjesztésre kerülő anyag kiválasztásakor arra törekedtem, hogy az erjedési idő alatt a változások végig nyomon követhetők legyenek, tehát rendelkezzen megfelelő sav- és cukortartalommal, karakteres aromával, legyen állandó és kiváló minőségű, és káros mikrobákkal való nagyfokú szennyezettségtől mentes. Ezért a modellcefre elkészítéséhez a Volvox Kft. által előállított 65 °Brix szárazanyag tartalmú meggy sűrítményt használtam, melyen a szokásos cefrekezelési lépéseket hajtottam végre.

Az erjesztési kísérletekhez a meggy sűrítményből először mérőhenger segítségével kimértem 1,8 litert, ebből vízzel négyszeres hígítást készítettem, hogy körülbelül megkapjam azt a szárazanyag tartalmat, amely a meggy gyümölcsére jellemző. Így modellezhető az az alapanyag, amelyet az italipar is felhasznál. A kiindulási 65°Brix szárazanyag-tartalom így a Herbs and Fox készítményekkel végzett kísérletek esetén pontosan 15,5°Brix-ra, a Kokoferm termékeknél pedig 15,2°Brix-ra módosult. A meggy sűrítmény pH-ját Herbs and Fox termékek esetén 3,32-re, illetve a Kokoferm termékekkel való kísérleteknél 3,2-re állítottam be 95 (V/V)%-ban foszforsavat és 5 (V/V)%-ban tejsavat tartalmazó elegy segítségével, hogy a romlást okozó mikrobák működését meggátoljam. A savat büretta segítségével folyamatos keverés mellett adagoltam a cefréhez, a fogys 44,5cm³ volt. A pH értéket pH-mérő berendezéssel ellenőriztem. A biztonságos erjedésvezetés érdekében 0,4g/l koncentrációban UVAVITAL típusú tápsót adagoltam a cefréhez. Ezután a cefrét Erlenmeyer lombikokba mértem szét, lombikonként 400ml-t. Az erőteljes habzás megakadályozása végett élelmiszeripari szilikonolajat cseppentettem a cefrékhez. A szárított élesztőkészítményekből táramérlegen egyenként 0,3g-ot mértem ki főzőpohárba, és 8ml langyos vízzel illetve 1ml meggy sűrítménnyel elvégeztem a rehidratálást. Ezután pipetta segítségével a rehidratált élesztőkészítményekből 3ml-t pipettáztam minden Erlenmeyer-lombikba. Az élesztő adagolása tehát 25g/hl cefre volt. Ezután minden beélesztőzött cefrével teli lombik tömegét megmértem, és feljegyeztem, ez lett a kiindulási tömeg (körülbelül 630g). A lombikokat kotyogóval zártam le a légköri oxigén kizárása végett. Az erjesztés hűtőkamrában, állandó, 12°C hőmérsékleten történt. A naponta levett mintákat felhasználásig fagyasztoóban tároltam.

4.2.2 A tömegcsökkenés vizsgálata

A 9 napos erjesztés során a cefrékből minden nap mintát vettem. A lombikok tömegét minden nap lemértem digitális asztali mérleg segítségével mintavétel előtt és után, így naponta számítható volt a tömegcsökkenés.

4.2.3 A szárazanyag-tartalom mérése

Atago PAL-1 kézi refraktométer segítségével a mintákból homogenizálás után minden nap refrakciót mértem, és a mért értékeket feljegyeztem.

4.2.4 pH érték mérése

A pH érték változását a fermentáció során asztali pH-mérő (Mettler Toledo S20) segítségével követtem nyomon. A pH-mérő berendezés kalibrálását minden nap elvégeztem 4-es és 7-es pH-értékű standard kalibráló oldatokkal.



4. ábra: Kísérleti összeállítás

(Fotó: Szabó Bernadett)

4.2.5 Redukálócukor-tartalom meghatározása BCA-módszerrel

A redukálócukor-tartalom klasszikus analitikai úton történő meghatározásához a Waffenschmidt és Jaenicke (1987) valamint Fox és Robyt (1991) által leírt módszert alkalmaztam. Ehhez két törzsoldatot (A és B) készítettem el. Az A-oldat elkészítéséhez 150 mg 4,4'-dikarboxil-2,2'-bikinolint mértem be analitikai mérleg segítségével, és 100 ml

desztillált vízben maradéktalanul feloldottam. Ezután hozzáadtam 7,16 g vízmentes nátrium-karbonátot, majd az elegyet 115 ml-re egészítettem ki desztillált vízzel. A **B**-oldat készítésénél 3,5 g L-aszparaginsavat és 1,09 g réz-szulfátot 140 ml desztillált vízben oldottam fel. Ehhez hozzáadtam 5 g nátrium-karbonátot, és az oldatot végül 150 ml-re egészítettem ki desztillált vízzel. A mérőreagens 23 ml **A**-oldatot, 1 ml **B**-oldatot és 6 ml 96 (V/V) %-os etanolt tartalmaz, amelyet a felhasználás előtt 2 órával készítettem el, és sötét üvegben tároltam.

A méréshez a mintákból kémcsövekben 1000-szeres hígítást készítettem (10µl minta+990µl desztillált víz), majd a hígított mintákból 40 µl-t pipettáztam a mikrotiter-lemez mintatartójába, és hozzáadtam 160 µl mérőreagenst. A lemezt lefedtem és 80 °C-on 30 percig termosztáltam. A szobahőmérsékletre hűtött minták abszorbanciáit 540 nm-en BioRAD 550 típusú mikrotiter-lemez leolvasóval határoztam meg.

A minta redukálócukor tartalmának kiszámításához kalibrációs egyenest vettem fel. Ehhez egy 50ml-es mérőlombikba táramérlegben bemértem 0,25g glükózt, és a mérőlombikot desztillált vízzel jelre töltöttem. Ebből a 0,5g/100ml koncentrációjú glükóz-oldatból 100-szoros hígítást készítettem. A hígított glükóz oldatból mikrotiter lemezen elkészítem az alábbi hígítási sort:

1. táblázat: Hígítási sor összeállítása BCA-kalibrációhoz

Hígított glükóz oldat, µl	Desztillált víz, µl	Glükóz koncentráció, g/100ml
40	0	0,005
32	8	0,004
24	16	0,003
16	24	0,002
8	32	0,001
0	40	0,000

A mintákat 30 percig 80°C-on termosztáltam, majd hűtés után a lemezolvasó segítségével szintén 540nm-en megmértem az abszorbanciát, és rögzítettem az eredményeket. A kalibrációs egyenes meredekségének segítségével kiszámoltam a mintákban a redukálócukor koncentrációt.

4.2.6 Műszeres analízisek

4.2.6.1 HPLC technika

A HPLC, avagy nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (angolul High Performance Liquid Chromatography) a biokémiában és analitikai kémiában vegyületek elválasztására, azonosítására és mennyiségi meghatározására gyakran használt kromatográfias eljárás. Méréseimhez a Sör- és Szeszipari Tanszék Fermentációs laboratóriumában található Thermo Fisher Scientific Corporation által gyártott Surveyor típusú HPLC készüléket használtam melynek paraméterei a következők:

- Oszlop: Aminex-87H (Bio-Rad, USA)
- Eluens: 0,005 n H₂SO₄
- Integráló szoftver: ChromQuest 5.0
- Detektor: RI és PDA
- Oszlop hőmérséklet: 45 °C
- Detektor hőmérséklet: 40 °C
- Áramlási sebesség: 0,6 ml/perc
- Eluálási mód: izokratikus

A mérés menete:

Az analizálandó mintákból 1-1ml-t pipetta segítségével Eppendorf-csövekbe mértem be, majd a mintákat negyed órán át 14 ezres fordulatszámon centrifugáltam. Ezt követően minden mintából a felülúszó folyadékból 200 µl-t pipettáztam HPLC mintatartóba. Ezután elvégeztem a futtatást. Az egyes szénhidrátok koncentrációját (glükóz, fruktóz) a műszerhez már korábban meghatározott kalibrációs egyenesek ismeretében a mérés során meghatározott kromatográfias területekből határoztam meg.

4.2.6.2 GC-FID technika

Munkám során a Perichrom 2100 típusú, split/splitless injektorral és FID detektorral ellátott gázkromatográfias berendezést alkalmaztam. A párlatban lévő komponensek elválasztására CP-WAX-57 CP kapilláris oszlopot (Varian) használtam (50 m x 0,32 mm ID x 0,2 µm). Az injektor hőmérséklet 220°C, a detektor hőmérséklet 240 °C volt. A vivőgáz a hidrogén volt. A mérés során a következő hőmérséklet programot használtam: 40 °C 3 percig; utána felfűtés 6 °C/perc sebességgel 75 °C-ra, majd 9 °C/perc

sebességgel 210 °C-ra. Az egyes komponens beazonosítására és mennyiségi meghatározására különböző standard anyagokat (2. táblázat) alkalmaztam.

2. táblázat: standard anyagok

Megnevezés	retenciós idő, perc	Megnevezés	retenciós idő, perc
acetaldehid	2,85	n-amyl-acetate	8,75
ethyl formate	3,32	isoamyl alcohol	9,82
hangyasav	3,32	ethyl hexanoate	10,03
acetald félacetál	3,89	hexyl acetate	10,83
metanol	4,07	ethyl L lactate	12,33
ethyl acetate	4,55	ethyl D lactate	12,34
etanol	4,55	trans3hexen1ol	12,73
propyl acetate	4,89	ethyl octanoate	13,67
2methyl 2 butanol	5,79	heptanol	14,21
ethyl butyrate	5,93	benzaldehyd	15,09
2 butanol	6,02	propionsav	15,12
propyl alcohol	6,25	linalool	15,43
capronaldehyde	6,75	benzaldehyd félacetál	16,11
isobutyl alcohol	7,4	ethyl decanoate	16,55
isopentyl acetate	7,59	ethyl benzoate	17,06
2 pentanol	8,06	diethyl succinate	17,22
butyl alcohol	8,54	1phenylethyl acetate	18,91
1 butanol	8,55		

4.2.7 Párlatok előállítása

Az érett cefréket egy napos 4°C-os hűtőtárolás után desztillációnak vettem alá. Ehhez a Gibertini Vade4 típusú berendezést használtam, melyet általában a borok illékony komponenseinek meghatározására alkalmaznak. A mintákat külön-külön a berendezés lombikjába töltöttem, és elindítottam a lepárlást. Minden esetben 100ml-es mérőlombikba 100g párlatot fogtam fel, majd a lombikokat desztillált vízzel jelre töltöttem.

4.2.8 A párlatok alkoholtartalmának meghatározása

A desztillációval nyert párlatok alkoholtartalmát Anton Paar DMA 35N típusú sűrűségmérő segítségével határoztam meg. A mérés során a laboratórium hőmérséklete 23°C volt.

5 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

5.1 Alkoholos fermentáció dinamikája

A cefre elkészítése után az alkoholos fermentáció 9 napig zajlott, szabályozott körülmények között (12 °C). A fermentáció során a cefrékből naponta mintát vettem, és a mintákat analizáltam.

