

Doktori értekezés tézisei

Kovács Attila Gábor

Budapest

2017



Szent István Egyetem

**Körtegyümölcs alkoholos
fermentációjának és párlatai
aromaprofiljának tanulmányozása**

Kovács Attila Gábor

Budapest

2018.

A doktori iskola

- Megnevezése:** Élelmiszertudományi Doktori Iskola
- Tudományága:** Élelmiszertudományok
- Vezetője:** **Dr. Vatai Gyula** egyetemi tanár
Szent István Egyetem,
Élelmiszertudományi Kar,
Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék
- Témavezetők:** **Dr. Hoschke Ágoston** egyetemi tanár
Szent István Egyetem,
Élelmiszertudományi Kar,
Sör- és Szeszipari Tanszék
Dr. Nguyen Duc Quang egyetemi tanár
Szent István Egyetem,
Élelmiszertudományi Kar,
Sör- és Szeszipari Tanszék

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....

Az iskolavezető jóváhagyása

.....

A témavezető jóváhagyása

1. A munka előzményei és célkitűzései

A gyümölcspárlat Európában népszerű szeszital, de a világ más tájain is fogyasztanak gyümölcsből készült párlatokat. Az égetett szesz itallal kapcsolatos első magyarországi adat a 14. századi királyi udvarból származik, amikor Erzsébet királyné pálinkába áztatott gyógynövény (rozmaring) kivonattal gyógyította férje köszvényét. Azóta a pálinka a 20. század közepétől a kilencvenes évekig tartó korszak kivételével mindig is fontos és népszerű ital volt a társadalomban. A fogyasztói elvárások azonban egyre növekednek, így új kihívások elé állítják a gyártókat. Általában a fogyasztók szeretik állandóan azt a terméket megvásárolni, amit megszoktak, mert a fogyasztott italokhoz mindenkiben társul egy emlékkép, egy élmény. Ennek alapján a párlatok ízvilágát és aroma összetételét javító törekvések fontosak és egyre inkább előtérbe kerülnek a termék fejlesztésében, hiszen ezekkel népszerűsíthető és hosszú távon eladható egy-egy termék, továbbá a minőség által építhető leginkább a saját márka imázs. A pálinka előállításánál a gyümölcsből származó, valamint a fermentáció során képződő illékony komponensek nagy része a desztillálás során a párlatba jut, kialakítva annak élvezeti értékét. A gyümölcsalapú párlatok íz és aroma világa elsősorban a gyümölcs-alapanyag minőségétől, érettségi állapotától függ, de az ital végső minőségét nemcsak az alapanyag határozza meg. Az alkalmazott technikák (mosás, aprítás, adalékok és azok bekeverési módja) a savak és élesztők, valamint a desztilláció és az érlelési technológia nagyon sokat hozzátehetnek (vagy elvehetnek) a pálinkák minőségéhez és élvezeti értékéhez. A különböző élesztő törzsek eltérő arányban képeznek különböző metabolitokat és ez a minőségben is tapasztalható. Az élesztők tudatos alkalmazásához azonban ismerni kell az egyes törzs tulajdonságát, valamint aromatermelő képességét. Továbbá ezen keresztül különlegessé és egyediségessé tehető a pálinka, így azonosíthatóvá is válhat. Ezen szempontok alapján kétségkívül az állandó minőségű pálinka előállítása kulcstényező lehet egy sikeres pálinkagyártó számára.

A fogyasztói élményt tovább fokozzák az eredetvédett pálinkák, amelyek általában magasabb piaci értékkel és az azt megalapozó kiváló minőséggel és hírnévvel rendelkeznek. Sajnos más szeszestallal (pl. whiskey és konyak) szemben még nem létezik olyan nyomkövető rendszer (kategorizáló mechanizmus), amely a termék összetevőit vizsgálja és amely alkalmazása lehetővé teszi a pálinkák csoportosítását eredetük vagy alapanyaguk szerint. Jelenleg csak a pálinkagyártók becsületességére és a származást igazoló dokumentumokra hagyatkozhatunk, ha bizonyítani szeretnénk az eredetvédett pálinkák alapanyagának minőségét, illetve termőhelyét. Az eredetvédett pálinkák többlet értéke miatt megjelennek a tisztességtelen szereplők, akik haszonszerzés céljából hamisítják a termékeket pl. természetes vagy FTNF (From The Named Fruit) aroma adagolásával, vagy egyszerűen nem eredetvédett terméket árusítanak eredetvédeként. E problémakör kezelésére egy vegyi analitikai módszeren alapuló pálinkaminősítő rendszer kidolgozása nyújthat megoldást.

A PhD kutatási munkámban két pillérre fektettem a hangsúlyt: a pálinkagyártás technológiájának fejlesztésére, valamint a pálinkák minőség alapú osztályozására. Az első témakörben a különböző gyártási technikák pálinkák minőségére gyakorolt hatását vizsgálom, amely magába foglalja a cefrézést, erjesztést és desztillálást. E feladat célja a helyes technológia megválasztása és alkalmazása a pálinkagyártás során. A tudatosan megválasztott pálinkagyártási technológia használatával a pálinkák minőségi ingadozása csökkenthető, így élvezeti és piaci értékük, valamint piaci pozíciójuk hosszútávon biztosítható. A második pillér a megalapozó kutatások végzése olyan eljárás kidolgozására, amely az eredetvédett termékek ellenőrzését és minőségbiztosítását teszi lehetővé. A munkám eredményeivel bizonyítani szeretném, hogy a párlatok az illó komponenseik vizsgálatával évjáratuk, termőhelyük és alapanyaguk szerint csoportosíthatók.

