



EESTI MAAÜLIKOOL
Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut
Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool

Sven Sören Taimalu

**KALJA VALMISTAMISEL KÄÄRIMIS-
HAPENDAMISPROTSESSIDE PARAMEETRITE
JÄLGIMINE**

DETERMINATION OF FERMENTATION-ACIDIFICATION
PARAMETERS IN KVASS

Bakalaureusetöö
Toiduainete tehnoloogia õppekava

Juhendaja: Lektor Anna Pisponen, *PhD*

Tartu 2022

LÜHIKOKKUVÕTE

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Bakalaureusetöö lühikokkuvõte	
Autor: Sven Sören Taimalu		Õppekava: Toiduainete tehnoloogia	
Pealkiri: Kalja valmistamisel käärimis-hapendamisprotsesside parameetrite jälgimine			
Lehekülgi: 42	Jooniseid: 9	Tabeleid: 2	Lisaid: 1
Osakond: Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool Uurimisvaldkond: Toiduteadused Toiduainete ja jookide tehnoloogia T430 Juhendaja(d): lektor Anna Pisonen, <i>PhD</i> Kaitsmiskoht ja aasta: Tartu, 2022			
<p>Kali on enamasti pärmi toimetel kääritatud jook, kuid varasemalt kasutati protsessis ka piimhappebaktereid (LAB). Käesoleva töö eesmärk on selgitada välja, kuidas piimhappebakterid mõjutavad nii üksi kui ka koos pärmiga kaljavirde käärimist 16 tunni käärimise jooksul. Töös tehti selgeks üldine kalja tootmistehnoloogia ning võimalused tootmiseks. Vaadeldi teiste autorite tulemusi seoses kalja või pärmide/piimhappebakterite uurimisega. Valiti LAB-kultuurid: Nordwise <i>Lactobacillus plantarum</i> TAK69, Wildbrew Sour Pitch <i>L. plantarum</i>, Wildbrew Helveticus Pitch <i>L. helveticus</i>. Töös leiti, et happeliseim oli Sour Pitch, järgnes Helveticus Pitch ning viimaseks Nordwise. Koos pärmiga käärimisel oli suurim happesus (g/L sidrunhapet) enamasti 80/20 vahekorras LAB-pärm käärimisega ning enim sidrunhapet leidis Sour Pitchiga (2,84 g/L), veidi vähem Helveticus Pitch-iga (2,24 g/L) ning Nordwise puhul oli suurim happesus 50/50 puhul, 80/20 happesus sel puhul 1,45 g/L. 50/50 vahekorraga oli madalaim suhkrusisaldus, kuid võrreldes 80/20 vahekorraga Sour Pitch ja Helveticus Pitch puhul veidi kõrgem pH ja madalam sidrunhappe sisaldus: Sour Pitch 2,58 g/L; Helveticus Pitch 2,09 g/L; Nordwise 1,62 g/L. 100% LAB-iga käärimisel suhkrusisalduse näitaja ei langenud, pH oli kõrgeim ja sidrunhappe sisaldus madalaim, välja arvatud Sour Pitchiga, kus pH oli</p>			

madalaim (3,57), kuid sidrunhappe sisaldus samuti madalaim (2,34 g/L). Poekalja pH-ga (3,45) võrreldes oli saadud kaljade pH kõrgem ning sidrunhappe sisaldus (poekaljal 1,15 g/L) samuti kõrgem. Tulemustest leidis, et kalja füüsikalise-keemilised näitajad olenevad enim kasutatavast LAB-kultuurist, väiksemal määral LAB-pärm vahekorra juhtumil kui kasutati nii pärmi kui LAB-i. Ainult LAB-i kasutades oli käärimise kiirus väga aeglane ning näitajad muutusid väiksemal määral, välja arvatud Sour Pitch. Edasised uuringud ja katsed piimhappebakteritega võimaldaksid leida optimaalsed LAB-kultuurid ning meetodid hapendatud kalja tootmiseks.

Märksõnad: Piimhappebakterid, pärm, Brix, sidrunhape, käärimine

ABSTRACT

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Abstract of Bachelor's Thesis	
Author: Sven Sören Taimalu		Specialty: Food technology	
Title: Determination of fermentation-acidification parameters in kvass			
Pages: 42	Figures: 9	Tables: 2	Appendixes: 1
Department: Chair of Food Science and Technology Field of research: Food Sciences, Food and drink technology T430 Supervisors: lecturer Anna Pisponen, <i>PhD</i> Place and date: Tartu, 2022			
<p>Kvass is a drink usually fermented with yeast but in the past lactic acid bacteria (LAB) have also been used. The purpose of this research is to monitor how LAB affect the fermentation process of kvass with or without the presence of yeast during 16 hours of fermentation. Technology and methods for kvass production were studied, along with prior research of kvass production and use of yeasts/LAB from authors. Three LAB-cultures were chosen: Nordwise <i>Lactobacillus plantarum</i> TAK69, Wildbrew Sour Pitch <i>L. plantarum</i> and Wildbrew Helveticus Pitch <i>L. helveticus</i>. In the study, Sour Pitch made for the most acidic kvass, followed by Helveticus Pitch and Nordwise was the least acidic. With the addition of yeast in fermentation, the greatest acidity (g/L citric acid) was found mostly with 80/20 proportion of LAB/yeast and the most citric acid was found with Sour Pitch (2,84 g/L), followed by Helveticus Pitch (2,24 g/L), for Nordwise, 50/50 had the highest acidity, 80/20 citric acid value was 1,45 g/L. The 50/50 proportion had the lowest sugar content but compared to 80/20, in the case of Sour Pitch and Helveticus Pitch, the pH was higher and acidity lower: Sour Pitch 2,58 g/L; Helveticus Pitch 2,09 g/L; Nordwise 1,62 g/L. In the case of 100% LAB fermentation, sugar content did not decrease, pH was the highest and acidity the lowest, except for Sour Pitch, which had the lowest pH (3,57) but also the lowest citric acid content (2,34 g/L). Compared to the pH of commercial kvass (3,45), kvass made in this research has higher pH and also higher citric acid content</p>			

(for commercial kvass 1,15 g/L). The results show, that physical-chemical indicators of kvass are most affected by the choice of LAB-cultures, less so by LAB-yeast proportions if yeast is used. When using only LAB, the speed of fermentation was slow and the indicators varied less, except for Sour Pitch. Further research and experiments with lactic acid bacteria could yield optimal LAB-cultures to use in production of acidified kvass.

Keywords: lactic acid bacteria, yeast, Brix, citric acid, fermentation

SISUKORD

LÜHIKOKKUVÕTE	2
ABSTRACT	4
SISSEJUHATUS	8
KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	9
1. Kalja päritolu, olemus	9
2. Kalja toiteväärtus	10
3. Kaljale esitatavad nõuded.....	10
4. Kalja tarbimine	11
5. Kalja tootmistehnoloogia.....	12
5.1. Kalja valmistamise tooraine.....	12
5.2. Kalja tootmine.....	13
6. Taari tootmistehnoloogia.....	16
7. Mikrobioloogilised protsessid kalja valmistamisel	16
7.1. Alkoholkäärimine	17
7.2. Piimhappeline käärimine	18
EKSPERIMENTAALNE OSA	20
8. Hüpotees ja eesmärgid.....	20
9. Materjal ja meetodika.....	20
10. Katsete tulemused ja arutelu.....	24
10.1 Kalja pH väärtused	25
10.2 Kalja suhkrusisaldus.....	26
10.3 Kalja happesus (g/L sidrunhapet).....	28
10.4 Kalja sensoorne hindamine	30
11 Järeldused	33
KOKKUVÕTE	35

KASUTATUD ALLIKAD	37
LISAD	41
Lisa 1. Sensorika leht hindajatele „Hapendatud kalja sensoorne hindamine“	42
Lisa 1 järg.	43
LIHTLITSENTS.....	44

SISSEJUHATUS

Tänapäeval on jookide turg maailma mastaabis ülimalt varieeruv ning uudse toote turule toomine on keeruline protsess. Suuremad korporatsioonid on poelettidel kindlalt esindatud olnud juba üle 100 aasta. Väiketootja puhul on turule pääsemine seetõttu raskendatud. Riikidesiseselt on veel jooke, mida ülemaailmselt ei ole populariseeritud ja on rahvusvaheliselt pigem nišitooted. Nendele keskendudes on väiketootjatel tihti võimalus nii rahvusvahelisel- kui ka siseturul konkureerida rohkem, kui tootes ülemaailmsetele brändidele sarnanevat toodet. Siia kategooriasse kuulub ka kali, mis on populaarne just Ida-Euroopa ning Venemaa toidulaudadel. Kalja tootmiseks on tarvis teada, kuidas seda on läbi aegade valmistatud ning sellele toetudes töötada välja optimaalne tootmistehnoloogia, samal ajal säilitades kaljale omane koostis ning organoleptilised omadused.

Kali on slaavlaste poolt loodud ajalooliselt oluline jook, mida tarbitakse Ida-Euroopas igapäevaselt tänaseni. Kalja kirjutatud ajalugu ulatub 10. sajandini, mil seda esmakordselt mainiti teoses „*Die Geschichten vergangener Jahr*“ (Hornsey I. S., 2012). Hornsey sõnul (2012) valmistati kalja paljudes peredes kuni 20. sajandini, mil igal perel oli oma retsept mida hoiti saladusena, lisaks toodeti kalja ka näiteks kloostrites ja ordudes. Kalja populaarsus tulenes tõenäoliselt selle odavusest ja koostisosade kättesaadavusest – piisas rukki- või odralinnasest, veest, pärmist ning suhkrust. (Ministry of Agriculture and Rural Development, 2018)

Eestis oli kali talurahva jook ning on tänapäevalgi populaarne karastusjook. Sõukand *et al.* (2015) sõnul oli varasemalt lisaks kaljale Eesti toidulaudadel ka taar, mis oli hapendatud talurahva jook. Taari koostiseks oli enamasti rukki- või odrajahu ja linnas, millele valatakse kuum vesi ning lastakse hapneda 2-3 päeva. (Sõukand *et al.* 2015) Alternatiivina kasutati linnase ja jahu asemel rukkist/odrast leiba (Eesti Entsüklopeedia, 1996).

Käesoleva bakalaureuse töö eesmärk on leida sobiv piimhappebakteri kultuur ning selle vahekord pärmiga kalja kääritamisel. Selle saavutamiseks jälgitakse pärmide ja erinevate piimhappebakteri kultuuridega kääritatud kalja pH, suhkrusisalduse ja happesuse (g/L sidrunhapet) muutusi 16-tunnise käärimise jooksul.

KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1. Kalja päritolu, olemus

Kali on tänapäeval Ida-Eurooplaste jaoks igapäevane ja tuttav toode ning seda osaliselt tänu kalja pikale ajaloole. I. S. Hornsey kirjutab oma raamatus „Õlle ja pruulimise ajalugu“ (2003), et kali on üks jookidest, mida peetakse õlle eelkäijateks ning on sarnane egiptlaste poolt toodetud õllega. Arvatakse, et kaljale sarnast jooki toodeti ka Babüloonias, kus kasutati väidetavalt otra või speltanisu, et valmistada kääritatud joogi tarvis leib. (Hornsey I. S., 2003)

Lars Marius Garshol kirjutab oma raamatus (2019), et Venemaal, kus kali on lisaks Ida-Euroopale väga populaarne, on alkoholisisalduse piir 1,2% ning on kaljavirde mittetäieliku alkoholi- ja piimhappelise käärimise produkt. Kaljavirre on koostatud jahust, linnastest või rukkileivast, kuid kasutusel on ka marjadest, peedist kui ka puuviljadest virded (Garshol, 2019). Kalja toodeti varasemalt väikestes kogustes Ida-Euroopa ja Venemaa elanike kodudes ning suuremad kogused valmistati näiteks haiglates, kloostrites kui ka sõjaväe laagrites (Garshol, 2019).

Eesti Õlletootjate Liidu poolt on 2016. aastal välja antud „Garanteeritud traditsioonilise toote registreerimistaotlus“, kus taheti Euroopa Liidu kvaliteedimärki omistada Eestis toodetele, mis on „linnastest ja linnastamata toorainest, rukki-, nisu- või muust teraviljast ja/või nende saadustest valmistatud kalja virde kääritamisel saadud mittealkohoolne jook alkoholisisaldusega alla 1,2 mahuprotsendi.“ (Vörk, 2016). Antud toodete maitse peab seehulgas olema magus-hapu ning maitse ja lõhn linnasene, leivane ja karamelline ning pärinema kasutatud toorainetest, see võib olla pastöriseeritud ning lisatud/käärimisprotsessist saadava süsihappegaasiga (Vörk, 2016). Lubatud on ka lisaaineid, mille hulka kuuluvad happed, antioksüdandid, säilitusained, toiduvärv, stabilisaatorid ja süsinikdioksiid ehk süsihappegaas (Vörk, 2016).

