

Ølbrygning set med biologiske og kemiske øjne

Ølbrygning set med biologiske og kemiske øjne	1
Indledning	3
Støbning.....	4
<i>Maltning/spiring</i>	<i>4</i>
Tørring	5
<i>Ristning</i>	<i>5</i>
ENZYMER.....	6
To enzymatiske udfordringer i bryggeprocessen.....	7
<i>Beta-glucan nedbrydning.....</i>	<i>7</i>
Aktivitet af enzymerne	7
Mæskning.....	8
Mæskning og pH	9
Mæskning og temperatur	12
<i>Mæsknings rolle.....</i>	<i>13</i>
<i>Gelatinisering.....</i>	<i>13</i>
<i>Liquefaction</i>	<i>13</i>
<i>Saccharification</i>	<i>14</i>
Carbohydrater og saccharider.....	14
Monosaccharider	15
Disaccharider	17
Polysaccharider.....	18
Filtrering og eftergydning.....	19
Urtkogning	20
Dimethylsulfid, DMS	21
Protein-udfældning.....	22
Humle.....	22
Humlesorter	23
Krydderier og urter	23
Bitterenheder	24
<i>Kemien bag bitterheden</i>	<i>24</i>
Aroma	25
<i>Tørhumling.....</i>	<i>26</i>
Gær: bryggerens vigtigste partner	27
Gær som mikroorganisme	27
Gærstammer.....	27
Gæring og teknologiske forskelle	29

Gærcellens metabolisme	29
Gær reproduktion og vækst.....	30
<i>Latent eller induktionsfase</i>	31
<i>Accelerationsfase</i>	31
<i>Eksponentielle fase</i>	31
<i>Deceleration fase</i>	31
<i>Stationær fase</i>	32
Faldende fase.....	32
Faktorer som har betydning for en god fermentering.....	34
<i>Gærfaktorer</i>	34
<i>Urt faktorer</i>	34
<i>Temperatur faktorer</i>	35
Bestemmelse af alkohol vol%	35
Lagring, modning og 'aldring'	35
Ølsmagning/sensorik.....	37
Flavour	37
Øllets aroma	38
Prikkende bobler – carbonering af øllet	38

Indledning

Øl er øl og laves på baggrund af byg, vand, humle og gær. Og så alligevel ikke, dels kan man lave øl som er mere eller mindre bitter og så kan man tilsætte krydderier, chokolade eller lakrids alt efter brygmesterens innovationsvilje. Kun kreativitet og nysgerrighed sætter grænse.

Sagt med andre ord: brygmesterens valg af råvarer er ved første øjekast begrænset til humle, malt, gær og vand, derved skabes øllets udseende, aroma og mundoplevelse. Ved nærmere eftersyn kan de nævnte råvarer varieres på utallige måder. Bare malttyper og humlesorter giver mulighed for stor variation. Og hvis man så indtænker tilsætning af urter og/eller krydderier så bliver mulighederne uendelige. Malten giver ikke kun de uundværlige enzymer, men tilfører også proteinstoffer som har betydning for skumdannelsen, jo mere protein jo mere skum.

Malten giver øl et meget bredt aromabillede, fra de karakteristiske kornaromaer til en aroma, der kan karakteriseres som: ristet brød, øllebrød, karamel, vanilje, nødder, chokolade, kaffe og helt over til røget tjære eller hydeblomst aroma.

Vi ved godt at tomater og agurker er det rene vand, op mod 95% af en tomats vægt er vand. Dette gælder også øl hvor vand udgør 90%, alligevel kan der være så meget smag i en øl at det er næsten ufatteligt.

ØL er en række forskellige gærede alkoholiske bryg, lavet på stivelses- eller sukkerholdige materialer, såsom ris og majs, men først og fremmest maltede kornsorter. Øl er gennem tiderne smagssat med krydderplanter, særlig humle. De ingredienser som indgår i fremstilling af øl er: korn (byg) vand, gær og humle.

BYG (Foto)

Byg er en af de ældste kornarter og har formodentlig været dyrket fra før 5000 f.Kr. Dyrkede byg kendes ikke fra naturen, men stammer sandsynlig fra en nærtstående art: vild toradet byg, *Hordenum spontaneum*, som vokser vild i det østlige Middelhavsområde og i Mellemøsten.

I dag dyrkes den forædlede byg, der har en stor ydeevne og som er resistens overfor sygdomme, i sær svampesygdomme.

I Danmark dyrkes to former for byg: vårbyg, som sås om foråret og vinterbyg som udsås om efteråret. Vinterbyg skal påvirkes af kulde, før væksten begynder. Byg anvendes lokalt til foder, daglig kost og til maltbyg som anvendes til ølbrygning.

Aleuronlaget indeholder kornets mineraldepot, samt protein, fedt og B-vitaminer. Op mod 80 % af bygkernernes fosfater og mineraler som calcium, jern og magnesium er bundet i fytin. Set fra bygplantens side er det hensigtsmæssigt, at fosfater og mineraler lagres i kernen, så kimplanten umiddelbart ved spiring kan bringe disse lagre i anvendelse til vækst. For når byg spirer, dannes enzymet fytase, men først da. Derved frigives mineralerne som anvendes i forbindelse med vækst. Enzymer og saccharider frigøres og bruges af bygkimplanten til vækst.

Den byg der oftest anvendes til ølbrygning er toradet byg (*Hordeum vulgare* var. *distichum*). På malteriet bliver byggen tørret, rensat, sorteret efter størrelse og fyldt i store kar – såkaldte støbekar – hvor byggen udblødes i vand i henved 50 timer. De våde bygkorn pumpes over i spirekasser, hvor de ligger til spiring i omkring fem døgn, nu har vi at gøre med grønmalt.

Grønmalt eller spiret byg er den fundamentale råvare i ølbrygningen. Malten bidrager til øllets smag og farve, desuden er maltens proteiner central for dannelsen af skum og malten er tillige en vigtig næringskilde for gæren. Maltbyg som anvendes til ølbrygning adskiller sig fra almindelig byg ved at have et særlig højt indhold af stivelse. For at stivelsen (amylose) der består af op til 6000 glucose enheder kan indgå i spiringen må den først spaltes. Under spiringen dannes enzymer (alfa- og beta-amylaser) som spalter amylose til dextriner og maltose også kaldet maltsukker. Dextriner og maltose spaltes senere videre til glucose af maltase. Herefter kan gæren begynde den egentlige gæring af glucose til alkohol/ethanol.

Fermenteringen og klargøring af malten forløber over tre til fire trin: Støbning, maltning/spiring, tørring og evt. ristning. Derefter kværnes malten og blandes med vand og mæskningen er i gang. Opløsningen filtreres og koges ind med humle. Slutresultatet af alle disse processer er hvad man kalder ølurten.

Støbning

Ved støbningen sættes bygkernerne i blød i vand i 2 døgn, derved optager kernerne vand til vandindholdet er ca. 45%. Ved dette niveau vil kimen påbegynde produktionen af hormonet gibberellinsyre som igangsætter spiringen. Gibberellinsyre transporteres til aleuroncellerne, hvor det initierer dannelsen af en række enzymer ved proteinsyntesen.

Maltning/spiring

Efter støbningen overføres bygkernerne til såkaldte spirekasser, hvor de spirer i ca. fem dage. Denne kontrollerede spiring, hvor kernerne vendes flere gange for ikke at deres fremspirede rødder skal filtrere sig ind i hinanden, kaldes maltning. Temperatur, luftfugtighed og ilt er meget vigtige parametre i denne proces og derfor skal spiringen foregå under kontrollerede forhold. Maltningen 4 vigtigste enzymer er alfa- og beta-amylase, protease og beta-glucanase. Under støbningen aktiveres en enzymsyntese i frøets skal. Noget af det første der sker er at der ved proteinsyntese dannes beta-glucanase, som derefter sætter gang i nedbrydningen af cellevæggen omkring endospermet, som består af polysaccharidet beta-glucan, som minder om cellulose i sin opbygning. Dernæst dannes forskellige proteaser, som ved nedbrydning fjerner proteinhinden omkring det oplagrede stivelse. Derved bliver der direkte adgang til stivelsen og alfa-amylase og beta-amylase kan påbegynde nedbrydningen af stivelse til maltose og glucose. Alle disse enzymatiske nedbrydningsprocesser er kendetegnende ved at være hydrolyser, hvor de større molekyler nedbrydes under tilførsel af vand.

Ved spiringsprocessen danner aleuronlaget og kimen enzymer, som nedbryder oplagsnæringen som består af stivelse og protein fra frøhviden. Under spiring i naturen bruges alle næringsstoffer (proteiner og stivelse) i frøhviden helt op. Ved ølfremstilling er man netop interesseret i at udnytte disse næringsstoffer til det yderste. Derfor stoppes spiringen når enzymindeholdet er på sit højeste, da enzymerne er centrale og vigtige for den kommende brygproces. Målet er at 95% af stivelsen omdannes til dextriner, maltose og glucose via kernerens indre enzymatiske nedbrydningsprocesser. Når man overhovedet lader kornene spirer er det for at få værktøjsskassen (enzymerne) gjort klar til at omdanne de store organiske molekyler til mindre enheder som gæren kan bruge i forbindelse med gæringen.

Figur 1 (Byg i tværsnit)

Stivelseskornene er omgivet af en tynd proteinkappe/hinde, som skal nedbrydes for at amylase kan få adgang til stivelsen. Proteinkappen nedbrydes af protease enzymer, ved at spalte peptidbindingerne mellem aminosyrerne under optagelse af vand, denne spaltning kaldes derfor en hydrolyse.

Under maltningen er enzymerne alfa- og beta-amylase aktive. Alfa-amylase er dannet af aleuronlaget under spiringen, mens beta-amylasen er dannet tidligere og ligger inaktivt i frøhviden, lige indtil spiringen går i gang. Alfa-amylase klipper de lange stivelsesmolekyler tilfældige steder i mindre stykker af varierende længder, mens beta-amylase klipper de mindre stykker to og to, til disaccharidet maltose. De to enzyms forskellige klippe funktioner beror på, at hvor alfa-amylase er en endoamylase som hydrolyserer alfa-1,4 glycosid bindinger tilfældige steder inde i stivelsesmolekylet, der hydrolyserer beta-amylase alfa-1,4 glycosid bindinger fra de frie ikke reducerede ender af stivelsesmolekylet ved frigivelse af maltsukker/maltose enheder.

Figur indsættes

Ud over de to amylase enzymer dannes der også ved spiringen af bygkorn beta-glucanaser, hvorfor det bliver muligt at spalte beta-glucanerne i frøvidens cellevægge. Nedbrydningen af disse cellevægge betyder dels at adgangen til stivelsen lettes, men er samtidig vigtig for at få en stor del af beta-glucanerne spaltet, for ikke at få en langsom filtration. Der dannes en meget tyktflydende masse som kan stoppe filtret til, når beta-glucanerne kommer i vand, som vi kender det fra havregryn opløst i vand eller mælk.

Figur indsættes

Tørring

Efter spiringen gennemluftes bygkernerne med varm luft. Malten får under tørringsprocessen den aroma og farve der er karakteristisk ved det fremtidige bryg.

Ristning

Efter tørring kan kernerne ristes, dette gøres ved produktion af de mørkere brygtyper som bock og porter. Temperaturen hvorved bygkernerne tørres og ristes har indflydelse på maltens karakteristika og farve. Jo højere temperatur malten tørres og ristes ved, jo mørkere malttype dannes – eksempler på malttyper er pilsnermalt (lys), røgmalt (røg) og karamelmalt (aromatisk og mørkere). Der findes to forskellige ristemetoder inden for ølbrygning: nemlig karamellisering og Maillard bruningsreaktion. Ved karamellisering afgiver sukkermolekylerne vand og ændre struktur som følge af varmepåvirkning. Ved ristning ved høje temperaturer sker der desuden en denaturering af enzymerne – dette har betydning for smag og udseende, samt for udbytte af forgærbare sukkerarter/saccharider. Ved Maillard reaktionen, som er en kompleks biokemisk reaktion, hvor simple sukkerarter som glucose og maltose katalyseres af frie aminosyrer. Det der gør Maillard reaktionen/processen forskellig for karamellisering er, at den foregår ved relativt lave temperaturer i længere, hvorved man fuldstændigt kan undgå de kraftigere smagsnuancer som opstår ved høj varmepåvirkning.

Box

Maillard reaktionen

Maillard reaktionen er resultatet af den brunning af fødevarer og dannelse af nye smagsstoffer som sker ved fx bagning eller popkorn produktion. Det er en ikke-enzymatisk brunning i modsætning til den brunning som alene indtræder ved luftens indvirkning på fødevarer. Processen indtræder ved en reaktion mellem proteiner eller frie aminosyrer og kulhydrater i fødevarer. Reaktionen fremmes af høje temperaturer og høje pH-værdier, samt ved røgning. Maillard reaktionen er skyld i at flæske sværd, kaffe og mørk øl har det udseende vi kender og den smag som vi oplever. Reaktionen er nærmere bestemt af at sukkermolekylernes carbonyl gruppe reagerer med aminosyrens amino gruppe. Sker reaktionen mellem aminosyren lysin og sukker så fremkalder det er smag af rugbrød og sker reaktionen mellem aminosyren glycin og sukker så bliver smagen ølagtig. Maillard reaktionen er i virkeligheden af kaskade af reaktionen som har stor betydning i produktionen af de mørke øltyper som lager og ales.

Box slut

Det er vigtigt, at spiringen stoppes efter fem dage, ellers vil en for stor andel af stivelsen blive respireret og brugt til at danne spirer, rødder og kimblade, det er naturligvis uhensigtsmæssigt da man er interesseret i at brygge så meget øl som muligt.

