

LTH och Lundabryggeriet

Utveckling av alkoholfri öl med tillsättning av syre under jäsningsprocessen

Examensarbete i Livsmedelsteknologi (KLG820)

Författare: Åsa Edpalm

Handledare: Universitetslektor Lars Nilsson, Livsmedelsteknologi, LTH

Examinator: Forskare Åsa Håkansson, Livsmedelsteknologi, LTH

Biträdande handledare: Bosse Bergenståhl, Lundabryggeriet

2015-11-11

Abstract

The demand of alcoholic free beer is increasing and there are many reasons to choose alcoholic free beer such as pregnancy, religion, work or before driving. But today there doesn't exist a simple, cheap method to produce well tasting alcoholic free beer. The existing methods on the market to produce alcoholic free beer are dilution, distillation, reverse osmosis and to avoid fermenting the wort. The purpose of this project was to develop a new method to produce alcoholic free beer by adding oxygen gas. Using this method, the yeast is held in an aerobic state where the yeast consume the sugar to reproduce and in this state no alcohol is produced. In comparison with light beer that has maximum 2,5 vol % ethanol, this method gives the approximatively a lowering of 1 vol% ethanol. There are indications that the ethanol level can be lowered even more by optimization of the oxygen. An important factor was stirring and a stable oxygen regulator so that all yeast cells have access to an amount of dissolved oxygen over 10 ppm during the whole fermentation, especially with larger volumes. A surprising result was that after 2 and 4 hours from the start of the fermentation the alcohol level was zero. After a week of storage the results became 0.5 vol %, which is the limit for alcoholic free beers. It might be that it is enough with a short aerobe time to produce an alcoholic free beer and to not get a fermentation during storage. The methods should be further investigated with for example sensory test and to apply the method into production so that the alcoholic free beer can be a product that reaches the consumers.

Abstrakt

Efterfrågan av alkoholfri öl ökar och det finns många olika anledningar till att dricka alkoholfri öl såsom graviditet, religion, arbete eller om man ska köra bil. Men det finns idag ingen enkel och billig metod för att producera välsmakande alkoholfri öl. De vanligaste metoderna för att producera alkoholfri öl på marknaden är utspädning, destillation, omvänd osmos samt att inte fermentera vörten. Syftet med detta projekt var att utveckla en metod för att tillverka alkoholfri öl genom att tillsätta syrgas. På detta sätt hålls jästen i en aerob fas där jästen konsumerar sockret för att föröka sig och i denna fas så tillverkar inte jästen någon alkohol. Vid jämförelse med lättöl på max 2,5 volym% etanol så blir den approximativa sänkningen 1 volym% etanol med metoden, men det finns indikationer på att etanolhalten kan sänkas ytterligare genom optimering av syretillförseln. Det som var viktigt var att ha omrörning och en stabil syreregulator så att all jäst får tillgång till över 10 ppm löst syre under hela jäsnings tiden, speciellt vid större volymer. Ett överraskande resultat var att efter 2 och 4 timmar efter jäsningsens början var etanolhalten noll. Efter lagring i en vecka blev resultatet 0,5 volym%, vilket även är gränsen för alkoholfri öl. Det har även visats att det räcker med en kort aerob tid för att göra en alkoholfri öl och inte få någon större efterjäsnings under lagring. Metoderna borde undersökas vidare med t.ex. smaktest och applicering i produktionen för att den alkoholfria ölen ska bli en produkt som når konsumenterna.

Förord

Detta arbete har utförts för att utveckla en ny metod att tillverka alkoholfri öl som är enkel och som ger en god smak på ölet. Detta ska kunna användas i produktionen hos Lundabryggeriet och bli en ny produkt i deras sortiment. Projektet har huvudsakligen utförts på Lunds tekniska högskola, men även en del har spenderats på Lundabryggeriet. Detta projekt har pågått under 20 veckor från juni till november 2015.

Ett stort tack till Lundabryggeriet och speciellt till Bosse Bergenståhl för lärdomen att brygga öl, material och för ett väldigt bra bollplank genom denna tid. Ett stort tack även till Lars Nilsson och Åsa Håkansson, för all vägledning och hjälp under resans gång. Detta projekt hade inte varit möjligt utan er hjälp!

Innehåll

1. Inledning.....	5
1.1 Syfte.....	5
2. Bakgrund.....	5
2.1 Lundabryggeriet	5
2.2 Öltillverkning	5
2.3 Fermentering.....	6
2.4 Alkoholfri öl	7
3. Material och metodik.....	7
3.1 Material Vörtextrakt.....	7
3.2 Metod Vörtextrakt.....	8
3.3 Material Lundabryggeriet vört	9
3.4 Metod Lundabryggeriet vört	10
4. Resultat.....	11
4.1 Mängden löst syre och pH.....	11
4.1.1 Mängden löst syre	11
4.1.2 pH	11
4.2 Kalibreringskurva.....	12
4.3 Testbryggningar.....	13
4.3.1 Syrehalt.....	14
4.3.2 Aerob tid.....	15
4.3.3 Anaerob tid.....	16
4.3.4 Temperatur.....	17
4.3.5 Vört och jäst mängd	18
4.3.6 Lagring	20
4.4 Slutgiltig bryggning	21
5. Diskussion.....	24
5.1 Felkällor	26
6. Slutsatser	27
7. Framtida rekommendationer	27
8. Referenser	28
Bilagor.....	29
Bryggningar, Innan lagring.....	29
Bryggningar, Efter lagring.....	31
Slutgiltig bryggning, Frusen	33
Slutgiltig bryggning, Lagrad	35

1. Inledning

Efterfrågan på goda alkoholfria ölsorter har ökat stort, men utbudet är begränsat. Därför har en ny metod utvecklats för att brygga alkoholfria ölsorter i samarbete med Lundabryggeriet. Denna metod bygger på att tillsätta syrgas under en del av fermenteringen för att jästen ska vara i en aerob miljö under vilken den inte producerar alkohol, men fortfarande förbrukar sockret i vörten. Jästen går sedan över till en anaerob miljö för att vissa aromer ska tillverkas och för att undvika oxidation. Denna metod har utvecklats med olika syrgasflöden, tid, temperaturer, jäst- och vörtmängder. Etanolen i ölen har undersökts via gaskromatografi så att etanolhalten var under 0,5 volym%, vilket är kravet för alkoholfri öl. Detta gjordes i experimentell skala med vört extrakt och vört från grunden gjordes på Lundabryggeriet.

1.1 Syfte

Syftet med detta examensarbete är att undersöka hur tillförseln av syrgas påverkar fermenteringen av jäst under brygning av öl. Av särskilt intresse är att få ner den slutgiltiga etanolhalten för att tillverka alkoholfri öl.

2. Bakgrund

2.1 Lundabryggeriet

Lundabryggeriet är ett mikrobryggeri beläget i Torna Hällestad utanför Lund som bygger sitt företag på ölhantverket. Det bildades 2009 och har idag många sorters öl som kan inhandlas på olika ställen i Skåne, men har även expanderat till Stockholm och Finland. All öl från deras bryggeri är ofiltrerat och opastöriserat i slutskedet av bryggningen för att inte ta bort några smakämnen eller aromer. Genom att inte filtrera ölen så är det främst humlearomen som man vill behålla och genom att inte pastörisera så behålls aromerna från jästen. Innan jäsningen kokas ölen och sedan hålls ölen i en sluten miljö för att undvika kontaminationer (Lundabryggeriet (a), 2015).

2.2 Öltillverkning

Öltillverkning idag består av många steg och kan variera från olika ölsorter, men det finns en standardtillverkning för de flesta ölsorter. Det första är mältning som består av stöping av kornet, där man lägger kornet i vatten, groning där man låter kornet gro så att det frigörs enzymer och detta kallas nu för malt och kölning där man torkar malten. Efter detta kommer mäsning där man krossar malten och blandar med vatten och detta hettar man upp där enzymer tillverkar maltos och dextriner. Detta kallas nu för vört som sedan lakas ut med varmvatten och med tillsättning av humle så gör man en vörtkokning. Detta kyls sedan till rumstemperatur för att jäsningen ska påbörjas med tillsättning av jäst som bildar koldioxid och etanol av sockret. Sedan är det bara filtrering, pastörisering och tappning (Hornsey, 2013). Det steget som kommer vara i fokus under detta projekt är jäsningen.

En viktig faktor med syretillförsel i fermentationen är oxidation av humle som främst kan ske vid lagring och som ger bismaker som inte är åtråvärda. Humle används till ölen som smakförstärkare och tillsätts till vörten i bryggningen. Oxidationen av humlen kommer ifrån humlens harts som innehåller iso- α -syror och iso- β -syror som ger den bittra smaken i öl. Studier har visat att oxidation av humle ger iso- α -syror och iso- β -syror i öl och främst när ölen lagras (Taniguchi et al, 2013).

2.3 Fermentering

Jäst och fermenteringen var en viktig del i detta projekt. När man tillverkar alkoholhaltig öl så tar jästen upp socker som den bildar etanol och koldioxid av. I en aerob miljö producerar främst jästen nya jästceller genom att fermentera sockret och restprodukterna i denna reaktion är koldioxid och vatten. För att veta att jästen är i en aerob fas så används mängden löst syre där gränsen är 8-10 ppm och över denna gräns (White et al, 2010). I den aeroba fasen så är huvudreaktionen att jästen förökar sig. Detta gör den via knoppning som gör att under tillväxtfasen går mycket av sockret till att bilda nya celler och framförallt nya membran (Hornsey, 2013).

Jästen behöver socker för att växa och i en anaerob miljö, för att tillverka etanol. Med hjälp av enzymer så blir sammansatta sockerarter omvandlade till enkla sockerarter som fruktos eller glukos. De flesta slutar i glukos så att jästen kan ha tillgång till sockret och energin i det (Hornsey, 2013). De främsta enzymerna som finns i malten är amylaser som bryter ner stärkelsen till enkla sockerarter som jästen kan använda. De vanligaste amylaserna i ölproduktion är α - och β - amylas. (White et al, 2010).

Jäst fermenterar socker och de fermenterar sockret i denna ordning: glukos, fruktos, sukros, maltos och maltotriose, men det kan vara en skillnad mellan olika jäststammar. Så klart spelar även miljö för jästen en stor roll och inte bara mängden löst syre. Öl produceras vanligtvis vid 20 °C, men jästen växer fortast vid 32°C. pH spelar även en stor roll för jästens aktivitet. Det mest fördelaktiga pH i vörten vid starten av fermenteringen är pH 5 (White et al, 2010).

Under den anaeroba delen bildas det främst etanol och koldioxid, men även massa ämnen som bidrar till ölens karaktäristiska smak och som kan ändras mycket mellan olika ölsorter och bryggerier. Den första är högre alkoholer än etanol där de vanligaste är propanol, iso-butanol, *n*-butanol m.m. som har ett stort inflytande på smaken på ölen. Det bildas även syror som korta fettsyror som bidrar till att pH sjunker under fermenteringen, exempel på dessa är ättiksyra och smörsyra. Den som även bidrar till ölsmaken är estrar som bildas i reaktion mellan alkoholer och syror. Av de olika alkoholerna och syrorerna som bildas så kan det resultera i många olika estrar men de vanligaste är etylacetat, isoamylacetat och fenyletylacetat. Det bildas även små mängder karbonylföreningar som aldehyder (acetaldehyd) och diacetyl som kan bidra med en smak av toffeé (Horney, 2013).

För att undersöka om jäsningsen är klar så används förjäsningsgrad som man kan beräkna genom skillnader mellan specifik vikt innan och efter fermentation. Den specifika vikten varierar beroende på vad temperaturen är, denna ska mätas vid 20°C. Om temperaturen inte är exakt 20°C används en omvandlingstabell (Alla France, 2015). Det finns två olika förjäsningsgrader, verklig (Ekvation 1) och skenbar förjäsningsgrad (Ekvation 2). Skillnaden mellan dessa är att den verkliga även tar hänsyn till etanolen som bildas under en normal ölproduktion. Desto mer socker som jästen bryter ner, desto högre blir förjäsningsgraden. I denna produktion så kommer socker att förbrukas i både aerob miljö för tillverkning av nya celler och i en anaerob miljö för att tillverka aromer och mycket lite etanol.

Verklig förjäsningsgrad:

$$\frac{(OG-FG)}{OG-1} * 100 = \text{verklig förjäsningsgrad i \%} \quad (1)$$

Skenbar förjäsningsgrad:

$$\frac{(OG-FG)}{OG} * 100 = \text{skenbar förjäsningsgrad i \%} \quad (2)$$

Där OG är original gravity, specifik vikt innan fermentationen, och FG är slutgiltig gravity, specifik vikt efter fermentationen.