A következő részfeladatokat tűztem ki célul:

1. A pálinkák aromaprofilját befolyásoló tényezők megismerése
2. Standard eljárás alkalmazása a különböző körtepálinkák előállítására

3. Megfelelő analitikai módszer kidolgozása vagy adaptálása, amely segítségével a pálinka összetevői minőségileg és mennyiségileg is meghatározhatók
4. Statisztikai módszerek adaptálása és alkalmazása, amelyek által az analitikai mérések során szerzett információk értékelhetőek és értelmezhetőek
5. Kapcsolatok keresése a körtepálinkák és a felhasznált gyümölcsfajták között
6. Marker vegyületek keresése, amelyek minőségi és mennyiségi profilja jellemezhető egy-egy pálinka évjáratára, esetleg termőhelyére

2. Anyagok és módszerek

Kísérleteimhez három különböző *Saccharomyces cerevisiae* törzset (342, YS4 és 228) használtam.

A kísérletben használt körtéket a Göcsej eredetvédett területéről és Nagykanizsáról, vásárolta a Budapesti Corvinus Egyetem Sör- és Szeszipari Tanszéke kutatási célokra. A körtéket utóérlelés céljából klimatizált hűtőházban tároltam a feldolgozás napjáig (5 napig). A több mint 3 éves kísérletsorozat kivitelezéséhez az egyes gyümölcsök beszerzése mindig azonos termelőktől történt három egymást követő éven át (2010, 2011 és 2012).

A laboratóriumi kísérletekhez a gyümölcs feldolgozását a mosással kezdtem, ezt követően elektromos darálóval aprítottam. Az így nyert levét és a zúzalékot újra összekevertem, kezdeti pH-ját, szárazanyag tartalmát, valamint redukálócukor tartalmát megmértem. Az alapos aprítás után pektinbontó enzimkomplexet adagoltam a mintákhoz. Ezt követte a tápsó adagolása. Az így összeállított félkész cefrét ezután 500 ml térfogatú erjesztő lombikokba mértem be. A cefrék pH-ját 3,0-ra állítottam különböző savak felhasználásával (kísérlettől függően kénsav, foszforsav és tejsav vagy foszforsav és tejsav együttes keverékével).

A pálinkák aromaprofiljának vizsgálatára, valamint a desztilláló protokoll kidolgozására félüzemi léptékű kísérletekre volt szükség. A félüzemi kísérletek során végzett cefrézési protokoll hasonló a laborkísérletekben használt protokollhoz, azonban egyes berendezések működési elve eltérő. Az erjesztőtartályokba 40 kg cefrét mértem be, amelyet a tápsó adagolás követett (11 g/100 kg). Megmértem a körte természetes pH-ját, szárazanyag tartalmát, valamint redukálócukor tartalmát. A cefrék savasságát pH 3-ra állítottam, ezt követően a pektinbontó enzimek készítményét adagoltam. Az alkoholos fermentációt a rehidratált élesztő hozzáadásával indítottam el.

A pektinbontó enzimek hatásának vizsgálatát laboratóriumi körülmények között végeztem. Három pektinbontó enzimek készítményt vizsgáltam: Rapidase Clear, Lallzyme EXV és Lallzyme HC. A kezelt cefrék 10 g mintáját centrifugáltam (10000 g, időtartam 3 perc). A nyert felülúszó mennyiségét 10 ml térfogatú mérőhengerben mértem. A mintáimat a kontrol mintához viszonyítva állapítottam meg, hogy elfolyósítás észlelhető-e vagy sem.

Az laboratóriumi irányított erjesztéshez az erjesztő lombikokat analitikai mérlegemmel lemértem, majd a lombikok nyílását vízzárás kotyogókkal lezártam. A cefréket 16 °C-ra beállított termosztátban erjesztettem. A fermentációt 7 napig végeztem. Naponta 40 cm³ mintát vettem, amit -50 °C fokon tároltam a további vizsgálatokig.

A vizsgálat során naponta mértem az erjedő cefre pH-ját, oldott szárazanyag tartalmát, valamint tömegváltozását. Az utóbbival a keletkezett és eltávozott CO₂ mennyiségét követtem nyomon. A fermentáció befejeztével, a kiejert cefréket Gibertini gyártmányú laboratóriumi gőzdesztilláló berendezéssel desztilláltam.

A félüzemi fermentáció szintén az élesztő adagolásával kezdődött. A szárított élesztőt (*S. cerevisiae* 228) steril lombikban rehidratáltam, a rehidratációhoz 0,1M töménységű NaCl oldatot, 2g/L glükózt és steril élesztő tápsót használtam (7g/L). Fermentáció hossza 10 nap volt, minden cefre esetében irányított fermentációval ennyi idő elegendő a cefre kiejedésére. A fermentáció

hőmérséklete 16 °C, 3,0 pH érték mellett. A párlat készítése során 3 ponton vettem mintákat: a friss darált gyümölcsből, a 10 napos kiejedt cefréből, és a kész párlatból.