5.1.1 A pH mérés eredményei

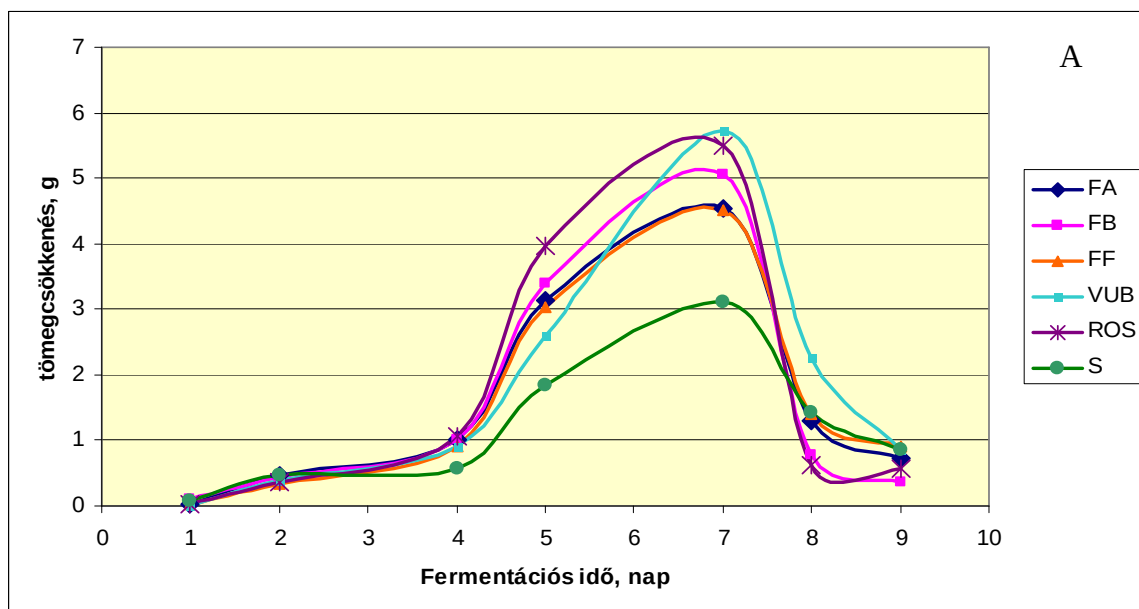
A cefrék pH változását nyomon követve azt tapasztaltam, hogy a pH érték 2,9 és 3,3 között mozgott az erjedési idő folyamán, tehát nem változott jelentős mértékben a kezdeti értékhez képest. A pH profilokat analizálva elmondható, hogy a Herbs and Fox élesztőtörzseknél a fermentáció 4. és 5. napja között kis mértékben csökkent a pH érték, majd az 5. naptól kezdve ugrásszerűen emelkedni kezdett. A Kokoferm törzseknél a 4. és 8. nap között figyelhető meg a pH érték csökkenése. Ennek egyik lehetséges magyarázata, hogy az intenzív savképzés a 4. nap után indult meg. Herbs and Fox törzsek esetén a Rosé (ROS) és a FermArom (FA) készítmények görbéjének felfutása dinamikusabb a többinél. A legintenzívebb pH csökkenést a 4. és 8. nap között az UVAFERM 228 élesztő esetében tapasztaltam. A pH profil a két különböző gyártó/forgalmazó cég esetén egyértelműen eltérő, azonban megállapítottam, hogy az egyes törzsek közötti különbség minimális volt.

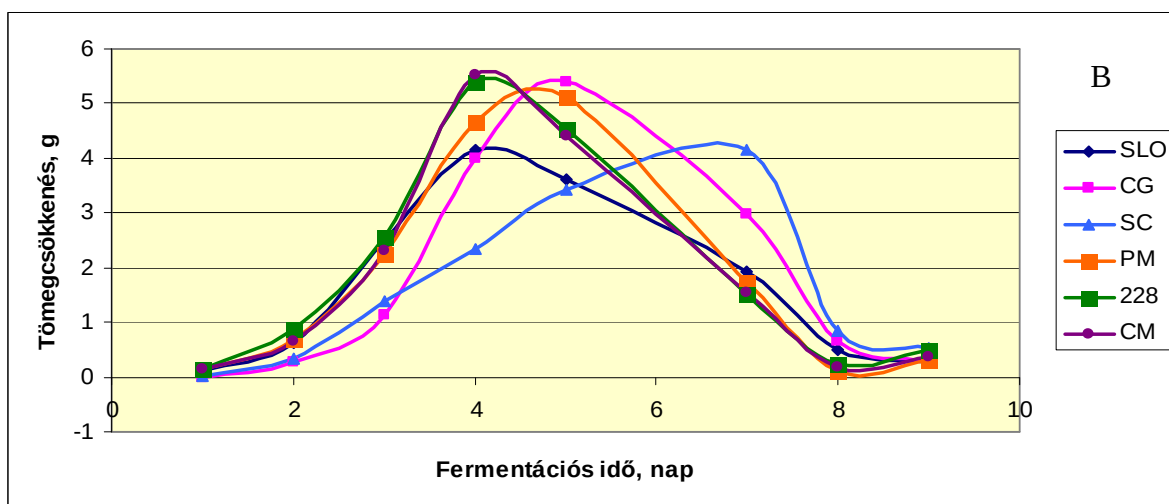
5.1.2 A cefre tömegcsökkenése

Az alkoholos fermentáció során a hőfelszabadulás mellett nagy mennyiségű széndioxid is keletkezik, amely eltávozik a cefréből. Ennek hatására a cefre tömege az erjedési idő előrehaladtával csökken. A tömegcsökkenést napokra lebontva, és a párhuzamos minták eredményeit átlagolva az **5. ábrán** látható, hogy az erjedés elején egyik napról a másikra csupán néhány tized grammnyi változás következett be, míg ez az érték a főerjedés szakaszában az 5-6 g-ot is elérte. Az összes átlagos tömegcsökkenés a Herbs and Fox törzsek esetén **11 és 13g** között változott, míg a Kokoferm törzseknél valamivel magasabb volt ez az érték, hiszen **13 és 16g** között mozgott. Arra következtettem, hogy a Kokoferm törzsek esetén intenzívebb volt az erjedés.

Az 5. ábrán az is jól látszik, hogy minden esetben közel Gauss-görbét kaptam, és az elő-, fő- valamint az utóerjedés szakaszai igen jól elkülöníthetők. A diagramok alapján

elmondható, hogy a Herbs and Fox törzseknél a főerjedés nagyjából a 4. és 7. nap között zajlott, míg a Kokoferm törzseknél már a 2. naptól intenzív erjesztés tapasztalható, egészen a 8. napig. A Herbs and Fox törzsek közül az UB Arom (VUB) nevű törzs erjesztett a legintenzívebben, tehát ennél számítottam a legnagyobb alkoholkimotozatra, ennél a törzsnél sokkal meredekebb a görbe felfutása. Dinamikát tekintve az UB Arom törzset a Rosé (ROS) nevű törzs követi a sorban, míg az FA, FF és FB törzsek közel hasonló intenzitással erjesztettek. A Sauvignon (S) nevű törzsnél tapasztaltam a legkisebb tömegcsökkenést. Ez a törzs meglehetősen alulmaradt a többihez képest. A Kokoferm élesztők esetén az UVAFERM SC törzsnél szembetűnik a némileg elhúzódo görbealak, itt a legnagyobb tömegvesztés a 4. és 7. nap között következett be. Erjedési dinamikát tekintve tehát az UVAFERM SC törzs mondható a leglomhábbnak, ezt követi a CG. Az UVAFERM 228 és a CM törzshöz tartozó görbék nagyjából együtt futnak, ez a két törzs erjesztett a leggyorsabban a 6 vizsgált törzs közül. Az értékek arra engednek következtetni, hogy az UVAFERM 228-as törzs erjesztett a legdinamikusabban, és feltehetőleg ez a törzs képezte a legtöbb etanolt. Szignifikáns különbség látható tehát a kétféle élesztőkészítmény csoport (Herbs and Fox és Kokoferm) között. Az egyes élesztőtörzsek esetén az erjedési szakaszok időtartamában az UVAFERM SC törzs kivételével nem mutatkozik jelentős mértékű eltolódás.

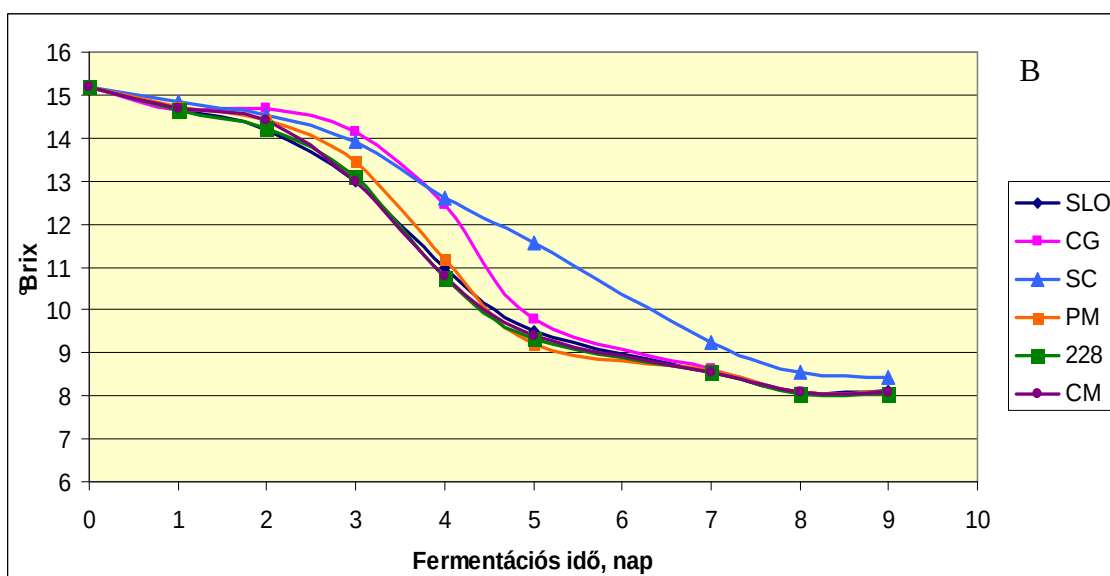
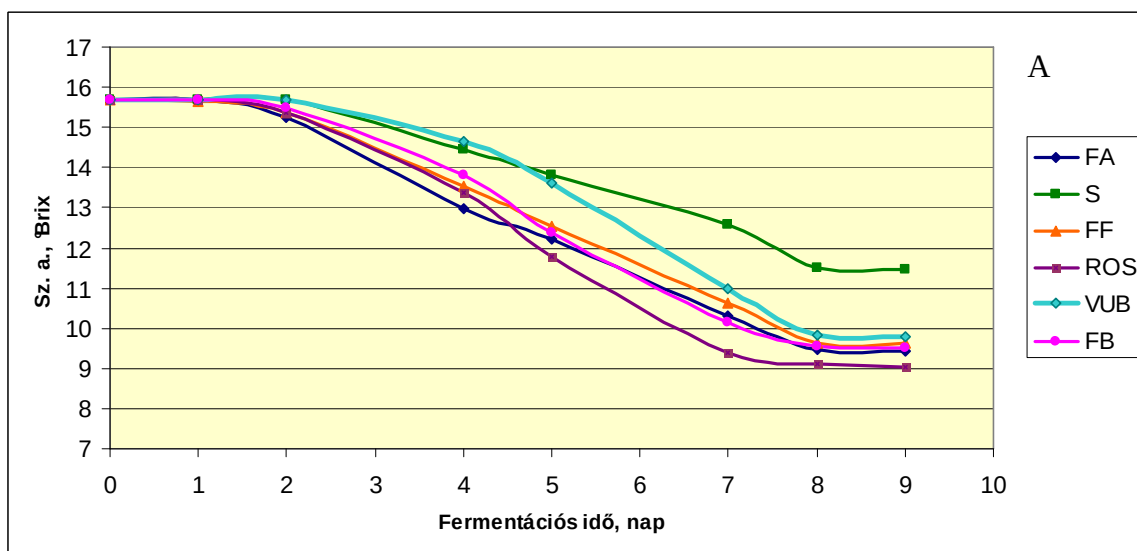