ENZYMER

Som vi har set er maltningens hovedopgave at få de enzymer som naturligt findes i forskellige kornsorter aktiveret. Dette gøres ved at få kornet spiret og derefter tørret. Der er tale om to grupper af enzymer: en gruppe som er ansvarlig for at nedbryde kulhydrater og en gruppe hvis funktion er at nedbryde proteiner. Disse enzymatiske nedbrydningsprocesser er nødvendige for gæren. Nedbrydningsprodukter som aminosyrer, maltose og glucose indgår i gærens metabolisme. I den forbindelse er det vigtigt at huske på at gæren ikke kun laver gæring, men også har brug for at kunne formere sig vegetativt ved knopskydning. Denne vegetative formering, hvor gæren deler sig ved mitose, kræver ATP og næringsstoffer til syntese af DNA/RNA ved replikationen og proteiner ved proteinsyntese. Det vil sige at gæren har bl.a. brug for nitrogen og fosfat ligesom kulstof.

Gær kan kun omsætte saccharider med 1, 2 eller 3 glucoseenheder, de kaldes hhv. mono-, de- og trisaccharider. Glucose og fruktose er monosaccharider, sukrose og maltose er disaccharider og maltotriose er et trisaccharid. Det er derfor nødvendigt at få stivelsen, som kan bestå af tusinder af glucosemolekyler, nedbrudt til mindre enheder såkaldte dextriner.

På samme måde har gæren brug for frie aminosyrer. Proteinerne i kornet i fx frøhviden skal altså nedbrydes for at gæren kan få adgang til de frie aminosyrer. Der er derfor brug for flere forskellige enzymer i det maltede korn. De er tilstede som forstadier til enzymer og bliver først aktive under maltningens proces.

De enzymer som naturligt aktiveres under maltningen kan som sagt inddeles i dem som kan nedbryde proteiner og dem som kan nedbryde kulhydrat, som det fremgår af tabellen:

Enzym type	Enzym	Substrat
Proteaser:	Peptidaser	Proteiner >>>peptider >>> aminosyrer
Amylaser/carbohydraser:	Alfa- og beta-amylase	Carbohydrater >>> maltose og glucose

Glucaner:

Beta-glucaner

Beta-glucan>>>glucose

Som det fremgår af mæskeprofilen på side xx er temperatur (og pH) en helt central spiller i forbindelse med ølproduktionens forskellige enzymatiske processer. Temperaturen er derfor en oplagt komponent "at skrue på" i forbindelse med at lave øl.

To enzymatiske udfordringer i bryggeprocessen

To enzymatiske processer er helt centrale i forbindelse med brygning af øl: beta-glucan nedbrydning og protolytiske nedbrydning af proteiner til frie aminosyrer. Begge dele for at gæren kan få gavn af de simple sukkerstoffer og de frie aminosyrer.

Beta-glucan nedbrydning.

Hemicellulose som er matrices elementet i cellevæggen in endospermen består af omkring 65% beta-glucan og 25% pentosan. Begge substanser er kritiske i forbindelse med brygge processens udnyttelse af stivelse, viskositet og filtrerbarhed. Men kan effektiviseres ved anvendelse af exogen beta-glucanase.

Figur indsættes

Beta-glucan er et polysaccharid bestående af D-glucose molekyler bundet sammen med 1,3- og mere hyppigt 1,4-glykosid bindinger. Denne kombination af bindinger gør at beta-glucan er utilgængelig overfor enzymer som amylaser og amyloglucosidaser.

Figur indsættes

Hvis ikke beta-glucan nedbrydes i gennem bryg processen kan det påvirke urten og viskositeten. Problemet løses ved at beta-glucan nedbrydnings enzymer som beta-glucan-solubilase, endo- og exo-beta-glucanaser og cellulase aktiveres. Den optimale temperatur for endogen beta-glucan-solubilase er 62-65 grader deaktiveres ved en temperatur på 72-73 grader.

Et andet vigtigt led i ølproduktions maltning og mæskning er nedbrydning af proteinerne som findes i byg eller i andre rå materialer. Det er nemlig ikke kun frie aminosyrer og dipeptider som frigives som næring for gæren, proteinerne i endospermen, binder sig til beta-glucan og pentosaner i cellevægge og skaber propper rundt om stivelse kerner. Dette problem er mest relevant hvis man brygger øl på basis af sorghum.

Figur indsættes

Den traditionelle måde at øge FAN produktionen er at bruge modificeret malt. Derved opnås en acceptabelt FAN niveau. Novozymes`Neutrase produkt arbejder synergistisk sammen med carboxypeptidase som findes i kornet fremstille mere aminosyre.

Aktivitet af enzymerne

Novo-forskere opdagede i 1941, at der fra dyrebugspytskitler anvendt til insulin produktion kunne udvindes et biprodukt i form af enzymer til industrielt brug. Nu om dage producerer den store danske enzymproducent Novozymes en række enzymer som anvendes indenfor fødevareindustrien. Disse enzymer produceres af gensplejsede mikroorganismer og finder bl.a. anvendelse i produktionen af levnedsmidler og vaskemidler

Novozymes producerer en række enzymer som har direkte anvendelsesmuligheder indenfor produktion af øl. Følgende fire enzymprodukter er til rådighed i forbindelse med den landsdækkende konkurrence om at brygge innovativt øl: Flavourzyme, Ondea Pro, Thermamyl SC DS og UltraFlo Max. Novozymes produkter er udviklet til at arbejde i synergi med de eksisterende enzym systemer i kerner fra forskellige typer korn, eller til at gøre det muligt at nedbryde og udnytte de malt baserede enzymer længere.

For at sikre optimal bearbejdning og fermentering indeholder forskellige enzym produkter fra Novozymes glucanase, xylanase, protease, amylase, pullulanase(dextrinase), og lipase, i rette forhold tilpasset det relevante rå materiale.

De individuelle enzymer er udviklet til at afhjælpe mangler hos de naturlige enzymer ved specifikke brygge forhold. Det drejer sig om substrat specificitet, pH & temperatur.

Navn	Enzym	Aktivitet	Funktion/udbytte
Flavourzyme	Exo-protease	Ændre FAN level & aminosyre profil	Ændre niveauet af aroma & forstadier til afsmags produkter
Ondea Pro	Lipase Alfa-amylase Pullulanase(dextrinase) Beta-glucanase Xylanase Protease Beta-glucanase	Inklusiv umaltet korn	Øge bæredygtighed ved afskaffelse af maltnings processen
Thermamyl SC DS	Alfa-amylase	Stivelses nedbrydning ved høj gelatinisation temperatur	Forbedret sukkerdannelse i afkog/udtræk
UltraFlo Max	Pectinase Beta-glucanase	Nedbrydning af pectin	Forbedret ekstrakt fra pectin holdige frugter

Mæskning

I mæskningsprocessen laver man en "grød" af malt og vand som efterfølgende skal filtreres til urt og mask. I mæskningen "vækker" man de enzymer man først gjorde aktive ved at snyde bygkornene til at spire og derefter gjorde inaktive ved at tørre dem, da stort set alle biokemiske foregår i vand. I mæskningen får man enzymerne til at nedbryde proteiner og vigtigst af alt poly- og di-sakkarider. Enzymerne der katalyserer disse processer vil nedenunder blive gennemgået. Mæskningsprocessen er afhængig af mindst tre meget væsentlige faktorer:

- Temperatur - de forskellige enzymer fungerer bedst ved forskellige temperaturer og man kan dermed "styre" hvilke enzymer man vil udnytte mest, eller hvilke kombinationer man vil forsøge sig med. De fleste enzymer denaturere, ændrer deres rumlige struktur og dermed mister evnen til at udføre deres biologiske aktivitet ved 75-80 grader celsius, og

derfor må temperaturen IKKE overskride dette før til allersidst, hvor det er meningen at denaturere dem, fordi de ikke længere skal være aktive.

- Koncentrationen af vand - ved høje koncentrationer af vand arbejder enzymerne hurtigst. Ved lav vandkoncentration går mæskningen en anelse langsommere, men man vil have en bedre kontrol.
- pH-værdi – generelt arbejder de fleste enzymer mest effektivt ved en pH-værdi på 5-6, men som ved temp. har de alle deres helt egne præferencer, så hvis man virkelig vil lade et enzym komme til sin ret skal man kende deres pH optimum og holde den der. Hvis man derimod vil optimere flere enzyms aktivitet, skal man lade pH-værdien variere lidt under mæskningen.

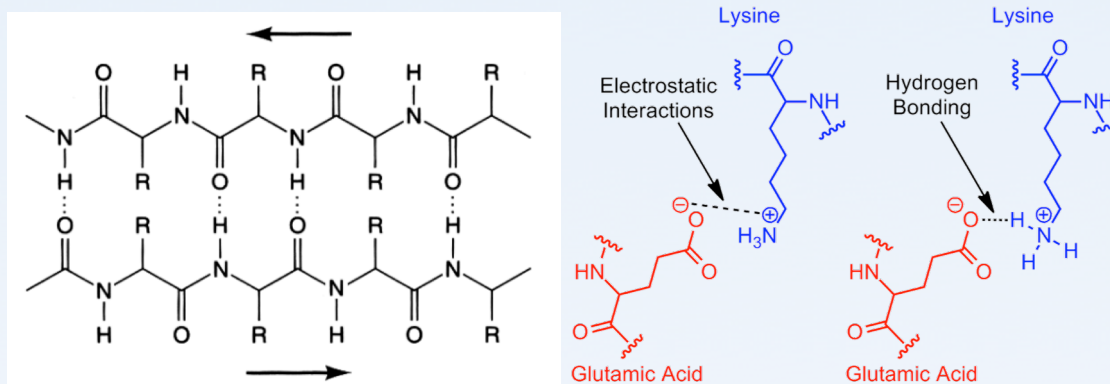
Mæskning og pH

Når malten er tilsat og er blevet godt gennemvædet, bør man kontrollere og eventuelt justere pH i mæsken. En af grundene til dette er optimering af amylase-aktiviteten. α -amylase har pH-optimum ca. mellem 5,3 og 5,7, mens β -amylase har pH-optimum omtrent mellem 5,0 og 5,5, så hvis amylaseaktiviteten skal optimeres, bør pH være mellem 5,3 og 5,5. Der foregår også andre pH-afhængige processer under mæskningen, men samlet set er en pH-værdi lige omkring 5,3 et godt valg.

Disse optima er målt ved mæsketemperatur, dvs. 65-70 °C. Hvis prøven afkøles (fx af hensyn til måleudstyret), skal der trækkes 0,35 fra den observerede måling ved stuetemperatur.

Enzymer og pH

Enzymer (og andre proteiner) er afhængige af en korrekt pH-værdi for optimal funktion. Årsagen skal blandt andet findes i enzymernes sekundære, tertiære og kvartnære strukturer, der opstår på baggrund af interaktioner mellem aminosyrer, der ikke nødvendigvis sidder i nærheden af hinanden i aminosyrekæden. Det er især saltbroer (ioniske interaktioner) og hydrogenbindinger, der påvirkes af pH-ændringer. Der kan også ske direkte påvirkning af bindingen mellem enzym og substrat. På figurerne nedenfor ses eksempler på hydrogenbindinger mellem aminosyrer i et betafoldeblad (β -sheet) samt på både en ionisk interaktion og en hydrogenbinding mellem sidekæderne på glutaminsyre og lysin. En anden vigtig bindingstype for enzymer og proteineres rumlige struktur er svovlbroer/disulfid bindinger mellem cystein-aminosyrerne.



Til Venstre: Hydrogenbindinger i et β -sheet, By Dirk Hünig, Wiki Commons

Til højre: Intermolekylære bindinger mellem lysin og glutaminsyre, By Chem540f09grp6 - Eget arbejde, Public Domain, Wiki Commons

Opgaver:

1. Hvorfor kan den viste hydrogenbinding mellem lysin og glutaminsyre blive påvirket af ændringer i pH?
2. Kig på en oversigt over aminosyrernes strukturer. Find aminosyrer med sidekæder, der kan danne enten ioniske interaktioner eller hydrogenbindinger. Overvej, hvilke der er afhængige af pH.
3. Vil de viste hydrogenbindinger i β -sheet'et blive påvirket af (mindre) pH-ændringer?
4. Find pK_S - og pK_B -værdier for sidekæderne i lysin og glutaminsyre. Ved hvilke

Både den anvendte malt og brygge vandet har stor indflydelse på, hvad pH-værdien i mæskevandet bliver. I

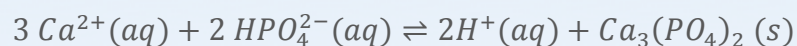
demineraliseret vand (pH = 7) vil naturlige puffersystemer i malten sænke pH-værdien til ca. 5,8. Puffersystemerne består blandt andet uorganiske og organiske fosfater (fx phytinsyre). Malte der er kilnet ved høj temperatur (mørke malte) indeholder imidlertid mere syre end lyse malte. Tilførsel af mørke malte kan således benyttes til at justere pH yderligere ned. Vandets indhold af ioner har også indflydelse. Det handler i høj grad om indholdet af carbonat/hydrogencarbonat¹ ($\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$) og calcium-ioner (Ca^{2+}). HCO_3^- (og CO_3^{2-}) er en base og vil øge pH. Omvendt kan Ca^{2+} ved reaktion med maltens phosphater frigøre mere syre (hydroner) og derved sænke pH.

Udfordringer med pH-værdien opstår typisk, hvis man ønsker at brygge en lys øl med bryggevand, der indeholder et stort overskud af HCO_3^- i forhold til Ca^{2+} . Eller det omvendte tilfælde, hvis man ønsker at brygge en mørk øl med vand, der har et meget lavt indhold af HCO_3^- . I det første tilfælde bliver mæske pH'en for høj, og i det sidste tilfælde bliver den for lav.