Az asszimilációs vizsgálat során kémcsövenként 5 ml sterilizált YPG táplevest készítettem elő, amelyeket egy éjszakán át inkubáltam. A nyert élesztő szuszpenziót centrifugáltam. A felülúszó eltávolítása után a pelletet NaCl oldattal kétszer átmostam. Végül 1,5 ml 0,85%-os sóoldatban szuszpendáltam és két órán át inkubáltam 25°C fokon folytonos rázatás mellett. Az inkubálást követően a szuszpenziót újra centrifugáltam, a pelletet pedig szuszpendáltam 1 ml 0,85%-os NaCl oldatban. A teszt elvégzéséhez a következő szénforrásokat használtam: glükóz, fruktóz, ribóz, melibióz, laktóz, raffinóz, inulin, celibióz, metanol és etanol. 0,5 g szénforrást (kristályforma) feloldottam 90 ml vízben és 4,5 ml oldatot a kémcsövekbe pipettáztam. Ezt követően 0,5 ml steril YNB táplevest adtam hozzá, majd egy kacsnyi élesztőtörzssel oltottam be. A kísérlet 14 napig tartott. A mintákat a hatodik, a tizedik és a tizennegyedik napon értékeltem.

Az erjesztési vizsgálatban az élesztőtörzseket egy éjszakán keresztül szaporítottam YEPD táplevesben. A teszt során a következő szénforrásokat használtam: glükóz, fruktóz, ribóz, melibióz, laktóz, raffinóz, inulin, cellibióz, etanol, metanol. A Vidal tesztsöveket bázikus táplevessel töltöttem meg. A tesztsöveket aerob körülmények között 25±2°C-on inkubáltam tíz napig. A tápleves zavarossága növekedésre, a vazpar (vazelin és parafin keveréke) dugó elmozdulása és az indikátor sárgára színeződése arra utal, hogy az élesztő erjesztette a vizsgált szénhidrátot.

A laboratóriumi kísérleti mintáimat céltól függően konduktív fűtésű desztilláló berendezéssel vagy gőzdesztillációval desztilláltam. Az illósav és összes észtertartalom meghatározására gőzdesztilláló berendezést használtam, az aromaanyagok vizsgálatára a konduktív fűtési módot választottam, az ugyanis kevésbé hígítja a kondenzátumot.

A cefréket klasszikus és kapcsolt analitikai módszerekkel is vizsgáltam. Meghatároztam a cefrék pH-ját, alkoholtartalmát, szárazanyag tartalmát,

redukálócukor tartalmát, illó és titrálható savtartalmát valamint észtertartalmát. A cukrok, az etanol és a metanol mennyiségi és minőségi meghatározását HPLC-vel végeztem. A rendszer RI és PDA detektorokkal volt ellátva, az elválasztás Bio-Rad Aminex HPX-87H oszlopon (BioRAD, USA) történt. Eluens 0,005 N H₂SO₄ volt, izokromatikus módban eluáltam 25 perc 0,5 ml/perc térfogatárammal.

A kísérletben használt savak cefrékre gyakorolt hatását laboratóriumú körülmények között vizsgáltam Bosck Cobak körtecefre fermentációja során. Az irányított fermentációhoz pH 3-at (+/- 0,08) állítottam be foszforsavval, kénsavval és tejsavval. A cefréket egy héten át fermentáltam.

A párlatokat GC-FID és GC-MS módszerekkel vizsgáltam. A GC-FID berendezésben a párlatok komponenseinek elválasztása egy Varian CP-WAX-57 CP kapilláris oszlopon történt. A pálinka alkotóinak pontosabb kvalitatív és kvantitatív meghatározásához az Agilent 6890 típusú gáz kromatográfot és a hozzákapcsolt, szintén Agilent gyártmányú, 5973 típusú tömegspektrométer detektort (monolitikus hiperbola kvadrupol) alkalmaztam, az elválasztás egy ZB-Wax típusú oszlopon történt. A tömegspektrométer SIM (Selective Ion Monitoring) üzemmódban működött, ionizációs energia 70 eV, ion forrás hőmérséklete 230 °C.

A gázkromatográfiás mérések eredményeit variancia-analízissel, főkomponens analízissel és lineáris diszkriminancia analízissel vizsgáltam.

3. Az eredmények összefoglalása

3.1. Műszeres analitikai módszerek adaptálása

A GC-MS módszer adaptálásával egy olyan átfogó mérési módszert fejlesztettünk ki, amely alkalmas a pálinkák összetevőinek mennyiségi és minőségi meghatározására. A módszerfejlesztés kezdetén a minták komponenseinek elválasztását két oszloppal is elvégeztük (CP-Wax 57 CB, 50m x 0,33mm x 0,2µm és ZB-WAX 60m x 0,25 mm x 0,25 0,25 µm). A CP-WAX

57 CB oszlop használatát elvetettük két ok miatt a) az aceton/metil-acetát csúcspárra rosszabb volt az elválasztás, b) a korai komponensekre tailing-es csúcsok megjelenése (főleg acetaldehid és metanol esetén). A 2870/2000/EK RENDELET megengedi, hogy az amilalkoholokat (2-metil-butanol és 3-metil-butanol) ne szelektíven, hanem együttesen határozzuk meg, ami lángionizációs (FID) detektorral is könnyen kivitelezhető.