5. ábra: Cefretömeg csökkenés a fermentáció során
(A: Herbs and Fox; B: Kokoferm élesztők)

5.1.3 A szárazanyag tartalom változása

A cefrék szárazanyag tartalma az erjedés során csökkenő tendenciát mutatott (6. ábra). A változás minden törzs esetén már a 2. naptól igen intenzív. Az erjedés végén mért szárazanyag-tartalom a Kokoferm törzsek esetén **8 °Brix** érték körüli, míg a H&F készítményeknél **8 és 10 °Brix** között mozog. Ez az alacsonyabb érték is arra utal, hogy a Kokoferm élesztőkészítmények intenzívebb erjesztők. A Herbs and Fox készítmények görbéi jól elkülönülnek: a várakozásoknak megfelelően a Sauvignon (S) nevű törzsszel erjesztett cefre szárazanyag tartalma volt a legmagasabb az erjedés végén, és a Rosé (ROS) élesztővel kezelt cefre esetén pedig a legalacsonyabb, tehát a Rosé nevű törzsnél magasabb alkohol kihozatalra lehet számítani, jöllehet a szárazanyag tartalom nem azonos a cukortartalommal. A görbe alapján a Rosé élesztő esetén volt a legdinamikusabb az erjedés, a 4. nap után a Herbs and Fox törzsek cefréi közül végig ebben volt a legkevesebb szárazanyag. A Sauvignon élesztőtörzs kivételével a 7. nap után a cefrék szárazanyag-tartalmában jelentős változás már nem következett be. A Kokoferm törzsek esetén a görbék jobbra együtt futnak. A szárazanyag tartalomban intenzív csökkenés az erjedés 2-5. napján figyelhető meg, kivéve az UVAFERM SC nevű törzset, melynél a cefre szárazanyag tartalmának csökkenése kevésbé dinamikus. Szemmel látható különbséget mutat még az UVAFERM CG törzshöz tartozó görbe, azonban a főerjedés szakaszában ez is hozzásimul a többihez. A változás az UVAFERM CM és 228 törzsekkel kezelt cefrékben ment végbe leghamarabb.



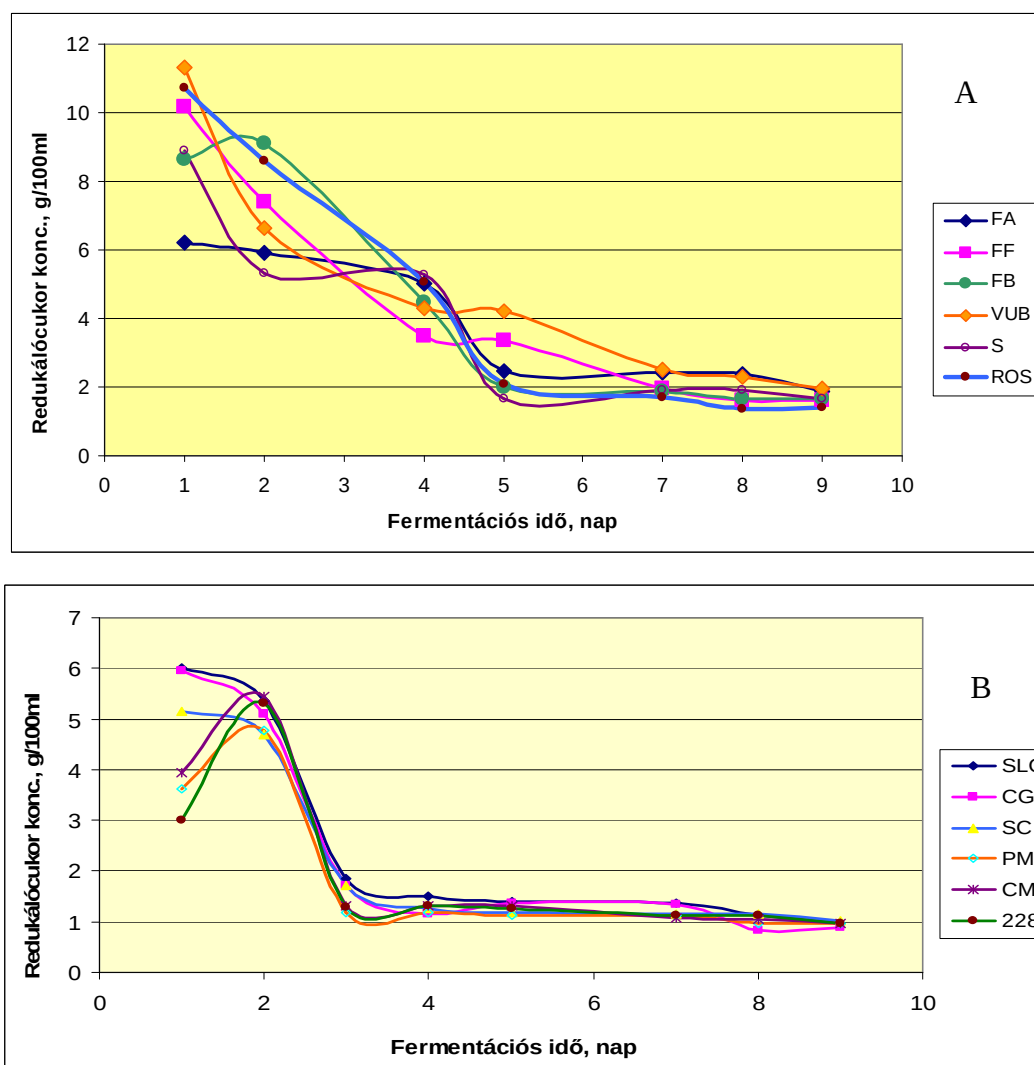
**6. ábra: Szárazanyag tartalom változása a fermentáció során
(A: Herbs and Fox; B: Kokoferm élesztők)**

5.1.4 BCA-módszerrel meghatározott redukálócukor tartalom

A naponta levett mintákból az erjedési dinamika nyomon követése végett BCA-módszerrel meghatároztam a redukálócukor tartalmát. A módszer hátránya a pontatlanság, hiszen a mintákból ezerszeres hígítást kellett készítenem, ami igen nagy hibát okoz a mérésben, ezért - ahogyan a **7. ábra** is bizonyítja – ezzel a méréssel a törzsek között nem tudtam szignifikáns különbséget kimutatni. A méréssorozat alapján megállapítottam, hogy az erjedés előrehaladtával a cefrék redukálócukor tartalma az első naptól kezdve intenzíven csökkent. A 7. ábrán látható, hogy az FF és VUB törzsek kivételével körülbelül az 5. nap után a Herbs and Fox törzsek esetében további csökkenés a redukálócukor koncentrációban

nem tapasztalható. Az említett két törzsnél a 7. nap végére fejeződött be a cukorbontás. A cefrékben a maradék redukálócukor koncentráció kb. **2g/100ml** a Herbs and Fox törzsek esetén.

A Kokoferm törzsek görbéi igen szorosan futnak egymás mellett. Az UVAFERM 228, CM és PM törzsek esetén az erjedés elején növekedés, az SLO, SC és a CG törzsek esetén csökkenés figyelhető meg a redukálócukor tartalomban. A növekedés oka lehet az élesztő invertáz enzimének intenzív működése, illetve a béta-glikozidáz enzim aromafelszabadító aktivitása. A mért eredmények alapján a szénhidrátbontás a 2. és 3. napon volt a legintenzívebb. A cefrékben az erjedés végén a redukálócukor tartalom ezeknél a törzseknél csak kb. **1g/100ml** volt, ami szintén az intenzívebb erjesztés bizonyítéka.



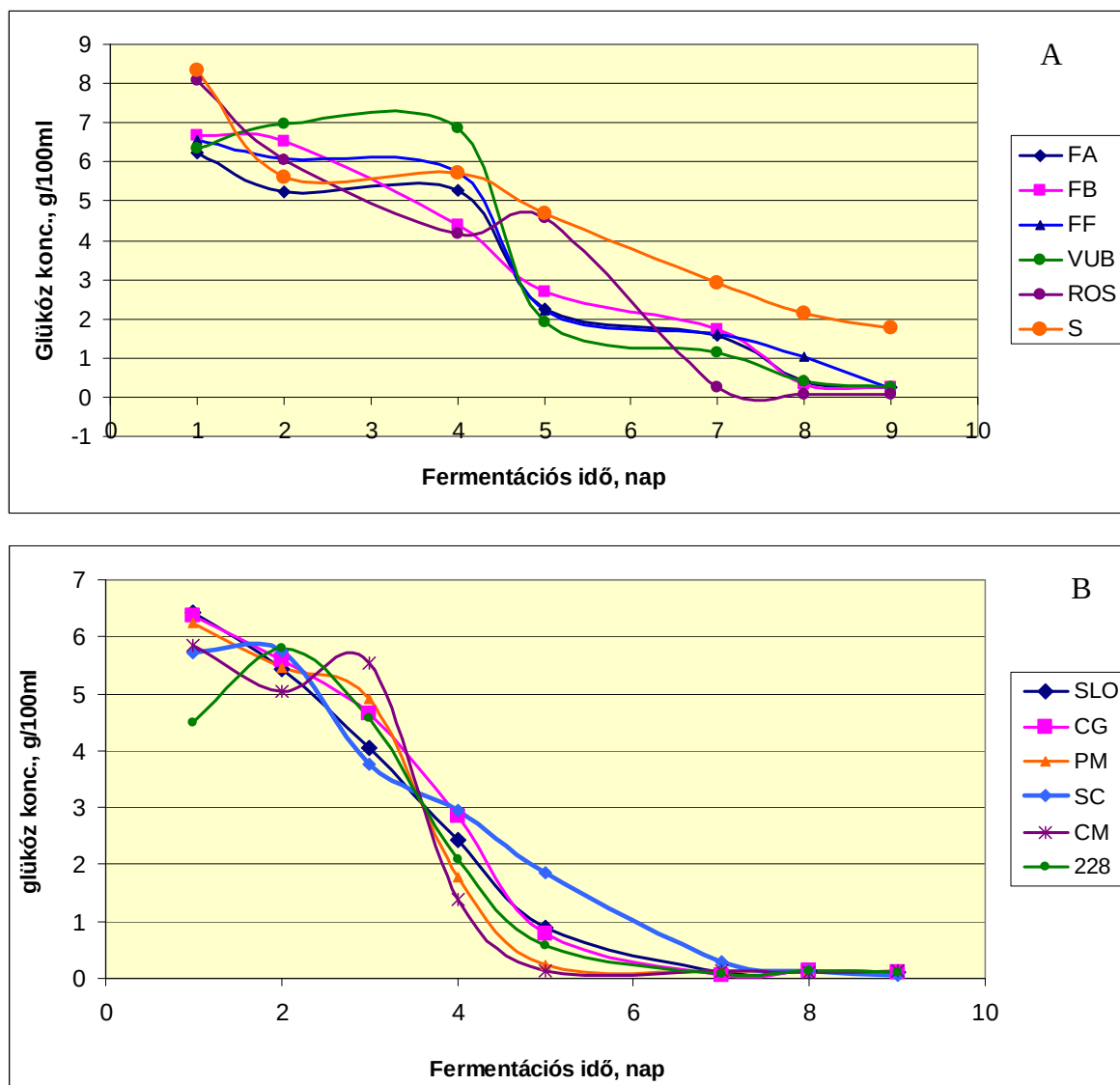
**7. ábra: BCA-módszerrel meghatározott redukálócukor tartalom
(A: Herbs and Fox; B: Kokoferm élesztők)**

