

# KVALITETA SLADOVINE I PIVA S UDJELOM NASLAĐENE PREKRUPE PROIZVEDENE KORIŠTENJEM RAZLIČITIH VIŠESTUPANJSKIH INFUZIJSKIH POSTUPAKA UKOMLJAVANJA

---

Držić, Fran

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac  
University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:128:770878>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-25**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied  
Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**  
**PRERADA MLIJEKA/PIVARSTVO**

**FRAN DRŽIĆ**

**KVALITETA SLADOVINE I PIVA S UDJELOM NESLAĐENE PREKRUPE**  
**PROIZVEDENE KORIŠTENJEM RAZLIČITIH VIŠESTUPANJSKIH**  
**INFUZIJSKIH POSTUPAKA UKOMLJAVANJA**

**ZAVRŠNI RAD**

**KARLOVAC, 2022**

**Veleučilište u Karlovcu**  
Stručni studij Prehrambena tehnologija  
Pivarstvo

Fran Držić

Kvaliteta sladovine i piva s udjelom neslađene prekrupe proizvedene  
korištenjem različitih višestupanjskih infuzijskih postupaka  
ukomljavanja

Završni rad

Mentor: dr. sc. Goran Šarić v.pred.  
Komentor: dr. sc. Iztok Jože Košir  
Broj indeksa studenta: 0314673031

Karlovac, rujan, 2022.



*Zahvala*

*Velika zahvala Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije na ustupanju laboratorija te varionice za eksperimentalne šarže u svrhu izrade ovoga rada. Posebne zahvale doc.dr. Izotku Joži Koširu te Janezu Ozimeku na pomoći pri provedbi praktičnoga dijela rada u varionici te laboratoriju.*

*Hvala mentoru dr.sc. Goranu Šariću na pomoći pri pisanju rada i prenesenome znanju.*

## IZJAVA O AUTENTIČNOSTI ZAVRŠNOG RADA

Ja, **Fran Držić**, ovime izjavljujem da je moj završni rad pod naslovom **Kvaliteta sladovine i piva s udjelom nesladene prekrupe proizvedene korištenjem različitih višestupanjskih infuzijskih postupaka ukomljavanja** rezultat vlastitog rada i istraživa te se oslanja se na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio ovoga rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši autorska prava.

Sadržaj ovoga rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Karlovac, rujan, 2022.

Ime i prezime studenta

---

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Veleučilište u Karlovcu  
Odjel prehrambene tehnologije  
Stručni studij prehrambena tehnologija

Završni rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Kvaliteta sladovine i piva s udjelom nesladene prekrupe proizvedene korištenjem različitih višestupanjskih infuzijskih postupaka ukomljavanja**

*Fran Držić*

Rad je izrađen na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije  
Mentor: Dr.sc.Goran Šarić, v. pred.

### Sažetak

U eksperimentu je proizveden „oatmeal stout“, koji kao nesladenu sirovinu sadrži zobene pahuljice, čija je specifičnost povećani udio proteina te  $\beta$ -glukana. Cilj je rada bio istražiti razlike u kvaliteti proizvedenoga piva, hmeljene sladovine i sladovine proizvedene ukomljavanjima sa različitim temperaturnim stankama. Provedena su 3 različita ukomljavanja: Sa 1 stankom (66.5 °C), 2 stanke (62 i 72 °C) te 4 stanke (45, 50, 62, 72 °C) tijekom sva tri navedena postupka bila je uzorkovana sladovina, hmeljena sladovina te pivo, a na spomenutim je uzorcima mjereno više parametara, kao što su: pH, koncentracija ekstrakta, koncentracija cjelokupnog, visokomolekularnog, srednjemolekularnog, niskomolekularnog te slobodnog amino dušika, boja, gorčina, udio alkohola i viskoznost.

Broj stranica: 49

Broj slika: 29

Broj tablica: 23

Broj literaturnih navoda: 16

Broj priloga: -

Jezik izvornika: hrvatski

**Ključne riječi:** Infuzijsko ukomljavanje, nesladene sirovine, pivo, sladovina, temperaturne stanke

**Datum obrane:** 19.09. 2022

### Stručno povjerenstvo za obranu:

1. dr. sc. *Marijana Blažić*, prof. v.š.
2. dr. sc. *Goran Šarić*, v. pred.
3. dr. sc. *Sandra Zavavlav*, prof. v.š.
4. dr. sc. *Bojan Matijević* prof. v.š. (zamjena)

Rad je pohranjen u knjižnici Veleučilišta u Karlovcu, Trg J.J. Strossmayera 9, 4700 Karlovac

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

Karlovac University of Applied Sciences  
Department of Food Technology  
Professional Study of Food Technology

Final paper

Scientific Area: Biotechnical Sciences  
Scientific Field: Food Technology

Quality of wort and beer with unmalted adjuncts produced using different multistep infusion mashes  
*Fran Držić*

Final paper performed at Slovenian Institute of Hop Research and Brewing  
Supervisor: Ph.D. *Goran Šarić*, sen. lecturer

### Abstract

During The experiment "oatmeal stout" was produced which contains oatmeal as an unmalted adjunct, the specificity of which is increased content of protein and  $\beta$ -glucan. The aim of this study was to determine the differences in the quality of beer, hopped wort and wort produced by mashing with different temperature breaks. 3 different mashing profiles were performed: With 1 break (66.5°C), 2 breaks (62 and 72°C) and 4 breaks (45, 50, 62, 72 C). Of all three batches produced, samples of wort, hopped wort and beer were taken, and several parameters were measured, such as: pH, extract concentration, concentration of total, high molecular weight, medium molecular weight, low molecular weight and free amino nitrogen, color, bitterness, alcohol content and viscosity.

