

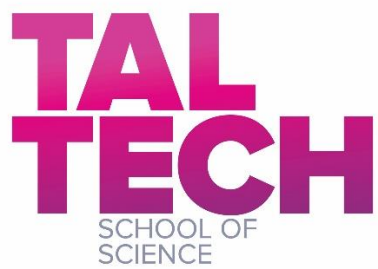
**SÜSIVESIKUTE JA GLÜTSEROOLI SISALDUS EESTIS  
TURUSTATAVATES PUDELIÕLUDES**

Bakalaureusetöö

Üliõpilane: Roberta Mikk, 206815LATB

Juhendaja: Toomas Paalme, Keemia ja biotehnoloogia instituut, vanemteadur

Õppekava: LATB22/22



# **Content of carbohydrate and glycerol in bottled beers on Estonian market**

Bachelor thesis

Student: Roberta Mikk, 206815LATB  
Supervisor: Toomas Paalme  
Study program: LATB22/22

Tallinn 2023

# Autorideklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Roberta Mikk

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab bakalaureusetööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Toomas Paalme

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: [nimi]

[allkiri ja kuupäev]

# Sisukord

Autorideklaratsioon.....	4
Sisukord .....	5
Annotatsioon.....	7
Abstract .....	8
Lühendite ja mõistete sõnastik .....	9
Sissejuhatus.....	10
Kirjanduse ülevaade .....	11
1. Õlu .....	11
2. Õlle komponendid .....	11
2.1. Vesi .....	11
2.2. Linnased .....	12
2.3. Pärm .....	13
2.4. Humalad .....	16
3. Õlle valmistamine.....	17
3.1. Linnaste jahvatamine ja veega segamine .....	17
3.2. Meskimine.....	17
3.3. Õllevirde keetmine .....	17
3.4. Etanoolne fermentatsioon.....	18
3.5. Valmimine.....	18
3.6. Alkoholivaba õlu .....	19
Töö eesmärgid .....	20
Ekspérimentaalne osa .....	21
Tulemused ja arutelu.....	24
1. Õllede etanooli kontsentratsioon.....	24
2. Kääritusaste.....	24
3. Glütserool/ethanooli suhe ja biomassi saagis .....	28
4. Alkoholivabad õlud.....	31
Kokkuvõte.....	33
Tänuavaldused.....	34
Kasutatud kirjandus.....	35
Lisad.....	37

Lisa 1. Tulemuste koondtabel ja algandmed hüperlingiga .....	37
Lisa 2. Analüüsitud õlude päritolud.....	38
Lihtlitsents .....	39

## Annotatsioon

Õlle omadusi mõjutavad lõpptoote süsivesikute ja glütserooli sisaldus. Need omakorda sõltuvad õlle pruulimiseks kasutatud linnastest, linnastamata materjalist, lisanditest, pärmist ja pruulimistingimustest.

Käesolevas töös analüüsi ja võrreldi Eestis turustatavate pudelõllede koostist, määrates nende polüsahhariidide, maltotriooosi-, maltoosi-, glükoosi-, fruktoosi-, glütserooli- ja etanoolisisaldused.

Analüüsi tulemusel saadud etanoolisisaldused langesid Eesti ja välismaa tööstusõllede etiketil märgitud etanoolisisaldusega üsna hästi kokku, kuid suuremad erinevused tulid sisse Eesti käsitöö õlledel. Arvutatud kääritusastme tulemustest järeldati, et tööstusõlledel kääritusaste oli kõrgem, kui seda oli käsitöö õlledel oma, mis tulenes peamiselt käsitöö õlledel suuremast polüsahhariidide sisaldusest. Glütserooli ja etanooli suhe ning biomassi hinnatav saagis oli suurem käsitöö õlledes, mis sisaldasid rohkem erilinnaseid. Alkoholiga ja alkoholivabade alternatiivide võrdluses selgus, et alkoholivaba variant sisaldas rohkem kääritatavaid jääsuhkruid kui alkoholiga variant.

## **Abstract**

The characteristics of beer are influenced by the carbohydrate and glycerol content of the final product. These, in turn, depend on the malt used to brew the beer, the unmalted material, the adjuncts, the yeast and the brewing conditions.

In this work, the composition of bottled beers marketed in Estonia was analysed and compared by determining their polysaccharide, maltotriose, maltose, glucose, fructose, glycerol and ethanol contents.

The ethanol contents obtained from the analysis matched reasonably well with the ethanol content indicated on the labels of Estonian and foreign industrial beers, but major differences were found in Estonian craft beers. From the results of the calculated degree of fermentation, it was concluded that the degree of fermentation of industrial beers was higher than that of craft beers, mainly due to the higher polysaccharide content of craft beers. The glycerol to ethanol ratio and the estimated biomass yield were higher in craft beers, which contained more specialty malts. A comparison of alcoholic and non-alcoholic alternatives showed that the non-alcoholic alternative contained more fermentable residual sugars than the alcoholic alternative.

## Lühendite ja mõistete sõnastik

### Mõisted:

Polüsahhariidid - käesolevas töös dekstriinid, mis sisaldavad neli või enam glükoosijääki

### Lühendid:

HPLC - *high-performance liquid chromatography* ehk kõrge lahutusvõimega vedelikkromatograafia

KA - kääritusaste

PS - polüsahhariidid



## Sissejuhatus

Õllepruulimisel on peamised komponendid humalad, linnased ja pärm. Humalad annavad valmis õllele iseloomulikku maitset, aroomi ja mõrudust, linnased varustavad virret etanooli tootmiseks vajalike süsivesikutega ning pärm viib läbi kääritatavatest suhkrutest etanooli tootmist, mille kõrvalproduktina tekib glütserool (Castro et al., 2022; Sinha, 2007; Stewart et al., 2006).

Õlles sisalduvad süsivesikud pärinevad enamjaolt teraviljast nagu oder, kaer, mais ja nisu. (Das et al., 2014; Stewart et al., 2006). Linnastamise ajal sünteesitud ja aktiveeritud ensüümid lagundavad meskimisel tärklis, mille tulemusena tekivad kääritatavad suhkrud ning oligo- ja polüsahhariidid, mis kääritusprotsessi ei läbi (Ferreria, 2009). Polüsahhariidideks on peamiselt dekstriinid, kuid ka pentosaanid ja  $\beta$ -glükaanid (Ferreria, 2009). Kääritatavad suhkrud nagu maltotriosis, maltoos, glükoos ja fruktoos on eelduseks etanooli tekkele (Monošik et al., 2013). Pärmil abil toodetakse kääritatavatest suhkrutest etanooli ja alkohoolse käärimise kõrvalprodukti glütserooli (Stewart et al., 2006).

Süsivesikute ja glütserooli sisaldus lõpptootes on olulised, kuna need mõjutavad õlle maitset, alkoholisaldust, suutunnetust ja stabiilsust (Zhao et al., 2015; Reid et al., 2022). Erinevatel õlletüüpidel ja valmistusviisidel esinevad erinevad süsivesikute ja glütserooli sisaldused, mis võivad tuleneda kasutatud linnastest, linnastamata materjalist, originaalvirde koostisest, pärmivalikust või lisatud suhkrullikatest (Ferreria, 2009). Seetõttu tuleks mõista, kas ja kuidas võiksid tavapärastele õlle komponentidele - pärmile, odralinnastele ja humalatele lisatud lisandid mõjutada valmis õlle süsivesikute ja glütserooli sisaldusi.

Töö eesmärgiks on analüüsida ja võrrelda Eestis turustatavate pudelõllede koostist, leides nende polüsahhariidide-, maltotriosisi-, maltoosi-, glükoosi-, fruktoosi-, glütserooli- ja etanoolisisaldused.

Töös võrreldi Eestis turustatavate õllede etiketil märgitud etanoolisisalduste ja analüüsi tulemusena saadud etanoolisisalduste erinevusi. Võrreldi, mil määral on õlle koostisel ja komponentidel seos õlle kääritusastmega, glütserooli ja etanooli suhtega ning hinnatava biomassi saagisega. Samuti analüüsiti erinevate tootjate või päritolu vahelisi erinevusi. Vaadeldi ka alkoholivabade õllede ja nende alkoholiga alternatiivide vahelisi erinevusi.

# Kirjanduse ülevaade

## 1. Õlu

Aegadel, kui vesi ei olnud kohati joogikõlblik, siis aitas hädast välja kääritatud alkoholne jook, õlu, mis oli toeks loendamatute meremeeste ja sõdurite kehale kui ka vaimule (Parker, 2012). Eestis on õlu kohe nii oluline olnud, et Hiiumaal on uskumuste kohaselt ka Käina piirkonna mehi hakatud odratolgusteks kutsuma- just nende hea ja kange õlle pärast (Põllo, 2010).

Õlu nimetatakse pärmi abil kääritatud joogiks, mis on valmistatud linnastest või linnastest ning linnastamata materjalist ja humalatest (RT I, 2019). Selleks, et õllesid kategoriseerida, on mitmeid erinevaid võimalusi.

Peamiselt jagatakse need lager ja ale õlledeks. Lager õlled hulka kuuluvad näiteks Bock, Pilsner ja Baltic Porter (Õllegiid). Aledeks saab pidada *pale alesid* (nt IPA), stout õlu, porterit ja saksa weissbier õlu (Õllegiid). Peamised erisused õllesortides tulevad sisse linnastest, lisanditest ning samuti ka pärmist. Näiteks linnastamata materjal (oder, kaer, mais, riis) võivad vähendada kääritusprotsessi efektiivsust, kuna nende hüdroolüüs sõltub otseselt ensüümidest, mis tulenevad linnastest (Cadenas et al., 2021). Samuti mõjutab õlle koostist pärmivalik, millel on mõju õlle etanoolisisaldusele (Cahill, 1999). Eestis jaotatakse õlled kahte gruppi- lahjad õlled ja kanged õlled, mille eesmärgiks on kõrgema alkoholisisaldusega õlled kõrgemalt maksustada. Lahjade õlled etanoolisisaldus on kuni 6 (k.a) mahuprotsenti ning kangete õlled etanoolisisaldus on üle 6 mahuprotsendi (RT I, 2019).

Õlu on maailmas kolmandaks kõige tarbitavamaks joogiks, millest eespool asuvad ainult vesi ning tee (Melewar, Skinner, 2018). Ka Eestis on see üheks kõige tarbitavamaks joogiks. Alates 2018 aastast on eesti elanike seas õlle tarbimine püsinud samal tasemel, ütleb 2021 aasta uuring, kus on tarbimismahuks märgitud 4,1 liitrit etanooli õllest ühe täiskasvanud (15+) elaniku kohta. Kusjuures õlle tarbimine (etanooli täiskasvanud elaniku kohta) on 2021. aastal olnud suurem viinamarjaveinide (2,0 L) ning lahjade alkoholsete jookide (0,5 L) tarbimisest, kuid väiksem kangete alkoholsete jookide tarbimisest (4,5 L). (Lepane et al., 2022)

Aga ega ka õlle tootmine Eestis tahaplaanile ei jää. Suurimad õlletööstused on Eestis AS Saku Õlletehas ning AS A. Le Coq. Samuti on populariseerunud käsitöö õlled valmistamine- Eesti Väikepruulijate Liitu kuulub hetkel 30 liiget, kellest üks tuntuimaid on Põhjala Brewery (Eesti Väikepruulijate Liit).

Võrreldes 2020. aastaga, kasvas Eesti õlletootmine 5,9% (129,1 mln liitrit 136,6 mln liitriini), samuti suurenes õlle eksport, mis kasvas 6,1% ehk 68,3 ml liitriini. 47% terves Eestis toodetud õllest liikus edasi välisurule, mis on veidi alla poole kogu tootmismahust. (Lepane et al., 2022)

## 2. Õlle komponendid

### 2.1. Vesi

Ajalooliselt on just vesi olnud see, mis kujundab erinevate õlled iseloomu. Olenevalt vee päritolust, oli selle koostis ja kvaliteet omasugune. Jõgedest, järvedest ja reservuaaridest kogutud vesi oli ilmastiku tõttu varieeruv, sisaldas vähesel määral mineraalaineid ning oli mikrobioloogiliselt

saastunud (Eumann, 2006). Põhjavesi, mis saadi maa-alustest allikatest, oli koostise poolest vähem kõikuvam kui pinnavesi ning sisaldas rohkelt mineraalaineid. Samuti oli põhjavee mikrobioloogiline kvaliteet pinnavee omast tavaliselt parem (Eumann, 2006). Näiteks tänasel päeval kasutab Saku õlletehas oma õlled pruulimiseks 200 meetri sügavusest puurkaevust ammutatud põhjavett (Saku).