2.4 Alkoholfri öl

Idag är efterfrågan efter alkoholfri öl stor då det finns många skäl till att dricka alkoholfri öl. Anledningar för detta kan vara hälsoaspekter, graviditet, religion, säkerhetsaspekter på arbetsplats eller i bil m.m. som gör att man inte vill inta alkohol. På marknaden idag finns det många alkoholfria ölsorter som ger en vörtsmak eller smaker som inte liknar den alkoholhaltiga ölen (Sohrabvandi, et al, 2010).

Det finns huvudsakligen tre metoder för att göra alkoholfri öl. Den första är att inte fermentera ölen, där denna då smakar vört och för att få en bättre smak så används tillsatser. Den andra är att man har alkoholhaltig öl och sedan späder man ölen med vatten tills alkoholhalten är under 0,5 volym%, som den är i Sverige. Det tredje sättet är att man tar bort alkoholen från den färdiga ölen. Detta kan göras på många olika sätt men de vanligaste är: destillation där man kokar bort etanolen, användning av dialys eller omvänd osmos, adsorption där ett ämne binder till etanolen m.m. Dessa metoder är oftast mycket kostsamma för företagen och ger i många fall inte en ölkarakter (Sohrabvandi et al, 2010). Det finns även metoder som fokuserar på olika jästsorter som ger lägre alkoholhalt (Contreras et al, 2015)

Det som har visat ett bra resultat för smaken är osmotisk destillation. Resultatet från detta var att färgen på ölen var nästan oförändrad, men egenskaper hos ölen som bitterhet, skumstabilitet och syre- och koldioxidinnehåll ändrades under processen. Man förlorade även många lättflyktiga ämnen förutom alkohol när man gick från 5 volym% till 0,5 volym%. Denna metod är alltså inte optimal för att behålla ölens egenskaper under processen (Liguori et al, 2015).

3 Material och metodik

3.1 Material Vörtextrakt

För att kunna utföra laborationen i liten skala har olika materiel används och dessa kan ses i tabell 1.

Tabell 1. Materialet som användes till laborationerna i liten skala med materialet, märket och volymen på materialen.

Material	Märke
Spis	Euro Kera
Jäsningskärl, 25 l	
Kastrull, 15 l	
Jäsrör	
Hydrometer (Saccharometer)	Alla France
Syresten med slangar	
Syreelektrod	HI 9146 Dissolved Oxygen and Temperature Meter
Gaskromatografi	

För experimenten i liten skala används endast vörtextrakt, som var vört som har blivit torkad med spraytorkning. Detta på grund av att fokus ligger på jäsningsprocessen och inte på stegen innan dess. För den färdiga produkten gjordes alla steg för att få en färdig vört som användes i jäsningsprocessen. För att undvika kontaminationer så sprayades alla materiel med desinficeringsmedel som inte innehåller etanol. Om materialet sprayas med etanol så kan detta ge felaktiga resultat på etanolhalten. Mängder och vilka ingredienser som användes i experimenten kan ses i tabell 2.

Tabell 2. Ingredienserna som användes i laborationerna i liten skala med ingredienserna, märket och mängden.

Ingredienser	Märke	Mängd
Jäst	SAF-Ale 04, Fermentis Frankrike	5,75 g
Vörtextrakt	Muntos, Storbritannien	580 g
Syrgas	AGA	Totalt: 20l (ca 200 bar)
Vatten		10,75 l
Desinficeringsmedel	Star San HB	

3.2 Metod Vörtextrakt

Innan experimenten genomfördes, gjordes en säkerhetsanalys som blivit godkänd. Nedan följer metoden för hur experimenten i liten skala utfördes, detta är baserat på metoden för hur man brygger lättöl på Lundabryggeriet (Lundabryggeriet (b), 2015):

- Uppvägning av 580 g vörtextrakt och uppmätning av 10,75 l vatten som förs över till en kastrull på 15 l.
- Uppvärmning av kastrullen med vörten med användning av spisen, tills vörten uppnår den uppmätta kokpunkten på 97 °C. Vörten hålls på kokpunkten i 15 min för att undvika kontamination. Hela koktiden tar ca.1 tim.
- Vörten förs över till jäsningskärlet på 25 l med två ingångar med packningar till jäsningsrör och slangar till syretillförsel. Locket tillsluts inte helt då detta är en varm vätska och kan göra att behållaren krymper när denna kyls.
- Jäsningskärlet förs vidare till ett kylrum på 4 °C, där denna får kylas till temperaturen har nått ca.20°C vilket tar ca.4-5 timmar. Detta är för att kunna den mäta specifika vikten och för att jästen ska trivas.
- Innan fermenteringen börjar så mäts den specifika vikten och temperaturen med en hydrometer. Sedan tillsätts jästen, locket försluts och syre tillförs via en slang till en syresten som är lokaliserad i mitten av jäsningskärlet.
- Fermenteringen med syre pågår i 1 dygn och under denna tid undersökts syrehalten med en syreelektrod för att se att syrehalten är över 8-10 ppm. Vid denna gräns går jästen över från anaerob fermentering till aerob fermentering. Efter 1 dygn stängs syret av och fortsätter utan syre i 15 timmar.
- Efter detta tas prov igen på sockerkoncentrationen och temperaturen för att räkna ut förjäsningsgraden som ska vara ca.73 % då fermenteringen är klar.
- Ölen lagras sedan kylt i en vecka för att jästen ska sedimentera så att ölen inte får jästsmak.
- Prover tas sedan ut från toppen av jäsningskärlet för att undvika jäst i ölet.
- Resten av ölet tappas upp på glasflaskor och kapsyl sätts på.

Alkoholhalten undersöks med gaskromatografi där 1µl injiceras i en kolonn med längd på 30 m och inre diameter 0,25 mm. Temperaturen har valts utifrån kolonnen med kolonntemperatur på 60 °C, injektortemperatur på 250 °C samt detektortemperatur på 250 °C, där från 60-150 °C ökar temperaturen med 5°C/min och mellan 150-200 °C ökar temperaturen med 10 °C/min. Det användes

även en splitt för 80 % av provet togs bort. För mer detaljerad information om metoden så hänvisas till Buckee, 1993.

Alla resultat har analyserats med den statistiska metoden one-way ANOVA med 95 % konfidensintervall och jämförelser kan göras genom Tukey test.

3.3 Material Lundabryggeriet vört

Detta är material och mängder som behövs för att i stor skala tillverka Lundabryggeriets lättöl. Detta blir totalt 2000 l, men av detta har 24 liter tagits för att göra fermenteringen på liten skala. Allt material och detaljer av dessa kan ses i tabell 3. Fermentationen görs i experimentell skala och då används samma material förutom vörtextraktet i tabell 2.

Tabell 3. Ingredienser och mängder av olika material som används i brygning av Lundabryggeriets lättöl, samma vört som kommer att användas till den alkoholfria produkten.

Ingredienser	Märke	Mängd
Vatten (74°C)		808 l
Malt	German Pale Ale Malt Organic	125 kg
Malt	German Caramell Organic	75 kg
Malt	German Sauer (Acid) Malt Organic	2000 kg
Humle, tillsatt 15 min innan slutet av kokningen	NZ Cascade Organic (alfa syra 5,9 %)	3085 g
Humle, tillsatt 15 min innan slutet av kokningen	USA Wakatu Organic (alfa syra 8,7 %)	2000 g
Humle, tillsatt 5 min innan slutet av kokningen	NZ Cascade Organic (alfa syra 5,9 %)	2000 g
Humle, tillsatt vid pumpning till kylningssteget	NZ Wakatu Organic (alfa syra 8,7 %)	1000 g
Klarningsmedel	Protafloc	30 g

3.4 Metod Lundabryggeriet vört

Nedan följer metoden för hur man tillverkar vört på stor skala hos Lundabryggeriet (Lundabryggeriet (b), 2015). Innan jäsningen har 24 liter fräntas för att kunna utföra jäsningen i liten skala.

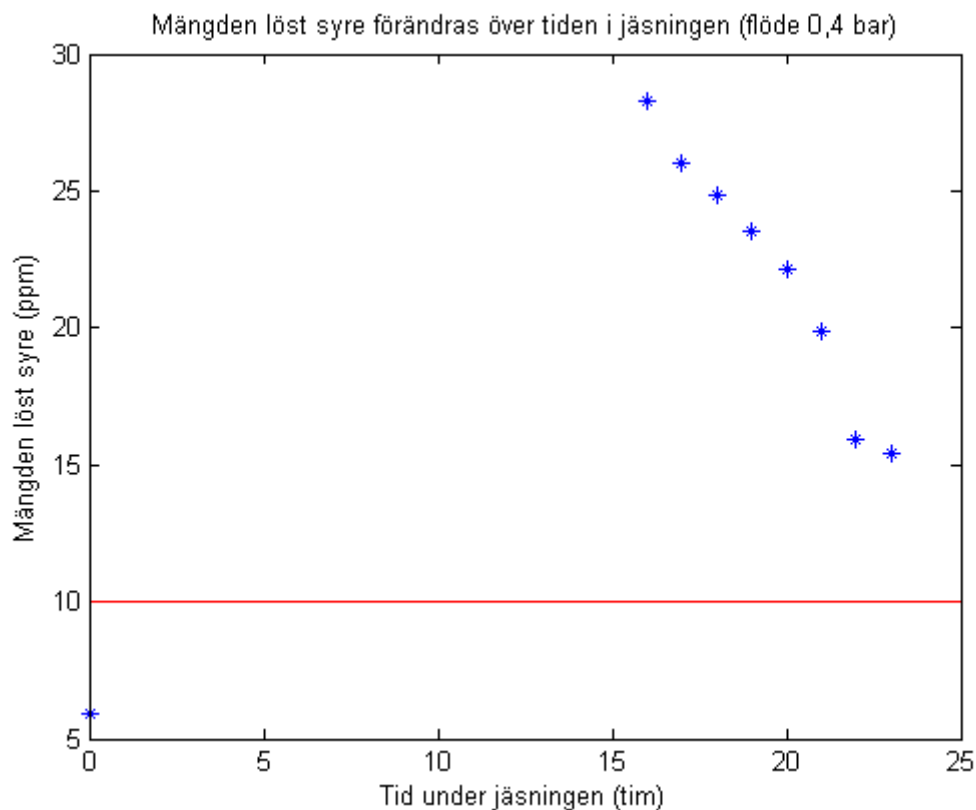
- De olika maltsorterna vägs upp, krossas och läggs i blandningskärlet. Därefter tillsätts även 808 l 74°C vatten till blandningskärlet. Temperaturen är viktig för, om det är för låg så kristalliseras sockret och filtreringen försvåras, om temperaturen är för hög denatureras enzymerna.
- Temperaturen stabiliseras på 70 °C och hålls stabil i 40 min.
- Efter 40 min tillsattes 174,73 l 78°C vatten för att tvätta ut malten, av detta ökades temperaturen till 75°C.
- Vattnet filtreras genom lagret av malt och får då med sig socker och aromer. Vörten som har gått igenom filtreringen pumpas över till ett kokkärl och fylls på tills nivån har nått 12000 l vört.
- Vörten får koka i 15 min, därefter tillsätts humlen 15 min och 5 min innan slutet på koket med klarningsmedel.
- Vörten transporterades till en whirlpool som cirkulerar vörten så att eventuella maltrester transporteras in till mitten av tanken.
- Vid transport till kylväxlare, filtreras vörten genom humle för extra smak. Efter kylväxlaren tas ett prov ut på 12 l som sedan används för fermentering på liten skala. Denna mängd kokas upp till 97 °C och hålls vid den temperaturen i 15 min. Därefter kyldes vörten till 20 °C och späds med vatten till 24 l, eller tills specifika vikten är 5,6. I detta fall blev den specifika vikten för hög och därför späds vörten till den totala volymen på 25 l.
- Sedan fermenteras vörten på samma sätt som i liten skala förutom att det togs ut prover under jäsningens gång. Dessa prover blev antingen lagrade i 2 timmar i rumstemperatur och sedan i en vecka i 4 °C. Det andra provet som togs vid samma tidpunkt blev fryst direkt efter provtagningen.

4 Resultat

4.1 Mängden löst syre och pH

4.1.1 Mängden löst syre

Mängden löst syre var en viktig faktor i experimenten och skulle hållas över 10 ppm så att jästen befinner sig i en aerob fas och inte tillverkar etanol. Detta uppmättes med en syreelektrod i ölet vid de olika tidpunkterna. I figur 1 har mängden löst syre för testbryggning 4 mätts varje timme, med samma syreflöde på 0,4 bar. Detta för att se hur mängden löst syre ändras då jästen ökar.