I praksis kan det være svært at ramme den ønskede pH-værdi nøjagtigt, og i de fleste tilfælde vil man få et udmærket resultat, så længe pH ligger i intervallet 5,0-5,5. Gør den ikke det er der forskellige metoder til justering. Hvis pH er for høj (for meget hydrogencarbonat), kan man justere den ned ved at tilsætte lidt syre. Mælkesyre (2-hydroxypropansyre) er et godt valg, men der kan også anvendes uorganiske syrer som fx svovlsyre (bemærk at renheden skal være høj nok til, at

Ca²⁺ og pH

Fældningsreaktionen mellem calcium-ioner og phosphater i malten kan beskrives ved dette reaktionsskema:



Ca²⁺ kan reagere med organisk bundne phosphater på samme måde.

Opgaver:

1. Beregn stofmængden af hydroner der maksimalt kan dannes ved ovenstående reaktion, hvis der tilsættes 5,0 gram calciumsulfat til 10 L mæskevand.
2. pK_s-værdien for dihydrogenphosphat (H_2PO_4^-) er 7,21, mens pK_s for hydrogenphosphat (HPO_4^{2-}) er 12,32. Argumenter for at størstedelen af det uorganiske phosphat findes som H_2PO_4^- og ikke HPO_4^{2-} ved pH-værdien i mæskevandet (pH 5-6). Benyt eventuelt et bjerrumdiagram (NB: CaHPO_4 er også tungt opløseligt).

¹ Mange steder kaldes hydrogencarbonat for bikarbonat. Der er tale om den samme ion: HCO_3^-

syren kan anvendes til fødevarer). Citronsyre fungerer også udmærket, men her skal man være opmærksom på, at større tilsætninger kan påvirke smagen. Et alternativ til syretilsætningen er anvendelse af calciumsalte, oftest calciumsulfat (CaSO_4). Calcium-ionerne (Ca^{2+}) kan som nævnt ovenfor sænke pH-værdien ved reaktion med maltens phosphater. Der dannes herved uopløselige forbindelser, som vil udfælde. Samtidig frigøres hydroner, og pH sænkes.

I sjældne tilfælde kan pH være lavere end ønsket. I så fald kan man opjustere ved tilsætning af saltene calciumcarbonat (CaCO_3) eller natriumhydrogencarbonat/natron (NaHCO_3). Både hydrogencarbonat og carbonat er som nævnt baser.

Calcium-ionerne i CaCO_3 vil naturligvis i nogen grad modvirke pH-stigningen, men det er i mange tilfælde bedre at benytte calcium- frem for natrium-salte, da natrium-ionerne kan få uønsket indflydelse på smagen, hvis de er til stede i for høj koncentration.

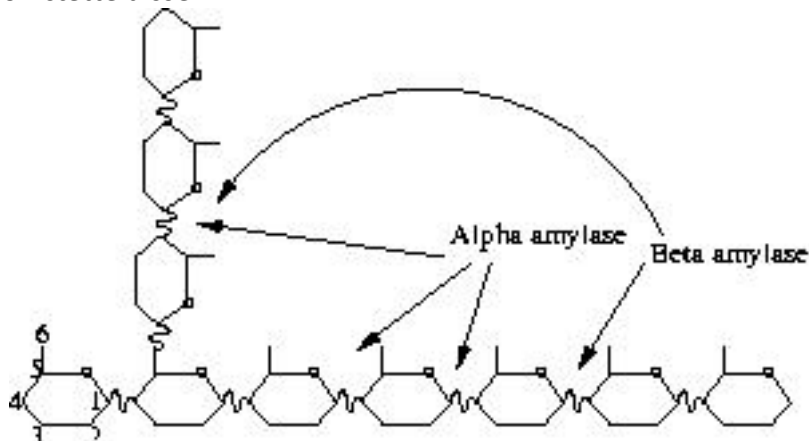
Mæskning og temperatur

Tiden - hænger meget sammen med temperatur. Ved at holde mæsken i forskellige tempi., i forskellige tidsperioder af varierende længde, kan man fremme nogle enzymer frem for andre, og dermed til en vis grad styre hvilke enzymer der er aktive. Mæskningen foregår hurtigst ved høje temperaturer og langsomt ved lavere

Som sagt arbejder de forskellige enzymer bedst og mest effektivt ved forskellige specifikke temperaturer. Følgende er en oversigt, en såkaldt mæskeprofil (se fig p), over forskellige temperaturer og hvilke enzymer der fungerer bedst under netop denne:

- 32-50 grader celsius – er optimum for beta-glucanase. Beta-glucanase vil nedbryde beta-glucan, som udgør en stor del af cellevæggen i kornene. Ved nedbrydelsen af beta-glucan vil amylaserne senere have nemmere ved at få sakkariderne optaget af gærcellerne. Denne proces vil sænke PH-værdien.
- 50-55 grader C – er optimum for proteaserne, enzymer der nedbryder proteiner til aminosyrer ved at bryde deres peptidbinding ved hydrolyse hvor vand er nødvendig, en binding mellem aminosyrer ved den enes carboxygruppe/syregruppe (COOH) og den anden aminosyres aminogruppe (NH_2), der ligesom ved bindingerne mellem carbohydrater sættes sammen med en kondensreaktion. Den vigtigste protease er peptidase, der "klipper" proteinerne i mindre kæder af aminosyrer (peptider) og dette har betydning for en øget skumstabiliteten i den færdige øl.
- 60-73 grader C – er optimum for carbohydraserne, enzymerne der katalyserer hydrolysen ved spaltningen af di- og polysakkarider(carbonhydraterne), som fx alfa- og beta-amylase. Amylaserne vil nedbryde maltose og polysakkariderne til glukose eller maltose, som gærcellerne kan respirere af - både aerobt og anaerobt. Man kan typisk nedbryde op til 80 % af de "store" sakkarider, og de polysakkarider der ikke nedbrydes eller kun delvist kaldes uforgærbare dextriner, kortkædede polysakkarider bestående af glukose. I den lavere ende af dette temperaturinterval - 63-65 grader celsius – har beta-amylase sit optimum, og da beta-amylase kun klipper fra enderne og 2 "mono"-saccarider ind, vil den danne maltose. Ved de højere temperaturer - fra ca. 65-68 grader celsius- har alfa-amylase sit optimum. Alfa-amylase er en endoamylase og vil derfor klippe "hist og pist" og vil dermed danne maltriose, maltose og glucose + stykker af polysakkarider i varierende

længde, de førnævnte dextriner. Disse dextriner vil give "fylde" til øllet, da gæren ikke kan omsætte disse.



- 75-80 grader - Ved disse temperaturer vil enzymerne denaturere og derfor ønskes denne temperatur ikke før til allersidst. Desuden vil man, hvis man varmer mæsken for meget, kunne trække de ellers uopløselige polysakkarider ud af kernerne hvilket ikke ønskes.

Figur indsættes

Figur indsættes

Mæsknings rolle

Meningen med mæskning er som tidligere beskrevet, en så vidt mulig total nedbrydelse alt stivelse i malten til mono og disakkarider samt opløselige dextriner. Nedenstående er en detaljeret gennemgang af de enkelte trin i mæskningen. Disse trin kan naturligvis varieres alt efter det ønskede slutprodukt. Stivelsesnedbrydning sker overordnet i tre trin.

- Gelatinisering
- Liquefaction
- Saccharification

Gelatinisering

- Mellem 59 grader C og 65 grader C ("sprængning" af stivelsesgranula, ikke enzymatisk, men skyldes vandoptag ved hjælp af osmose) medfører øget viskositet (klistret).
- Adskillelsen af de ellers tæt pakkede stivelses granula medfører en øget overlade og heraf hurtigere enzymatisk nedbrydning.
- Hvis gelatinisering ikke forekommer vil det medfører et lavere udbytte og problemer med filtreringen.

Liquefaction

- De lange kæder af glucosemolekyler (amylose og amylopektin) nedbrydes hurtigt til mindre kæder af alfa-amylase, hvilket medfører et hurtigt fald i viskositet.
- Beta-amylase kan kun langsomt nedbryde de lange kæder, da de spalter fra "frie" ende af polysakkaridet.

Saccharification

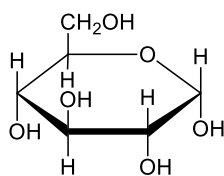
- Fortsat nedbrydning af stivelse ved skiftevis alfa-amylase og beta-amylase.
- Hverken alfa-amylase eller beta-amylase kan bryde alfa-1,6-glykosidbindingen hvilket medfører en mindre mængde af dextriner
- Dextrinase findes i malt, men har optimum omkring 55 grader C og er derfor inaktivt efter gelatinisering).

Carbohydrater og saccharider

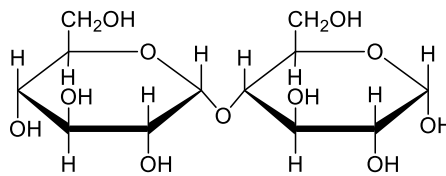
Det primære mål i bryggeprocessen er at omdanne de lange kulhydrat-kæder (stivelse) i malten til små kulhydrater, som gæren herefter kan omdanne til alkohol (og diverse smags- og aromastoffer). Men hvad er kulhydrater egentlig?

Populært sagt er kulhydrater (carbohydrater) sukkerstoffer. Det er dog ikke hele sandheden. Carbohydrater kan sættes sammen og danne lange polymerer, men det er kun de korteste - der består af 1 eller 2 carbohydrate-enheder - som kaldes sukre.

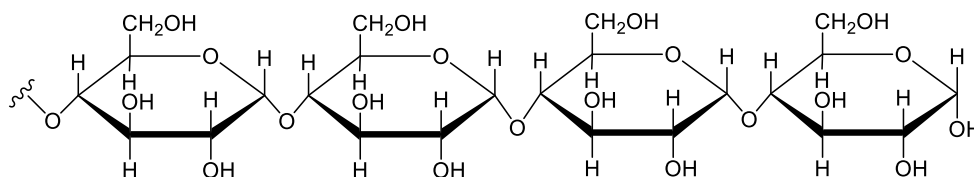
Et andet ord for carbohydrate er *saccharid*, og et molekyle, som består af en enkelt carbohydrate-enhed, kaldes et *monosaccharid*. Et molekyle, der er sammensat af to monosaccharider, kaldes et *disaccharid*. En *polymer* af carbohydrate er sammensat af mindst tre monosaccharider og kaldes et *polysaccharid*.



Monosaccharid



Disaccharid



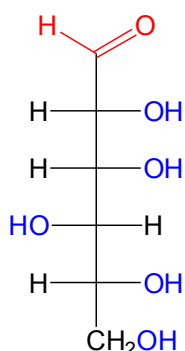
Polysaccharid

Læsevejledning: Carbohydraterne i dette afsnit er tegnet med stregformler. I stregformler er der et C-atom i alle knæk og forgreningspunkter i strukturen, men kun nogle få af disse er skrevet. Det viste mono-saccharid (øverst til venstre) har således i alt 6 C-atomer, hvoraf de fem sidder i ringen. Det viste di-saccharid har 12 C-atomer (fem i hver ring og to ekstra, som er tegnet)

Polysaccharider er ofte sammensat af hundrede- eller tusindvis af monosaccharid-enheder. Dextrin er en betegnelse for en særlig undergruppe af polysaccharider, der udmærker sig ved at være relativt små.

Alle de nævnte typer af kulhydrater er interessante i ølbrygning, men vi begynder med en gennemgang af de enkelte typers overordnede egenskaber.

Monosaccharider



D-glukose

Monosacchariderne har den generelle molekylformel $C_n(H_2O)_n$, hvor n er et tal mellem 3 og 7. Det nok bedst kendte monosaccharid er glucose (druesukker), som er naturligt forekommende og indeholder 6 carbonatomer (kun det ene er skrevet på strukturen). Altså bliver molekylformlen $C_6H_{12}O_6$.

Generelt indeholder monosaccharider et antal hydroxy-grupper og en enkelt oxo-gruppe ($C=O$). På de to strukturformler her i afsnittet er hydroxygrupperne er markeret med blåt mens oxogruppen er markeret med rødt.

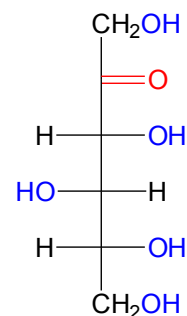
Oxo-gruppen giver monosacchariderne forskellige kemiske egenskaber alt efter, om den er placeret i enden af C-kæden eller inde i kæden.

I glucose er oxo-gruppen endestillet, og den kaldes derfor for et aldehyd (se figuren til venstre). Når oxogruppen ikke er endestillet er der tale om en keton. Et eksempel er fruktose, som ses her til højre.

Kædeformen kaldes enten *ketose*- eller *aldose*-formen - afhængigt af om det er en keton eller et aldehyd.

De her tegnede strukturer er ikke ringstrukturer, som dem vist i afsnittet ovenfor.

Monosacchariderne kan både optræde på ring-form og på den åbne form. Det meste af tiden vil monosacchariderne imidlertid befinde sig i ring-formen.



