

SZAKDOLGOZAT

Bartis Hajnalka

2025.



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Élelmiszermérnöki alapképzési szak

Gyümölcscefre védelmének megvalósítása bioreguláció útján a gyümölcsparlat-előállítás során

Belső konzulens: Dr. Kun Szilárd
egyetemi docens

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** Élelmiszertudományi és
Technológiai
Intézet/Biomérnök és
Erjedéssipari Technológia
Tanszék

Készítette: **Bartis Hajnalka**

Budapest

2025.

Tartalom

1. Bevezetés és célkitűzések	3
1.1. BEVEZETÉS.....	3
1.2. CÉLKITŰZÉSEK.....	4
2. Szakirodalmi áttekintés	5
2.1. A GYÜMÖLCSPÁRLAT ÉS PÁLINKA MEGHATÁROZÁSA	5
2.2. A CEFRÉZÉS.....	6
2.2.1 A gyümölcsök előkészítése az erjesztéshez	6
2.2.2 A gyümölcscefre romlást okozó mikroorganizmusai	8
2.2.3 A cefre savvédelme hagyományos módszerrel.....	9
2.3. A SAVVÉDELEM MEGVALÓSÍTÁSA MIKROBIOLÓGIAI ÚTON.....	9
2.3.1 Irányított erjesztés, mint bioregulációs módszer.....	9
2.4. A <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> SZEREPE AZ ALKOHOLOS ERJEDÉSBEN.....	10
2.4.1 Elsődleges anyagcsere: a cukrok átalakítása etanollá.....	11
2.4.2 Jelenős másodlagos anyagcseretermékek	12
2.5. ALTERNATÍV, NEM- <i>SACCHAROMYCES</i> ÉLESZTŐK ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGEI.....	14
2.5.1 A kevert kultúrás erjesztés.....	14
2.5.2 <i>Lachancea thermotolerans</i>	15
2.5.3 <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	16
2.6. SAVVÉDELEM TEJSAVBAKTÉRIUMOKKAL (MALOLAKTIKUS FERMENTÁCIÓ SZEMSZÖGÉBŐL).....	17
3. Alkalmazott módszerek (anyag és módszer)	19
3.1. FELHASZNÁLT NYERSANYAG	19
3.1.1 <i>Alma</i>	19
3.2. ALKALMAZOTT SEGÉDANYAGOK	19
3.2.1 <i>Pektinbontó enzimek készítmény</i>	19
3.2.2 <i>Sav</i>	19
3.2.3 <i>Komplex élesztőtápanyag</i>	19
3.3. ALKALMAZOTT MIKROORGANIZMUSOK	20
3.3.1 <i>Uvaferm 228TM (Saccharomyces cerevisiae - Lallemand)</i>	20
3.3.2 <i>LEVEL² INITIATM (Metschnikowia pulcherrima - Lallemand)</i>	20
3.3.3 <i>ZYMAFLORETM KHIO^{MP} (Metschnikowia pulcherrima - Laffort)</i>	20
3.3.4 <i>LEVEL² LAKTIATM (Lachancea thermotolerans - Lallemand)</i>	21
3.3.5 <i>Harvest LB-1 (Lactobacillus plantarum – Chr. Hansen)</i>	21
3.3.6 <i>WildBrew Sour PitchTM (Lactobacillus plantarum - Lallemand)</i>	21
3.4. ALKALMAZOTT LABORATÓRIUMI TÁPKÖZEGEK	21
3.4.1 <i>YEPD tápközeg</i>	21
3.4.2 <i>MRS tápközeg</i>	22
3.4.3 <i>A tápközeg elkészítési módja</i>	22
3.5. ALKALMAZOTT KULTÚRÁK FIZIOLÓGIAI VIZSGÁLATA	22
3.5.1 <i>Szénhidráthasznosítás-vizsgálat</i>	22
3.5.2 <i>Alkoholtolerancia kimutatása</i>	23
3.5.3 <i>Agar-diffúziós módszer – kölcsönhatás-vizsgálat</i>	23
3.6. GYÜMÖLCSPÁLINKA KÉSZÍTÉSE	24
3.6.1 <i>Az édes cefre elkészítése</i>	24
3.6.2 <i>Irányított erjesztés</i>	24
3.6.3 <i>Lepárlás</i>	25
3.7. CEFREVIZSGÁLATOK	26
3.7.1 <i>Kémhatás vizsgálata</i>	26

3.7.2	<i>Száranyag-tartalom meghatározása</i>	26
3.7.3	<i>Cefreminták titrálható összes savtartalmának meghatározása</i>	26
3.7.4	<i>Redukáló cukortartalom meghatározása Schoorl-módszer szerint</i>	27
3.7.5	<i>HPLC vizsgálat módszere</i>	28
3.7.6	<i>Alkoholtartalom meghatározása</i>	29
3.7.7	<i>Cefreminták illósavtartalmának meghatározása</i>	29
3.8.	PÁRLATVIZSGÁLATOK	30
3.8.1	<i>Párlatminták titrálható összes savtartalmának meghatározása</i>	30
3.8.2	<i>A para-dimetil-amino benzaldehides kozmaolaj-meghatározási módszer menete</i>	31
3.8.3	<i>Észtertartalom meghatározása</i>	31
3.8.4	<i>Gázkromatográfiás vizsgálat módszere</i>	32
3.8.5	<i>Érzékszervi vizsgálat</i>	32
4.	Eredmények és értékelésük	34
4.1.	ALKALMAZOTT KULTÚRÁK FIZIOLÓGIAI VIZSGÁLATA	34
4.1.1	<i>Szénhidráthasznosítás-vizsgálat</i>	34
4.1.2	<i>Alkoholtolerancia kimutatása</i>	35
4.1.3	<i>Agar-diffúziós -vizsgálat eredménye</i>	36
4.2.	CEFREVIZSGÁLATOK	37
4.2.1	<i>A pH-érték és a titrálható összes savtartalom változása erjedés során</i>	37
4.2.2	<i>A cefre szerves sav összetételének változása erjedés során</i>	39
4.2.3	<i>A száranyag-tartalom és a redukáló cukortartalom változása erjedés során</i>	40
4.2.4	<i>A cefre szénhidrát-összetételének változása erjedés során</i>	42
4.2.5	<i>A kiejedt cefreminták illósavtartalma</i>	43
4.2.6	<i>A kiejedt cefreminták alkoholtartalma</i>	44
4.3.	PÁRLATVIZSGÁLATOK	45
4.3.1	<i>Párlatfrakciók mennyisége</i>	45
4.3.2	<i>A középpárlatok titrálható összes savtartalma</i>	45
4.3.3	<i>A középpárlatok kozmaolaj-tartalma</i>	46
4.3.4	<i>A középpárlatok észtertartalma</i>	47
4.3.5	<i>A gázkromatográfiás vizsgálat eredménye</i>	48
4.3.6	<i>Az érzékszervi vizsgálat eredménye</i>	50
5.	Következtetések és javaslatok	53
6.	Összefoglalás	54
7.	Irodalomjegyzék	56
8.	Ábrák és táblázatok jegyzéke	59
8.1.	ÁBRAJEGYZÉK	59
8.2.	TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE	59
9.	Köszönetnyilvánítás	61

1. Bevezetés és célkitűzések

1.1. Bevezetés

Magyarország mikro- és makroklimája optimális feltételeket nyújt a növénytermesztés számára, még az évjáratok szeszélyessége ellenére is. A hazánkban termesztett, illetve vadon termő gyümölcsök kiváló állagúak és aromagazdagok, ami kifogástalan minőségű alapanyagot jelent a pálinkafőzdeknek (Panyik, 2017). A pálinkafőzésnek korábban értékmentő szerepet szántak, a kilencvenes évek óta azonban folyamatos szemléletváltás jellemző a szakmára. Napjaink irányelve, hogy jó pálinkát csak jó minőségű gyümölcsből, gondos erjesztéssel, finomítással és érleléssel lehet előállítani (Békési és Pándi, 2005).

A szakszerűen, megfelelő technológiával készített pálinka igen értékes, aromaanyagokban gazdag, jóízű ital. Előállítása azonban már nem olyan egyszerű, mivel a minőségrontó tényezők az összetett gyártási folyamat valamennyi fázisában előfordulhatnak (Békési és Pándi, 2005). Ilyen, minőségi szempontból kritikus technológiai lépés a cefrőzés, amelyhez szakdolgozatom témája is kapcsolódik. A gyümölcsök felületén megtalálható mikroorganizmusok a feldolgozás során könnyen a cefrébe kerülhetnek, ahol elszaporodva annak romlását idézhetik elő (Panyik, 2017). Ennek megelőzésére szolgál a cefre savtartalmának növelése, hagyományosan szerves savak adagolásával. A 3,5 alá beállított pH-érték jelentős védelmet nyújt a káros mikroorganizmusokkal szemben, mivel ilyen körülmények között ezek az élőlények ugyan jelen vannak a cefrében, de szaporodásuk gátolt (Panyik, 2017). Emellett a pH-érték és a savtartalom jelentősen befolyásolja az erjesztett italok aromaprofilját is, így a megfelelő savkiegészítés elengedhetetlen a gyümölcsfeldolgozás során (Payan és *mtsai.*, 2023).

Napjainkra a fogyasztók egyre inkább az adalékanyagmentes élelmiszereket részesítik előnyben. A megváltozott fogyasztói igényekhez igazodva, elsősorban a borászatban egyre nagyobb hangsúlyt kap a mikrobiológiai savvédelem. Ez lényegében olyan nem-*Saccharomyces* élesztők, illetve tejsavbaktériumok alkalmazását jelenti erjesztés során, amelyek gyors szaporodási és savtermelő képességük révén természetes úton növelik a cefre savtartalmát. Számos kutatás igazolta továbbá, hogy ezek a mikroorganizmusok anyagcseréjük révén kedvezően hatnak a késztermék érzékszervi tulajdonságaira. Mindezek alapján célom a gyümölcspárlat-előállítás során még kevésbé elterjedt kevert kultúras erjesztésben rejlő lehetőségek feltárása.

1.2. Célkitűzések

A szakdolgozatom célja, hogy a gyümölcscefre hagyományos savkiegészítéssel megvalósított védelmét egy alternatív úton, nem-*Saccharomyces* élesztők, tejsavbaktériumok és a *Saccharomyces cerevisiae* kevert kultúrák alkalmazásával valósítsam meg. További célom az erjedési folyamatok nyomon követése, valamint a párlat érzékszervi minőségének javítása a mikrobiológiai savvédelem által.

Ez alapján az alábbi célkitűzéseket fogalmazom meg:

- a mikroorganizmusok kiválasztása és begyűjtése kereskedelmi forgalomból;
- a választott törzsek alkalmasságának vizsgálata a kevert kultúrák erjesztésre (szénhidrát-hasznosítás, alkoholtolerancia és egymásra kifejtett kölcsönhatás vizsgálata);
- az erjedő cefreminták változásainak nyomon követése hagyományos analitikai (pH, refrakció, redukáló cukortartalom, titrálható savtartalom) és nagyműszeres (HPLC) módszerekkel;
- a kiejedt cefreminták vizsgálata (alkohol- és illósavtartalom);
- a kiejedt cefréből nyert desztillátumok egyes paramétereinek vizsgálata (titrálható összes savtartalom, észtertartalom, aromaösszetétel gázkromatográfiás vizsgálattal, kozmaolaj-tartalom meghatározás);
- a hagyományos savkiegészítés mellett és a kevert kultúrákkal erjesztett párlatok érzékszervi vizsgálata.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A gyümölcs párlat és pálinka meghatározása

A szeszes italok törvényi szabályozását az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2019/787 rendelete (2019. április 17.) foglalja magába. E rendelet értelmében a szeszes ital egy olyan alkoholtartalmú ital, amely megfelel többek között az alábbi alapvető követelményeknek: emberi fogyasztásra készült; különleges érzékszervi tulajdonságokkal bír; bizonyos kategóriák kivételével alkoholtartalma legalább 15 térfogatszázalék; illetve csak mezőgazdasági eredetű, erjesztéssel képződött etil-alkoholt tartalmaz. A szeszes italok kategóriáit az 1. számú melléklet tartalmazza, amelynek a 9. pontja taglalja a gyümölcs párlatokra vonatkozó különleges jogszabályi követelményeket. Ezek alapján megállapítható, hogy a gyümölcs párlat növényi eredetű alapanyagokból - a zöldségeket is beleértve – előállított must alkoholos erjesztésével és lepárlásával készített szeszes ital, amelynek alkoholtartalma legalább 37,5 térfogatszázalék. Fontos kritériuma, hogy nem színezhető vagy ízesíthető, továbbá alkohol hozzáadása sem megengedett. Ebbe a kategóriába sorolható például a hagyományosan almabor lepárlásával előállított Calvados, vagy a számos különböző gyümölcsből előállítható, méltán híres hungarikum: a pálinka is (*Az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2019/787 rendelete*, 2019).

Az Országgyűlés az uniós oltalom alatt álló földrajzi jelzéssel rendelkező pálinka és törkölypálinka előállításának, minősítésének és ellenőrzésének az Európai Unió jogrendszerébe illeszkedő, nemzeti hatáskörbe tartozó szabályozása érdekében megalkotta a 2008. évi LXXIII. törvényt, az úgynevezett Pálinkatörvényt. Ez a törvény szabályozza a pálinka megnevezés használatát, rendelkezik továbbá a pálinka előállítása során alkalmazott különleges eljárásokról, a pálinka forgalomba hozataláról, valamint a Pálinka Nemzeti Tanácsról. A törvény értelmében pálinkának csak olyan gyümölcs párlat nevezhető, amelyet Magyarországon termelt gyümölcsből és gyümölcsvelőből készítettek, és amelynek cefrőzését, párlását, érlelését és palackozását is Magyarországon végezték. Sűrítményből, aszalványból, szárítványból készült termék nem nevezhető pálinkának. Törkölypálinkának csak az (EU) 2019/787 európai parlamenti és tanácsi rendelet I. melléklet 6. pontjában meghatározott eljárással készített olyan törkölypárlat nevezhető, amelyet Magyarországon termelt szőlő törkölyéből készítettek, és amelynek cefrőzését, párlását, érlelését és palackozását is Magyarországon végezték. A törkölypálinka készítése során répa-, nád-, izo- vagy gyümölcscukorral javított szőlőtörköly, borseprő nem használható fel. Fontos, hogy a pálinkát és a törkölypálinkát nem lehet ízesíteni, színezní, édesíteni még a termék végső ízének lekerekítése érdekében sem. Kizárólag az alábbi

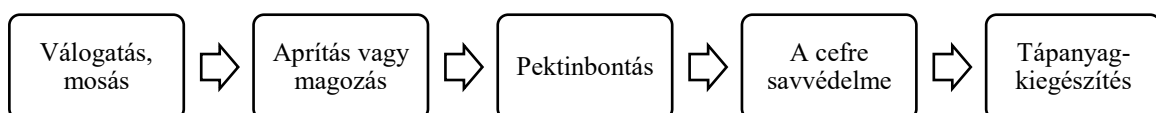
anyagok használata megengedett: enzimek, savak, élesztők, derítőszer, a nehézfémek eltávolítására alkalmas segédanyagok, habzástgátló és tápsó. Amennyiben a fentiek közül bármelyik feltétel nem teljesül, a termék nem nevezhető pálinkának, illetőleg törkölypálinkának. A jogszabály a továbbiakban kitér a Pálinka Nemzeti Tanács megalapítására is a pálinka, mint nemzeti kincs megóvásának érdekében. A Pálinka Nemzeti Tanács önkormányzattal és nyilvántartott tagsággal rendelkező köztestület, amely a pálinka előállításának, származásának, minőségének és földrajzi jelzés oltalmának egységes szabályozásához és annak végrehajtásához fűződő közös magyar érdek előmozdításával, a pálinka előállításával kapcsolatban az előállítók képviselőivel összefüggő országos közfeladatokat lát el (*Pálinkatörvény, 2008*).

2.2. A cefrőzés

2.2.1 A gyümölcsök előkészítése az erjesztéshez

A termőföldről begyűjtött gyümölcsök eredeti állapotukban még nem alkalmasak közvetlenül az erjesztésre. A gyümölcs feltárásának, illetve az édescefre készítésének az a lényege, hogy a fájlesztők számára elérhetővé váljon a gyümölcs erjeszhető cukortartalma, amivel maximalizálható az alkoholkhozatal (Békési és Pándi, 2005). A feldolgozás és a cefrőzés a következő technológiai lépésekből áll:

1. ábra: A feldolgozás és cefrőzés technológiai lépései
(Forrás: Saját szerkesztés Panyik (2017) munkája nyomán)



A válogatáskor a hibás, romlott gyümölcsöket el kell távolítani, mivel a dohos, penészes szag átkerül a párlatba. Az éretlen gyümölcsöket is célszerű kiválogatni, mert nem tartalmaznak elég erjeszhető szénhidrátot, de a zöld ízt átviszik a pálinkába. A mosáskor különösen fontos a talaj-, vagy porszennyezések eltávolítása, mivel ezek olyan talajbaktériumokat tartalmaznak, amelyek hatására erősen mérgező akrolein képződhet, aminek jelenlétében a cefrét meg kell semmisíteni. Emellett a mosással eltávolíthatók az erjedésgátló hatású permetezőszermaradványok is.

A gyümölcsöt típusától függően aprítják felületnövelés és lényérés céljából, vagy magozzák csonthéjas gyümölcsök esetében. Az átválogatott és mosott gyümölcsöket (pl. alma,

körte, birs) jellemzően késes vagy kalapácsos darálón engedik át, majd a kinyert leveses gyümölcscefrét az erjesztőtartályba továbbítják. Csonthéjas gyümölcsök esetében kerülni kell a mag túlzott mértékű cefrébe jutását, mert a mag amigdalin tartalma a cefrőzés és az erjedés során ciánhidrogénre, benzaldehidre és glükózra bomlik. Míg a benzaldehid kellemes magjellegzet kölcsönöz a pálinkának, addig a ciánhidrogén nagyon erős, légzésbénító, mérgező gáz, amely desztillálásakor átmegy a párlatba is. Tehát a magozás a csonthéjas gyümölcsöknél egy elengedhetetlen művelet (Panyik, 2017).

A pektin a növények sejtfalában található, és a sejtek egymáshoz tapadását biztosítja. Az erősen rostos, viaszos héjszerkezetű és kemény húsú gyümölcsök jellemzően magas pektintartalommal rendelkeznek (pl. alma, birs, ribizli). Esetükben az élesztőgombák nehezebben férnek hozzá az erjeszhető cukormolekulákhoz, ezért az ilyen típusú cefréknek viszonylag alacsony az alkoholkihozatala (Békési és Pándi, 2005). Ennek elkerülése érdekében indokolt az ipari enzimek alkalmazása már a gyümölcsfeldolgozás elején. A gyümölcsök ugyan rendelkeznek saját pektinbontó enzimmel (pektin-metil-észteráz), azonban ez lassan bontja a pektint, és közben sok metil-alkoholt szabadít fel a pektin metoxi (metanollal észterestített) csoportjából. Lepárlás során a metanol elválaszthatatlan, így a középpárlatban jelentősen feldúsul és károsítja a pálinka minőségét. A metanoltartalom a gyümölcspárlatokban szigorúan limitált, mivel látászavarokat, nagyobb mennyiségben halált okozhat (Panyik, 2006). A cefrőzés elején adagolt enzim előnye, hogy nem növeli a metanoltartalmat, de elfolyósítja és levesesebbé teszi a gyümölcsöt, és így gördülékenyebbé teszi az alkoholos erjedést, növeli az alkoholkihozatalt. Emellett a lényeréssel a savak beoldódnak a cefrébe, ami gátló hatást fejt ki a káros penészek, baktériumok és vadélesztők tevékenységére. További előnye, hogy a sejtfalbontó enzimeket is tartalmazó enzimek alkalmazásával a pektin bontása mellett jobb aromafeltárás is elérhető, így kedvezőbb lesz a pálinka illata és zamata. Az ipari pektinbontó enzimek általános alkalmazási mennyisége 2–3 g/100 kg, a nagy pektintartalmú gyümölcsöknél célszerű 3–5 g/100 kg koncentrációban adagolni (Panyik, 2017).

A cefre savvédelmének megvalósítási lehetőségeit külön, a következő fejezetekben fogom részletesen ismertetni.