Lisaks traditsioonilisele kaljale on tänapäeval polettidel ka kaljamaitseelised karastusjoogid, mida Eestis võib kutsuda veel kaljaks. Kaljamaitseelise karastusjooi valmistamine on sarnane pigem limonaadidele, kus veele lisatakse kalja maitse- ja lõhnaaineid, suhkruisrupit/suhkruasendajaid ning süsihappegaasi. (Poikalainen & Lepasalu, 2011)

2. Kalja toiteväärtus

Kaljasorte on palju ning nende koostis ja toiteväärtus erinevad peamiselt vastavalt sellele, mis toorainet kasutatakse ning kuidas ja millega seda töödeldakse. Lätis läbi viidud uuringus analüüsisid Lidums *et al.* (2017) Ltd. Liepzeme pastöriseerimata, filtreerimata leivakalja ning leidsid selle energiaväärtuseks 100 g kohta umbes 130 kJ/ 32 kcal. Valku ja rasva on mõlemat umbes 0,1 g, süsivesikuid 5,9 g ning etanooli 1,2 g. Süsivesikuteks on kaljas peamiselt maltoos, maltotrioo, glükoos ja fruktoos, väiksemates kogustes esineb teisi sahhariide (Dlusskaya *et al.* 2008). B-vitamiinidest leidub Lidums *et al.* (2017) uuringus enim B3 ehk niatsiini (18,14 mg/100 g), seejärel B2 ehk riboflaviin (1,28 mg/100 g) ning B1 ehk tiamiin (0,71 mg/100 g).

3. Kaljale esitatavad nõuded

Üldiseid nõudeid spetsiifiselt kaljale Euroopa Liidus pole sätestatud, on vaid määratletud, et alkohoolseks joogiks loetakse üle 1,2% etanoolisisaldusega joogid, mille alla kuulub ka kali (Euroopa Liit, 2011). Lätis see-eest on reguleeritud kaljatoodete liigid, milleks on kali, kalja virre ja kaljajook ning millel on nõutud kvaliteediomadused ja tootmistehnoloogiad. Kalja on seal kirjeldatud kui kääritatud jooki, mis saadakse kaljavirde kääritamise läbi pärmidega ning millele võib lisada muid toiduaineid ja lisaaineid peale käärimist. Sellise kalja alkoholisisaldus ei tohi ületada 1,2% kalja mahust. Kaljajoogiks loetakse kääritamata alkoholivaba jooki, mis on valmistatud teraviljatoote ekstraktist, veest, maitseainetest, säilitusainetest jm toiduks mõeldud ainetest. Lätis on lubatud kaljale lisada ka piim-, sidrun- ja askorbiinhapet. Kuivainesisaldus peab kaljas olema 3-14% massist ning tiitritav happesus 2-3,5 ml 1M NaOH/100 mL. (Drombokis, 2010)

Venemaal on samuti sätestatud nõuded, milliseid tooteid võib nimetada kaljaks. Venemaa Riiklikus Standardis (GOST) nr 31494 on välja toodud järgmised kalja füüsikalise-keemilised näitajad:

Kuivainesisaldus mitte alla 3,5%, tiitritav happesus 1,5-7, alkoholisisaldus mitte üle 1,2%, süsihappegaasi (CO₂) sisaldus mitte alla 0,3%. Pärmirakke võib olla filtreerimata kaljas kuni 0,5 mln rakku/ml ning filtreeritud ja pastöriseeritud kaljas kuni 50 rakku/ml. (Russian GOST, 2012)

4. Kalja tarbimine

Kalja tarbitakse peamiselt Ida-Euroopas, kuid tarbijaid leidub tegelikult üle kogu maailma, kuigi kali ei pruugi olla traditsioonilise maitsega, vaid tarbitakse näiteks erinevaid puuviljamaitselisi kaljasid (Khvostovskaya *et al.* 2014). Puuviljamaitseliste kaljade puhul viiakse Khvostovskaya *et al.* (2014) sõnul tootmisprotsess läbi traditsiooniliselt, kuid toorainena kasutatakse virde koostamiseks leiva või jahu ja linnase asemel marju või puuvilju (nt. õuna, kirssi, sõstraid) ning lubatud on lisada ka piim- või sidrunhapet pH langetamiseks.

Venemaal, kust on pärit rahvusvaheliselt tuntud nimetus kaljale „*kvas*“, on kalja tarbimine Jargin (2009) sõnul võrreldes varasemaga veelgi tõusnud ja seda osaliselt reklaamide tõttu mis ülistavad kalja kasulikkust tervisele. 2019. aastal oli kalja tarbimine Venemaal toetudes Statista (2020) andmetele 608 miljonit liitrit. Jargini (2009) sõnul on filtreerimata kalja puhul täpset alkoholisaldust keeruline määrata ning kaua laagerdunud kalja puhul võib alkoholisaldus küündida 2,5%-ni. Sealtsamast 53-aastane autor ise kirjeldab oma lapsepõlve, kus ta peale kalja tarbimist tihti tundis kerget joovet. See tähendab, et filtreerimata kalja tarbimine võib endast osutada mingil määral ohtu laste tavapärasele arengule ning seda ei tohiks suurtes kogustes tarbida ka rasedad ning autojuhid, kuid selliste asjade kohta kaljade puhul hoiatusi tavaliselt ei ole (Jargin, 2009).

Lisaks Ida-Euroopa maadele, kus kali on juba ajalooliselt tähtis ning on pikka aega tarbitud, levib tänapäeval kali jõudsalt ka näiteks Ühendkuningriikides ning Uus-Meremaal, lisaks teistele. Uus-Meremaal asub The Kvas Company, mis toodab filtreerimata ja lisaaineteta kalja nimetusega „Brod Kvas“ ning kelle suureks müügiargumendiks on kalja probiootilised omadused ning looduslähedane tootmine (The Kvas Company, s.a). Ühendkuningriikides on võimalik traditsioonilist kalja osta ka kohalikes Ida-Euroopa kaupa müüvatest poodidest (Polnews, 2021).

Eestis on üks suurimaid kaljatootjad A. Le Coq AS, kelle tootevalikus on hetkel 4 kalja – leivalinnase, klassikaline, tume ja Imperial kali. Kaljades on kasutatud kaljavirde kontsentraate, fruktoosi-glükoosi siirupit (leivakaljas suhkrut), pärm (v.a. leivakaljas, kus

virde on käärinud rukkilinnased), süsihappegaasi, happesuse regulaatorina sidrunhape ning peale leivakalja on kõigis ka säilitusaine naatriumbensoaat. (A. Le Coq, s.a)

A. Le Coq-ile pakub konkurentsi Saku Õlletehas AS, kelle tootevalik on veidi väiksem, hetkel kodulehel valikus Karl Friederich mustsõstra- ja tavaline kali. Saku toodetud kali ei ole aga traditsioonilises mõttes kali – seda pole kääritatud – kuid kuna Eestis pole selle kohta veel regulatsioone, võib tootja seda siiski kaljaks nimetada. Maitse annab sel puhul „kaljale“ glükoosi-fruktoosisiirup, odra- ja rukkilinnaseekstrakt, sidrunhape ning lõhna- ja maitseained (Saku Õlletehas, s.a). Mustsõstra kaljal on veel lisatud ka kaljakontsentraati odralinnaseekstraktist, veest, sidrunhapest ning lõhna- ja maitseainetest (Saku Õlletehas, s.a). Säilitamiseks on lisatud mõlemale tootele samuti naatriumbensoati ning gaasilisuse andmiseks süsihappegaasi (Saku Õlletehas, s.a).

5. Kalja tootmistehnoloogia

5.1. Kalja valmistamise tooraine

Tooraineks võib Eesti Õlletootjate Liidu taotluse järgi (2016) kalja valmistamisel kasutada toidu käitlemise nõutele vastavaid järgnevaid tooraineid: joogivesi; rukki-, nisu- või muud tervailjad ja/või nendest valmistatud linnased; rukki-, nisu- või muud teraviljasaadused, sh leib ja/või nendest teraviljasaadustest valmistatud ekstraktid; taimsed ekstraktid; linnastamata toorained sh suhkrutooted, mesi või muud looduslikud magustajad; lõhna- ja maitseained; vitamiinid ja mineraaltoitained; pärmid ja/või piimhappebakterid. (Vörk, 2016)

Kalja valmistamisel võib tekkida toorainega probleeme näiteks rukkiterade kasutamisel pentosaanide ja polüsahhariidide sisalduse tõttu, virre on viskoossem ja filtreerimise protsess pikeneb, selle ärahoidmiseks on võimalik kasutada rukkilinnaseid, milles linnastamise käigus polüsahhariidid hüdrolüüsuvad madalama molekulaarse struktuuriga suhkruteks nagu glükoos, fruktoos ja pentoos. Lisaks tekivad linnaste kuivamisel lenduvad ühendid, mis tagavad spetsiifilise rukkileiva aroomi ja värvuse. (Ivanova *et al.* 2006)

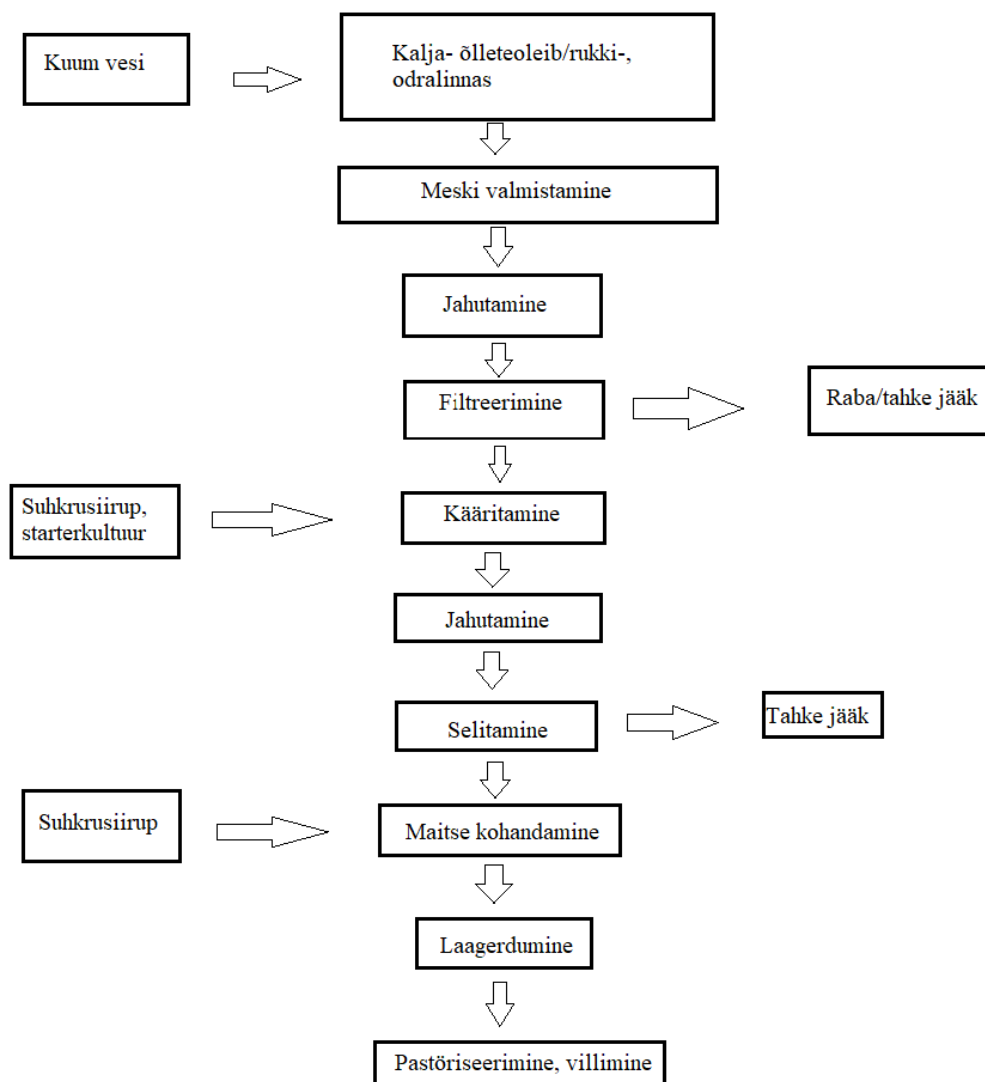
Kalja käärimise edendamiseks ja ka hiljem filtreerimise lihtsustamiseks on võimalik kasutada odralinnaseid või ensüüme, mis lagundavad rukkist ja rukkilinnastest saadavad pentosaanid ja β -glükaani tselluloosis, mis lihtsustab filtreerimist ning toitainete kättesaadavust kääritavatele bakteritele. Tärklise lagundamiseks võib kasutada α -amülaasi

sisaldavaid preparaate, et saada madalama molekulaarse struktuuriga suhkrud. (Ivanova *et al.* 2006)

Tooraineks on võimalus kasutada lisaks rukki- ja odralinnasele ka õlle-kaljateo leiba (mõistlik väiksematel ettevõtetel) ning kaljavirde kontsentraati (KVK). Kontsentraat saadakse meskides rukki- või odralinnaseid, rukki- või maisijahu veega, millele järgneb selitamine ja kontsentreerimine vee aurustamise läbi vaakumaparaadis ja kuumtöötlemisel (Ilina, 2006). Kuivainesisalduseks sellisel kontsentraadil umbes 70% (Lidums *et al.* 2016). Õlle-kaljateo leib on valmistatud rukkilinnasejahust, veest ning rukkijahust (Lõuna pagarid, s.a).