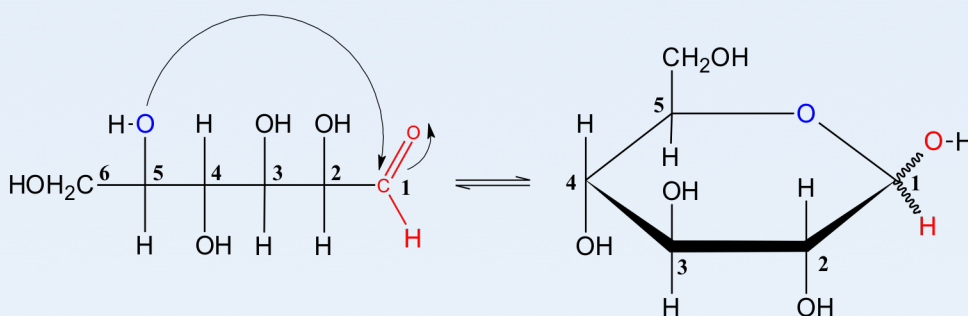
D-fruktose

Bemærk at der er adskillige stereocentre (kirale centre) i både glucose og fruktose, og de har således adskillige stereoisomere. For at skelne mellem de forskellige isomere benytter man i kulhydrat-kemien ofte fischerprojektioner, når man tegner strukturerne. Det er også gjort her. Du kan læse mere om fischerprojektioner og stereokemi i din kemibog, men vi vil ikke gøre meget ud af det her. Det er dog værd at bemærke, at det ikke er alle monosaccharidernes stereoisomerer, der forekommer naturligt. På figurerne af glucose og fruktose er det de naturligt forekommende D-former, som er tegnet².

² Glucose og fruktose er faktisk indbyrdes isomere (ikke stereoisomere). De har nemlig samme molekylformel men forskellige funktionelle grupper. De siges at være *funktions*-isomere.

Ringslutning af monosaccharider

Monosaccharider kan lave en *intramolekylær* ringslutning. Det er en ligevægtsreaktion, og oftest er ligevægten forskudt mod højre. Nedenfor ses et udsnit af reaktionsmekanismen for glukoses ringslutning.

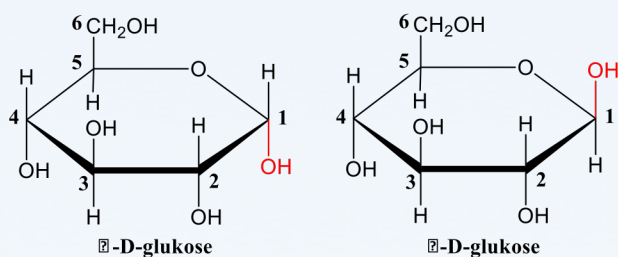


Det ene ledige elektronpar på oxygen-atomet i det næstsidste carbons (C5) hydroxygruppe (blå) 'angriber' oxo-gruppens elektronfattige carbonatom (rød). Der dannes herved en kovalent binding mellem hydroxygruppens oxygen-atom og oxo-gruppens carbon-atom. Samtidig flytter to elektroner fra C=O bindingen op på oxo-gruppens oxygen-atom (rød).

Til sidst skifter et hydron mellem oxygen-atomerne, og ringslutningen er færdig. Den sidste del af mekanismen er ikke helt sikkert fastlagt og vises derfor ikke på figuren.

Ringslutningen giver mulighed for dannelsen af to stereoisomere, idet hydroxygruppen på carbon nr. 1 (C1) i produktet kan ende enten over eller under ringen (markeret med bølgede bindinger på figuren ovenfor).

De to former hedder hhv. α og β , og navngivningen afhænger af C1-hydroxygruppens placering i forhold til placeringen af CH₂OH-gruppen på C5.



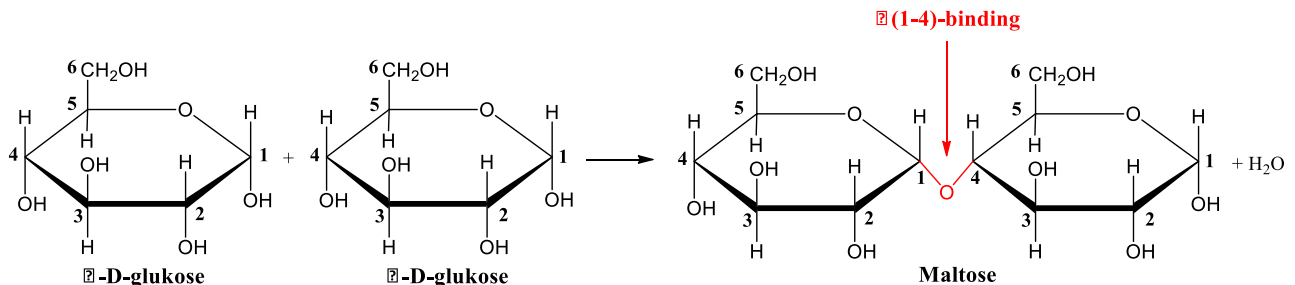
Opgaver:

1. Tegn de mulige produkter for fruktoses ringslutning (se kædestruktur på forrige side).
2. Hvorfor er oxo-gruppens C-atom 'elektronfattigt'?
3. Overvej ringslutningens betydning for monosaccharidernes kemiske egenskaber.

Disaccharider

Disaccharider består af to monosaccharid-enheder, som er bundet sammen af en etherbinding, der også kaldes en glycosid-binding, når det involverer saccharider. Etherbindingen sidder som regel mellem C1 på det ene monosaccharid og enten C2, C4 eller C6 på det andet monosaccharid.

I forhold til ølbrygning er maltose det mest interessante disaccharid. I maltose er to α -D-glukose-enheder bundet sammen mellem C1 og C4. Reaktionen hvor to saccharider bindes sammen er en kondensations-reaktion, og der fraspaltes et vandmolekyle.

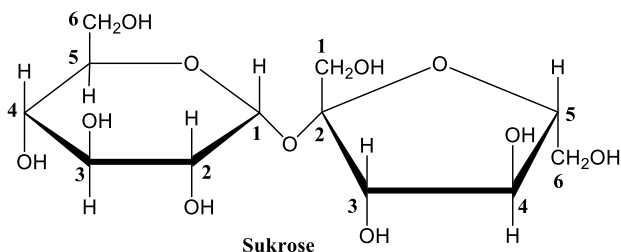


Dannelse af maltose i en kondensationsreaktion mellem to α -D-glukose-molekyler

glycosidbindingen mellem saccharid-enhederne kan brydes ved en hydrolyse (reaktion med vand). Reaktionen er i princippet præcis det modsatte af kondensationsreaktionen mellem de to glukosemolekyler ovenfor.

I praksis foregår både kondensation og hydrolyse af saccharider ret langsomt, men reaktionshastigheden kan forøges på forskellig vis. I biologiske systemer vil reaktionerne være katalyseret af enzymer – dette er også tilfældet under mæskning.

Et andet velkendt disaccharid er sucrose - også kaldet saccharose. I dagligdagen kender vi sukrose som almindeligt bordsukker. Sucrose består af en glukose-enhed og en fruktose-enhed bundet sammen af en α (1-2)-binding.



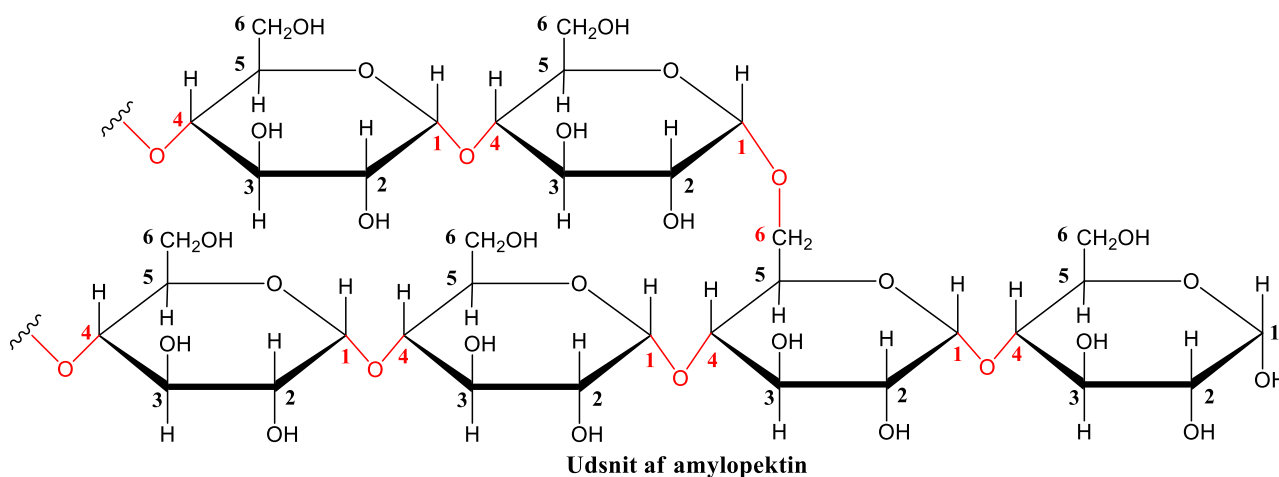
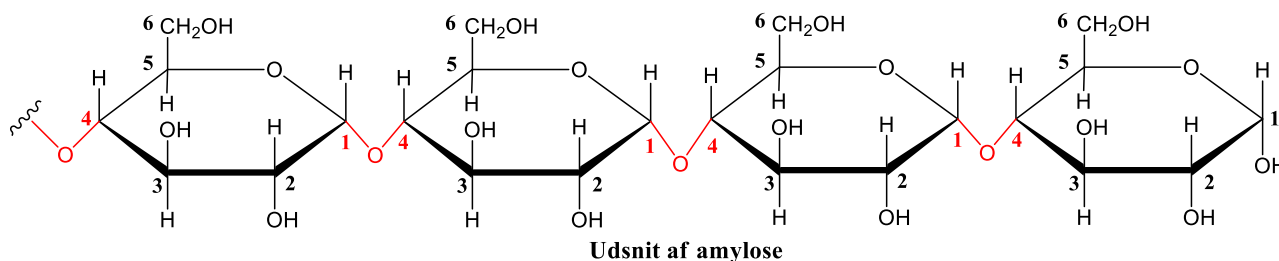
Bemærk at fruktose-enheden har ringsluttet til en 5-ring (jf. opgaven på forrige side), selv om der er 6 carbonatomer.

Polysaccharider

Carbohydrater med mere end to monosaccharid-enheder kaldes polysaccharider. Et velkendt eksempel er stivelse, der fx findes kartofler og kornprodukter, herunder byg. Det er som tidligere nævnt netop stivelse, som i brygningens mæskeproces skal omdannes til forgærbare sukkerstoffer – primært maltose.

Stivelse består af de to polysaccharider amylose og amylopektin, der begge er opbygget af lange kæder glukose-enheder. Amylose har udelukkende $\alpha(1-4)$ -bindinger og er dermed uforgrenet. Typisk har ét amylosemolekyle fra nogle hundrede op til et par tusinde glucose-enheder.

Amylopektin er derimod forgrenet. Der er hovedsagligt $\alpha(1-4)$ -bindinger men desuden omtrent én $\alpha(1-6)$ -forgrening pr. 25 glucose-enheder. Amylopektin-molekylerne er som regel meget større en amylose med op til hundredetusinde glucose-enheder pr. molekyle.



Under mæskningen i bryggeprocessen hydrolyseres amylose og amylopektin, og i sidste ende dannes hovedsageligt maltose.

Der dannes imidlertid også korte polysaccharider, dextriner (eller grænse-dextriner)³, som kun i mindre grad kan forgæres. Det mest fremtrædende dextrin-produkt fra mæskningen er

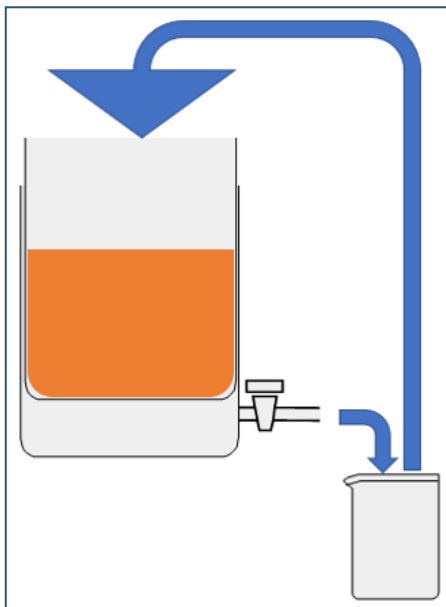
³ Kært barn har mange navne. Saccharider med 2-10 ens monosaccharid-enheder kaldes ofte for oligosaccharider.

maltotriose, men der dannes også lidt længere dextriner med både med $\alpha(1-4)$ og $\alpha(1-6)$ -glycosidbindinger.

Filtrering og eftergydning

Efter mæskningen skal kornresterne separeres fra urten (væsken) - det sker ved en simpel filtrering. Samtidig vil de fleste bryggere også forsøge at få mest muligt af de dannede sukre med videre i processen, og derfor eftergyder (skyller) man ofte med en hel del vand efter selve filtreringen. Hvis man søger i engelsk (eller tysk) litteratur kaldes de to processer for henholdsvis lautering og sparging.

Filtreringen foretages nemmest ved at anvende en beholder (spand eller gryde) med en indbygget taphane samt en falsk bund, hvorpå et filter placeres. Filteret skal være forholdsvis robust, da det jo skal kunne hold til filtrering af mange liter væske. Man kan relativt nemt bygge et filtersystem selv - fx en tilpasset stålsigte eller to fødevarer-spande oveni hinanden med borede huller i den øverste ($\varnothing = 1-1,5$ mm) - men ellers kan der i mange håndbryggerbutikker indkøbes filterspande eller mæskegryder med indbygget taphane, falskbund og filter.