Az élesztők gyors elszaporodásához és zavartalan anyagcseréjéhez nitrogén- és foszforvegyületekre, vitaminokra, valamint mikro- és makro-elemekre van szükség. Ezek a tápanyagok a gyümölcsök eltérő összetétele miatt nem mindig adóttak az élesztő számára, ami erjedési hibákhoz vagy az erjedés elakadásához vezethet. Ezek a káros folyamatok kiküszöbölhetők élesztőtápsók adagolásával a gyümölcscefrékhez. A modern komplex tápsók (pl. UVAVITAL, Opti-White) a nitrogéneken, foszforon (ammónium-foszfát sók formájában)

kívül tartalmazza a legfontosabb makro- és mikroelemeket, ezen kívül vitaminokat és szárított élesztőt is. Az ajánlott adagolandó mennyiség 20–40 g/hl cefrézés során, amelyből célszerű a beoltáskor 10–20 grammot, majd a főerjedés végén a maradék mennyiséget adagolni, hogy az utóerjedés lerövidüljön és a cukortartalom nullára csökkenjen (Panyik, 2017).

2.2.2 A gyümölcscefre romlást okozó mikroorganizmusai

A gyümölcsökön számos mikroorganizmus található, amelyek a talajrészecskék, a szél és a rovarok közvetítésével kerülnek a környezetből vagy a gyümölcsfákról a gyümölcsök felületére. A gyümölcsöknek fajtánként, érettségi állapotuktól függően, termőtájanként, évjáratonként eltérő a savtartalmuk, így gyakran savszegények, vagyis védtelenek a rendkívül változatos mikroflórával szemben. Fertőzött, beteg gyümölcsökön, különösen párás időben számos, nem kívánatos mikroorganizmus szaporodhat el. Ezek többsége nem patogén, de a kis cukortartalmú – később kis alkoholtartalmú – cefrének a romlását idézhetik elő. A mikroorganizmusokat három nagy csoportba sorolhatjuk: penészgombák, baktériumok és élesztők. A cefre leggyakoribb romlást okozó mikroorganizmusait az 1. táblázat foglalja össze. A gyümölcsök felületén a vadélesztőknél nagyságrendileg több penész és baktérium található, tehát szaporodási valószínűségük nagyobb, és az általuk képzett anyagok a cefre és a párlat minőségét jelentősen ronthatják (Panyik, 2017).

1. táblázat: A cefre savvédelmének szempontjából legfontosabb mikroorganizmusok
(Forrás: Saját szerkesztés Panyik (2006) munkája nyomán)

Mikroorganizmus	Káros jellemző	Érzékszervi hatás
Penészgombák	Szaporodásukhoz felhasználják az egyszerű cukrokat, így csökkentik az alkoholkhozataalt.	Anyagcseretermékekkel (kellemetlen, dohos íz, szag) rontják a pálinka minőségét.
Ecetsavbaktériumok	Hatásukra csökken a termelhető alkohol mennyisége.	Az etil-acetát (az etanol ecetsavval alkotott észtere) túlzott mennyisége a cefre jellegzetes ecetes, kellemetlen szúrós szagát okozza.
Tejsavbaktériumok	Az ecetsavbaktériumoknál is veszélyesebbek, mert savas közegben és anaerob környezetben is működőképeseek.	A tejsav észterei kellemes aromaanyagok, de nagy koncentrációban megsavanyítja a cefrét.
Vajsavbaktériumok	Csökkentik az élesztő erjesztőképességét.	Az általuk termelt vajsav penetráns, bűzös.
Vadélesztők	Számuk kicsi, gyenge az erjesztőképességük, a képződő alkohol hatására hamar elpusztulnak, így az erjedés idő előtt leáll.	Számos, minőséget rontó anyagokat képezhetnek, amelyek nem választhatók el a középpárlattól.

2.2.3 A cefre savvédelme hagyományos módszerrel

A borkészítéssel ellentétben a gyümölcsök cefrézése mikrobiológiai szempontból egy kényesebb technológiai folyamat, mivel nem készítünk levet, csak aprítjuk, passzírozzuk a gyümölcsöt. A szőlőmusttal ellentétben a gyümölcscefréknek kicsi a savtartalmuk és nagy a pH-értékük, ezért a jelenlévő, nagyszámú baktériummal és penészgombával szemben védtelenek. Ráadásul a kiejert cefre viszonylag alacsony alkoholtartalma (max. 10 V/V%) sem védi a cefrét az 1. táblázatban is feltüntetett nem kívánatos mikrobiológiai aktivitástól.

A minőségi romlás kiküszöbölésére szolgál a cefre savtartalmának növelése, hagyományosan kénsavval, foszforsav-tejsav eleggyel vagy citromsavval. A 3,5 alatti pH-érték jelentős védelmet nyújt a káros mikroorganizmusokkal szemben, mivel ilyen körülmények között ezen élőlények ugyan jelen vannak a cefrében, de szaporodásuk gátolt. Az édes cefre optimális pH-értéke 2,8–3,2 között van, mert az erjedés folyamán enyhe pH-emelkedés tapasztalható a sók oldékonyságának csökkenése miatt.

A gyümölcs feldolgozásakor tehát a pektinbontás után azonnal el kell kezdeni a hagyományos savkiegészítést, így sokkal jobb minőség érhető el, az erjedés kiegyenlítettebb lesz, a cefre tárolhatóbbá válik, és a párlat aromában gazdagabb lesz (Panyik, 2017).

2.3. A savvédelem megvalósítása mikrobiológiai úton

2.3.1 Irányított erjesztés, mint bioregulációs módszer

A gyümölcscefre fermentációja történhet hagyományos, spontán módon, vagy modern, irányított erjesztéssel. A két technológia fő különbségeit az 2. ábra foglalja össze.

A spontán fermentáció során az erjesztést a környezetben lévő vadélesztőkre bízják, ami számos hátrányos következménnyel jár. A vadélesztők mennyisége kevés és ingadozó, tulajdonságaik kiszámíthatatlanok, szaporodásuk pedig lassú. Mire elszaporodnak, addigra a cefrében lévő baktériumok és penészek az erjeszthető cukrok jelentős részét felélik és káros melléktermékeket képeznek. Ez alacsony alkoholkhozatalt eredményez és a párlat minősége is romlik. Szemléltetésképpen: minden molekula tejsav egy molekula etanol veszteségével jár, tehát minden 90 grammnyi tejsav helyett 46 g etanol képződhetett volna. Hasonlóképpen, minden 60 grammnyi ecetsav helyett 46 g etanol termelődhetett volna (Inge, 2003).

A biotechnológia fejlődésével előtérbe került az irányított erjesztés technológiája, amelynek alkalmazásával a fenti problémák tudatosan kiküszöbölhetők. Az irányított erjesztés lényegében a gyümölcscefre szárított fajélesztős beoltását jelenti. Az úgynevezett fajélesztők

természetes mikroklímából szelektált, különböző tűrőképességgel rendelkező élesztősejtek. Találunk közöttük hideg-, kénessav- és nyomástűrő fajokat, illetve olyanokat is, amelyek magas cukor-, alkohol-, és savtartalom mellett is képesek erjeszteni. A cefrék erjesztéséhez az alapanyagoknak, az erjesztési feltételeknek és a végtermék kívánt minőségének megfelelő fajlesztőt kell kiválasztani. A kevésbé karakteres gyümölcsökhöz az aromaképző élesztőket (pl. UVAFERM 228, DANSTIL A) ajánlott alkalmazni, míg az intenzív aromával rendelkező gyümölcsöknél a kevés aromaanyagot képző, de stabil és jól kontrollálható erjesztési tulajdonságú élesztőt érdemes használni (pl. UVAFERM SC). A fajlesztős beoltás által az erjesztés gyorsan és nagy élőcsíraszámmal indítható, ezért kizárható a baktériumok és a penészek káros tevékenysége. Az erjedés egyenletes, mellékreakcióktól mentes. Az irányított erjesztés tehát nem csak hatékonyabb alkoholképződést eredményez, hanem jelentősen hozzájárul a párlat érzékszervi minőségének javításához is (Panyik, 2006).

17. ábra: A spontán és az irányított erjesztés fő különbségei
(Forrás: Saját szerkesztés Panyik (2006) munkája nyomán)

Spontán erjesztés	↔	Irányított erjesztés
Hagyományos technológia	↔	Korszerű technológia
Vadélesztő	↔	Fajlesztő
Lassú, akadozó erjedés	↔	Gyors, egyenletes erjedés
Káros metabolitok képződése	↔	Mellékreakcióktól mentes
Alacsony alkoholkhozatal	↔	Magas alkoholkhozatal

2.4. A *Saccharomyces cerevisiae* szerepe az alkoholos erjedésben

Az alkoholos italok előállítását világszerte leginkább a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőfajhoz tartozó törzsekkel végzik. Ezek az élesztők kereskedelmi forgalomban széles körben hozzáférhetők, továbbá jól ismert erjesztési és technológiai tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyek lehetővé teszik a standard termékek előállítását (Maicas, 2020). Munkám során én is ezt az élesztőfajt alkalmazom, ezért lényegesnek tartom az erjedésben betöltött szerepének ismertetését.

A fermentáló *S. cerevisiae* anyagcsereje két fő szakaszra osztható: elsődleges és másodlagos anyagcsere. Az elsődleges anyagcsere elengedhetetlen a növekedéshez, a sejtosztódáshoz, illetve a túléléshez, és olyan metabolitokat termel, mint az etanol, a glicerin, az acetaldehid és az ecetsav. A másodlagos anyagcsere nem létfontosságú, metabolitjai pedig kisebb vegyületek. Ide sorolhatók például a magasabb rendű alkoholok, észterek, karbonilvegyületek, többértékű alkoholok, kénes vegyületek, tiolok és terpének. Az

élelmiszergyártásban a másodlagos metabolitok játszanak kiemelt szerepet, mivel ezek képesek a fermentált ital érzékszervi tulajdonságait nagy mértékben befolyásolni (Hirst és Richter, 2016).

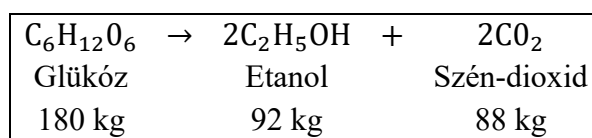
2.4.1 Elsődleges anyagcsere: a cukrok átalakítása etanollá

A *S. cerevisiae* képes a tápközeg szénhidrát tartalmát oxigén jelenlétében (aerob körülmények között) és hiányában (anaerob körülmények) is hasznosítani. Az aerob lebontás (katabolizmus) több energiát termel és légzésnek nevezzük. Az anaerob lebontás kevesebb energiát termel és fermentációnak, más szóval erjedésnek nevezzük (Inge, 2003).

A *S. cerevisiae* képes a glükózt, fruktózt, mannózt, galaktózt, szacharózt, maltózt és maltotriózt hasznosítani (Walker és Stewart, 2016). Miután ezek a cukrok bekerülnek a sejtekbe, a glükóz egy enzimek által katalizált reakciósorozaton keresztül piruváttá, energiává, valamint redukált nikotinamid-adenin-dinukleotiddá (NADH + H⁺) alakul. Ezt a citoplazmában lejátszódó folyamatot glikolízisnek nevezzük, amely aerob és anaerob körülmények között egyaránt végbemegy.

A piruvát további útja a környezet oxigénellátottságától függ. Amikor a környezetben bőséges az oxigén és alacsony a cukorkoncentráció, akkor az élesztő az összes cukrot új élesztősejtek képzésére és saját biomasszájának növelésére használja fel. Ebben az esetben semennyi, vagy csak elenyésző mennyiségű etanol termelődik. Ezzel szemben, ha csökken az oxigén mennyisége, és/vagy a glükóz koncentrációja meghaladja a 0,1%-ot, akkor az élesztő elkezd etanolt termelni, tehát erjeszteni. Alacsony oxigénszint mellett az élesztő a cukor kevesebb, mint 5%-át használja fel sejtnövekedéshez, a maradék pedig etanollá alakul (Inge, 2003).

Az alkoholos erjedést az alábbi sztöchiometrikus egyenlet foglalja össze:



Ez alapján elméletileg minden fermentált kilogramm glükózból körülbelül 500 gramm etanol lenne kinyerhető. A gyakorlatban azonban az alkoholhozam az elméleti maximum 90%-át éri el ipari fermentációk során. Ennek oka, hogy az élesztő a glükóz egy részét a saját biomasszájának növelésére, illetve másodlagos anyagcsere-termékek bioszintézisére is fordítja az alkoholképzés mellett (Walker és Stewart, 2016).

2.4.2 Jelentős másodlagos anyagcseretermékek

A *S. cerevisiae* által termelt legjelentősebb másodlagos metabolitokat és azok jellemzőit a 2. táblázat foglalja össze (Walker és Stewart, 2016). A továbbiakban részletesen is bemutatom három, a gyümölcspárlatok szempontjából kiemelten fontos metabolitot: a magasabb rendű alkoholokat, az észtereket és a szerves savakat.

2. táblázat: A *S. cerevisiae* jelentős másodlagos anyagcseretermékei
(Forrás: Saját szerkesztés Walker és Stewart (2016) munkája nyomán)

Másodlagos metabolit	Például	Megjegyzés
Magasabb rendű alkoholok	Izoamil-alkohol	Adott koncentrációban kellemesen hatnak az erjesztett italokra, különösen a párlatokra.
Észterek	2-fenil-etil-acetát	Gyümölcsös és virágos aromajegyeket kölcsönöznek az erjesztett italoknak.
Karbonilvegyületek	Acetaldehid	Az acetaldehid az ízküszöb felett „füves” vagy „zöldalmás” ízt adhat, de mennyisége csökkenthető utóerjesztéssel.
Szerves savak	Borostyánkősav	Kellemes fanyarságot kölcsönöznek az italnak, de egyes savak bakteriális fertőzésre utalnak.
Poliolok	Glicerin	A glicerin normál élesztő-anyagcsere során képződik vagy ozmotikus stressz hatására, kedvezően hat az ital viszkozitására.
Viciniális diketonok	Diacetil	A diacetil jelenléte a legtöbb sörben nem kívánatos, mert avas-vajas ízt okoz, de mennyisége csökkenthető érleléssel.
Kéntartalmú vegyületek	Kén-dioxid	Kis mennyiségben kedvező vegyületek, de nagyobb koncentrációban kellemetlen ízt okoznak.
Fenolok	4-vinil-fenol	Néhány élesztőtörzs (vadélesztők is) kellemetlen fenolos aromaanyagokat (pl. füstös, szalonna szag) termel.

Magasabb rendű alkoholok

A magasabb rendű alkoholok – úgynevezett kozmaalkoholok vagy kozmaolajok – az erjedés során legnagyobb mennyiségben képződő illékony komponensek, ezáltal jelentősen befolyásolják az erjesztett élelmiszerek aromavilágát. A kozmaolajok közé sorolhatók például az alábbi vegyületek: propanol, butanol, izobutanol (alkoholos aroma); aktív amil-alkohol, izoamil-alkohol (marcipános, banános aroma) (Hirst és Richter, 2016).

A kozmaolajok keletkezhetnek egyrészt az aminosavak katabolizmusa révén (Ehrlich-útvonal), másrészt az aminosavak *de novo* szintézisének keresztül (anabolikus anyagcsere út). Ebből adódóan a kozmaolajok termelése mind a nitrogén-anyagcseréhez, mind a szén-anyagcseréhez kapcsolódik. Ezek a vegyületek elsősorban az élesztő aktív növekedési

fázisában képződnek, így az élesztő növekedését elősegítő tényezők egyúttal fokozzák a kozmaolajok szintézisét (Fejzullahu, 2024).

A kozmaolajok érzékszervi hatása erőteljesen koncentrációfüggő. Például borokban 400 mg/l koncentráció felett szúrós, oldószeres aromát eredményezhetnek, míg 300 mg/l koncentráció alatt inkább kellemes, gyümölcsös jegyeket adhatnak. A ciderek jellegzetes ízéért is a magas kozmaolaj-tartalom – különösen a 2-fenil-etanol – felelős. Megfelelő koncentrációban hozzájárulnak a komplex ízvilág kialakításában, illetve prekursorai az acetát-észterek képződésének (Hirst és Richter, 2016).

Észterek

Az észterek virágos-gyümölcsös karaktert kölcsönöznek az alkoholos italoknak. Ezek a vegyületek alkoholok és savak alacsony pH-értéken történő észteresítése során keletkeznek. A reakcióhoz szükséges egy alkoholmolekula, acetyl-CoA, egy észter-szintetizáló enzim, valamint ATP.

Erjedés során az észterek két fő típusa keletkezik: acetát-észterek és etil-észterek. Az acetát-észterek az acetyl-CoA és egy alkohol észteresítéséből származnak. Ebbe a vegyületcsoportba tartozik például az etil-acetát, az izoamil-acetát és az 2-etil-fenil-acetát, amelyek rendre banán-, alma- és édes aromával jellemezhetők. Mivel erjedés során a legnagyobb koncentrációban keletkező primer alkohol az etanol, ezért a legnagyobb mennyiségben képződő acetát-észter az etil-acetát (Hirst és Richter, 2016). Az etil-acetát alacsony koncentrációban (legfeljebb 50 mg/l) kellemes és hozzájárul az általános komplex illathoz. Viszont 150 mg/l felett már savanyú, ecetes, kellemetlen szagot ad (Kállay, 2014).

A másik csoportba sorolható etil-észterek az etanol és egy közepes szénláncú zsírsav reakciójából keletkeznek. Ebbe a csoportba tartozik például az etil-butirát, az etil-hexanoát és az etil-oktanát. Ezeknek a vegyületeknek a leírása között szerepel az alma-, eper-, körte- és az ánizsos aroma is (Hirst és Richter, 2016).

Szerves savak

A kierjedt cefrékben általában megtalálhatók a gyümölcsökből származó savak: citrom-, alma-, borkősav; valamint az erjedés során képződő savak: ecet-, tej-, borostyánkő-, és fumársav (Panyik, 2017).

A citromsav koncentrációja a kierjedt cefrében minimális, mert a malolaktikus fermentációval párhuzamosan a cefre baktériumai csaknem teljesen elfogyasztják. A megmaradó citromsavból főleg illósavak keletkeznek.

Az almasav a gyümölcsök legfontosabb szerves sava, amely a cefre ízének tipikus zöldes ízt ad. Az almasav mennyisége az erjedés folyamán csökken, mert egy részét az élesztők alkohollá és szén-dioxiddá erjeszthetik, ugyanakkor megkezdődhet a malolaktikus fermentációja is, ezáltal az almasav akár teljesen átalakulhat tejsavvá és szén-dioxiddá (Kállay, 2014).

Az ecetsav éles, szúrós-szagú folyadék, forráspontja 118,1 °C. Erjedés során mindig keletkezik ecetsav, például a cukorból képződött acetaldehid diszmutációja révén. Megfigyelések szerint a nagyobb cukortartalmú mustokból több ecetsav keletkezik (Kállay, 2014). Fontos, hogy az erjedés során képződő ecetsav koncentrációja nem lehet több, mint 0,5 g/l. Az ennél nagyobb érték ecetsavbaktériumos fertőzöttségre vagy oxidációra utal, tehát nem volt megfelelő az erjesztésvezetés vagy a cefre tárolása. Az ecetsav és észtere illékony, így desztilláláskor átjut a párlatba, melynél jelentős minőségromlást okoz (ecetes, savas jelleg, „technokolszag”) (Panyik, 2017).

A tejsav kellemesen savanyú ízű erjedési melléktermék. Állandóan képződik erjedés alatt természetes folyamatok (malolaktikus fermentáció) révén, vagy baktériumok hatására, hibás erjedés során. A D(-)-tejsav alkoholos erjedés alatt képződik cukorból, kb. 1 g/l-nyi mennyiségben. A biológiai savcsökkenés folyamán almasavból nagyobb mennyiségű tejsav (L(+)) képződhet az almasav koncentrációjától és a malolaktikus erjesztés lefolyásától függően, 5 g/l-ig. (Kállay, 2014). A tejsav észterei kellemes aromaanyagok, amelyek kedvezően hatnak a gyümölcspárlatok érzékszervi tulajdonságaira (Panyik, 2017).

A borostyánkősav jellegzetes komplex sós-keserű-savanyú ízű szerves sav, ami mindig keletkezik az alkoholos erjedésnél 0,5–1,5 g/l mennyiségben az erjedés körülményei szerint. Jellemzően a keletkezett borostyánkősav-tartalom meg is marad erjedés során (Kállay, 2014).

2.5. Alternatív, nem-*Saccharomyces* élesztők alkalmazási lehetőségei

2.5.1 A kevert kultúrák erjesztés

A nem-*Saccharomyces* élesztők olyan mikroorganizmusok csoportját alkotják, amelyek anyagcseréje jelentősen különbözik a *Saccharomyces* nemzetségbe tartozó élesztőkéttől, ezért eltérő végtermékek szintézisére képesek. Korábban a borászatban ezeket az élesztőket a nem kívánatos vadélesztőknek tartották és kén (kénessav, kén-dioxid) használatával történő háttérbe szorításuk volt az alapvető cél. Ez a szemlélet azonban évről évre változott, miután számos kutatás bizonyította, hogy ezek a fajok pozitívan befolyásolják a bor végső érzékszervi

minőségét. Ebből kifolyólag az elmúlt évtizedekben számos kutatás vizsgálta ezeknek az alternatív élesztőknek az alkalmazási lehetőségeit az italgyártásban. A leginkább kutatott nem-*Saccharomyces* nemzetségek a *Candida*, *Kloeckera*, *Hanseniapora*, *Brettanomyces*, *Pichia*, *Lanchacea* és *Kluyveromyces* (Maicas, 2020).