5.2. Kalja tootmine

Kalja valmistamisel on võimalik valida erinevate toorainete ja lisandite vahel, ei ole ühte õiget tootmisskeemi, kuid suurem osa etappe esinevad kõikides tehnoloogilistes skeemides. Tööstuslikult on aga vajalik paika panna täpne skeem, et toodang oleks võimalikult tõhus ja ressursid optimeeritud. Joonisel 1 on toodud üldine kalja tootmisskeem



Joonis 1. Dlusskaya *et al.* (2008), Lidums *et al.* (2014), Vörk (2016) ning A. Le Coq andmetel koostatud kalja üldine tootmise skeem.

Kalja tootmise algpunkt on kaljavirde valmistamine, milleks on võimalik kasutada rukkilinnast (klassikaline), kaljaleiba (infusioon) või kaljavirdekonsentraati. Kasutades linnast on protsess nagu õllevirde valmistamisel, kus linnas segatakse teiste koostisosadega (rukkijahu, odralinnas jne) ja veega, saadud mass kuumutatakse järk-järgult temperatuuri tõstes. Meskimise lõpus filtreeritakse saadav kaljavirre läbi raba. (Ilina, 2006)

Infusioonmeetodil on tooraine valikuks kaljaleib. Leivast kalja valmistamisel tuleb leiba veel mehaaniliselt ja füüsiliselt töödelda, nimelt lõigata leib kuubikuteks õhuga kokkupuutepinna suurendamiseks ning seejärel segatakse leib kuuma veega vahekorras 1:10 (Lõuna pagarid, s.a). Vee temperatuuriks peaks olema 70-80 °C, mis on tingitud tärglise

kliisterdumistemperatuurist (Lumdubwong, 2019), mil tärklis kõige efektiivsemalt toorainest eraldub ning annab linnase ensüümidele võimaluse tärklis lagundada vajalikeks suhkruteks; linnase ensüümid lagundavad tooraines ka valke, tagades vajalikud toitained pärmile ja piimhappebakteritele (Lidums *et al.* 2014). Dlusskaya *et al.* (2008) artiklis on mainitud, et leiva puhul on sahhariidid juba vajalikul kujul olemas, kuid jahust ja linnastest segus lagundavad linnase ensüümid tärklise di- ja monosahhariidideks.

Kontsentraadist virde valmistamisel kasutatakse alguses vaid 70% kaljavirde kontsentraadist, ülejäänud 30% listatakse pärast kääritamist kaljale iseloomuliku aroomi andmiseks. Kaljavirde valmistamiseks pannakse katlasse vesi, mis kuumutatakse 35 - 40 °C-ni, seejärel segades lisatakse kontsentraat vahekorras 1:2-2,5, segatakse veel 10 - 15 min, mille järel lahjendatakse virre veega kuni kontsentratsioonini 1,4-1,6%, järgneb jahutamine. (Ilina, 2006)

Valmis virdeid käsitletakse edasi identselt, pärast pärmil või eelnevast kalja partiist võetud mikroorganismide koosluse (emajuuretise) ja vajaliku suhkrukoguse lisamist lastakse Dlusskaya *et al.* (2008) järgi virdel käärida 12 tundi, temperatuuril umbes 30 °C, mis on pärmil ja piimhappebakterite puhul enamasti optimaalne kasvutemperatuur (piimhappebakteritel olenevalt kultuurist) (Basinskiene *et al.* 2016). Filtreerimine enne kääritamist eemaldab suuremad osakesed virdest, mille järel lisatakse pärm ja valitud piimhappebakterid, vajadusel suhkrusiirup. Pärast käärimist jahutatakse toode 4 °C-ni, mis omakorda peatab ka pärmil elutegevuse (Dlusskaya *et al.* 2008). Järgneb selitamine (sademe eraldamiseks), vajadusel maitse kohandamine. Laagerdamise käigus omandab kali tugevama maitse (Lidums *et al.* 2014), järgneb pastöriseerimine, karboniseerimine (CO₂ lisamine) kalja villimine ja jahutatult hoiustamine (A. Le Coq, s.a).

Tehnoloogilised skeemid erinevatel tootjatel varieeruvad, kasutatakse ühte sorti teravilja saadusi – nt rukkilinnas, -jahu ja -leib – või tehakse segu mitme erineva teravilja saadustest. A Le Coq, üks tuntumaid ja suurimaid Eesti joogitööstuseid toodab kalja näiteks rukki- ja odralinnastest, kääritades toodet 10 tundi, pärast mida on alkoholisaldus kaljas 0,5%. Järgnevalt kalja jahutatakse ja samal ajal selitatakse ehk eraldatakse sadet 48-60 tundi, jahutamise tulemusena peatub käärimine. Pärast seda kohandatakse maitset vastavalt vajadusele suhkruga või vee lisamise läbi. Kaljast filtreeritakse veel viimast korda välja sade ning jook pastöriseeritakse ja karboniseeritakse kalja villimise käigus. (A. Le Coq, s.a)

Muistetel eestlastel oli kalja valmistamine lihtsam kui see tänapäeva tootmises on ning viise, kuidas kalja valmistada oli mitmeid. Heino Gustavson on oma raamatus „Karastusjoogid allikaveest limonaadini“ (1985) kirjeldanud kaljategu näiteks õllerabast, mainitud on ka valmistamist kartulitest või kasemahlast. Näiteks õlleraba puhul leotati raba ning saadi „teine õlu“, sellest protsessist järele-jäänud raba leotati veel kord ning saadi „kolmas õlu“ ehk kali.

6. Taari tootmistehnoloogia

Taar kui hapendatud madala alkoholisisaldusega jook on sarnane kaljale, kuid tootmisprotsess on sellel veidi erinev (Sõukand *et al.* 2015). Sõukand *et al.* (2015) kirjeldasid taari tootmist rukkist, odrast ja harvem kaerast. Protsess algas valitud teravilja jahuks jahvatamisega, millele seejärel valati peale keev vesi ning segati. Segu valati okstest filtriga anumasse nimega *tõrike*, kus põhjas olid ka kõrred, et sade jääks ümbervalamisel anuma põhja. *Tõrikeses* hapnes segu 2-3 päeva, mille järel oli taar valmis. Jooki maitsestati käärimise ajal vürtsidega, mis aitasid kaasa ka taari säilitamisele. (Sõukand *et al.* 2015)

7. Mikrobioloogilised protsessid kalja valmistamisel

Kääritatud toodete valmistamisel on tähtsaimad tegurid tooraine valik ja käärimisprotsessi läbi viivad mikroorganismid. Kalja puhul on nendeks mikroorganismideks peamiselt pärmsened ja piimhappebakterid (LAB) (Lidums *et al.* 2014). Igasuguse käärimise käigus lagundatakse süsivesikud (nt. suhkur) peamiselt alkoholiks, süsihappegaasiks ja orgaanilisteks hapeteks (Ross *et al.* 2002). Varasemalt lasti käärimisprotsessi läbi viia metsikutel pärmidel ning piimhappebakteritel, mis leidsid vabalt keskkonnas, kuid sellega kaasnesid omad miinused nagu äädikhappeline käärimine ja kontrolli puudumine käärimise üle (Hornsey I. S., 2012). Käärimise algatamiseks oli tarvis metsikul pärmil puutuda kokku tooraineseguga, kuid selleks tuli segu hoida lahtiselt ning kui käärimine juba algas oli hapnikuga kokkupuutel oht, et käärimise lõpp-produktiks on äädikas. Tänapäeval viiakse tööstuslikul tasemel kääritamist läbi kontrollitud keskkonnas, kus vajalikud mikroorganismid viiakse käärimata segusse starterkultuurina. (Gibson *et al.* 2017)

Kalja kääritamisel on pärmi ja piimhappebakterite produktid seotud osaliselt sidrunhappega. Börekçi *et al.* (2021) kirjutavad oma artiklis, et üks sidrunhappe tootmiseks kasutatavaid pärmiliike on *Saccharomyces cerevisiae*, mida kasutatakse ka antud töös. Karastusjookide puhul annab sidrunhape hapuka maitse, tugevdab looduslikku puuviljamaitset ning reguleerib happesust (Börekçi *et al.* 2021). Moreno *et al.* (2012) kirjutavad, et osad piimhappebakterid lagundavad sidrunhapet peamiselt piimhappeks ja atseethappeks (äädikhappeks), seega on pärmi ja piimhappebakterite vahel osaline sümbioos, kus pärm lagundab suhkru sidrunhappeks, mida piimhappebakterid saavad omakorda kasutada. Atseethappe liigne teke ei ole aga soovitud, kuna suures koguses langetab see kalja kvaliteeti (äädikalõhn, -maitse) ning selle tekke piiramiseks peaks kääritades vältima hapniku juurdepääsu virdele (Virginia Department of Health, 2018).

7.1. Alkoholkäärimine

Pärmseente ehk pärmi poolt läbiviidav käärimine on tänapäeval kasutusel peamiselt alkoholsete jookide tootmises ja taiginate valmistamisel. Traditsioonilise kalja puhul on käärimises osalenud tavaliselt nii pärm kui piimhappebakterid (Kobelev *et al.* 2011). Leivast toodetud kaljal saadakse pärmseen *Saccharomyces cerevisiae* ja piimhappebakterid (LAB) mingis ulatuses leivast, kuhu soovi korral lisatakse mikroorganisme ise juurde (Ross *et al.* 2002).

Pärm on läbi aegade levinud mikroobikultuur, mida kasutatakse toiduainetööstuses oma kiire paljunemise, lihtsalt kättesaadavate toitainete (suhkur) ja vähese patogeensuse tõttu ning pärmi on laialdaselt kasutatud uuringutel ja toiduainete omaduste edendamisel (Gibson *et al.* 2017). Boulton & Quain (2001) raamatus “Brewing Yeast and Fermentation” on mainitud, et alkoholkäärimine vajab tooraineteks peamiselt süsivesikuid käärivate oligo-, di- ja monosahhariidide näol. Alkoholkäärimise peamiseks produktiks on etanool ja süsihappegaas, kuid toodetakse ka väikeses koguses muid aineid, mis annavad toodetele tahetud maitse (Boulton & Quain, 2001).