5.1.5 HPLC analízisek

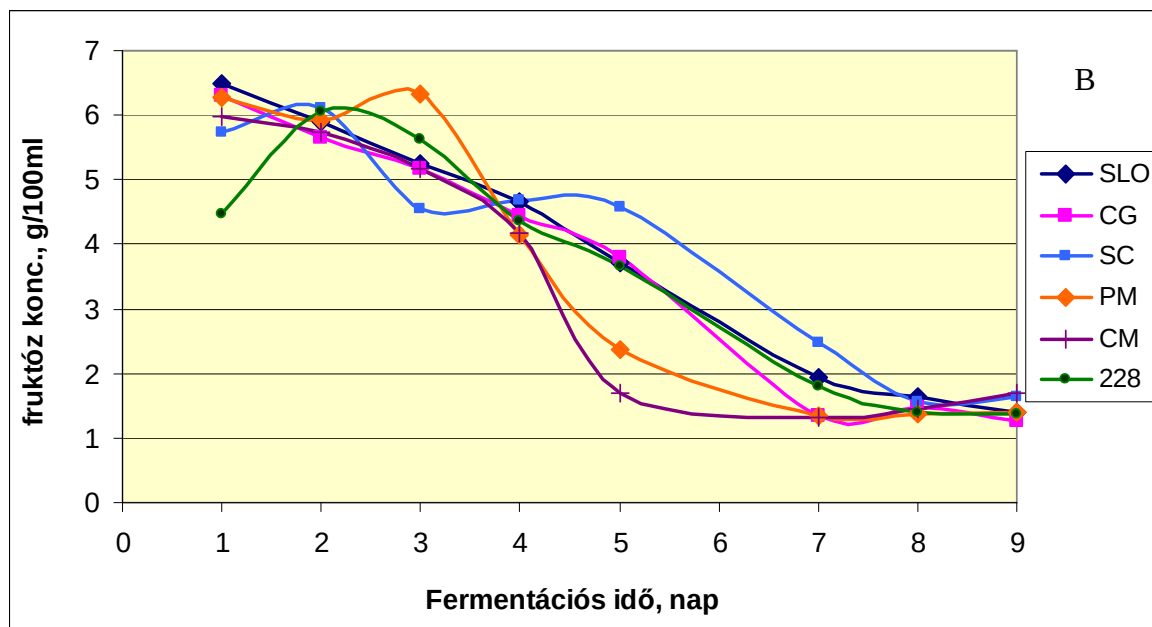
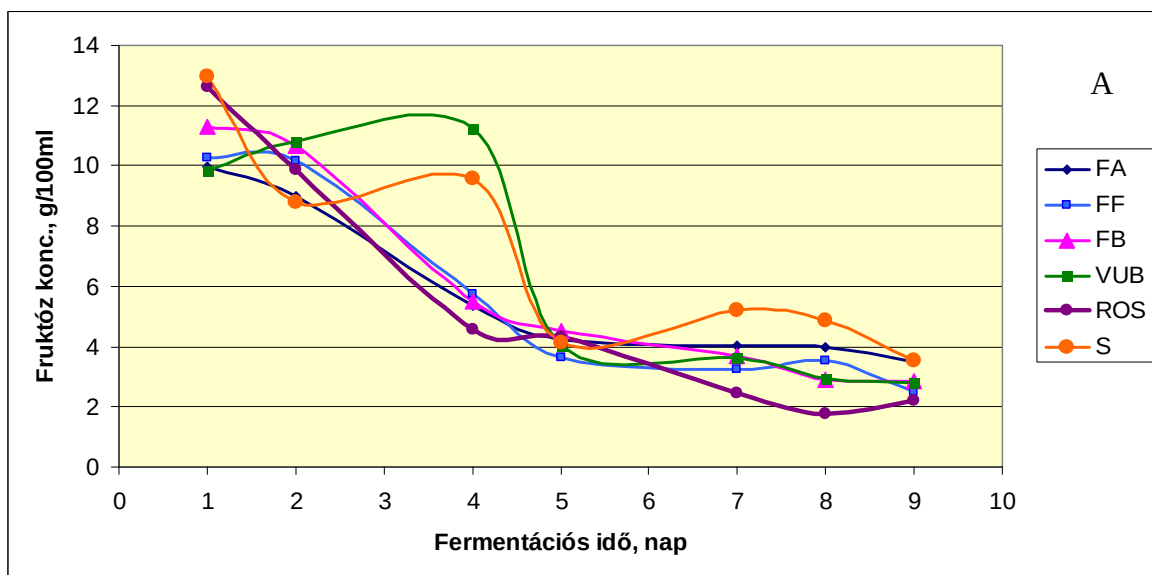
Az intenzív folyadékkromatográfiás eredmények szintén bizonyítják az élesztők cukorhasznosítását. A módszer előnye, hogy a különféle cukorkomponensek jól elválnak egymástól, így ezek koncentrációbeli változása külön-külön is vizsgálható a fermentáció során. A mért eredmények alapján mindegyik törzsre igaz, hogy a glükóznak a fruktózhoz képest elsőbbsége van a szénhidrát metabolizmusban, ez alátámasztja a *Saccharomyces cerevisiae* törzsek glükofil mivoltát. A Herbs and Fox törzsek glükóz koncentráció változását áttekintő **8.A. ábra** azt mutatja, hogy a 4. napig nem volt jelentős változás, utána viszont intenzív csökkenés indult meg. Noha a görbék lefutása nem szabályos, két törzs, a Sauvignon és a Rosé a görbealak alapján is jól elkülönül a többitől. A Sauvignon törzs lassan erjesztette a glükózt, és az erjedés végén az ezzel erjesztett cefrében volt a legmagasabb a glükóz koncentráció (2g/100ml), a többi cefrében az erjedés végén elenyésző volt a glükóztartalom. A Rosé és UB Arom (VUB) törzsek esetén igen dinamikus a görbék lefutása. Az intenzív glükózerjesztés lassan indult be, ám viszonylag rövid időn belül, a 4. és 6. nap között lezajlott. A 9.A. ábrát a 8.A. ábrával összevetve megfigyelhető, hogy az erjedés elején a fruktózkoncentrációban bekövetkező csökkenés jóval jelentősebb mértékű a glükózhoz képest, két törzs, a VUB és a Sauvignon kivételével. Ezeknél a 4. napon detektálható egy ugrásszerű csökkenés, a fruktózkoncentrációban azonban az erjedés 5. napja után számottevő változás már nem következett be. A végső fruktózkoncentráció **2 és 4 g/100ml** között mozgott.

Kokoferm törzsekre vonatkozóan elmondható, hogy a szénhidrátfelvétel az erjedés elejétől kezdve intenzív volt. A glükóz- és fruktózhasznosítást külön-külön a **8.B és 9.B** ábra segítségével megvizsgálva megállapítható, hogy az élesztőtörzsek inkább a glükózból képeztek etanolt, a kiejedt cefre maradék cukortartalmát itt is a fruktóz adja. A Kokoferm törzsek esetén a Herbs and Fox gyártmányú élesztőkhöz képest hatékonyabb volt a fruktózhasznosítás, azonban ez – ellentétben a Herbs and Fox készítményekkel - csak a fermentáció 3. napja után indult meg. Az érett cefrékben a glükózkoncentráció elenyésző, a fruktózé pedig **1 és 2g/100ml** között van. A tömegmérés és a szárazanyag tartalom mérés adataival párhuzamosan az UVAFERM SC törzsszel kezelt cefre eredményei itt is elkülönülnek a többitől: a szénhidrátbontás intenzitása elmarad a többi törzs mögött. Az UVAFERM CM esetén tapasztaltam a legintenzívebb szénhidrátbontást: mind a glükóz-, mind pedig a fruktóz koncentráció változását szemlélve a CM törzsszel kezelt cefre esetén a legdinamikusabb a görbe lefutása, itt az erjesztés tulajdonképpen már az 5. napon véget ért.

A 7. nap után a cukorkoncentrációban jelentős változás már egyik törzsnél sem következett be. A görbék szabálytalan lefutásában feltehetőleg az invertáz és béta-glikozidáz enzim játszott közre.



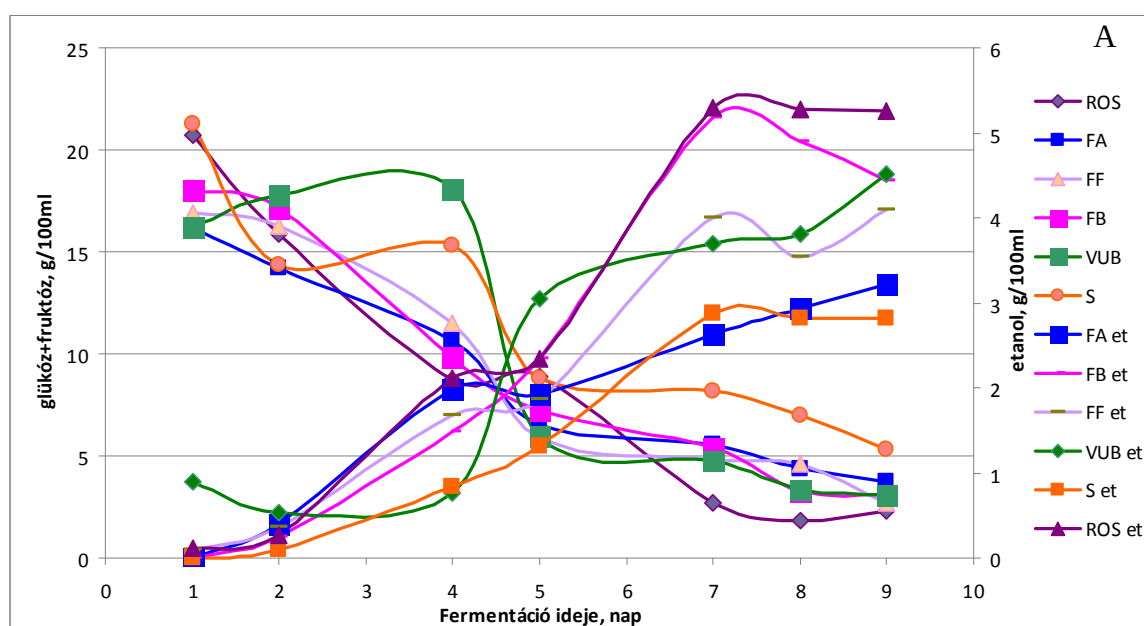
**8. ábra: A glükózkoncentráció változása a cefrékben az erjedés előrehaladtával
(A: Herbs and Fox; B: Kokoferm élesztők)**