Borászati kutatások nem javasolják a kizárólag nem-*Saccharomyces* élesztőkkel végzett tiszta kultúras erjesztéseket. Ezek az élesztők nagy mennyiségben termelnek olyan negatív hatású metabolitokat, mint ecetsav, acetaldehid, acetoin és etil-acetátot, valamint kellemetlen szaganyagokat, például vinil- és etil fenolokat. Emellett a legtöbb nem-*Saccharomyces* élesztő önmagában gyenge fermentáló képességgel és SO₂-toleranciával rendelkezik (Ciani és mtsai., 2010). Ezzel szemben a *Saccharomyces* és nem-*Saccharomyces* élesztők megfelelő párosításával végzett kevert kultúras fermentációk alternatívaként szolgálnak a spontán és irányított erjesztéseknek egyaránt (Padilla és mtsai., 2025). Ebben az esetben a nem-*Saccharomyces* élesztők negatív érzékszervi hatásai nem feltétlen nyilvánulnak meg, vagy a *Saccharomyces* kultúrák ellensúlyozhatják azokat. A kevert kultúras erjesztés során bizonyos nem-*Saccharomyces* élesztők javíthatják a starterkultúra fermentációs teljesítményét, valamint a bor analitikai összetételét és aromaprofilját (Ciani és mtsai., 2010).

A kevert kultúras erjesztést kétféleképpen ajánlott megvalósítani a gyakorlatban. Az első, koinokulációnak nevezett eljárás során a kiválasztott nem-*Saccharomyces* élesztőket nagy sejtkoncentrációban, a *S. cerevisiae*-vel egyidejűleg oltják be. A második, szekvenciális beoltás esetében először a nem-*Saccharomyces* élesztőket oltják be magas sejtszámban, majd meghatározott idő után hozzáadják a *S. cerevisiae*-t is, amely ezt követően átveszi az erjedés irányítását (Padilla és mtsai., 2025). A továbbiakban részletesen bemutatom azt a két nem-*Saccharomyces* élesztőfajt, amelyet kiválasztottam a kísérletem megvalósításához. Alkalmazásuk elsősorban a borászatban terjedt el, így a releváns szakirodalmak is a borászathoz köthetők.

2.5.2 *Lachancea thermotolerans*

A *Lachancea thermotolerans*, korábbi nevén *Kluyveromyces thermotolerans*, egy nem-*Saccharomyces* élesztő, amelyet leggyakrabban a fehérborok előállításánál alkalmaznak. Az utóbbi években a *L. thermotolerans* előtérbe került, mint a mikrobiológiai savanyítás egyik legmegbízhatóbb eszköze.

Melegebb éghajlatú területekről származó fehérborokon végzett tanulmány kimutatta, hogy a *L. thermotolerans* alkalmazása hatékonyan csökkenti a pH-értéket, miközben javítja a

bor frissességét és aromaprofilját. A savtartalom-növelő képessége 1–9 g/l tejsavban és 1–6 g/l összes savban mérhető. Az alkoholos erjedés közben termelt L-tejsav mennyisége képes 0,1–0,5 egységgel csökkenteni a must pH-értékét. Emellett több kutatás is igazolta, hogy erjedés közben kevesebb ecetsavat termel, mint a *S. cerevisiae*.

Bár a *L. thermotolerans* egy kiváló eszköze a biológiai savanyításnak, alkalmazásának vannak korlátai. Önmagában fermentációs képessége alacsony (max. 10 V/V% etanol), ezért jobb erjesztési tulajdonságú élesztőkkel szükséges kombinálni. Annak érdekében, hogy a cefre teljes cukortartalma kiejedjen, érdemes a *Saccharomyces* vagy *Schizosaccharomyces* nemzetség képviselőit alkalmazni a *L. thermotolerans* mellett (Payan és mtsai., 2023).

2.5.3 *Metschnikowia pulcherrima*

A *Metschnikowia pulcherrima* egy természetben előforduló vadélesztő, amely megtalálható friss és romlott gyümölcsök felületén, virágokon és nektárban egyaránt. Törzseinek, más nem-*Saccharomyces* élesztőkhöz viszonyítva is, gyenge az erjesztőképessége (max. 6–7 V/V% etanol). Ezt elsősorban a lassú nitrogénfelvétele okozza. Míg a *S. cerevisiae* 12,9 g/100 ml szén-dioxidot termel erjedés közben, addig a *M. pulcherrima* csupán 4,5 grammot. Az általa termelt illósav mennyisége szintén mérsékelt, 0,3–0,4 g/l közötti ecetsavban kifejezve. Következésképpen, a *M. pulcherrima*-t szükséges más, erősebb fermentációs képességű élesztőkkel, például *S. cerevisiae*-vel vagy *Schizosaccharomyces pombe*-vel együttesen alkalmazni annak érdekében, hogy a cefre teljes cukortartalma kiejedjen.

A savvédelem szempontjából jelentős, hogy a *M. pulcherrima* egy bizonyos másodlagos anyagcsereterméke, a pulcherrimin antagonistá hatású más mikroorganizmusokra nézve. A pulcherrimin egy olyan oldhatatlan, vörös pigment, amelynek termelése vas(III)-ionok kicsapódásával jár, ami kimeríti a környezet vastartalmát. Ezáltal a környezet kedvezőtlen lesz más olyan mikroorganizmusok számára, amelyek fejlődéséhez vasra van szükség. Ebből a tulajdonságából adódóan a pulcherrimin hatékony gátló aktivitást mutatott számos élesztővel (*Candida tropicalis*, *Candida albicans*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Hanseniaspora*, *Pichia* nemzetség) és gombával (*Botrytis cinerea*, *Penicillium*, *Alternaria* és *Monilia*) szemben. Érdekes módon a pulcherrimin nem fejt ki gátló hatást *S. cerevisiae*-re, ami lehetővé teszi a *M. pulcherrima* és a *S. cerevisiae* kevert kultúrában alkalmazását.

A *M. pulcherrima* intenzív extracelluláris enzimaktivitása révén nagy mértékben termel észtereket, ami növeli a borok aromakomplexitását. Önmagában azonban nem ajánlott starterkultúráként alkalmazni, mert túlzott mennyiségben termel etil-acetátot is. Ezzel szemben

a *M. pulcherrima* és a *Saccharomyces uvarum* együttes alkalmazása mérsékelte az etil-acetát képződést. Hasonlóan, a *M. pulcherrima-Saccharomyces* kevert kultúras erjesztések megnövekedett kozmaolaj-tartalmat mutattak, különösen magas izobutanol és 2-fenil-etanol koncentrációval (Morata és mtsai., 2019).

2.6. Savvédelem tejsavbaktériumokkal (malolaktikus fermentáció szemszögéből)

Az alkoholos erjedés során az élesztőtörzsek a cukrokat először etanollá és különféle aroma- és ízanyagokká alakítják. Az élesztőpopuláció csökkenését követően tejsavbaktériumok szaporodnak el a mustban a maradék cukor felhasználásával. Ezek a tejsavbaktériumok enzimeik segítségével lebontják az almasavat, ami által tejsav és szén-dioxid keletkezik. Ez a folyamat a malolaktikus fermentáció, amely nevével ellentétben nem erjesztés, hanem egy enzimatis reakció. Az almasavbontás egyben csökkenti a romlást okozó mikroorganizmusok lehetséges szénforrását is, ami megnehezíti a szaporodásukat (Vilela, 2019), miközben a tejsavképződés a közeg pH-csökkenésével jár (Walker és Stewart, 2016). Ez a két tényező együttesen növeli a must mikrobiológiai stabilitását, amely lehetséges alternatívaként szolgálhat savvédelmének megvalósítására. Továbbá, skót malátawhiskyhez kapcsolódó kutatások azt is igazolták, hogy a tejsavbaktériumok által termelt ízletes aromaanyagok a párlatból (pl. laktonok) is kiérzethetők és javítják az érzékszervi minőséget (Walker és Stewart, 2016).

A malolaktikus fermentáció lejátszódhat spontán módon vagy irányítottan is tiszta tejsavbaktérium-kultúrák alkalmazásával (Walker és Stewart, 2016). A borászatban mikrobiológiai almasavbontásra leginkább ajánlott tejsavbaktérium az *Oenococcus oeni*, korábbi nevén *Leuconostoc oenos*. Az *O. oeni* számos olyan másodlagos metabolitot termel, amelyek javíthatják a bor érzékszervi tulajdonságait. Azonban fontos megemlíteni, hogy sikerét erősen befolyásolja a pH, az alkoholtartalom, a SO₂-koncentráció, valamint az élesztő által termelt gátló metabolitok, például a közepes lánchosszúságú zsírsavak vagy peptidrakciók mennyisége.

Más borászati kutatócsoportok a *Lactobacillus plantarum* alkalmazását ajánlják a malolaktikus fermentációhoz. A *L. plantarum* ellenállóbb a stresszhatásokkal szemben, egyes törzsei akár 3,2–3,5 pH-tartományban és 13 V/V% etanol jelenlétében is képesek növekedni. Enzimaktivitásuk révén (β-glükozidázok, észterázok, fenolsav-dekarboxilázok, citrát-liázok) nagy mennyiségben termelnek olyan másodlagos metabolitokat, amelyek pozitív hatásúak a

vörösbor színére és aromájára. Továbbá a *L. plantarum* törzsek magas koncentrációban termelnek tejsavat, amely egyrészt hozzájárulhat az alacsony savtartalmú borok mustjának védelméhez, másrészt gazdagíthatják az ital ízvilágát (Vilela, 2019).

3. Alkalmazott módszerek (anyag és módszer)

3.1. Felhasznált nyersanyag

3.1.1 Alma

A gyümölcspárlat alapanyagaként két fajta alma (Golden Delicious, Idared) fele-fele arányban ömlesztett egyvelege szolgált. A gyümölcsök magyar termelőktől származtak. Az Idared íze enyhén savanykás, megfelelő cukortartalommal (12,90 Brix%) rendelkezik, de aromaszegény és legfeljebb közepes beltartalmi értékű, ezért Golden Delicious almával párosítottam. Utóbbi gyümölcshúsa sárgás, édes, enyhén savas, kissé illatos és magasabb cukortartalommal (14,60 Brix%) rendelkezik (Tóth, 2016).

3.2. Alkalmazott segédanyagok

3.2.1 Pektinbontó enzimek készítmény

A pektinbontáshoz LALLZYME[®] HC (Lallemand) enzimek készítményt használtam, amely megfelelő arányban tartalmaz pektin-liázt, pektin-észterázt és poligalakturonázt, amelyek hatékonyan bontják a gyümölcsök szerkezetében összefonódott pektin, cellulóz és hemicellulóz tartalmú makromolekulákat. Ennek következtében gyorsul az erjedés folyamata, fokozódik a szín- és aromakomponensek extrakciója, javul a színlékihozatal, valamint csökken a cefre viszkozitása. Javasolt adagolás: 1–2 g/hl (Internet 1).

3.2.2 Sav

A hat cefremintából egynél hagyományos savkiegészítést alkalmaztam foszforsav-tejsav 9:1 arányú elegyével. A vizsgálatok során ez a minta szolgált kontrollmintaként. A többi öt minta esetében nem történt savkiegészítés.

3.2.3 Komplex élesztőtápanyag

A cefre tápanyagkiegészítéséhez UVAVITAL[™] komplex élesztőtápanyagot alkalmaztam, amely ásványi anyagokkal, mikroelemekkel, sejtfalanyagokkal és vitaminokkal biztosítja a *Saccharomyces cerevisiae* optimális tápanyagszükségletét. Ennek következtében az erjedés

felgyorsul és egyenletessé válik, ami csökkenti a káros melléktermékek képződését (kevesebb etil-karbamát, kozmaalkohol, acetaldehid, ecetsav, etil-acetát stb. keletkezik), ezáltal javul a párlat, illetve az alkohol minősége. Alkalmazásával továbbá 1–4%-kal javítható az alkoholkonverzió egy tápanyaghiányos cefréhez képest, illetve garantálható a maradék cukor nélküli erjedés. A magasabb alkoholkhozatal mérsékli a lepárlás energiaszükségletét, így annak költségét is, ami tovább növeli az eljárás hatékonyságát. Javasolt adagolás: 10–40 g/hl (Internet 2).

3.3. Alkalmazott mikroorganizmusok

A munkám során alkalmazott élesztő- és baktériumtörzsek kereskedelmi forgalomban elérhető vákuumszáritott starterkultúrák.

3.3.1 Uvaferm 228TM (*Saccharomyces cerevisiae* - Lallemand)

Erős β -glükozidáz aktivitásának köszönhetően jelentős aromafelszabadító (terpénalkohol) hatású élesztőtörzs. Megfelelő tápanyagellátás mellett már hidegerjesztésnél (15°C alatt) is fokozza a fajtajelleget, és akár 14 t^o%-ig alkoholtűrő. Biztosítja a gyors erjedésindítást és az egyenletes erjedéslefutást, ezáltal segít megelőzni az erjedési hibák kialakulását (Internet 3).

3.3.2 LEVEL² INITIATM (*Metschnikowia pulcherrima* - Lallemand)

Képes csökkenteni a mustok és cefrék réztartalmát – ami az oxidációs folyamatokat katalizálná –, így korlátozza a barnulást, valamint megőrzi az aromákat, beleértve az oxidációra érzékeny vegyületeket is (pl. tiolok). Erjesztőképessége nagyon gyenge, azonban alacsony pH-val szemben ellenálló, és széles hőmérsékleti tartományban (4–18°C) is jól szaporodó élesztőtörzs. Jó alkalmazkodási képességének köszönhetően védelmet nyújt a káros mikroorganizmusok elszaporodása ellen (Internet 4).

3.3.3 ZYMAFLORETM KHIO^{MP} (*Metschnikowia pulcherrima* - Laffort)

Elsősorban fehér és rozé borok bioprotekciójára szelektált élesztőtörzs. Kimagasló hidegtűrő képessége miatt akár 0°C-on is képes szaporodni és populációját fenntartani, ezért vontatottan beinduló vagy elhúzódó erjesztés során is képes korlátozni a nem kívánatos mikroorganizmusok túlszaporodását. Emellett magas oldott oxigénfogyasztási képessége miatt védi a mustot az oxidációtól (Internet 5).

3.3.4 LEVEL² LAKTIATM (*Lachanea thermotolerans* - Lallemand)

Jelentős tejsavtermelő tulajdonsága miatt szelektált élesztőtörzs, elsősorban borászati célokra. Szekventált beoltással alkalmazva képes csökkenteni a cefre pH-értékét, valamint növelni a titrálható sav- és L-tejsavtartalmát. Ennek köszönhetően *Saccharomyces cerevisiae*-vel kombinálva javítja a meleg klímájú területeken készített vörösborok frissességét és savasságát (Internet 6).

3.3.5 Harvest LB-1 (*Lactobacillus plantarum* – Chr. Hansen)

Nagy tejsavtermelő képességének köszönhetően szelektált, fakultatív homofermentatív tejsavbaktérium törzs. Képes a cefre gyors és biztonságos savanyítására, miközben gyümölcsös aromakomponenseket (észterek, terpének) képez (Internet 7).

3.3.6 WildBrew Sour PitchTM (*Lactobacillus plantarum* - Lallemand)

Kifejezetten savanyú sörök készítéséhez szelektált, fakultatív heterofermentatív tejsavbaktérium törzs. Intenzív tejsavtermelő tulajdonsága miatt képes a cefre pH-értékét már 1–2 nap alatt jelentősen csökkenteni, miközben csak kis mennyiségű ecetsavat termel. Alkalmazásával savanykás-citrusos ízvilág kölcsönözhető az italnak (Internet 8).

3.4. Alkalmazott laboratóriumi tápközegek

3.4.1 YEPD tápközegek

Az élesztőtörzsek számára YEPD tápközeget készítettem, amelyeknek összetételét a 3. táblázatban foglaltam össze.

3. táblázat: Az élesztőtörzsek számára készített YEPD tápközegek összetétele

YEPD alap tápleves		YEPD agar	
Összetevő	Mennyiség [g/l]	Összetevő	Mennyiség [g/l]
Élesztőkivonat	5	Élesztőkivonat	5
Pepton	5	Pepton	5
Szénhidrát	10	Glükóz	10
		Agar	15

3.4.2 MRS tápközegek

A tejsavbaktériumok számára MRS tápközeget készítettem, amelyeknek összetételét a 4. táblázatban foglaltam össze.

4. táblázat: A tejsavbaktériumok számára készített MRS tápközegek összetétele

MRS alap tápleves		MRS agar	
Összetevő	Mennyiség [g/l]	Összetevő	Mennyiség [g/l]
Proteóz-pepton	10	Proteóz-pepton	10
Húskivonat	8	Húskivonat	8
Élesztőkivonat	4	Élesztőkivonat	4
Na-acetát	5	Na-acetát	5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2
Triammónium-citrát	2	Triammónium-citrát	2
K ₂ HPO ₄	2	K ₂ HPO ₄	2
MnSO ₄	0,05	MnSO ₄	0,05
Tween80	1	Tween80	1
Szénhidrát	10	Glükóz	20
		Agar	15

3.4.3 A tápközegek elkészítési módja

Az adott tápközeg összetevőit táramérlegesen kimértem, majd feloldottam 1000 ml desztillált vízben és mágneses keverővel homogenizáltam. Ezután beállítottam az elegy pH-értékét 5%-os NaOH oldattal körülbelül 7-re, 10 mg brómkrezol indikátor mellett. Végül 121 °C-on 15 percig steriliztem a tápközeget.

3.5. Alkalmazott kultúrák fiziológiai vizsgálata

3.5.1 Szénhidráthasznosítás-vizsgálat

A szénhidrát fermentációs vizsgálat segít meghatározni, hogy az adott mikroorganizmus mely szénhidrátokat képes hasznosítani (Reiner, 2012). Az alábbi szénhidrátokat alkalmaztam a szénhidrát fermentációs vizsgálatok során: glükóz, fruktóz, szacharóz, maltóz, maltotrióz, szorbit, xilit, laktóz.

A kétszeres töménységű alaptáplevest (YEPD vagy MRS) tartalmazó kémcsövekbe (2 ml/kémcső) steril körülmények között 2 ml-t pipettáztam az adott szénhidrátoldatból. Ezt követően a tápközeget beoltottam a vizsgált mikroorganizmusokkal pipetta segítségével (40 µl/kémcső, kivéve KHIOTM: 80 µl/kémcső). Szénhidrátanként 2-2 párhuzamos leoltást végeztem valamennyi mikroorganizmus esetében. Végül a beoltott mintákat 48 óráig

inkubáltam 28°C-on az élesztők és 30°C-on a tejsavbaktériumok esetében. A tápközeghez adott brómkrezol bíborindikátor sárgára színeződése jelezte a pH változást, vagyis a savtermelődést, tehát a vizsgált szénhidrát hasznosítását.

3.5.2 Alkoholtolerancia kimutatása

Legelőször 96%-os etil-alkohol és desztillált víz felhasználásával különböző koncentrációjú alkoholos oldatokat készítettem (0%; 3%; 6%; 9%; 12%; 15%; 18%, 21%). Utána steril fülkében 2-2 millilitert pipettáztam a folyékony tápoldatból (YEPD vagy MRS) és az adott koncentrációjú alkoholos oldatból az egyes kémcsövekbe. Ezt követően a tápközégeket beoltottam pipetta segítségével a vizsgált mikroorganizmusokkal (40 µl/kémcső, kivéve KHIOTM: 80 µl/kémcső). Koncentrációnként 2-2 párhuzamos leoltást végeztem valamennyi vizsgált mikroorganizmus esetében. Végül a beoltott mintákat 48 óráig inkubáltam 28 °C-on az élesztők és 30°C-on a tejsavbaktériumok esetében.

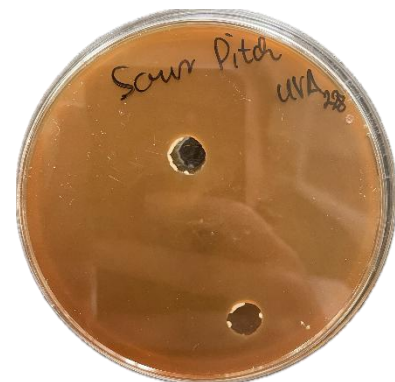
A kiértékelés során először vortex-készülékkel homogenizáltam a kémcsövek tartalmát, majd megvizsgáltam, hogy történt-e zavarosodás, amely az adott mikroorganizmus szaporodására utalt. A gátló koncentráció pontos detektálására megmértük az optikai denzitást 600 nm-en.