Kalja puhul olenevad käärimise produktid ja kalja tehnoloogilised näitajad sellest, mis tooraine on valitud ning millised mikroorganismid käärimist läbi viivad. Khvostovskaya *et al.* (2014) kirjutavad, et kalja tootmisel on võimalik kasutada erinevaid pärme, nt press-, küpsetus-, viina- või õllepärme. Presspärmide puhul väidavad nad, et pärm

võib olla kokku puutunud teiste bakterite või metsikute pärmidega, küpsetuspärm muudab kaljal maitseomadusi ja toiteväärtust, viinapärmi puhul pikeneb käärimisaeg ning õllepärm kasutades sadeneb suur osa pärmist põhja, mida on pärast lihtne eemaldada, mistõttu kali säilib kauem, on puhtam ja stabiilsem. (Khvostovskaya et al. 2014)

Pärmi ja ka piimhappebakterite mõju kalja koostisele ning omadustele väljendub osaliselt Lidums *et al.* (2014) Foodbalt 2014 konverentsil esitatud uuringus, kus leivast valmistati kalja, lisades käärimiseks 1 g pagaripärmi, 2 ühikut piimhappebakteri starterit ja suhkrut nii, et 1 liitri virde kohta oleks 30 g suhkrut. Käärimine toimus uurimuses 9 tundi temperatuuril 27 ± 1 °C, jahutati pärast seda 3 ± 1 °C-ni ning laagerdati 12 tundi temperatuuril 6 ± 1 °C. Kui valmistatud kalja algne kuivainete kontsentratsioon oli 5,96%, oli see protsessi lõpuks langenud 4,94%-le, seda peamiselt etanooli koguse tõusu tõttu süsivesikute lagundamise läbi. Algne pH 4,08, oli piimhappebakterite piimhappe produktsiooni tõttu (lisaks teistele orgaanilistele hapetele) kalja tootmise lõpuks $3,85 \pm 0,04$. (Lidums *et al.* 2014)

7.2. Piimhappeline käärimine

Piimhappebakterid viivad käärimist läbi, kasutades sarnaselt pärmile käärivaid suhkruid, tootes lõpp-produktina põhiliselt piimhapet, põhjustades seeläbi kääriava toote hapnemise (Montet *et al.* 2014). Piimhappebakterid jagunevad vastavalt ainevahetusele homo- ja heterofermentatiivseteks (Montet *et al.* 2014). Ross *et al.* (2012) eristavad neid lihtsustatult, liigitades nad lõpp-produktide ja energia tootmise järgi: homofermentatiivsed piimhappebakterid toodavad 1 mol glükoosist 2 mol piimhapet, heterofermentatiivne piimhappebakter toodab aga 1 mol glükoosist võrdsed kogused piimhapet, CO₂ ja etanooli ning toodab poole vähem energiat kui homofermentatiivne piimhappebakter. Kalja tootmisel toimuv piimhappeline käärimine on traditsiooniliselt heterofermentatiivne (Eliseev & Alexeyeva, 2018).

Kääritamist, kus põhiproduktiks on piimhape, on pikka aega kasutatud erinevate toiduainete säilitamiseks – happe produktsioon viib pH madalale, mis pärsib mikroorganismide kasvu – ja maitseomaduste muutmiseks (Ashaolu & Reale, 2020). Ashaolu & Reale (2020) tõid välja, et piimhappeline käärimine tõstab inimese jaoks toiduaine toiteväärtust nt. teraviljade puhul, kus käärimise käigus lagundatakse seedimatuid polü- ja

oligosahhariide inimese poolt seeditavateks sahhariidideks ning suurendab aminohapete tootmist ja toitainete imendumispotentsiaali.

Kalja tootmises puhtalt piimhappebakterite toimel käärimist on uuritud, näiteks Basinskiene *et al.* (2016), kes viisid kalja tootmise läbi kahe erineva piimhappebakteriga – (*Lactobacillus sakei* KTU05-6 ja *Pediococcus pentosaceus* KTU05-10) ning võrdlesid tulemusi pagaripärmiga läbi viidud käärimisega ja kontrollkaljaga, milleks oli rukkilinnase ekstraktist tehtud kali. Selgus, et võrreldes piimhappelise käärimisega kontrolliga ja pärmi toimel käärimisega, oli saadud kalja kibedus ja magusus madalam, kuid jook oli hapum, tingituna kõrgemast piimhappe kogusest. Organoleptiliselt jäid piimhappebakteritega kääritatud kaljad alla kontrollkaljale, kuid eelistati pagaripärmiga toodetud kaljale. Puhtalt piimhappeline käärimine võrreldes pärmikäärimisega viib kalja pH madalamale, parandab kalja säilivust ning tulemuseks on väiksem alkoholisaldus, kuid võrreldes piimhappe- ja pärmikäärimisega toodetud kaljaga, jääb organoleptiliselt alla, mis võib olla üheks põhjuseks, miks puhtalt piimhappeline käärimine tööstuslikult kalja tootmises levinud ei ole. (Basinskiene *et al.* 2016)

EKSPERIMENTAALNE OSA

8. Hüpotees ja eesmärgid

Hüpotees: Suurema piimhappebakteri kultuuri osakaal kaljavirdes annab käärides happelisema ning madalama suhkrusisaldusega kalja kui väiksema piimhappebakteri kultuuri osakaaluga kaljavirre.

Eesmärgid:

Uurida piimhappebakterite kultuuride mõju saadava kalja pH-väärtusele, suhkrusisaldusele (°Bx) ning sidrunhappe sisaldusele (g/L sidrunhapet).

Katsete korraldus:

Katsed viidi läbi Eesti Maaülikooli toiduteaduse- ja toiduainete tehnoloogia õppetooli laborkompleksis perioodil 06.12.2021 kuni 22.03.2022.

9. Materjal ja meetoodika

Kalja hapendamisprotsessi läbiviimiseks kasutati käesolevas bakalaureuse töös kalja kääritamiseks kuivpärm *Saccharomyces cerevisiae* ning piimhappebaktereid *Lactobacillus plantarum* TAK59, *Lactobacillus plantarum* Sour Pitch ja *Lactobacillus helveticus* Helveticus Pitch. Kuivpärm ning *L. plantarum* TAK59 saadi Nordwise leivajuuretise tootest (Nordwise, s.a). *L. plantarum* Sour Pitch (Wildbrew Sour Pitch, s.a) ja *L. helveticus* Helveticus Pitch (Wildbrew Helveticus Pitch, s.a) piimhappebakterid on toodetud Wildbrew poolt. Kaljavirde valmistamiseks kasutati Lõuna Pagarite Õlle-kaljateo leiba, mille pakendil toodud juhendit kasutati virde valmistamiseks (Lõuna pagarid, s.a) (Joonis 2).



Joonis 2. Lõuna pagarite Ölle-kaljateo leib (Lõuna pagarid, s.a).

Töös kasutatavad piimhappebakterite kultuurid valiti kuna need on mõeldud inimtoidu valmistamisel kasutamiseks ning nende kasvu- või organoleptilised omadused erinevad osaliselt üksteisest. Sour Pitch on mõeldud kasutamiseks hapude õllede valmistamisel ning käärimisel langetab kiirelt pH-d, toodab palju piimhapet ja vähe äädikhapet, saadavad maitse- ja lõhnanüansid peaks olema tsitruselised, terava hapu lõhnaga ja õrnalt puuviljased (Joonis 3) (Wildbrew Sour Pitch, s.a). Optimaalseks käärimistemperatuuriks 30 kuni 40 °C. Helveticus Pitch on omadustelt sarnane Sour Pitch-ile, kuid on mõeldud tugevama tsitruselise maitse saavutamiseks (Joonis 3) kõrgematel temperatuuridel, sellega seoses on ka optimaalne käärimistemperatuur kõrgem: 38 kuni 45 °C. Nordwise *L. plantarum* TAK59 oli algselt mõeldud silo valmistamisel kasutamiseks, kuid võeti kasutusse ka inimtoidu valmistamiseks. Tagab sarnaselt Sour- ja Helveticus Pitchile kiire pH languse piimhappe tootmise läbi (BioCC, s.a).



Joonis 3. Sour Pitch (vasak) ja Helveticus Pitch (parem) bakterite toodetavad maitse- ja lõhnanüansid (Wildbrew Sour Pitch, s.a) (Wildbrew Helveticus pitch, s.a).

Virde valmistamiseks kasutati kiirkeedukannu, plastikust käärimisnõud kaane ja vesilukuga, marlist kotti kuhu asetati õlle-kaljateo leib ning suhkrut, mis lisati peale leiva lignemist virdele. Leib tükeldati kuubikuteks ning pandi marlist kotti, mis asetati plastikust käärimisnõusse ning valati peale 10 liitrit kuuma vett (u 80 °C) 1 kg leivale. Virdel lasti toatemperatuuril (u 22 °C) suletult seista umbes 4-5 tundi. Kaljavirdele lisati enne käärima panekut suhkrut 50 g/1 L. Pärast suhkru lisamist määrati kaljavirde pH, suhkruisaldus (°Bx) ning happesus (g/L sidrunhapet). Saadud virre jaotati käärima panemiseks klaasist käärimisnõudesse, varustatud kaane ja vesilukuga (Joonis 4), millele lisati piimhappebaktereid ja pärm, mis kaaluti analüütilise kaaluga eraldi filterpaberitel. Igasse nõusse lisati üks liiter virret ning pärm ja piimhappebakteri kultuurid vahekordades (LAB-pärm) 0/100, 50/50, 80/20 ja 100/0 nii, et kokku oleks virdes 1 g/L käärimist läbiviivaid mikroorganisme (Tabel 1).

Tabel 1. Edaspidi töös kasutatavate proovide märgistused vastavalt LAB-pärm vahekordadele, nende kogused, LAB-ide nimetused ning tootja.

Märgistus	LAB-pärm kogused	Kultuuri nimetus, tootja
P100	1,0 g/L pärm	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , Nordwise Biotech
NW50/50	0,5 g/L Nordwise + 0,5 g/L pärm	<i>Lactobacillus plantarum</i> TAK59, Nordwise Biotech
NW80/20	0,8 g/L Nordwise + 0,2 g/L pärm	<i>Lactobacillus plantarum</i> TAK59, Nordwise Biotech
NW100	1,0 g/L Nordwise	<i>Lactobacillus plantarum</i> TAK59, Nordwise Biotech
HP50/50	0,5 g/L Helveticus Pitch + 0,5 g/L pärm	<i>Lactobacillus helveticus</i> , Wildbrew
HP80/20	0,8 g/L Helveticus Pitch + 0,2 g/L pärm	<i>Lactobacillus helveticus</i> , Wildbrew
HP100	1,0 g/L Helveticus Pitch	<i>Lactobacillus helveticus</i> , Wildbrew
SP50/50	0,5 g/L Sour Pitch + 0,5 g/L pärm	<i>Lactobacillus plantarum</i> , Wildbrew
SP80/20	0,8 g/L Sour Pitch + 0,2 g/L pärm	<i>Lactobacillus plantarum</i> , Wildbrew
SP100	1,0 g/L Sour Pitch	<i>Lactobacillus plantarum</i> , Wildbrew

Optimaalse käärimistemperatuuri tagamiseks piimhappebakteritele kasutati Panasonic inkubaatoreid (Inkubaator Panasonic MIR-154, Jaapan), mis olid sätestatud vastavalt

piimhappebakterile temperatuurile 30 °C (Nordwise ja Sour Pitch) või 38 °C (Helveticus Pitch). Proovide võtmist alustati kui kali oli käärinud 12 h, järgnevad proovid võeti 14 h ja 16 h käärinud kaljast. Võeti ka lisaproovid, mida pealiskaudselt hinnati organoleptiliselt (välimus, maitse, lõhn) autori poolt.



Joonis 4. Brewferm Royal Bubbler 5-liitrine klaasist käärimisnõu (Pruulikeskus, s.a).

Proovid võeti käärinud kaljast piiritusega desinfitseeritud kulbiga ning asetati plastikust topsidesse. Proovidest mõõdeti pH, suhkrusisaldus (°Bx) ning happesus (g/L sidrunhapet). Lisaks hinnati proove iga kord ka organoleptiliselt.

pH mõõtmiseks kasutati pH-meetrit (*Mettler Toledo*, Šveits) klaasist elektroodiga. Keeduklaasi mõõdeti umbes 10 ml kalja, millesse paigutati elektrood nii, et see ei puutuks klaasi seina ega põhja ning oli üleni kaetud prooviga. Näidu stabiliseerumisel märgiti see üles.

Suhkrusisalduse mõõtmiseks kasutati *Atago Abbe* refraktomeetrit (*Atago 1311 DR-A1-Plus*, Jaapan). Suhkrusisalduse mõõtmiseks kontrolliti destilleeritud veega seadme täpsust, kui Brix näit oli 0 °Bx, kuivatati ettevaatlikult prisma alus ning asetati peale proovid. Suhkrusisalduse määramiseks tuli ilmuv tume joon viia kahe sirge joone ristumispunkti tumeda joone kõrgust reguleerides. Iga proovi vahel puhastati alus destilleeritud veega ja kuivatati ettevaatlikult.