Number of pages: 49

Number of figures: 29

Number of tables: 23

Number of references: 16

Original in: Croatian

Key words: Beer, infusion mash, temperature breaks, unmalted adjuncts, wort

Date of the final paper defense: 19.09.2022

### Reviewers:

1. Ph.D. *Marijana Blažić*, college prof.
2. Ph.D. *Goran Šarić*, sen. lecturer
3. Ph.D. *Sandra Zavadlav*, college prof
4. Ph.D. *Bojan Matijević*, college prof. (substitute)

Final paper deposited in: Library of Karlovac University of Applied Sciences, J.J. Strossmayera 9, 4700 Karlovac



## SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....  | 1  |
| 2. TEORIJSKI DIO .....   | 2  |
| 2.1. POSTUPCI U PROIZVODNJI PIVA .....                                       | 2  |
| 2.1.1. Mljevenje .....   | 2  |
| 2.1.2. Ukomljavanje .....  | 4  |
| 2.1.3. Ispiranje i odvajanje sladovine .....                                 | 12 |
| 2.1.4. Kuhanje .....   | 13 |
| 2.1.5. Taloženje i hlađenje .....  | 13 |
| 2.1.6. Fermentacija i odležavanje .....                                      | 13 |
| 2.2. Sastav zrna ječma .....   | 14 |
| 2.2.1. Anatomijski sastav zrna ječma .....                                   | 14 |
| 2.2.2. Kemijski sastav zrna ječma .....                                      | 15 |
| 2.3. Sastav zrna zobi .....  | 17 |
| 2.3.1. Kemijski sastav zrna zobi .....                                       | 17 |
| 2.4. Proizvodnja i karakteristike zobnih pahuljica .....                     | 18 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....   | 19 |
| 3.1. MATERIJALI .....  | 19 |
| 3.1.1. Uređaji i oprema .....  | 19 |
| 3.2. Metode .....  | 21 |
| 3.3. Postupci ukomljavanja .....   | 24 |
| 3.3.1. Prvo ukomljavanje (ukomljavanje s jednom temperaturnom stankom) ..... | 25 |
| 3.3.2. Drugo ukomljavanje (ukomljavanje sa dvije temperaturne stanke) .....  | 26 |
| 3.3.3. Treće ukomljavanje (ukomljavanje s četiri temperaturne stanke) .....  | 27 |
| 4. REZULTATI .....   | 28 |
| 4.1. SLADOVINA .....   | 30 |
| 4.2. HMELJENA SLADOVINA .....  | 32 |
| 4.3. PIVO .....  | 40 |
| 5. RASPRAVA .....  | 50 |
| 6. ZAKLJUČAK .....   | 54 |
| 7. LITERATURA .....  | 55 |
| 7.1. Popis slika .....   | 56 |
| 7.2. Popis grafova .....   | 57 |
| 7.3. Popis tablica .....   | 58 |

## 1.UVOD

Pivo je osvježavajuće piće s niskim alkoholnim udjelom, za koje se zna više od pet tisuća godina. Pretpostavlja se da je pivo prvo namjerno proizvedeno alkoholno piće, iako je do njegovog otkrića došlo slučajno, divljom fermentacijom vode u kojoj se namakao kruh. Od prvih fermentiranih kaša pivarska se tehnologija značajno razvila, a snjom i razumijevanja procesa koji se događaju pri pretvorbi slada, hmelja i vode u pivo.

Današnji se pivari, zbog suvremenih postupaka proizvodnje slada, susreću s nikad kvalitetnijim sirovinama za proizvodnju piva. Suvremeni je slad, pogotovo onaj namijenjen manjim proizvođačima piva, visoko modificiran, ujednačen te bogat slobodnim amino dušikom. Iz navedenih je razloga kod malih proizvođača piva sve uvržeženija praksa korištenja jednostupanjjskih infuzijskih postupaka ukomljavanja, kako za piva isključivo od ječmenoga slada, tako i za piva s udjelom neslađene prekrupe. Postupci dekokcije te višestupanjjskih infuzijskih ukomljavanja za kućne te zanatske pivare ostali su samo rudiment iz vremena slabije modificiranih sladova te su rezervirani samo za industrijsku proizvodnju koja koristi velike količine jeftinijega slada slabije kvalitete te dio prekrupe zamjenjuje neslađenim sirovinama.

U predmentnom radu cilj je istražiti utjecaj korištenja različitog broja temperaturnih stanki na značajke proizvedene sladovine i piva s udjelom neslađene prekrupe te utvrditi je li izostavljanje optimalnih temperaturnih stanki za svaki od aktivnih enzima opravdano. Kao uzorak za istraživanje korišten je tradicionalni britanski stil piva „oatmeal stout“. Takvo je pivo pogodno za istraživanja zbog udjela zobi u sladnoj prekrupi, koja je bogata proteinima topljivima u sladovini te spojevima koji utječu na viskoznost piva, kao što su  $\beta$ -glukani. Zob će biti korištena u obliku zobenih pahuljica koje su prethodno želatinizirane zbog čega taj postupak nije potrebno provoditi u varionici.

Formatted: Left, Line spacing: 1,5 lines

Formatted: Font: 12 pt, Not Bold

## 2. TEORIJSKI DIO

Najvažnija je varijabla ovoga rada postupak ukomljavanja. Iz tog je razloga spomenuti postupak u proizvodnji piva opisan s najviše detalja, s naglaskom na infuzijsko ukomljavanje, koje je tema ovoga rada. Od ostalih su postupaka proizvodnje piva ukratko opisani postupci mljevenja, cijedenja, kuhanja, taloženja i hlađenja te fermentacije i odležavanja. Ukratko su opisani anatomske i kemijske sastav zrna ječma i ječmenoga slada te sastav i građa zobi

### 2.1. POSTUPCI U PROIZVODNJI PIVA

#### 2.1.1. Mljevenje

Mljevenje slada prvi je postupak u proizvodnji piva. Njegova važnost leži u razbijanju pljevice, što je potrebno kako bi voda došla u dodir sa škrobom unutar endosperma zrna, čime počinje postupak razlaganja istog na jednostavnije šećere.

Ovisno o postupku cijedenja koji se koristi, postoje različite vrste mljevenja.

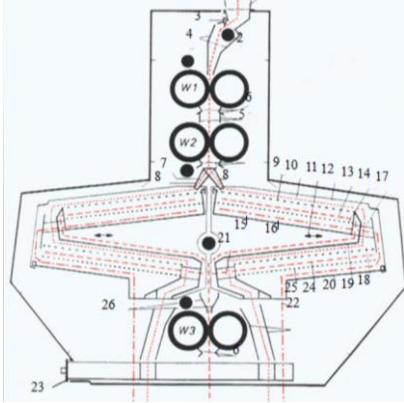
Pri korištenju cijednjaka najčešće se koristi suho mljevenje slada pomoću mlinova s valjcima. Idealni sastav sladne prekrupe dobivene takvim mlinovima je 20% pljevice, 50% krupice i 30% brašna. Takvi su omjeri bitni kako bi se postigla optimalna ekstrakcija, ali i brzina cijedenja. Ukoliko se udio pljevice u prekrupi smanji, povećava se udio ekstrakta, ali se cijedenje znatno otežava, dok se smanjenjem udjela brašna, a povećanjem udjela pljevice brzina cijedenja povećava, ali se udio ekstrakta u sladovini smanjuje.