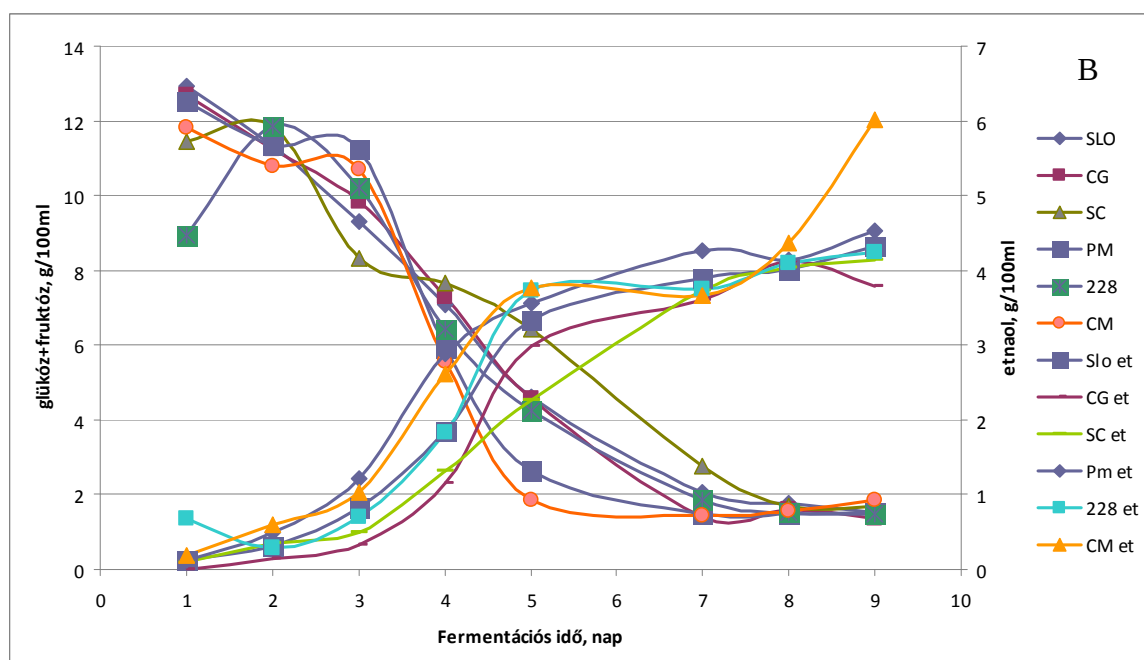


9. ábra: A fruktózkoncentráció változása a cefrékben az erjedés előrehaladtával (A: Herbs and Fox; B: Kokoferm élesztők)

A szubsztrátum fogyással párhuzamosan zajlott a termékképzés: a glükóz és fruktóz együttes koncentrációjának csökkenését, valamint az etanolkoncentráció növekedését együttesen mutatja a **10. ábra**. A lényegi különbségek Herbs and Fox törzsek esetén már a cukorerjesztésnél is megfigyelhetők: a VUB és a Sauvignon (S) törzsek a fermentáció elején lassan hasznosították a glükózt és a fruktózt. További eltérés az erjedés 5. napja után is felfedezhető: míg a Rosé gyorsan, és sok etanolt termel, addig a Sauvignon (S) tevékenységét leíró görbe felfutása lassú, az erjedés végén ebben a cefrében a legkevesebb

az etanol. Hasonlóképpen lassú az etanolképzés a FermArom (FA) nevű törzsnél. Az UB Arom (VUB) élesztőre jellemző görbén látható egy inflexiós pont: az élesztő eleinte igen kevés alkoholt képez, majd ugrásszerűen megnő az etanolképzés. Ez az ugrásszerű változás észlelhető ennél a törzsnél a cukorbontás esetén is, tehát a két adatsor jól korrelál egymással. Az UB Arom élesztőtörzsnél a legmagasabb a végerjedéskor mért alkoholtartalom. Az erjedés során képződő etanol mennyiségét az idő függvényében tekintve a Kokoferm törzsek esetén az 5. napig mindegyik törzs esetén dinamikus felfutás látható, ezt követően azonban a termékképződés sebessége egyre lassul, és egy adott értékhez tart, a CM törzs kivételével, mely az erjedés végéig intenzív etanolképzést mutat. Az SC esetén a legkisebb a képződési sebesség, az erjedés elején a PM és a CM esetén a legnagyobb a görbe meredeksége. Ezek a törzsek tehát gyorsan és sok etanolt képeznek, míg az SC lassan, és sokkal kevesebbet. A Kokoferm törzseknél a görbék eloszlása sokkal homogénebb. Herbs and Fox törzsek esetén a tömegcsökkenésnél mért adatokkal ellentétben itt is az látható, hogy az intenzív erjedés nem a 4. napon kezdődött, hanem már a 2. napon megindult. Ennek oka az lehet, hogy a fermentáció elején megindul ugyan a szubsztrátfogyás, ám a távozó szén-dioxid mennyisége még nem olyan nagy, hogy számottevő változást okozzon a tömegcsökkenésben. Maga az erjedés tehát már a 2. naptól kezdve intenzív, ám a fokozott buborékképződéssel járó zajos erjedés csak később kezdődött el.





10. ábra: A glükóz-és fruktóztartalom együttes változása valamint az etanolkoncentráció változása a cefrékben az erjedés során (A: Herbs and Fox; B: Kokoferm élesztők)

5.2 A párlatok jellemzése

5.2.1 Alkoholtartalom

A desztilláció után kapott párlatok DMA sűrűségmérővel mért alkoholtartalmát a 3. táblázatban tüntettem fel. A DMA sűrűségmérő hátránya, hogy nem csupán az etanoltartalmat méri, hanem az egyéb alkoholkomponenseket is. A várakozásoknak megfelelően a H&F törzsek közül az UB Arom (VUB) esetén mértem a legmagasabb, míg a Sauvignonnál (S) a legalacsonyabb alkoholtartalmat. Kokoferm törzsek esetén a legalacsonyabb alkoholkihozatal az SLO és SC törzsek esetén figyelhető meg. A CG, PM és 228 törzsek esetén egyaránt magas az érték, az eltérés közöttük nem jelentős. Az összes élesztőtörzs közül a legmagasabb értéket a CM nevű törzs adja. Jól látható, hogy a Kokoferm törzsek esetén szignifikánsan magasabb az alkoholkihozatal, ami intenzívebb anyagcserére utal. Joggal merülhet fel a kérdés, hogy a törzsek egyéb illékony komponensek képzésében is ekkora eltérést mutatnak –e.

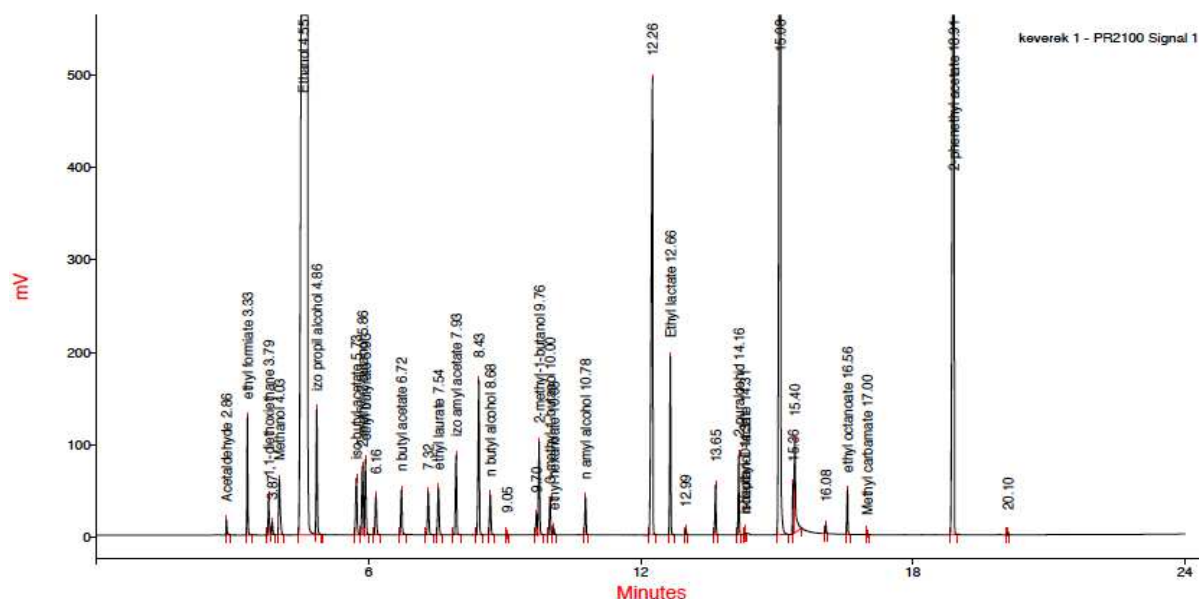
3. táblázat: Az alkalmazott élesztőtörzsekkel kezelt cefrék párlatainak alkoholtartalma

Élesztőtörzs	A párlat alkoholtartalma (V/V)%
<i>FermArom</i>	5,5
<i>FermiFlor</i>	5,4
<i>Fermiblanc</i>	5,4
<i>UB Arom</i>	5,6
<i>Sauvignon</i>	4,6
<i>Rosé</i>	5,5
<i>UVAFERM SLO</i>	5,9
<i>UVAFERM CG</i>	6,36
<i>UVAFERM SC</i>	6,1
<i>UVAFERM 228</i>	6,23
<i>UVAFERM PM</i>	6,33
<i>UVAFERM CM</i>	6,6

5.2.2 GC-FID módszer adaptálása és alkalmazása

A műszeres analitikai gyakorlatban a különféle pálinkák különösebb mintaelőkészítés nélkül injektálhatók a gázkromatográfiás berendezésbe. A hígítás mértékét a kalibrációs tartomány figyelembe vételével kell megválasztani. Munkám során a párlatokban lévő illékony komponensek detektálására, és mennyiségi meghatározására a PALINKAH Projekt keretében kidolgozott GC-programot adaptáltam (Nguyen et al., 2013). Ennek első lépéseként saját készítésű standerdekkel dolgoztam: A **2. táblázatban** foglalt standard anyagokból külön-külön ötszörös hígítást készítettem (0,1ml anyagot 0,4ml 50 (V/V) %-os etanolban oldottam fel), valamint elkészítettem egy minden komponenst tartalmazó keverék mintát is. Az ily módon előkészített mintákat a kidolgozott hőmérséklet programmal futtattam, különböző injektált mennyiségekkel. Látható, hogy a komponensek jól elkülönültek egymástól, így a módszert megfelelőnek tartottam saját párlataim vizsgálatához. Az összes komponenst tartalmazó keverék minta GC-FID kromatogramja a **11. ábrán** látható. A külön-külön injektált minták kromatogramjai alapján azonosítottam a komponensek retenciós idejét. Szintén az injektált mennyiség

ismeretében kalibrációt készítettem minden egyes illókomponensre, ennek alapján meghatározható azok pontos koncentrációja a párlatban.



11. ábra: Standardekert tartalmazó minta GC-FID kromatogramja

5.2.3 A párlatok kromatogramjainak vizsgálata

Nyilvánvaló, hogy a párlatban már nem azok az aromakomponensek fognak dominálni, amelyek a friss gyümölcsre jellemző jelleg kialakításáért felelősek, hanem az élesztő enzimaktivitása révén felszabadult komponensek, továbbá az élesztő anyagcsere termékei, az erjedési metabolitok. Ezek közül legnagyobb arányban az etanol van jelen, továbbá azok a főkomponensek, melyek minden pálinkában megtalálhatók.