Figur 1. Hur mängden löst syre förändras över tiden i jäsningen för experimentet Tid 1 och med flöde på 0,4 bar. De blå punkterna med initierat mätvärde och den röda linjen är det kritiska värdet 10 ppm. Över detta värde hålls jäst i en aerob fas.

Från figur 1 så finns ett initialt värde innan syre tillsätts och sedan finns mätpunkter under halva processen som är över det kritiska värdet. Flödet hålls konstant under jäsningen så minskningen av mängden löst syre beror endast på jästtillväxten. Minskningen är väldigt stor och resultatet av detta har även tillämpats i resterande experiment för att undvika att mängden löst syre får ett värde under 10 ppm och går då över till en anaerob fas.

4.1.2 pH

Under alla experiment har pH:t undersökts innan fermenteringen börjat, efter fermenteringen och efter lagringen. Detta är för att se till så att jästen är i en bra miljö under jäsningen och så att ölen får en önskvärd surhet. Resultatet blev samma för alla bryggningar då det blev ungefär pH= 6 innan fermentering, pH=4 efter fermentering och pH= 3,5 efter lagring.

4.2 Kalibreringskurva

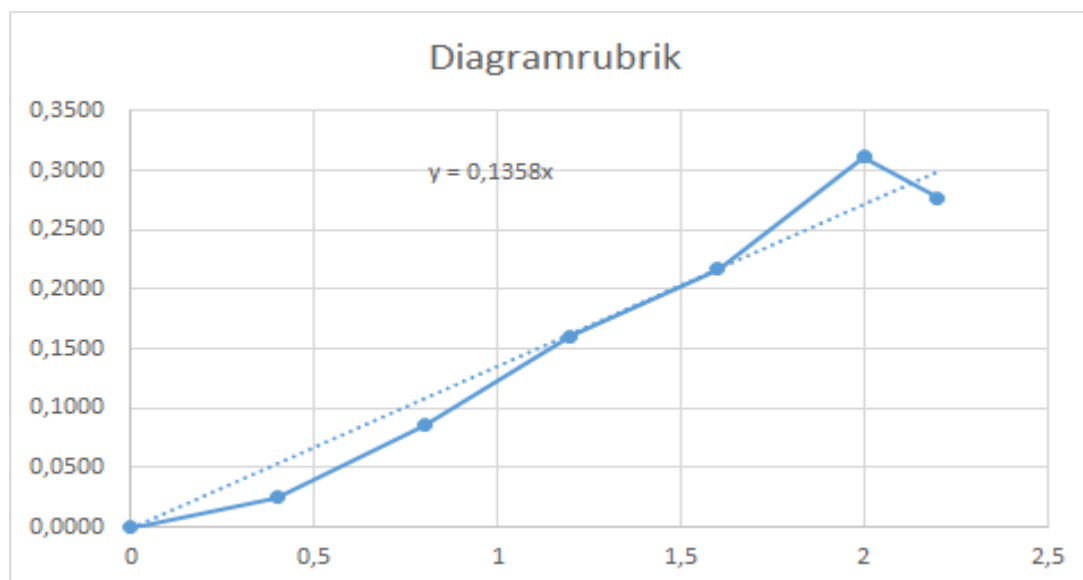
Produkten för detta projekt ska vara en alkoholfri öl som har en god smak. Därför utfördes en analys med gaskromatografi för att mäta alkoholhalten av proverna från experimenten, där denna ska vara under 0,5 volym% för att vara alkoholfri. Förfärdningsgraden beskriver hur mycket av sockret som har förbrukats under jäsningsen. Detta är bra att veta för att det inte ska ske någon efterjäsnings och för att veta när fermentationen är klar.

För att räkna ut etanolhalten har en kalibreringskurva gjorts med känd mängd etanol från 0,4-2,2 volym% etanol. Intern standard har också används för att veta hur splitten har gått till och denna är samma i alla prov med en 0,5 volym% butanollösning. Resultatet av detta kan ses i tabell 4 och i figur 2 finns kalibreringskurvan med tillhörande ekvation som används i uträkningen av alkoholhalten.

Tabell 4. Kvoten mellan arean av etanol och intern standard för olika etanolhalter, med duplikat och medelvärde.

Etanol (volym%)	A(etanol)/A(IS) (1)	A(etanol)/A(IS) (2)	A(etanol)/A(IS) (medelvärde)
0	0,0000	0,0000	0,0000
0,4	0,0223	0,0274	0,0248
0,8	0,0736	0,0975	0,0856
1,2	0,1664	0,1550	0,1607
1,6	0,2088	0,2262	0,2175
2	0,2620	0,3615	0,3118
2,2	0,2859	0,2678	0,2769

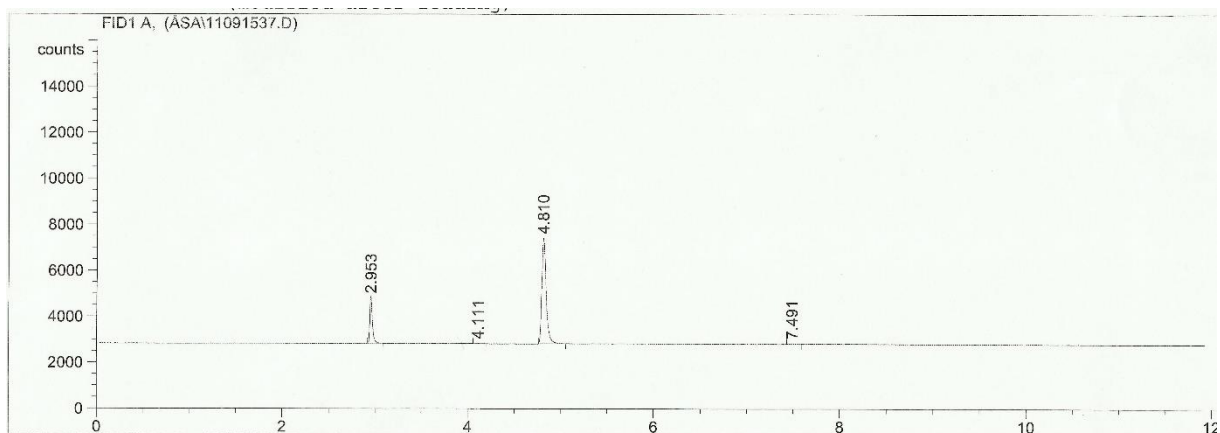
Från tabell 4 gjordes en kalibreringskurva som används för att räkna ut etanolhalten från arean av topparna till volym% etanol. Kalibreringskurvan visas i figur 3 med tillhörande ekvation.



Figur 2. Kalibreringskurva med arean av etanol dividerat med arean av intern standard, butanollösning, mot alkoholhalten. Kurvan är även linjäriserad med tillhörande ekvation.

Ekvationen som fås från figur 2 användes sedan i proven för öl-testerna för att ta reda på etanolhalten.

Kalibreringskurvan och alla prover från bryggningar har analyserats med gaskromatografi. I denna analys fick man en indikation över hur mycket ämne det fanns i provet, både för etanolen och för den interna standarden som är butanollösning. Signalen visas i ett kromatogram som kan ses i figur 3.



Figur 3. Kromatogram med signalen för etanol och butanol. Där första toppen på retentionstiden 2,953 är etanol och den andra toppen på retentionstiden 4,810 är butanol.

Etanol har en kokpunkt på 78°C och butanol har en kokpunkt på 117°C, därför evaporerar etanolen först och kommer ut först i kromatogrammet. Som man kan se i figur 4 är topparna symmetriska och det finns inte mycket restprodukter. Denna analys har gjorts på alla prover och dubletter, så figur 3 är bara ett exempel på alla kromatogram.

4.3 Testbryggningar

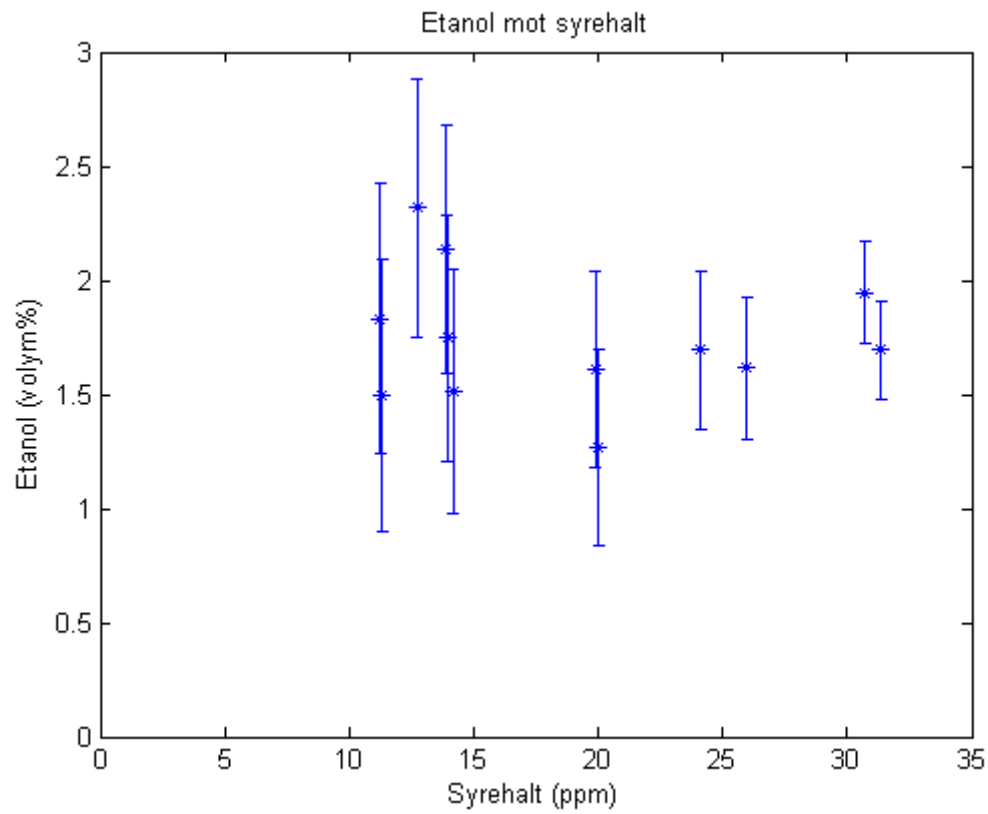
Olika testbryggningar har gjorts för att undersöka hur olika faktorer som specifik vikt för att få jäsningsgrad, temperaturer, mängd löst syre och jäsningstiden för att se hur dessa påverkar etanolhalten. Resultatet för detta finns sammanfattat i tabell 5.

Tabell 5. Sammanfattning av testbryggningar med specifik vikt, jäsningsgrad, temperatur, mängden löst syre, jäsningstid och etanolhalt för de olika brygningarna.

Test	Specifik vikt, innan jäsning (°Plato)	Specifik vikt, efter jäsning (°Plato)	Fjäsningsgrad (%)	Temp, innan jäsning (°C)	Temp, efter jäsning (°C)	Mängd löst syre (ppm)	Jäsningstid (aerob+anaerob) (h)	Etanolhalt (volym%)
1	2,6	1,3	50	24	22	11,23	24+15	0,439
2	2,6	1,6	38,46	24	20	20,02	24+15	1,832
3	2,6	1,2	53,85	22	20	31,37	24+15	1,269
4	2,6	1,4	46,15	22	20	19,89	24+20	1,693
5	5,4	2,6	51,85	20	20	14,2	24+17	1,608
6	5,75	2,2	61,74	22	22	13,95	26+15	1,512
7	5,65	1,9	66,37	20	23	11,34	24+15	1,746
8	5,65	2,2	61,06	21	22	12,73	22+15	1,495
9	5,65	2,2	61,06	25	22	25,95	24+15	2,318
10	5,2	1,8	65,38	25	21	13,9	24+5	1,615
11	5,3	2,2	58,49	25	20	24,11	24+7	2,140
12	5,3	2,2	58,49	24	20	30,7	24+9	1,693