3.5.3 Agar-diffúziós módszer – kölcsönhatás-vizsgálat

A vizsgálat célja az általam kiválasztott élesztőtörzsek és tejsavbaktériumok, valamint az UVAFERM 228 fajlesztő közötti mikrobiális kölcsönhatások tanulmányozása volt. A vizsgálat révén ellenőrizni tudtam, hogy a kialakított mikrobapárok valóban alkalmasak lesznek-e a cefre ko-fermentációjára.

A Petri-csészékbe a lemezöntést megelőzően 100 µl *S. cerevisiae* szuszpenziót pipettáztam, amelyet a táptalajjal (YEPD vagy MRS) alaposan elkevertem, majd hagytam megszilárdulni. Ezt követően alkoholba mártott és lelángolt lyuk fúróval 10 mm átmérőjű lyukakat vágtam a lemezbe a 3. ábrán feltüntetett módon. Ezután vortex-készülékkel homogenizáltam a vizsgálandó mikrobaszuszpenziókat, majd a kialakított lyukakba 120-130 µl pipettáztam úgy, hogy a folyadékszint a táptalaj szintjével egy szintbe kerüljön. Valamennyi elrendezés esetében két

18. ábra: A vizsgálati elrendezés



párhuzamos vizsgálatot végeztem el. Végül a Petri-csészéket 28 °C-on 48 órán keresztül inkubáltam. Az inkubációt követően a kialakult gátló zónák jelenlétét vizsgáltam.

3.6. Gyümölcspálinka készítése

3.6.1 Az édes cefre elkészítése

Kezdeti lépésként átválogattam az almákat és eltávolítottam a hibás, romlott részeket és egyéb idegen anyagokat (pl. faágak, kő, szár). Ezt követően alaposan megmostam vízzel, majd késes daráló segítségével összezúztam a gyümölcsöket. Az így előállított pépet összesen hat darab rozsdamentes, kotyogóval ellátott acél erjesztőtartályba osztottam szét, tartályonként 31 kg mennyiségben.

A továbbiakban LALLZYME® HC pektinbontó enzimek készítményt adagoltam az almacefrékhez, tartályonként 3 g/hl dózisban. Az edények tartalmát egy keverőlapáttal homogenizáltam, majd a pektinbontás zavartalan lefolyása érdekében 30 percig pihentettem. Az enzimatikus pihenő alatt 100 g mintát vettem az édes cefréből és megmértem két alapvető paraméterét: a szárazanyag-tartalmát és a pH-értékét. Az utóbbi ismeretében a 100 grammos cefreminta pH-értékét az optimális 2,8–3,2 tartományba állítottam be 9:1 arányú foszforsav-tejsav eleggyel. Ehhez 0,35 ml savra volt szükségem, amely alapján kiszámítottam, hogy a kontrollmintához (31 kg) 108,5 ml sav hozzáadása volt szükséges. Körülbelül 30 perc elteltével UVAVITAL™ komplex tápanyagot is kevertem a cefrékhez, tartályonként 20 g/hl koncentrációban.

3.6.2 Irányított erjesztés

A következő lépésben kimértem laboratóriumi főzőpoharakba a szárított fajélesztőket és tejsavbaktériumokat a 5. táblázatban feltüntetett koncentrációkban. Az UVAFERM 228 típusú élesztőt ezen a napon még csak a kontrollmintához adagoltam. Ezt követően rehidratáltam a bioregulátumokat tízszeres mennyiségű langyos (30–35 °C) csapvízzel, majd egy-egy teáskanálnyi kristálycukrot is kevertem hozzájuk. Az így kapott szuszpenziókat felhabzásig (kb. 20 perc) szobahőmérsékleten pihentettem. Végül az édes cefréket beoltottam és lapátos keverővel homogenizáltam.

A tejsavbaktériumot tartalmazó mintákat először 24 órán keresztül szobahőmérsékleten, míg a többi mintát 17,5–18°C-on erjesztettem. Másnap a savkiegészítés nélküli cefréket is beoltottam UVAFERM 228 élesztővel (20 g/hl), valamint adtam hozzájuk további pektinbontó

enzimkészítményt (1 g/hl) és komplex élesztőtápanyagot (20 g/hl) is. A cefrék összetételét a 5. táblázatban foglaltam össze. Az erjesztést 17,5–18°C- folytattam addig, amíg már nem tapasztaltam változást a cefrék szárazanyag-tartalmában (18 nap).

5. táblázat: A cefrék erjesztéséhez alkalmazott bioregulátumok és adalékanyagok

(Forrás: Saját szerkesztés (2025))

Tartály	LALLZYME® HC [g/hl]	UVAVITAL™ [g/hl]	Foszforsav- tejsav (9:1) [ml/kg]	UVAFERM 228 [g/hl]	2. Fajélesztő [g/hl]	Tejsavbaktérium [g/hl]
1.	3	20+20	3,5	20	—	—
2.	3+1	20+20	—	20	INITIA™ 10	—
3.	3+1	20+20	—	20	KHIO™ 5	—
4.	3+1	20+20	—	20	LAKTIA™ 20	—
5.	3+1	20+20	—	20	—	LB-1 10
6.	3+1	20+20	—	20	—	Sour Pitch™ 10

3.6.3 Lepárlás

A lepárlás legfőbb célja a párlatrészek (elő-, közép- és utópárlat) megfelelő szétválasztása, amivel biztosítható, hogy a káros íz- és illatanyagok ne kerüljenek a késztermékbe. A finomítás során keletkező párlatfrakciók érzékszervileg jól elkülöníthetők egymástól (Békési és Pándi, 2005). Az előpárlat alkoholos jellegű, oldószerre, sósborszeszre emlékeztető szagú, könnyen illó anyagokat tartalmaz. A középpárlat kellemes, könnyű, tiszta, az adott gyümölcsre karakteresen jellemző ízű és illatú. Az utópárlat nehéz, bűdös a kozmaolajoktól és megjelenését az alkoholtartalom rohamos csökkenése jelzi (Panyik, 2006).

A kierjedt cefre lepárlása számítógépes vezérlésű, félüzemi erősítőfeltétes Hagyó típusú lepárlóberendezésben történt. A program irányította és felügyelte a folyamat paramétereit, például az üst indítását, a fűtőgőz és a hűtővíz hőmérsékletét, mennyiségét; valamint a refluxarányt. A különböző időpontokban mért alkoholkoncentrációkról a képernyőn megjelenő diagram nyújtott tájékoztatást. Az alkohol koncentrációját és a mellékalkotórészek elválasztását egy darab, három buboréksapkás tányéros, deflegmátorral felszerelt rektifikálóoszlop tette lehetővé. Az üstbe beépített keverő homogenizálta a cefrét, illetve megakadályozta az odaégését. A lepárlás megkezdése előtt lemértem a kierjedt cefrék tömegét, majd a mintákat egyesével, azonos programbeállítások mellett desztilláltam. A párlatfrakciókat érzékszervi vizsgálattal választottam el, valamint mérőhengerrel megmértem a térfogatukat is.

3.7. Cefrevizsgálatok

A cefrevizsgálatok során a 6. táblázatban feltüntetett paramétereket vizsgáltam. A mérések megkezdése előtt szűrőhálón átszűrtem az összes cefremintát.

6. táblázat: Az édes, az erjedő és a kierjedt cefre vizsgált paraméterei
(Forrás: Saját szerkesztés (2025))

Édes cefre	Erjedő és kierjedt cefre
<ul style="list-style-type: none">▪ pH▪ szárazanyag-tartalom▪ titrálható összes savtartalom▪ redukáló cukortartalom▪ HPLC	<ul style="list-style-type: none">▪ pH▪ szárazanyag-tartalom▪ titrálható összes savtartalom▪ redukáló cukortartalom▪ HPLC▪ alkoholtartalom▪ illósavtartalom

3.7.1 Kémhatás vizsgálata

A minták pH mérésére Mettler Toledo típusú kombinált elektródájú mérőműszert használtam. A műszert a vizsgálatok megkezdése előtt 7,0 és 4,0 pH-értékű pufferoldatok segítségével kalibráltam.

3.7.2 Szárazanyag-tartalom meghatározása

A cefrék szárazanyag-tartalmának változását digitális refraktométerrel követtem nyomon az erjedés közben, amely fénytörő képesség alapján mérte meg a minták extrakttartalmát. Amikor a mért érték három egymást követő napon nem változott, az adott cefrét kierjedtnek tekintettem. Először a prizmára cseppentett desztillált vízzel nulláztam a készüléket, majd sorra megmértem a minták szárazanyag-tartalmát. A készülék az eredményt BRIX%-ban (m/m%) jelezte ki.

3.7.3 Cefreminták titrálható összes savtartalmának meghatározása

Mindazon alkotórészek összességét, amelyek lúggal indikátor jelenlétében közömbösíthetők, titrálható összes savnak nevezzük (Vargha, 1980). A vizsgálandó mintából 15 cm³-t pipettáztam egy 50 cm³ térfogatú főzőpohárba. Ezután a pH mérő elektródját az oldatba helyeztem, majd folyamatosan, állandó keverés mellett adagoltam hozzá a 0,2 mólos NaOH mérőoldatot. A titrálást 6,8 pH-értékig végeztem, majd leolvastam a mérőoldat fogyását.

Az titrálható összes savtartalmat (S_{δ}) az alábbi összefüggés szerint számítottam ki:

$$S_{\delta} [g/l] = V_{NaOH} \cdot f_{NaOH}$$

ahol:

V_{NaOH} : a mintára fogyott NaOH mérőoldat térfogata [cm^3];

f_{NaOH} : a NaOH mérőoldat faktora.

A savtartalom változását a kiejert és az édes cefre titrálható összes savtartalmának különbségéből számítottam ki.

3.7.4 Redukáló cukortartalom meghatározása Schoorl-módszer szerint

A cefre redukáló cukortartalmának mérésével az volt a célom, hogy nyomon kövessem a vizsgált törzsek szénhidrát-hasznosítását az erjesztés folyamán. A visszamaradó cukor mennyiségéből pontosabb képet kívántam kapni az erjedés hatékonyságáról. Az előkészített cukoroldatot lúgos közegben pontosan ismert mennyiségű réz-szulfátot tartalmazó oldattal főzzük. A réz egy része redukálódik. A nem redukált réz mennyiségének a meghatározására az oldathoz kálium-jodidot adunk, amely a réz(II) ionokat – savanyú közegben – a jód kiválása mellett redukálja. A kiváló jód mennyiségét 0,1 mólos nátrium-tioszulfáttal megtitrálva állapítjuk meg. A cukrot nem tartalmazó oldat tioszulfát fogyásának és a minták tioszulfát-fogyásának különbségéből táblázat/képlet segítségével megkapjuk az oldott cukor mennyiségét mg-ban. (Csapó, Albert és Kiss, 2020).

Egy 250 cm^3 térfogatú Erlenmeyer-lombikba 10-10 cm^3 Schoorl I és Schoorl II oldatot pipettáztam, majd hozzáadtam 0,5 cm^3 mintát (05.19-én vett mintától kezdve 1 cm^3 mintát). Ezt követően desztillált vízzel kiegészítettem az oldatot 50 cm^3 -re. Az így elkészített elegyet pontosan 2 percig forraltam, majd gyorsan vízfürdőbe helyeztem és szobahőmérsékletűre hűtöttem. A továbbiakban hozzáadtam 10 cm^3 KI oldatot, majd megsavanyítottam 10 cm^3 25%-os kénsavval. A felszabadult jódot 0,1 mólos nátrium-tioszulfát mérőoldattal titráltam. Amikor az oldat szalmasárga színűvé vált, hozzáadtam 3-4 csepp keményítő indikátort és a fehér szín megjelenéséig titráltam. A vakminta elkészítése és titrálása teljesen azonos volt az előbb leírtakkal, azonban a vizsgálandó anyag helyett 0,5 cm^3 desztillált vizet tartalmazott.

Az adott minta glükózban kifejezett redukáló cukortartalmát (C) a következő képlet segítségével számítottam ki:

$$C [g/l] = 0,016 \cdot (V_{vak} - V_{Na_2S_2O_3})^2 \cdot f_{Na_2S_2O_3} + 3,008 \cdot (V_{vak} - V_{Na_2S_2O_3}) \cdot f_{Na_2S_2O_3} + 0,355$$

ahol:

V_{vak} : a vakmintára fogyott nátrium-tioszulfát mérőoldat térfogata [cm^3];

$V_{Na_2S_2O_3}$: a mintára fogyott nátrium-tioszulfát mérőoldat térfogata [cm^3];

$f_{Na_2S_2O_3}$: a nátrium-tioszulfát mérőoldat faktora.

3.7.5 HPLC vizsgálat módszere

Kísérletem során a szerves savak és a szénhidrátok minőségi és mennyiségi meghatározását ThermoScientific Corporation Surveyor HPLC rendszer segítségével hajtottam végre.

Mérési körülmények:

- Elválasztó oszlop: Aminex HPX-87H töltetű oszlop;
- Detektor: szerves sav: PDA (210 nm); szénhidrát: RI detektor (410 nm);
- Integrátor program: ChromQuest 5.0;
- Eluens: 0,005 n H_2SO_4 ;
- Eluens áramlási sebessége: 0,6 ml/perc;
- Futási idő: 25 perc;
- Oszlop hőmérséklete: 45°C;
- Detektor hőmérséklete: 45°C;
- Injektált mintatérfogat: 10 μ l.

A HPLC mérések első lépése az előkészítés volt. Minden egyes levett mintából körülbelül 1 ml-t eppendorf csövekbe pipettáztam, melyeket 10 percen át 14000-es fordulatszámon centrifugáltam. A centrifugált minták felülúszójából 700 μ l-t átpipettáztam HPLC-s műanyag vidál csövekbe.

A megfelelő értékeléshez szükség volt standardok készítésére is. Különböző szerves sav: citromsav, almasav, tejsav, ecetsav, borostyánkősav; illetve szénhidrát: glükóz, fruktóz, szacharóz standardokat alkalmaztam. A standardok segítségével meghatározható a retenció

idő, illetve elvégezhető a kalibráció. Ezen információk segítségével végül meghatározhatók a koncentrációk.

3.7.6 Alkoholtartalom meghatározása

Az alkoholtartalom mérésére egy Anton Paar DMA 35N rezgőcellás kézi sűrűségmérőt használtam, amely közvetlenül megadta az alkoholtartalmat V/V% értékben. A kiejert cefréből először lepárlással elválasztottam az alkoholt, hogy ne befolyásolja a többi alkotórész a mérést. A Gibertini típusú berendezés desztilláló lombikjába kiejert cefréből pontosan 100 cm³-et töltöttem, majd ugyanennyi desztillált vizet is hozzáadtam. A desztilláló lombikba 1–2 csepp habzásgátlót (szilikonolajat) is raktam. Ezután elindítottam a lepárlást, amely automatikusan leállt az elegendő mennyiségű párlat összegyűjtése után (3–4 perc). Ezt követően a párlatgyűjtésre használt gömblombikot jelig töltöttem desztillált vízzel, majd alaposan összeráztam. Végül az alkoholtartalmat megmértem a kézi sűrűségmérővel.

3.7.7 Cefreminták illósavtartalmának meghatározása

Azok a savas jellegű alkotórészek, amelyek különleges, erre a célra szolgáló berendezésben felszabadítva átdestillálnak, az illó savak (Vargha, 1980). Egy desztilláló csőbe bemértem 20 cm³ cefremintát, illetve 1 cm³ 30%-os borkősavat. Ezután a minta illósavtartalmát vízgőz desztillációval (Büchi desztilláló berendezés) elválasztottam. Az adott minta desztillálását 6 percig folytattam. Ezt követően a párlatot 0,1 mólos NaOH mérőoldattal titráltam 3–4 csepp fenolftalein indikátor mellett, a halvány rózsaszín szín megjelenéséig. Az illósavtartalmat (*I*) ecetsav [g/l] egyenértékben határoztam meg, az alábbi képlet segítségével:

$$I \text{ (g/l)} = V_{\text{NaOH}} \cdot f_{\text{NaOH}} \cdot 0,3$$

ahol:

V_{NaOH} : a mintára fogyott NaOH mérőoldat térfogata [cm³];

f_{NaOH} : a NaOH mérőoldat faktora.

3.8. Párlatvizsgálatok

A párlatvizsgálatok során a 7. táblázatban feltüntetett paramétereket vizsgáltam. Kizárólag a cefrevizsgálatoktól eltérő mérési módszereket ismertetem a továbbiakban.

7. táblázat: A párlatok vizsgált paraméterei
(Forrás: Saját szerkesztés (2025))

Elő- és utópárlat	Középpárlat
<ul style="list-style-type: none">térfogat	<ul style="list-style-type: none">térfogattitrálható összes savtartalomkozmaolaj-tartalomésztertartalomGCérzékszervi vizsgálat

3.8.1 Párlatminták titrálható összes savtartalmának meghatározása

A vizsgálandó mintából 20 cm³ mennyiséget bemértem pipettával egy 200 cm³-es titrálólombikba, majd lassan melegítettem a forrás megindulásáig. Ekkor 2-3 csepp fenolftalein indikátort csepegtettem hozzá és még melegem megtitráltam 0,02 mólos NaOH mérőoldattal. (Az alkalmazandó NaOH normalitása a vizsgált minta várt savtartalmától függ.) A titrálható összes savtartalmat ($S_{\text{ö}}$) az alábbi összefüggés szerint számítottam és fejeztem ki abszolút alkoholtartalomban:

$$S_{\text{ö}} [\text{mg}/100 \text{ cm}^3] = V_{\text{NaOH}} \cdot f_{\text{NaOH}} \cdot c \cdot 5/a \cdot 100$$

ahol,

V_{NaOH} : a mintára fogyott NaOH mérőoldat térfogata [cm³];

f_{NaOH} : a NaOH mérőoldat faktora;

c : az 1 cm³ mérőoldatnak megfelelő vízmentes citromsav, illetve esetsav mennyisége [mg], 0,02 mólos NaOH mérőoldat esetén esetsav milligrammban történő kifejezésnél az értéke 1,2, míg vízmentes citromsav milligrammban történő kifejezésnél az értéke 1,28.

a : a vizsgált párlat alkoholtartalma [V/V%].

3.8.2 A para-dimetil-amino benzaldehydes kozmaolaj-meghatározási módszer menete

A kozmaolaj-meghatározási eljárások általában színreakción alapuló fotometriás módszerek, amelyek a minta eredetétől függően előforduló különböző magasabb rendű alkoholok összes mennyiségét mérik, de az egyes komponenseket ily módon nem lehet külön-külön meghatározni. Mivel a különböző alapanyagokból készült vagy különböző technológiával készített pálinkák kozmaolaj-tartalmának összetétele a termékre jellemzően más és más, a színreakció kiértékeléséhez szükséges kalibrációs görbét a leggyakrabban előforduló izobutil-alkohol és izoamil-alkohol elegyével veszik fel.

A magasabb rendű alkoholok tömény kénsav jelenlétében színes terméket képezve reagálnak para-dimetil-amino-benzaldehyddel. A képződött szín intenzitását, amely arányos a kozmaolajok mennyiségével, hasonló módon kezelt kozmaolaj-törzsoldatokkal felvett kalibrációs görbe segítségével értékeltem ki (Bikfalvi, 1980).

A vizsgálandó mintákat 50 szeresére hígítottam, ebből 1-1 cm³-t 15 cm³-es csiszolt dugós kémcsövekbe pipettáztam, és 3 percre jeges vízfürdőbe helyeztem. Egy másik kémcsőbe 1 cm³ 30 V/V %-os etil-alkoholt pipettáztam vakpróbaként. A 3 perc eltelte után a kémcsövekbe 0,5 cm³ para-dimetil-amino-benzaldehydet adtam, és jól összekevertem. Újabb 3 perces hűtés után 5 cm³ előre lehűtött, koncentrált kénsavat adagoltam az elegyekhez. Ennél a műveletnél a kémcsöveket a jeges vízfürdőben tartottam, hogy a hőmérsékletük ne emelkedjen. Ezután újabb rázás és ismét 3 perc hűtés következett. Ezt követően a kémcsöveket 30 percre forró vízfürdőbe helyeztem. 30 perc eltelte után a kémcsöveket jeges vízbe állítottam, hogy a reakció leálljon, majd 25 perces szobahőmérsékleten való állás után mértem a sárgásbarna színű oldatok extinkcióját 1 cm-es küvettában, 590 nm-en, a vakpróbával szemben.