Õlle pruulimiseks kasutatav vesi on üks olulisemaid õllekvaliteedi mõjutajaid. Kuna õlle koostises sisaldub vett üle 90%, siis mõjutab see nii mitmeidki joogi omadusi. Õlletegemiseks kasutatav vesi peab olema puhas, joodav ja patogeenidest vaba (Wunderlich, Back. 2009).

*Tabel 1. Mõnede tähtsamate vees sisalduvate mineraalainete mõju õlle valmistamisele (Eumann, 2006; Parker, 2012)*

Element/ühend	Kuidas mõjutab?
Ca <sup>+2</sup>	Hoiab oksalaadi kontsentratsiooni kontrolli all, osaleb ensüümide aktiivsuses
Mg <sup>+2</sup>	Kõrged magneesiumi kontsentratsioonid mõjuvad halvasti õlle maitsetele
Cl <sup>-</sup>	Annab õllele mahedamat maitset
SO <sub>2</sub> <sup>-4</sup>	Tugevdab kibedat maitset, parandab õlle laagerdumist
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Muutub anaeroobses keskkonnas NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ks, mis mürgitab pärmirakke ning kahjustab seeläbi fermentatsiooniprotsessi

## 2.2. Linnased

Linnasteks nimetatakse idandatud teraviljasid, mis enamasti läbivad õlletootmisprotsessis etanoolse fermentatsiooni. Peamine teravili, mida õlle valmistamiseks kasutatakse, on oder (Das et al., 2014). Samuti kasutatakse õlle pruulimiseks ka nisu, maisi, riisi, rukist, kaera ja hirssi (Das et al., 2014; Stewart et al., 2006). Erinevate linnaste kombineerimine annab õllele omapäraseid ja uudseid maitseid, mistõttu on õlle maitse kujundamisel mitmeid võimalusi (Stewart et al., 2006). Tavaliselt ostavad õlletootjad linnased sisse, mis tähendab, et teravilja linnastamist viib läbi keegi teine. Teravilja linnastamisel on kolm peamist etappi.

Esmalt leotatakse teravilja, et valmistada see ette idandamiseks. Idandamisel sünteesitakse, aktiveeritakse ja vabastatakse ensüümid ning tera endospermi koostis modifitseerub teatud määral - toimub aminohapete, suhkrute, lipiidide, väevliühendite ja fenoolide vabastamine endospermist (Stewart, Priest, 2006; Parker, 2012). See protsess viiakse läbi sobival niiskusesisaldusel (46%-ndist 43%-ni) ning temperatuuril (peamiselt 16°C). Mida madalama valgusisaldusega on linnastatav teravili, seda kergemini on teraviljas sisalduv tärklis ensüümidele kättesaadavam, kuna valgud ümbritsevad tärklisegraanuleid ja takistavad seeläbi nende lõhustamist (Peltonen et al., 2004). Kõrgema valgusisaldusega oder vajab seetõttu rohkem aega leotamisel, et tera modifitseeruks (Rani et al., 2021).

Tavaliselt kasutatav oder on võimeline idandamise ajal produtseerima kõiki õlletootmisel olulisi ja vajaminevaid ensüüme, mis lõhustavad tärklisi, β-glükaani, lipiide ning valke (Stewart et al., 2006). Tabel 2 kirjeldab lühidalt tärklisi lagundavate ensüümide tegevust. Tärklise lagundamine on oluline etanooli tootmiseks.

Tabel 2. Tärglist lagundavad ensüümid, mis aktiveeruvad linnastamisel ning nende toime (MacGregor, 1987; Evans et al., 2010; Stewart et al., 2006; Hopkins et al., 1955).

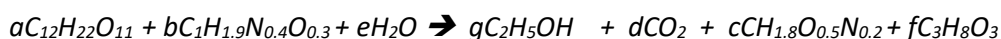
Ensüüm	Toime	Produkt
<i>Limit</i> dekstrinaas	Hüdrolüüsib tärglise $\alpha$ -1,6 glükosiidsidemeid	Hargnemata dekstriinid
$\alpha$ -amülaas	Lagundab tärglise $\alpha$ -1,4 sidemeid lineaarsest osast	Lühemad glükoosimolekulidest koosnevad tärgliseühikud
$\beta$ -amülaas	Lagundab geelistunud tärglise $\alpha$ -1,4 sidemeid kahekaupa mitteredutseeruvast otsast	Maltoos
$\alpha$ -glükosidaas	Hüdrolüüsib terminaalseid mitteredutseeruvaid $\alpha$ -1,4 sidemega glükoosijääke	Glükoos

Idandamise protsess peatatakse kuumusega, mis määrab ka ära valmistava õlle linnaste värvisuunitluse. (Stewart et al., 2006). Linnaste värv tuleneb kuumuse abil toimuvast Maillardi reaktsioonist, kus aminohapete ja redutseeruvate suhkrute vahelises reaktsioonis formeeruvad melanoidiinid (Rani et al., 2021; Kukuminato et al., 2021).

Linnaste niiskusesisaldus viiakse alla 5%, et tagada linnaste kui produkti säilivus hoiustamisel ja transpordil (Rani et al., 2021).

### 2.3. Pärm

Pärm on õlletegemisel oluline komponent - see tagab süsivesikute kääritamise, mille tulemuseks on kokkuvõtlikult etanool, glütserool ja süsinikdioksiid, vähemal määral ka orgaanilised happed (Stewart et al., 2006). Pärmil kasvu stöhhiomeetiline võrrand, mis kehtib õllepruulimisel:



*maltoos*      *lämmastikuallikas*      *etanool*      *biomass*      *glütserool*

#### 2.3.1. Ale ja lager tüüpi pärmid

Õllevalmistamisel kasutatavaid pärme jagatakse kahte gruppi: ale ja lager tüüpi tüve pärmid. Esimene omadus, mille järgi neid jagama hakati, oli pärmil sadenemine peale käärimise lõppu- kas pinnale või põhja (Stewart et al., 2006).

Neil on kohati erinevad omadused ja eelistused. Tabelis 3 on toodud välja lühidalt erinevused ale ja lager tüüpi pärmide vahel. Eesti turul on rohkem turustatavad õlled lagerid ehk eeldatavasti kasutatakse lager pärmitüüpe siin rohkem.

Tabel 3. Erinevused ale ja lager tüüpi pärmide vahel, mis esinevad õlletootmisel (Petruzzi et al., 2015).

Omadus	Ale pärm	Lager pärm
Pärmi tüvi	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ale)	<i>Saccharomyces uvarum</i> (carlsbergensis), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (lager), <i>Saccharomyces pastorianus</i>
Fermentatsiooni viis	Pinnakääritus	Põhjakääritus
Fermentatsiooni temperatuur	18-25°C	5-12°C
Maltotriooosi utiliseerimine	Vähem efektiivne	Rohkem efektiivne
Laagerdumisaeg	Lühem	Kauem

### 2.3.2. Pärmil poolt kääritatavad suhkrud

Selleks, et etanooli toota, on pärmil vaja kääritatavaid suhkruid. Suhkrut saab pärm õllevirdest, kuhu see ekstraheerub meskimise käigus linnastest või on virdesse lisatud. Sageli kasutatakse lisana glükoosi-fruktoosisiirupit, jämedat kristallsuhkrut, karamelliseeritud suhkrut jms (Stewart et al., 2006).

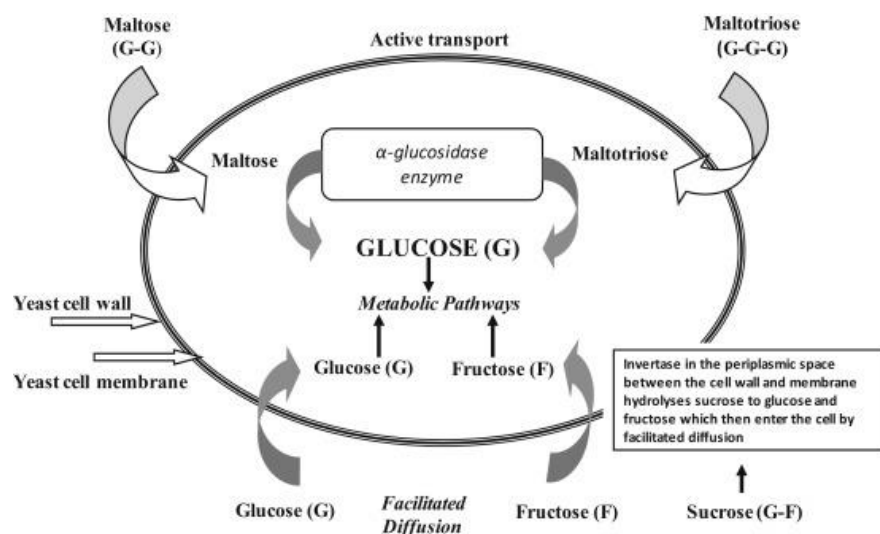
Peamised virdes leiduvad kääritatavad suhkrud on glükoos, maltoos ja maltotriooos. Nende ligikaudset suhet saab väljendada vastavas järjekorras: 1:3:1 (Monošik et al., 2013). Samuti leidub virdes fruktoosi ja sahharoosi (Skendi & Papageorgiou, 2018).

Maltoos on disahhariid, mis koosneb kahest  $\alpha$ -1,4 sidemega seotud glükoosiühikust. Maltotriooos on trisahhariid, mis koosneb kolmest  $\alpha$ -1,4 sidemega seotud glükoosiühikust.

Pärm tarbib meskimisel vabanenud suhkruid järgmises järjekorras: glükoos ja fruktoos, maltoos, maltotriooos (Zheng et al., 1994). Tavaliselt hakkab pärm kasutama maltoosi ja maltotriooosi alles siis, kui virdest on ära kasutatud 40-50% glükoosi (Zheng et al., 1994). Mida efektiivsem on pärm ja sobivamad kääritustingimused, seda enam tarbib ta ära maltotriooosi (Monošik et al., 2013). Kui maltotriooosi utiliseerimine on liiga aeglane, siis sageli on see probleemne valmis õlles, kuna mittetäielik kääritamine ning materjalikulu tulevad esile lõpptoote maitstes (Zheng et al., 1994). Maltoos, maltotriooos, glükoos ja fruktoos läbivad tervelt pärmil rakumembraani, sahharoos hüdrolüüsitakse ekstratsellulaarse invertaasi poolt (Joonis 1). Maltoosi ja maltotriooosi utiliseerimiseks on rakul vaja kulutada energiat (aktiivne transport), kuid glükoosi ja fruktoosi korral toimub hõlbustatud difusioon ehk passiivne transport (Stewart et al., 2013). Maltoosi ja maltotriooosi transpordiks rakku on õllepärmides spetsiaalsed permeaasid (Stewart et al., 2013).