A pálinka minőségét befolyásoló gyártási technológia hatásának vizsgálatára a GC-FID analitikai rendszer (oszlop: CP-WAX : 50 m x 0,33 mm x 0,2 µm) elégségesnek bizonyult. Az injektor hőmérsékletét 220 °C fokra, a detektor hőmérsékletét pedig 250 °C állítottam be. A módszer kiváló stabilitást és robusztusságot tesz lehetővé az alkohol/víz alapú minták analízisében.

3.2. Különböző élesztőtörzsek vizsgálata

Több kísérletet végeztem az élesztőtörzsek képességeinek feltárására. Megállapítottam, hogy a különböző savas kezelések a cefrézés során hatást gyakoroltak a redukáló cukor mennyiségének változására, azaz alkohol erjesztésére. A foszforsavval kezelt cefrék intenzívebb cukorfogyást mutattak, mint a többi savval kezelt minta az alkalmazott élesztőtől függetlenül. A foszforsavas kezelés hatására az erjedés, ha kevésbé is, de elnyújtottabb dinamikát mutatott, mint a tejsavas és a kénsavas tételek esetében.

Az asszimilációs kísérletek eredményeiből megállapítottam, hogy az alkalmazott *S. cerevisiae* törzsek csekély eltérést mutattak a szénhidrátok és alkoholok asszimilációs képességei között. Jól látható, hogy a *S. cerevisiae* 342 (szeszipari élesztő) törzs képes volt a legtöbb általam vizsgált szénforrást asszimilálni. A szénhidrátok anaerob hasznosításának vizsgálatára fermentációs tesztet végeztem és megállapítottam, hogy a különböző *S. cerevisiae* törzsek jól hasznosították az általam vizsgált szénhidrátokat kivéve a laktózt és a xilózt, ezek negatív kontroll mintáknak tekinthetőek. Az YS4 pékélesztő a fermentációs teszt szerint a galaktózt nem tudta fermentálni, azonban a többi szénhidrát hasznosításában és fermentálásában felülmúlta az 228-as és a 342-es törzseket.

Megállapítottam, hogy a három különböző iparág számára szelektált különböző élesztők asszimilációs képessége eltérő, de mindhárom élesztőtörzs alkalmas a körtecefrében előforduló cukrok, a glükóz, a fruktóz, a DP2 (többnyire szacharóz) erjesztésére. A sütőipari élesztő hasonlóan jó fermentációs képességet mutatott, mint a borászati vagy szeszipari élesztő.

Azt tapasztaltam, hogy az élesztők a további tápkomponensek hozzáadása nélkül is jól szaporodtak a körtecefrékben, majd a laboratóriumi körülmények között hasonló hatásfokkal fermentálta a rendelkezésre álló szénhidrátokat, hasonló mennyiségű etanolt termelve.

3.3. Fermentáció során alkalmazott különböző kezelések hatása a párlatok minőségére

Vizsgáltam a különböző pektinbontó enzimek készítmények (Lallzyme EXV, Lallzyme HC és a Rapidase Clear) körtecefrére gyakorolt hatását laboratóriumi körülmények között. Megfigyeltem, hogy a két Lallzyme enzimek készítménnyel kezelt cefre desztillálása során kevésbé volt hajlamos a habzásra, mint a Rapidase Clear nevű készítménnyel kezelt cefréknél. Véleményem szerint ez a jelenség az enzimek készítmények eltérő összetételében keresendő. A leggyorsabb elfolyósítást és a legnagyobb lékihozatalt a Lallzyme EXV készítmény adta. A körtepálinka gyártása során a szilárd fázist nem távolítottam el a folyékony fázistól, így a cefrézéssel és fermentációval egyidőben a macerálás is ment végbe. Ennek alapján ezt az enzimek készítményt ajánlom a pálinkagyártásra.

A cefrék kezdeti pH beállítására használt savak hatását vizsgálva megállapítottam, hogy a fermentáció során mért pH változások alapján az erjedési pH profilok görbéi három csoportba sorolhatók. Az első csoportba azok a cefreminták tartoznak, amelyeknél foszforsavval történt a pH beállítás és nagyobb pH csökkenés figyelhető meg a fermentáció 2. és 3. napjain. A második csoportot alkotják a kénsavval kezelt cefrék, amelyeknél jelentős pH változás nem detektálható a fermentáció során. A tejsavas cefreminták külön csoportot

képeznek, amelynél már a fermentáció kezdetétől intenzív pH emelkedés figyelhető meg.

A pH és az illókomponensek képződése közötti összefüggés alapján három vegyületcsoportot sikerült megkülönböztetni. Az egyik csoportba a metanol, i-butanol, 1-propanol, 2-feniletanol, 3-metil-1-butanol, és a metil butanolok tartoznak. Ezen vegyületek képződését a pH növekedése jelentősen serkenti. Az acetaldehid és az acetál egy csoportot alkotnak. Ezen vegyületek általában a savasabb környezetben, azaz az alacsonyabb pH-n nagyobb mennyiségben voltak jelen. Az acetaldehid, acetál, metanol, 1-butanol, és metil-acetátok illókomponenseknél nem állapítható meg egyértelműen, hogy a pH-nak milyen hatása volt a keletkezésükre.