Selv om man kun anvender valset eller knust malt, hvor de fleste kerner kun er knækket 2-3 gange, vil der stadig være mange meget små kornpartikler i urten. Derfor er må man som regel filtrere flere gange, hvis øllet skal ende med at blive bare nogenlunde klart. Dette gøres ved at opsamle den filtrede urt og recirkulere den indtil størstedelen af

kornpartiklerne er væk (se figuren). På denne måde kommer den frafiltrerede malt til at fungere som et ekstra tykt filterlag ovenpå selve filteret. Det er derfor vigtigt, at malten ikke er kværnet

Polysaccharider

Opgaver:

1. Tegn strukturformlen for maltotriose
2. Tegn reaktionen for hydrolysen af det viste udsnit af amylose, hvor der fraspaltes maltose.
3. Tegn strukturformlen for et dextrin med fire glucose-enheder og en $\alpha(1-6)$ -forgrening

eller valset alt for fint, da dette kan medføre meget lav permeabilitet og i værste fald tilstopning.

Undervejs kan det være nødvendigt at opvarme noget af den filtrerede urt. Den optimale temperatur for størst mulig sukkerekstraktion og flow er de samme ca. 75 °C fra udmæskningen (mash-out). Temperaturen må ikke være højere end dette, da det kan øge risikoen for ekstraktion af bl.a. tannin fra malten.

Når urten er tilfredsstillende klar påbegyndes opsamling i kogekedlen, og eftergydningen kan startes. Igen er det vigtigt, at temperaturen er ca. 75 °C, og hvis man planlægger at anvende en større mængde eftergydningsvand bør pH-værdien justeres ned til 5-6 (benyt fx citronsyre eller mælkesyre - se tidligere afsnit om pH-justering i mæskningen).

Eftergydningsvandet tilsættes blot oveni filteret på samme måde som ved recirkuleringen. Mængden af eftergydningsvand kan tilpasses det ønskede volumen i den efterfølgende kogning, eller justeres efter sukkerekstraktionen. Da sukkerindholdet i urten vil hæve densiteten, kan man ved løbende at måle densiteten eller brix-tallet ved udløbet fra filteret vurdere, om det er nødvendigt at tilsætte yderligere vand. Når målingen ved udløbet er under 1.010 g/mL (ca. 2,5 °Bx eller 2,5 % sukker - husk nedkøling til 20 °C), er sukkerindholdet så lavt, at der næppe er grund til at fortsætte. En tommelfingerregel er at anvende 1,5 gange så meget vand i eftergydningen som i mæskningen, men i praksis vil man ofte benytte mindre.

De fleste oplever at filtrering og eftergydning tit er noget mere langsommelig end beregnet - det gælder især, hvis man brygger relativt store portioner, hvis malten er valset for fint, eller hvis man er for perfektionistisk ift. den ønskede klarhed. Vær opmærksom på, at en hel del mindre partikler bundfældes senere i bryggeprocessen, så det er ikke nødvendigt at urten på dette tidspunkt er fuldstændig glasklar.

Urtkogning

Efter bortfiltreringen af maltresterne fra mæskningen skal urten koges. Hvis du brygger alene på maltekstrakt (og altså slet ikke benytter knust malt), er dette stedet, hvor du begynder bryggeprocessen.

Det anbefales normalt, at urten koges i 60-90 minutter, men kogetiden afhænger af flere faktorer. Formålet med kogningen er først og fremmest at sterilisere urten, så den ikke indeholder uønskede mikroorganismer. Den vigtige tilsætning af humle og visse andre ingredienser sker også under kogningen, og en langvarig kogning af urten har desuden stor betydning for det færdige øls klarhed og smag. Sidst, men ikke mindst, kan kogningen bruges til koge vand væk og dermed opkoncentrere urtens sukkerindhold. Især sidstnævnte kan være en årsag til, at man vælger at forlænge kogetiden ud over de 90 minutter.

Hvis du anvender malte ekstrakt i bryggeprocessen skal du tilsættes denne, når urten er på kogepunktet. Det samme gælder tilsætning af sukker/saccharider fra andre kilder, fx honning, kandis, almindeligt bordsukker osv. Men bemærk at sukkerkoncentrationen i urten kan påvirke ekstraktionen af smagsstoffer fra humlen, så nogle gange er det en fordel at vente til den sidste del af kogningen.

Dimethylsulfid, DMS

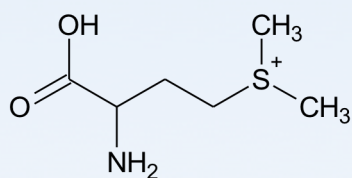
Stoffet dimethylsulfid (DMS) kan dannes ud fra aminosyren methionin, der helt naturligt findes i byg. DMS-dannelsen sker hovedsageligt i de processer, hvor malten opvarmes, fx ved kilning (i maltningsprocessen) samt under mæskning og kogning.

Smagen af DMS kan detekteres i koncentrationer ned til 30 µg/L, og det kan - hvis koncentrationen bliver for høj – give øllet en bismag og aroma af kogte grøntsager.

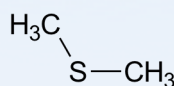
Heldigvis har DMS et lavt kogepunkt, og størstedelen af stoffet kan derfor fjernes ved langvarig kogning. Det kan anbefales at størstedelen af kogningen foregår uden låg så DMS kan undslippe. Når kogningen er færdig, er det vigtigt, at nedkølingen foregår hurtigt. Dannelsen af DMS kan nemlig fortsætte indtil urten er kølet tilstrækkelig langt ned.

Dannelse af dimethylsulfid

Aminosyren methionin kan i bygplanten omdannes til S-methylmethionin (SMM). Hvis der er vand til stede, vil SMM ved opvarmning blive hydrolyseret (reagere med vand). Herved fraspaltes dimethylsulfid (DMS). DMS koger ved 37 °C, og vil hurtigt fordampe under kogningen.



S-methylmethionin



Dimethylsulfid

Opgaver:

1. Tegn en strukturformel for methionin.
2. Giv en forklaring på navnet S-methylmethionin (SMM).
3. Hydrolysen af SMM er en 1. ordens reaktion, og halveringstiden ($T_{1/2}$) ved 100 °C er ca. 40 minutter. Beregn hastighedskonstanten (k) og angiv hastighedsudtrykket.
4. Hvor lang tid skal urten koge, hvis 80 % af det oprindelige SMM-indhold skal fjernes?

Protein-udfældning

I begyndelsen af urtkogningen vil man observere, at urten skummer op. Det minder om det man også ser, når man koger ris eller pasta. Når urten skummer op skyldes det især proteiner, som denaturerer og udfældes ved den høje temperatur. En god proteinkoagulering (udfældning) er ønskværdig, fordi det giver en klarere øl.

Humle

Tænk på en rigtig humlet IPA, hvor bitter den kan være. Det er et resultat af humlens indholdsstoffer. Humlens konserverende effekt har været kendt længe og blev af de britiske søfolk brug i India Pale Ale.

Humlen tilføjer flere vigtige ting til øllet:

- Bitterhed, som balancerer sødme og maltsmag.
- Aroma (duft), som giver en fornemmelse af friskhed og eventuelt en frugtig duft.
- Stabilitet. Humle har antibakterielle egenskaber, som stabiliserer øllet og forlænger holdbarheden.

Humle (*Humulus lupulus*) er en flerårig urteagtig slyngplante plante som tilhører Hampefamilien Cannabaceae, ligesom hamp eller cannabis som den også hedder. De kroge, der sidder på Humles stængler er yderst usædvanlige, da de har form som små isøkser. Den grønne overjordiske del visner væk hvert efterår, for i gen næste forår at vixse frem igen. Humleplanten kan blive op til 50 år gammel.

Den mest effektive beskyttelse mod selvbestøvning er den vi kender fra dyreverdenen, nemlig forekomsten af hun- og hanindivider. Denne metode er overraskende og forekommer yderst sjældent hos højere planter, hvor den grundlæggende struktur er klart er den tvekønnede blomst med støvblade og grifler sammen. Planter, som har helt adskilte hanindivider med støvblade og hunindivider med grifler kaldes diøciske. Det betyder at der udelukkende kan forekomme fremmedbestøvning idenfor diøciske arter, man kalder dette med et botanisk fagbegreb for særbo eller særkønnet.

Den særkønnet klatreplante kan blive op til 7-10 meter høj. Der findes to forskellige arter i de tempererede dele af den nordlige halvkugle. Almindelig humle (*Humulus lupulus*) er vildtvoksende i Europa Nordamerika. De er hurtigt voksende og breder sig ved hjælp af rodsrud.

Figur indsættes

Hun- og hanblomster findes på forskellige individer. Hunblomsterne er placeret i korte blomsterstande, som er kompliceret opbygget. Blomsterbladene og højblade er dækket af gule kirtler. Under frugtmodningen vokser nogle af højbladene kraftigt, og den modne blomsterstand minder mest af alt om en lille blød kogle kaldet "humleknap". De små gule kirtler udskiller en slags harpiks som indeholder smagsstoffer og forskellige alkaloider. De bitre smagsstoffer går ofte

under samlebetegnelsen lupulin. Humlen giver øllet bitre smag, fremmer skumudviklingen og virker antiseptisk på uønskede mikroorganismer som kan determinerer øllet. Det er såkaldte iso-alfa-syrere som, dannes ved kogningen ud fra alfa-syrener, virker som konserveringsmiddel og modvirker vækst af uønskede mikroorganismer, og samtidig påvirker de ikke væksten og formeringen af gær. Humle har tillige en beroligende effekt.

De flygtige aromastoffer i humlen er humulen og myrcen og deres oxidative produkter. Aromastofferne kan bibringe øllet mange forskellige aromaer fx citrus og krydderier, som porse, malurt og bynke. Da disse aromastoffer forsvinder under urtkogningen tilsættes humle og ved slutningen af brygproceesen, som såkaldt aromahumle. Under kogningen blander humlens bitterstoffer sig med den søde ølurt, og brygget får den karakteristiske friske og bitre smag.

Til ølbrygning anvendes udelukkende de ubestøvede humplanter blomster kaldet "humleknopper". De giver øllet dets karakteristiske bitre smag. Ud over at give øllet smag har humlens indholdsstoffer en desinficerende funktion, som har stor betydning for øllets holdbarhed. Indholdsstofferne i humle kan inddeles i æteriske olier, som giver smag og medgiver aroma, phenoler som har betydning for smag, farve, klarhed og skum. Og endelig de harpikagtige stoffer som giver den bitre smag. Visse humle sorter er rigere end andre på æteriske olier og benævnes aromahumle. Aromahumle kan få en øl til at blive parfumeret og dufte af appelsin, citrus, grape, chokolade osv.

Humlesorter

Den fineste, blomsterduftende sort er Saazer, fra omegnen af Zatec i Bøhmen, den anvendes til fremstilling af lagerøl af pilsnertypen. Fra Tyskland stammer den fine aromahumle, Hallertau Mittelfrüh, der dyrkes mellem München og Regensburg. Blandt sorter som foretrækkes for deres bitterstoffer findes Northern Brewer og den mere sødlige Brewers' Gold. Fuggles er blød og giver anelse i retning af anisfrø.

Krydderier og urter

I Norge og på Gotland har enebær og øl længe hængt sammen. Grene, kviste og enebær, puttes sammen med humle i gryden både for at give smag og som konserveringsmiddel. Det giver en øl som smager og dufter af malt og enebær. De gamle metoder og ingredienser er ikke glemt og har inden for de seneste 10-15 år i den grad fået renæssance i og med at mikro bryggerierne har set dagens lys.

Flere bryggerier anvender nu til dags enebær, pors og fx hyben i deres bryg. I Belgien har man et specielt ord for den type øl, nemlig kruideenbier – urteøl. Først for hen ved 50-60 år siden, holdt de britiske bryggerier op med at bruge ingefær og lakrids, adskillige mikrobryggerier har siden genoptaget brugen af den slags ingredienser. Lyngøl fra Scotland og alskens krydderier som stjerneanis, korianderfrø og appelsinskal sætter nu sit præg på øllet. På de seneste er kaffe, æble, blomme kommet til.

Bitterenheder

Måling af Humlens syreindhold er med til at bestemme bitterhed og tørhed. Ved at kombinere syreindhold med mængden af den anvendte humle, kan en brygger forudse øllets sandsynlige bitterhed ud fra en international skal. Der er udelukkende tale om bestemmelse af styrke. Bitterstyrken skal sammenholdes med øllets fylde og karakteren af malten. Jo mere fyldig øllet er, jo mere humle skal der til for at afbalancere sødmen fra malten.

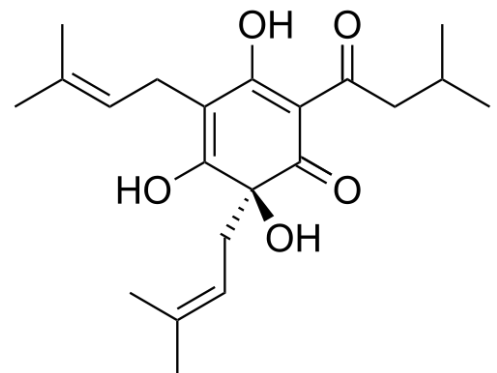
De mildeste øl har 10-15 bitterenheder (Bitter Units – BU). Omkring BU 35 kommer den behagelige karakteristiske humlesmag til syne og de mest humlede produkter kommer sjældent over 70 BU. Vores smagssanser kan skelne over 100 BU.

Inden for naturmedicin bruges humleekstrakt som et middel der er appetitvækkende, søvnfremmende og beroligende. De to sidste oplevelser forstærkes i kombination med virkningen af alkohol, bl.a. fordi alkoholen forstærker GABA-receptorernes indstrømning af klor-ioner, hvorved neuronerne bliver hyperpolariseret, og personen vil opleve afslappelse.

Kemien bag bitterheden

Den karakteristiske bitre smag i øl stammer som regel fra humle. I humle er der nemlig nogle stoffer kaldet alpha-syrer, herunder stoffet humulon.