Formatted: Font: 12 pt, Not Bold

Formatted: Normal, Left, Line spacing: 1,5 lines

Formatted: Font: 12 pt

Formatted: Left, Line spacing: 1,5 lines



Slika 1: Šema mlina za slad sa 6 valjaka

(Izvor:

[https://www.zhbrewery.com/data/editor/php/image/20200113/20200113171308\\_13205.png](https://www.zhbrewery.com/data/editor/php/image/20200113/20200113171308_13205.png),  
pristupljeno 19.5.2022)

Ukoliko se u svrhu odvajanja sladovine od tropa koristi kominski filter, slad može biti mljeven finije, do konzistencije krupice, čime se povećava udio ekstrakta u sladovini, dok se zbog korištenja kominskog filtra ne stvaraju problemi pri cijeđenju. U tu svrhu najčešće se koriste mlinovi čekićari.

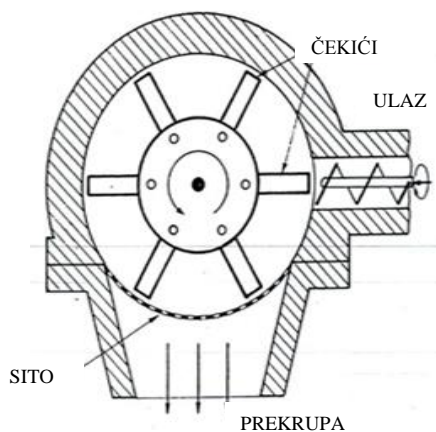
Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Field Code Changed

Formatted: Hyperlink, Font: 12 pt, Not Italic



Slika 2: Shema mlina čekičara

(Izvor : <https://www.pharmanotes.org/2021/10/hammer-mil.html>, pristupljeno 21.5.2022)

### 2.1.2. Ukomljavanje

Ukomljavanje je proces korišten u pivarskoj industriji te u proizvodnji pojedinih žestokih alkoholnih pića. Svrha je procesa razgraditi nefermentabilni škrob na jednostavnije fermentabilne šećere djelovanjem enzima. Ukomljavanje se provodi miješanjem prekrupe (mješavina žitarica koje ulaze u proces ukomljavanja) s vodom na poželjnoj temperaturi za aktivaciju željenih enzima. Ulazne sirovine u proces najčešće su ječmeni slad, a rjeđe pšenični, raženi ili zobeni. Pri procesu ukomljavanja ključno je koristiti sladene žitarice zbog enzima nastalih u procesu sladenja, bez kojih se škrob ne može razgraditi na jednostavnije šećere. Uz sladene žitarice, mnogi proizvođači piva zbog uštede ili poboljšanja određenih svojstava piva koriste i nesladene žitarice, kao što su kukuruzna krupica, nesladeni ječam, zobene pahuljice, riža itd. Važno je napomenuti kako udio neslađenih žitarica u prekrupi ne smije prelaziti 20% kako bi enzimski potencijal sladenih žitarica bio dovoljan da razgradi škrob iz neslađenih žitarica.

### **Enzimi aktivni pri ukomljavanju**

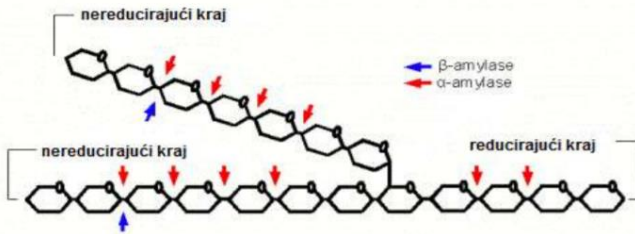
Najvažniji enzimi koji sudjeluju u procesu razgradnje škroba su  $\alpha$  i  $\beta$ -amilaza, proteinaze i peptidaze, glukanaze te pitaza. Svi od navedenih enzima imaju optimalan temperaturni te pH raspon djelovanja, ali su, u manjoj mjeri, aktivni i pri višim i nižim temperaturama i pH vrijednostima od optimalnog raspona.

#### **$\beta$ -amilaza**

$\beta$ -amilaza je enzim odgovoran za proces šećerenja sladovine. Spomenuti proces podrazumijeva cijepanje dekstrinskih lanaca škroba na molekule od 2 glukoze jedinice, koja se naziva maltoza. Osim maltoze, u manjem postotku nastaju i glukoza te maltotriosa. Navedeni su šećeri fermentabilni za većinu sojeva kvasaca. To je razlog zbog kojeg se dužim pogodovanjem djelovanju  $\beta$ -amilaze dobiva „suho“ pivo, odnosno pivo s manjim udjelom neprevreloga ekstrakta. Optimalni su uvjeti za djelovanje  $\beta$ -amilaze temperatura od 60 do 65°C te pH između 5,4 i 5,6. (Mosher, Trantham, 2017)

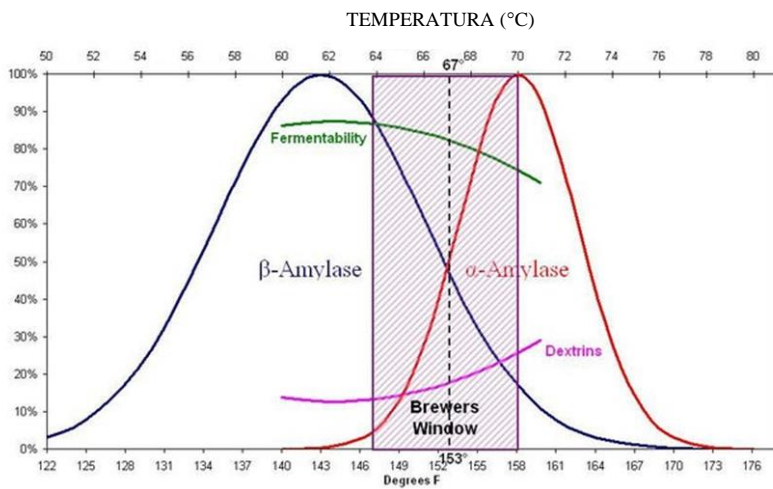
#### **$\alpha$ -amilaza**

$\alpha$ -amilaza je enzim odgovoran za proces likvefakcije. Spomenuti proces podrazumijeva cijepanje dugačkih lanaca škroba amiloze i amilopektina na kraće lance (dekstrine) koji sadrže 7 do 10 glukoza jedinica. Pogodovanjem djelovanju ovoga enzima dobiva se pivo punijega tijela, odnosno pivo s većim udjelom neprevreloga ekstrakta. Optimalni su uvjeti za djelovanje ovoga enzima temperatura od 72 do 75°C te pH između 5,6 i 5,8. (Mosher, Trantham, 2017)