A különböző savak hatással voltak a glükóz és fruktóz hasznosítására is. A szeszipari élesztő foszforsavas kísérleti mintáinak kivételével gyors monoszacharid csökkenést detektáltam a körtecefrékben. A fruktóztartalom általában 2 g/100ml koncentrációig csökkent, míg a glükóz teljes mértékben felhasználódott. Kis mértékű fruktóztartalom növekedést tapasztaltam a fermentáció kései szakaszában a pékélesztő és a borelesztő cefremintáinak vizsgálata közben, amely az invertáz enzim aktivitással magyarázható. Az élesztő a glükózt jobban preferálja, mint a fruktózt, így az később hasznosul. A diszacharid (DP2) koncentráció a cefremintákban dinamikusan változott és jelentős eltérések voltak az egyes élesztő/sav összeállításoknál. A diszacharid koncentráció a tejsav és 228-as élesztőtörzs kombinációjánál kezdetben gyorsan csökken, majd nagymértékben növekedett. Azután ismételten csökkent. A jelenség magyarázata lehet, hogy az élesztő és a gyümölcs enzimek bontják az oligo- és poliszacharidokat az erjeszhető diszacharidokat felszabadítva. A foszforsavval kezelt minták esetében jelentős diszacharid koncentrációnövekedés volt detektálható, ami a savas hidrolízissel is magyarázható.

Az alkoholos fermentáció során nyomon követtem a cefrék tömegváltozását is, amely a fermentáció során keletkezett és távozott széndioxid tömegének mérése által vált lehetővé. A fermentáció első napjaiban erős

gázképződés volt megfigyelhető a 342-es törzs által erjesztett, tejsavval kezelt mintáknál. A 228-as törzs foszforsavval kezelt mintáiban a beoltást követő harmadik órában tapasztaltam erős széndioxid képződést. Az YS4 törzs kénsavas mintáiban szemmel látható fermentáció csak későn volt megfigyelhető, ugyanis a gázképződést csak a beoltást követő hetedik órában észleltem. Megállapítható, hogy az YS4 törzs esetében a fermentáció legaktívabb időszaka az első három nap volt, ez idő alatt végbement a zajos erjedés. Az YS4 törzsek esetén a tejsav és a kénsav alkalmazása viszonylag hasonló kinetikát mutatott, a kénsavval kezelt cefre kezdetben intenzívebb szén-dioxidtermelést mutatott.

A 342 törzs esetén hasonló gázképződést és tömegcsökkenést figyeltem meg a kénsavas és foszforsavas cefrékben, azonban a tejsavnál a csökkenés elnyújtottabb dinamikát mutatott. A kísérletből szerzett eredmények hasonlóak az YS4 törzs esetén szerzettekhez. Megállapítható, hogy a hét napos fermentáció során a foszforsavval kezelt cefrékben volt a legkisebb a CO₂ képződés, míg általában a tejsavas mintákban a legmagasabb.

Az erjedő körtecefrék alkoholtartalmát naponta mértem. A regisztrált eredmények alapján arra következtetek, hogy a kénsavval kezelt cefrékben az alkoholtartalom lassabban növekedett és általában hullámzó tendenciát követett, míg a többi esetnél az etanoltartalom rövid kezdeti stagnálása után gyors növekedés indult és telítődésben végződött. A fermentáció 7. napjára minden élesztő és sav összeállítása közel azonos etanoltartalmat produkált.

3.4. Cefrék desztillálása, desztillációs protokoll kidolgozása

A laboratóriumi kísérletekkel párhuzamosan félüzemi cefrézést és desztillálást is végeztem az ipari léptékű folyamatok szimulálására és reprodukálhatóságára. A félüzemi kísérletek hűen tükrözik az ipari körülményeket és lehetővé teszik az adat és minőség redukció nélküli léptéknövelést.

A desztilláló berendezést vezérlő program protokollja a desztillálás folyamatát egy felfűtési szakasszal kezdi, amely során a cefrét és a berendezést

üzemi hőmérsékletre emeltem. A felfűtési szakasz protokollja az alábbi sorrendben és körülményeken történt:

- 100% fűtés intenzitás, amíg a cefre hőmérséklete el nem éri a 80 °C fokot,
- ezt követően csökkentettem a fűtést 70%-ra és tartottam, amíg az oszlop alsó tányér-hőmérséklete 65 °C nem lesz,
- a következő lépésben a fűtés intenzitását 25%-ra csökkentettem és tartottam, amíg a páracső el nem éri a 35 °C fokot,
- ezt követően megtartottam azt a fűtés intenzitást (20%-os intenzitás), amellyel majd a desztillálást végeztem, és ezt a hőmérsékletet tartottam, amíg a deflegmátorból megszökő párák fel nem melegítik a páracövet 45 °C fokra.

A felfűtési szakaszt a desztillálás követi, amelyre egy külön protokollt dolgoztam ki:

- a desztillálási protokoll 20% fűtésintenzitással indul, amit egy óra alatt 0,041 °C/perc (számított érték) meredekséggel 22,5%-ra emeltem.
- a program indításakor a deflegmátorba belépő hűtővíz hőmérséklete 28 °C, amit 2 °C/perc meredekséggel 36 °C emeltem (4 perc).
- ezt követi egy 56 perces fokozatos hőmérséklet csökkenés 36 °C fokig, hűtés meredeksége 0,107 °C/perc (számított érték).
- alsó tányéron levő folyadékoszlop maximuma 45% négy percen át, ezt követi egy 10%/perc szintcsökkenés, majd 55% maximális folyadékszintet tartottam a középpárlati szakasz többi részében.
- a középső tányér túlfolyója 60%-ra áll be a protokoll elején, innen csökken 10%/perc meredekséggel 50%-ra, ezt az értéket tartottam a desztillálás további szakaszában.