Az eredmény kifejezését úgy végeztem, hogy a minta extinkciójából a kozmaolaj-tartalmat a kalibrációs görbe segítségével határoztam meg. A kapott értéket megszoroztam az adott hígítási faktoral. Az eredményt mg/ 100 cm³ értékben kaptam meg.

3.8.3 Észtertartalom meghatározása

A szeszes italok észtertartalma alatt a nátrium-hidroxiddal elszappanosítható anyagok etil-acetát egyenértékben kifejezett mennyiségét értjük, abszolút alkoholra vonatkoztatva (Pándi, 1980). A párlatokból 50 cm³ mennyiséget 250 cm³-es Erlenmeyer lombikba mértem, majd 3-4 csepp fenolftalein indikátort csepegtettem hozzá. Az elegyet 0,1 mólos NaOH mérőoldattal közömbösítettem (halvány rózsaszín szín eléréséig titráltam), majd a mintákhoz további 25 cm³ 0,1 mólos NaOH mérőoldatot adtam és visszacsepegtető hűtő alatt egy órán keresztül forraltam.

Ezután vízfürdőn szobahőmérsékletre hűtöttem az Erlenmeyer-lombikokat, majd a NaOH felesleget a fenolftalein indikátor vörös színének eltűnéséig 0,1 mólos sósav mérőoldattal visszatitráltam. A HCl-oldat fogyását feljegyeztem, majd az észtertartalmat (É) az alábbi összefüggés alapján határoztam meg minden mintánál, abszolút alkoholtartalomban kifejezve:

$$\boxed{\text{É} [mg/(100 \text{ cm}^3)] = 1760 \cdot (25 \cdot f_{NaOH} - V_{HCl} \cdot f_{HCl})/a}$$

ahol:

f_{NaOH} : a NaOH mérőoldat faktora;

V_{HCl} : a lúgfelesleg visszatitralására fogyott HCL mérőoldat fogyása [cm^3];

f_{HCl} : a HCl mérőoldat faktora;

a : a vizsgált párlat alkoholtartalma [V/V%].

3.8.4 Gázkromatográfiás vizsgálat módszere

A párlatok illókomponenseinek mennyiségét gázkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg. Ez egy olyan elválasztási módszer, amelynél a vizsgálandó minta alkotóinak elválasztása egy helyhez kötött álló fázis és az ezzel érintkező mozgó gáz fázis közötti anyagátmeneten alapul. A mérésemhez a Perichrom 2100 típusú, split/splitless injektorral és FID detektorral ellátott gázkromatográfiás berendezést alkalmaztam. A párlatban lévő komponensek elválasztására CP-WAX-57 CP (50 m x 0,32 mm ID x 0,2 m) kapilláris oszlopot (Varian) használtam. Az injektor hőmérséklete 220°C, a detektor hőmérséklet 240°C volt. A mérés során a következő hőmérséklet programot használtam: 40°C 3 percig; utána 6°C/perc sebességgel 75°C-ra, majd 9°C 6 perc sebességgel 210°C-ra. Az egyes komponensek beazonosítására különböző külső standardokat alkalmaztam.

3.8.5 Érzékszervi vizsgálat

A kutatómunkám a középpárlatok érzékszervi bírálatával ért véget. A pálinkának fontos tulajdonsága a színe, tisztasága, íze, illata – összefoglalva a zamata, ezért minősítése során fontos szerepe van az érzékszervi vizsgálatnak. Hiába felel meg ugyanis a pálinka kémiai szempontból a minőségi követelményeinek, ha íze, illata vagy színe kellemetlen, élvezhetetlen (Békési és Pándi, 2005). A hat pálinkaminta bírálatát öt fő végezte, 20 pontos értékelési rendszer alkalmazásával. A bírálati lap a mellékletben megtekinthető. A kóstoláshoz szintelen,

vékony falú, talpas, felfelé keskenyedő, üvegtetővel ellátott üveg poharat használtunk. A poharakba minden mintából azonos mennyiség került, az ízlelőszervek közömbösítésére ásványvíz és kifli szolgált.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Alkalmazott kultúrák fiziológiai vizsgálata

4.1.1 Szénhidráthasznosítás-vizsgálat

A szakirodalmi adatok szerint a *S. cerevisiae* képes a glükózt, fruktózt, mannózt, galaktózt, szacharózt, maltózt és maltotriózt hasznosítani (Walker és Stewart, 2016). Az általam választott mikroorganizmusok szénhidrát-hasznosítását a 8. táblázatban foglaltam össze. Amint a 4. ábrán is látható, a tápközeghez adott brómkrezol bíborindikátor sárgára színeződése jelezte a savtermelődést, tehát a vizsgált szénhidrát hasznosítását az adott mikroorganizmus által.

8. táblázat: A szénhidráthasznosítás-vizsgálat eredménye

	Glükóz	Fruktóz	Szacharóz	Maltóz	Laktóz	Maltotrióz	Szorbit	Xilit
INITIA™	+++	+++	++	+++	–	+++	+++	–
KHIO™	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+
LAKTIA™	+++	+++	++	+++	+	+++	–	–
LB-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Sour Pitch™	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	–

+++ : erőteljes savtermelés; ++ : közepes mértékű savtermelés; + : gyenge savtermelés; – : nincs savtermelés

A táblázat alapján megfigyelhető, hogy az összes mikroorganizmus jól hasznosította a glükózt, fruktózt, maltózt és maltotriózt. A szacharózt a *M. pulcherrima* (KHIO) és a *L. plantarum* (LB-1, Sour Pitch) törzsek nagy mértékben, a többi közepes mértékben tudta felvenni. A laktózt a *L. plantarum* (LB-1, Sour Pitch) törzsek nagy mértékben hasznosították, azonban a *M. pulcherrima* (INITIA) egyáltalán nem. A szorbitot a *L. thermotolerans* (LAKTIA) kivételével intenzíven használták tápanyagként a mikroorganizmusok. A xilitet csak a *M. pulcherrima* (KHIO) és a *L. plantarum* (LB-1) törzsek tudták hasznosítani. Kiemelném, hogy a vizsgált szénhidrátok közül a *M. pulcherrima* (KHIO) és a *L. plantarum* (LB-1) törzsek képesek voltak mindegyiket hasznosítani. Ez a tulajdonságuk növelheti az anyagcseréjük intenzitását, illetve versenyelőnyt jelenthet más mikroorganizmusokkal szemben.

19. ábra: A *L. thermotolerans* (LAKTIA) szénhidrát-hasznosítása



4.1.2 Alkoholtolerancia kimutatása

Az általam alkalmazott kultúrák alkohollal szembeni toleranciáját mutató eredményeket a 9. táblázatban közlöm. Ahogy a 4. ábrán is látható, a kémcsőben látható zavarosodás utalt arra, hogy az adott alkoholkoncentrációban a mikroba tudott szaporodni.

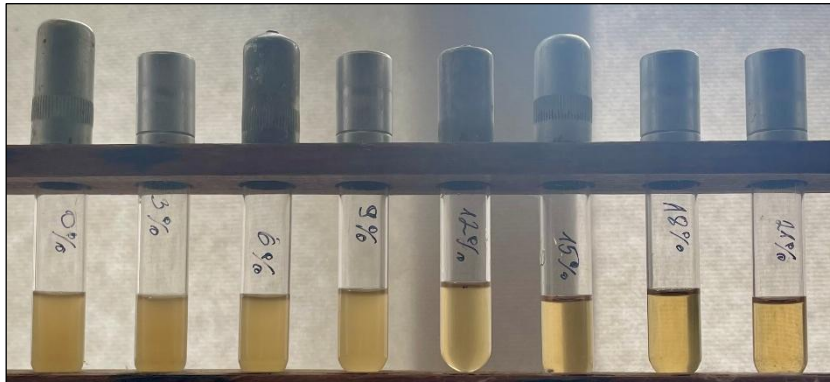
9. táblázat: Az alkoholtolerancia-vizsgálat eredménye

	0%	3%	6%	9%	12%	15%	18%	21%
INITIA™	+	+	+	+	+	–	–	–
KHIO™	+	+	+	+	–	–	–	–
LAKTIA™	+	+	+	+	+	–	–	–
LB-1	+	+	+	–	–	–	–	–
Sour Pitch™	+	+	+	+	–	–	–	–

+: szaporodás; –: nincs szaporodás

A táblázatból kiolvasható, hogy a vizsgált mikroorganizmusok alkoholtűrőse 6% alkoholtartalom felett mutatott eltérést. A legerősebb alkoholtűrő képessége a *M. pulcherrima* (INITIA) és a *L. thermotolerans* (LAKTIA) törzseknek volt, mivel 12%-os alkoholkoncentrációban is szaporodni tudtak. A leggyengébb alkoholtűrő képességgel a *L. plantarum* (LB-1) rendelkezett, amely 6% felett már nem mutatott szaporodást. 12% felett már egyik vizsgált törzs sem tudott szaporodni.

20. ábra: A *L. thermotolerans* (LAKTIA) alkoholtűrő képessége



4.1.3 Agar-diffúziós -vizsgálat eredménye

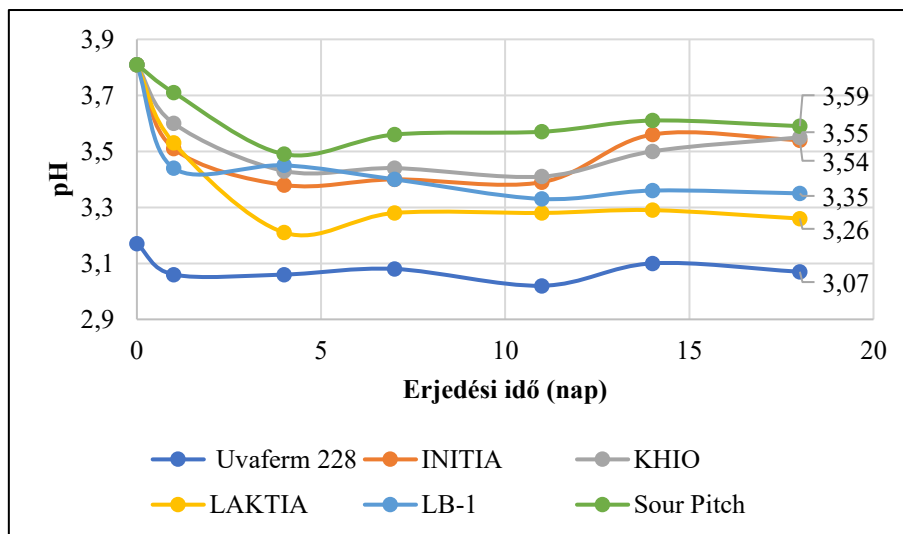
A vizsgálat során nem alakultak ki gátló zónák a választott élesztőtörzsek és tejsavbaktériumok, valamint a *S. cerevisiae* között. Ez arra utalt, hogy a vizsgált mikroorganizmusok az adott körülmények között nem gátolták közvetlenül egymás szaporodását. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a kialakított mikrobapárok valóban alkalmasnak bizonyultak a kevert kultúras erjesztéshez, így a továbbiakban megkezdhettem a cefrézést és az erjesztési kísérletet.

4.2. Cefrevizsgálatok

4.2.1 A pH-érték és a titrálható összes savtartalom változása erjedés során

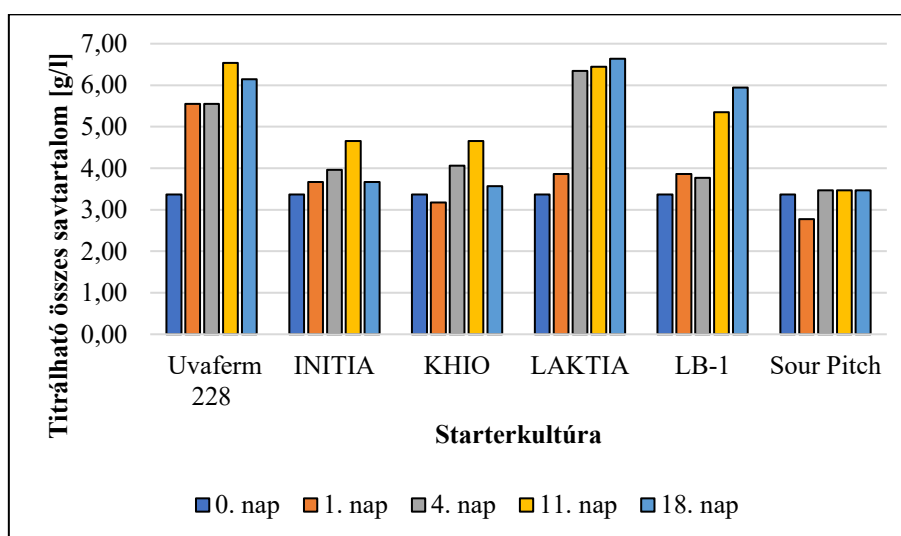
A cefreminták pH-értékének változását erjedés során a 6. ábra, a titrálható összes savtartalom változását pedig a 7. ábra szemlélteti. A mikroorganizmusok savtermelése befolyásolja a közeg pH-értékét, ezért ezt a két paramétert érdemes együttesen vizsgálni.

21. ábra: A cefreminták pH-értékének változása erjedés során



Az édes cefre pH-értéke 3,81 volt, a kontrollminta pH-értékét pedig 3,17-re állítottam be foszforsav-tejsav eleggyel a cefrőzés során. A kontrollminta pH-értéke 3,02–3,17 között mozgott erjedés közben, így ebben a cefrében végig gátolt maradt a káros mikroorganizmusok szaporodása. A nem-Saccharomyces élesztőkkel végzett kevert kultúras erjesztések közül csak a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) párosítás volt képes a cefre pH-értékét 3,5 alá csökkenteni az erjedés végére. Ebben a mintában a cefre pH-értéke 0,55 egységgel csökkent az erjedés végére, ami alátámasztja a szakirodalomban leírtakat, miszerint a *L. thermotolerans* képes 0,1–0,5 egységgel csökkenteni a cefre pH-értékét (Payan és mtsai., 2023). A tejsavbaktériumokat alkalmazó kevert kultúras erjesztések közül csak a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) párosítás tudta a cefre pH-értékét 3,5 alá csökkenteni.

22. ábra: A titrálható összes savtartalom változása erjedés során



A 7. ábra alapján megállapítható, hogy a cefrék savtartalma legnagyobb mértékben a *S. cerevisiae* (Uvaferm 228) fajélesztő, a *S. cerevisiae-L. thermotolerans* (LAKTIA) és a *S. cerevisiae-L. plantarum* (LB-1) kevert kultúrák alkalmazása esetén nőtt. A titrálható savtartalom ezeknél az erjesztéseknél 5,95 – 6,64 g/l érték között adódott a kezdeti 3,37 g/l-es mennyiséghez képest. A legkisebb változást a *S. cerevisiae-L. plantarum* (Sour Pitch) kevert kultúra esetén tapasztaltam, ahol az erjedés végén is csak 3,47 g/l savtartalmat mértem. A 10. táblázatban kiszámoltam, hogy ténylegesen milyen mértékű volt a cefreminták savtartalmának változása az erjedés végére.

10. táblázat: A kierjedt cefrék pH-értéke és a savtartalom változása

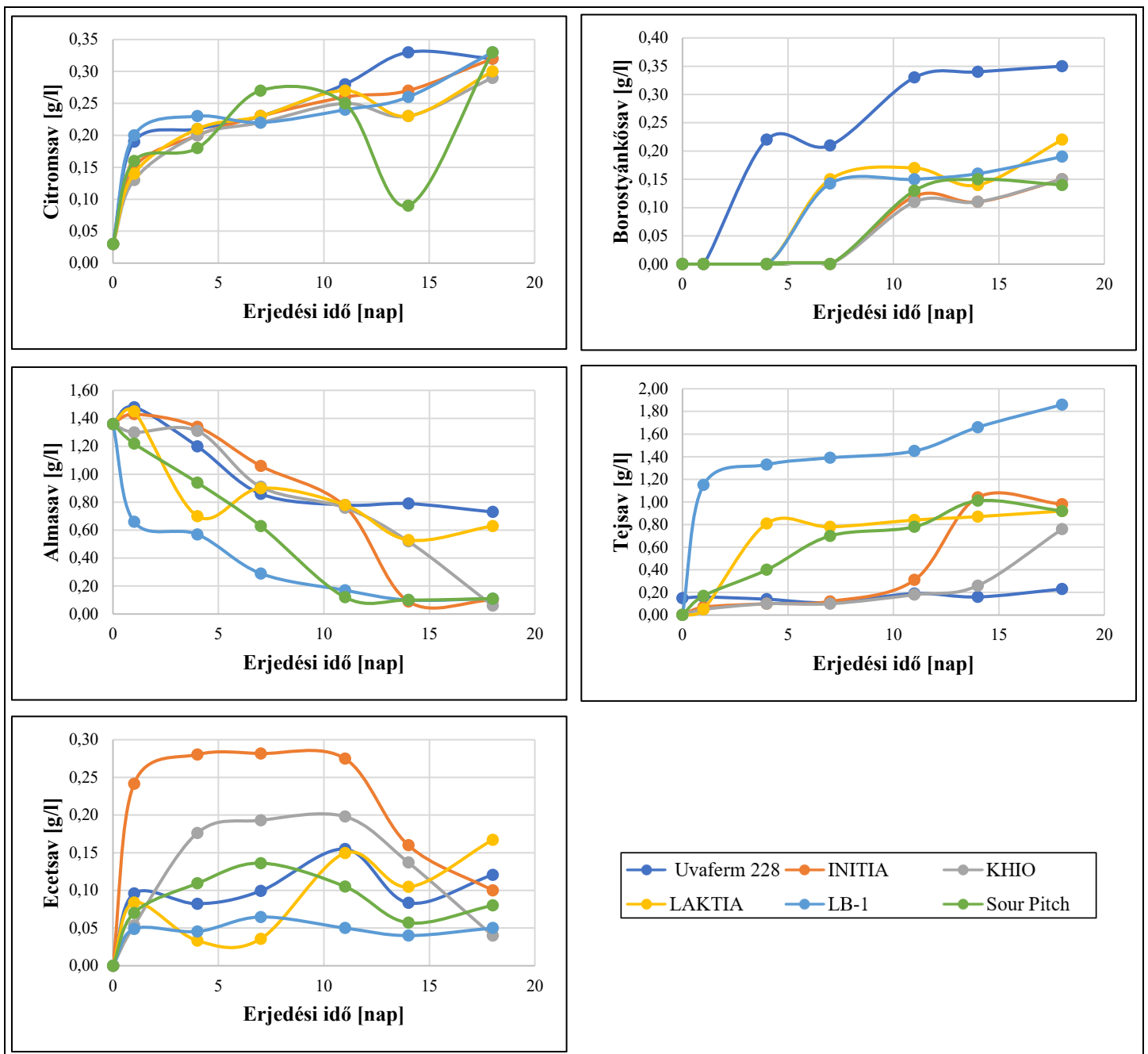
Bioregulátum	Mikroorganizmus	Kierjedt cefre pH-értéke (18. nap)	Savtartalom változása [g/l]
Uvaferm 228	<i>S. cerevisiae</i> (kontrollminta)	3,07	+0,59
INITIA™	<i>S. cerevisiae-M. pulcherrima</i>	3,54	+0,30
KHIO™	<i>S. cerevisiae-M. pulcherrima</i>	3,55	+0,20
LAKTIA™	<i>S. cerevisiae-L. thermotolerans</i>	3,26	+3,27
LB-1	<i>S. cerevisiae-L. plantarum</i>	3,35	+2,58
Sour Pitch™	<i>S. cerevisiae-L. plantarum</i>	3,59	+0,10

A foszforsav-tejsav elegy savanyító hatását figyelmen kívül hagyva megállapítottam, hogy a *S. cerevisiae* önmagában 0,59 g/l-rel növelte a kontrollminta savtartalmát az erjedés végére. A 10. táblázatból kiolvasható, hogy ennél intenzívebb savtermelést csak a *S. cerevisiae-L. thermotolerans* (LAKTIA) és *S. cerevisiae-L. plantarum* (LB-1) párosítás produkált. Emellett csak ez a két bioregulátum volt képes a savtartalmat még a 11. napot követően is növelni. Azok a bioregulátumok, amelyek nem tudták a pH-értéket 3,5 alá csökkenteni, lényegesen kisebb mértékben növelték a cefre savtartalmát.

4.2.2 A cefre szerves sav összetételének változása erjedés során

A titrálható összes savtartalom önmagában még nem ad pontos képet a cefre savösszetételéről. Azonban a szerves savak mennyisége és minősége jelentős hatással van a gyümölcspárlat aromaprofiljára, továbbá pontos meghatározásukkal kimutatható a káros mikroorganizmusok anyagcseréje is a cefrében. Ennek megállapítására HPLC-vizsgálatot végeztem, amelynek eredményét az 8. ábra mutatja be.