Happesuse mõõtmiseks (g/L sidrunhapet) kasutati *Titroline 7000* titraatorit (*SI Analytics Titrator Titroline® 7000*, Saksamaa). Analüsaatori kasutamiseks mõõdeti keeduklaasi analüütilise kaaluga umbes 5 g kalja, kaal märgiti nelja koma-kohaga üles. Kaljale lisati umbes 50 ml destilleeritud vett ning põhja asetati magnet. Kaljalahus asetati analüsaatori

ettenähtud alale, kus magnet pöörlemise läbi lahust pidevalt segas. Analüsaatori pH elektrood asetati lahusesse nii, et see oleks kaetud lahusega, kuid ei puutu vastu klaasi seinu ega põhja. Lisaks asetati ettenähtud hoidikusse kaljalahuse kohale (ilma lahust puutumata) 0,1 M NaOH lahuse dispenseriga ots. Seejärel märgiti analüsaatorisse lahuse kaljaosa kaal, vajutati OK ning analüsaator alustas tiitrimist. Tiitrimine kestis kuni lahuse pH ulatus veidi üle 8,0 ning analüsaatori ekraanile ilmusid happesus g/L sidrunhapet, kulunud NaOH lahuse ning lahuse algne pH.

Lisaks katsetele viidi läbi ka sensoorne hindamine. Hindamiseks kasutati NW50/50, NW80/20 ja SP50/50, SP80/20 kääritatud kalja. Helveticus Pitchi polnud võimalik kasutada, kuna see kultuur sai otsa ning lühikese aja jooksul polnud seda võimalik juurde hankida. Kali valmistati kääritades virret (valmistatud identselt katsete protsessile) 14 tundi, millele järgnes dekanteerimine teise anumasse ning jahutus 0 °C-ni mitme tunni jooksul. Seejärel kali pakendati plastpudelitesse üks tund enne sensoorse hindamise algust ning pudelid asetati 4 °C juurde külmkappi. Kalja käärimisaeg ja LAB-pärm vahekorrad valiti toetudes autori sensoorsele hindamiskogemusele katseid läbi viies ning katsete tulemustele, kus 14 h oli paras aeg, et kalja omadused ei ole liiga intensiivsed, kuid kultuuride mõju organoleptilistele omadustele on siiski märgatav. Sensoorsel hindamisel jaotati kodeeritud proovid ning sensoorselt hindas valitud kaljasid kokku 20 Eesti Maaülikooli toiduainete tehnoloogia õppejõudu ja tudengit, hindamiseleht lisades (Lisa 1). Hinnati välimust, mille alla kuulusid värvus, tumedus, läbipaistvus ning vahusus. Järgmiseks oli lõhn, kuhu kuulusid karamellisuus, pärmisuus ning kääritatud lõhn. Viimaseks oli maitse, kalja magusus, hapusus, gaasilisus ning ka üldine hinnang 5-palli skaalal. Tulemused analüüsiti ja joonised koostati Microsoft Excel-is.

10. Katsete tulemused ja arutelu

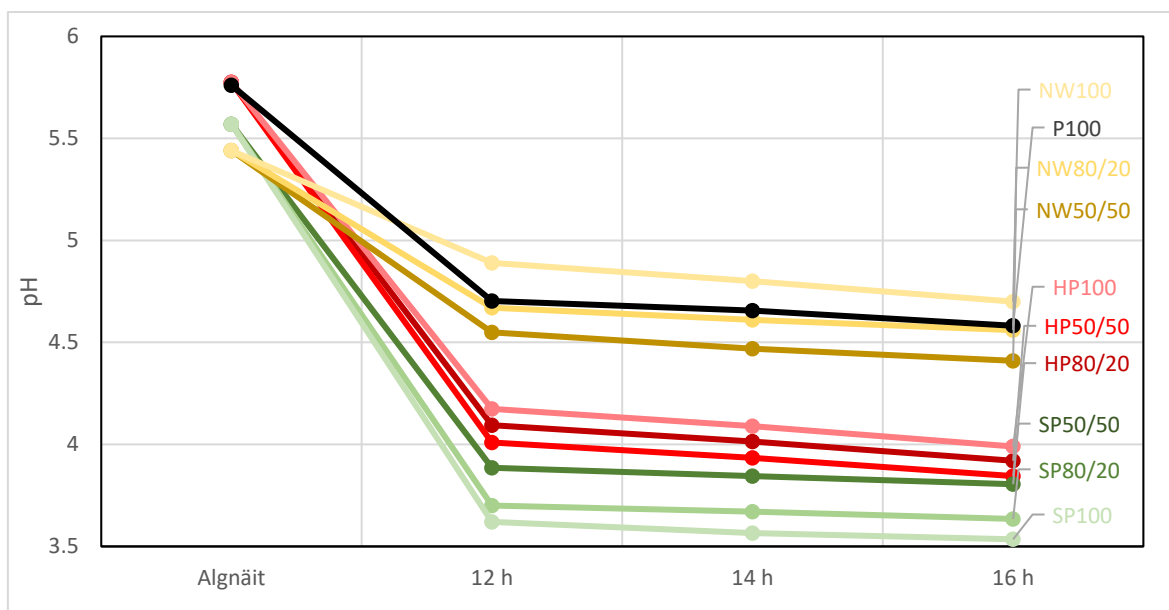
Katseid viidi läbi 6, kus iga piimhappebakterikultuuri kohta tehti kaks katset, kuid ühel viiest katsest (viidud läbi Nordwise kultuuriga) oli virde suhkrusisaldus teiste katsete virretest oluliselt erinev, seega ei ole mõistlik sellega tulemustes arvestada. Ülejäänud virrete keskmine suhkrusisaldus Brix-ides oli 7,57 ° ning keskmine pH 5,63. Katsete keskmised tulemused on toodud Tabelis 2.

Tabel 2. Katsete keskmiste tulemuste koondtabel.

Katsete nr	Kasutatav ja kultuur kogused	Käärimine 12 tundi			Käärimine 14 tundi			Käärimine 16 tundi		
		pH	°Bx	happesus (g/L)	pH	°Bx	happesus (g/L)	pH	°Bx	happesus (g/L)
2, 3 ja 4	P100	4,70	6,9	1,73	4,66	6,7	1,69	4,58	6,52	1,69
2 ja 4	HP50/50	4,10	6,5	1,84	4,02	6,15	1,78	3,92	5,75	2,09
2 ja 4	HP80/20	4,01	6,95	1,88	3,94	6,7	2,04	3,85	6,3	2,24
2 ja 4	HP100	4,18	7,75	1,06	4,09	7,6	1,15	3,99	7,6	1,34
3 ja 6	SP50/50	3,89	6,55	2,36	3,85	6,2	2,51	3,81	5,9	2,58
3 ja 6	SP80/20	3,70	6,85	2,51	3,67	6,6	2,73	3,64	6,35	2,84
3 ja 6	SP100	3,62	7,7	2,10	3,57	7,5	2,22	3,54	7,5	2,34
5	NW50/50	4,55	7,1	1,62	4,47	6,6	1,80	4,41	6,5	1,62
5	NW80/20	4,67	7,3	1,61	4,61	6,9	1,50	4,56	6,8	1,45
5	NW100	4,89	7,6	0,68	4,8	7,6	0,70	4,7	7,5	0,73

10.1 Kalja pH väärtused

Nordwise, Helveticus Pitch ja Sour Pitch proove võrreldi katsetes omavahel ning 100% pärmiga kääritatud virde proovidega. Leiti, et suurim langus ja ka lõplik madalaim pH oli Sour Pitch *L. plantarum*-iga kääritatud kaljal (Joonis 5). Suurim pH langus ja ka madalaim lõplik pH-väärtus esines SP100 proovides (pH väärtus 16 h möödudes 3,5 ja 3,57). Järgnesid SP80/20 proovid (3,59 ja 3,68) ning väikseim langus SP50/50 proovidel (3,77 ja 3,84).



Joonis 5. Proovide pH muutumise dünaamika käärimise ajal.

Helveticus Pitch *L. helveticus* kultuuriga kääritatud kaljas (Joonis 5) toimus suurim pH langus aga HP80/20 kaljal (16 h möödudes pH väärtus 3,78 ja 3,91), järgnes HP50/50 (3,84 ja 4) ning väikseim langus HP100 puhul (3,95 ja 4,03).

Nordwise tulemused põhinevad ühe katse suhkrusisalduse erinevuste tõttu ühel katsel (Joonis 5). PH-väärtused olid sel juhul sarnased kontrollgrupi pH-väärtustega (16 h möödudes pH keskmiselt 4,58). Nordwise kultuuriga kääritatud proovidel oli madalaim pH 16 h möödudes NW50/50 proovil (4,41), järgnes NW80/20 (4,56) ning kõrgeim pH oli NW100 proovil (4,7).

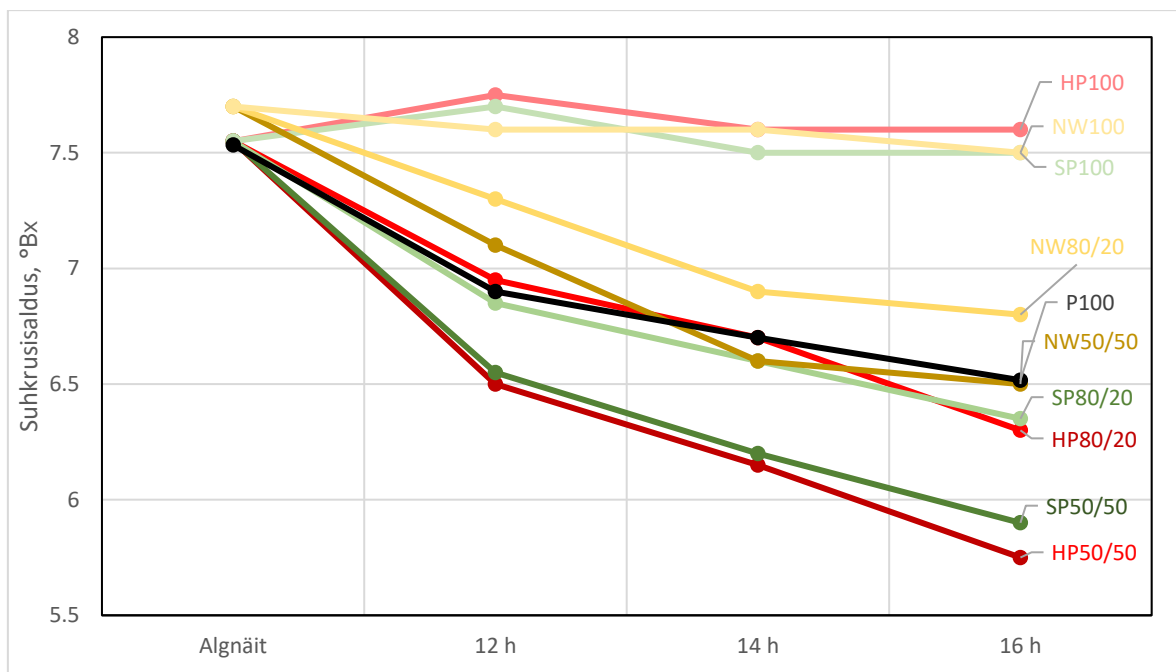
P100 proovide keskmine väärtus oli 12 h möödudes 4,7; 14 h möödudes 4,66 ning 16 h möödudes 4,58. Seega oli ainult pärmiga käärinud kalja pH madalam kui NW100 kääritatud kali ning teistest katsetest kõrgem.

Antud uurimuses olid pH tasemed kaljadel 16 h käärinuna vahemikus 3,5 kuni 4,7. Poest saadav kali, Dlusskaya *et al.* (2008) järgi, on pH-ga 3,45. Seega on 16 h käärinuna pH poolest lähim SP100 kääritatud kali ning suurim kõrvalekalle pH osas on NW100 proovil. Kõrgem pH-tase kui poe kaljal võib olla tingitud ka happesuse regulaatoritest (nt. sidrunhape), mida poes müüdavates kaljades tihti esineb (A. Le Coq, s.a).

10.2 Kalja suhkrusisaldus

Suhkrusisalduse langus viitab käärimisel ära kasutatud suhkrule ning on võimalik kasutada käärimise ulatuse väljendamiseks. Mida rohkem suhkrut on ära kasutatud, seda suurem on Brix-väärtuse langus ning seda enam on käärimisprodukte (Kocher *et al.* 2011).