- 70% folyadékszinttel kezdtem a felső tányéron, majd az előző két tányérhoz hasonlóan csökkentettem a szintet 60%-ra és ezt az értéket tartottam a desztillálás végéig.

A legkritikusabb paraméternek a deflegmátor hőmérsékleti programja bizonyult. Az általam optimálisnak tartott beállítás egy emelkedő, majd csökkenő hőmérséklet-profil. Ennek hatására az előpárlati komponensek, kis alkohol veszteség mellett ugyan, de gyorsabban és jobban elválaszthatók (a desztilláció kezdetekor a leghidegebb a rendszer, így itt minimalizálható a veszteség), így a középpárlati szakasz ideje meghosszabbítható.

3.5. Párlatok jellemzése

A párlatok illósavtartalmát túlnyomó részben az ecetsav adja. A kísérleteimben a pH beállításra használt savak egyike sem illósav, így ezek közvetlenül nem befolyásolják a kész párlatok illósavtartalmát. Közvetett módon azonban jól mérhető hatást fejtenek ki a párlatok illósavtartalmára. A tejsavval kezelt cefrék párlatai (pékélesztő-68,2 mg/100 ml, borélesztő-71,8 mg/100 ml, szeszélesztő-66,1 mg/100 ml) magasabb illósavtartalommal rendelkeztek. A kénsavval (pékélesztő-48,2 mg/100ml, borélesztő-53,3 mg/100 ml, szeszélesztő-52,7 mg/100 ml) és foszforsavval (pékélesztő-44,7 mg/100 ml, borélesztő-52,5 mg/100 ml, szeszélesztő-53,1 mg/100 ml) kezelt körtecefrék párlatai között nem volt lényegi különbség az illósavtartalommal illetően. A pékélesztő összesen 161,1 mg/100ml, a borélesztő 177,5 mg/100 ml, míg a szeszélesztő 173,9 mg/100 ml illósavat szintetizált.

A párlatok összes észtertartalmát gravimetriás módszerrel határoztam meg. A fermentációval előállított gyümölcsalapú szeszecsalok összes észtertartalmának legjelentősebb forrásai a gyümölcs és a fermentáció. A borélesztővel (*S. cerevisiae*, 228) fermentált körtecefrékben átlagosan magasabb összes észtertartalmat mértem, mint a másik két élesztő esetében. Azt tapasztaltam, hogy a tejsavval kezelt cefrékben magasabb volt az

észterkoncentráció. Ezzel szemben a kénsavval és foszforsavval kezelt cefrékben viszonylag alacsony maradt az összes észtertartalom.

3.6. Bosc Kobak körtepárlatok jellemzése

Az élesztők és savak párlatra gyakorolt hatását gázkromatográfiával vizsgáltam. Főkomponens elemzés (PCA) módszerét alkalmaztam a párlatok közötti különbségek feltérképezésére és azok mértékének kimutatására, valamint a párlatok rangsorolására. Megállapítottam, hogy a Bosc Kobak körtepárlatok közti különbségeikért a következő komponensek a felelősek (fontossági sorrend szerint): 1,1-dietoxi-etán, 2-butanol, 2-metil-1-butanol, 2-metil-2 butanol, 2-pentanol, 2-feniletanol, 3-hidroxi-2-butanon (acetoin), 4-dekanol, benzil alkohol, dietil szukcinát, etanol, etil dekanóát, etil formiát, etil hexamát, hexil acetát, i-butil-D-laktát, i-amil-acetát, metal-karbamát, n-butyl-alkohol, n-propil alkohol, n-heptanol, fenetil alkohol, trans-3-hexen-1-ol, uretán. A cefrészéshez használt szerves savak közvetlenül is hozzájárulhatnak a párlat aromáinak kialakulásához. A különböző élesztőkkel és savakkal készített párlatok jól elkülöníthetőek D1 valamint D2 diszkriminancia függvények által. Ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy a párlatok bizonyos szintű különbségeket mutatnak egymáshoz viszonyítva. Vagyis a cefrészésnél alkalmazott savak és élesztők olyan eltérő tulajdonságú párlatokat eredményeztek, amelyek különbözőségének mértéke nem függ se az alapanyagtól se a cefrészés módszerétől, ezek ugyanis teljesen azonosak voltak.

3.7. Körtepárlatok csoportosítása fajta, évjárat és termőhely szerint

A körtepárlat aromaprofilja nemcsak az alkalmazott élesztőtől, de nagymértékben az alapanyagként felhasznált körtefajtától is függ. Négy körte fajtából (Bosc Kobak, Fétel, Triumph és Vilmos) származó párlatok összetételét vizsgáltam GC-MS technikával. Az egyes változók hatását vizsgálva megállapítottam, hogy a nyolc változó (acetaldehid, 1-butanol, etil-propionát, 2-metil-butyl-acetát, 3-metil-butyl-acetát, etil-hexanoát, etil-dodekanoát és 2-

feniletanol) relevanciái értéke alapján kimutatható és meghatározó szerepet játszik a párlatok fajtára jellemző aromaprofiljának kialakításában. A diszkriminancia analízis faktorainak nagysága mutatja, hogy a vizsgált vegyületnek mekkora hatása van a megkülönböztetési irányra. Ez alapján megállapítható, hogy a fajták közti különbségekért legnagyobb mértékben az etil-propionát, 2-metil-butil-acetát és az etil-hexanoát felelősek.