Slika 3: Djelovanje  $\alpha$  i  $\beta$ -amilaze

(Izvor: <https://core.ac.uk/download/pdf/197869529.pdf>, pristupljeno 22.5.2022)



Slika 4: Temperaturni raspon djelovanja enzima

(Izvor: <https://missionarybrewer.wordpress.com/2012/02/01/the-brewers-window-what-temperature-should-i-mash-at/> pristupljeno 22.5.2022)

## **Fitaza**

Fitaza je enzim čiji je optimalan pH raspon djelovanja između 3 i 5 te temperaturi između 30 i 52°C. Spomenuti enzim katalizira reakcije molekula koje sadrže fosfatne skupine. U sladovini se, uz pomoć fitaze, hidrolizira fitinska kiselina, čime se stvara do 5 molekula dihidrogen fosfata ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), a u nekim slučajevima i fosforna kiselina ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) te hidrogenfosfat ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ), ovisno o mineralnom sastavu te pH vode. (Mosher, Trantham 2017) Pogodovanje optimalnome djelovanju spomenutoga enzima rezultira snižavanjem pH otopine. Stanke koje su pogodovale djelovanje fitaze često su bile korištene u prošlosti kada pivari nisu imali alternativan način spuštanja pH sladovine.

## **Proteinaze i peptidaze**

Proteinaze i peptidaze enzimi su koji razgrađuju proteine unutar endosperma zrna. Optimalan je raspon djelovanja spomenutih enzima pri temperaturi od 47° C do 54°C te pH između 4,5 i 5,3. Dok proteinaze razgrađuju ponajviše visokomolekularne proteine, peptidaze razgrađuju peptide stvarajući time manje lance aminokiselina te pojedinačne aminokiseline (Mosher, Trantham 2017). Djelovanje oba enzima olakšava oslobađanje škroba iz endosperma zrna. Korištenje stanki koje pogoduju djelovanju spomenutih enzima, zbog bolje modificiranih modernih sladova u kojima je većina stijenki škrobnih stanica razgrađena, više nije uobičajeno. Ukoliko se stanke koriste, njihovo se trajanje ograničava na ne duže od 15 minuta, kako bi se minimalizirao negativan utjecaj na teksturu piva, koji nastaje prekomjernom razgradnjom proteina.

## **Glukanaze**

Glukanaze su skupina enzima koja razgrađuje  $\beta$ -glukane u sladu. Optimalna je temperatura za djelovanje endo- $\beta$ -1,4-glukanaze, najvažnijeg od spomenutih enzima između 37°C i 46°C. Na višim su temperaturama aktivne druge glukanaze čije je djelovanje slabije. Svojim djelovanjem glukanaze razgrađuju  $\beta$ -1,3 te  $\beta$ -1,4 veze unutar  $\beta$ -glukana, čime značajno smanjuju viskoznost sladovine (Crabb, Bathage 1973.)  $\beta$ -glukani također čine barijeru između škrobnih stanica i ostatka otopine, zbog čega se njihovom razgradnjom povećava efikasnost ekstrakcije. Procesom sladenja ječma se razgrađuje većina  $\beta$ -glukana u sladu, zbog čega pri korištenju kvalitetnoga ječmenoga slada najčešće nije potrebno raditi stanku na temperaturi



pogodnoj za djelovanje glukanaza. Spomenute je stanke poželjno koristiti kada se uz ječmeni slad koriste nesladene sirovine bogate  $\beta$ -glukanima, kao što je zob. U tim je slučajevima potrebno smanjiti viskoznost sladovine kako ne bi nastajali problemi pri cijedenju i cirkulaciji vruće vode pri ukomljavanju i ispiranju tropa.

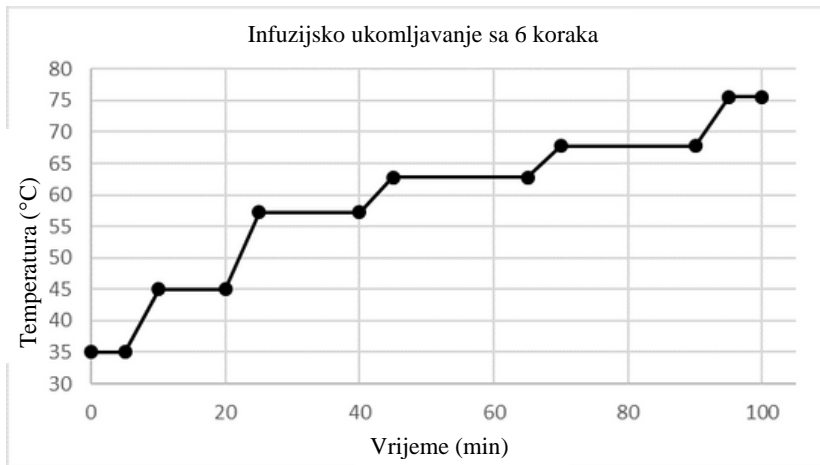
### **Osnovni postupci ukomljavanja**

Ovisno o željenim karakteristikama proizvedenoga piva, koriste se različiti postupci ukomljavanja. Svaki od navedenih postupaka stvara različite šećere u različitom omjeru, posljedično čemu se dobiva pivo različitoga „bouquea.“

### **Infuzijski postupak**

Infuzijski je ukomljavanje karakteristično za proizvodnju piva gornjeg vrenja (ale). Koristeći spomenuti postupak, dobiva se visoko fermentabilna sladovina. U takvoj je sladovini visok udio mono i disaharida (ponajviše maltoze), zbog čega kvasci metaboliziraju većinu ekstrakta u etanol i ugljični dioksid. Ovakav postupak ukomljavanja započinje na temperaturi od 35 do 46°C, što je optimalna temperatura za djelovanje  $\beta$ -glukanaza. Djelovanjem navedenog enzima dodatno se razgrađuju glukanski lanci koji čine barijeru između tekuće faze i škroba unutar zrna. Komina se potom grije do temperature od 50°C. Na toj temperaturi djeluju proteolitički enzimi koji razgrađuju dugačke proteinske lance. U sljedećoj se fazi temperatura podiže u raspon optimalan za djelovanje  $\beta$ -amilaze (60-65°C), gdje se lanci amiloze i amilopektina razgrađuju na molekule maltoze, glukoze te maltotrioze. Sljedeći korak ukomljavanja uključuje zagrijavanje komine na temperaturu optimalnu za djelovanje  $\alpha$  amilaze (72-75°C). Na ovoj se temperaturi odcjepljuju zaostali dekstrinski lanci te se viskoznost komine smanjuje. Nakon pauze na temperaturi djelovanja  $\alpha$ -amilaze, komina se zagrijava na temperaturu od 78°C, kako bi se viskoznost minimalizirala, čime se značajno olakšava postupak cjeđenja.