23. ábra: A vizsgált szerves savak koncentrációja erjedés során

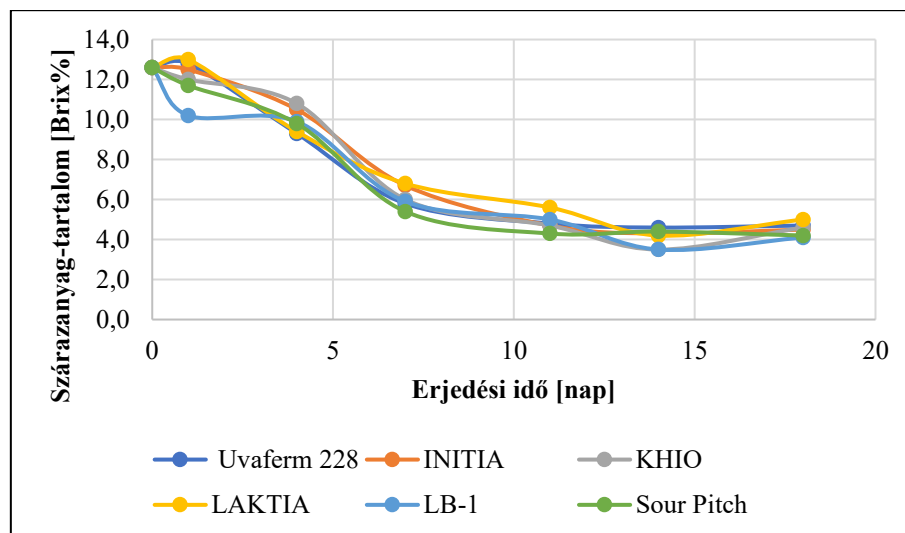


A citromsav és a borostyánkősav koncentrációja emelkedett az erjedés végére az élesztők anyagcseréjének következtében. Kiemelkedően nagy mennyiségű borostyánkősavat termelt a *S. cerevisiae* (Uvaferm228) élesztőtörzs a kevert kultúrákhoz viszonyítva. Mivel a pálinka almából készült, így a cefreminták savösszetételének számottevő részét az almasav alkotta. Erjedés közben az almasav-koncentrációja folyamatosan csökkent, mivel az almasav jelentős része tejsavvá alakult a malolaktikus fermentáció során. A kevert kultúrák minden esetben több tejsavat termeltek, mint a *S. cerevisiae* (Uvaferm 228). A legintenzívebb tejsavképződést a *S. cerevisiae*- *L. plantarum* (LB-1) párosítás esetében tapasztaltam. A kiejert cefreminták ecetsav-tartalma minden esetben 0,5 g/l alatt maradt, ami arra utal, hogy a cefréket sikerült megvédeni az ecetsavbaktériumos fertőzéstől, valamint az oxidációtól.

4.2.3 A szárazanyag-tartalom és a redukáló cukortartalom változása erjedés során

A gyümölcsök vízben oldódó szárazanyag-tartalmának csak egy részét teszik ki a cukorkomponensek, így a refraktometriás módszer csak közelítő pontossággal ad képet a cefreminták cukortartalmáról. Az erjedés nyomon követésére viszont jól használható mérési módszerek tekinthető. A tényleges erjeszhető, vagy maradék (redukáló) cukortartalom mennyiségi meghatározását Schoorl-féle módszerrel végeztem.

24. ábra: A szárazanyag-tartalom változása erjedés során

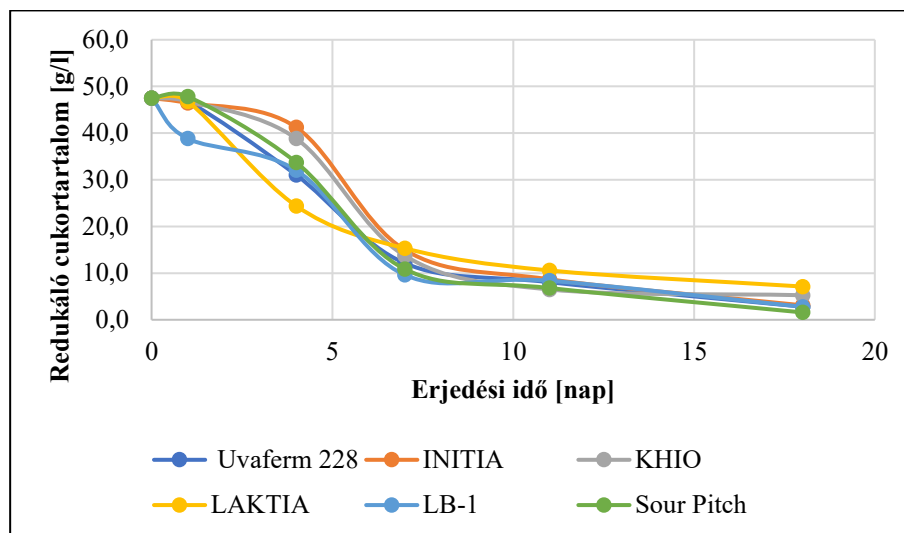


A 9. ábráról leolvasható, hogy a szárazanyag-tartalom csökkenése minden bioregulátum esetében két elkülöníthető szakaszra bontható. Az első szakaszban (1–7. nap) egy intenzívebb anyagcsere-tevékenység volt megfigyelhető, amely az erjedés előrehaladtával fokozatosan lassult. Ennek oka, hogy a cefre erjeszhető cukortartalma az erjedés során folyamatosan

csökkent, így mérséklődött a mikroorganizmusok tápanyag-ellátottsága, ami lassuló erjedési sebességet eredményezett. Az erjedés legkorábban a *S. cerevisiae* (Uvaferm 228) és a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (Sour Pitch) kombináció esetében ért véget, mivel ezeknek a mintáknak már a 11. naptól kezdve állandósult a szárazanyag-tartalma. Az erjedés legintenzívebben a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) párosítás esetében indult be, illetve ez a bioregulátum tudta a cefre szárazanyag-tartalmát is a legnagyobb mértékben csökkenteni (8,5 Brix%-kal). A kiejedt cefreminták közül a legnagyobb Brix%-ot a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) párosítás esetében mértem. Ez összefüggésbe hozható az erjesztést megelőző szénhidráthasznosítás-vizsgálat eredményével, ami kimutatta, hogy a *L. thermotolerans* a többi mikroorganizmushoz képest gyengébb vitalitással rendelkezik.

A továbbiakban az erjeszhető cukortartalom változását a 10. ábrán szemléltetem.

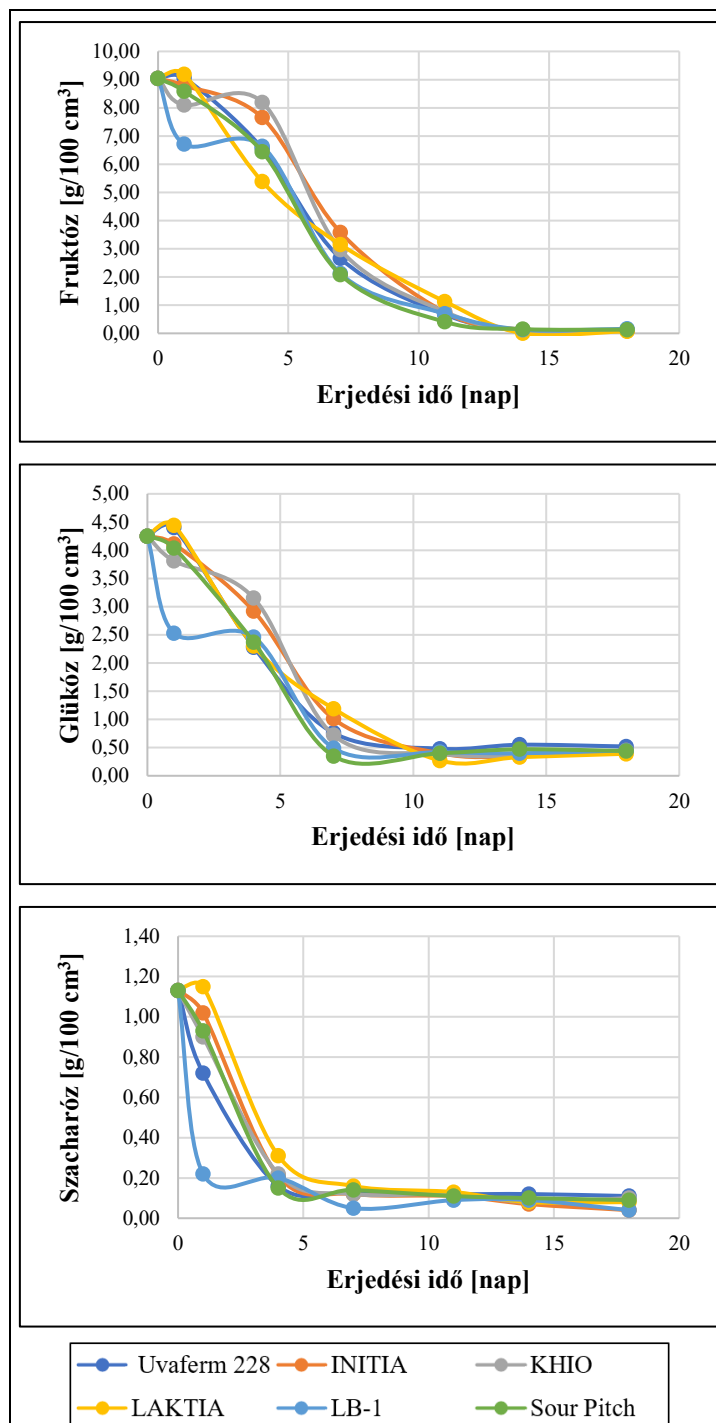
25. ábra: A redukáló cukortartalom változása erjedés során



A 10. ábráról leolvasható, hogy a szárazanyag-tartalomhoz hasonlóan a cefreminták redukáló cukortartalma is nagyobb mértékben csökkent az erjedés első szakaszában, majd a 7. napot követően a fogyás lassuló tendenciát mutatott. Megfigyelhető, hogy a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) párosítás már az erjedés indításától kezdve kiemelkedő intenzitással hasznosította az erjeszhető cukortartalmat a többi bioregulátomhoz képest. Ebből arra lehet következtetni, hogy a *L. plantarum* (LB-1) jól alkalmazkodott a cefre körülményeihez és hamar elkezdte a szénhidrátbontást. A többi párosítás esetében a redukáló cukrok intenzív fogyása csak a szekventált beoltást követően indult be, miután a *S. cerevisiae* is a cefrébe került. Ez abból adódhat, hogy a nem-*Saccharomyces* élesztők erjesztőképessége, így szénhidráthasznosítása is jelentősen gyengébb a *S. cerevisiae*-hez képest.

4.2.4 A cefre szénhidrát-összetételének változása erjedés során

26. ábra: A vizsgált szénhidrátok koncentrációjának változása erjedés során



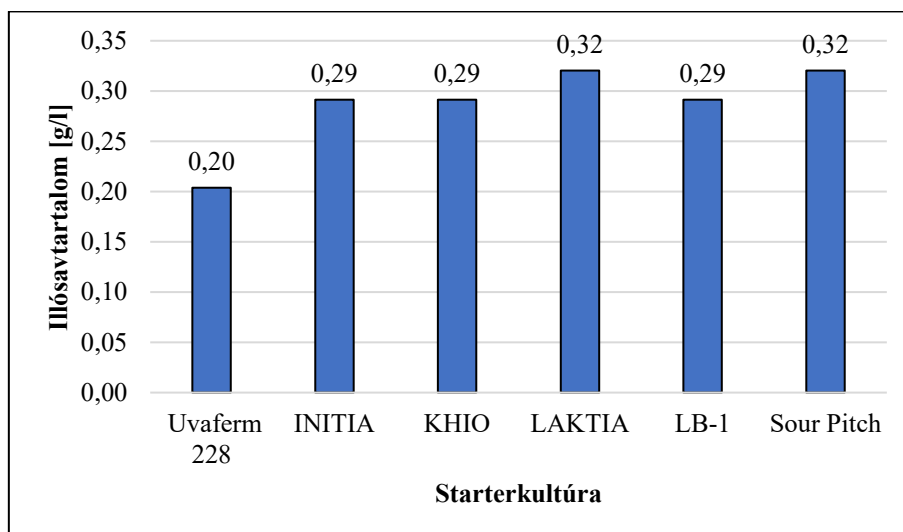
A 11. ábráról leolvasható, hogy az édes cefreminták cukortartalmának legnagyobb részét a fruktóz tette ki, koncentrációja közel kétszerese volt a glükózénak, illetve hétszerese a szacharózénak. A cefreminták fruktóztartalmát szinte maradéktalanul hasznosították a bioregulátumok, mivel a fruktóz koncentrációja mindegyik cefreminta esetében közel nullára

csökkent az erjedés végére ($<0,16 \text{ g}/100 \text{ cm}^3$). Mindhárom vizsgált szénhidrátról megállapítható, hogy az erjedés első szakaszában a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) párosítás hasznosította a legnagyobb mértékben. Ezzel szemben a *L. thermotolerans* (LAKTIA) a szekventált beoltást megelőzően nem mutatott sem glükóz és fruktóz, valamint sem szacharóz metabolizmust, ugyanis nem csökkent ezen cukrok koncentrációja. Az erjedés második, lassabb szakaszában a mikroorganizmusok szénhidrát-hasznosítása hasonló tendenciát mutatott.

4.2.5 A kiejedt cefreminták illósvartartalma

Amint korábban a szakirodalomban említettem, az erjedés során képződő ecetsav koncentrációja nem lehet több, mint $0,5 \text{ g}/\text{l}$. A 12. ábráról leolvasható, hogy az ecetsavban kifejezett illósvav-koncentráció minden minta esetében az elvárt határérték alatt maradt. Ebből feltételezhető, hogy nem történt ecetsavbaktériumos fertőzöttség, tehát megfelelő volt az erjesztésvezetés és a cefre tárolása is a lepárlásig. Emellett megállapítható, hogy a kevert kultúras erjesztés minden esetben nagyobb illósvavtartalmat eredményezett, mint a tiszta *S. cerevisiae* kultúra (Uvaferm 228) alkalmazása. A kevert kultúras erjesztések közel azonos mennyiségű illósvavtermeléssel jártak. Kijelenthető tehát, hogy a cefrét sikerült megvédeni ezen mikroorganizmusokkal.

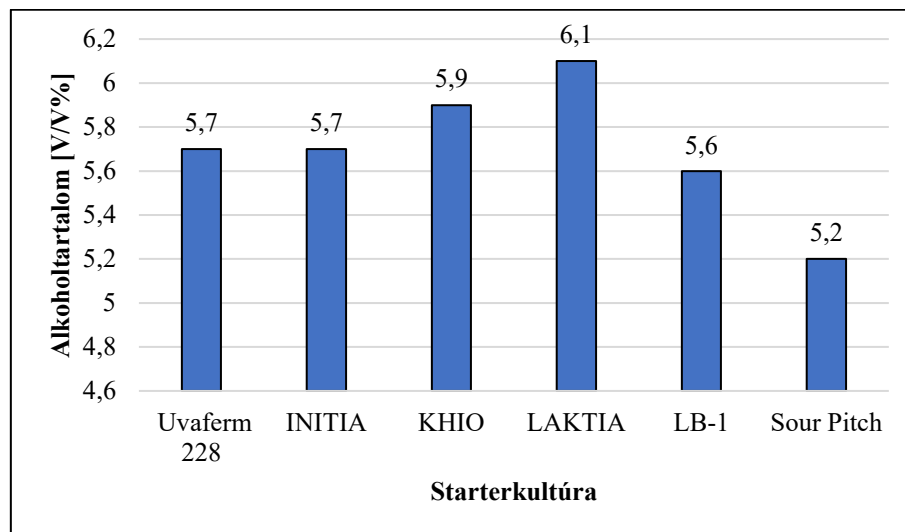
27. ábra: A kiejedt cefreminták illósvavtartalmának ecetsavban kifejezett értéke



4.2.6 A kiejert cefreminták alkoholtartalma

Az erjedés során képződő etanol az egyik legfontosabb cefrealkotó komponens, melynek tartósító, mikrobiális gátló hatása van (Panyik, 2017). A 13. ábráról leolvasható, hogy a kiejert cefreminták alkoholtartalma 5,2–6,1% között mozgott. A *S. cerevisiae* (Uvaferm 228), a *S. cerevisiae*-*M. pulcherrima* (INITIA), illetve a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) bioregulátumok közel azonos alkoholtartalmat eredményeztek. Ez azért figyelemre méltó, mert a *L. plantarum* tejsavbaktérium révén nem termel etanolt, így nem járul hozzá a cefre alkoholtartalmának növeléséhez, ugyanakkor jelenléte nem gátolta a *S. cerevisiae* anyagcseréjét. Ezeknél nagyobb alkoholtartalmat a *S. cerevisiae*-*M. pulcherrima* (KHIO) és a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) esetében mértem. Ezzel szemben a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (Sour Pitch) tartalmú cefre alkoholtartalma jelentősen alulmaradt a többihez képest. Ennek hátterében egyrészt az áll, hogy a *L. plantarum* nem termelt etanolt, másrészt a szekventált beoltást követően versengés indulhatott a *S. cerevisiae*-vel a tápanyagokért, ami negatívan hatott az élesztő etanoltermelését.

28. ábra: A kiejert cefreminták alkoholtartalma



4.3. Párlatvizsgálatok

4.3.1 Párlatfrakciók mennyisége

A lepárlás során elkülönítettem a párlatfrakciókat (elő-, közép-, utópárlat), majd megmértem a térfogatukat. A kapott mennyiségi adatokat, valamint a középpárlat arányát a teljes párlatmennyiséghez viszonyítva („középpárlat-arány”) a 11. táblázatban szemléltetem:

11. táblázat: A keletkezett párlatfrakciók mennyisége

Bioregulátum	Mikroorganizmus	Előpárlat [ml]	Középpárlat [ml]	Utópárlat [ml]	Középpárlat-arány [%]
Uvaferm 228	<i>S. cerevisiae</i> (kontrollminta)	20	380	940	28,36
INITIA™	<i>S. cerevisiae-M. pulcherrima</i>	31	590	800	41,52
KHIO™	<i>S. cerevisiae-M. pulcherrima</i>	47	420	810	32,89
LAKTIA™	<i>S. cerevisiae-L. thermotolerans</i>	78	350	1020	24,17
LB-1	<i>S. cerevisiae-L. plantarum</i>	61	470	740	36,98
Sour Pitch™	<i>S. cerevisiae-L. plantarum</i>	27	480	780	37,30

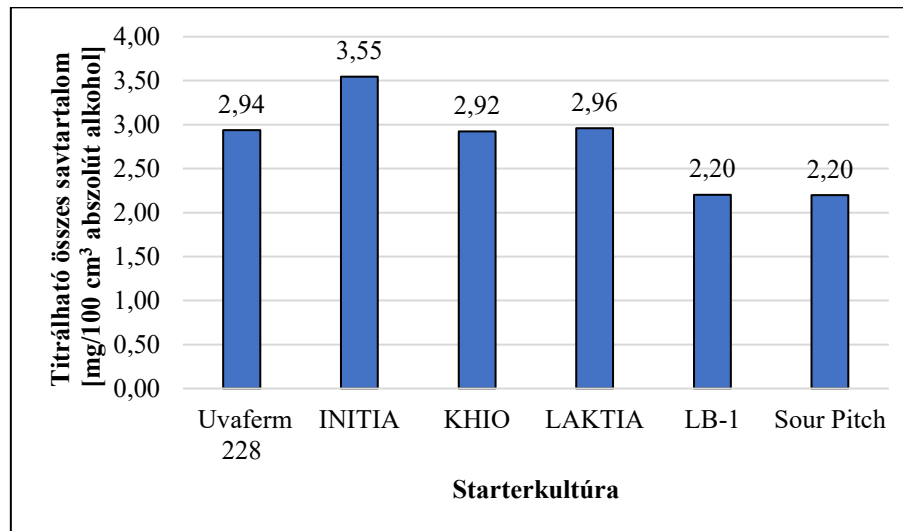
A legértékesebb párlatfrakció a középpárlat, mivel ez az emberi fogyasztásra szánt tényleges pálinka. Ebből adódóan célszerű, hogy a párlatunk minél nagyobb hányadát a középpárlat tegye ki, mivel a nagy mennyiségű elő- és utópárlat jelentős anyagi veszteséggel jár. Az eredmények alapján a legnagyobb középpárlat-arány a *S. cerevisiae-M. pulcherrima* (INITIA) párosítás esetében keletkezett. Hasonlóan nagy arányban keletkezett középpárlat a tejsavtermelő kultúrákat (LB-1, Sour Pitch) tartalmazó bioregulátumok esetében is. Összességében megállapítható, hogy – egy kivétellel – a kevert kultúrák erjesztések növelték a középpárlat arányát a párlatban a kontrollmintához képest. A legkisebb középpárlat-arány, valamint a legnagyobb mennyiségű elő- és utópárlat a *S. cerevisiae-L. thermotolerans* (LAKTIA) esetében keletkezett.