3.8. Körtepárlatok évjárat szerinti csoportosítása

A hőmérséklet és a csapadék a két legfontosabb eleme egy adott terület időjárásának, azonban a termés minőségét még számos egyéb tényező is befolyásolja, így a napsugárzás, a levegő összetétele stb. A különböző évjáratok körtepárlatait illékony komponenseik szerint csoportosítottam azonos évjáratú csoportokba. LDA módszert alkalmazva az évjárat szerinti csoportosítás elvégzéséhez 5 illó komponensre volt szükség, fontossági sorrendben ezek a következők: acetaldehid, 3-metil-1-butanol, 2-metil-butil-acetát, allil-alkohol, 2-feniletanol.

Az acetálok átlag-koncentrációja 2012-ben magasabbnak bizonyult, mint az előző években. A különböző évjáratok hatékony csoportosítása leginkább az acetáloknak köszönhető, a 2012-es évjáratú mintáknál a mért acetálok összkoncentrációja egy nagyságrenddel nagyobb, mint a 2010-es minták esetében. LDA módszert alkalmazva az egyes évjáratok konfidencia ellipszisei átfedés nélkül csoportosulnak.

3.9. Körtepárlatok termőhely szerinti csoportosítás

A termőhely, vagyis az eredet szerinti csoportosításhoz LDA módszert használtam. Az LDA (stepwise forward) módszer egy vegyületcsoportot vett figyelembe, hogy a nagykanizsai körtéből készült párlatot a göcseji párlattól megkülönböztesse, ezek az illékony összetevők a metil-butil acetátok (2-metil-butil acetát, 3-metil-butil acetát és a metil-butil acetátok). A göcseji területről származó körtepárlatokban a metil-butil-acetát koncentráció jelentősen magasabb

volt, mint a nagykanizsai társaikban. Elegendő csak a marker-vegyületek koncentrációját vizsgálni az azonos technológiával készült körtepárlatoknál, hogy megállapítsuk, hogy nagykanizsai vagy göcseji körtepárlat az ismeretlen minta. Véleményem szerint a metil-butil acetátok csak akkor elegendőek a termőhely szerinti csoportosításhoz, ha nem több mint két csoportot akarunk megkülönböztetni és mindkét csoportból több minta több évjárata áll a rendelkezésünkre.

4. Új tudományos eredmények

1. Megállapítottam a fermentációs pH és az illékony komponensek képzése közötti összefüggést. Az alacsony pH (pH 3.0 körüli) értéken vezetett fermentáció gátolta az acetaldehid és acetál képződését, a magasabb pH-án (pH 3,2-3,8) történő erjesztés serkentette az metilacetátok, 2-feniletanol, etilacetát, 1-propanol, i-butanol, metil-1-butanol, és a 3-metil-1-butanol szintézisét.
2. Desztillálási eljárást dolgoztam ki a körtecefrék lepárlására, amely lehetővé teszi az egyenletes minőségű pálinka előállítását. Optimáltam a desztilláló berendezés deflegmátor hőmérséklet profilját. Ezzel elérhetővé válik az előpárlat frakció mennyiségének csökkentése, miközben növekedik a középpárlat frakció mennyisége változatlan minőség mellett.
3. Meghatároztam különböző élesztőtörzsek alkalmazásával, azonos protokoll szerint előállított körtepálinka jellemző tulajdonságait mind klasszikus, mind modern műszeres analitikai módszerekkel. Körtepálinka adatbázist hoztam létre, amely nemcsak a párlatok kémiai, fizikai tulajdonságait, hanem az előállítási technológiával, gyümölcsstermő területével és érettségi állapotával, évjárattal, meteorológiai és talajtani információkkal stb. kapcsolatos adatokat is tartalmazza.

4. Szoros kapcsolatot igazoltam a körtepárlatok és a felhasznált alapanyag fajtája között az acetaldehid, 1-butanol, etil-propionát, 2-metil-butil-acetát, 3-metil-butil-acetát, etil-hexanoát, etil-dodekanoát és 2-feniletanol relatív mennyiségeinek alapján.
5. Megállapítottam, hogy a körtepárlatokban található 5 komponens: acetaldehid, 3-metil-1-butanol, 2-metil-butil-acetát, allil-alkohol, 2-feniletanol mennyisége markerként felhasználható a körtepárlatok évjáratí csoportosítására. E módszer alkalmazásával azonosítottam a 3 különböző évjáratú (2010, 2011, 2012) körtepárlatot. Továbbá a 2-metil-butil-acetát és 3-metil-butil-acetát mennyiségből nagy valószínűséggel következtetni lehet a körtepárlatok, a gyümölcsök termő területének földrajzi helyére. Ennek megbízható igazolására azonban további adatok begyűjtése és feldolgozása szükséges.