Svaki navedeni korak infuzijskoga postupka može različito trajati, ovisno o željenim karakteristikama sladovine.



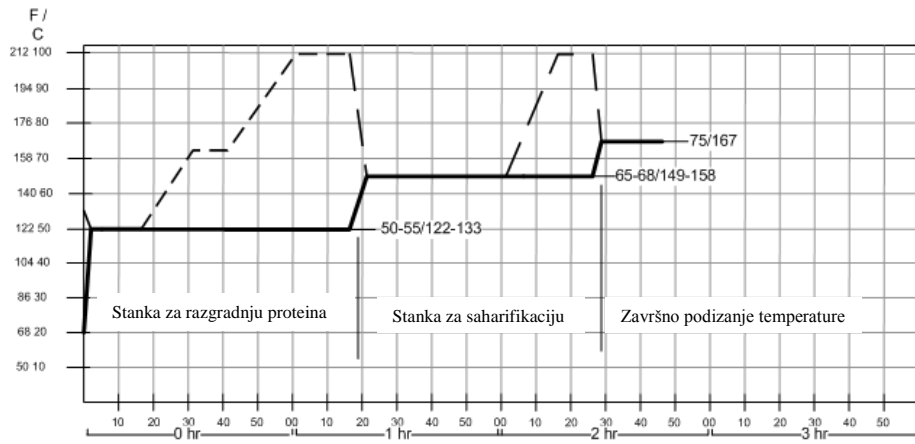
Slika 5: Primjer grafa infuzijskog ukomljavanja

(Izvor: <https://www.arishtam.com/product/pale-ale-beer-malt-barley-malt/>, pristupljeno 22.5.2022)

### Dekokcijski postupak

Dekokcijski je postupak karakterističan za proizvodnju piva donjeg vrenja (lager). Karakterizira ga proizvodnja sladovine s većim udjelom nefermantabilnog ekstrakta. Postupak se provodi pomoću skokovitih porasta temperature komine. Iz ukupne se komine odvaja dio (tzv. odvarak) koji se grije na temperaturu blizu 100°C. Odvarak se potom vraća u glavnu kominu, čime se ukupna temperatura komine diže. Vraćanje odvarka u glavnu kominu najčešće se provodi u svrhu dizanja temperature komine s temperature djelovanja  $\beta$ -amilaze na temperaturu djelovanja  $\alpha$ -amilaze, ali se može provoditi i višekratno (npr. između temperature djelovanja proteolitičkih enzima i temperature djelovanja  $\beta$ -amilaze te između temperature djelovanja  $\beta$ -amilaze i  $\alpha$ -amilaze. Dekokcijski postupak omogućava bolju

iskoristivost sladnoga ekstrakta, ali je energetski zahtjevniji.



Slika 6: Primjer grafa dekokcijskog ukomljavanja sa 2 koraka

(Izvor: <https://crisp malt.com/news/the-crisp-guide-to-mashing/>, pristupljeno 22.5.2022)

### Postupak dvojnog ukomljavanja

Postupak dvojnog ukomljavanja je proces čija je svrha optimizirati iskoristivost neslađenih sirovina. Najčešće ga koriste industrijske pivovare koje dio prekrupe, radi uštede, mijenjaju neslađenim sirovinama. Najčešća je neslađena sirovina u europskoj pivarskoj industriji kukuruzna krupica, zbog svoje niske cijene i visoke pristupačnosti. Od ostalih neslađenih sirovina još valja spomenuti i ječam, rižu, zob i pšenicu.

Postupak započinje zagrijavanjem neslađenih sirovina u posebnome kotlu do temperature želatinizacije (tablica 1). Na spomenutoj se temperaturi neslađene žitarice zadržavaju oko 20 minuta. U tom se periodu razgrađuju stanične stijenke unutar zrna, što izlaže škrob u unutrašnjosti zrna. Spomenuti se proces odvija zbog apsorpcije vode u granule škroba, koje potom bubre te, uslijed daljnjeg termičkog razlaganja naglo pucaju. Nakon dvadesetominutne pauze, žitarice se iz kotla miješaju sa ostatkom sladne komine, čime se temperatura iste diže, čime se ujedno dobiva temperaturni skok potreban za aktivaciju drugih enzima. Postupak se potom nastavlja kao infuzijski sa sjedinjenom kominom sladenih i neslađenih žitarica.

**Tablica 1** : Temperatura želatinizacije škroba različitih žitarica

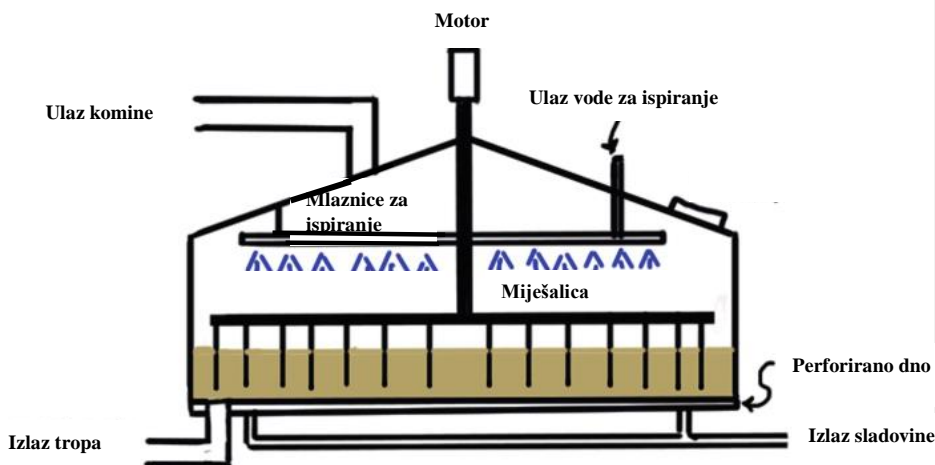
(Mosher, Trantham, 2017)

| Žitarica | Temperatura želatinizacije / °C |
|----------|---------------------------------|
| Ječam    | 52-59                           |
| Kukuruz  | 62-72                           |
| Zob      | 53-59                           |
| Riža     | 68-77                           |
| Raž      | 57-70                           |
| Pšenica  | 58-63                           |