4.3.1 Syrehalt

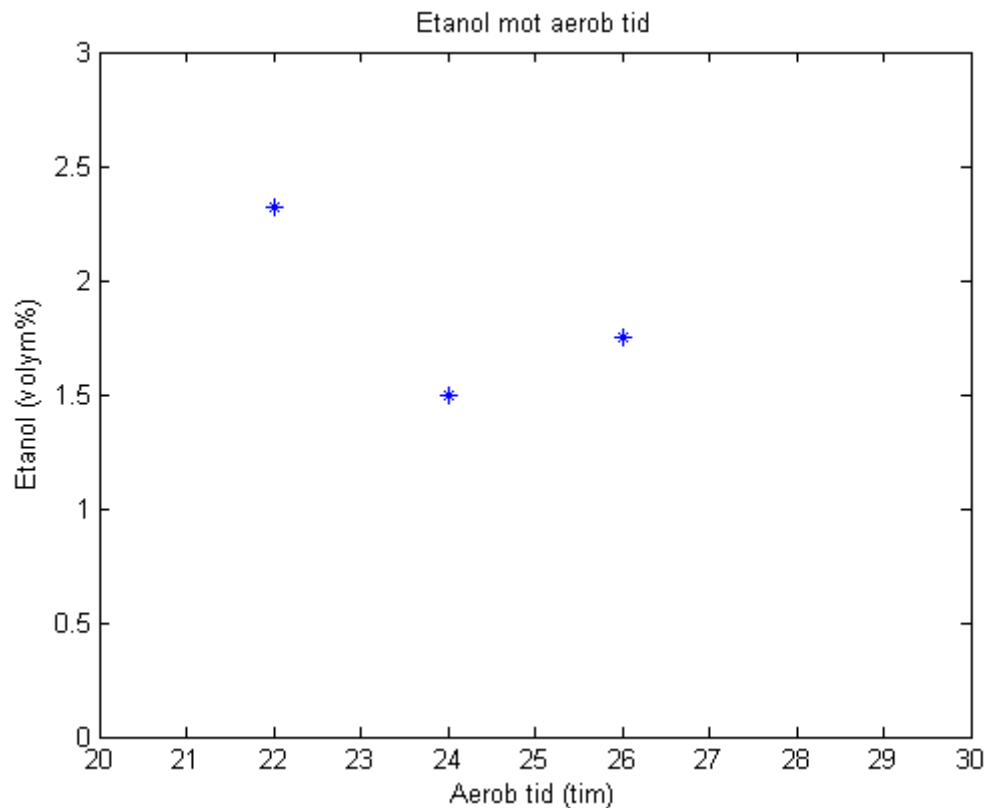
Alla bryggningar har haft tillförsel av syre som kontinuerligt har mätts under jäsningen med en syreelektrod. I figur 4 visas syrehalten av de olika testbryggningarna vid en tidpunkt på 15 timmar efter jäsningens början. En faktor i detta är även att syreflödet kan ha ändrats under jäsningens gång för att undvika att komma under tröskelvärdet.



Figur 4. Hur syrehalten i ppm påverkar etanolhalten i ölet med tillhörande felstaplar.

4.3.2 Aerob tid

Tiden för hur länge som jäsningsen får tillgång till syre kan påverka alkoholhalten då sockret som ska bilda etanolen används istället till att bilda nya jästceller i en aerob fas. Resultatet av den aeroba tidens påverkan på alkoholhalten visas i figur 5 som endast är från de prover där den aeroba tiden har förändras.



Figur 5. Hur längden på den aeroba tiden av jäsningsen påverkar etanol halten i volym%.

En linjär regression har gjorts för detta resultat för att få en uppskattning om hur mycket aerob tid som behövs för att sänka etanolhalten.

Av denna ekvation och trenden på data så har en extrapolering gjorts för att få reda på hur lång tid som jästen behöver vara i aerob fas för att alkoholhalten ska bli under 0,5 %. Uträkningen av detta visas nedan.

$$y = -0,14 * x + 5,3 \quad (3)$$

där y =alkoholhalt (volym%) och x =jäsningsstid med syre (h).

Insättning av olika jäsningsstider ger olika alkoholhalter:

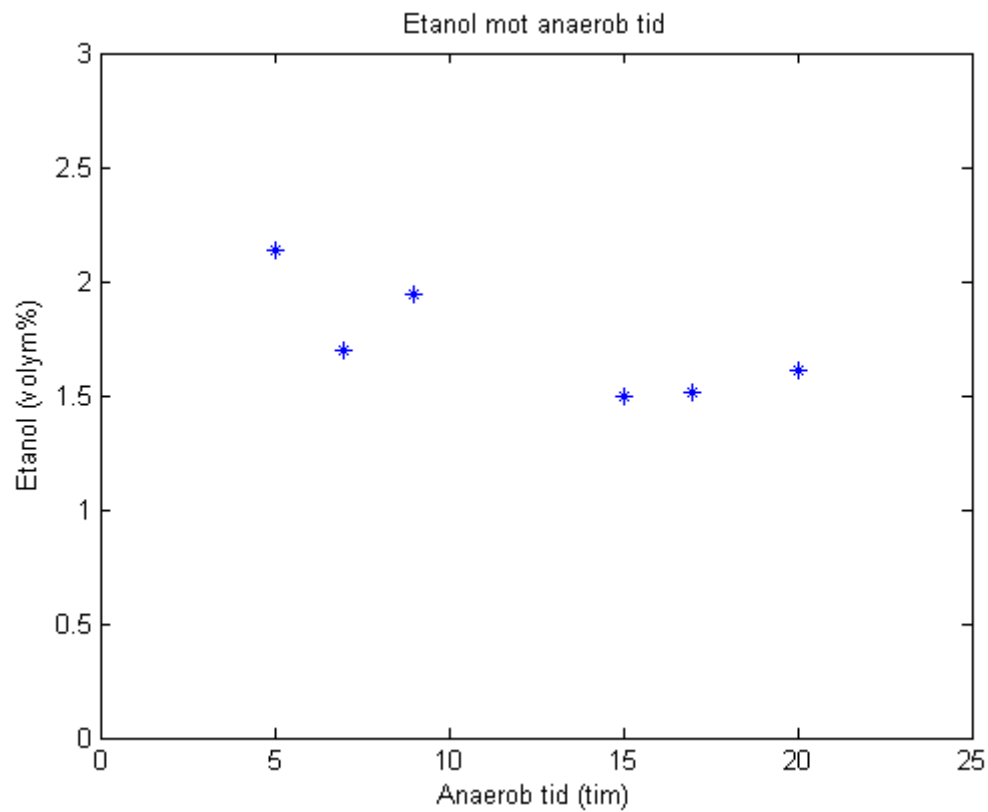
$$x = 36 \text{ h} \rightarrow y = 1,0677 \text{ volym\%} \quad (4)$$

$$x = 42 \text{ h} \rightarrow y = 0,4287 \text{ volym\%} \quad (5)$$

Detta har sedan implementeras för den slutgiltiga bryggningen.

4.3.3 Anaerob tid

Den anaeroba tiden kan ha stor påverkan då det påverkar etanolhalten, men den är också nödvändig för att undvika oxidation och att få ut aromer som är karaktäristiska för ölet. Hur mycket etanolhalten påverkas av den anaeroba tiden visas i figur 6.

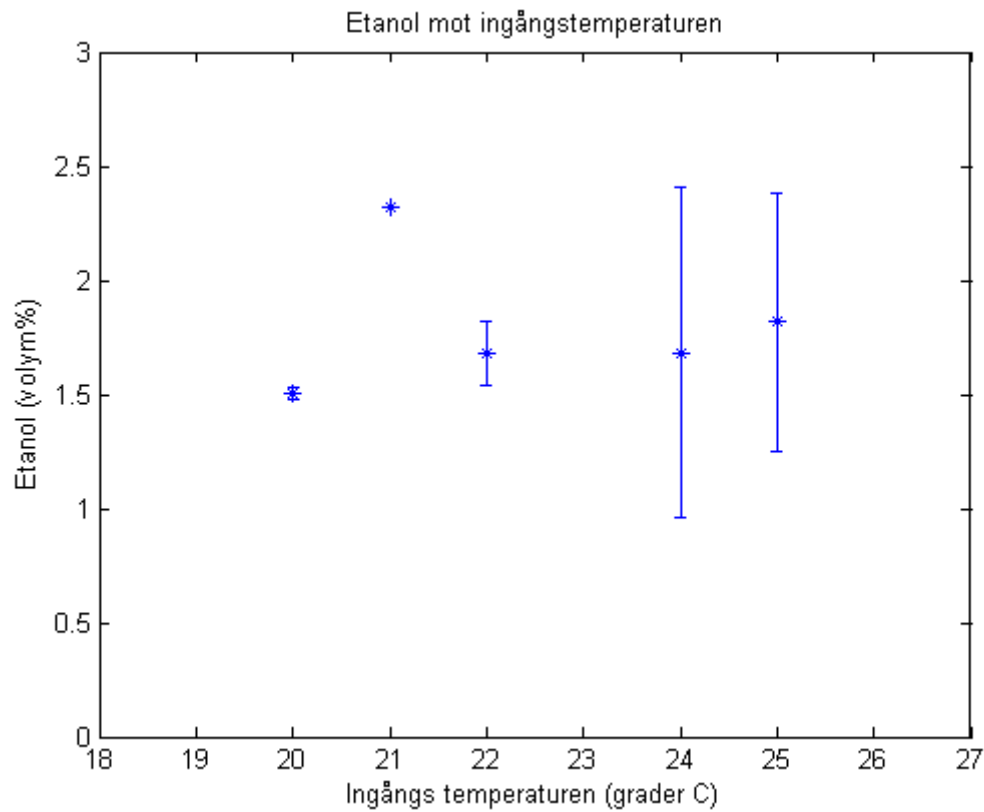


Figur 6. Hur längden på den anaeroba tiden av jäsningsen påverkar etanol halten i volym%.

Figur 6 att vid ökad anaerob tid så minskar etanolhalten, vilket inte var förväntat.

4.3.4 Temperatur

Olika ingångstemperaturer påverkar hur aktiv jästen är i jäsningsprocessen. Början av fermenteringen är det mest kritiska momentet för jästen då den kommer till en ny miljö och om jästen inte kan växa i den miljön så är det lätt att vildjäst tar över. De olika ingångstemperaturerna har noterats och visas i figur 7.

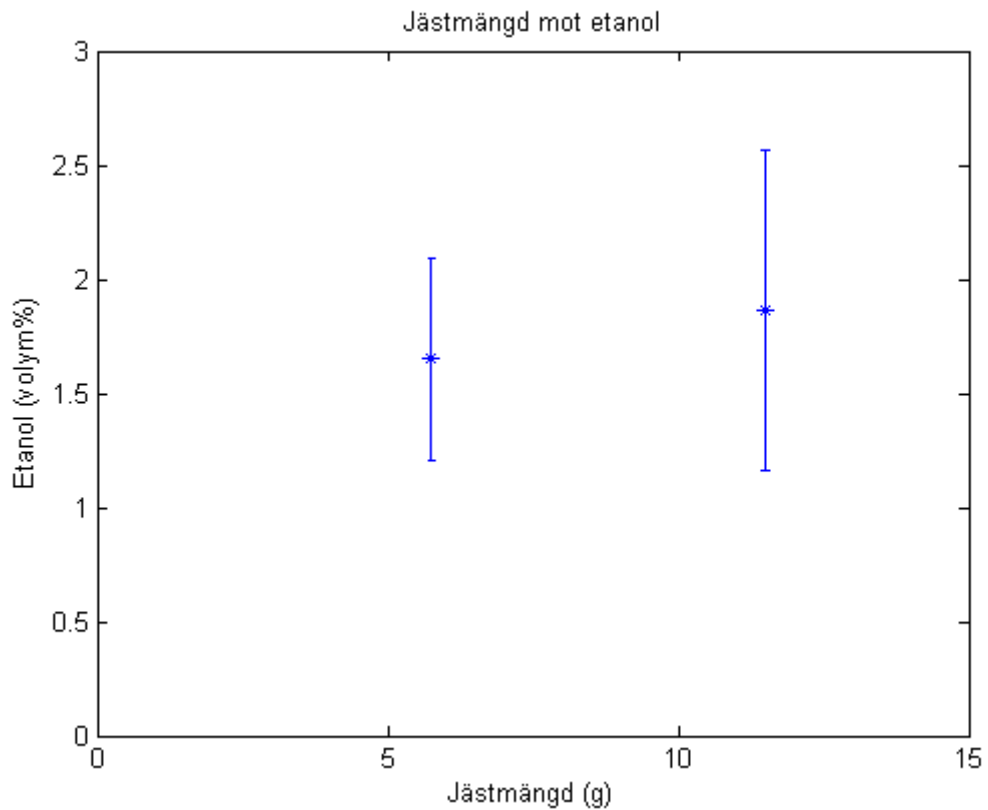


Figur 7. Hur ingångstemperaturen av jäsningsen påverkar etanol halten i volym% med tillhörande felstaplar.

Ett klart samband kan man inte se från figur 7, men man kan framförallt se variationerna i etanolhalten för samma ingångstemperaturer. Det finns inget klart samband mellan temperaturen och etanolhalten, vilket styrker att andra faktorer har större påverkan.