Suhkrusisalduse langus oli suurim Helveticus Pitch ja Sour Pitch kultuuride puhul (Joonis 6). Sour Pitch kultuuriga tehtud katsetes oli suurim Brix-väärtuse langus SP50/50 proovidel (16 h möödudes Brix-väärtus 5,8 °Bx ja 6 °Bx), järgnes SP80/20 (6,2 °Bx ja 6,2 °Bx) ning SP100 proovidel jäi Brix-väärtus pea algsele tasemele (7,4 °Bx ja 7,6 °Bx)



Joonis 6. Proovide suhkrusisalduse (°Bx) muutumise dünaamika käärimise ajal.

Helveticus Pitch puhul oli samuti suurim Brix-väärtuse langus HP50/50 puhul (16 h möödudes 5,8 °Bx ja 6 °Bx), järgnes HP80/20 (6,2 °Bx ja 6,5 °Bx) ning HP100 Brix-väärtused jäid jällegi samaks (7,4 °Bx ja 7,6 °Bx) (Joonis 6).

Nordwise kultuuriga läbi viidud katses (Joonis 6) langes Brix-väärtus samuti NW50-50 proovil enim, kuid vähemal määral kui Sour Pitch ning Helveticus Pitch katsetes (16 h möödudes 6,5 °Bx), järgnes NW80/20 (6,8 °Bx) ning NW100 jäi samuti enam-vähem samaks (7,5 °Bx).

P100 katsete keskmine suhkrusisaldus oli 12 h möödudes 6,9 °Bx; 14 h möödudes 6,7 °Bx ning 16 h möödudes 6,52 °Bx, mis tähendab, et ainult pärmiga kääritatud kalja puhul kasutatakse 16 h möödudes rohkem suhkrut kui kõikidel 100% LAB-iga proovidel ning NW80/20 proovil, kuid ülejäänud proovidest vähem.

Maitse poolest olid 100% LAB-iga proovid samuti väga magusad ning hapu maitse avaldus õrnalt alles 16 h möödudes, kui üldse. Erandiks SP100, mille puhul tekkis hapu maitse varem ning oli 16 h möödudes väga happeline. Ülejäänud Sour Pitch ja Helveticus Pitch proovid olid kõik happelised, 16 h möödudes liiga intensiivselt, enne seda märgatavalt, kuid mitte veel häirivalt. Nordwise proovid olid lahjema maitsega, haput maitset oli tunda oluliselt vähem, maitse oli NW50/50 ja NW80/20 puhul nagu õrnalt hapukas kääritatud poekali.

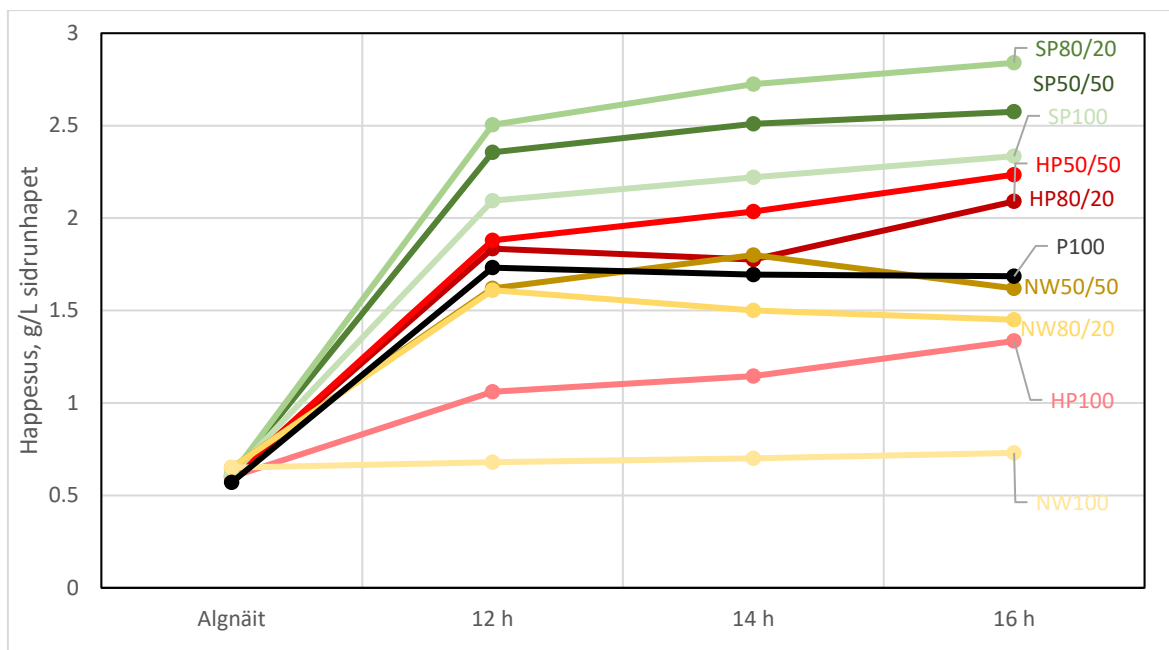
Brix võib vähesel määral erineda päris suhkruisaldusest, kuna väljendatav väärtus refraktomeetriga mõõdab sahharoosi kogust proovis, kus 1 g sahharoosi/100 g proovis on võrdne 1 Brix kraadiga (Mettler Toledo, s.a). Pärm lagundab käärimise käigus sahharoosi glükoosiks ja fruktoosiks (Marques et. al., 2016), mistõttu Brix-väärtus võib olla tegelikust erinev. Lidums *et al.* (2017) artiklis mõõdeti kaljaleivast toodetud filtreerimata-pastöriseerimata kalja toiteväärtust, ning tehti selgeks, et 100 grammis on seal 4,70 g suhkrut, mis peaks tähendama umbes 5 °Bx. 16 h käärinud SP50/50 ja HP50/50 proovid, millel mõlemal oli suhkruisaldus on 5,8 °Bx ja 6 °Bx, on kõige lähedasemad Lidums *et al.* (2017) katsetes kasutatud kaljale.

Piimhappebakterite toimel käärimisel leiti Lunelli, et. al. (2010) artiklis, et käärimist aeglustab liiga kõrge temperatuur ning vähene pärmi kogus, mis küll oleneb ka piimhappebakteri tüvest. Sellegipoolest võib 100% LAB proovide väike/olematu Brix-väärtuse langemine oleneda pärmi puudumisest käärimisel ja seeläbi aeglasest sahharoosi lagundamisest.

10.3 Kalja happesus (g/L sidrunhapet)

Jookide puhul on sidrunhappe kasutus ja sisaldus seotud peamiselt maitseomadustega ja välimusega – kõrgem sidrunhappe sisaldus tagab hapuma maitse ning erksamad värvid (Poerwono *et al.* 2001).

Katsetes leiti, et käärimise lõpuks oli suurim sidrunhappe sisaldus Sour Pitch kultuuridega kääritatud kaljal (Joonis 7): SP50/50 16 h möödudes 2,19 ja 2,96 g/L; SP80/20 puhul 2,74 ja 2,94 g/L; SP100 puhul 2,45 ja 2,22 g/L. Järgnes Helveticus Pitch (Joonis 7): HP50/50 väärtused 2,23 ja 1,95 g/L; HP80/20 2,35 ja 2,12 g/L; HP100 1,46 ja 1,21 g/L. Nordwise kultuuriga oli tulemuseks NW50/50 puhul 1,62 g/L; NW80/20 puhul 1,45 g/L ning NW100 väärtuseks 0,73 g/L (Joonis 7).



Joonis 7. Proovide happesuse (g/L sidrunhapet) muutumise dünaamika käärinise ajal.

Kõrgeim sidrunhappe sisaldus Sour Pitch ja Helveticus Pitch puhul oli 80-20 vahekorraga kaljal ning madalaim 100% LAB-iga (v.a katse 3 Sour Pitch-iga, kus madalaim oli sidrunhappe sisaldus SP50/50 puhul). Helveticus Pitch ja Sour Pitch madal pH ning kõrge happesus võivad olla tingitud nende piimhappebakterite kultuuri omadustega, nagu välja toodud Lallemand Brewery kodulehel, on mõlemad kultuurid mõeldud hapude õlude valmistamiseks, mis võrreldes Nordwise-iga annab happelisema kalja (Wildbrew Helveticus Pitch, s.a) (Wildbrew Sour Pitch, s.a).

P100 katsete keskmine happesus g/L sidrunhapet oli 16 h möödudes 1,69 g/L, mis tähendab, et sidrunhappe sisaldus oli 16 h käärinuna kõrgem kui kõigil Nordwise- ning HP100 proovidel.

Happesust kalja puhul g/L sidrunhappe sisalduse läbi tihti ei väljendata, kuid Kobelev (2018), on kirjutanud, et kääritatud poest saadavate kaljade happesus oli 1,15 g/L sidrunhapet, mis võrreldes käesolevas bakalaureusetöös võetud proovidega oli kohati üle 2 korra madalam, mis tähendab, et poeetil müüdavad kaljad on sel puhul väiksema sidrunhappe sisaldusega kui töös kääritatud kaljad (erandiks NW100 sidrunhappe sisaldusega 0,73 g/L). Kalja sidrunhappe sisalduse kohta rohkem informatsiooni ei leidunud, kuid teiste karastusjookide sidrunhappe sisalduse määrasid oma uurimuses Brima & Abbas (2014), kus 27 Najran'i linnast kogutud proovi põhjal tehti kindlaks sidrunhappe sisaldus (g/L)

energiajookides, mahlajookides ja karastusjookides. Energiajookide sidrunhappe sisalduseks said nad umbes 7,3 g/L sidrunhapet, mahlajookidel 2,79 g/L ning karastusjookidel 1,76 g/L. Võrreldes käesolevas uurimistöös saadud tulemustega, on Sour Pitch ja Helveticus Pitch kultuuridega saadud kaljad sidrunhappesisalduse poolest mahlajookide ja karastusjookide vahel, NW50/50 ja NW80/20 proovid on aga sarnased karastusjookidele.

Börekçi *et al.* (2021) kirjutasid oma artiklis, et *Saccharomyces cerevisiae*, mida kasutatakse ka antud töös, on üks sidrunhappe tootmiseks kasutatavaid mikroorganisme, mis võib põhjendada, miks Nordwise proovide ning HP100 sidrunhappe sisaldus on P100 proovidest madalam. Ülejäänud Helveticus Pitch ja kõik Sour Pitch proovid on aga P100 proovist kõrgemad, mis võib tuleneda inkubaatorist. Inkubaatoris olid kaljavirded 30 ja 38 °C juures, kuid P100 virded olid kõik toatemperatuuril (umbes 22 °C). 30 °C on Boulton & Quain (2001) raamatus nimetatud pruulimiseks kasutatavate pärmide jaoks optimaalseks temperatuuriks, mis võib põhjustada suurema sidrunhappe koguse. SP100 keskmist sidrunhappe kogust (2,34 g/L) ning Nordwise ning HP100 proovide madalat sidrunhappe kogust see ei põhjenda. Helveticus Pitch kultuuri, mis on sarnane Sour Pitch kultuurile, HP100 proovide keskmine sidrunhappe sisaldus oli märgatavalt väiksem (1,34 g/L).

Maitse poolest olid 12 tundi käärinud proovid Nordwise puhul lahjad ning magusad (nagu suhkruvesi). Sour Pitch ja Helveticus Pitch kultuuride puhul oli 50/50 ja 80/20 puhul juba haput maitst tunda. 14 tunni möödudes oli Sour Pitch ja Helveticus Pitch proovidel maitse hapu ning veel veidi magus, 16 tunni möödudes muutusid need proovid juba liiga happeliseks ning magusust polnud eriti tunda. Nordwise puhul avaldus 14 tunni möödudes NW50/50 proovil ka hapukas maitse, muidu oli jätkuvalt üsna magus ning veidi mõrkjas, mida Sour Pitch-il ja Helveticus Pitch-il eriti ei avaldunud.