### 2.1.3. Ispiranje i odvajanje sladovine

Nakon provedenoga postupka ukomljavaanja, sladovina se odvaja od tropa. Prva se odvojena sladovina s najvećim udjelom ekstrakta naziva privijenac. Sladovina se odvaja od tropa cijedenjem kroz perforirano dno, koje je najčešće izvedeno u obliku rešetke s otvorima veličine 0,7 mm x 80 mm te ukupne otvorenosti oko 10% (Mosher, Trantham, 2017). Tekuća faza (sladovina) istječe kroz perforirano dno, dok suha faza (trop) na istome zaostaje, tvoreći time filtarski kolač za bistrenje sladovine. Paralelno cijedenju, zaostali se trop ispiru vrućom vodom na temperaturi do 78°C, kako bi se isprao zaostali šećer. Postupkom ispiranja se postiže bolja iskoristivost, ali je udio ekstrakta u naknadnim naljevima manji, zbog čega je potrebno paziti da se ukupni volumen sladovine pretjerano ne razrijedi. U velikim se pivovarama postupak odvajanja sladovine vrši kominskim filtrom, koji pomoću filtarskih slojnica i kompresije odvaja sladovinu od tropa s puno manjim česticama pljevice i ostatka neiskorištene prekrupe.

Formatted: Font: Not Italic



Formatted: Left, Line spacing: 1.5 lines

Slika 7: Shema cjednjaka za odvajanje sladovine

(Izvor: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-73419-0\\_7](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-73419-0_7)

pristupljeno 6.7.2022)

#### **2.1.4. Kuhanje**

Nakon odvajanja sladovine od tropa, istu je potrebno kuhati, najčešće u trajanju od 60 do 90 minuta. Spomenuti se postupak vrši kako bi se spojevi hmelja dodanog u sladovinu otopili i izomerizirali, stvorili i istaložili proteinsko-taninski spojevi, uništili svi enzimi, otpario višak vode, izbacio kisik, sladovina sterilizirala te se otparili nepoželjni spojevi koji negativno utječu na aromu piva (npr. DMS, dimetil sulfid). Uslijed termičkoga izlaganja, u sladovini nastaju i novi spojevi kao što su Maillardovi produkti te Steckerovi aldehidi. Spomenuti spojevi imaju važnu ulogu u stvaranju konačnog okusa piva te formiranju boje. Za vrijeme kuhanja u sladovinu se dodaje hmelj, što se u većini slučajeva čini u dva obroka. Na početku se kuhanja hmelj dodaje za gorčinu jer se veći dio  $\alpha$  i  $\beta$ -kiselina odgovornih za gorčinu izomerizira kroz trajanje kuhanja. Pri kraju se kuhanja hmelj dodaje za aromu, kako bi što manje hlapivih eteričnih ulja isparilo zbog dugotrajnog termičkog izlaganja.

#### **2.1.5. Taloženje i hlađenje**

Nakon kuhanja, potrebno je odvojiti što je više moguće proteinsko taninskog taloga. To se vrši prepumpavanjem sladovine u zaseban spremnik sa tangencijalnim ulazom (taložnjak ili whirlpool), u kojemu se, uslijed protoka sladovine, stvara vrtlog koji uzrokuje nakupljanje spomenutog taloga u sredini posude.

Izbistrena se sladovina potom hladi na temperaturu fermentacije protokom kroz izmjenjivač topline.

#### **2.1.6. Fermentacija i odležavanje**

Ohladna se sladovina prebacuje u tankove za fermentaciju te se aerira kako bi kvasac imao dovoljno kisika za aerobnu respiraciju, pri kojoj mu se brojnost povećava. Na sladovinu se najepljuje čista kultura kvasca, čime započinje fermentacija. U normalnim uvjetima, sa sladovinom prosječne gustoće, kvascu gornjeg vrenja treba oko 5 dana na temperaturi oko 20°C, a kvascu donjeg vrenja oko 10 dana na temperaturi oko 9°C da završi fermentaciju. Nakon završene fermentacije, kvasac se izdvaja iz mladoga piva. Moderni su fermentori cilindrično-konusnoga oblika, što omogućava izdvajanje istaloženoga kvasca sa dna, dok se pri korištenju klasičnih cilindričnih fermentora s ravnim dnom mlado pivo mora prebacivati u novu posudu kako bi se odvojilo od kvasca. Po završenoj se fermentaciji temperatura mladoga

piva spušta između -1 i 1°C te na spomenutoj temperaturi ostaje dok se ne izbistri dovoljno da se postigne željena koloidna stabilnost proizvoda.

## **2.2. Sastav zrna ječma**

Ječam je žitarica od koje se proizvodi najveća količina slada. Pogodan je za proizvodnju pivarske sirovine zbog najvećega udjela enzima koji nastaju u procesu modifikacije. Kako bi se razumjeli procesi i promijene koje se događaju tokom ukomljavaanja, potrebno je razumjeti anatomske i kemijske sastav zrna ječma.

### **2.2.1 Anatomske sastav zrna ječma**

Zrno se ječma sastoji od nekoliko bitnih morfoloških cjelina, od kojih su najvažnije: pljevica, embrio te endosperm.