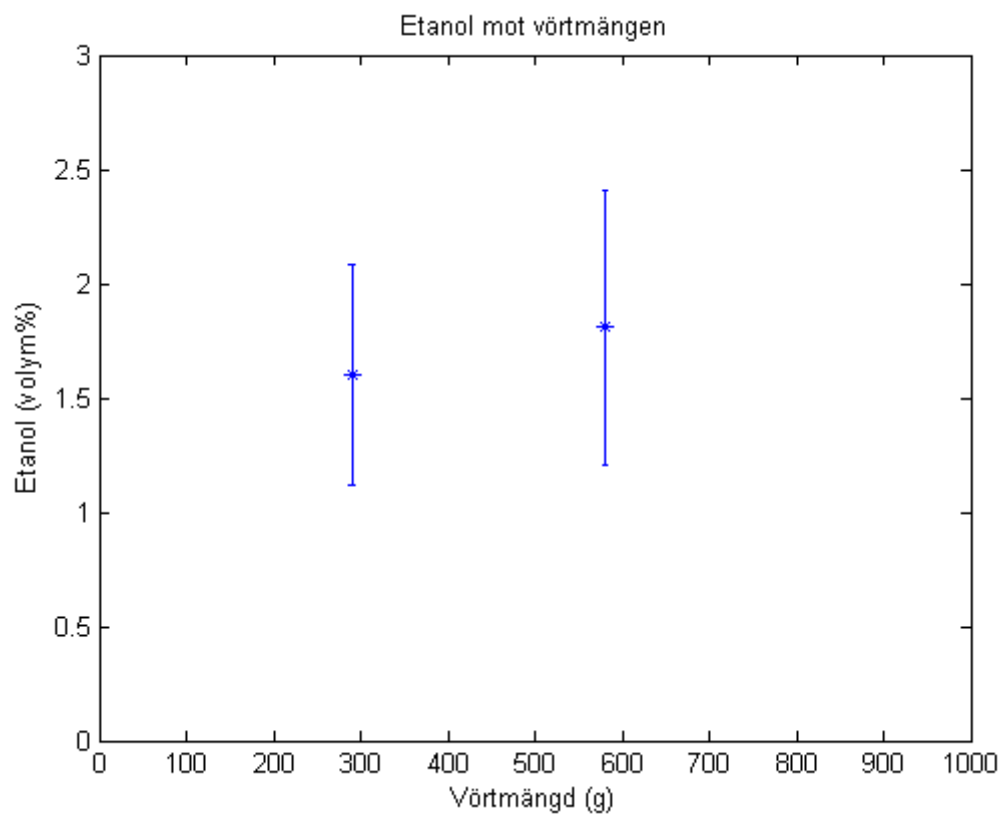
4.3.5 Vört och jäst mängd

Jästmängden och vörtmängden har båda blivit dubblerade, men etanolhalten anpassades till detta då den också dubblerades. Hur jästmängden påverkar visas i figur 8 och hur vörtmängden påverkar visas i figur 9.



Figur 8. Hur jästmängden i början av jäsningsen påverkar etanolhalten i volym% med tillhörande felstaplar.

Spridningen för jästmängden i figur 8 är mycket stor på 1 volym% som högst. Detta ger alltså ingen klart samband mellan jästmängden och etanolhalten. Hur vörtmängden påverkar visas i figur 9.



Figur 9. Hur vörmängden i början av jäsningen påverkar etanol halten i volym% med tillhörande felstaplar.

Resultatet för mängden vört i figur 9 är mycket lik jästmängden i figur 8. Mängden vört har även en stor spridning mellan data. Det är ingen tydlig trend, förutom att det finns samma trend som mängden jäst.

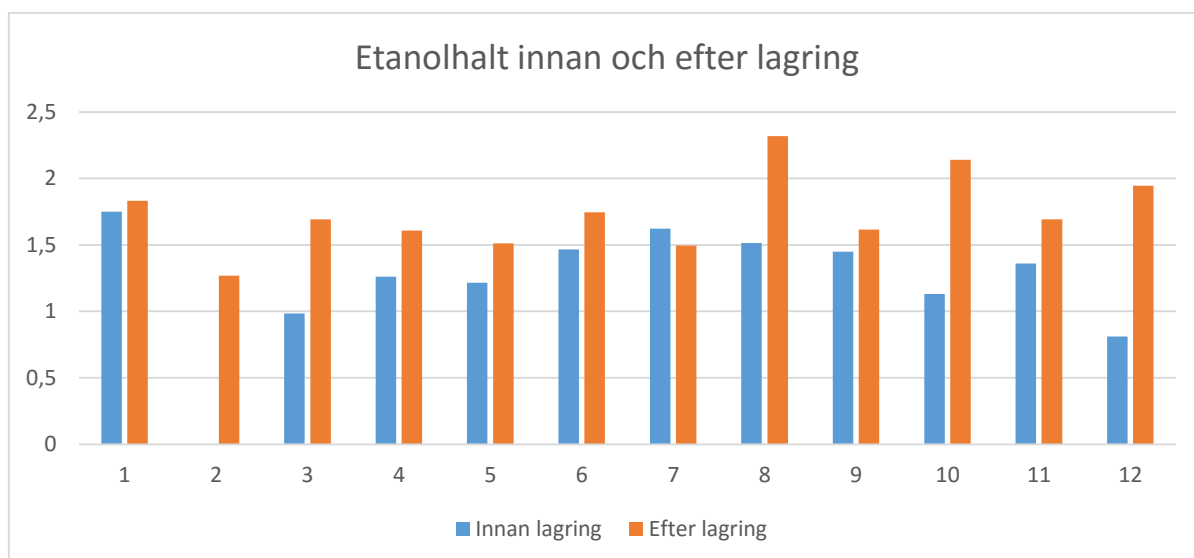
4.3.6 Lagring

I vissa fall kan det vara så att ölen efterjäser när den lagras. Anledningen till lagringen är att jästen ska sedimentera så att jästen inte följer med till flaskorna. Efterjäsningsen beskrivs i tabell 6 där skillnaden mellan efter och innan lagring visas och även medelvärdet av etanolökningen av lagring. Genom en statistisk analys som presenteras i Appendix kan man se om det finns någon signifikant skillnad mellan de olika testbryggningarna. Detta presenteras genom att dela in etanolhalterna i olika grupper som visas i tabell 6 genom bokstäver. Om etanolhalterna är i samma grupp så finns det ingen signifikant skillnad mellan värdena.

Tabell 6. Etanolhalter innan och efter lagring för de olika testbryggningarna, med skillnaden mellan dem och medelvärdet för skillnaden.

Testbryggningar	Ändring	Etanolhalt efter lagring (volym%)	Etanolhalt innan lagring (volym%)	Skillnad i etanolhalt för lagring	Medelvärde för skillnaden
1	0,3 bar syrgas	1,8 (a)	1,7 (a)	0,08	0,46
2	0,4 bar syrgas	1,3 (a)	Värde saknas	Värde saknas	
3	0,5 bar syrgas	1,7 (a)	1,0 (c,d)	0,71	
4	20 tim anaerob	1,6 (a)	1,3 (a,b,c,d)	0,35	
5	17 tim anaerob	1,5 (a)	1,2 (a,b,c,d)	0,30	
6	26 tim aerob	1,7 (a)	1,5 (a,b,c)	0,28	
7	24 tim aerob	1,5 (a)	1,6 (a,b)	-0,13	
8	22 tim aerob	2,3 (a)	1,5 (a,b,c)	0,81	
9	25 °C	1,6 (a)	1,4 (a,b,c)	0,17	
10	5 tim anaerob	2,1 (a)	1,1 (b,c,d)	1,01	
11	7 tim anaerob	1,7 (a)	1,4 (a,b,c,d)	0,33	
12	9 tim anaerob	1,9 (a)	0,8 (d)	1,14	

Detta visar alltså hur mycket man kan förvänta sig att etanolhalten ökar vid lagring, men det säger även att jäsningsen inte är klar innan lagringen. Detta illustreras även i figur 10.



Figur 10. Stapeldiagram med etanolhalter för innan och efter lagring för de olika testerna.

I figur 10 kan man se att under lagringen så bildas det även etanol och denna skillnad varierar mellan de olika testerna.

4.4 Slutgiltig brygging

Den sista bryggingen gjordes på vört som tillverkades på Lundabryggeriet för att få alla smaker och ingredienser som finns i deras lättöl. Efter att prov har tagits innan och efter jäsningsen så behöves även kontinuerlig provtagning för att veta exakt när alkoholhalten ökar. Prov togs kontinuerligt under jäsningsen där ett av proven lagrades ute i rumstemperatur i 2 timmar innan lagringen fortsatte i kylskåpet. Det andra provet är inte lagrad utan så fort provet togs, så frös detta ner för att stoppa all etanoltillverkning. I tabell 7 sammanfattas alla de olika parametrarna under jäsningsens gång och i tabell 8 sammanfattas resultatet för de olika proverna och skillnaden mellan dessa för de olika tidpunkterna från jäsningsens start. Jäsningsen var i en aerob fas tills mellan 35-40 timmar och då gick den över till en anaerob fas. För att se mer om den statistiska analysen från tabell 8 hänvisas till Appendix. De olika bokstäverna i tabell 8 visar om det finns någon signifikant skillnad mellan de olika proverna.

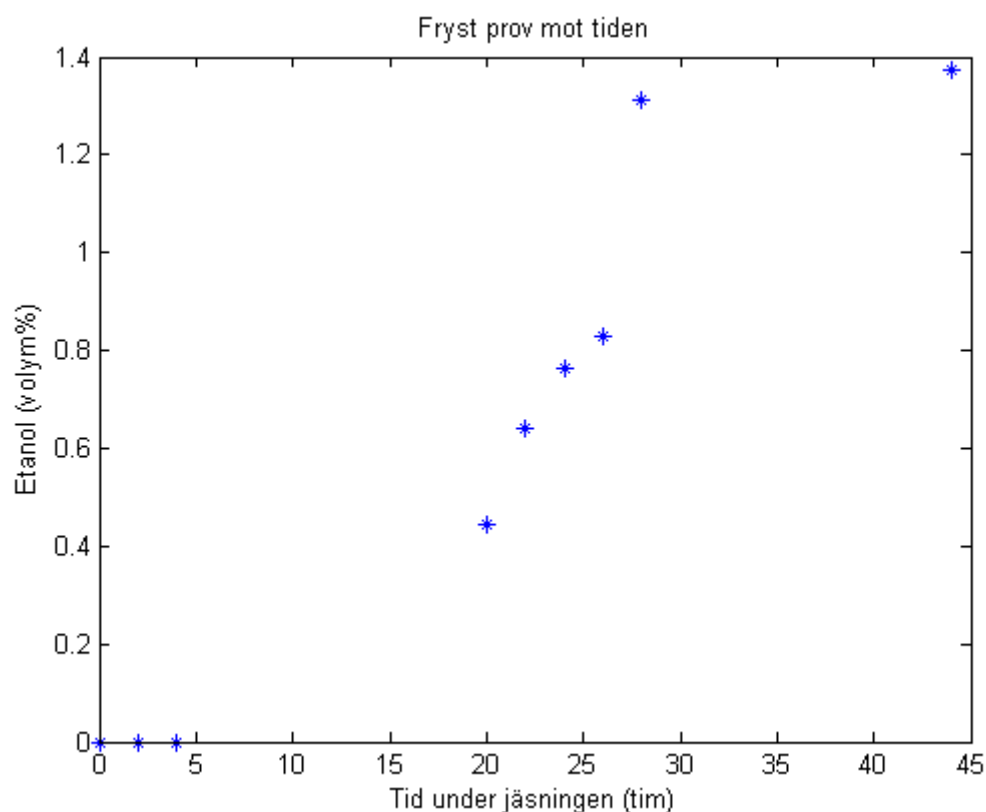
Tabell 7. Sammanfattning av den slutgiltiga bryggingen med temperaturer, specifik vikt med förjäsningsgraden, syreflödet, mängden löst syre och pH för olika tidpunkten då prov tog ut från bryggingen.

Tid efter start (tim)	Temperatur (°C)	Specifik vikt, innan jäsnings (Plato)	Specifik vikt, efter jäsnings (Plato)	Förjäsningsgrad (%)	Syreflöde (bar)	Mängden löst syre (ppm)	pH
0	23	5,8		100	0,4	14,77	5
2	24	5,8	5,9	100	0,4	32,69	5
4	24	5,8	5,9	100	0,4	32,46	5
20	24	5,8	4,7	19,0	0,5	10,76	4
22	24	5,8	4,3	25,9	1	10,13	4
24	24	5,8	4,1	29,3	1	10,03	4
26	24	5,8	3,7	36,2	1	11,39	4
28	24	5,8	3,5	39,7	1	10,75	4
44	23	5,8	2,9	50,0	1-0	1,61	3,5

Tabell 8. Den slutgiltiga bryggingens etanol halt för fruset och lagrat prov med dess skillnad mellan dessa vid olika tidpunkter för uttagning. Bokstäverna är från en statistisk analys.