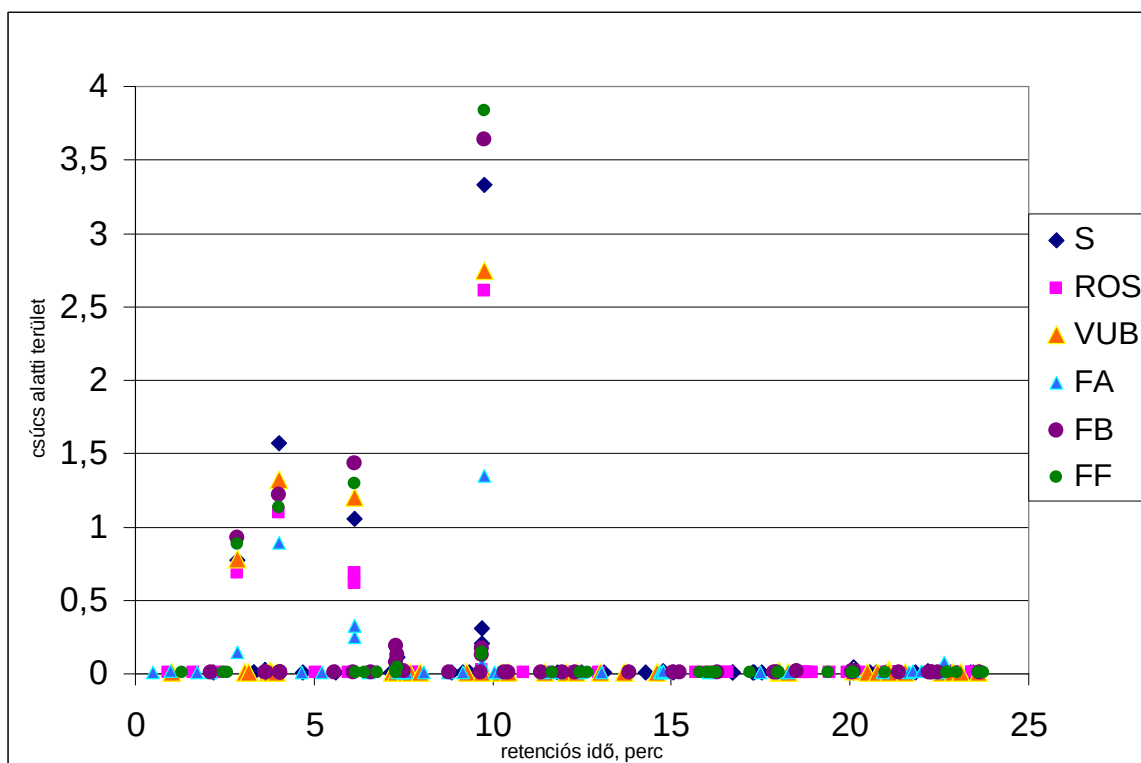
A párlatok jellemzése történhet az azonosított valamint a nem azonosított illókomponensek alapján, tehát elvégezhető a teljes kromatogram analízis is. Az injektált standard anyagok retenciós idejét a párlatokban detektált komponensek retenciós idejével összevetve elmondható, hogy egyezés esetén jó eséllyel ugyanarról a komponensről van szó. A vegyületek retenciós idő alapján történő beazonosítását alapul véve a Herbs and Fox élesztőkkel kezelt cefrék párlataiban igen kis mennyiségben kisebb szénatomszámú alkoholokat: propanolt, butanolt, 2-pentanolt, heptanolt és 2-metil-2-butanolt; valamint aldehideket (hexanal), hangyasavat és propionsavat azonosítottam. Emellett szintén kis mennyiségben, de igen nagy változatossággal jelentek meg észterek, úgy mint az etil-butirát, etil-hexanoát, etil-oktanoát, etil-dekanoát illetve hexil-acetát. A Kokoferm élesztőkkel kezelt cefrék párlataiban a felsorolt vegyületek mellett propil-acetátot, linaloolt

és feniletil-acetátot is sikerült azonosítanom, melyek elsősorban a gyümölcsös, virágos jelleg kialakításáért felelősek.

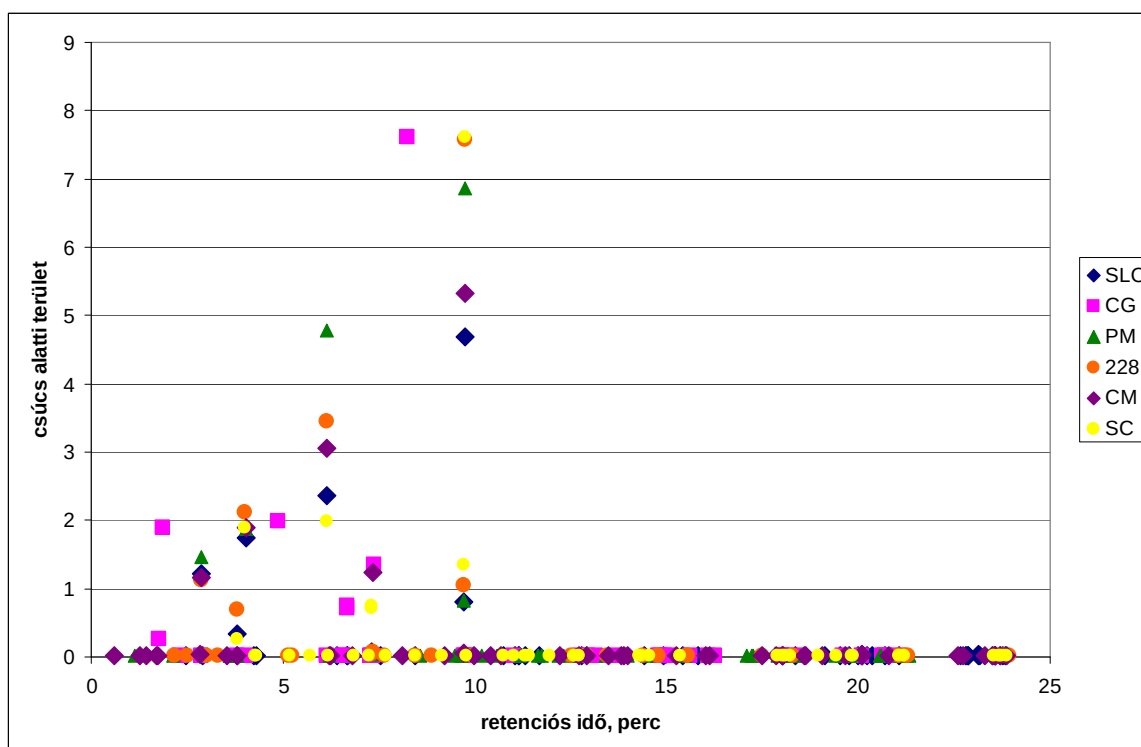
A párlatonként detektált közel 90 azonosított és nem azonosított komponens, és a nagy mintaszám megnehezíti a törzsek aromaprofil szerinti összevetését. A kromatogramok egymásra vetítése megoldható ugyan, azonban az eredmény nem átlátható. Megoldásként a retenciós idő függvényében ábrázoltam az egyes komponensekhez tartozó csúcs alatti területet, pontdiagram segítségével, törzsenként eltérő színnel (**12. ábra és 13. ábra**). Így tulajdonképpen a csúcsok magasságát egy-egy pont jelöli ki, és a párlatok közötti különbségek könnyedén átláthatók, és elvégezhető a teljes kromatogram analízise. A képződött komponenseket sokféleség és mennyiség szerint lehet szemlélni.

A Herbs and Fox termékeknél elmondható, hogy a lassú etanolképzést mutató FermArom (FA) élesztővel kezelt cefre tűnik aromában a legszegényebbnek, azonban nagyobb retenciós időnél magasabb koncentrációban jelennek meg olyan komponensek, melyek a többi párlatnál nem. Általánosságban az összes párlatról elmondható, hogy az etanol mellett megjelenő négy fő komponensen kívül (metanol, etil-acetát, acetaldehid, izoamil-acetát) jelen vannak azok az ún. "minor" komponensek, melyek ugyan kis koncentrációban dúsulnak fel a párlatban azonban ezeknél magasabb az érzékelési küszöb, az ún. "threshold", eképpen felelősek lehetnek egy adott jelleg kialakulásáért, és semmiképpen sem elhanyagolhatóak. A kromatogram végén lévő vegyületek feltehetőleg a kozmaolajok, és az ábra szerint az FF, FB és VUB törzsek esetén dúsulnak ezek a legnagyobb mértékben (**12. ábra**). Belátható tehát, hogy a lassan erjesztő törzsek esetén (S és FF) a desztillátum illékony komponensekben sokkal gazdagabb, míg a dinamikusan erjesztőknél kevesebb értékes vegyület dúsul fel a párlatban.

A Kokoferm élesztőknél (**13. ábra**) belátható, hogy a kisebb szénatomszámú savakból és alkoholokból sokkal több termelődött az erjedés során. A meggy-palinka jellemző komponense, a benzaldehid itt is megjelent a legtöbb párlatban. Első ránézésre látható, hogy az SC törzs esetén a legszélesebb az aromaanyagok palettája, míg a 228-as és a PM esetén –noha arányosan több illékony vegyületet képeztek – a legszegényesebb.

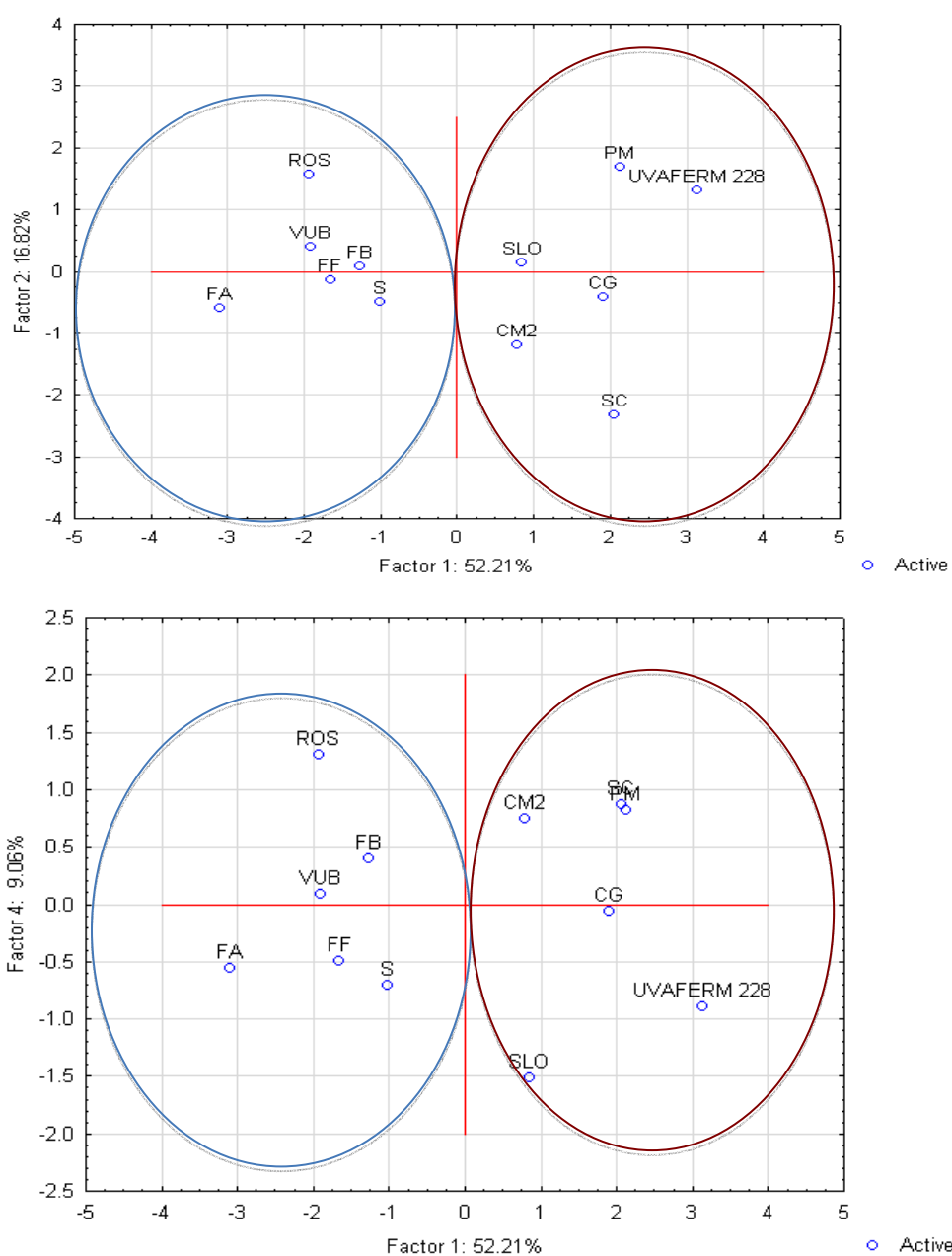


12. ábra: A különböző Herbs and Fox élesztőkkel készített párlatok aromaprofiljai – kromatogram analízis