#### **Endosperm**

Najveća je morfološka struktura unutar zrna ječma endosperm. Tvori oko 75% ukupne mase zrna te se sastoji od škrobnoga dijela endosperma te aleuronskoga sloja. Škrobni dio sastoji se od mrtvih stanica bez jezgre, u čijem su matriksu pohranjena škrobna zrnca. Stijenke spomenutih stanica su građene od  $\beta$ -1,3 i  $\beta$ -1,4 glikana te arabinoksilana. (Holopainen-Mantila, 2015) Navedene je spojeve poželjno što više razgraditi u procesu slađenja, kako bi se škrob iz unutrašnjosti stanica lakše mogao izložiti utjecaju enzima. Funkcija škrobnoga dijela endosperma je pohrana nutrijenata za embrio u fazi rasta. Aleuronski sloj građen je od četveroreda živih stanica sa debelim staničnim stijenkama koje se ponajviše sastoje od arabinoksilana te  $\beta$ -glukana. U spomenutim su stanicama pohranjeni proteini, vitamini i minerali. (Fox 2009)

#### **Embrio**

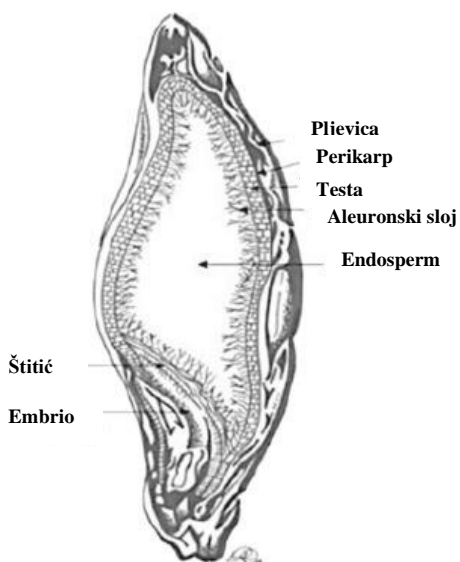
Embrio je začetak korijena i stabljike biljke, a od endosperma ga razdvaja štitić. U embriju je pohranjena najveća koncentracija proteina u zrnu, osim kojih ga tvore i šećeri, lipidi i mineralni sastojci.

#### **Pljevica**

Druga je najveća morfološka struktura u zrnu ječma pljevica, koja obavija cijelo zrno te čini oko 13% mase istog. Većinski je sastavljena od celuloze i lignina te  $\beta$ -glukana.

Formatted: Font: Bold

Karakteristično za ječam, pljevica je čvrsto spojena za perikarp zrna debelim slojem. Vanjski su slojevi pljevice međusobno pregrađeni voštanim slojevima od kojih je najdeblji između teste i perikarpa. (Fox 2009) Navedeni je sloj glavna barijera pri ulasku vode u zrno. Pljevicu je slada potrebno slomiti u procesu mljevenja, ali je poželjno da ostane u većim komadima kako bi poslužila kao pomoćno filtarsko sredstvo pri izdvajanju sladovine.



Slika 8: Anatomski sastav zrna ječma

(Izvor: <https://ars.els-cdn.com/content/image/3-s2.0-B9780128120439000047-f04-14-9780128120439.jpg>, pristupljeno\_23.5.2022)

### 2.2.2. Kemijski sastav zrna ječma

Većinu suhe mase zrna ječma čine ugljikohidrati (od 70 do 85%) te proteini (10,5 do 11,5%). Od ostalih su spojeva još prisutni i lipidi te anorganski spojevi. Ovisno o podneblju u kojem je ječam uzgojen može sadržavati od 13 do 15% vode. (Holopainen-Mantila, 2015)



## Ugljikohidrati

Škrob je najzastupljeniji ugljikohidrat u zrnu ječma, uz kojega su, u manjoj mjeri, zastupljeni i  $\beta$ -glukani te celuloza. (Holopainen-Mantila, 2015)

### Škrob

Škrob je najzastupljeniji spoj u zrnu ječma, te čini oko 60% njegove mase. Sastoji se od dva polimera, amiloze i amilopektina. Amiloza je linearni polimer sastavljen od glukoznih jedinica povezanih  $\alpha$ -1,4 glukozidnim vezama, dok je amilopektin veći polimer povezan  $\alpha$ -1,4 te  $\alpha$ -1,6 glukozidnim vezama koje tvore razgranatu strukturu. Omjer je amiloze i amilopektina oko 3:1 u korist amilopektina. (Fox, 2009)

### $\beta$ -glukani

$\beta$ -glukani najzastupljeniji su spojevi u staničnim stijenkama endosperma te je njihova razgradnja u procesima slađenja te kasnije ukomljavanja od velike važnosti za postizanje zadovoljavajuće efikasnosti ekstrakcije.  $\beta$ -glukani čine od 2 do 7% ukupne mase zrna ječma, a njihova topljivost ovisi o omjeru 1,3 te 1,4 veza te veličini molekula. (Fox 2009)

### Proteini

Proteini čine oko 8-13% suhe mase zrna ječma, dok se u pivarske svrhe ponajviše koristi ječam sa udjelom proteina između 10 i 11%. Udio je proteina bitan kako bi se kvascima osigurala dovoljna količina slobodnoga amino dušika, koji nastaje razgradnjom istih. Koncentracija bi spomenutoga spoja trebala biti najmanje 130 mg/l sladovine, za pivo standardne jačine (12°P). Navedena bi brojka trebala biti veća ukoliko se proizvodi pivo s većim udjelom ekstrakta ili ako je poželjna brža od uobičajene fermentacije. (Jones, Inglelew 1994) Za metabolizam se kvasca također bitni i niskomolekularni proteini, a proteini su srednje i visokomolekularne mase bitni za teksturu i postojanost pjene piva.

### 2.3. Sastav zrna zobi

Anatomski je sastav zrna zobi u mnogočemu sličan onome ječma, ali se razlikuje u kemijskome sastavu. Slad se od zobi proizvodi relativno rijetko. Takav slad nije gotovo nimalo enzimatski aktivan, ali zbog visokog udjela proteina pridonosi teksturi i pjenu piva, zbog čega mu je cijena među najvišima od svih sladova.