On tõestatud, et ale pärmide tüvedel inhibeerib glükoos tugevamalt maltoosi transporti (Stewart et al., 2013). Valmis õlles sisalduvad ka kääritatavad jääksuhkrud ning kääritamatud süsivesikud. Enamasti on neid vähem lager õludes, kuna need on lõplikumalt kääritatud. Kääritatavate jääksuhkrute alla kuuluvad fruktoos, glükoos, maltoos ja maltotriooos, millest kahte esimest on tavaliselt valmis õlles kõige vähem, kui üldse. Tärglase lagundamise tulemusena tekkinud hargnenud ahelaga dekstriine, pentosaane ja  $\beta$ -glükaane pärm ei käärita, seetõttu kõik need jäävad ka lõpptootesse sisse. (Ferreria, 2009)

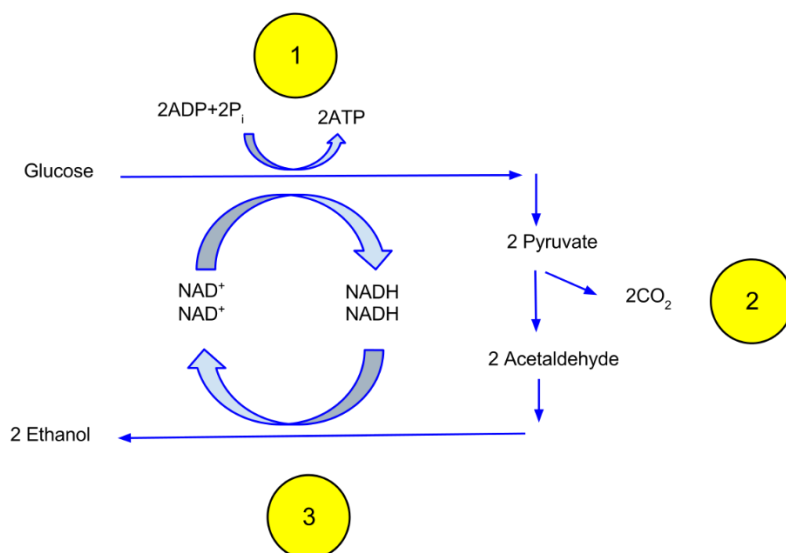
Kui rääkida alkoholivabast õllest, mis on valmistatud kääritamise/etanooli tootmise piiramisel, siis nendes õludes leidub lühikese kääritamise tõttu suuresti fruktoosi, maltoosi ja maltotriooši. Etanooli eemaldamise protsessiga valmistatud õlled on tavaliselt läbinud täieliku kääritusprotsessi.



Joonis 1. Suhkrute transport pärmides. Aktiivse transpordiga läbivad maltoos ja maltotrioošid raku membraani, millel järgnevalt lagundatakse need ensüüm  $\alpha$ -glükosidaasi poolt glükoosiks, mis liigub edasi glükolüüsi ratta. Sahharoosi hüdrolüüsib invertaas glükoosiks ja fruktoosiks periplasmas, mis laseb nendel suhkrutel läbi hõlbustatud diffusiooni edasi raku liikuda (Stewart, 2016, 2019)

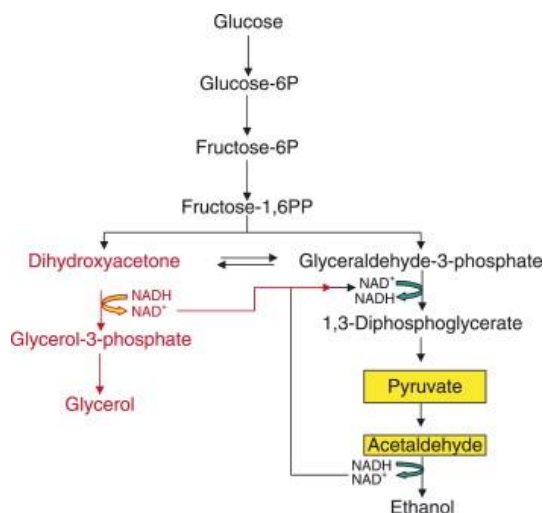
### 2.3.3. Etanooli ja glütserooli tootmine

Alkoholne kääritamine algab protsessiga, kus glükoosist moodustub 2 püruvaadi molekuli. Seda rada tuntakse ka glükolüüsi nime all. Edasi püruvaat muudetakse atseetaldehüüdiks ensüümi dekarboksülaasi poolt, tekitades kõrvalproduktina  $\text{CO}_2$ . Järgmisena konverteeritakse atseetaldehüüd etanooliks. Selles protsessis regenereeritakse  $\text{NAD}^+$ , mis seeläbi tasakaalustab glükoosi muundamisel püruvaadiks tekkinud  $\text{NADH}^+$ . Glükoosi mooli muundamisel püruvaadiks tekitatakse 2 mooli ATP-d.



Joonis 2. Etanoolne kääritus glükoosist, kus glükolüüsil moodustub esialgu kaks püruvaadi molekuli ning edasi kaks atseetaldehüüdi, mille tulemusena tekib etanool ja CO<sub>2</sub>. (Wikipedia)

Glütserool on pärmide poolt läbiviidavates etanoolse kääritamise protsessides üks olulisimaid kõrvalprodukte. Peamiselt toimub glütserooli moodustumine selle pärast, et pärmil kasvul regenereeritakse metabolismi radades enam NADH<sup>+</sup>, kui seda on võimalik kasutada atseetaldehüüdi redutseerumisel etanooliks. Seetõttu liigne NADH<sup>+</sup> oksüdeeritakse glükolüüsi raja vaheühendi glütserool-3-fosfaadi taandamisel glütserooliks.



Joonis 3. Glütserooli moodustumine pärmide kasvul (Ciani et al., 2008)

Glütserooli sisaldus ei sõltu eriti sellest, kas õlu on valmistatud ale või lager tüüpi pärmitüvega (Dadic, Belleau, 1982).

## 2.4. Humalad

Humalad, ladinakeelse nimetusega *Humulus lupulus*, on komponent, mis annab õllele mõrudust, maitset ja aroomi.

Tänu oma nõrkade hapete ja fenoolsete ühendite sisaldusele omab humal ka antimikroobseid ja antioksüdantseid omadusi, mis panustavad õlle säilimisse. Humalates sisalduvad  $\alpha$ - ja  $\beta$ - happed vastutavad selle eest, et õlu omandaks mõrkja maitse, kuid aroomi kujundavad humala eeterlikud õlid. Just  $\alpha$ -hapete sisalduse järgi humalaid jaotatakse. Mõrudamad humalad sisaldavad üle 5%  $\alpha$ -happeid ning aromaatsete humalate sisaldus on väiksem kui 5%. Samuti on ka olemas multifunktsionaalseid humalaid, mis tagavad mõlemat, kuid sageli kasutatakse mitme humala segu, et disainida õlle karakteristikuid. (Castro et al., 2022)

Humalaid saab õllele lisada erinevatel aegadel - virde keetmisel, keerise tekitamise ajal, fermentatsiooni ajal või lõpus. Keetmise ajal lisatud humalates toimub  $\alpha$ -hapete isomerisatsioon iso- $\alpha$ -hapeteks, mis annavad õllele mõruda maitse ning tõstavad õllevahu stabiilsust. Samas võib kõrgetel temperatuuridel eemalduda lenduvad ühendid. Hiljem lisatud humalad annavad võrreldes keetmisel lisatuga, vähem mõrudust. Fermentatsiooni ajal lisatud humalates  $\alpha$ -hapete isomerisatsiooni ei toimu ning õlle maitsele panustavad oksüdeerunud ühendid. (Castro et al., 2022)

Nüüdisajal on õllepruulijatel võimalus valida humalatoodete vahel (pelletid, ekstraktid jms), mis on juba eelnevalt isomeriseeritud (Sinha, 2007).

### **3. Õlle valmistamine**

Õlleajaloos pole õlle valmistamise protsess koosnenud ainult teaduslikust ja tehnoloogilist sisendist, vaid sellesse on läbi põimunud ka õllepruulijate ja kohaliku rahva traditsioonid, mis on mõjutatud tolleaegsest riigikorraldusest, majandusest ja igapäevaelust (Meusdoerffer, 2009). Õllevalmistamise viise on palju erinevaid, kuid skelett on kõigil sarnane.

#### **3.1. Linnaste jahvatamine ja veega segamine**

Esimeseks sammuks õlle tootmisel õlletootjana on linnaste jahvatamine ning segamine puhta veega. Mehaanilise jahvatuse järel on teras olevatel ensüümidel lihtsam sealt vabaneda (Sinha, 2007; Stewart et al., 2006).

#### **3.2. Meskimine**

Teise etapina toimub meskimine, kus kuumutatakse veega segatud jahvatatud linnaseid kindla aja jooksul. Selle protsessi jooksul geelistatakse tärklis ning lõhustatakse see ensüüm  $\beta$ -amülaasi abil fermenteeritavaks suhkruks - maltoosiks. Ensüümide aktiveerumisele annab tõuke neile sobiv temperatuur. (Sinha, 2007; Stewart et al., 2006)

Kui kuumutamine on lõppenud, filtreeritakse linnasejäägid segust. Filtraati nimetatakse õllevirdeks. Tavaliselt võtab meskimine aega 1-2 tundi, olenevalt kasutatavast retseptist. (Sinha, 2007; Stewart et al., 2006)

#### **3.3. Õllevirde keetmine**

Kolmanda sammuna viiakse õllevirre keemiseni. Seda keedetakse (101-103°C), kindla aja jooksul. Selles etapis lisatakse õllevirdele humalaid ja suhkruid. Humalaid lisatakse vajadusel mitut sorti, et saavutada soovitud õlle aroom, värvus ja muidugi ka maitse. Keetmisel toimub humala komponentide ekstrahatsioon ning isomerisatsioon, mille käigus moodustuvad ka aromaatsed ühendid ja värvi määravad komponendid. Samuti inaktiveeruvad ensüümid ning õllevirre muutub happelisemaks.



Õllevirde keetmine vähendab oluliselt seal leiduvate mikroorganismide hulka.

Järgmisena selgendatakse virre. Keerise tekitamisega (ingl. keeles *whirlpooling*) kogunevad tahked jäägid keetmisnõu keskele.

Kuna keetmise käigus väheneb virde hapnikusisaldus, siis tihti aereeritakse õllevirret peale selle jahutamist. Areerimise tagab selle, et lisataval pärmil oleks piisavalt hapnikku optimaalseks ja efektiivseks töötamiseks (Sinha, 2007; Stewart et al., 2006).

### **3.4. Etanoolne fermentatsioon**

Neljanda etapina alustatakse õlle käärimisega. Selleks viiakse jahutatud virre spetsiaalsesse kääritustanki. Seal hakkab toimuma etanoolne käärimine peale seda, kui on lisatud pärmijuuret. Pärm vastutab selle eest, et meskimisel tekkinud suhkrud alkoholiks konverteeritakse (Sinha, 2007; Stewart et al., 2006). Efektiivseks protsessiks loetakse seda, kui kogu fermenteeritav suhkur on alkoholiks muundatud (Wunderlich, Back, 2009). Olenevalt valitud pärmist, toimub põhja- või pinnafermentatsioon. Pärmütüved, mis sobivad põhjakääritamiseks, kogunevad peale teatud alkoholiprotsendi saavutamist fermentertanki põhja. Samuti on need pärmid aktiivsed madalamal temperatuurivahemikul (5-12°C) (Cahill, 1999). Pinnakääritamiseks sobilikud pärmütüved tahavad optimaalseks töötamiseks aga kõrgemat temperatuuri (18-25°C) (Cahill, 1999). Nad on vastupidavamad kõrgemale etanoolisisaldusele kui põhjakääritamiseks sobilikud pärmütüved ning peale fermenteerimise lõppu kogunevad tiheda vahuna virde pinnale (De Keukeleirc, 2000). Etanoolse fermentatsiooni lõpus eemaldatakse suurem oma sadestunud pärmist.

Etanoolse käärimise ajal tekib ka CO<sub>2</sub>, mis käärituse ajal segab kääritustangi sisu ja muudab joogi karboniseerituks (Stewart et al., 2006).

### **3.5. Valmimine**

#### **3.5.1. Laagerdumine**

Selleks, et õlu saavutaks talle omased maitse- ja välimusomadused, jäetakse see enne filtreerimist ning pakendamist laagerduma. Õlle valmimine toimub madalatel temperatuuridel, et pärmirakud ega muud mikroorganismid ei suudaks oma aktiivsust säilitada (Stewart et al., 2006).

Laagerdumise eesmärkideks on õlle selginemine ning maitse täienemine (Stewart et al., 2006).