13. ábra: A különböző KOKOFERM élesztőkkel készített párlatok aromaprofiljai – kromatogram analízis

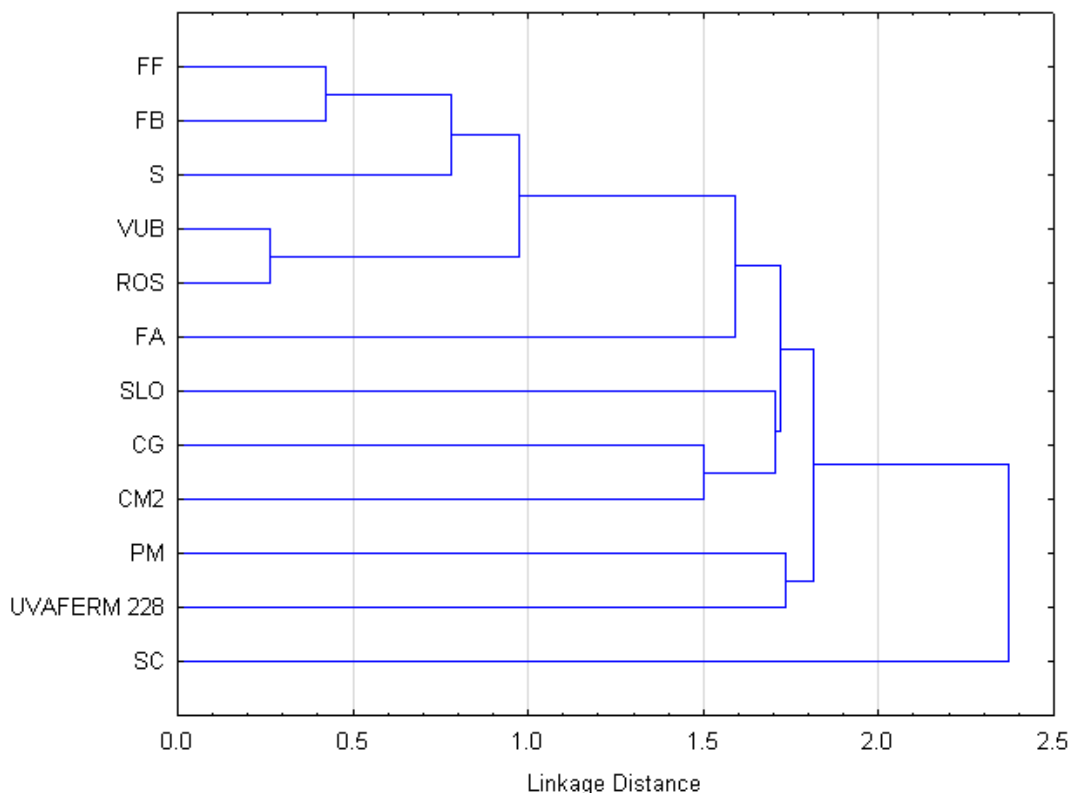
TDK-munkámban a GC-FID kromatogramok ismeretében összehasonlító jellemzést végeztem főkomponens analízis (Principle Components Analysis) és klaszter analízis technikák segítségével. Mindkét technikánál először WinLab 5.0 szoftver segítségével kinyertem a csúcsok alatti területeket, amelyek a statisztikai elemzések alapadatait képzik. A párlatoknál 60-97 illókomponenst detektáltam a retenciós idők alapján. A főkomponens analízishez a Statistica program (10.0 verzió) Multivariate beépített moduljában található Principle Components & Classification statisztikát használtam. A kapott eredményeket a **14. ábrán** szemléltettem.



14. ábra: A különböző élesztőkészítmények segítségével előállított párlatok illókomponenseinek besorolása PCA (Főkomponens) analízissel

A program a nagyjából 90 komponensből 7-et emelt ki mint főkomponens, és ezek alapján végezte az összehasonlítást. Azt tapasztaltam, hogy a két kereskedelmi termékcsalád (Herbs and Fox Kft., valamint Kokoferm Kft.) a főkomponens analízis alapján jól elkülönült egymástól az 1. faktor mentén, amely a variancák 52.21 %-át képezi. A legtávolabb a Herbs and Fox Kft. termékektől az UVAFERM 228 készítmény áll, amely a Kokoferm Kft. terméke.

A klaszter analízis alapján **(15. ábra)** megállapítottam, hogy a párlat aromaprofilját illetően markánsan elkülönültek a két cég által gyártott/fogalmazott termékek. Az összes terméktől való legnagyobb eltérést a Kokoferm Kft. által forgalmazott SC nevű termék mutatta. A dendrogramon a Kokoferm termékek között mért távolság nagyobb, mint a Herbs and Fox Kft. által gyártott termék közötti távolság. Noha minden eddigi mérés arra mutatott, hogy a Kokoferm törzsek nagyobb hasonlóságot mutatnak egymással, mint a Herbs and Fox törzsek, hiszen a görbék eloszlása sokkal homogénebb volt; a párlatok statisztikai elemzése szerint a Kokofermnél különböző élesztő törzsek találhatók, a Herbs and Fox termékeinél azonban - a két szélsőséges esettől eltekintve - jó eséllyel igen hasonló törzsekről van szó.



15. ábra: A különböző élesztőkészítmények segítségével előállított párlatok illókomponenseinek besorolása klaszter analízissel

6 ÖSSZEFOGLALÁS

Az eredetvédett pálinkák egyedülálló aromavilága kuriózumnak számít a szeszes italok körében, a piacon fellelhető termékek karakterisztikájának változatossága meglehetősen sokrétű, és olyan értéket képvisel, mely mindenképpen megőrizendő. Így fontosnak tartottam olyan jellegű kutatómunkát elvégezni, mely segíthet a különleges aromavilág kialakulási folyamatának megismerésében, az azt befolyásoló tényezők leírásában. TDK-munkámban egyszerű fizikai és klasszikus analitikai, valamint műszeres analitikai módszerek segítségével végigkövettem az erjedés folyamatát, a folyamat során a cefre kémiai összetételében bekövetkező változásokat. Elvégeztem továbbá a desztillációval nyert párlatok illókomponensek szerinti összehasonlítását. Munkám során az alábbi jelentős eredményeket értem el:

- Vizsgálati alapanyagként a munkámhoz meggy sűrítményt alkalmaztam, melynek kémiai összetétele és aromavilága alkalmas volt arra, hogy fel tudjam tárni az egyes kereskedelembe kapható élesztőkészítmények hatását a párlatok illókomponenseinek kialakulására.
- Sikeresen állítottam össze modellcefrét, melyekben a fajélesztős beoltást követően a 9 napos erjedés zavartalanul végbement.
- Azt tapasztaltam, hogy a cefrék pH értéke általában pH 2,9 és pH 3,3 között mozgott az erjedés során. A változások minimálisak voltak, ezért elmondható, hogy az alkoholos erjedés rendben lezajlott.
- A tömegcsökkenés (szén-dioxid távozása), a szárazanyag-tartalom változás és szubsztrátumfogyás/termékképzés profiljait megvizsgálva megállapítható, hogy a Kokoferm Kft. által forgalmazott készítmények alkalmazása során a főerjedési szakasz a második napon elkezdődött, és nagyjából a hetedik napig tartott (kivéve az UVAFERM SC törzset). A Herbs and Fox élesztőknél az intenzív fermentációs szakasz kissé később indult meg (4. nap).
- A glükóz és fruktóz fogyási görbéinek alapján szignifikáns különbség figyelhető meg a két termékcsoporthoz. A Kokoferm Kft. által biztosított élesztők az erjedés elején intenzívebb glükózhasznosítást mutattak, mint a Herbs and Fox élesztők. Fordított helyzet állt fenn a fruktóz esetén.
- A kiejert cefrék alkohol koncentrációja 4,6 % és 6,6 (V/V)% között mozgott. A legkisebb alkoholkiszárat a Sauvignon élesztő esetén mértem, míg a legmagasabbat az UVAFERM CM készítmény alkalmazásakor. Megállapítottam,

hogy a Kokoferm Kft. készítményeinek használatával szignifikánsan magasabb alkoholkhozatal érhető el, mint a Herbs and Fox eredetű termékek esetén.

- A Herbs and Fox törzseknél a lassan erjesztő törzsek esetén (S és FF) a párlat illékony komponensekben sokkal gazdagabb, míg a dinamikusan erjesztőknél kevesebb értékes vegyület dúsul fel a párlatban.
- A Kokoferm Kft. által forgalmazott élesztők alkalmazása esetén megállapítható, hogy a lassan erjesztő SC törzs esetén a legszélesebb az aromaanyagok palettája, míg a dinamikusan erjesztő 228-as és a PM esetén szegényesebb az aromakarakter.
- Főkomponens analízis segítségével az aromában leggazdagabb és legszegényebb párlatok jól elkülöníthetők egymástól, csakúgy, mint a két forgalmazó termékcsoportjai. Az eredmények alapján arra következtettem, hogy a Herbs and Fox Kft. esetében a két szélsőséges törzstől eltekintve nagyon hasonló termékekről van szó, míg a Kokoferm Kft. által forgalmazott termékek karakterisztikája jól elkülönül egymástól.
- A klaszter analízis alapján elmondható, hogy markánsan elkülönültek a két cég által gyártott és fogalmazott termékek a párlat aromaprofilját illetően. Érdekes, hogy a Kokoferm Kft. által forgalmazott SC nevű termék karakterisztikában igen nagy eltérést mutatott a többi készítmény tulajdonságaitól.

Az elért eredmények elősegíthetik a fogyasztók döntését, ha kereskedelmi élesztőkészítmények közül kell választaniuk. Ezen termékek segítségével, és megfelelő pálinkakészítési technológiával jó minőségű meggypálinka készíthető el. További kísérletsorozatokban érdemes lenne megvizsgálni az erjedési dinamika környezeti tényezőktől való függését, valamint elvégezni a keletkező végtermék - műszeres analitikai profilja mellett - érzékszervi bírálatok segítségével összeállított aromaprofil elemzését is. A folyamatok háttérében álló bonyolult biokémiai szintézisutak egzakt feltárása genetikai/ molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával válna lehetővé.