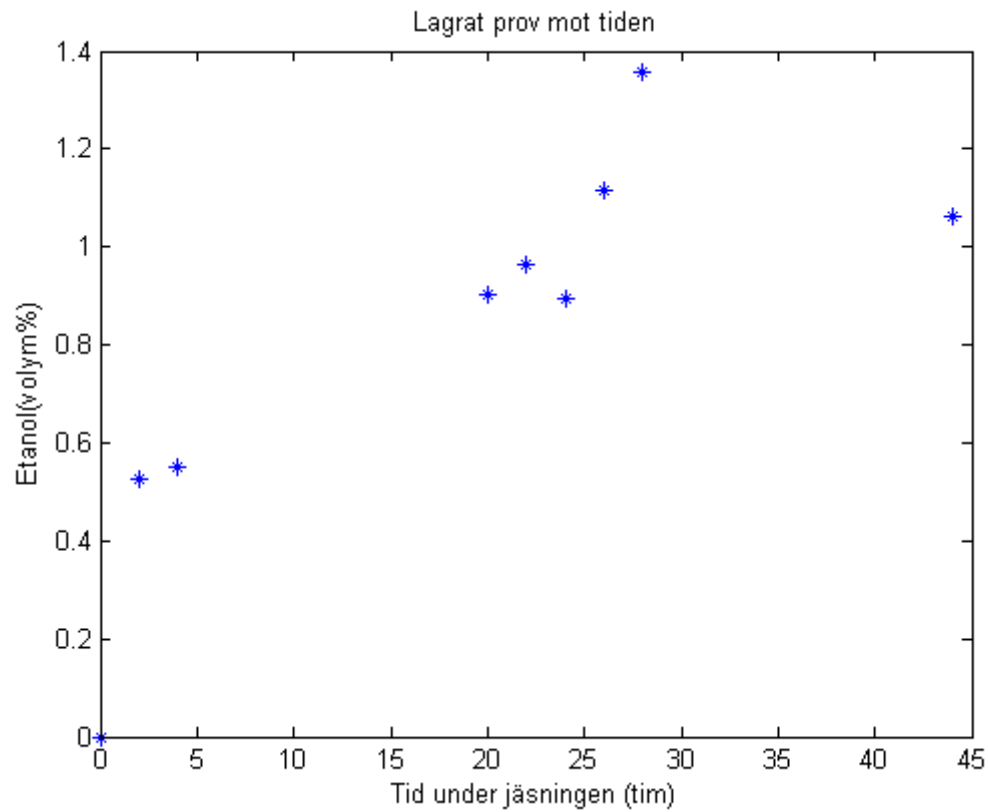
Tid (h)	Etanolhalt fruset prov (volym%)	Etanolhalt lagrat prov (volym%)	Skillnad etanolhalt i lagring	Medelvärde för skillnaden
0	0 (d)	0 (d)	0	0,22
2	0 (d)	0,53 (c)	0,53	
4	0 (d)	0,55 (c)	0,55	
20	0,45 (c)	0,90 (b,c)	0,46	
22	0,64 (b,c)	0,96 (a,b)	0,32	
24	0,76 (b,c)	0,89 (b,c)	0,13	
26	0,83 (b)	1,12 (a,b)	0,29	
28	1,31 (a)	1,36 (a)	0,046	
44	1,38 (a)	1,06 (a,b)	-0,31	

Resultatet från tabell 8 visas även grafiskt för de olika proven i figur 11 och figur 12 för både fruset och lagrat prov.



Figur 11. Etanolhalten på fruset prov som togs från den slutgiltiga bryggingen vid olika tidpunkter under jäsningsen.

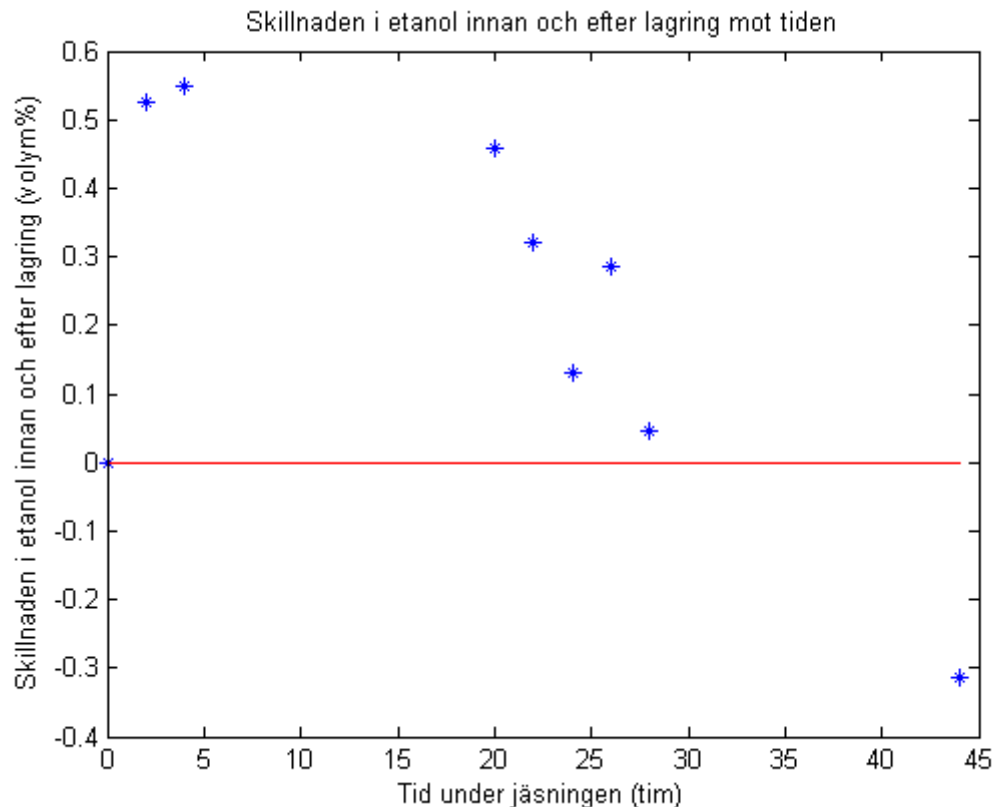
Under jäsningsens gång kan man se en klar uppåtgående kurva i figur 11 där prov har tagits ut och sedan blivit fryst. Detta ger alltså etanolhalten för just den tidpunkten i jäsningskärlet och vid ökad jäsningsstid ger ökad etanolhalt. Detta kan jämföras med prover som togs vid samma tidpunkt men som blev lagrade istället som visas i figur 12.



Figur 12. Etanolhalten av prover som tog ut från den slutgiltiga bryggningen vid olika tidpunkter under jäsningsen, som sedan har lagrats i en vecka.

Från figur 12 kan man se att resultatet också följer en trend av en linjär funktion där det finns en trend av vid ökad jästid så ökar etanolhalten.

Skillnaden mellan lagrat prov och fruset prov visas i figur 13. Detta ger hur mycket etanol som bildas under efterjäsningsen.



Figur 13. Etanolhalten av skillnaden mellan prover som varit lagrade och frysta mot tiden då proverna togs ut. Den röda linjen är 0, då skillnaden mellan de lagrade proven och de frusna proven är 0.

Från figur 13 så är majoriteten av resultatet av skillnaden över noll, vilket är förväntat att lagrat prov har högre etanolhalt än fruset prov. Efter ca 15 timmar är trenden att skillnaden mellan de lagrade och frysta proverna minskar även med tiden för provtagningen under jäsningen.

5. Diskussion

Mängden löst syre är den kritiska faktorn för byggnaden av alkoholfritt öl (White et al, 2010). Det som kan visas av resultatet är att när jästen växer i antal så minskar mängden löst syre, figur 1, därför behövs det även mer syre för att jästen ska finnas i en aerob fas. Därför måste syrehalten ökas under bryggningen beroende hur mycket jäst som bildas.

Tanken är att jästen ska växa genom fermentering och därmed konsumera sockret i den aeroba fasen. I den anaeroba fasen ska då inget socker finnas kvar för jästen ska tillverka alkohol. För att detta ska funka så måste all jäst vara i aerob fas under hela tiden. Den ökande jästmängden gör att om det finns socker kvar när syret stängs av så blidas mycket etanol under en kort tid. Det är troligt att etanolhalten ökar då det finns många fler jästceller som kan producera etanol. Detta kan ses för den slutgiltiga bryggningen i figur 11. Under natten mellan den första och andra dagen sänktes regulatorn av syret så att mängden löst syre kom under 10 ppm och då ökade etanolhalten kraftigt. Regulatorn var inte tillräckligt stabil och det kunde ske förändringar under tiden för bryggningen.

Vissa resultat har visat ett negativt värde mellan prover som har varit lagrade subtraherat prover som inte varit lagrade för etanolhalten. Detta är inte ett rimligt värde då etanolhalten inte kan försvinna under lagring, men det ger dock en indikation på hur stor felmarginalen är. De minus värdena har varit -0,13 och -0,31, vilket är ett ganska stort fel för just denna metod då alkoholfria produkter ska vara under 0,5 volym %. Denna måste därför minskas genom att göra felkällornas påverkan mindre.

Troligtvis finns denna felkälla i analysmetoden då alla övriga felkällor borde ta ut varandra då det var vid samma stickprov för både fruset och lagrat prov.

För alla resultat så finns det även en risk att vildjäst har kontaminerat bryggningen genom något material eller vid provtagningen då dessa oftast är luftburna. Dessa kan ge bismaker som inte är önskvärda, men framförallt en högre etanolproduktion och en högre tolerans mot etanol (Steensels et al, 2014). Om någon av bryggningarna har blivit kontaminerad av vildjäst så borde det även ge en högre alkoholhalt om mängden löst syre kommer under 10 ppm då vildjäst är mer benägen än vanlig jäst att producera etanol.

Förjäsningensgraden är oftast 80 % i alkoholhaltiga ölsorter. För dessa bryggningar så har förjäsningensgraden varit lägre än detta. Om man jämför vörten för den slutgiltiga bryggningen så blev den 50 % medan samma vört som användes för lättöl fick 72,8 % i förjäsningensgrad (Lundabryggeriet (c), 2015) Att förjäsningensgraden är lägre är något positivt för alkoholfria ölsorter. När jästen tillverkar alkohol går sockret åt till att tillverka koloxid som försvinner ut från bryggningen. Därför blir skillnaden större mellan specifik vikt innan och efter jäsning än för den alkoholfria. Detta då det under den alkoholfria processen inte tillverkas koldioxid utan nya jästceller som därför ökar vikten och ger utslag för den specifika vikten. En annan faktor är att etanol väger mindre än vatten, så när etanol bildas så sänks den specifika vikten ännu mer. Därför blir skillnaden mellan specifik vikt innan och efter jäsning större för alkoholhaltig öl än alkoholfri öl. Metoden specifik vikt kan ifrågasättas om det är den bästa metoden för att veta då alkoholfria ölsorters jäsning är klar. Men det kan även räcka att ha medvetenhet om att förjäsningensgraden blir mindre.

När man undersöker testbryggningarna efter lagring, se tabell 6, så blir det inte någon signifikant skillnad mellan dessa då alla enligt Tukey testet med 95 % konfidensintervall är i samma grupp. Detta visar att jäsningen är svår att kontrollera, då fermenteringen fortsätter tills det inte finns mer socker för jästen. Det enda sättet av avsluta bryggningarna vid den tidpunkten man vill är antingen att anpassa alla andra parametrar så att sockret tar slut tidigare. Detta kan göras med t.ex. att ha mer dextriner i vörten, som just denna jästsort inte kan bryta ner. Det andra sättet är att pastörisera ölet vid den tidpunkten man vill att jästaktiviteten ska avta, men det finns alltid en risk att man förlorar aromer och kontamination av vildjäst efter pastöriseringen blir mer förödande. Detta då om fermenteringen inte är avslutad så finns det socker kvar i ölet som vildjästen kan fermentera.

Det som jag anser fick det mest lovande resultatet av testbryggningarna under den aeroba tiden, trots dess spridning och osäkerhet i figur 5. Denna borde dock vara mycket längre för att allt socker ska kunna förbrukas så att när ölen går över till anaerob fas vid lagring så finns det inget socker att tillverka etanol med. För den slutgiltiga bryggningen så användes denna metod med en vört som används till lättöl. Lättölen blir max 2,5 volym%, vilket betyder att denna metod har sänkt alkoholhalten med ca 1 volym%, så slutresultatet blev ca 1,3 volym% (Lundabryggeriet (c), 2015). Alkoholhalten kan få ett ännu lägre värde om felkällornas inverkan minimeras, främst en ordentlig omrörning och en stabil syrerregulator. Det observerades att syrerregulatorn inte var stabil och gav inte en konstant syretillförsel till bryggningen.