#### **3.5.2. Stabiliseerimine**

Pastöriseerimise, antioksidantide, selginevate ainete, ensüümide või parkhappe lisamine aitab õlu stabiliseerida. (Sinha, 2007)

#### **3.5.3. Filtratsioon/tsentrifugimine**

Selleks, et turule minev õlu oleks selge, filtreeritakse või tsentrifugitakse õlu enne ära, kuna sageli ei anna ainult laagerdumine soovitud tulemusi (Wunderlich, Back, 2009). See etapp ei ole kohustuslik ning paljud käsitööõllede tootjad jätavad tolle sammu vahele.

#### **3.5.4. Karboniseerimine**

Kuna laagerdumise etapis enam CO<sub>2</sub> juurde ei sünteesita, siis soovitava süsihappegaasi sisalduse jaoks on vaja ka õlu karboniseerida. Ka see ei ole kohustuslik tegevus (Sinha, 2007).

#### **3.5.5. Pakendamine**

Valmis õlu pakendatakse pudelitesse või purkidesse või vaadidesse. Enamus turul olevatest pakenditest on klaaspudelid, samuti on palju ka alumiiniumist ja tinast valmistatud purke (Sinha, 2007). Õlle omadustele ei oma eriliselt suurt tähtsust, millises pakendis see on, aga on oluline, et jooki hoiustatakse optimaalsetel tingimustel (De Lima et al., 2023). Õlle maitse osas ei ole oluline, kumba kasutada, kuna väljavalatult on õlu alati kõige parem (Stewart et al., 2006).

#### **3.5.6. Säilitamine ja hoiustamine**

Õlle jaoks parimad hoiustamistingimused on pimedus ja sobilik temperatuur (< 20°C) (Stewart et al., 2006).

### **3.6. Alkoholivaba õlu**

Õlu nimetatakse alkoholseks joogiks siis, kui selle etanoolisisaldus on üle 0,5 mahuprotsendi ehk alkoholvabade õlled etanoolisisaldus võib varieeruda 0 - 0,5 mahuprotsendi vahel (RT I, 2019).

Tarbijate huvidele vastutulemiseks, on välja töötatud spetsiaalsed tehnoloogiad, mida saab laias laastus jagada kahte rühma: etanooli tekkimise piiramine ning etanooli eemaldamine (Muller et al., 2019).

## Töö eesmärgid

Töö eesmärgiks on võrrelda Eesti turul leiavate pudelõlleda koostist. Teostada analüüsid kõrge lahutusvõimega vedelkromatograafia, määrates ära õlles sisalduvad polüsahhariidid, maltotriios, maltoos, glükoos, fruktoos, glütserool ja etanool.

## **Eksperimentaalne osa**

### **1.1. Materjalid ja meetodid**

#### **1.1.1. Reaktiivid ja kemikaalid**

Sipelghape, Honewwell 98-100% - kasutati sisestandardi sipelghappe lahuse valmistamiseks. Täpne standardlahuse kontsentratsioon (24,21 g/kg) määrati tiitrimisel 0.1 N NaOH fiksanaaliga (Fluka). H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 99.99% (Thermo scientific), kasutati HPLC eluendi (1 mL/L) valmistamiseks.

#### **1.1.2. Õlleproovid**

Kromatograafiliseks analüüsiks osteti Eesti kaubandusvõrgust 51 pudelitesse pakendatud õlu (Lisa 1 koondtabel). Nende seas oli 47 alkoholi sisaldavat õlu ning 4 alkoholivaba õlu. Valitud õllede alkoholisisaldus varieerus 0% vol kuni 12,5% vol. Esindatud olid nii eestimaised käsitöö- ja tööstusõlled kui ka välismaa tööstusõlled. Päritolumaa järgi jaotus on välja toodud Lisa 2 joonisel 1. Eesti käsitöö õllesid oli valikus 8, Eesti tööstuslikke õllesid 27 ning välisamaiseid tööstuslikke õllesid 16. 50 õlu 51-st valiti klaaspudelid, kuna see oli kõige mugavam variant - klaaspudelit saab taassulgeda ja vajadusel korduvalt analüüsida.

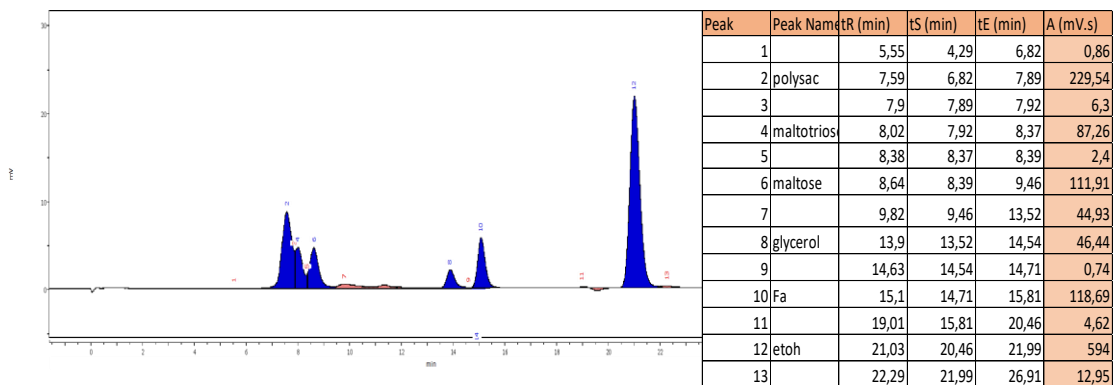
#### **1.1.3. Tarvikud ja seadmed**

Õlleproovide võtmiseks ja hoiustamiseks kasutati 50 mL katsetuube. Õlleproovide HPLC viaali viimiseks kasutati 0,20 µm mikrofiltrit (Sartorius) ja 1 mL Injekt-F süstalt (B. Braun). HPLC analüüsi teostamiseks kasutati viaale (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG) ning nende spetsiaalseid korke.

Kromatograafilise analüüsi toestati SunChrom Wissenschaftliche Geräte GmbH (Saksamaa) kromatograafilise süsteemiga, mis koosnes *degasser-ist* Degasys Populaire, HPLC pumbast Sun Flow 100, kolonnisoojendist SunTherm 100, automaatsest süstlast Spark Holland B16 (Basil Marathon), RI detektorist Refractroflow 60 ( $\lambda = 960$  nm), kolonnist Agilent Hi-Plex H<sup>+</sup> 300 mm, eel-kolonnist Agilent 4 cm.

#### **1.1.4. Õlle analüüs**

Kromatograafiliseks analüüsiks lisati katsetuubi (50 ml) ca 15 mL õlleproovi, lisatud õlle hulk kaaluti ja märgiti tuubile. Õlle proovidele lisati ca 10-15 mL sipelghappe standardlahust ning loksutati. Lisatud sipelghappe kogus kaaluti ning mass märgiti tuubile. Proovid koos sipelghappesega filtreeriti 1 mL süstlaga läbi 0,20 µm filtri HPLC seadme autosampleri viaali (2 ml). Viaal suleti kummiseptiga korgiga. Viaalid asetati autosamplerisse ning alustati kromatograafilise analüüsiga. Voolutamise kiirusena (*flow rate*) kasutati 0,6 mL/min ning RI detektori temperatuurina 35°C. Analüüsitavad ühendid elueerusid järjekorras: polüsahhariidid, maltotriios, maltoos, glükoos, fruktoos, glütserool ja etanool. Iga proovi analüüsiti üks kord ja ühe proovi kestus oli 30 min. Andmete salvestamiseks ja analüüsiks kasutati süsteemi eDAQ PowerChrom v2 (Joonis 4). Andmed (Joonis 4) kanti Excel tabelisse ja teostati arvutused (Tabel 4). Ekstrakti sisaldus õlles (g sahharoosi g õlle kohta) määrati refraktomeetriga (Milwaukee MA871). Lisas 1 on välja toodud tulemuste ja arvutuste koondtabel ning iga õlle individuaalsed tulemused.



Joonis 4. Vasakul pool on A. Le Coq Double Bock õlle kromatogrammi piikide andmed ning paremal pool A. Le Coq Double Bock õlle kromatogrammi tulemuste tabel

Tabel 4. A. Le Coq Double Bock õlle kromatogrammi andmete arvutustabel Excelis.

Sample name	17,23	g	weight of the sample		
Bock, A. Le Coq	8,60	g	weight of the internal standard		
etanool 7 v/v					
	24,21	g/L	concentration of form	8,060627178	
Pressure	2,5				
Flow rate, mL/min	0,6	g/L	area of RI peak S(RI)	conc int standard	
RI T=35°C	RT min	compound	KT(RI)	S (RI)	g/kg (RI)
	7,6	H <sub>2</sub> O	-0,420	-97,53	
	7,47	polysaccharide	0,363	229,54	12,09
	7,74	maltotetrose	0,363		0,00
	8,13	maltotriose	0,363	87,26	3,22
	8,72	maltose	0,368	111,91	4,19
	10,27	glucose	0,400		0,00
	10,8	fructose	0,380		0,00
	13,97	glycerol	0,463	46,44	2,19
	15,15	formic acid	1,000	118,69	12,08
	21,22	ethanol	0,860	594	52,01

Aine *i* kontsentratsioon õlles (g/kg) arvutati välja järgmise valemi järgi:

$$S_i = k_{i/for} * S_{for} * G_{for} / G_S * A_i / A_{for} \quad (1)$$

Kus

$k_{i/for}$  – aine(i) sisestandardi kalibratsioonikoefitsent sipelghappe suhtes (g/g);

$G_S$  – õlleproovi mass (g);

$G_{for}$  - sipelghappe standardlahuse mass, mis lisati õlleproovile, g;

$S_{for}$  – sipelghappe standardlahuse kontsentratsioon, g/kg;

$A_i$  – aine (i) piigi pindala kromatogrammil, suhtelised ühikud;

$A_{for}$  – sipelghappe piigi pindala kromatogrammil, suhtelised ühikud

Õlle etanoolisisalduse (v/v) arvutamiseks kasutati järgmist valemit:

$$v/v = eth / 0,78 \quad (2)$$

Kus

$eth$  – etanooli hulk, g/kg;

$0,78$  – etanooli tihedus, g/mL

Polüsahhariidide/etanooli (PS/eth) suhet (g/g) arvutati järgmine valemiga:

$$PS/eth = \text{polüsahhariidid} / eth \quad (3)$$

Kus

*polüsahhariidid* – polüsahhariidide hulk, g/kg;  
*eth* – etanooli hulk, g/kg

**Glütserooli/etanooli** (*glr/eth*) suhte (g/g) arvutamiseks kasutati järgmist valemit:

$$glr/eth = \text{glütserool} / eth \quad (4)$$

Kus

*glütserool* – glütserooli hulk, g/kg;  
*eth* – etanooli hulk, g/kg

**Kääritusaste.** Samuti arvutati kromatogrammide alusel välja kääritusaste (KA), mis näitab seda kui palju algekstrakti on alkoholi kääritatud. Arvutus tehti järgmise valemi abil:

$$KA = eth * Y_{S/eth} / (\text{jääkdekstriinid} + eth * Y_{S/eth}) \quad (5)$$

Kus

*eth* - etanooli hulk, g/kg;  
*Y<sub>S/eth</sub>* - suhkru kulu toodetud etanooli kohta, 2,1 g/g;  
*Jääkdekstriinid* – polüsahhariidide, maltotrioosi, maltoosi, glükoosi ja fruktoosi summa, g/kg

**Biomassi saagis.** Lisaks kääritusastmele mõjutab etanooli sisaldust õlles oluliselt biomassi saagis. Kromatograafilise analüüsi tulemusena saadud glütserooli ja etanooli sisalduse alusel hinnati ka õlle biomassi saagist  $Y_{XS}$ :

$$Y_{XS} = glr/eth / Y_{glr/X} / Y_{malt/eth} \quad (6)$$

Kus

*glr* – glütserooli kontsentratsioon õlles, g/kg;  
*eth* – etanooli kontsentratsioon õlles, g/kg;  
*Y<sub>malt/eth</sub>* – maltoosi kulu etanooli kohta, 2,01g/g;  
*Y<sub>glr/X</sub>* – glütserooli saagis sünteesitud biomassi kohta, 0,65g/g

## Tulemused ja arutelu

Eksperimentaalne töö laboris teostati ajavahemikus 09.02.2023-14.03.2023. Tulemuste analüüsiks jagati õlled tootja ja päritolu järgi nelja gruppi: A. Le Coq õlled (Eesti päritolu), Saku õlled (Eesti päritolu), Põhjala õlled (Eesti päritolu) ning välismaa õlled.