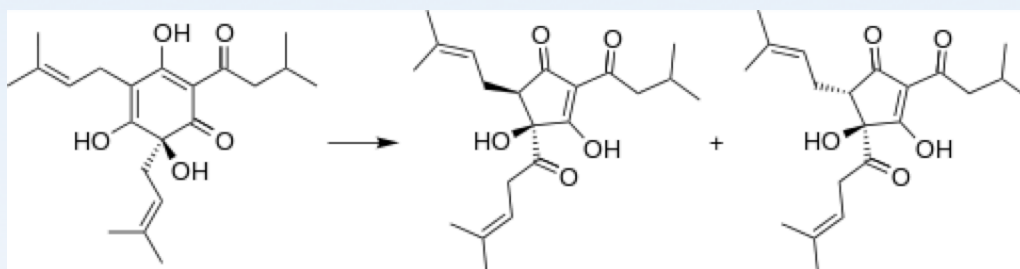
Humulon og de andre alpha-syrer har en bitter smag, men det er nødvendigt at koge humlen for at kunne ekstrahere (udtrække) dem. I deres naturlige form, er de nemlig ikke særligt opløselige i vand – og dermed heller ikke i øl-urten. Underkogningen sker der en såkaldt isomerisering af alpha-syrerne, og de omdannes til de mere opløselige *iso*-alpha-syrer.



Isomeriseringen og ekstraktionen tager tid, og derfor koges *bitter*-humlen oftest i 60 minutter, og urten må gerne spilkoge undervejs, så ekstraktionen bliver mere effektiv.

Isomerisering af humulon

Ved den høje temperatur under urtkogningen, omdannes S-humulon til cis- og trans-isohumulon. Reaktionsmekanismen er forholdsvis kompliceret, og det ses blandt andet, at en 6-ledet aromatisk ring omdannes til en 5-ledet alifatisk ring. Bemærk desuden at produkterne er stereoisomere og har ét kiralt center mere end udgangsstoffet.



Isomerisering af S-humulon til hhv. cis- og trans-isohumulon

By GolemXIV - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=23240798>

Opgaver:

1. Hvilke funktionelle grupper findes i humulon?
2. Markér det kirale center i humulon og vis, at det er en S-form.
3. Hvilke muligheder har humulon (tilsyneladende) for at danne hydrogenbindinger til kogevandet?
4. Foreslå en begrundelse for, hvorfor cis- og trans-isohumulon er *mere* vandopløselige end humulon.

Aroma

En stor del af aromaen fra humle stammer fra en lang række af forskellige olier og deres nedbrydningsprodukter. Indhold og koncentration af olierne – og dermed aromaen – varierer imellem forskellige humlesorter, men disse tre udgør oftest en væsentlig andel:

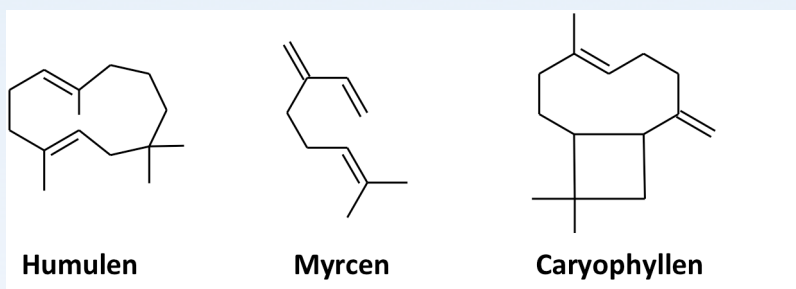
- Humulen (ikke at forveksle med alpha-syren humulon)
- Myrcen
- Caryophyllen

De her nævnte aroma-oier er alle upolære carbonhydrider (består udelukkende af carbon- og hydrogenatomer), som ikke opløses særlig nemt i urten. Til gengæld skal de ikke være til stede i særlig høje koncentrationer, før de kan duftes og smages. Oxiderede nedbrydningsprodukter af aromaolierne vil have en lidt højere opløselighed.

Som nævnt tilsættes humlen normalt af flere omgange i løbet af de sidste 60 minutter af kogningen. Hvis den koges med alt for længe, kan det blandt andet resultere i uønskede

Mange af aromaolierne er alkener

Her ses strukturerne af humulen, myrcen og caryophyllen. Disse tre aromaolier er alle alkener, og har faktisk mere end én C=C dobbeltbinding. Dobbeltbindingerne gør dem mere reaktive end de tilsvarende de alkaner, og der vil blandt andet ske oxidation i en hvis udstrækning. De oxiderede olier bidrager også til humlearomaen.



Opgaver:

1. Giv eksempler på reaktioner med C=C dobbeltbindinger.
2. Tilordn E/Z-isomeri til de af C=C dobbeltbindingerne i humulen, myrcen og caryophyllen, hvor det giver mening.
3. Der er ikke indtegnet stereoisomeri på strukturerne, men mindst ét af stofferne har et eller flere kirale centre. Find og marker disse.
4. Navngiv humulen og myrcen systematisk (IUPAC)

omdannelser af alpha-syrerne, der kan påvirke øllets smag i negativ retning. Hertil kommer, at en del af aroma-olierne og deres nedbrydningsprodukter er relativt flygtige (de har lave kogepunkter). Den humle, som skal give aroma, koges derfor kun med i de allersidste minutter. Hvis man ønsker meget kraftig aroma fra humlen, kan det være en idé at *tørhumle* i stedet – se afsnittet om tørhumling herunder.

Tørhumling

I visse øltyper ønskes en kraftig humlearoma men ikke altid tilsvarende bitterhed. Dette kan opnås ved tørhumling, hvor man tilsætter en del af humlen under fermenteringen (gæringen). Når humlen tilsættes ved lav temperatur isomeriserer de bitre alpha-syrer ikke, og dermed forbliver de uopløselige i øllet. Selv om aroma-olierne også har lav opløselighed i vand/øl, vil en lille del af dem

alligevel blive opløst. Ekstraktionen af aromaolierne kan forbedres ved at placere humlen i et rør (en torpedo), som øllet pumpes igennem i nogle dage. Det anbefales at tørhumling først påbegyndes, når fermenteringen er begyndt at aftage.

Gær: bryggerens vigtigste partner

Ølgær *Saccharomyces cerevisiae* er den vigtigste mikroorganisme i produktionen af øl. Udover råmaterialerne malt, humle og vand har ølgær stor indflydelse på kvaliteten af slutproduktet. Håndteringen af ølgæren under de forskellige faser i ølbrygning som f.eks. gæringsfasen og modningsprocesser skal således nøje overvejes og kontrolleres.

Gær som mikroorganisme

Gær er en encellet mikroorganisme, der kan opnå den nødvendige energi i form af ATP på to forskellige måder:

- i tilstedeværelse af ilt (aerob) ved respiration og
- i fravær af ilt (anaerob) ved fermentering/gæring

Under ølproduktionen ønskes at carbohydrater i urten fermenteres af gæren til alkohol og CO₂. Til dette formål anvendes overordnet to typer af gærsvampe i bryggeriet. *Saccharomyces cerevisiae* til overgærede øl og *Saccharomyces carlsbergensis* til undergærede øl.

Udvalgte stammer af disse gærtyper er systematisk isoleret og dyrket som renkultur af forskellige bryggerier.

Andre stammer af *Saccharomyces cerevisiae* anvendes af bagere eller af destillerier. Til vinproduktion anvendes typisk gæren *Saccharomyces ellipsoideus*.

Gæren producerer ikke kun alkohol, men har også som et resultat af dets metabolisme, en stor indflydelse på smagen og karakteren af øl. En viden om gærens stofskifte og metabolisme samt en forståelse af deres vækst er således vigtig. Der er en række karakteristiske forskelle mellem forskellige gærtyper og forskellige stammer af gærkultur.

Gærstammer

Der anvendes mange forskellige gærkulturer og gærstammer i forskellige gærings- og drikkevareindustrier.

Her skal man huske på, at en stamme, der er en ønsket gærkultur i én sektor, samtidig kan være meget farlig og en frygtet forurenende kilde i et andet gæringsprodukt.

Udvælgelsen og udviklingen af de forskellige kulturer af gærstammer har op til det nittende århundrede været sket ved naturlig udvælgelse. I slutningen af det 19. århundrede udviklede Emil Christian Hansen en ny grundlæggende metode til rendyrkning og opformering af én stamme ud fra en enkelt celle. En absolut forudsætning for en effektiv udvælgelse baseret på rendyrkning.

Metoden grundlagt af Emil Christian Hansen er op i gennem det tyvende århundrede således blevet forfinet hvor man via krydsning og rendyrkning af gærstammer med ønskede mutationer har få udviklet nye og højtydende gærstammer. I processen med at udvælge den eller de mest egnede gærstamme, har man ud fra de forskellige formål og produktionskravet i de enkelte gæringsindustrier, fastsat forskellige mål for den enkelte gærstamme:

- Høj eller lav gæring (udnyttelse af maltotriose)
- Høj fokus på selve gæring eller på hurtig vækst af gæren.
- Pulverformige eller kraftigt sedimenterende gær
- Reduktion af følsomheden over for temperatur
- Øget ethanol-tolerance (vigtigt for produktionen af ethanol, vin og stærke øl)
- Udnyttelse af raffinose (vigtigt i anvendelse af rørsukkersirup)
- Øget osmotolerance (vigtigt for bagergær i tilfælde af dejen er rig på f.eks. sukker)

I slutningen af det tyvende århundrede er sekvensen for alle bestanddelene i gærgenomet blevet fuldstændig kortlagt. Dette gør det i dag muligt at opdrætte gærstammer med helt nye egenskaber, både gennem genetiske modifikationer af genotypen inden for gærceller og ved indførelse af fremmede gensekvenser til gærcellens genom.

Tabel 1 Forskelle mellem top og bund gærende bryggeri gær.⁴

Kvalitetskriterium	Undergær	Overgær
Dannelse af budding (skal forklares) klynger i fermenteringssubstratet og agglutineringskapacitet (nedbrydning af carbonhydrat)	løse budding klynger af få celler, svag agglutination kapacitet	Ved udgangen af gæring former budding klynger af 8 ... 10 celler; ingen agglutination kapacitet
Temperatur følsomhed	De formerer og gærer meget godt også ved lave temperaturer	Følsom over for gæring temperaturer <10 grader celsius, sædvanligvis gærer bedst i temperaturområdet 12 ... 25 grader celsius og agglutinerer ved lave temperaturer
Dannelse af biprodukter ved gæring	Buketten af undergæret øl er normalt meget mindre frugtagtig og aromatisk	Tydeligt mere udtalt dannelse af biprodukter (højere alkoholer, nogle estere, flygtige phenoler og svovlforbindelser)
Udnyttelse af raffinose	den udnytter raffinose helt, og	det mangler enzymet a-

⁴ Prof. Dr. Sc. Techn. Et al. "The Yeast in the Brewery" (2011) VLB Berlin

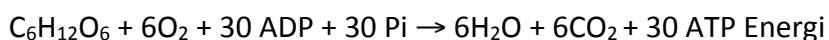
	har den enzymer beta-h-fructosidase (invertase) a-galactosidase (Melibiase)	galactosidase og er i stand til at udnytte raffinose kun (sprog) til en tredjedel og ude af stand til at udnytte melibiose
respiration aktivitet i glucosefattige (0,3%) substrater	meget svag respiration aktivitet	Stærkere respiration aktivitet
SO ₂ -dannelse	danner større mængder af S-forbindelser: SO ₂ > 4 mg/l	Danner mindre mængder af S-forbindelser: SO ₂ < 2 mg/l

Gæring og teknologiske forskelle

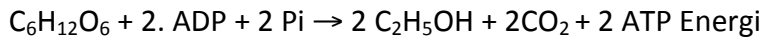
Navnene på overgær og undergær til brygning er afledt af deres karakteristiske udseende under gæringsprocessen. Overgærende gær stige til overfladen under gæringen; hvor undergærende gær synker til bunden i slutningen af gæringen. Overgærende gær bundfældes også i slutningen af gæring, men meget senere end undergærende gærstammer. De findes således ved afslutningen af den primære gæring stadig i toppen og kan her høstes. Naturligvis under forudsætning af at der anvendes åbne gæringskar. En anden væsentlig egenskab ved undergærende gær vedrører deres forskellige kolonidannende adfærd. Undergærende gær er derfor opdelt i pulverformende (eller enkelt gærcellen dannende) og kolonidannende gær. I tilfælde af pulverformige gær, forbliver cellerne meget findelt i fermenteringsmediet og synker langsomt til bunden først ved slutningen af fermenteringen. Cellerne i kolonidannende gær klump sammen efter kort tid, og danner store kolonier, og vil derefter hurtigt bundfældes. Fluktueringen hos gær er genetisk bestemt. Overgærende gær danner således ikke kolonier. Det fluktuerende evne hos gær har stor praktisk betydning. Fluktuerende gær producerer en klar, men mindre fuldt fermenteret øl, mens pulverformige gær og overgærende gær producerer en uklar øl med en højere grad af udnyttelse. Over og undergærende gær varierer også med hensyn til gæringstemperatur. Hvor gæring med undergærende gær typisk udføres mellem 4 til 12 grader celsius, anvendes der ved overgærende gær typisk temperaturer mellem 14 -25 grader celsius. Temperaturstyringen er således vigtig og fastsættes af bryggeren alt efter hvilken gærstamme og heraf øltype der produceres.

Gærcellens metabolisme

For at gærcellen kan udføre de nødvendige metaboliske processer, er det for gærcellen som for enhver anden heterotrof celle nødvendigt at få tilført energi i form af ATP. Gærcellen er således som alle andre levende organismer afhængige af at kunne lave respiration. Gærcellen kan ved respiration af f.eks. sukker (sukrose) nedbryde det fuldstændigt til CO₂ og H₂O og energi i form af ATP.