5. Következtetések és javaslatok

Kutatási eredményeim alapján megállapítható, hogy a körte pálinkagyártásában hasonló hatásfokkal alkalmazható az általam vizsgált három élesztőtörzs (*S. cerevisiae* 228, YS4 és 342). Kísérleteim alapján a cefrézés során alkalmazott savak jelentősebb hatással vannak a fermentáció hatásfokára, mint a három vizsgált élesztőtörzs. A pH állításra alkalmazott savak közti különbségek is jól mérhetőek voltak, a tejsavval végzett kísérletekben az alkoholkhozatal alacsonyabb volt, azonban magasabb észterkoncentrációt mértem ezekben a mintákban. A foszforsavas kísérletek mintáiban kevesebb kiugró értéket regisztráltam minden vizsgált paraméter esetén, így arra következtetek, hogy a foszforsavas fermentációs minták erjedése volt a legkiegyensúlyozottabb. A minőség fokozása érdekében javaslom, hogy a cefrézés kezdetén foszforsavval történjen a cefre pH beállítása, és csak a fermentáció végén történjen tejsav adagolás. Ez által kombinálható a két sav párlatra gyakorolt pozitív hatása a fermentációs hatásfok romlása nélkül.

A desztillálási protokoll paramétereinek állandósítása és azok tudatos alkalmazása, beállítása által a párlatok minősége jelentősen javítható, a gyártásból származó nem kívánt minőségbeli változatosság csökkenthető.

A párlatok csoportosítása termőhelyük, évjárataik, valamint fajtájuk szerint csak statisztikai módszerekkel megvalósítható. A csoportok száma, valamint az egyes csoportok nagysága, azaz a mintaszám jelentős tényező a sikeres és pontos csoportosításban. A termőhely szerinti csoportosításra kevés csoport állt rendelkezésre, így javaslom a módszer pontosságának további vizsgálatát más termőhelyről származó, azonos eljárással készült párlatok esetén is. A leghatékonyabb megoldásnak egy adatbázis felállítását tartom, amely tartalmazza minden kereskedelmi és azonos eljárással készült félüzemi pálinka évjárat és termőhely GC-MS módszerrel vizsgált adatait, hogy ezeket egy kívánt időpontban be lehessen vonni egy statisztikai elemzésbe, amelynek célja egy ismeretlen párlat eredetének, fajtájának vagy évjáratának azonosítása.

6. Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk

Impaktfaktoros cikkek

Attila G. Kovács, Attila Szöllősi, Dániel Szöllősi, Ilona A. Panyik, László Nagygyörgy, Ágoston Hoschke, Quang D. Nguyen. Classification and Identification of Three Vintage Designated Hungarian Spirits by Their Volatile Compounds. *Periodica Polytechnica - Chemical Engineering*, Paper: 11078 (2017) DOI: 10.3311/PPch.11078

Attila Szöllősi, László Narr, **Attila G. Kovács**, Gabriella Styevkó. Relationship between kinetics of growth and production of exo-electrons: case study with *Geobacter toluenoxydans*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 62: 307-316 (2015) DOI: 10.1556/030.62.2015.3.8

Attila Szolosi, Quang Duc Nguyen, **Attila Gabor Kovacs**, Attila Levente Fogarasi, Szilard Kun, Beata Hegyesne-Vecseri. Production of low or non

alcoholic beer in microbial fuel cell. Food and Bioproducts Processing, 98: 196-200 (2016) DOI: 10.1016/j.fbp.2016.01.012

Nem impaktfaktoros szakcikkek

Attila G. Kovács, Marat Mamedov. The Art and Science of Fruit Distillate Fermentation

(part 1), Artisan Spirit, Pages 81 – 83, 2015, October

Attila G. Kovács, Marat Mamedov. The Art and Science of Fruit Distillate Fermentation

(part 2), Artisan Spirit, Pages 60-62, 2015, December

Attila G. Kovács, Marat Mamedov. The Art and Science of Fruit Distillate Fermentation

(part 3), Artisan Spirit, Pages 84 – 87, 2016, April

Konferencia kiadványok

Nemzetközi konferencia (teljes)

Attila Gábor Kovács, Ilona Panyik-Lánszki, Ágoston Hoschke, Quang D. Nguyen. Effects of Acids and Yeast Strains On Alcoholic Fermentation of Bosc Kobak Pear Mash. In: Dalmadi I, Engelhardt T, Bogó-Tóth Zs, Baranyai L, Bús-Pap J, Mohácsi-Farkas Cs (szerk.): Food Science Conference 2013 - With research for the success of Darányi Program: Book of proceedings. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2013.11.07-2013.11.08. Budapest: Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, 177-180 (2013) ISBN:978-963-503-550-2

Nemzetközi konferencia (összefoglaló)

Attila Gábor Kovács, Ilona Panyik-Lánszki, Ágoston Hoschke, Quang D. Nguyen. Effects of Yeast Strains And Acids On Alcoholic Fermentation of

Pear. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 60:(suppl. 1)161-162.
(2013).

Magyar nyelvű (összefoglaló)

Kovács Attila Gábor, Nguyen Duc Quang, Hoschke Ágoston. Pálinka gyártás
techológiájának fejlesztése a BCE Élelmiszertudományi Karán, MÉTE
Italipari Nap, 2014. 05. 15., Budapest.