Kõige kõrgem polüsahhariidide ning etanooli suhe (g/g, valem 3, välja arvatud alkoholivabad õlud) oli A. Le Coq Imperial Extra Double Stout õlles (0,9 g/g), mis oli oma polüsahhariidide sisalduse poolest kõigist analüüsitud õludest teisel kohal (61,86 g/kg), eespool oli ainult Põhjala BabaTonka (78,09 g/kg).

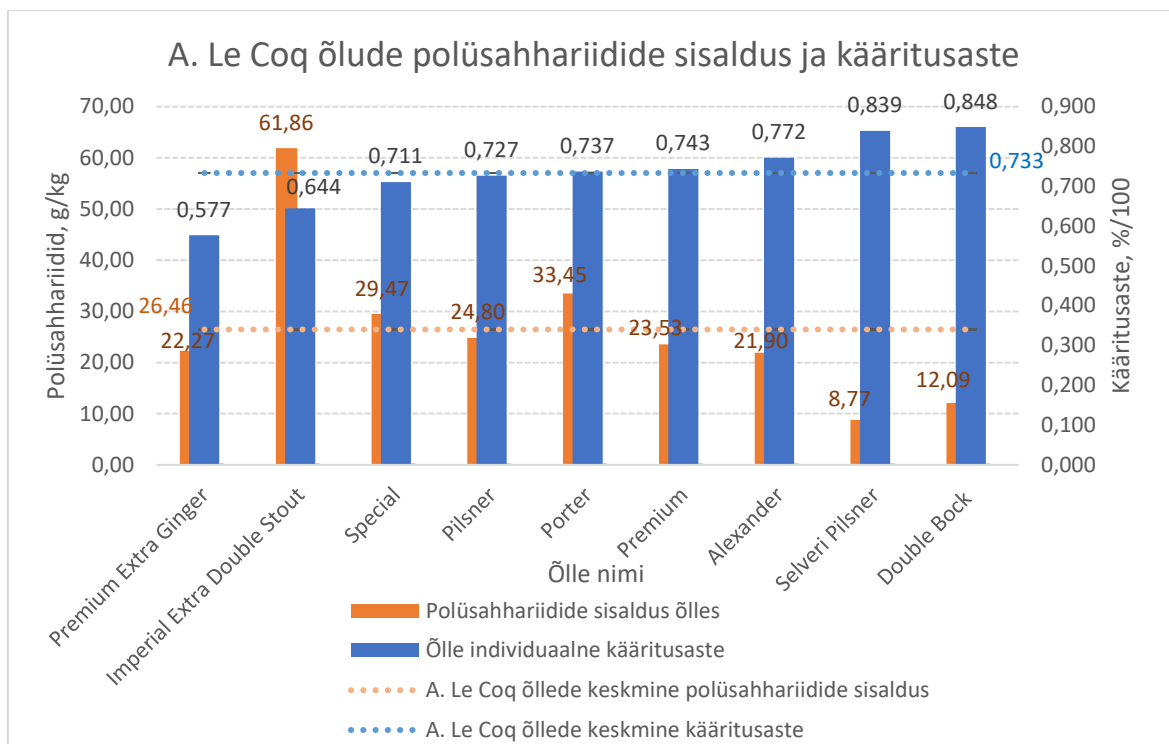
Maltotriooosi piiki ei õnnestunud tuvastada 15-l õlled: A. Le Coq Premium, Põhjala Must Kuld, Saku Talve eripruul, A. Le Coq Imperial Extra Double Stout, A. Le Coq Premium Extra Ginger, Paulaner Hefe Weisbier, Bud Genuine, Leffe Blonde, A. Le Coq Alexander, A. Le Coq Pilsner, Hell Köning Ludwig Weissbier, Schöffelhofer Hefeweizen, Saku Kuld, Corona Extra ja Erdinger Weissbier.

### 1. Õlled etanooli kontsentratsioon

Töös võrreldi etiketil märgitud ja HPLC analüüsi tulemusena arvatud (Valem 2) etanoolisisaldusi (v/v). Tulemustest saab järeldada, et analüüsitud ning etiketil märgitud etanoolisisaldused (v/v) langevad hästi kokku tööstusõlledel, kuid käsitööõlledes esineb suuri erinevusi. Suurimad etanoolisisalduse erinevused toote etiketil märgitud info ja analüüsitud tulemuste vahel esinesid Põhjala õludes. Suurima etanoolisisalduse erinevusega õlleks etiketil ka analüüsil osutus Banofee Bänder (2,03 v/v), mis on Põhjala pruilikoja *Special* ehk eriõlu. Samuti olid üle 1 v/v madalamad Öö (vahe 1,68 v/v), Must kuld (vahe 1,25 v/v) ja Gimme Danger (vahe 1,2 v/v) õlled.

### 2. Kääritusaste

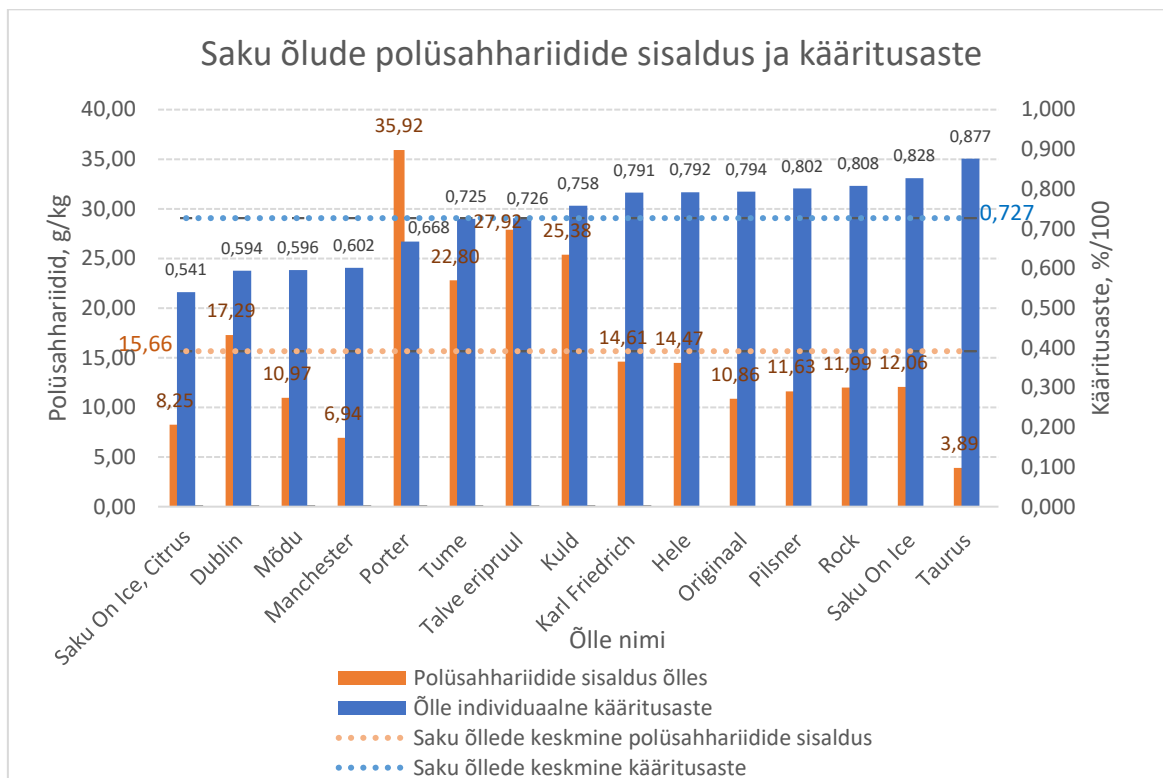
Selleks, et võrrelda, kui palju algekstrakti on õlles alkoholiks kääritatud, arvutati välja kääritusaste (Valem 5).



Joonis 5. Polüsahhariidide sisaldus ja kääritusaste A. Le Coq õlledes. Oranžid tulbad kujutavad polüsahhariidide sisaldust õlles, sinised tulbad näitavad analüüsitud õlle individuaalset kääritusastet, heleoranž punktiirjoon kujutab A. Le Coq õlledes keskmist polüsahhariidide sisaldust ning sinine punktiirjoon märgib A. Le Coq õlde keskmist kääritusastet.

Väiksem KA on Premium Extra Ginger õlles (57,7%) ning Imperial Extra Double Stoutil (64,4%) (Joonis 5). Premium Extra Ginger õllele on lisatud suhkrut ning kromatograafilise analüüsi tulemustes kajastub märgatav jääkfruktoosi hulk (12,6 g/kg) ning maltoosi hulk (14,63 g/kg) (Lisa 1 koondtabel). Imperial Extra Double Stout õlu kääritatavaid jääksuhkruid ei sisalda, kuid õlles esineb väga suur (võrreldes teiste A. Le Coq õlledega) polüsahhariidide kogus (61,86 g/kg), mille põhjuseks võib olla õllele lisatud kaerahelbed. Kaerahelvestes sisalduvad halvasti hüdroolüüsuvad glükaanid suurendavad polüsahhariidide fraktsiooni hulka. Suurim KA esines Selveri Pilsneril (83,9%) ning Double Bockil (84,8%), millest tuvastati ka väiksem kogus polüsahhariide (vastavalt 8,77 g/kg ja 12,09 g/kg).

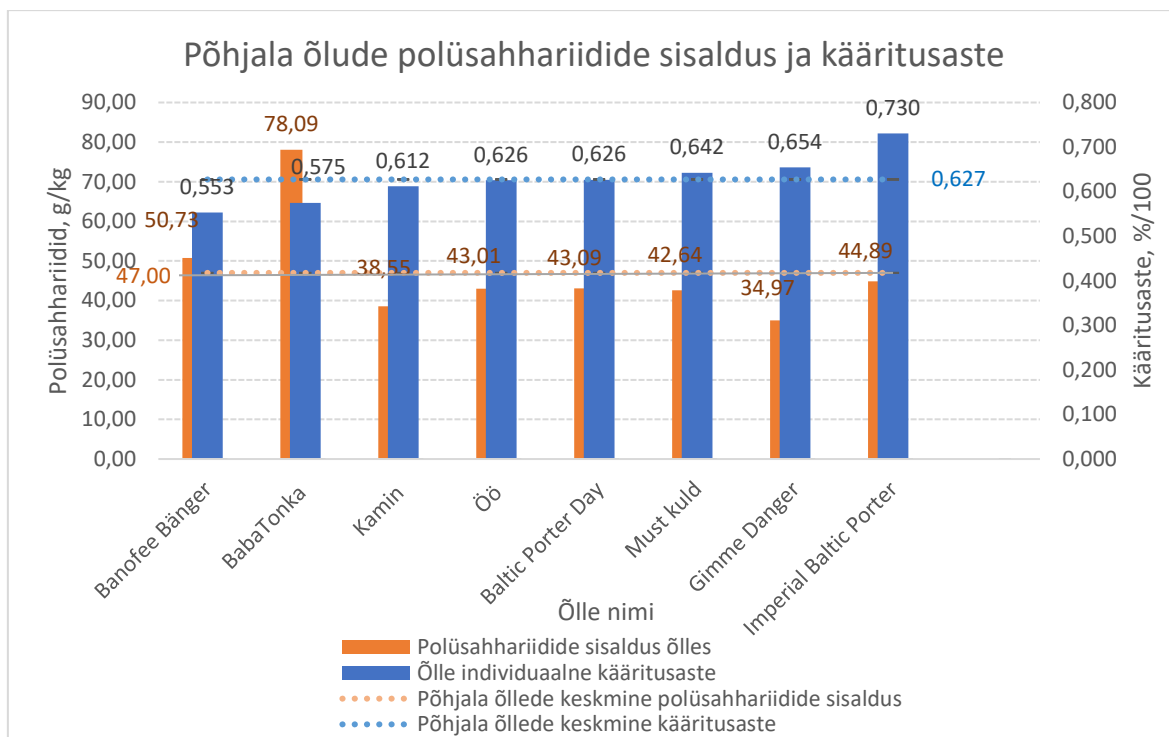




Joonis 6. Polüsahhariidide sisaldus ja kääritusaste Saku õlledes. Oranžid tulbad kujutavad polüsahhariidide sisaldust õlles, sinised tulbad näitavad analüüsitud õlle individuaalset kääritusastet, heleoranž punktiirjoon kujutab Saku õlled keskmine polüsahhariidide sisaldust ning sinine punktiirjoon märgib Saku õlled keskmine kääritusastet