Ved tilstedeværelse af glucose, er gær en af de eneste levende organisme, der kan foretage alkoholgæring. I dette tilfælde vil glucose omdannes til alkohol (ethanol) og CO₂:



Den producerede alkohol indeholder stadig en masse kemisk energi, så energien som gærcellen får under fermentering/gæring er uforholdsmæssigt mindre, end den er i respiration.

Den fuldstændige nedbrydning af glucose til alkohol, eller i tilfælde respiration, til CO_2 og H_2O er resultatet af mange reaktionstrin efter hinanden. Hvert reaktionstrin i reaktionen katalyseres af et bestemt enzym. Fx indgår de to n-holdige aminosyrer valin og leucin i en række enzymatiske processer hvorved de to højere alkohols – isobutylalkohol og isoamylalkohol – produceres. Disse to højere alkohols er tilstrækkelig hydrofobe således at de kan passere plasmamembranen uden hjælp fra permease.

Figur indsættes

I gærcellen er disse enzymer bundet i definerede strukturer i cellen. Således er enzymerne i glykolysen og alkohol gæring placeret i cytoplasmaet, mens respiration sker via enzymer i mitokondrierne. De organiske stoffer, glucose, valin og leucin, der er nødvendige for respiration og fermentering optages af integrerede membranproteiner fx specifikke transportproteiner, som findes i gærcellens cellevæg og transporteres på den måde gennem cellemembranen. Gærcellen kan kun optage stoffer, som passer til dens specifikke transportproteiner. Dette afhænger igen af hvilke enzymer gærcellen er i stand til at producere og herigennem nedbryde substratet til de ønskede produkter som herved kan transporteres over cellemembranen, ind i cellen.

Carbohydratmetabolismen tjener primært til at danne energi gennem respiration og gæring, da kun en meget lille del af det carbohydrate, der findes i urten vil blive oplagret som en reserve i form af glycogen og trehalose.

Gærcellens andre stofomsætninger som nitrogenmetabolisme, fedtstofskiftet og metabolisme af andre uorganisk stof, tjener primært til at opretholde cellen eller til formering ved celledeling. Disse processer spiller dog også via deres produktion samt nedbrydningsprocesser en vigtig rolle for øllets karakter.

Glycerin dannes også og lagres af gær. Glycerin er et intercellulært, osmotisk aktivt stof, som opretholder funktionen af enzymerne selv i tilfælde af lav vandaktivitet. Gærcellens dannelse af glycerol stiger således i takt med stamurtens koncentration.

Gær reproduktion og vækst

Gær reproducerer sig normalt ved knopskydning. Det er derfor, de er også kendt som knopskydende svampe. Under knopskydning, ses en smal boble-lignende fremspring fra modercellen. Denne udposning indeholder del af det nye cytoplasma samt en "datterkerne", som er dannet ved en mitosedeling. Ved afsnøring af modercellen dannes der en komplet dattercelle. I nogle gærstammer vil moder- og datterceller som et resultat af knopskydning fuldstændigt adskilles fra hinanden hvorved der forbliver et ar på modercelle. Gamle gærceller kan have op til

20 knoppar. I tilfælde af overgærende gærstammer, forbliver cellerne forbundet til hinanden og danner knopkolonier.

Når mikroorganismer overføres til frisk næringsstofopløsning, som det er tilfældet, når gæren overføres til en frisk urt i brygningsprocessen, vil de således gennemgå denne vækst og efterfølgende formere sig via knopskydning. Koncentration af gær bør være omkring $10 \cdot 10^6$ celler/ml i urten.

Væksten kan opdeles i seks faser.

Figur indsættes

Figur indsættes

Latent eller induktionsfase

I den latente fase, også kaldet induktion eller lag fase, sker der en aktivering af stofskiftet. Længden af induktionsfasen varierer meget. det afhænger af gærtype, alder af kulturen og dyrkningsbetingelserne. Den latente eller lag-fase slutter med den første celledeling. Afslutningen af lagfasen kendes på øllet ved at der ses et skummende lag på toppen af øllet.

Lagfasen kan bruges som mål for hvilken sundhed og vitalitet gæren er i. Jo kortere jo bedre. Selv om det er en god indikator, er en kort lagfase desværre ikke en garanti for en eksemplarisk gæring og heraf en fremragende øl. Det siger intet om den samlede mængde af næringsstoffer i urten, eller hvordan resten af gæringen vil fremskridt. Gæringen kan også vise sig at slutte hurtigt, selv om den i virkeligheden ikke super effektiv, men snarere blot er ufuldstændig. Pointen er, at hastigheden alene ikke nødvendigvis kan korreleres med kvalitet. Man skal forstå gæringsprocessen i detaljer, og hvordan den påvirkes af ydre faktorer, før man kan bedømme kvaliteten udelukkende på tiden.

Accelerationsfase

I accelerationsfasen, der følger efter den latente fase, forøges delingen kontinuerligt

Eksponentielle fase

I den eksponentielle eller logaritmiske vækstfase, forkortet til at logge fase, er vækstraten konstant og maksimal. Generationstiden eller med andre ord den periode, hvor cellens antal fordobles, er minimal i denne fase. Gæren er på sit mest vitale niveau i denne fase.

Deceleration fase

På grund af forskellige faktorer, f.eks. reduktion i mængden af næringsstoffer eller en stigning i mængden af væksthæmmende metaboliske produkter, opstår logfasen i en begrænset tid. Den efterfølges af decelerationen eller retardering fasen, hvor vækstraten gradvist aftager. Gæren vil nu i stigende grad udskille enzymet proteinase A, som har en negativ virkning på skumbevarelse.

Stationær fase

I den følgende stationære fase forbliver antallet af celler konstant. Der er en balance mellem antallet af nyligt dannede celler og cellerne, der dør. I slutningen af denne fase vil mange af gærcellerne være i dvale, men flere er stadig aktive. Det er også i denne fase at størstedelen af sukkerstoffer i urten er blevet omdannet til alkohol. I de tidligere første faser, har gæren produceret mange forskellige organiske- og uorganiske forbindelser udover ethanol og CO₂ (f.eks. acetaldehyd, estere, aminosyrer, ketoner, dimethylsulfid, etc.), når den nemme "mad" nu er væk, begynder gæren at genanvende disse biprodukter. Diacetyl og pentandion er to diketoner, der har smøragtig og honning lignende aroma. Disse forbindelser anses for fejl når de findes i store mængder og kan forårsage smagsstabilitetsproblemer under opbevaring. Acetaldehyd er et aldehyd, der har en udtalt lugt og smag af grønne æbler. Det er et mellemprodukt til fremstilling af ethanol. Gæren reducerer disse forbindelser i de sene stadier af gæringen. Gæren producerer udover ethanol også en bred vifte af fusel alkoholer under den primære gæring. Fusels er højere molekylvægt alkoholer, der ofte giver øllet en barsk smag og aroma som opløsningsmiddel. Under denne såkaldte sekundær gæring, vil gæren konvertere nogle af disse alkoholer til mere behagelige, frugtagtige estere. Højere temperaturer fremmer denne ester produktion.

FAKTABOKS

Konklusioner til styring fermentering

- Indholdet af diacetyl (2,3-butandion og 2,3-pentandion, tilsammen total diacetyl) kan anses som kriterium for at bedømme statussen for modningen af øllet. Hvis tiden til gæring og især modning ønskes forkortet er det især vigtigt at styre indholdet af diacetyl til et minimum.
- Der skal være en hurtig omdannelse af 2-aceto-lactat til frugtagtige estere. Dette er hjulpet ved hurtig gæring til næsten slutgæring og samtidig lav pH. Endvidere bør det "forurening" med ilt holdes til et minimum. Til slut kan der anvendes højere temperaturer under modning af øllet eller mod slutningen af gæringen (F.eks. ved undergærende øl kan modningen ske ved temperature op til 18 grader celsius)
- Aktive og gærceller med høj metabolisme er essentielle i modningsfasen. Gæren bør forhindres i at bundfælde, da det er vigtigt at have tilstrækkelig høj koncentration af meget aktive gærceller i øllet.
- Holde pH lav i urten (5,2) hvilket øger omdannelsen af diacetyl.
- Det totale diacetyl-indhold bør ikke overstige 0,1 mg/l

Figur indsættes

Faldende fase

I denne sidste fase øges hastigheden af celledød, fordi næringsindholdet er opbrugt, samt at den dannede alkohol og CO₂ virker som en gift for gæren samtidig med at cellen "udtrættes".

Proteinase A frigives i stigende grad til øllet, og gæren begynder at gennemgå autolyse (spontan

celledød). Det er nu på høje tid at høste gær og adskille den fra øllet for at forhindre yderligere skader.

Varigheden og intensiteten af de enkelte vækstfaser påvirkes primært af substratet, temperaturen og den fysiologiske tilstand af gæren. Urten skal indeholde alle de næringsstoffer, der kræves for vækst. Vandindhold, pH-værdi og oxygen koncentration af substratet er også afgørende for væksten. Vand er den vigtigste komponent i levende materiale, og det spiller en overordentlig vigtig rolle i livsprocesser hos mikroorganismer. Generelt er mikroorganismer kun i stand til at udvikle sig i substrater, der indeholder mindst et vandindhold på 15%. Mikroorganismer afviger væsentligt fra hinanden med hensyn til deres optimale pH-værdi, hvor gær f.eks. fortrinsvis vokse bedst ved sure pH-værdier. Betydningen af ilt for gær vækst er allerede blevet nævnt. I bryggerier fremmes gærvækst ved at gennemlufte urten før pitching.

Temperaturen har også en stor virkning på væksten af mikroorganismer. Hver mikroorganisme har sin egen karakteristiske udvikling og temperaturoptimum hvor lagfasen og generationstid er kortest. Imidlertid er vækst ikke altid begrænset til en optimale temperatur, men kan forekomme over et mere eller mindre bredt temperaturområde. Gærtyper af slægten *Saccharomyces* kan normalt fungere op til temperaturer omkring 40 grader celsius, hvor den optimale væksttemperatur for undergærende gærstammer er ca. 27-30 grader celsius og 30-35 grader celsius for overgærende gærstammer. Disse er temperaturerne har ikke praktisk relevans.

Gærcellens alder og ernæringsmæssige tilstand - er de væsentligste faktorer for varigheden af lagfasen. En meget hurtig aktivering af gærcellens metabolisme opnås bedst ved at gærceller i den eksponentielle vækstfase overføres til frisk substrat. I forhold til brygning betyder dette, at en hurtig start på en gæring bedst opnås med gær, der tages på tidspunktet hvor hovedgæringen er i den eksponentielle fase og overføres direkte til urt uden mellemlagring.

Proteinase A er en protease, som har stor betydning for skumstabiliteten i øllet.

FAKTABOKS

Proteinase A er en protease med ganske betydelige virkninger set ud fra kvaliteten af det færdige øl. Det findes også i vakuolerne i gærcellerne og er blevet beskrevet f.eks. af Stamm, M "Einfluss von Hefeproteinase auf den Bierschaum", Handbuch zum 34. Technol. Seminar Weihenstephan 2001 s. 23/1-23/3 og Hiedl, M. Et al. "Der Einfluss von Hefe-Proteinase A auf die Schaumstabilität von Bier"; Proceedings of the second Yeast symposium Weihenstephan, 15./16.06.2004

- Protease A deltager i den intracellulære metabolisme i vakuolen i gærcellen, hvor det er ansvarligt for aktivering, inaktivering og modificerende enzymer.
- Genet PEP4 (ved vi mere om genet) koder for proteinase A.
- Endvidere spiller protease A en vigtig rolle for proteolysen af vegetative proteiner (skal forklares) i cellens vakuolen, når der ikke er nok nitrogen indeholdende næringsstoffer tilstede i fermenteringsvæsken og der derfor kræves aminosyrer.

- Det udskilles i øl under gæring og modning, hvis levende celler underkastes stressbetingelser (osmotisk tryk, store alkoholdindhold, mekanisk belastning, temperatur stress, manglende eller utilstrækkelige næringsstofforsyning)
- Proteinase A udskilles især i øllet i større mængder ved døde og autolyseret gærceller.
- Det er termostabil up til 45 grader celcius.

Proteinase A forringende indvirkning på skummet kommer især til udtryk:

- Når øllet ikke pasteuriseres
- Når øllet opbevares ved for høje temperature.
- Når fjernelsen af gæren efter bundfældelse efter gæring og modning, dvs. før den kolde opbevaring, er utilstrækkelig eller forsinket
- Når behandlingen af gæren er dårlig (temperaturchok og andre stressfaktorer)
- For høj densitet i urten.

Faktorer som har betydning for en god fermentering.

Gærfaktorer

Gæren kan opformeres via en såkaldt gærstarter, eller kan høstes fra tidligere gæringer. Når gær høstes fra en tidligere gæring bør det høstes fra den tidlige skummedannelse. Denne fase kan kendes ved dens cremet og luftige konsistens. Denne gær vil have de optimale karakteristika som skal til for en succesfuld opformering. Gæren kan med fordel opformeres i en velgennemluftet starterurt før brygning. Sund gær, som anvendes fra en starterkultur eller fra en nylig en tidligere gæring vil have god vitalitet, og vil let tilpasse sig den nye urt. Med et samtidig godt niveau af iltning og næringsstoffer, vil gæren hurtigt formere sig til det antal, der er nødvendige for en eksemplarisk gæring. Gær omdanner sukkerarter numerisk begyndende med monosaccharider (og disaccharidet saccharose) inden gæringens vigtigste urt bestanddel maltose, og endelig slutterende med trisaccharidet maltotriose.