4.3.2 A középpárlatok titrálható összes savtartalma

A 14. ábra szemlélteti, hogy a mikroorganizmusok által termelt savak eltérő mennyiségben desztillálódtak át a középpárlatba. A legnagyobb savtartalma a *S. cerevisiae-M. pulcherrima* (INITIA) párosítás középpárlatának volt. Ez összefügghet azzal, hogy ennek a cefremintának viszonylag magas volt az ecetsav-koncentrációja (8. ábra), amely illékonyságának köszönhetően a párlatba is átkerülhetett. A *S. cerevisiae*, *S. cerevisiae-M. pulcherrima* (KHIO) és *S. cerevisiae-L. thermotolerans* (LAKTIA) bioregulátumok középpárlatának savtartalma közel azonos értéket mutatott. A legalacsonyabb savtartalmat a tejsavbaktérium törzsek (LB-1,

Sour Pitch) alkalmazása esetén mértem. Ennek oka feltehetően az, hogy az általuk termelt nagy mennyiségű tejsav egy része észterre alakulhatott az alkoholos környezetben, ami csökkentette a minták savtartalmát.

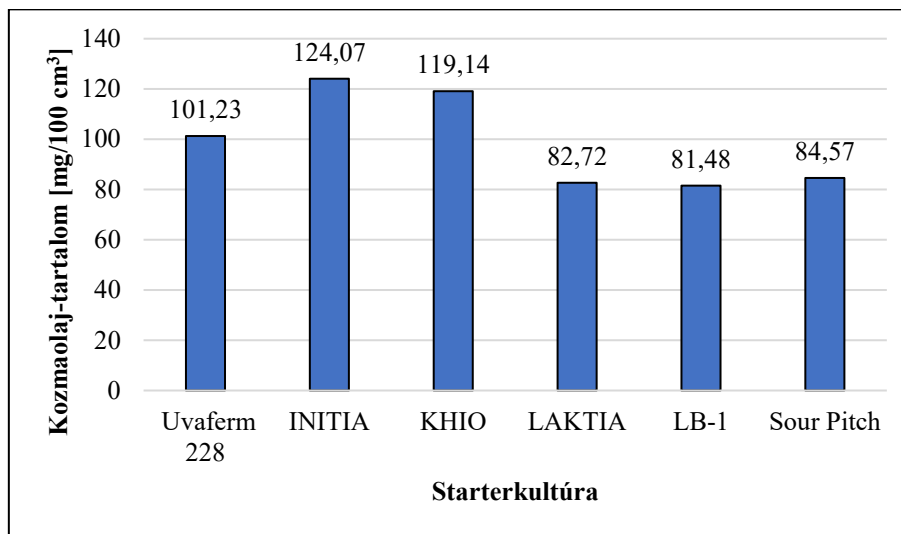
29. ábra: A középpárlatok titrálható összes savtartalma



4.3.3 A középpárlatok kozmaolaj-tartalma

A középpárlatok kozmaolaj-tartalma erősen függ attól, hogy az elő- és utópárlat milyen mértékben lett elválasztva. A továbbiakban a minták kozmaolaj-tartalmát azt feltételezve hasonlítom össze a 16. ábrán, hogy a párlatfrakciókat azonos hatékonysággal választottam szét. A kozmaolajok az élesztők anyagcseréjének másodlagos melléktermékei, amiből adódóan a tejsavbaktériumokat tartalmazó kevert kultúrák (LB-1, Sour Pitch) párlatai alacsonyabb kozmaolaj-tartalmat mutattak. A vizsgált élesztőpárok közül a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) kozmaolaj-termelése volt a legkisebb. A szakirodalomban korábban ismertettem, hogy a *M. pulcherrima*-*Saccharomyces* kevert kultúrák fokozott kozmaolaj-termelése várható (Morata és mtsai., 2019). Ezt a tényt a saját mérési eredményeim is alátámasztják, mivel a legmagasabb kozmaolaj-tartalmat a *S. cerevisiae*-*M. pulcherrima* (INITIA, KHIO) bioregulátumok párlatának esetében mértem.

15. ábra: A középpárlatok kozmaolaj-tartalma



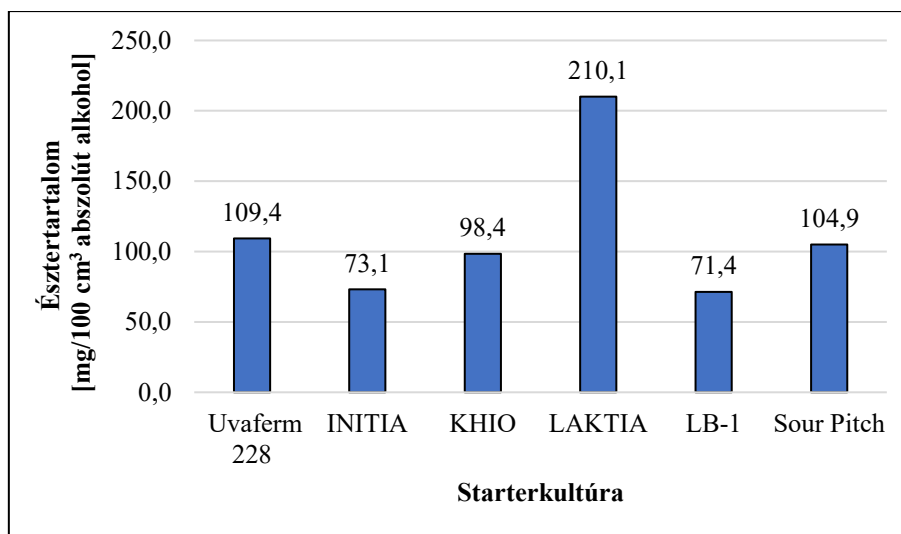
4.3.4 A középpárlatok észtertartalma

Az erjedés során képződött etanol egyrésze a cefrében jelenlévő savakkal észtereket képez, amelyek meghatározó komponensek az aroma kialakításánál, bár nagy mennyiségben negatív hatásúak (Panyik, 2017). A könnyebb összehasonlíthatóság érdekében a párlatok észtertartalmát etil-acetát egyenértékben határoztam meg, a vizsgálat eredményét a 15. ábra szemlélteti. A szakirodalmi források szerint az etil-acetát alacsony koncentrációban (legfeljebb 50 mg/l) kellemes és hozzájárul az általános komplex illathoz, viszont 150 mg/l felett már savanyú, ecetes, kellemetlen szagot ad (Kállay, 2014). Az etil-acetát eredhet helytelen cefrézésből, ecetsavbaktériumos fertőzöttség esetén vagy az előpárlati frakció helytelen elválasztásából. A következőt azonban fontos figyelembe venni: annak ellenére, hogy az észtertartalmat etil-acetátban kifejezve adjuk meg, nem kizárólag ezt a komponenst mérjük. A vizsgálati módszer nem teszi lehetővé az egyes észterek közötti szelektív meghatározást, tehát az eredmény valójában összesített észtertartalomra vonatkozik.

Kiugróan magas észtertartalmat mértem a *S. cerevisiae-L. thermotolerans* (LAKTIA) készítménnyel beoltott minta középpárlatában. A kiugró eredmény esetleg magyarázható azzal, hogy a párlatfrakciók érzékszervi elválasztása során az előpárlat elkülönítését nem megfelelően végeztem. Emellett ennek a minta kiejert cefréjének volt a legmagasabb titrálható összes savtartalma (7. ábra), illetve alkoholtartalma is (13. ábra), ami hozzájárulhatott az intenzív észterképződéshez. Összességében megállapítható, hogy a kevert kultúrákkal végzett erjesztések alacsonyabb észterképződést eredményeztek a savkiegészített mintánál. A legkisebb észtertartalmat a *S. cerevisiae-L. plantarum* (LB-1) bioregulátum középpárlatában

mértem. Érdekes, hogy ennek a cefremintának a titrálható összes savtartalma kiemelkedően magas volt, a párlat észtertartalma azonban alacsony maradt.

16. ábra: A középpárlatok észtertartalmának etil-acetátban kifejezett értéke



4.3.5 A gázkromatográfiás vizsgálat eredménye

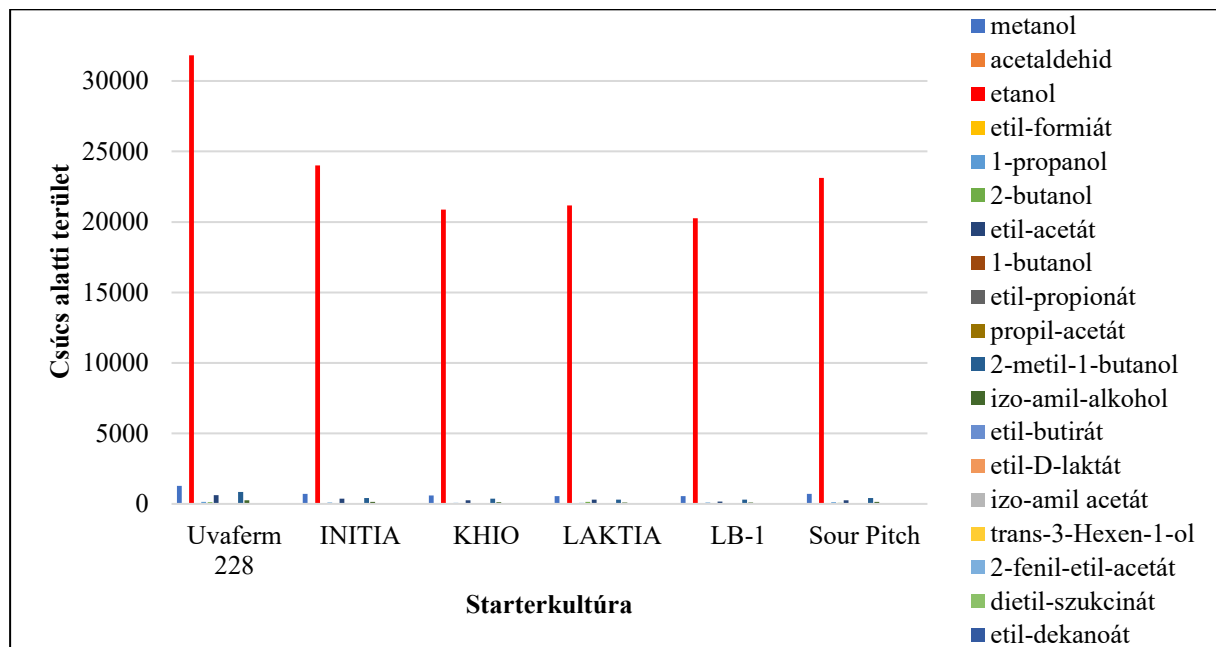
A középpárlatok illó komponenseinek minőségi meghatározását gázkromatográfiával végeztem. A 17. ábrán látható, hogy összesen 19 különböző vegyületet detektáltam a párlatokban.

A középpárlatok etanoltartalma messze meghaladta az egyéb alkoholok mennyiségét, ezért az értékelés megkönnyítése érdekében az alkoholokat az etanol elhagyásával ábrázoltam (18. ábra). Az etanol után minden minta esetében a metanoltartalom volt a legmagasabb, amelyet a 2-metil-1-butanol (szarvasgomba jellemző illata) és az izoamil-alkohol (banános, zöldalmás jelleg) követett. A középpárlatok ezen kívül tartalmaztak 1-propanolt, 2-butanolt és 1-butanolt is. Acetaldehidet kizárólag a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) középpárlatában detektáltam, de csak elenyésző mennyiségben.

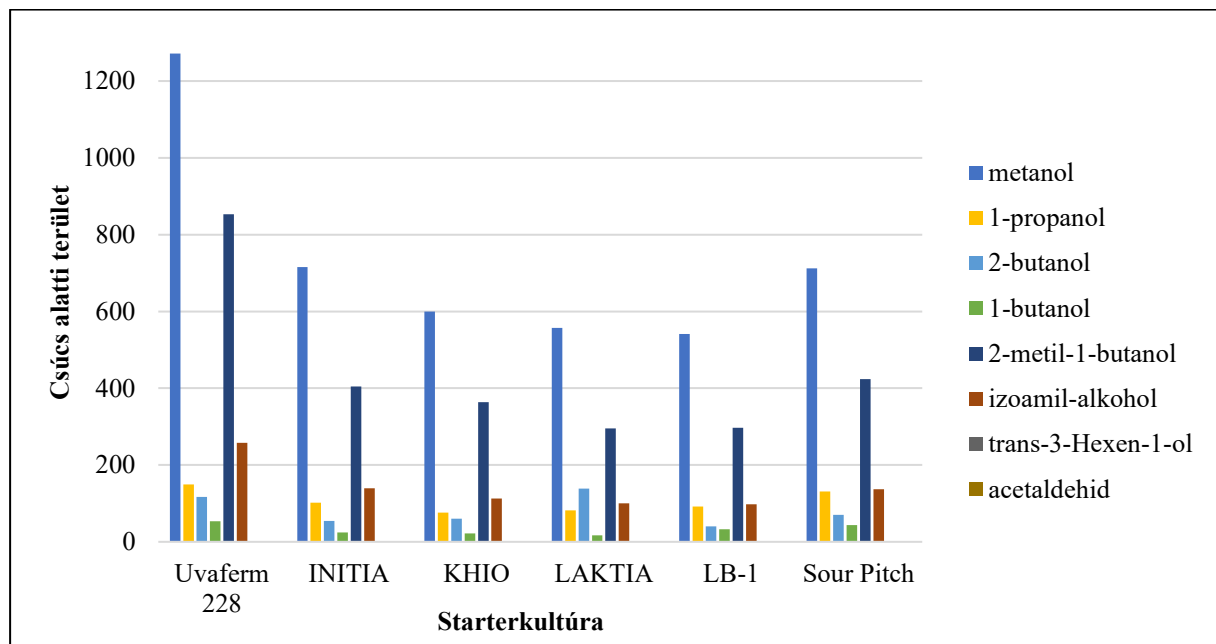
A középpárlatokban legnagyobb mennyiségben előforduló észter az etil-acetát volt, amelyet az értékelés megkönnyítése érdekében figyelmen kívül hagytam az ábrázolásnál (19. ábra). A kontrollminta (Uvaferm 228) észtertartalmának kimagasló hányadát a banános, zöldalma jellegű izoamil-acetát tette ki. Ezt a gyümölcsös vegyületet a kevert kultúrák erjesztések közül csak a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) párlatában detektáltam, azonban ott is csak elenyésző mennyiségben. A propil-acetát egy körte illatú észter, amelyet a *S. cerevisiae*-*M. pulcherrima* (INITIA) párosításon kívül az összes párlat tartalmazott. A legnagyobb mennyiségben a *L. thermotolerans* (LAKTIA), *L. plantarum* (LB-1) és *M. pulcherrima* (KHIO)

tartalmú kevert kultúrák párlata tartalmazta. A *S. cerevisiae*-*M. pulcherrima* (INITIA) és *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (Sour Pitch) párosítás párlata az etil-acetáton kívül csekély mennyiségű egyéb észtert tartalmazott, ami kevésbé gazdag ízvilágot feltételez.

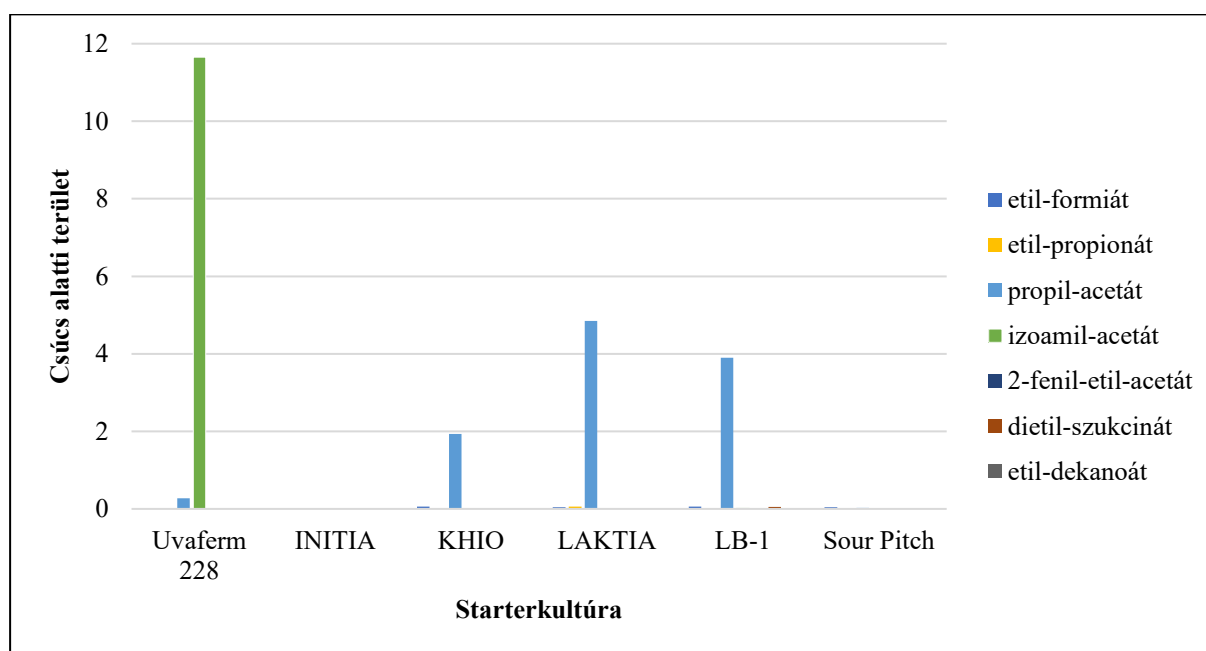
30. ábra: A középpárlatokban detektált összes vegyület mennyiségi aránya



31. ábra: A középpárlatokban detektált alkoholok mennyiségi aránya (etanol nélkül)



32. ábra: A középpárlatokban detektált észterek mennyiségi aránya (etil-acetát nélkül)



4.3.6 Az érzékszervi vizsgálat eredménye

A bírálók által adott pontszámokat az egyes érzékszervi kategóriák szerint összesítettem, majd az így kapott összpontszámok alapján rangsoroltam a pálinkákat a 12. táblázatban feltüntetett módon. Ezt követően a bírálati eredményeket leíró statisztikai módszerekkel értékeltem (átlag, medián, szórás), amelyet a 13. táblázatban szemléltetek.

12. táblázat: A bírálók által adott pontszámok

Sorrend	Pálinka	Illat-tisztaság [max. 15 p]	Illat-karakter [max. 25 p]	Íz-tisztaság [max. 15 p]	Íz-karakter [max. 25 p]	Harmónia, tartósság [max. 20 p]	Össz-pontszám [max. 100 p]
1. hely	Uvaferm 228	15	23	14	21	15	88
2. hely	LAKTIA	13	20	12	18	13	76
3. hely	INITIA	12	17	13	17	13	72
4. hely	KHIO	12	18	10	17	13	70
5. hely	Sour Pitch	12	19	11	13	11	66
6. hely	LB-1	11	17	10	13	11	62

13. táblázat: A bírálati szempontok statisztikai elemzése

Jellemző	Átlag	Medián	Szórás
Illattisztaság	12,5	12,0	1,38
Illatkarakter	19,0	18,5	2,28
Íztisztaság	11,7	11,5	1,63
Ízkarakter	16,5	17,0	3,08
Harmónia, tartósság	12,7	13,0	1,51
Összpontszám	72,3	71,0	9,07

Az illattisztaság a párlatok illatában megmutatkozó kifogástalan technológiai feldolgozást jelenti. A kategória átlagpontszáma 12,5; a mediánja 12,0, míg a szórása 1,38 volt, ami viszonylag kis eltérést jelez a minták között. Ez azt jelenti, hogy a párlatok illattisztasága általánosan jónak értékelhető, és a minták illatában nem, vagy csak enyhe mértékben volt észlelhető technológiai hiba. Az illatkarakter esetében a 2,28-as szórás már nagyobb változatosságot mutat, ami arra utal, hogy a különböző törzsek eltérő illatjegyek kialakulását eredményezték. Ugyanakkor a 19 pontos átlag azt mutatja, hogy a minták illatprofilját összességében kedvezően ítélték meg a bírálók.