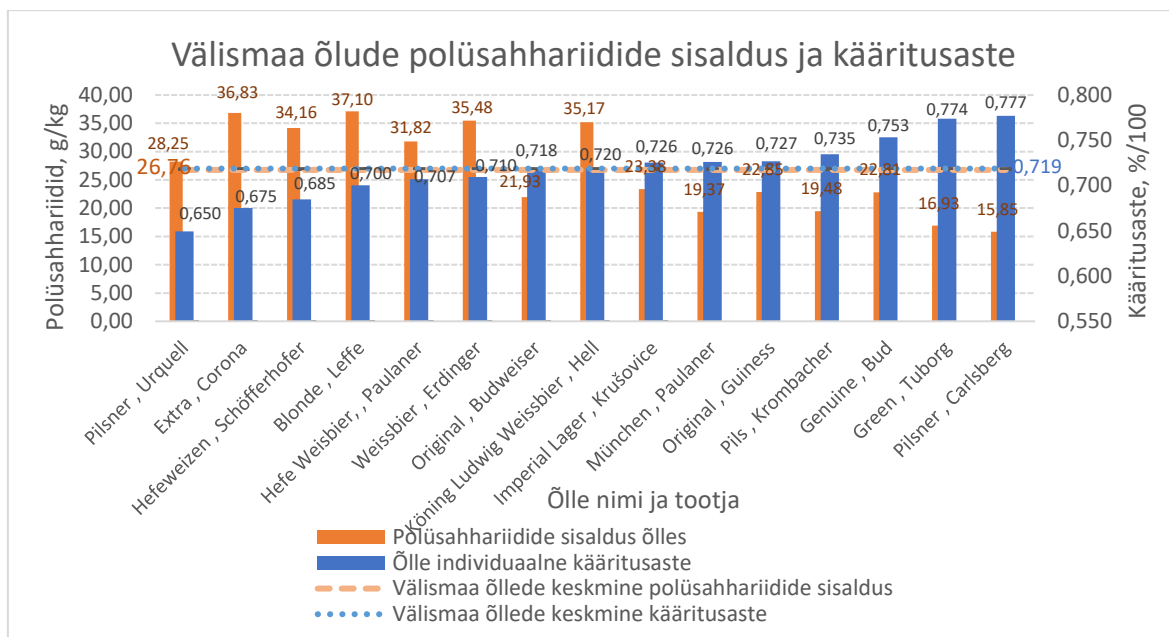
Saku õlled tulemustest on näha (Joonis 6), et kõige väiksema näilise KA-ga on Saku On Ice Citrus (54,1%), mille põhjuseks võib olla lisatud glükoosi-fruktoosisiirup, mis jätab lõpptootesse 17,41 g/kg fruktoosi, 21,92 g/kg glükoosi; maltoosi, maltotriooosi ja PS kogused on pigem mõõdukad või väikesed (Lisa 1 koondabel). Ka madalama KA-ga Dublini (59,4%), Mõdu (59,6%) ja Manchesteri (60,2%) õlle on lisatud glükoosisiirupit. Manchesteris on seetõttu teistest väga palju rohkem glükoosi (34,07 g/kg), ja pigem mõõdukas koguses maltoosi, maltotriooosi ja PS-e. Dublin õlle KA-d vähendab suur maltoosi kogus (20,45 g/kg) ning Mõdu õlle astet teeb madalamaks fruktoos (12,95 g/kg) ja glükoos (13,2 g/kg). Arvatavasti on suhkrullikaid lisatud Saku On Ice Citrus, Mõdu ja Manchesteri õlledele peale joogi kääritusprotsessi.

Suurima KA on saavutanud Taurus ja Saku On Ice. Taurusele on ilmselt lisatud glükoosisiirupit enne kääritamist, sest lõpptootes on seda pigem minimaalselt (glükoosi ja fruktoosi näol). KA-d tõstavad vähene kogus tuvastatud polüsahhariidid, maltoos ja maltotriooos.



Joonis 7. Polüsahhariidide sisaldus ja kääritusaste Põhjala õlledes. Oranžid tulbad kujutavad polüsahhariidide sisaldust õlles, sinised tulbad näitavad analüüsitud õlle individuaalset kääritusastet, heleoranž punktirjoon kujutab Põhjala õllete keskmine polüsahhariidide sisaldust ning sinine punktirjoon märgib Põhjala õllete keskmine kääritusastet

Põhjala õlude tulemustest on näha (Joonis 7), et KA on väiksem Banofee Bängeril (55,4%) ja BabaTonkal (57,5%). Banofee Bänger sisaldab kõiki kääritatavaid jääsuhkruid (fruktoosi 4,92 g/kg, glükoosi 7,13 g/kg, maltoosi 48,12 g/kg ning maltotriooosi 27,73 g/kg), samuti on kõrge polüsahhariidide hulk (50,73 g/kg) (Lisa 1 koondtabel). Madalam KA võib tuleneda õllele lisatud rukisest ja kaerast (Lisa 1, Koondtabel). BabaTonka õlles esineb samuti glükoosi (6,09 g/kg), maltoosi (36,67 g/kg) ning maltotriooosi (17,62 g/kg), kuid KA-d madaldab üksjagu väga suur polüsahhariidide sisaldus (78,09 g/kg), mis võib olla tingitud õllele lisatud maltodekstriinist. Suurim KA oli Imperial Baltic Porteril (73%), kromatograafiliste andmete järgi oli selles õlles kõige vähem jäämaltoosi (kui mitte arvestada Must kuld õlut, millel ei suudetud maltotriooosi kromatograafilist eristada). Omajagu mõjutas Imperial Baltic Porteri KA-d polüsahhariidid (44,89 g/kg), mida võis suurendada kaera lisamine.



Joonis 8. Polüsahhariidide sisaldus ja kääritusaste välismaa õlledes. Oranžid tulbad kujutavad polüsahhariidide sisaldust õlles, sinised tulbad näitavad analüüsitud õlle individuaalset kääritusastet, heleoranž punktiirjoon kujutab välismaa õlled keskmine polüsahhariidide sisaldust ning sinine punktiirjoon märgib välismaa õlled keskmine kääritusastet

Välismaalt imporditud õlled erinesid üksteisest kõige rohkem 12,7% võrra. Kõige madalamad KA-d olid Urquelli Pilsneril (65%) ning Corona Extral (67,5%), mida on näha Joonisel 8. Kuigi Corona Extral olid täielikult ära assimileeritud maltotrioo, siis polüsahhariidide oli teisalt rohkelt (36,83 g/kg) (Lisa 1 koondtabel). Urquelli Pilsneri kromatograafilistelt näitajatelt on näha, et maltoosi (2,9 g/kg) ja eriti maltotrioo (9,1 g/kg) ei ole täielikult utiliseeritud. Kõige kõrgemad KA-d esinesid Tuborg Green (77,4%) ning Carlsberg Pilsneril (77,7%). Kuigi Carlsbergi Pilsneril ei olnud tarbitud täielikult ära maltoosi (3,62 g/kg) ega ka maltotrioo (5,26 g/kg), siis polüsahhariidide oli seevastu õlles vähem (15,85 g/kg).

Kõrgemad keskmised KA-d on tööstuslikel õlledel (A. Le Coq-il 73,3%, Sakul 72,7% ning välismaistel õlledel 71,9%). Suuri erinevusi Eesti tööstustoodangu ja välismaise toodangu vahel ei ole. Samas on madalama KA-ga õlletootjaks Põhjala (62,7%), mis on käsitööõlledele pigem omane. Põhjuseks võib olla see, et käsitööõlle tootjad võivad kasutada erinevaid pärme, mis jätab rohkem virdesuhkruid assimileerimata. Samuti kasutavad käsitöö õlled tootjad oma õlleretseptides rohkem erinevaid komponente (erilinnaseid, lisandeid, suhkruid), mis tõstavad polüsahhariidide ja kääritatavate jääsuhkrute hulka tootes. Lõpptulemusel kajastuvad õlle paremad sensoorsed omadused.

### 3. Glütserool/etanooli suhe ja biomassi saagis

Glütserooli (g/kg) ja etanooli (g/kg) tulemuste järgi arutati glütserooli/etanooli suhe *glr/eth* (g/g) iga grupi õlled jaoks individuaalselt. Hiljem kasutati seda suhet biomassi saagise hindamiseks.

Kõige väiksem *glr/eth* suhe A. Le Coq õlledes oli Pilsneris (0,036 g/g) ning kõige suurem Special (0,074 g/g) ja Imperial Extra Double Stout (0,067 g/g) õlus (Tabel 6). *Glr/eth* suhte alusel hinnati A. Le Coq õlled biomassi saagist. Suurima biomassi saagisega õlledeks osutusid samuti Special (0,057 g/g)

ning Imperial Extra Double Stout (0,052 g/g). Extra Double Stout õlu suurema biomassi saagise põhjendus võib olla suurenenud polüsahhariidide sisaldus (0,90 g/g etanooli kohta) lisatud kaerast ja pikalt röstitud odralinnastest, mis potentsiaalselt suurendab glütserooli tootmist ja seeläbi biomassi saagist (Lisa 1 koondtabel). Vähim biomassi saagis oli Pilsneril (0,028 g/g), mille linnastele oli lisatud otra. Pilsneri vähene *glr/eth* suhe ja biomassi saagis võib tuleneda pärmivalikust (toodab vähem glütserooli).

Tabel 6. A. Le Coq õlude *glr/eth* suhe,  $Y_{XS}$  ja lisandid pärmile, linnastele ja humalale. Biomassi saagis arvatati valemist 6, *glr/eth* suhte arvutamiseks kasutati valemit 4.

Nimi	v/v	glr/eth, g/g	$Y_{XS}$	Lisandid
Pilsner	4,2	0,036	0,028	Oder, humalaekstraktid
Selveri Pilsner	4,2	0,040	0,030	
Premium Extra Ginger	4,5	0,041	0,031	Sidrunhape, ingveri ekstrakt (0,2%), sidrunimahla kontsentratsioon, looduslik sidruni lõhna- ja maitseaine, säilitusaine naatriumbensoaat
Double Bock	7	0,042	0,031	Oder, humalaekstraktid
Premium	4,7	0,042	0,031	Oder, humalaekstraktid
Alexander	5,2	0,045	0,035	Oder, humalaekstraktid
Porter	6,5	0,046	0,036	Oder, humalaekstraktid
Imperial Extra Double Stout	7	0,067	0,052	Kaerahelbed, humalaekstraktid
Special	5,2	0,074	0,057	Humalaekstraktid

Saku õludest oli väikseima *glr/eth* suhtega Pilsner (0,044 g/g) ja Taurus (0,045 g/g). Suurima suhtega õlled olid Originaal (0,064 g/g) ning Talve eripruul (0,062 g/g) (Tabel 7). Suurimateks biomassi saagisega Saku õludeks osutusid samuti Talve eripruul (0,048 g/g) ning Originaal (0,049 g/g). Talve eripruuli glütserooli suurem hulk võis tuleneda suurenenud polüsahhariidide kogusest, mis võib tuleneda õlle koostisosadest (näiteks erilinnastest) (Lisa 1 koondtabel). Vähima biomassi saagisega õludeks on Pilsner (0,034 g/g) ning Taurus (0,034 g/g).