Figur indsættes

Figur indsættes

Figur indsættes

Figur indsættes

Urt faktorer

To grundlæggende betingelser er nødvendige for at sikre, at urten er blevet ordentligt forberedt til at fungere som en god næring for gæren. Den første er oxygen tilført via gennemluftning. Den anden overvejelse er niveauet af aminosyre i urten, specifikt omtales disse som frie aminosyre eller FAN. Maltet byg leverer normalt alt den FAN og de næringsstoffer, som gæren har brug for at vokse og tilpasse sig gæringsmiljøet. Mangel på FAN er typisk ikke et problem hvis man kun

anvender malt i sin urt. Men hvis opskriften består af store mængder af f.eks. majs, ris, umaltet hvede, umaltet byg, honning eller raffinerede sukker, er der risiko for at urten ikke indeholde den mængde næringsstoffer, der skal til for at gærcellene kan formere sig og danne nye "stærke" (funktionsdygtige) celler. Opskrifter på lyse øltyper indeholder somme tider store mængder af majssukker, og her vil det være en god ide, at tilsætte gærnæring i form af gærekstrakt til urten.

TABEL 74 s203 TY Nedbrydelige carbon kilder

Temperatur faktorer

Den tredje faktor som har betydning for at opnå en god gæring er temperatur. Alt fra for lave temperature hvor gæren går i dvale til for høje temperature hvor gæren producerer store mængder af biprodukter, der i værste fald kan ødelægge smagen i øllet. F.eks. vil høje temperature medføre en forhøjet produktion af diacetyl.

Endvidere er den primære fermentering en eksoterm proces. Den indre temperatur i fermentoren kan være helt op til 12 grader celsius over rumtemperaturen, hvilket kun er på grund af gæraktivitet. Alene af den grund giver det god mening at gæringen foregår i kontrollerede omgivelser hvor temperaturen ikke svinger for meget og hverken er for kold eller varm. Så hvis man brygger midt om sommeren er der risiko for at øllet ikke ender ud som ønsket.

Umoden æble smagsoplevelser som stammer fra acetaldehyd, og smøragtig smag fra diacetyl, kan renses op af efterbehandling via f.eks. lagring, men andre kan ikke. Høje temperaturer fremme produktionen af fusel alkoholer - tungere alkoholer, der kan have barske, opløsningsmiddellignende aromaer. Høj gæringstemperatur kan også give et overskud af estere, hvilket resulterer i banan- eller Huba buba -aromatiseret øl. Når disse varianter først er dannet, kan de ikke reduceres ved efterbehandling.

Bestemmelse af alkohol vol%

Hvor meget alkohol vil der være i mit øl? Dette er et generelt og ofte stillet spørgsmål. Der findes et utal af forskellige laboratorietests til at bestemme den præcise alkohol vol%. Hvor den mest traditionelle metode er lave en destillering af en prøve af det færdige øl. Man kan også beregne en ca. slut vol% ud fra hvor meget carbohydrat der er omsat under gæringen. Dette kan gøres ved at bestemme faldet i sukkerindholdet ud fra faldet i urtens densitet. Densiteten bestemmes f.eks. ved hjælp af et hydrometer/oechelvægt eller refraktometer. Start densiteten benævnes ofte som "Original Gravity" (OG) og slut densiteten som Final Gravity (FG). Ved måling før og efter gæring kan vol% beregnes ud fra følgende formel: $OG - FG / 7,4 = vol\%$

Lagring, modning og 'aldring'

Når øllet er færdiggæret og kommet på enten flaske eller fustage, skal det lagre en periode. Hvor lang tid afhænger af flere faktorer. Først og fremmest skal det sukker, der tilsættes ved

flaskningen, fermenteres, så der dannes CO₂ i flasken (medmindre du har udstyr til at tvangscarbonere, men det er en helt anden snak). Dette skal foregå ved samme temperatur som den primære fermentering, da gæren jo skal være aktiv igen. Ved lave gæringstemperaturer (undergær) vil det typisk tage 1-2 uger mens det går noget hurtigere ved de højere gæringstemperaturer for overgær.

Efterfølgende kan man lade øllet lagre ved stuetemperatur nogle dage mere for at fjerne rester af diacetyl (2,3-butandion og 2,3-pentandion), hvis der skulle være noget tilbage efter den primære fermentering.

Den dannede CO₂ kan tage lidt tid om at blive opløst i øllet, og der kan desuden opløses mere ved lav temperatur end ved høj. Derfor kan man med fordel stille øllen køligt i nogle dage inden den skal drikkes. Men i princippet er øllen på dette tidspunkt – efter et par ugers lagring – klar til at blive knappet op igen.

Mange øl – især de lidt mere komplekse typer – har gavn af en længere lagringsperiode, fx 1-3 måneder eller nogle gange længere. Så længe der stadig er levende gær i flasken, vil der være en lille smule aktivitet, selvom der ikke er mere fermenterbart sukker tilbage i øllet. Dette er med til at 'modne' øllen og kan give en mere velbalanceret smag og aroma.

Hvor længe kan man så gemme øllen, og hvordan skal den opbevares? Det første spørgsmål er svært at besvare, så vi begynder med det andet. Øl kan ikke tåle lys og for meget varme. Energien i UV- og synligt lys fra solen kan spalte iso- α -syre fra humlen. Produkterne fra denne spaltning kan reagere med svovlforbindelser (fx fra aminosyrerne cystein og methionin) og danne ildelugtende thiole. Derfor bør ølflasker aldrig være klare men allerhelst brune eller til nød grønne. De brune flasker er dem, der bedst absorberer det synlige lys fra solen. Lyspåvirkningen kan naturligvis helt undgås ved opbevaring i aluminiumsdåser eller fustage. Årsagen til, at man skal undgå unødigt opvarmning af øllet, er, at det vil accelerere de 'aldringsprocesser', der foregår i øllet. Disse processer knytter sig til det første spørgsmål – nemlig hvor lang tid øllet kan holde sig.

Nogle forhandlere af ølgær anslår, at hjemmebrygget øl kan holde sig indtil ca. 3 måneder efter gærens 'holdbarhedsdato'. Men man kan minimere de smags- og lugt-gener, der opstår som følge af død og selvnedbrydende (autolyserende) gær giver ved at opbevare øllet køligt og sørge for at omstikke øllet til en ren gæringstank inden flaskningen (herved efterlades størstedelen af de døde gærceller på bunden af den oprindelige gærtank). Således kan øllet opbevares forholdsvis længe, men der vil ofte hen ad vejen opstå nogle utilsigtede smagsændringer, som skyldes oxidationsprocesser.

Når øllet flaskes er det næsten umuligt at undgå, at der tilføres en lille smule luft – og dermed oxygen – og samtidig vil der også være lidt luft mellem øl og kapsel. Almindelige bismage fra oxidation er smag af 'vådt pap', 'papir', 'læbestift', sherry og honning. De to sidstnævnte kan være ønskværdige i visse øltyper og uønskede i andre, mens de førstnævnte næppe ønskes i nogen øl. Nogle af de stoffer, der typisk giver anledning til de nævnte bismage, er de tre aldehyder ethanal, trans-non-2-enal og benzaldehyd. Hvis man ikke har lavet tiltag til at fjerne diacetyl (se ovenfor), kan dette stof, der også dannes ved oxidation, give en flødekarameallignende smag og aroma. Det er vanskeligt at sige, hvor lang tid der går, før de uønskede oxidationsprocesser har påvirket

smagen negativt i en given øl. Det afhænger både af øltypen, ingredienserne, brygge- og flaskemetoden samt opbevaringen af det færdige øl.

Figur indsættes

Ølsmagning/sensorik

Som man kan læse i en folder fra det danske ølakademi: ”Godt øl drikkes med alle sanser. Det er en fryd for øret at hælde op, køn for øjet, kølig i hånden og en opdagelsesrejse for næse og mund”.

Vigtige elementer i en ølsmagning er: opskænkning, se på øllet, slyng øllet rundt i glasset, snus til øllet, smag på øllet og endelig skål.

Opskænkning afgør hvad man kalder skumkronen og dermed øllets udseende. Hæld ikke op til kanten af glasset, men giv plads til at øllets aroma kan samles i glassets top. Øjnene giver os den første vigtige oplevelse af øllets udseende – farve, skum, klarhed og livlighed. Slyng øllet rundt i glasset så aromaen frigives. Smag derefter på øllet med både næse og mund. Forskellige aromaer opfanges gennem næse og mund. Snus til øllet med næsen. Dufter eller lugter det af bær, krydderier eller blomster? Smag igen på øllet, kan du genfinde aromaerne fra duften eller kommer der nu nye aromaer af korn, nødder eller frugt? Opvarmning og frigivelsen af kulsyre i munden og på tungen giver endnu en oplevelse af aromaer, idet lugtesansen opfatter via næsehulen og svælget. Med tungen smages øllets sødme, bitterhed og syrlighed. Øllets bitterhed er afgørende for oplevelsen af øl. Sødme smages tydeligst forrest på tungen, bitterhed tydeligst bagerst.

Ølakademiet har opfundet et specielt ølsprog – Det Danske Ølsprog. For at få mest ud af din øl kan du under smagningen forsøge at beskrive sanseoplevelsen med ord. Det Danske Ølsprog har tre niveauer: udseende, aroma og mundoplevelse.

Box

Udseende: farve, klarhed, skum og livlighed

Aroma: Humle & blomster, korn & malt, krydderier, nødder, frugt & bær, alkohol, træ & jord og endelig svovl.

Mundoplevelse: smag og fornemmelse

Box slut

Flavour

Begrebet stammer fra engelsk og dækker den komplekse samlede sansemæssige oplevelse af mad og drikke, omfattende smag, og lugt og dermed øllets aromastoffer, men også mundfølelse og kemestesi. Den samlede sansning af mad og drikke og smagen er som sådan ikke en egenskaben

ved mad og drikke, men ved vores nervesystem og hjerne – flavour er den samlede sanseoplevelse som foregår ved at vi integrerer alle sanseindtryk i hjernen. Lugte- og smagssansen starter i hhv næsens lugteepitelet og i mundens smagsløg, Ved hjælp af sanseceller og neuroner transporteres oplevelsen af lugt og smags stoffer til centralnervesystemet.

Øllets aroma

Aroma er lugt eller duft som frigives fra luftbårne stoffer og registres som lugte i det olfaktoriske epitel af lugtesanseceller, for derefter via lugtekolben at blive sendt til sansecortex i hjernen. Vi kan lugte op til 8.-10.000 forskellige aromaer. Lugtesansen kan trænes til at genkende forskellige kendte dufte. Gå på opdagelse i naturen og i køkkenet. Sæt næsen til og på at sætte ord på lugteoplevelsen. Aroma sanses via næse og mund.

Prikkende bobler – carbonering af øllet

Hvad er øl, cider, dansk vand eller for den sags skyld champagne uden de prikkende bobler? Nej vel. Bobler af kuldioxid giver både en særlig mundfølelse og en syrlig smag, når boblerne brister. Disse prikkende bobler er så vigtige for smag og mundfølelse, at øl eller champagne uden kuldioxid er og bliver uinteressant. Forskning har vist, at i de smagsceller som registrerer surt, er der en bestemt smagsreceptor som er følsom overfor kuldioxid. Carbonering er derfor en vigtig proces i oplevelsen af øllets aroma.

Drikkevarer med opløst kuldioxid i form af kulsyre, fx øl og mousserende vine, kan danne skum, når boblerne af kuldioxid frigives og stiger op til væskens overfalde. De opadstigende bobler indeholder luftbårne aromastoffer, som frigives når boblerne samles og brister. Skummet er dermed vigtig for smagsoplevelsen af øl.

Men boblerne bidrager også med hvad vi kan kalde for mundfølelsen, som en del af det somato-sensoriske-system. Dette system findes bl.a. i munden og på tungen. Systemet stimuleres af fysiske påvirkninger som temperatur, smerte, tryk, berøring og vibrationer. Nervesignaler som initieres fra mundfølelsen bringes på samme måde som smagsoplevelser gennem hjernestammen via thalamus til det somato-sensoriske center i cortex. Begrebet kemestesi beskriver hudens og slimhindernes følsomhed overfor kemiske påvirkninger som forårsager smerte eller irritation. Det er netop det der er tilfældet når vi drikker en iskold karboneret øl.

Den stikkende og sure smagsoplevelse som optræder ved indtagelse af boblende drikke, har formodentlig at gøre med specielle påvirkninger af tungens smageløg. Disse smagsløg består af et stort antal smagsceller, hvorpå der sidder mikrovilli som registre den sure smag via særlige pH-følsomme receptorer. Samtidig registrerer frie nerveender i tungen boblerne som svag smerteoplevelse som sendes til thalamus i hjernen via nociceptive neuroner af A-delta-typen, og videre ud til Somato-sensoriske-område for mund og tunge.

Men hvorfor drikke karboneret øl hvis det fremkalder smerte? Der er det vigtigt at være opmærksom på at smagssansen, ligesom andre sanser, primært er udviklet til at opfatte ændringer. På den måde kan vi efter tid vænne os til smagsoplevelsen også selv om den indebære

smerte – tænk bare på smags/smerte-oplevelsen af chili. Ved tilvænning er der sket en neuroadaptation.

Forsøg:

- 1) Spiringsevne
- 2) Enzymvirkning – sammenligning af smag
- 3) Enzymvirkning - JKJ
- 4) Enzymvirkning – Cellevægsanalyse
- 5) Enzymvirkning – spytamylase
- 6) Enzymvirkning – NOVO enzymer
- 7) Karamellisering
- 8) Gærcellen i mikroskop
- 9) Gæringsforsøg – ballonforsøg
- 10) Gæring og temperatur – bobletælling
- 11) Gæring og sukker
- 12) Gæring på forskellige carbonkilder - kuldioxid opsamling – reagensglas og durhamrør.
- 13) Gæring af æblejuice
- 14) Vækstforsøg med gær (bestemmelse af gærcelletal vha. spektrofotometri).