7 FELHASZNÁLT IRODALOM

1. Apostol J.: Cseresznye- és meggynevelés, a fontosabb fajták leírása. . In Hrotkó K. (ed): Cseresznye és meggy. Mezőgazda Kiadó, Budapest 2003. 74-75.
2. Apostol J., Brózik S.: Meggy. In Brózik S., Kállay T.-né. (ed): Gyümölcsfajták 2. Csonthéjas és héjas gyümölcsfajták. Mezőgazda Kiadó, Budapest 2001. 24-38.
3. Barrio, E., González, S.S., Arias, A., Belloch, C., Querol, A.: Molecular mechanisms involved in the adaptive evolution of industrial yeasts. In: Querol, A., Fleet, G.H. (Eds): Yeasts in Food and Beverages. Springer-Verlag, Berlin 2006. 153-174
4. Beaver, J. A., Iezzoni, A. F., Ramm C. W.: Isozyme diversity in sour, sweet and ground cherry. Theoretical and Applied Genetics **90** (6) 847-852 (1995)
5. Békési Z., Pándi F.: Pálinkafőzés. Mezőgazda Kiadó, Budapest 2005.
6. Bisson, L.F.: Stuck and sluggish fermentations. American Journal of Enology and Viticulture **50** 107-119 (1999)
7. Carrau, F. M., Medina, K., Boido, E., Farina, L., Gaggero, C., Dellacassa, E.: Effect of *Saccharomyces cerevisiae* inoculum size on wine fermentation aroma compounds and its relation with assimilable nitrogen content. International Journal of Food Microbiology **143** 81-85 (2010)
8. Carrau, F.M., Medina, K., Farina, L., Boido, E., Henschke, P. A., Dellacassa, E.: Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. FEMS Yeast Research **8**, 1196–1207 (2008)
9. Chalier, P., Angot, B., Delteil, D., Doco, T., Gunata, Z.: Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein isolated from *Saccharomyces cerevisiae* strains. Elsevier Food Chemistry **100** 22-30 (2007)
10. Christensen, L.P., Edelenbos, M. & Kreutzmann, S.: Fruits and vegetables of moderate climate. In: *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (ed R.G. Berger). Springer-Verlag, Berlin 2011. 135-187
11. Christoph, N., Bauer-Christoph, C.: Flavor of Spirit Drinks: Raw materials, Fermentation, Distillation, Ageing. In: *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (ed R. G. Berger). Springer-Verlag, Berlin 2011. 219-237
12. Coetzee, C., du Toit, W. J.: A comprehensive review on Sauvignon blanc aroma with a focus on certain positive volatile thiols. Elsevier Food Research International **45** 289-298 (2012)
13. Cuinier, C.: Reflections on yeast inocula in oenology. Vignes et Vins **322** 12-16 (1983)
14. Damar, I., Eksi A.: Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry juice. Food Chemistry **135** 2910-2914 (2012)
15. Daenen, L., Streckx, F., Delvaux, F. R., Verachtert, H., Derdelinckx, G.: Evaluation of the glycoside hydrolase activity of a *Brettanomyces* strain on glycosides from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) used in the production of special fruit beers. DOI: 10.1111/j. 1567-1364.2008.00421.x. FEMS Yeast Res **8** (2008) 1103-1114 (2008)
16. Deák T.: Élesztőgombák. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest 1998.
17. Duerksen, J.D., Halvorson, H.: Purification and properties of an inducible beta-glucosidase of yeast. J Biol Chem **233** 1113–1120 (1958)

18. Eksi, A., Reicheneder, E., Kieninger, H.: Über die chemische Zusammensetzung der Sauerkirschmutteraeften aus verschiedenen Sorten. *Flüssiges Obst* **47** 494–496 (1980)
19. Erten, H., Tanguler, H., Cabaroğlu, T., Canbas, A.: The influence of inoculum level on fermentation and flavour compounds of white wines made from cv. Emir. *Journal of the Institute of Brewing* **112**, 232–236 (2006)
20. Fonyó Zs., Fábry Gy.: *vegyipari művelettani alapismeretek*. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest 2004. 597–658
21. Fox, A.D., Robyt, J.F.: Miniaturization of three carbohydrate analyses using a microsample plate reader. *Analytical Biochemistry* **195**: 93–96 (1991)
22. Haisman, D.R., Knight, D. J.: The enzymatic hydrolysis of amygdalin. *Biochem Journal* **103** 528–534 (1967)
23. Hazelwood, L.A., Daran, J.M., Van Maris, A.J.A., Pronk, J.T., Dickinson, J.R.: The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. *Applied and Environmental Microbiology* **74** 2259–2266 (2008)
24. Ibanez, C., Pérez-Torrado R., Chiva R., Guallimón, J.M., Barrio, E., Querol, A.: Comparative genomic analysis of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts isolated from fermentations of traditional beverages unveils different adaptive strategies. *International Journal of Food Microbiology* **171** 129–135 (2014)
25. Jenks, M.A., Bebeli, P.J.: *Breeding for Fruit Quality*. John Wiley and Sons Inc. West Sussex UK, 2011
26. Kállay T.-né: A termesztés környezeti feltételei és a termőhely kiválasztása. In Hrotkó K. (ed): *Cseresznye és meggy*. Mezőgazda Kiadó, Budapest 2003. 222–226.
27. Liang, H-Y., Chen, J-Y., Reeves, M., Han, B-Z.: Aromatic and sensorial profiles of young Cabernet Sauvignon wines fermented by different Chinese autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Research International* **51** 855–865 (2013)
28. Lindhard, P.H., Hansen, P.: Effect of timing of nitrogen supply on growth, bud, flower and fruit development of young sour cherries. *Scientia Horticulturae* **69** 181–188 (1997)
29. Mattheis, J. P., Buchanan, D. A., Fellman, J.K.: Identification of headspace volatile compounds from 'Bing' sweet cherry fruit. *Phytochemistry* **31** (3) 775–777 (1992)
30. Milosevic, T., Milosevic, N.: Fruit Quality Attributes of Sour Cherry Cultivars. *International Scholarly Research Network Article ID 593981* (2012)
31. Medina, K., Carrau, F.M., Gioia, O., Bracesco, N.: Nitrogen availability of grape juice limits killer yeast growth and fermentation activity during mixed culture fermentation with sensitive commercial yeast strains. *Applied and Environmental Microbiology* **63** 2821–2825 (1997)
32. Moll, M.: *Beers & Coolers*. Intercept, Andover, UK 1991. 495
33. Quang D. Nguyen, Gáborné Panyik, László Nagygyörgy, Ágoston Hoschke: Development of methods for trace of pálinka. *Hungarian Agricultural Research* **22**:10–13 (2013)
34. Nikolic, D., Fotiric, A., Rakonjac, V.: Characteristics of selected Oblacinska sour cherry clones. In *Proceedings of the 3rd Conference of Innovations in Fruit Growing*, 145–151 (2011)
35. Nordstrom, K.: Studies on the formation of volatile esters in fermentation with brewer's yeast. *Svensk Kemisk Tidskrift* **76** 510–543 (1964)
36. Panyik G.-né dr.: *Pálinkafőzés. Ágyas Pálinka és likőr készítése*. Cser Kiadó, Budapest 2013.

37. Pedisic S., Levaj B., Dragovic-Uzelac V., Kos K.: Physicochemical composition, phenolic content and antioxidant activity of sour cherry cv. Marasca during ripening. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **72** (4) 295-300 (2007)
38. Park, S.K., Noble, A.C.: Monoterpenes and monoterpene glycosides in wine aromas. In ACS symposium series. Beer and wine production, Washington DC 1993. 99-109
39. Peddie, H.A.B.: Ester formation in brewery fermentations. *Journal of the Institute of Brewing* **96** 327-331 (1990)
40. Petersen, M.B., Poll, L.: The influence of storage on aroma, soluble solids acid and colour of sour cherries cv Stevnsbaer. *European Food Research and Technology* **209** 251-256 (1999)
41. Rosi, I., Vinella, M., Domizio P.: Characterization of beta-glycosidase activity in yeasts of enological origin. *Journal of Applied Bacteriology* **77** 519-527 (1994)
42. Radler, F., Schütz, H.: Glycerol production of various strains of *Saccharomyces*. *American Journal of Enology and Viticulture* **33** 36-40 (1982)
43. Regodón Mateos, J.A., Pérez-Nevado, F., Ramírez Fernández, M.: Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine. *Enzyme and Microbial Technology* **40** 151-157 (2006)
44. Romano, P., Brandolini, V., Ansaloni, C., Menziani, E.: The production of 2,3-butanediol as a differentiating character in wine yeasts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **14** 649-653 (1998)
45. Romano, P., Caruso, M., Capece, A., Lipani G., Paraggio, M., Fiore, C.: Metabolic diversity of *Saccharomyces cerevisiae* strains from spontaneous fermented grape musts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **19** 311-315 (2003)
46. Saerens, S.M.G., Delvaux, F., Verstrepen, K.J., Van Dijck, P., Thevelein, J.M., Delvaux, F. R.: Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* **74** 454-461 (2008)
47. Sarkadi L.: *Biokémia Mérnök szemmel*. Typotex Kiadó, Budapest 2007. 99-111
48. Sims, C.A., Bates, R. P.: Effects of skin fermentation time on the phenols, anthocyanins, ellagic acid sediment and sensory characteristics of a red *Vitis rotundifolia* wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **45** 56-62 (1994)
49. Surányi D.: Cseresznye és meggy, valamint a rokon fajok botanikai leírása. In Hrotkó K. (ed): *Cseresznye és meggy*. Mezőgazda Kiadó, Budapest 2003. 27-36.
50. Suzzi, G., Arfelli, G., Shirone, M., Corsetti, A., Perpetuini, G., Tofalo, R.: Effect of grape indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains on Montepulciano d'Abruzzo red wine quality. *Food Research International* **46** 22-29 (2012)
51. Sarry, J-E., Günata, Z.: Plant and microbial glycosidase hydrolases; Volatile release from glycosidic aroma precursors. *Elsevier Food Chemistry* **87** 509-521 (2004)
52. Schwab, W., Scheller, G., Schreier, P.: Glycosidally bound aroma components from sour cherry. *Pergamon Press Plc, Phytochemistry* **29** (2) 607-612 (1990)
53. Spagna, G., Andreani, F., Salatelli E., Romagnoli D., Casarini D., Pifferi, P. G.: Immobilization of glycosidases: alfa-L-arabinofuranosidase and beta-D-glucopyranosidase from *Aspergillus niger* on chitosan derivate to increase the aroma of wine. Part II. *Enzyme and Microbial Technology* **23** 413-421 (1998)

54. Toydemir, G., Capanoglu, E., Roldan, M. V. G., de Vos, R. C. H., Boyacioglu, D., Hall, D. R., Beekwilder, J.: Industrial processing effects on phenolic compounds in sour scherry (*Prunus cerasus* L.) fruit. Elsevier Food Research International **53** 218-225 (2013)
55. Ugliano, M., Bartowsky, E.J., McCarthy J., Moio, L., Henschke, P.A.: Hydrolysis and transformation of grape glycosidally bound volatile compounds during fermentation with three *Saccharomyces* yeast strains. Journal of Agricultural Chemistry **54** 6322-6331 (2006)
56. Zhang, X., Jiang, Y-M., Peng, F-T., He, N-B., Li, Y-J., Zhao, D-C.: Changes of aroma components in Hongdeng Sweet cherry during fruit development. Agricultural Science sin China **6** (11) 1376-1382 (2007)
57. Velioglu, S., Yildiz, O.: Chemical composition of Turkish sour cherry juices. Gida **21** 103–107 (1996)
58. Wen, Y-Q., Fei, H., Zhu, B-Q., Lan, Y-B., Pan, Q-H., Li, C-Y., Reeves, M.J., Wang, J.: Free and glycosidally bound aroma compounds in cherry (*Prunus avium* L.). Food Chemistry **152** 29-36 (2013)
59. Will, F., Ludwig, M., Bonerz, D., Dietrich, H.: Anthocyanins in sour cherry juices and nectars. Fruit Processing **17** 262–268 (2007)
60. Winzeler, E.A., Castillo-Davis, C.I., Oshiro, G., Liang, D., Richards, D.R., Zhou, Y., Hartl, D.L.: Genetic diversity in yeast assessed with whole genome oligonucleotide arrays. Genetics **163** 79-89 (2003)
61. Waffenschmidt, S., Jaenicke, L.: Assay of reducing sugars in the nanomole range with 2,2'-bicinchoninate. Analytical Biochemistry **165**: 337-340 (1987)

Internetes források:

<http://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat> (2014. 10. 25.)

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Prunus_cerasus_Sturm08060.jpg (2014.10. 25.)