Tabel 7. Saku õlude glr/eth suhe,  $Y_{xs}$  ja lisandid pärmile, linnastele ja humalale.

Nimi	v/v	glr/eth, g/g	$Y_{xs}$	Lisandid
Pilsner	4,2	0,044	0,034	Oder, humalaekstraktid
Taurus	6	0,045	0,034	Oder, glükoosisiirup
Dublin	4,2	0,048	0,037	Karamelliseeritud odralinnased, glükoosisiirup, karamelliseeritud suhkrusiirup, toiduvärv –E150c, humalaekstrakt
Rock	5,3	0,050	0,037	Oder
Hele	5,2	0,049	0,038	Oder, glükoosisiirup, karamelliseeritud odralinnased
Tume	6,7	0,049	0,038	Karamelliseeritud odralinnased, kõrvetatud suhkrusiirup
Kuld	5,2	0,050	0,038	
Manchester	4,2	0,051	0,039	Oder, glükoosisiirup, karamelliseeritud odralinnased, kõrvetatud suhkrusiirup, humalaekstrakt, looduslikud lõhna- ja maitseaine
Porter	6,9	0,051	0,039	Karamelliseeritud odralinnased, röstitud odralinnased
Karl Friedrich	6	0,053	0,040	Oder, glükoosisiirup, karamelliseeritud odralinnased
Saku On Ice	5	0,053	0,040	Oder
Saku On Ice, Citrus	4	0,053	0,040	Oder, glükoosi-fruktoosisiirup, süsihappegaas, looduslikud lõhna- ja maitseained, hape -E330, happesuse regulaator -E331, antioksüdant -E300, säilitusaine -E211
Mõdu	4	0,055	0,042	Oder, glükoosi-fruktoosisiirup, mesi, süsihappegaas, hape -sidrunhape, toiduvärv -E150c, lõhna- ja maitseaine, säilitusaine -E202
Talve eripruul	5,3	0,062	0,048	
Originaal	4,7	0,064	0,049	Oder, humalaekstraktid

Glr/eth suhe Põhjala õludes oli väikseim Imperial Baltic Porteris (0,052 g/g) ning suurim Banoffee Bängeris (0,089 g/g) (Tabel 8). Põhjala õlude suurim biomassi saagis tuvastati samuti Banoffee Bängerist (0,068 g/g). Väikseim suhe oli jällegi Imperial Baltic Porter õlus (0,040 g/g), mis ei jää siiski alla ei A. Le Coq, Saku ega ka välismaa päritolu õlude keskmistele biomassi saagistele.

Tabel 8. Põhjala õlude glr/eth suhe,  $Y_{xs}$  ja lisandid pärmile, linnastele ja humalale.

Õlle nimi	v/v	glr/eth, g/g	$Y_{xs}$	Lisandid
Imperial Baltic Porter	10	0,052	0,040	Kaer, tume suhkur
Gimme Danger	10,5	0,066	0,050	Demerera suhkur
Must kuld	7,8	0,069	0,053	Laktoos
Kamin	11	0,070	0,054	Tume suhkur
Öö	10,5	0,072	0,055	Demerera suhkur
BabaTonka	12	0,073	0,056	Maltodekstriin, tume suhkur
Baltic Porter Day	10,5	0,076	0,058	Tume suhkur
Banoffee Bänger	12,5	0,089	0,068	Rukis, kaer

Välismaistest õludest oli *glr/eth* suhe väikseim Krušovice Imperial Lageris (0,029 g/g) ning suurim Tuborg Green õlus (0,056 g/g) (Tabel 9). Välismaa õlledest oli suurima biomassi saagisega Tuborg Green (0,043 g/g) ning vähima biomassi saagisega Krušovice Imperial Lager (0,022 g/g). Tabelist võib veel näha, et nisulinnastega õlled (tootjatelt Schöfferhofer, Paulaner, Erdinger ja Hell) omasid pigem suuremat *glr/eth* suhet ja biomassi saagist, kui odralinnastega pruulitud õlled.

Tabel 9. Välismaa õlde *glr/eth* suhe,  $Y_{xs}$  ja lisandid pärmile, linnastele ja humalale.

Õlle nimi ja tootja	v/v	glr/eth, g/g	$Y_{xs}$	Lisandid
Imperial Lager, Krušovice	5	0,029	0,022	
Pils, Krombacher	4,8	0,034	0,026	
Original, Guinness	5	0,037	0,029	Oder, röstitud oder
Extra, Corona	4,5	0,038	0,029	Mais
Genuine, Bud	5	0,040	0,030	
Blonde, Leffe	6,6	0,040	0,031	
Pilsner, Carlsberg	5	0,045	0,034	
Original, Budweiser	5	0,045	0,035	
München, Paulaner	4,9	0,047	0,036	
Pilsner, Urquell	4,4	0,048	0,037	
Hefeweizen, Schöfferhofer	5	0,048	0,037	Nisulinnased, humalaekstraktid
Hefe Weissbier, Paulaner	5,5	0,050	0,038	Nisulinnased
Weissbier, Erdinger	5,3	0,051	0,039	Nisulinnased
König Ludwig Weissbier, Hell	5,5	0,051	0,039	Nisulinnased, humalaekstraktid
Green, Tuborg	4,6	0,056	0,043	Oder

*Gl*/*r*/*e*/*t* keskmine suhe A. Le Coq ja Saku õludes oli 0,048 g/g ning välismaa õludes 0,044 g/g. Põhjala õlde *glr/eth* suhte keskmine oli kõige suurem - 0,071 g/g. Suurim biomassi keskmine saagis on samuti Põhjala käsitöö õludes (0,054 g/g), järgnevad A. Le Coq (0,038 g/g), Saku (0,037 g/g) ning välismaised õlud (0,034 g/g). Eesti tööstuslike tootjate A. Le Coq ja Saku õlled biomassi saagise keskmiste vahel erilist erinevust ei ole. Välismaa õlled biomassi saagis on samuti väheoluline, kui võrrelda seda Põhjala keskmise väärtusega. Põhjala õlde suurem biomassi saagis võib olla tingitud rohkemate erilinnaste kasutamisest, kuna just röstitud või karamelliseeritud linnased võivad suurendada polüsahhariidide tõstmisega biomassi saagist. Samas ei saa välistada ka pärmijuuretise efekti – Põhjala kasutab inokuleerimiseks aktiivset kuivpärm, suurtööstused aga tüüpiliselt vedelkultuuri või siis jääpärm.

#### 4. Alkoholivabad õlud

Alkoholivabade õlde võrdlemisel kasutati jookide polüsahhariidide, maltotrioosi-, maltoosi-, glükoosi-, fruktoosi- ja etanoolisisaldust (Tabel 10).

Tabel 10. Alkoholivabade õlude ja nende analoogide (alkoholiga) koostis. Tabelis on välja toodud individuaalselt analüüsitud alkoholivabade õlude polüsahhariidide, jäämaltotriooosi, -maltoosi, -glükoosi ja – fruktoosi sisaldus (g/kg), samuti ka etanooli sisaldus (g/kg). Võrdluseks on tabelisse lisatud ka olemasolevad alkoholiga õlled (märgitud kaldkirjas ning tumedama sinise värviga).

Nimi ja tootja	Polüsahhariid, g/kg	Maltotriooos g/kg	Maltoos g/kg	Glükoos g/kg	Fruktoos g/kg	Etanool, v/v
Porter, alkoholivaba , A. Le. Coq.	31,74	20,52	30,63	0,00	0,00	0,00
<i>Porter , A. Le. Coq (6,5 v/v)</i>	33,45	0,00	<2,92	<1,40	0,00	6,46
Premium, alkoholivaba , A. Le. Coq.	17,74	10,80	28,98	0,00	<0,69	0,00
<i>Premium, A. Le. Coq (4,7 v/v)</i>	23,53	0,0	<2,23	<0,72	0,21	4,72
Original, Clausthaler	19,95	8,49	25,51	4,41	2,66	0,35
Rock, alkoholivaba , Saku	16,71	10,76	13,39	0,00	0,34	0,28
<i>Rock , Saku (5,3 v/v)</i>	11,99	3,52	<2,82	<2,33	0,00	5,32

A. Le Coq alkoholivabad õlled etanooli ei sisalda, kuid võrreldes neid tavaõlledega, siis leidub nende koostisest üllatavalt palju maltotriooosi ja maltoosi. Alkoholivabas Porteris tuvastati 20,52 g/kg maltotriooosi ning 30,63 g/kg maltoosi, kui 6,5 v/v Porteris maltotriooosi ei tuvastatud ning maltoosi leiti <2,92 g/kg. Alkoholivaba Porteri ning 6,5 v/v Porteri polüsahhariidide oli üsangi sarnane, vastavalt 31,74 g/kg ning 33,45 g/kg. Alkoholivabas Premium õlles on 10,8 g/kg maltotriooosi ja 28,98 g/kg maltoosi, 4,7 v/v Premiumis aga maltotriooosi ei tuvastatud ning maltoosi oli <2,23 g/kg. Polüsahhariidide kogus erines Premiumis Porteri õllepaarist rohkem- alkoholivabas Premiumis tuvastati 17,74 g/kg polüsahhariide ning 4,7 v/v Premiumis oli neid 23,53 g/kg.

Ka Saku alkoholivabas Rock õlles on rohkem maltotriooosi (10,76 g/kg) ning maltoosi (13,39 g/kg), kui seda on 5,3 v/v Rock õlles (3,52 g/kg maltotriooosi ja <2,82 g/kg maltoosi). Polüsahhariide tuvastati alkoholivabast variandist 16,71 g/kg ja 5,3 v/v variandist 11,99 g/kg. Alkoholivabast Saku Rock õlust tuvastati ka 0,28 v/v etanooli.

Erinevalt A. Le Coq ja Saku alkoholivabadest õlledest, sisaldab Clausthaler Original lisaks maltotriooosi ja maltoosile ka glükoosi (4,41 g/kg) ja fruktoosi (2,66 g/kg) ning 0,35 v/v etanooli.

Kõik need asjaolud viitavad sellele, et originaalvirde fermenteerimiseks on kasutatud eripärmi või eritingimusi, kus etanooli kääritusprotsessis ei moodustu või moodustub seda väga vähe. Samas A. Le Coq märgib oma kodulehel, et alkoholivaba Premiumi ja Porteri tootmiseks kasutavad nad vaakumaurustamise meetodit, kus aurustatakse alkohol välja valmis kääritatud õllest. Erinevused tulevad arvatavasti sisse pärast, et valmis kääritatud õlu ei ole nimekaimudel sama.

## Kokkuvõte

Töö eesmärk sai täidetud, kuna suudeti määrata Eestis turustatavate õlude polüsahhariidide, maltotriooosi-, maltoosi-, glükoosi-, fruktoosi-, glütserooli- ja etanooli sisaldus ning analüüsida nende koostist.

Töös võrreldud õlude etiketi ja analüüsi tulemusena saadud etanoolisisaldustes esinesid kahetised tulemused- tööstuslikult toodetud Eesti ja välismaa toodangu tulemused langesid enamasti hästi kokku. Teisalt esinesid suuremad erinevused Eesti käsitöö õllede tootja Põhjala toodangus, kus alkoholi mahuprotsent oli kohati 2,03 v/v madalam etiketil märgitud numbrist.

Teostatud tööst selgus, et Eesti tööstustoodangu ning välismaa tööstustoodangus erilisi erinevusi kääritusastmes ei esinenud, kuna A. Le Coq õlude keskmine KA oli 73,3%, Saku õlude 72,7% ning välismaa õllede 71,9%. Eesti käsitöö õlude tootja Põhjala keskmine KA oli 62,7%. Peamiselt olid madalamate KA-dega õlled lisatud suhkruga ja/või suure polüsahhariidide sisaldusega, kõrgemate KA-dega aga madalama polüsahhariidide sisaldusega.