10.4 Kalja sensoorne hindamine

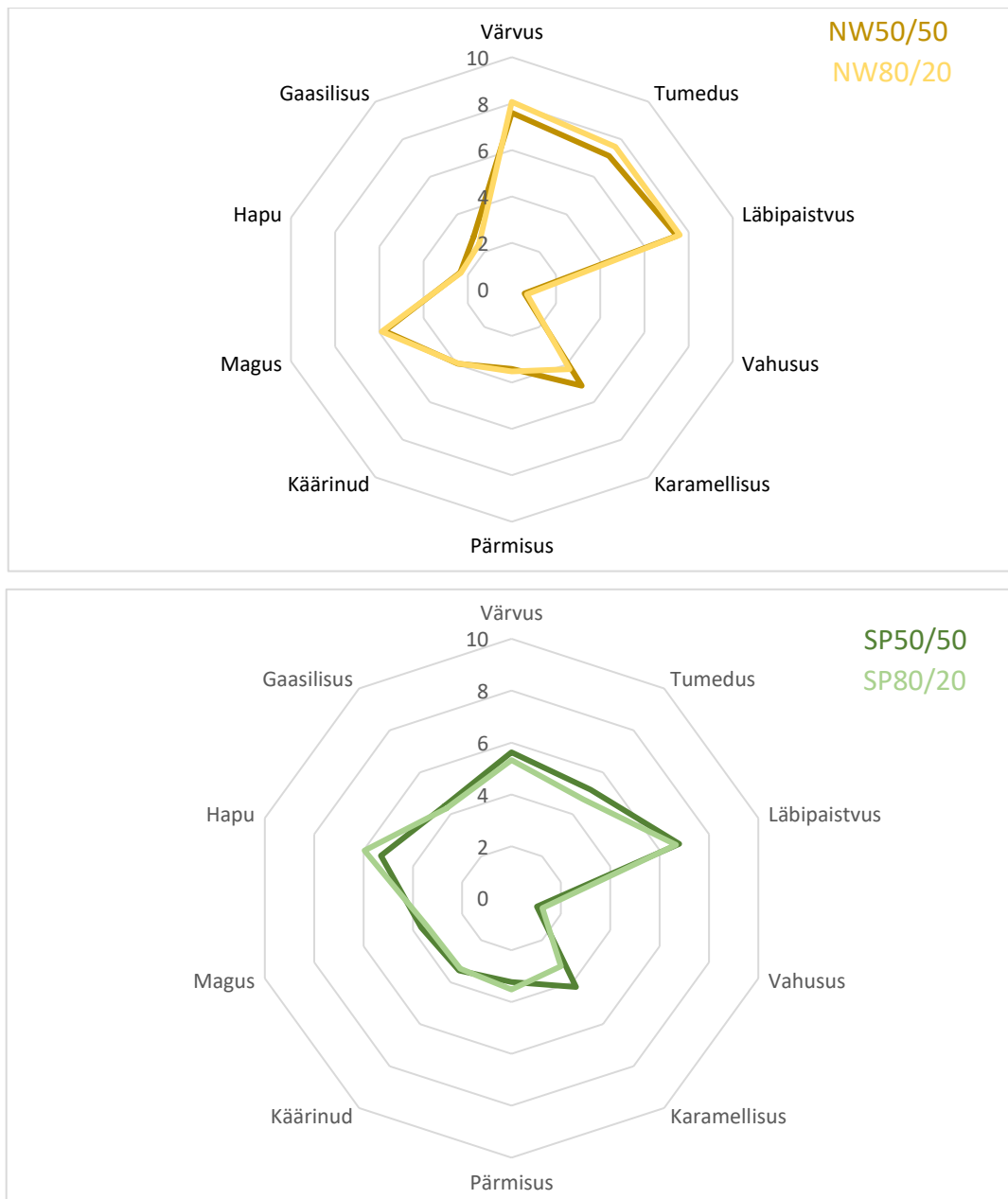
Sensoorse hindamise tulemustena leiti, et enamus hinnangu andjaid eelistasid kalja SP50/50 (keskmine hinnang 3,8) , millele järgnes SP80/20 (keskmine hinnang 3,65), kõige vähem meeldis NW80/20 (keskmine hinnang 3,15) ning rohkem eelistati Nordwise kaljadest NW50/50 (keskmine hinnang 3,55). Joonisel 9 on välja toodud võrkdiagrammid, kus on näha hinnangud kalja organoleptilistele omadustele. Ühe piimhappebakteri kultuuriga kääritatud

kaljade maitseprofiilid olid peaaegu identsed. Võrreldes Sour Pitch ja Nordwise kultuure omavahel, avaldusid erinevused. Nordwise kultuuriga kalja välimus oli tumedam ja pruunikam (Joonis 8). SP oli kollakam ja heledam (Joonis 8).



Joonis 8. Nordwise proovid (vasakul) ja Sour Pitch proovid (paremal).

Vahusust eriti ei täheldatud, kuid Sour Pitch kali oli Nordwise kaljast veidi vahusem. Lõhn oli karamelliseim NW50/50 kaljal, NW80/20 ja SP50/50 olid sama karamellised ning vähim täheldati SP80/20-l. Pärmisus oli kõigil kaljadel sama madal. Veidi käärinum lõhn oli Nordwise proovidel. Nordwise kaljad olid magusamad ning Sour Pitch hapumad. Kõrgemat gaasilisust täheldati samuti Sour Pitch kaljades.



Joonis 9. Proov NW50/50 ja NW80/20 (ülemine) ning SP50/50 ja SP80/20 (alumine) panelistide hinnangud organoleptilistele omadustele.

Sensoorse hindamise tulemuste läbi võib öelda, et happelisem kali (Sour Pitch) ei ole oluliselt parem vähem happelisest kaljast (Nordwise), hinnangud varieerusid olenevalt hindajate eelistusele. Suurimad erinevused väljendusid valitud LAB-kultuuridel maitstes ning välimuses, kus Sour Pitch oli heledam, kollasem, hapum ning vähem magusam Nordwise kultuurist.

11 Järeldused

Bakalaureusetöö eesmärk oli jälgida pärmis ja erinevate piimhappebakteri kultuuridega kääritatud kalja pH, suhkrusisalduse ($^{\circ}\text{Bx}$) ja happesuse (g/L sidrunhapet) muutusi. Algpunktiks võetud kaljavirre ilma kääritavate mikroorganismideta ning järgnevalt mõõdetud 12, 14 ja 16 tunni tagant käärinud kalja.

Eeltoodud näitajate kaudu leidis, et Nordwise *Lactobacillus plantarum* TAK59 piimhappebakteriga kääritatud kali oli kõrgeima pH-väärtusega, kõrgeima suhkrusisaldusega ning kõige väiksema happesusega terve käärimise ajal, mis tähendab, et käärimisel kasutati teiste piimhappebakteri kultuuridega võrreldes vähem suhkrut ning toodeti vähim happeid, kaasa arvatud sidrunhapet.

Wildbrew Sour Pitch *Lactobacillus plantarum* ning Helveticus Pitch *Lactobacillus helveticus* piimhappebakterite kultuurid olid eeltoodud näitajate põhjal sarnased. Suurimad erinevused väljendusid pH-tasemes, mis oli veidi madalam Sour Pitch kultuuril (SP50/50 – 3,81; SP80/20 – 3,64; SP100 – 3,54), võrreldes Helveticus Pitch-iga (HP50/50 – 3,92; HP80/20 – 3,85; HP100 – 3,99). ning sidrunhappe sisalduses, mis oli Sour Pitch kultuuril kõrgem (SP50/50 – 2,58 g/L; SP80/20 – 2,84 g/L; SP100 – 2,34 g/L) võrreldes Helveticus Pitch-iga (HP50/50 – 2,09 g/L; HP80/20 – 2,24 g/L; HP100 – 1,34 g/L). Suhkrusisaldus oli Wildbrew piimhappebakteri kultuuridel väga sarnane, 16 h käärinuna oli suhkrusisaldus HP50/50 5,75 $^{\circ}\text{Bx}$ ning SP50/50 5,9 $^{\circ}\text{Bx}$; HP80/20 – 6,3 $^{\circ}\text{Bx}$ ning SP80/20 – 6,35 $^{\circ}\text{Bx}$. Suurim erinevus, millele seletust ei leitud, oli puhtalt Sour Pitch piimhappekultuuriga kääritatud proovide kõrge sidrunhappesisaldus ja madal pH võrrelduna Helveticus Pitch ja Nordwise kultuuride 100% LAB käärimisega.

Töös esitatud hüpoteesi – „Suurema piimhappebakteri kultuuri osakaal kaljavirres annab käärides happelisema ning madalama suhkrusisaldusega kalja kui väiksema piimhappebakteri kultuuri osakaaluga kaljavirre.“ – lükkasid katsed ümber, ainsaks erandiks oli seoses happelisusega Sour Pitch kultuur, mille puhul suurem piimhappebakteri osakaal käärimisel viis pH taseme madalamale väiksema piimhappebakteri osakaaluga proovidest. Suhkrusisaldus oli kultuuride lõikes madalaim võrdselt pärmis ja piimhappebakteriga kääritatud katsetes mis tähendab, et rohkem suhkruid lagundatakse ja kasutatakse käärimises suurema pärmis osalusega kääritamisel.

Sensoorse hindamise käigus, kus võrreldi SP50/50, SP80/20 ja NW50/50, NW80/20 14 h kääritatud kalju, leiti, et veidi rohkem eelistati happelisemat kalja Sour Pitch kultuuri näol, kuid üldised hinnangud olid Sour Pitch kaljade (3,80 ja 3,65) ja NW50/50 (3,55) kalja puhul sarnased. Tulemustest võib järeldada, et hapum kali (Sour Pitch) ei ole organoleptiliselt oluliselt parem kui neutraalsem kali (Nordwise).

KOKKUVÕTE

Kali on tänapäeval Ida-Euroopas jätkuvalt populaarne karastusjook ning ka mujal maailmas on märgata kalja populaarsuse tõusu. Kuigi kalja juured ulatuvad tagasi vähemalt 1000 aastat, leitakse tänapäeval uusi meetodeid kalja tootmiseks. Üks neist meetoditest on käärimine kaljal läbi viia piimhappebakterite läbi, jättes traditsiooniliselt kasutusel oleva pärmiga käärimisest välja. Selle tulemusena on kali hapum ja värvuselt kahvatum, kuid säilib kauem, mis on tänapäeval üks olulisimaid toote omadusi. Organoleptika osas jääb selliselt valmistatud kali veidi alla traditsiooniliselt pruulitud kaljale, kus pärm ja piimhappebakterid viivad käärimist koos läbi. Üks võimalus edendada kalja säilivust ja stabiilsust, samal ajal säilitades kaljale iseloomulikud omadused, on suurendada piimhappelise käärimise osakaalu, kuid kasutada ka pärmiga. Lisaks piimhappelise käärimise osakaalu suurendamisele on oluline, millist piimhappebakterikultuuri kasutada. Pärmiga puhul viiakse käärimist läbi enamasti ühe ja sama liigiga, *Saccharomyces cerevisiae*, kuid piimhappebakterite hulgas on valikuvариante väga suurel hulgal. Seega on oluline, mis kultuuri käärimisel kasutada, sellest võivad oleneda kalja organoleptilised- ning füüsikalised-keemilised omadused.

Bakalaureuse töös uuriti kolme piimhappebakterikultuuri mõju ainuüksi või koos pärmiga erinevates osakaaludes kalja happelisusele, suhkruisaldusele ja happesusele 16 h jooksul, mil 12 kuni 16 h vahemikus võeti iga kahe tunni tagant kaljast proovid ja analüüsiti. Saadud tulemused lükkasid ümber hüpoteesi, et kõrgema piimhappebakteri osakaaluga virdest saab happelisema kalja, kuna kahe piimhappebakteri kultuuri puhul oli kõrgeim pH-väärtus käärimise lõpuks 100% LAB-iga kääritatud kaljal. Kasutades nii LAB kui ka pärmiga oli küll suurema piimhappebakteri osakaaluga kalja pH madalam väiksema LAB-osakaaluga kaljast, kuid selle arvelt oli suhkruisaldus kõrgem.

Sensoorse hindamise tulemusena, kus hinnati 14 h kääritatud kalja, millest ühe piimhappebakterikultuuriga (*Sour Pitch Lactobacillus plantarum*) kääritatud kali oli teisest (*Nordwise Lactobacillus plantarum* TAK59) oluliselt happelisem leiti, et veidi rohkem eelistatakse happelisemat kalja Sour Pitch kultuuri näol, kuid üldiste hinnagute vahe oli väike, mis näitab, et happelisem kali ei ole organoleptiliselt oluliselt parem kui vähem happeline kali ning inimeste eelistused on väga erinevad.

Piimhappeline käärimine on populaarne paljude toiduainete tootmisel ning kalja puhul on seda võimalik ära kasutada lisaks toote omaduste edendamisele ka turunduslikult. Pärimisel käärimist võidakse seostada alkoholsete jookidega, kuid piimhappelise käärimise puhul seda seost enamasti ei looda – piimhappebaktereid vaadeldakse näiteks probiootilisena ning tervisele kasulike mikroorganismidena. Igal juhul on piimhappelise käärimise edendamine kaljas väärtuslik samm, olgu see siis turunduslikel või tehnoloogilisel eesmärgil. Piimhappelise käärimise ning erinevate piimhappebakterite kultuuride mõju kaljale ulatuslikum uurimine võib anda tulevikus huvitavaid ja rakendatavaid teadmisi.