Det som är mest relevant att undersöka vidare är de två första proverna som blivit lagrade för den slutgiltiga bryggningen. Dessa togs ut 2-4 timmar efter bryggningen startade och vid denna tidpunkt så fanns det ingen alkohol. Efter proverna blev lagrade i en vecka och fick efterjäsa så blev resultatet på alkoholhalten ca 0,5 volym%. Detta resultat är värt att undersöka vidare. Det kan vara så att det endast behövs 2-4 timmar för jästen att förbruka allt socker för tillväxt då det inte bildas någon alkohol efter det. De första timmarna hade jästen tillräckligt med syre för att inte bilda alkohol och det bevisar min teori då de även har en signifikant skillnad från de andra proverna. Detta var ett överraskande

resultat då det förväntade är att syrgasen endast förstärker etanoltillverkningen och det blir mer alkohol i provet. Det finns en risk att det inte fanns tillräckligt med jäst som var aktivt som kan ge att etanoltillverkningen fortsätter under lagringen eller att sockret inte blev förbrukat vilket ger en söt öl.

Det som inte verkar ha någon större inverkan på etanolhalten är syrehalten då proverna gav en stor spridning, så länge som den är över 10 ppm. Men den finns möjligheter att den kan påverka andra faktorer som smaken på ölet. En annan faktor vars inverkan inte var så stor är den anaeroba tiden. Detta beror på att efterjäsningen inte är medräknad i den anaeroba tiden. Den anaeroba tiden har därför ingen större inverkan då etanolhalten fortsätter öka vid lagring. Ingångstemperaturen har inte heller sådan större inverkan på etanolhalten då detta också gav en mycket stor spridning, men kan ha stor inverkan på smaken. Då vid högre temperaturer kan denna jäst tillverka bismaker som inte är önskvärda. Eftersom den inte har en större inverkan så är det bäst att ha ingångstemperaturen på 20 °C som rekommenderas för att undvika bismaker.

Hur mycket jäst och vört som används var ursprungligen uträknat från en mall, men under projektets gång ändrades denna mängd. Detta beror på smaken och för att undvika att vildjäst kontaminerar. Mängden jäst och vört visade ingen tydlig inverkan på etanolhalten. Med jästmängden är det bättre att ha mer än mindre jäst, för att jästen ska kunna konkurrera ut eventuell vildjäst. Detta är en säkerhetsaspekt och för att smaken inte varierar mellan olika bryggningar. Vörtmängden är även en smakfaktor och styr innehållet av socker. Tillsammans med Lundabryggeriet uträknades värdet på 580 g vört för att få den rätta smaken på det slutgiltiga ölet.

Syrgas tillsätts även idag hos bryggerier för att jästen ska kunna växa i inledningsfasen av fermentationen därför är det ingen större omställning att implementera metoden i bryggeriet. Genom att bara tillsätta syrgas så blir det inte någon större extra kostnad för bryggerierna, om man till exempel jämför med omvänd osmos, som är en större kostnad att implementera. Metoden är även mycket enkel att använda sig av och är enkel att tillsätta som en del i produktionen.

5.1 Felkällor

- Jäst är levande organismer, vilket kan göra att resultatet kan variera med jästcellerna och detta kan ge felkällor. Vid provtagningar finns det alltid en risk att vildjäst kan kontaminera eller om utrustningen inte blivit kontaminerad.
- Provtagningen var endast från toppen av jäsningskärlet, vilket kanske inte är representativt för hela jäsningskärlet.
- Regulatorn till syretanken var inte precis utan kunde ändras med tiden, framförallt när bryggningen lämnades under natten.
- Kaliberingskurvan är inte helt linjär, vilket ger ett osäkert värde på etanolhalten i ekvationen.
- Skicket på gaskromatografen och hanteringen under injiceringen ger en osäker etanolhalt.
- Framförallt vid stora volymer så blir det problematiskt för syrgasen att nå jästen. Det kan finnas "döda zoner" som syrgasen inte når. Detta kan undvikas genom omrörning. Detta valdes bort under testbryggningarna då syremätaren visade samma resultat i hela jäsningskärlet, men det kan ha varit ett problem vid de större volymerna.

6. Slutsatser

En metod för att tillverka alkoholfri öl med hjälp av tillförsel av syrgas som inte har utforskats innan undersöktes. Vid jämförelse med lättöl på max 2,5 volym% etanol så blir den approximativa sänkningen 1 volym% etanol med metoden, men det finns indikationer på att etanolhalten kan sänkas ytterligare genom optimering av syretillförseln. Om man minimerar alla felkällor så är det fullt möjligt att tillverka alkoholfri öl genom att ha en jäsning med syrgas under en längre tid och då är allt socker förbrukat till jästproduktion. För att denna metod ska fungera så är det kritiskt att all jäst i vörtkärlet får tillgång till syre under alla timmar, vilket kan vara en utmaning.

Det som man även kan gå vidare med är att endast tillsätta syrgas i 2-4 timmar då resultatet gav en alkoholfri öl efter lagring i en vecka.

7. Framtida rekommendationer

Detta projekt har utförts under en begränsad tid och med begränsade resurser. Det finns några parametrar som är värda att undersöka vidare och vissa som det inte fanns tillräckligt med tid till.

Det som märktes efter testbrygningarna, med endast tester innan och efter jäsningen var att exakta tiden för då vörten gick över 0,5 volym% alkohol var okänd. Fler försök med en kontinuerlig provtagning bör utföras. Det är rekommenderat att inte öppna locket, utan att ha en tapp istället för att ta ut prov för att inte störa jäsningen. Dess placering borde vara så långt ner som möjligt, men över jästsedimentet. Det som även borde finnas med i alla framtida tester är stabil regulator på syrgasen och omrörning.

Genom resultaten som denna rapport har gett så om man kan avsluta jäsningen vid en kontrollerad tidpunkt så kan man kontrollera alkoholhalten. Ett sätt att göra detta på är pastörisering. Denna metod kan undersökas vidare, men det som är viktigt att ha med sig är att kontaminationen på en pastöriserad brygning ger ökad alkoholhalt.

Det är nödvändigt att veta hur mycket jästen förökar sig, då det verkar som att vid en tidpunkt kommer jästpopulationen till ett maximalt värde. Detta kan göras genom endast en optisk undersökning med mikroskop. Det är därför en möjlighet att undersöka detta vidare, men även om det har blivit kontamination av andra jästceller. En annan faktor som man kan undersöka vidare är olika jäststammar. För detta projekt användes samma jäst som används för lättöl, men det finns jäststammar som producerar mindre etanol.

För att en alkoholfri öl ska kunna komma ut till konsumenterna så måste metoden appliceras på en stor skala. Jästens tillgång till syre är mycket viktigt i en stor skala, vilket kan åstadkommas med omrörning. Här är det även viktigt att undersöka hur man kan mäta etanolhalten på ett lämpligt vis, då gaskromatografi är mycket kostsamt.

En faktor som är mycket viktigt och som inte gick att utföra under den begränsade tiden är ett smaktest. Hur smaken upplevs av konsumenterna spelar en stor roll i val av metod. Med de resultaten så kan man behöva göra Anpassningar i metoden.

Denna metod kan även utvecklas till andra processer där man vill undvika etanoltillverkning, alkoholfritt vin som ett exempel.

8. Referenser

Alla France, *Certificate of conformity*, 2015

Buckee G.K och Mundy A.P, *Determination of ethanol in beer by gas chromatography (direct injection)- Collaborative trial*, J.Inst.Brew, 1993, vol.99, sid. 381-3

Contreras.A, Hidalgo.C, Schmidt.S, Henschke.P, Curtin.C and Varela.C, *The application of non-Saccharomyces yeast in fermentations with limited aeration as strategy for the production of wine with reduced alcohol content*, International Journal of Food Microbiology, 2015, Vol. 205, sid: 7–15

Hornsey.I, *Brewing*, The Royal Society of Chemistry, 2: nd edition, 2013

Liguori.L, Francesco.G, Russo.P, Perretti.G, Albanese.D and Metteo.M, *Production and characterization of alcohol-free beer by membrane process*, Food and bioproducts processing, 2015, v. 94, sid.158-168

Lundabryggeriet (a), <http://lundabryggeriet.rmedia.se/wp/scrn/#intro>, lästes:25-06-2015

Lundabryggeriet (b), *Lundabrygd 175-176 - Redig skånsk lättöl*, 6 maj 2015

Lundabryggeriet (c), *Lundabrygd 201-202 - Redig skånsk lättöl*, 23 sep 2015

Sohrabvandi. S, Mousavi. S, Razavi. S, Mortazavian. A och Rezaei.K, *Alcohol-free Beer: Methods of Production, Sensorial Defects, and Healthful Effects*, Taylor & Francis Group, 2010, vol.26, sid. 335-352

Steensels.J och Verstrepen.K, *Taming wild yeast: Poteintial of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations*, The Annual Review of Microbiology, 2014, Vol. 68, sid:61-80

Taniguchi.Y, Matsukura.Y, Ozaki.H, Nishimura.K and Shindo.K, *Identification and Quantification of the Oxidation Products Derived from α -Acids and β -Acids During Storage of Hops (*Humulus lupulus* L.)*, American Chemical Society, 2013, sid. 3121–3130

White. C och Zainasheff. J, *Yeast, The practical guide to beer fermentation*, Brewers Association, 2010

Bilagor

Bryggningar, Innan lagring

One-way ANOVA: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

* NOTE * Cannot draw the interval plot for the Tukey procedure. Interval plots for comparisons are illegible with more than 45 intervals.

Method

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level $\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values
Factor 12 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	11	4,7617	0,43288	19,93	0,000
Error	12	0,2607	0,02172		
Total	23	5,0224			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,147390	94,81%	90,05%	79,24%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
1	2	1,7494	0,0824	(1,5224; 1,9765)
2	2	0,000000	0,000000	(-0,227078; 0,227078)
3	2	0,9844	0,0686	(0,7573; 1,2115)
4	2	1,2604	0,0430	(1,0333; 1,4875)
5	2	1,216	0,239	(0,989; 1,443)
6	2	1,4653	0,1409	(1,2383; 1,6924)
7	2	1,6226	0,0936	(1,3955; 1,8497)
8	2	1,514	0,219	(1,287; 1,741)
9	2	1,448	0,169	(1,221; 1,675)
10	2	1,130	0,278	(0,902; 1,357)
11	2	1,36082	0,01142	(1,13374; 1,58790)
12	2	0,8113	0,0881	(0,5842; 1,0384)

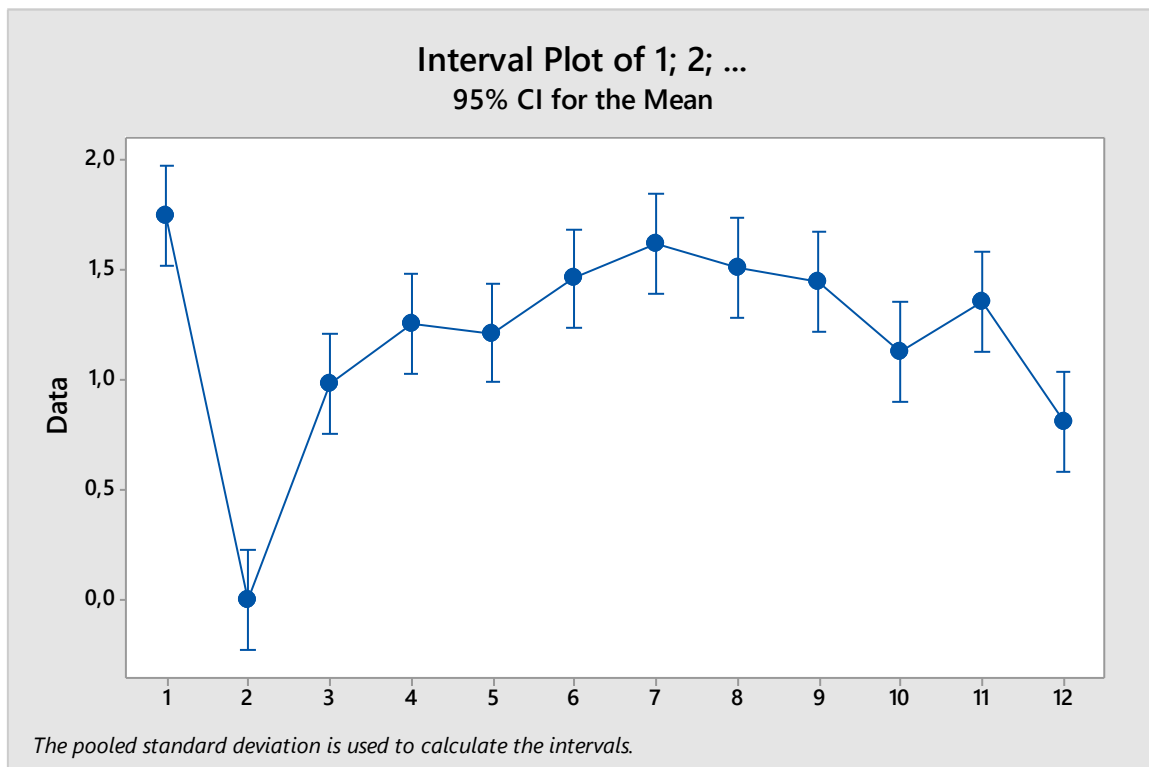
Pooled StDev = 0,147390

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
1	2	1,7494	A
7	2	1,6226	A B
8	2	1,514	A B C
6	2	1,4653	A B C
9	2	1,448	A B C
11	2	1,36082	A B C D
4	2	1,2604	A B C D
5	2	1,216	A B C D
10	2	1,130	B C D
3	2	0,9844	C D
12	2	0,8113	D
2	2	0,000000	E

Means that do not share a letter are significantly different.