Keskmine glr/eth suhe ja biomassi saagis oli kõige suurem Põhjala õludes- 0,071 g/g 0,054 g/g, millele järgnesid A. Le Coq tulemustega 0,048 g/g ja 0,038 g/g, Saku tulemustega 0,048 g/g ja 0,037 g/g ning välismaa õlled, mille keskmine glr/eth suhteks oli 0,044 g/g ja biomassi saagiseks 0,034 g/g. On võimalik, et nimetatud suhteid tõstis erilinnaste sisaldus ja pärmivalik.

Alkoholivabade õlude ja alkoholiga alternatiivide võrdlusel selgus, et alkoholivabades õludes on märgatavalt rohkem maltotriooosi ja maltoosi. Polüsahhariidide sisaldused nii palju nimekaimude vahel ei erinenud ning maksimaalseks erinevuseks oli 5,79 g/kg.

Kindlasti oleks huvitav ning informatiivne uurida lisaks süsivesikute, glütserooli ja etanoolisisaldusele ka hapete- ja energiasisaldust Eestis turustatavates õludes.



## Tänuavaldused

Tahan tänada oma juhendajat, Toomas Paalmet, suurepärase juhendamise ning konstruktiivse kriitika eest. Tänuõnad ka Allan Oslpertile, kes oli laboris abiks.

Aitäh ka Luis Martinile, kes aitas inglisekeele tõlkega ning töö vormistamisega. Samuti tänuõnad oma perele ja sõpradele, kes olid mulle kiirel ja stressirohkel ajal toeks.

## Kasutatud kirjandus

1. Alkoholi määratlemise, kirjeldamise ja müügiks esitlemise nõuded, ptk 3, § 10 (02.04.2019). RT I. Kasutatud 09.05.2023.
2. Cadenas, R., Caballero, I., Nimubona, D., Blanco, C.A. Brewing with Starchy Adjuncts: Its Influence on the Sensory and Nutritional Properties of Beer. *Foods* 2021, 10, 1726. <https://doi.org/10.3390/foods10081726>
3. Chaill, G. (1999). Optimisation of brewery yeast management: a study incorporating image analysis. <https://doras.dcu.ie/18391/>
4. Ciani, M., Comitini, F., & Mannazzu, I. (2008). Fermentation. *Encyclopedia of Ecology*, 1548–1557. doi:10.1016/b978-008045405-4.00272-x
5. Das, A. J., Khawas, P., Miyaji, T., Deka, S. C. (2014). HPLC and GC-MS analyses of organic acids, carbohydrates, amino acids and volatile aromatic compounds in some varieties of rice beer from northeast India. *Journal of the Institute of Brewing* 120(3) 244-252
6. De Keukeleirc, D. (2000). Fundamentals of beer and hop chemistry. *Química Nova* 23(1) 108-112
7. De Lima, A., Aceña, L., Mestres, M., Boqué, R. (2023). Monitoring the Evolution of the Aroma Profile of Lager Beer in Aluminium Cans and Glass Bottles during the Natural Ageing Process by Means of HS-SPME/GC-MS and Multivariate Analysis *Molecules* 28(6) 2807
8. Ethanol fermentation. Wikipedia. Kasutatud 09.05.2023. [https://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol\\_fermentation](https://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol_fermentation)
9. Eumann, M. (2006). Water in brewing. *Brewing*, 183–207. doi:10.1533/9781845691738.183
10. Evans, D., Li, C., Eglinton, J. (2010). The properties and genetics of barley malt starch degrading enzymes. *Advanced Topics in Science and Technology in China* 143-189
11. Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2009). Beer Carbohydrates. *Beer in Health and Disease Prevention*, 291–298. doi:10.1016/b978-0-12-373891-2.00027-4
12. Hopkins, R., Wiener, S. (1955). LIMIT DEXTRINASE: II. ACTION OF LIMIT DEXTRINASE IN BREWING. *Journal of the Institute of Brewing* 61(6) 493-500
13. Kuidas õlut tehakse? Saku. (05.05.2023). <https://saku.ee/et/ollest/kuidas-olut-tehakse/>
14. Kukuminato, S., Koyama, K., Koseki, S. (2021). Antibacterial Properties of Melanoidins Produced from Various Combinations of Maillard Reaction against Pathogenic Bacteria *Microbiology Spectrum* 9(3)
15. Lepane, L., Martens, K., Mattheus, Ü., Orro, E., Josing M., Reiman M., Pulver, B., Niklus, I., Hansa, A., Savina, V., Priedenthal, E. (2022). Eesti alkoholiturg, alkoholi tarbimine ja alkoholipoliitika 2021. aastal. Eesti Konjukturiinstituut.
16. Liikmed. Eesti Väikepruulijate liit. (05.05.2023) <https://evpl.ee/#liikmed-nimekiri>
17. Macgregor, A. W. (1987).  $\alpha$ -Amylase, Limit Dextrinase, and  $\alpha$ -Glucosidase Enzymes in Barley and Malt. *Critical Reviews in Biotechnology*, 5(2), 117–128. doi:10.3109/07388558709086972
18. Melewar, T. C., & Skinner, H. (2018). Territorial brand management: Beer, authenticity, and sense of place. *Journal of Business Research*. doi:10.1016/j.jbusres.2018.03.038
19. Meussdoerffer, F. G. (2009). *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*.

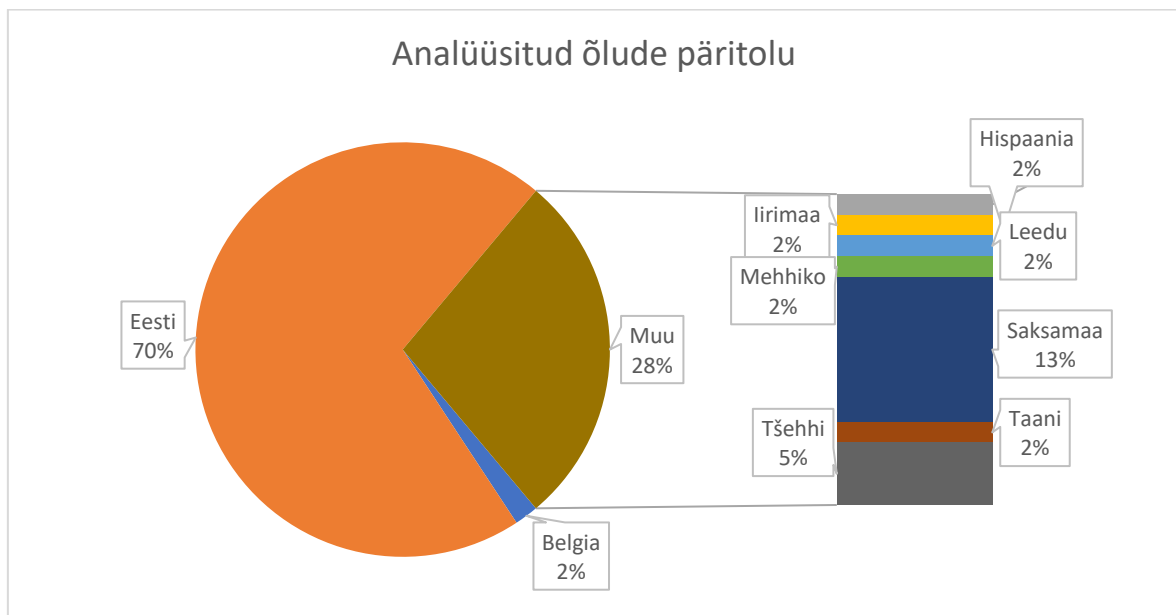
20. Monošík, R., Magdolen, P., Stredánský, M., Šturdík, E. (2013). Monitoring of monosaccharides, oligosaccharides, ethanol and glycerol during wort fermentation by biosensors, HPLC and spectrophotometry. *Food Chemistry* (2013) 138(1) 220-226
21. Muller, C., Neves, L. E., Gomes, L., Guimarães, M., Ghesti, G. (2020). Processes for alcohol-free beer production: a review. *Food Science and Technology* (2019) 40(2) 273-281
22. Parker, D. K. (2012). Beer: production, sensory characteristics and sensory analysis. *Alcoholic Beverages*, 133–158. doi:10.1533/9780857095176.2.133
23. Peltonen, J., Rita, H., Aikasalo, R., & Home, S. (2004). Hordein and Malting Quality in Northern Barleys. *Hereditas*, 120(3), 231–239. doi:10.1111/j.1601-5223.1994.00231.x
24. Petruzzi, L., Rosaria Corbo, M., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2015). Brewer's yeast in controlled and uncontrolled fermentations, with a focus on novel, nonconventional, and superior strains. *Food Reviews International*, 32(4), 341–363. doi:10.1080/87559129.2015.1075211
25. Põllo, H. (2010). Inimeste gruppideks jagamine päritolukoha ja kunagise eristuva omaduse või tegevuse järgi Hiiumaal. *Eesti Rahvakultuuri Keskus*, <https://rahvakultuur.ee/2020/03/17/inimeste-gruppideks-jagamine-hiiumaal/>
26. Rani, H., Bhardwaj, R. (2021) Quality attributes for barley malt: “The backbone of beer”. *Journal of Food Science*. 86(8) 3322-3340
27. Reid E. S. J. J., Yakubov E. G., Lawrence J. S. (2022): Nonstarch polysaccharides in beer and brewing: A review of their occurrence and significance, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, DOI: 10.1080/10408398.2022.2109585
28. Sinha, N. (2007). *Handbook of Food Products Manufacturing*.
29. Skendi, A., Papageorgiou, M. (2018) Influence of kilning temperature on chemical composition of a Greek barley malt and its wort properties. *Millenium - Journal of Education, Technologies, and Health* (7) 49-58
30. Stewart, G. (2016). *Saccharomyces species in the Production of Beer*. *Beverages*, Vol. 2, Page 34 (2016) 2(4) 34
31. Stewart, G. (2019) Review: Genetic Manipulation of *Saccharomyces* sp. That Produce Ethanol, Related Metabolites/Enzymes and Biomass. *Reference Module in Food Science*
32. Stewart, G. G., Priest, F. G. (2006). *Handbook of Brewing Second Edition*.
33. Stewart, G., Hill, A., Russell, I. (2013). 125th Anniversary Review: Developments in brewing and distilling yeast strains. *Journal of the Institute of Brewing* 119(4) 202-220
34. Zhao X., Procopio S., Becker T. (2015). Flavor impacts of glycerol in the processing of yeast fermented beverages: a review. *J Food Sci Technol*. 52(12):7588-98. doi: 10.1007/s13197-015-1977-y
35. Zheng, X., D'Amore, T., Russell, I., & Stewart, G. G. (1994). Factors Influencing Maltotriose Utilization During Brewery Wort Fermentations. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 52(2), 41–47. doi:10.1094/asbcj-52-0041
36. Wunderlich, S., & Back, W. (2009). Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. *Beer in Health and Disease Prevention*, 3–16. doi:10.1016/b978-0-12-373891-2.00001-8
37. Õlleliigid. Õlleliigid. Kastutatud 15.05.2023. <https://www.ollegiid.ee/tea/olle-liigid/>

## Lisad

### **Lisa 1. Tulemuste koondtabel ja algandmed hüperlingiga**

<https://livettu.sharepoint.com/:f/s/RESTA13/EkoNjtIBDVFMgzNCkxsHEcABWfq6QyOLRvmkv6cSDFSm8g?e=ZTzqoP>

## Lisa 2. Analüüsitud õlude päritolud



Joonis 1. Analüüsitud õlude päritolu. Joonisel on kujutatud päritolumaade protsentuaalne osakaal

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks<sup>1</sup>**

Mina, Roberta Mikk,

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose "Süivesikute ja glütserooli sisaldus Eestis turustatavates pudeliõludes",

mille juhendaja on Toomas Paalme,

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

---

\_\_\_\_\_ (kuupäev)

---

<sup>1</sup> Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtjaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.