Az íztisztaság (átlag 11,7; medián 11,5; szórás 1,63) és az ízkarakter (átlag 16,5; medián 17,0; szórás 3,08) esetében a szórásértékek valamivel magasabbak, mint az illatszempontok esetében, ami arra utal, hogy a törzsek jelentősebb hatást gyakoroltak az ízvilágra. A tiszta ízű pálinka hibátlan, aromatikusan és gyümölcsös. A pálinkák fő jellemzője az ízkarakter, amely a felhasznált alapanyagból származó ízsajátosságokat (fajtajelleg, íztartósság) jelenti, az alapanyaghoz viszonyított intenzitás függvényében. A harmónia és a tartósság értékei (átlag 12,7; medián 13,0; szórás 1,51) közepesen tértek el, tehát a párlatok összehatása eltérő benyomást keltett a bírálóknál.

Az összpontszám átlaga 72,3; a mediánja 71,0; a szórása pedig 9,07; ami azt mutatja, hogy a bírálói szempontokat összevetve a pálinkák érzékszervi tulajdonságaiban egyértelmű eltérések mutatkoztak. A legmagasabb értéket a *S. cerevisiae* (Uvaferm 228) fajlesztővel erjesztett minta érte el (88 pont), amely minden kategóriában jóval az átlag felett teljesített. Kijelenthető tehát, hogy ez a törzs eredményezte a legkiegyensúlyozottabb és legkomplexebb érzékszervi profilt a választott mikroorganizmusok közül. Egy bíráló az alábbi megjegyzést fűzte ehhez a párlathoz: „Tiszta, kissé citrusos, könnyed illat. Ízében kerek, visszafogott, rövid lecsengésű, de egyébként kellemes.”

A rangsorban ezután az élesztős kevert kultúrák párlatai következtek, amelyek közül a *S. cerevisiae-L. thermotolerans* (LAKTIA) teljesített a legjobban. Az egyik bíráló így jellemezte ezt a párlatot: „Illatában enyhén szúrós, de mögötte előjön az alma karaktere. Ízében fűszeres, kesernyés, hosszú lecsengésű.” A *S. cerevisiae- M. pulcherrima* (INITIA, KHIO) bioregulátumok párlatai közel egyenlő pontszámot értek el, ugyanakkor az INITIA párlatának íztisztaságát kissé kedvezőbben ítélték meg a bírálók.

A rangsor utolsó két helyén a tejsavbaktériumokat alkalmazó kevert kultúrák párlatai helyezkedtek el. A *S. cerevisiae-L. plantarum* (Sour Pitch) párlatát üde, friss, kissé semleges illattal és fanyar, utópárlatos ízzel jellemezték a bírálók. A legalacsonyabb összpontszámot a *S. cerevisiae-L. plantarum* (LB-1) párlata kapta, amelyhez kissé üres, jellegtelen illatot és ízt

társítottak a bírálók. Összevetve az érzékszervi bírálat eredményeit, a kevert kultúras erjesztéssel nyert párlatok megítélése kedvezőtlenebb volt a hagyományos savkiegészítésű pálinkánál.

5. Következtetések és javaslatok

A cefre- és párlatvizsgálatok eredményei alapján az alábbi következtetésekre jutottam:

1. Az egyik legfontosabb szempontot, a pH-csökkenést vizsgálva, az alkalmazott kevert kultúrák közül csak a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) és *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) párosítások tudták a cefre pH-értékét 3,5 alá csökkenteni. Kizárólag ez a két bioregulátum mutatott nagyobb savtermelést, mint az önállóan alkalmazott *S. cerevisiae* (Uvaferm 228).
2. A savösszetételt tekintve a kevert kultúrák minden esetben magasabb tejsavtermelést mutattak, mint a *S. cerevisiae* (Uvaferm 228). A legintenzívebb tejsavképződést a *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) párosítás esetében tapasztaltam.
3. A kevert kultúrák erjesztései során több illósav keletkezett, mint a tiszta *S. cerevisiae* (Uvaferm 228) kultúra alkalmazása esetén, ugyanakkor ez az érték minden esetben a megengedett 0,5 g/l határérték alatt maradt – még azok a kevert kultúrák esetében is, amelyek nem tudták a cefre pH-értékét 3,5 alá csökkenteni. Emellett a HPLC-vizsgálat eredményei szintén azt mutatták, hogy az ecetsav mennyisége minden mintában az említett határérték alatt volt. Ez azt igazolja, hogy a cefrék mikrobiológiai stabilitása megfelelő volt, valamint sikerült elkerülni az ecetsavbaktériumos fertőzést és az oxidációt.
4. A kevert kultúrák erjesztései minden esetben alacsonyabb észterképződést eredményeztek, mint a tiszta *S. cerevisiae* (Uvaferm 228) kultúra.
5. A kevert kultúrák erjesztéssel nyert párlatok megítélése összességében kedvezőtlenebb volt a hagyományos savkiegészítéssel előállított párlánál. A kevert kultúrák közül a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) párlata bizonyult a legkedveltebbnek. A tejsavbaktériumos erjesztések (LB-1, Sour Pitch) párlatai ugyan technológiailag hibátlannak tekinthetők, de aromaprofiljuk kevésbé intenzív és karakter nélküli volt.

Összességében a kísérletek igazolták, hogy a megfelelő mikroorganizmus-párosítás alkalmazásával a kevert kultúrák erjesztés hatékony alternatívát nyújthat a hagyományos savkiegészítésre. Ugyanakkor az így előállított párlatok aromaprofilja kevésbé karakteres és fogyasztói megítélésük kedvezőtlenebb.

6. Összefoglalás

A szakszerűen, megfelelő technológiával készített pálinka igen értékes, aromaanyagokban gazdag, jóízű ital. A minőségrontó tényezők azonban az összetett gyártási folyamat valamennyi fázisában előfordulhatnak. Ilyen kritikus technológiai lépésnek számít a cefrézés, mivel a gyümölcscefre romlását számos nem kívánatos mikroorganizmus idézheti elő. Ennek megelőzésére szolgál a cefre pH-értékének 3,5 alá csökkentése, amit hagyományosan szerves savak adagolásával érnek el. Az utóbbi években a borászatban elterjedt a savadagolás nélküli, irányított, kevert kultúras erjesztéssel megvalósított mikrobiológiai savvédelem. Mindezek alapján szakdolgozatom célja a gyümölcspárlat-előállítás során még kevésbé elterjedt mikrobiológiai savvédelem gyümölcscefrére gyakorolt hatásának vizsgálata. Ennek érdekében kiválasztottam három olyan nem-*Saccharomyces* fajlesztőt és két tejsavbaktérium-törzset, amelyek a *Saccharomyces cerevisiae*-vel együtt alkalmazva potenciálisan képesek természetesen növelni a cefre savtartalmát.

Az erjesztést megelőzően megvizsgáltam a választott mikroorganizmusok szénhidrát-hasznosítását, alkoholtűrő képességét és egymásra kifejtett kölcsönhatását. Ezt követően almából cefrét készítettem, amelyet hat egyenlő részre osztottam el. A hat cefremintából egynél hagyományos savkiegészítést és *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztőt alkalmaztam. Öt mintánál kevert kultúras erjesztést valósítottam meg, szekventált beoltással. A cefremintákból a 18 nap alatt lezajló erjesztés során minden lehetséges napon mintát vettem. Végül a kierjedt cefrét lepároltam, miközben érzékszervileg elválasztottam az elő-, közép- és utópárlatot, majd megmértem a keletkezett párlatfrakciók mennyiségét.

Az erjedés nyomon követése érdekében megmértem a cefreminták pH-értékét, refrakcióját, titrálható összes savtartalmát, redukáló cukortartalmát, szerves sav- és szénhidrátösszetételét HPLC-vizsgálattal, valamint a kierjedt cefre illósav- és alkoholtartalmát. Ezután meghatároztam a hat középpárlat titrálható összes savtartalmát, kozmaolaj- és észtertartalmát, majd gázkromatográfiás vizsgálatot is elvégeztem rajtuk. A kutatómunkámat a középpárlatok érzékszervi bírálatával fejeztem be.

A fiziológiai vizsgálatok esetén megállapítottam, hogy a gyümölcsre jellemző cukrok közül a glükózt és a fruktózt az összes mikroorganizmus jól hasznosította, a szacharózt pedig a *M. pulcherrima* (KHIO) és a *L. plantarum* (LB-1, Sour Pitch) törzsek nagy mértékben, a többi közepes mértékben tudta felvenni. Az alkoholtolerancia vizsgálat azt mutatta, hogy a legerősebb alkoholtűrő képessége a *M. pulcherrima* (INITIA) és a *L. thermotolerans*

(LAKTIA) törzseknek volt, mivel 12%-os alkoholkoncentrációban is szaporodni tudtak. A kölcsönhatás vizsgálat során nem tapasztaltam antagonista hatást.

Az egyik legfontosabb szempontot, a pH-csökkenést vizsgálva, az általam alkalmazott bioregulátumok közül csak a *S. cerevisiae*-*L. thermotolerans* (LAKTIA) és *S. cerevisiae*-*L. plantarum* (LB-1) kevert kultúrák tudták a cefre pH-értékét 3,5 alá csökkenteni. A kevert kultúrák minden esetben nagyobb tejsav- és illósavképződéssel jártak a tiszta *S. cerevisiae* (Uvaferm 228) kultúrához képest, ugyanakkor a kiejedt cefreminták illósavtartalma minden esetben a megengedett 0,5 g/l határérték alatt maradt, ami a cefre mikrobiológiai stabilitására utal. A kevert kultúrák erjesztések kisebb észterképződést eredményeztek, így az ilyen módon előállított párlatok aromája kevésbé karakteres és fogyasztó megítélésük is kedvezőtlenebb volt.

Összességében a kevert kultúrák erjesztés a megfelelő mikroorganizmusok párosításával hatékony alternatívát jelenthet a hagyományos savvédelemre, ugyanakkor kevésbé komplex aromaprofil kialakítására alkalmas a gyümölcs párlatoknál.

7. Irodalomjegyzék

1. *Az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2019/787 rendelete* (2019). Letöltés dátuma: 2025. 11. 03. Forrás: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX:32019R0787>.
2. Békési, Z. és Pándi, F. (2005): *Pálinkafőzés*. Ötödik kiadás. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
3. Bikfalvi, I. (1980): A kozmaolaj-tartalom meghatározás. In: Ujszászi J. és Sólyom L.: *Szeszesital-ipari vizsgálati módszerek*. Budapest: Mezőgazdasági Könyvkiadó, o. 99–103.
4. Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I. és Domizio, P. (2010): Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non- *Saccharomyces* yeasts in winemaking, *FEMS Yeast Research*, 10(2), o. 123–133. Letöltés dátuma: 2024. 12. 01. DOI: [10.1111/j.1567-1364.2009.00579.x](https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00579.x).
5. Csapó J., Albert C. és Kiss D. (2020): *Analitikai kémia élelmiszermérnököknek*. 2. átdolgozott, bővített kiadás. Kolozsvár: Scientia.
6. Fejzullahu, F. (2024): *Controlled fermentation strategies to enhance the aroma profile of fruit spirits*. Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem. Letöltés dátuma: 2025. 07. 17. DOI: [10.54598/005180](https://doi.org/10.54598/005180).
7. Hirst, M.B. és Richter, C.L. (2016): Review of Aroma Formation through Metabolic Pathways of *Saccharomyces cerevisiae* in Beverage Fermentations, *American Journal of Enology and Viticulture*, 67(4), o. 361–370. Letöltés dátuma: 2025. 07. 27. DOI: [10.5344/ajev.2016.15098](https://doi.org/10.5344/ajev.2016.15098).
8. Inge, R. (2003): Understanding yeast fundamentals. In *The Alcohol Textbook*. Nottingham University Press, o. 85–119.
9. Internet 1. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27.
Forrás: https://www.kokoferm.hu/resources/docs/2_Lallzyme_HC_p.pdf.
10. Internet 2. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27.
Forrás: <https://bi-bor.hu/documents/20210304085516-7-Uvavital-sz.pdf>.
11. Internet 3. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27.
Forrás: https://www.kokoferm.hu/resources/docs/61_UVAFERM_228_2021.pdf.
12. Internet 4. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27.
Forrás: https://www.kokoferm.hu/resources/docs/INITIA_magyar_20220111.pdf.
13. Internet 5. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27.
Forrás: https://laffort.com/wp-content/uploads/FP/FP_EN_Zymaflore_Khio.pdf.
14. Internet 6. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27.
Forrás: https://www.kokoferm.hu/resources/docs/55_Laktia_adatlap.pdf.

15. Internet 7. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27. Forrás:
https://www.gusmerenterprises.com/wp-content/uploads/2019/11/PI_GLOB_HarvestLB-1_718316_EN.pdf.
16. Internet 8. Letöltés dátuma: 2025. 10. 27. Forrás:
https://admin.lallemandbrewing.com/wp-content/uploads/2023/05/TDS_Wildbrew_Sour-pitch_ENG_A4-4.pdf.
17. Kállay, M. (2014): *Borászati kémia*. Budapest: Mezőgazda Lap- és Könyvkiadó.
18. Maicas, S. (2020): The Role of Yeasts in Fermentation Processes, *Microorganisms*, 8(8), o. 1142. Letöltés dátuma: 2025. 07. 27. [DOI: 10.3390/microorganisms8081142](https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142).
19. Morata, A., Loira, I., Escott, C., del Fresno, J.M., Bañuelos, M.A. és Suárez-Lepe, J.A. (2019): Applications of *Metschnikowia pulcherrima* in Wine Biotechnology, *Fermentation*, 5(3), o. 63. Letöltés dátuma: 2025. 09. 25. [DOI: 10.3390/fermentation5030063](https://doi.org/10.3390/fermentation5030063).
20. Padilla, B., José V., G. és Paloma, M. (2025) (PDF): Past and Future of Non-Saccharomyces Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity, *ResearchGate* [Preprint]. Letöltés dátuma: 2025. 10. 02. [DOI: 10.3389/fmicb.2016.00411](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00411).
21. *Pálinkatörvény* (2008). Letöltés dátuma: 2025. 11. 03. Forrás:
<https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0800073.tv>.
22. Pándi, F. (1980): Az észtertartalom meghatározása. In: Ujszászi J. és Sólyom L.: *Szeszesital-ipari vizsgálati módszerek*. Budapest: Mezőgazdasági Könyvkiadó, o. 92–94.
23. Panyik, G. (2006): *Minőségi párlatkészítés: A minőségi párlatkészítés technológiája, a párlatok, pálinkák minősítésének elsajátítása*. Budapest: Budapest Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kara - Mezőgazda Kiadó.
24. Panyik, G. (2017): *Pálinkafőzés: Ágyas pálinka és likőr készítése*. Budapest: Cser Kiadó.
25. Payan, C., Gancel, A.-L., Jourdes, M., Christmann, M. és Teissedre, P.-L. (2023): Wine acidification methods: a review, *OENO One*, 57(3), o. 113–126. Letöltés dátuma: 2025. 11. 03. [DOI: 10.20870/oenone.2023.57.3.7476](https://doi.org/10.20870/oenone.2023.57.3.7476).
26. Reiner, K. (2012): Carbohydrate Fermentation Protocol. American Society for Microbiology.
27. Tóth, M. (2016): *Gyümölcsfajták pálinkafőzésre*. Budapest: Szent István Egyetem.
28. Vargha, G. (1980): A savtartalom meghatározása. In: Ujszászi J. és Sólyom L.: *Szeszesital-ipari vizsgálati módszerek*. Budapest: Mezőgazdasági Könyvkiadó, o. 82–89.
29. Vilela, A. (2019): Use of Nonconventional Yeasts for Modulating Wine Acidity, *Fermentation*, 5(1), o. 27. Letöltés dátuma: 2025. 09. 25. [DOI: 10.3390/fermentation5010027](https://doi.org/10.3390/fermentation5010027).

30. Walker, G.M. és Stewart, G.G. (2016): *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages, *Beverages*, 2(4), o. 30. Letöltés dátuma: 2025. 07. 27. [DOI: 10.3390/beverages2040030](https://doi.org/10.3390/beverages2040030).

8. Ábrák és táblázatok jegyzéke

8.1. Ábrajegyzék

1. ábra: A feldolgozás és cefrézés technológiai lépései	6
2. ábra: A spontán és az irányított erjesztés fő különbségei	10
3. ábra: A vizsgálati elrendezés	23
4. ábra: A <i>L. thermotolerans</i> (LAKTIA) szénhidrát-hasznosítása.....	35
5. ábra: A <i>L. thermotolerans</i> (LAKTIA) alkoholtűrő képessége.....	36
6. ábra: A cefreminták pH-értékének változása erjedés során	37
7. ábra: A titrálható összes savtartalom változása erjedés során	38
8. ábra: A vizsgált szerves savak koncentrációja erjedés során.....	39
9. ábra: A szárazanyag-tartalom változása erjedés során.....	40
10. ábra: A redukáló cukortartalom változása erjedés során	41
11. ábra: A vizsgált szénhidrátok koncentrációjának változása erjedés során.....	42
12. ábra: A kiejedt cefreminták illósavtartalmának ecetsavban kifejezett értéke.....	43
13. ábra: A kiejedt cefreminták alkoholtartalma	44
14. ábra: A középpárlatok titrálható összes savtartalma	46
15. ábra: A középpárlatok kozmaolaj-tartalma	47
16. ábra: A középpárlatok észtertartalmának etil-acetátban kifejezett értéke.....	48
17. ábra: A középpárlatokban detektált összes vegyület mennyiségi aránya	49
18. ábra: A középpárlatokban detektált alkoholok mennyiségi aránya (etanol nélkül).....	49
19. ábra: A középpárlatokban detektált észterek mennyiségi aránya (etil-acetát nélkül).....	50

8.2. Táblázatok jegyzéke

1. táblázat: A cefre savvédelmének szempontjából legfontosabb mikroorganizmusok.....	8
2. táblázat: A <i>S. cerevisiae</i> jelentős másodlagos anyagcseretermékei.....	12
3. táblázat: Az élesztőtörzsek számára készített YEPD tápközegek összetétele	21
4. táblázat: A tejsavbaktériumok számára készített MRS tápközegek összetétele.....	22
5. táblázat: A cefrék erjesztéséhez alkalmazott bioregulátumok és adalékanyagok.....	25
6. táblázat: Az édes, az erjedő és a kiejedt cefre vizsgált paraméterei.....	26
7. táblázat: A párlatok vizsgált paraméterei	30
8. táblázat: A szénhidráthatasznosítás-vizsgálat eredménye	34

9. táblázat: Az alkoholtolerancia-vizsgálat eredménye	35
10. táblázat: A kiejedt cefrék pH-értéke és a savtartalom változása	38
11. táblázat: A keletkezett párlatfrakciók mennyisége	45
12. táblázat: A bírálók által adott pontszámok	50
13. táblázat: A bírálati szempontok statisztikai elemzése	50

9. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Kun Szilárd egyetemi docensnek, a sok segítséget és szakmai irányítást, amelyek lehetővé tették a szakdolgozatom elkészítését.

Emellett köszönettel tartozom édesanyámnak, édesapámnak, nagymamámnak, nagypapámnak, valamint Hannusnak és Kincsőnek, akik az egyetemi tanulmányaim során végig mellettem álltak és támogattak a nehéz időszakokban is.

NYILATKOZAT

szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Bartis Hajnalka
A Hallgató Neptun kódja: JIZO5L
A dolgozat címe: Gyümölcscefre védelmének megvalósítása bioreguláció útján
a gyümölcsparlat-előállítás során
A megjelenés éve: 2025.
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem. Továbbá kijelentem, hogy a dolgozat elkészítése során alkalmazott mesterséges intelligencia-eszközök (pl. szöveggenerálás, nyelvi javítás, fordítás, adatelemzés) használata nem helyettesítette a saját kutatási és alkotói munkámat, azok alkalmazását a források között vagy a módszertani részben feltüntettem, és a szakmai-etikai elvárásoknak megfelelően jártam el.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Budapest, 2025. november 03.


Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Bartis Hajnalka (hallgató Neptun azonosítója: JIZO5L) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: Budapest, 2025. november 03.



Dr. Kun Szilárd
belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendó.

² A megfelelő aláhúzendó.

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Bartis Hajnalka
Neptun-kódja:	JIZO5L
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	<input checked="" type="checkbox"/> BSc/BA <input type="checkbox"/> MSc/MA <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	Szakdolgozat
A munka címe:	Gyümölcscefre védelmének megvalósítása bioreguláció útján a gyümölcspárlat-előállítás során.

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)

B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Kérjük, töltsse ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrektúra, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)
Szakirodalom keresése, fordítás, nyelvi korrektúra.	ChatGPT 5.0	Elsősorban a szakirodalmi áttekintés.

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka **mellékletében való csatolása szükséges.**)

A felhasználás célja	Alkalmazott eszköz verziója, elérhetősége	MI-neve, Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:

Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok:

.....

.....

.....

.....

4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: Budapest, 2025. november 03.

.....
Bartis Hajnal

Hallgató aláírása

.....
Lena Szilard

Konzulens/Témavezető aláírása