KASUTATUD ALLIKAD

- A. Le Coq. (s.a). Kalja valmistamise tehnoloogia. [veebileht] <https://www.alecoq.ee/kaljast-lisaks/kalja-valmistamise-tehnoloogia/> (19.02.2021)
- A. Le Coq. (s.a). Kaljad. [veebileht] <https://www.alecoq.ee/en/products/kvass/> (20.05.2022)
- Ashaolu, T. L., & Reale, A.** (2020). A Holistic Review on Euro-Asian Lactic Acid Bacteria Fermented Cereals and Vegetables. – *Microorganisms*, Vol. 8, No. 8, pp. 1176.
- Basinskiene, L., Juodeikiene, G., Vidmantiene, D., Tenkanen, M., Makaravicius, T., & Bartkiene, E.** (2016). Non-Alcoholic beverages from fermented cereals with increased oligosaccharide content. – *Food technology and biotechnology*, Vol. 54, No. 1, pp. 36-44.
- BioCC. (s.a). Lactobacillus plantarum. [veebileht] <https://biocc.eu/probiotics/tak-59/> (10.05.2022)
- Börekcı, B. S., Kaban, G., & Kaya, M.** (2021). Citric Acid Production of Yeasts: An Overview. – *The EuroBiotech Journal*, pp. 79-91.
- Boulton, C., Quain, D.** (2001). Brewing yeast and fermentation. Blackwell Publishing. pp. 86, 424
- Brima, E. I., & Abbas, A. M.** (2014). Determination of Citric acid in Soft drinks, Juice drinks and Energy drinks using Titration. – *International Journal of Chemical Studies*, pp. 30-34.
- Dlusskaya, E., Jänsch, A., Schwab, C., & Gänzle, M. G.** (2008). Microbial and chemical analysis of a kvass fermentation. – *European Food Research and Technology*, Vol. 227, 261-266.
- Drombokis, V.** (2010). Quality and Classification Requirements for Kvass and Kvass (Malt). (vastu võetud 30.09.2010) Läti Vabariik. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/lat206606.pdf> – *FAO Taar – EE* (Kd. 9). Tallinn, Eesti: Eesti Entsüklopeediakirjastus, 1996, lk 425.
- Eliseev, M. N., & Alexeyeva, O. M.** (2018). Identification Of Soft Drinks And Kvass Fermentation Drinks. – *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical*, Vol. 9, No. 3, pp. 697-701.
- REGULATION (EU) No 1169/2011 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL. (vastu võetud 25.10.2011, muudetud 25.11.2015) <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02011R1169-20180101> – *Eur-Lex*.
- Garshol, L. M.** (2019). Historical Brewing Techniques: The Lost Art of Farmhouse Brewing. pp. 254.
- Gibson, B., Geertman, J.-M. A., Hittinger, C. T., Krogerus, K., Libkind, D., Louis, E. J., . . . Sampaio, J. P.** (2017). New yeasts—new brews: modern approaches to brewing yeast design and development. – *FEMS Yeast Research*, Vol. 17, No. 4.
- Gustavson, H.** (1985). Karastusjoogid allikaveest limonaadini. Tallinn: Valgus. lk. 31-36.
- Hornsey, I. S.** (2003). A History of Beer and Brewing. pp. 5-8, 80-81.
- Hornsey, I. S.** (2012). Alcohol and Its Role in the Evolution of Human Society. The Royal Society of Chemistry. pp. 297-298.

- Jargin, S. V.** (2009). Kvass: A Possible Contributor to Chronic Alcoholism in the Former Soviet Union—Alcohol Content Should Be Indicated on Labels and in Advertising. – *Alcohol and Alcoholism*, Vol. 44, No. 5, pp. 529.
- Kobelev, K. V., Filimonova, T. I., & Borisenko, O. A.** (2011). Yeast and lactic bacteria in manufacture of kvass. – *Beer and Beverages*, No. 2, pp. 30-32.
- Kocher, G., Phutela, R., & Gill, M.** (2011). Preparation and evaluation of red wine from Punjab purple variety of grapes. – *International Journal of Food and Fermentation Technology*, Vol. 1, No. 1, pp. 133-136.
- Lidums, I., Karklina, D., & Kirse, A.** (2014). Quality changes of naturally fermented kvass during production stages. – *FoodBalt 2014*. Jelgava: Latvian University of Agriculture, pp. 188-191.
- Lidums, I., Karklina, D., & Kirse, A.** (2016). Quality parameters of fermented kvass extract. – *Chemical Technology*, Vol. 67, No. 1, pp. 73-76.
- Lidums, I., Karklina, D., Kirse-Ozolina, A., & Sabovics, M.** (2017). Nutritional value, vitamins, sugars and aroma volatiles in naturally fermented and dry kvass. – *11th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food science and technology in a changing world”*. Jelgava: Latvian University of Agriculture, pp. 61-65
- Lõuna pagarid. (s.a). Õlle-kaljateo leib [veebileht] <http://www.lounapagarid.ee/toode/olle-kaljateo-leib/> (10.02.2022)
- Lumdubwong, N.** (2019). Applications of Starch-Based Films in Food Packaging. – *Reference Module in Food Science*.
- Lunelli, B., Andrade, R. A., Maciel, M. R., Filho, F. M., & Filho, R. M.** (2010). Production of Lactic Acid from Sucrose: Strain Selection, Fermentation, and Kinetic Modeling. – *Applied Biochemistry and Biotechnology*, pp. 227-237.
- Marques, W. L., Raghavendran, V., Stambuk, B. U., & Gombert, A. K.** (2016). Sucrose and *Saccharomyces cerevisiae*: a relationship most sweet. – *FEMS Yeast Research*, Vol. 16, No. 1.
- Melkadze, A.** (2020). Sales volume of kvass in Russia 2015 to 2019 [veebileht] <https://www.statista.com/statistics/1176105/sales-volume-of-kvass-in-russia/>
- Mettler Toledo. (s.a). Brix Measurement [veebileht] <https://www.mt.com/gb/en/home/perm-lp/product-organizations/ana/brix-meters.html> (15.05.2022)
- Kvass. (vastu võetud 03.06.2018, muudetud 08.10.2018). - *GOV*. Warsaw. <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/kwas-chlebowy> (24.02.2021)
- Montet, D., Ray, R. C., & Zakhia-Rozis, N.** (2014). Lactic Acid Fermentation of Vegetables and Fruits. – *Microorganisms and Fermentation of Traditional Foods*, pp. 108-140.
- Moreno, J., & Peinado, R.** (2012). Changes in Acidity after Fermentation. – *Enological Chemistry*, pp. 271-287.
- Nordwise. (s.a). Leiva juuretis. [veebileht] <https://nordwise.eu/collections/nordwise-juuretised/products/leiva-juuretis> (15.05.2022)

- Poerwono, H., Higashiyama, K., Kubo, H., Poernomo, A. T., Suharjono, Sudiana, I. K., . . . Brittain, H. G.** (2001). Citric Acid. – *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*, Vol. 28, pp. 1-76.
- Poikalainen, V., & Lepasalu, L.** (2011). Kaljal ja kaljal on vahe. - *Maaleht*. [e-ajakiri] <https://maaleht.delfi.ee/artikkel/62368092/kaljal-ja-kaljal-on-vahe> (30.05.2022)
- Polnews. (2021). FoodLand - Polish shop in Wallsend near Newcastle. [e-ajakiri] <https://www.polnews.uk/index.php/katalog-firm/64-polski-sklep-newcastle-wallsend.html> (05.03.2021)
- Pruulikeskus. (s.a). Brewferm Royal Bubbler 5 l. [veebileht] <https://www.pruulikeskus.ee/toode/brewferm-royal-bubbler-5-l/> (20.05.2022)
- Ross, R. P., Morgan, S., & Hill, C.** (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. – *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 79, No. 1-2, pp. 3-16.
- Saku Õlletehas. (s.a). Karl Friedrich Kali. [veebileht] <https://saku.ee/et/products/karl-friedrich/karl-friedrich-kali/?Ckey=30204> (15.05.2022)
- Saku Õlletehas. (s.a). Karl Friedrich Kali Mustsõstar. [veebileht] <https://saku.ee/et/products/karl-friedrich/karl-friedrich-kali-mustsostar/?Ckey=30204> (15.05.2022)
- Sõukand, R., Pieroni, A., Biro, M., Denes, A., Dogan, Y., Hajdari, A., . . . Luczaj, L.** (2015). An ethnobotanical perspective on traditional fermented plant foods and beverages in Eastern Europe. – *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 170, pp. 284-296.
- The Kvas Company. (s.a). [veebileht] <https://www.thekvascompany.com/> (02.04.2021)
- Virginia Department of Health. (2018). Acetic acid. [veebileht] <https://www.vdh.virginia.gov/epidemiology/epidemiology-fact-sheets/acetic-acid/>
- Võrk, P.** (2016). Garanteeritud traditsioonilise toote registreerimistaotlus. (taotlus esitatud 18.07.2016) - *Agri*. [veebileht] <https://www.agri.ee/sites/default/files/content/ministeerium/2016/registreerimistaotlus-kali-2016-08.pdf>
- Lallemand Brewery (s.a). Wildbrew Helveticus Pitch. [veebileht] <https://www.lallemandbrewing.com/en/canada/product-details/wildbrew-helveticus-pitch/> (10.05.2022)
- Lallemand Brewery (s.a). Wildbrew Sour Pitch. [veebileht] <https://www.lallemandbrewing.com/en/canada/product-details/wildbrew-sour-pitch/> (10.05.2022)
- Иина, Е. В.** (2006). Малые предприятия по производству пива, безалкогольных напитков, спирта и ликёроводочных изделий. ДеЛи Принт, Москва, pp 128.
- Ivanova, E. G., Kiseleva, L. V., & Lenets, N. G.** (2006). Технология квасов брожения. – *Отраслевой научно-практический журнал*, No., pp. 2, 50-53.

Khvostovskaya, D., Khalil, M., & Ivanchenko, O. (2014). Квас: новое и хорошо забытое старое.

Отраслевой научно-практический журнал Индустрия напитков, No. 5, pp. 38-43.

Kobelev, K. V. (2018). Исследование сравнительных характеристик кваса. – *Пиво и Напитки*, pp. 38-41.

Russian GOST. (2012). *ГОСТ 31494 – Квасы. – Общие технические условия*. Москва.

LISAD

Lisa 1. Sensorika leht hindajatele „Hapendatud kalja sensoorne hindamine“

Nimi:

Kuupäev:

Hapendatud kalja sensoorne hindamine

Välimus

Värvus	-----
	0-kollane 10-pruun
Tumedus	-----
	0-hele 10-tume
Läbipaistvus	-----
	0-läbipaistev 10-läbipaistmatu
Vahusus	-----
	0-pole vahtu 10-väga vahune

Muu tähelepanek:

Lõhn

Karamelline	-----
	0-pole tunda 10-intensiivne
Pärmine	-----
	0-pole tunda 10-intensiivne
Käärinud	-----
	0-pole tunda 10-intensiivne

Muu tähelepanek:

Maitse

Magus	-----
	0-pole tunda 10-väga magus
Hapu	-----
	0-pole tunda 10-väga hapu
Gaasiline	-----
	0-pole tunda 10-väga gaasiline

Lisa 1 järg.

Üldine hinnang

	1-kõlbmatu	2-ebameeldiv	3-rahuldav	4-hea	5-väga hea
1a					
1b					
2a					
2b					

Võrdluskatsed

1a vs 1b

Kumba eelistad?

Mis erinevusi täheldad

.....

2a vs 2b

Kumba eelistad?

Mis erinevusi täheldad

.....

1a vs 2a

Kumba eelistad?

Mis erinevusi täheldad

.....

1b vs 2b

Kumba eelistad?

Mis erinevusi täheldad

.....

LIHTLITSENTS

Lihlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Sven Sören Taimalu,
(sünnipäev 26.06.1999)

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihlitsentsi) enda loodud lõputöö Kalja valmistamisel käärimis-hapendamisprotsesside parameetrite jälgimine, mille juhendaja on Anna Pisponen,

- 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
- 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
- 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor _____ /digitaalselt allkirjastatud/ _____
allkiri

Tartu, 31.05.2022

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

_____ Anna Pisponen _____ /digitaalselt allkirjastatud/ _____
(juhendaja nimi ja allkiri) (kuupäev)