Bryggningar, Efter lagring

One-way ANOVA: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

* NOTE * Cannot draw the interval plot for the Tukey procedure. Interval plots for comparisons are illegible with more than 45 intervals.

Method

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level $\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	12	1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	11	1,8336	0,16669	2,36	0,078
Error	12	0,8470	0,07058		
Total	23	2,6805			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,265668	68,40%	39,44%	0,00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
1	2	1,832	0,212	(1,423; 2,241)
2	2	1,2693	0,0281	(0,8600; 1,6786)
3	2	1,6927	0,0537	(1,2834; 2,1020)
4	2	1,60804	0,00777	(1,19874; 2,01734)
5	2	1,5122	0,0342	(1,1029; 1,9215)
6	2	1,746	0,612	(1,337; 2,155)
7	2	1,495	0,285	(1,086; 1,905)
8	2	2,3184	0,0562	(1,9091; 2,7278)
9	2	1,615	0,508	(1,206; 2,025)
10	2	2,1405	0,0306	(1,7312; 2,5498)
11	2	1,693	0,162	(1,283; 2,102)
12	2	1,946	0,230	(1,537; 2,356)

Pooled StDev = 0,265668

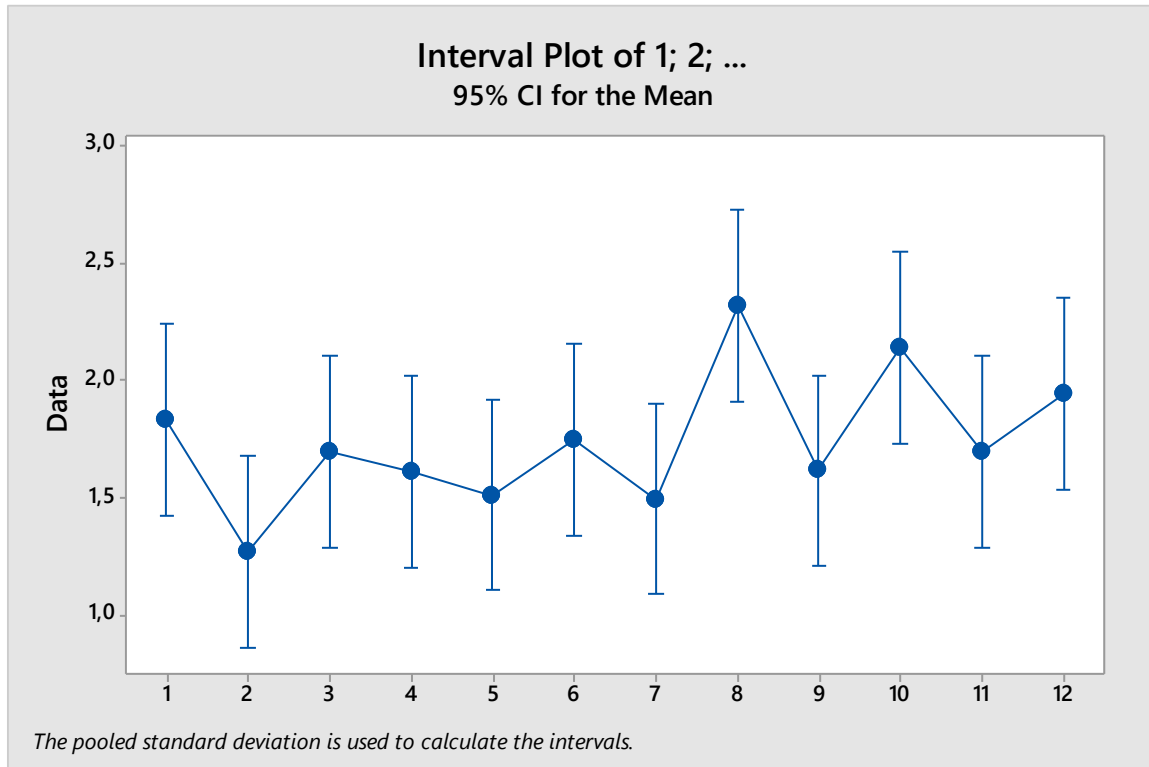
Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
8	2	2,3184	A
10	2	2,1405	A
12	2	1,946	A
1	2	1,832	A
6	2	1,746	A

3	2	1,6927	A
11	2	1,693	A
9	2	1,615	A
4	2	1,60804	A
5	2	1,5122	A
7	2	1,495	A
2	2	1,2693	A

Means that do not share a letter are significantly different.



Slutgiltig brygging, Frusen

One-way ANOVA: 0; 2; 4; 20; 22; 24; 26; 28; 44

Method

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level $\alpha = 0,05$
Rows unused 18

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values
Factor 9 0; 2; 4; 20; 22; 24; 26; 28; 44

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	8	4,58091	0,572614	61,22	0,000
Error	9	0,08418	0,009353		
Total	17	4,66509			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0967132	98,20%	96,59%	92,78%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
0	2	0,000000	0,000000	(-0,154701; 0,154701)
2	2	0,000000	0,000000	(-0,154701; 0,154701)
4	2	0,000000	0,000000	(-0,154701; 0,154701)
20	2	0,4458	0,0369	(0,2911; 0,6005)
22	2	0,641	0,150	(0,487; 0,796)
24	2	0,76359	0,01397	(0,60889; 0,91830)
26	2	0,8299	0,0960	(0,6752; 0,9846)
28	2	1,3107	0,0834	(1,1560; 1,4654)
44	2	1,375	0,210	(1,220; 1,530)

Pooled StDev = 0,0967132

Tukey Pairwise Comparisons

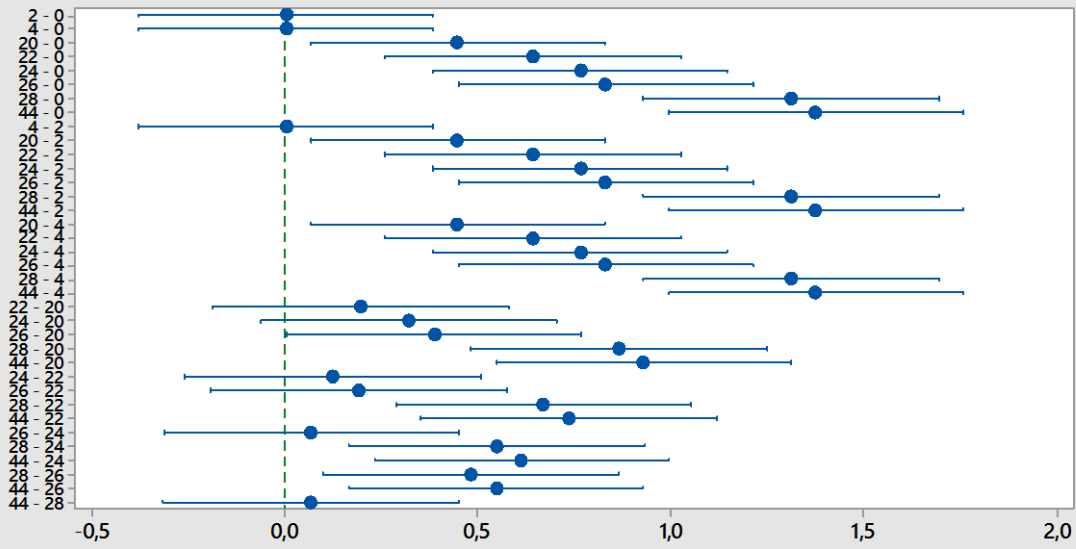
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
44	2	1,375	A
28	2	1,3107	A
26	2	0,8299	B
24	2	0,76359	B C
22	2	0,641	B C
20	2	0,4458	C
4	2	0,000000	D
2	2	0,000000	D
0	2	0,000000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

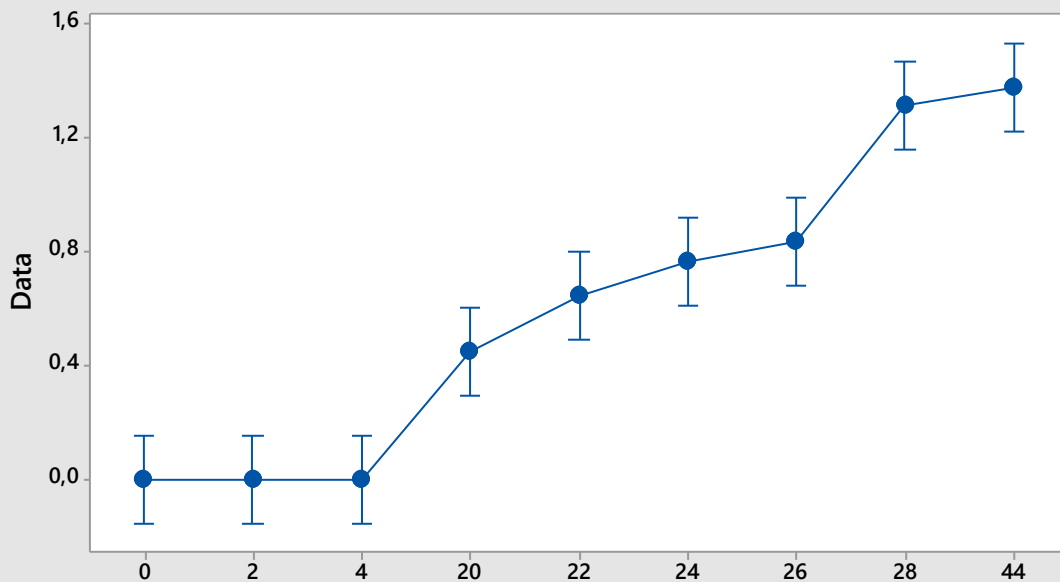
Difference of Means for 0; 2; ...



If an interval does not contain zero, the corresponding means are significantly different.

Interval Plot of 0; 2; ...

95% CI for the Mean



The pooled standard deviation is used to calculate the intervals.

Slutgiltig brygning, Lagrad

One-way ANOVA: 0; 2; 4; 20; 22; 24; 26; 28; 44

Method

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level $\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	9	0; 2; 4; 20; 22; 24; 26; 28; 44

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	8	2,60131	0,32516	31,75	0,000
Error	9	0,09217	0,01024		
Total	17	2,69349			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,101201	96,58%	93,54%	86,31%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
0	2	0,000000	0,000000	(-0,161880; 0,161880)
2	2	0,525	0,217	(0,363; 0,687)
4	2	0,54886	0,00190	(0,38698; 0,71074)
20	2	0,904	0,142	(0,742; 1,066)
22	2	0,9620	0,0900	(0,8001; 1,1239)
24	2	0,8940	0,1136	(0,7321; 1,0559)
26	2	1,1163	0,0284	(0,9545; 1,2782)
28	2	1,3571	0,0552	(1,1952; 1,5190)
44	2	1,06216	0,01246	(0,90028; 1,22404)

Pooled StDev = 0,101201

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
28	2	1,3571	A
26	2	1,1163	A B
44	2	1,06216	A B
22	2	0,9620	A B
20	2	0,904	B C
24	2	0,8940	B C
4	2	0,54886	C
2	2	0,525	C
0	2	0,000000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