#### 2.3.1. Kemijski sastav zrna zobi

Zrno se zobi sastoji od oko 60% škroba, 14% proteina, 7% lipida te 4%  $\beta$ -glukana. (Zhang i sur., 2021)

##### Škrob

Škrob ima najveći maseni udio od svih spojeva u zrnu zobi. Kao i škrob iz ječma, zobeni se škrob također sastoji od amiloze i amilopektina, uz glavnu razliku u veličini molekula. Molekule su škroba, pohranjene u mrtvim stanicama endosperma zrna, značajno manje od onih u ječmu. Udio je amiloze u škrobu zobi od 25,2 do 29,4%, dok ostatak škroba čini amilopektin. (Zhang i sur., 2021)

##### Proteini

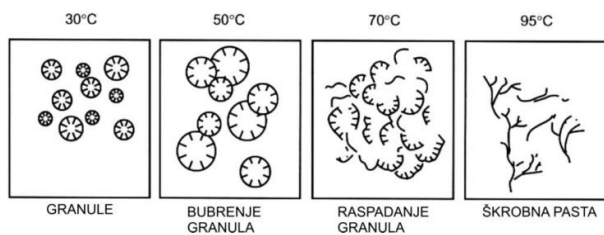
Proteini čine od 12 do 17 % suhe mase zobi. (Zhang i sur., 2021) Najviše je proteina pohranjeno u embriju zrna, nešto manje u endospermu, a najmanje u pljevici. Zob je žitarica sa najvećim udjelom globularnih proteina (70-80%), koji u vodi tvore koloidnu otopinu, što zob čini izuzetno vrijednim izvorom visokomolekularnih proteina u pivu.

##### $\beta$ -glukani

$\beta$ -glukani viskozni su polisaharidi koji tvore stanične stijenke škrobnih stanica u endospermu zrna. Udio spomenutog polisaharida kreće se između 1,8 i 5,5%, iako su zabilježene sorte zobi sa udjelom  $\beta$ -glukana od 7% (Sterna i sur., 2016). udio je  $\beta$ -glukana u zobi podjednak onome u ječmu, ali se isti ne raspada u procesu želatinizacije i proizvodnje zobnih pahuljica, dok se pri proizvodnji ječmenoga slada većina  $\beta$ -glukana raspada. Iz tog se razloga u sladovinu unosi mnogo veća koncentracija  $\beta$ -glukana ukoliko se koriste zobene pahuljice.

#### 2.4. Proizvodnja i karakteristike zobnih pahuljica

Proces se proizvodnje zobnih pahuljica sastoji od zaprimanja te čišćenja zrnja, koja se potom tretiraju parom. Za vrijeme se tog procesa događa želatinizacija, odnosno ulazak veće količine vode u granule škroba zbog utjecaja visoke temperature, koje potom naglo pucaju. (slika 7) Nakon navedenih procesa, želatinizirana se zob preša pomoću valjaka, čime se odvaja pljevica zrna. Dobiveni se produkt potom suši vrućim zrakom ili prži, zavisno o željenim karakteristikama krajnjega proizvoda. Tako je pripremljena zob spremna za procese ukomljavaanja, bez potrebe za obradu u posebnome kominskom kotlu. Zbog visokog udjela nerazgrađenog  $\beta$  glukana, dodatak zobnih pahuljica znatno povećava viskoznost komine, što može rezultirati problemima pri cijedenju. Iz tog je razloga preporučljivo udio zobnih pahuljica u prekrupi držati do najviše 10 %.



Slika 9: Želatinizacija škroba

Izvor: [https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A1092/datastream/PDF/view, pristupljeno 23.5.2022](https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A1092/datastream/PDF/view,pristupljeno%2023.5.2022)

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

U svrhu analize sladovina i piva proizvedenim infuzijskim postupcima s različitim brojem koraka, proizvedeno je po dva uvarka za svaku od tri različite probe. Prvi se postupak sastojao od jedne temperaturne stanke (66,5°C) i završnog dizanja temperature. Drugi se postupak sastojao od dvije temperaturne stanke (62 i 72°C) te završnog dizanja temperature. Treći se postupak sastojao od 4 temperaturne stanke (45, 50, 62, 72°C) te završnog dizanja temperature.

Probne šarže su proizvedene na Institutu za hmeljarstvo i pivarstvo Slovenije, u pogonu volumena jedne šarže od 45 litara. Pivo je proizvedeno od sljedeće kombinacije sladova proizvođača Weyermann malting company: pale ale (2,90 kg), München (0,15 kg), chocolate (0,45 kg). Kao neslađena su sirovina korištene zobene pahuljice proizvođača Crownfield (0,40 kg), a od hmelja je korištena Styrian Aurora (25 g). Za vrenje sladovine korišten je kvasac SafAle US 05. Kao fermentacijske posude su korišteni Cornelius kegovi. Za analizu sladovine, hmeljene sladovine i piva korišteni su niže navedeni analitički uređaji te kemijski pribor i posude.

##### 3.1.1. Uređaji i oprema

Analitički uređaji

- pH metar 702 SM Titrino
- spektrofotometar Shimadzu UV-1900
- uređaj za destilaciju Kjeldahl K-360
- uređaj za uparavanje Speed Digester K-436
- uređaj za analizu piva Anton Paar

kemijski pribor i posude

- bireta
- stalak za biretu
- kivete

Formatted: Font: 12 pt, Not Bold

Formatted: Normal, Left, Line spacing: 1,5 lines

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Normal, Left, Line spacing: 1,5 lines

- Erlenmeyerove tikvice (250 i 500 ml)
- Laboratorijske čaše (150, 200 i 250 ml)
- Epruvete s čepom
- Stakleni lijevci
- Plastični lijevci
- Stalak za lijevke
- Glatki filter papir
- Naborani filter papir S&S 597
- Filter papir crna vrpca
- Viskozimetar
- Uređaj za centrifugiranje
- Odmjerne tikvice (50, 200 ml)
- Automatska pipeta
- Pipete (10, 20 i 50ml)

#### Otopine i reagensi

- Sumporna kiselina (96-98%)
- Borova kiselina (20 g/l)
- Bromkrezol zeleno (0,1 g/100 ml)
- Klorovodična kiselina (0,25 mol/l)
- Zasićena otopina magnezijeva sulfata (350 g  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  + 0,5 ml konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ /500 ml)
- Sumporna kiselina (5 mol/l)
- Natrijev molibdat (50%)
- Sumporna kiselina (50%)
- Ninhidrinski indikator (10g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$  + 6g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 0,5g ninhidrin + 0,3g fruktoze/ 100ml)
- Otopina kalijeva jodata (0,2  $\text{KIO}_3$  + 60ml  $\text{H}_2\text{O}$  + 40 ml etanol)
- Standardna otopina glicina (0,1072 g glicina/100 ml)
- Razrijeđena otopina glicina (1 ml standardne otopine/100 mL)
- Klorovodična kiselina (6 mol/l)

### 3.2. Metode

Za analizu sladovine, hmeljene sladovine te piva, korištene su standardne EBC i MEBAK metode te su određivani sljedeći parametri:

#### Sladovina:

- ekstrakt (%)
- pH
- boja (EBC- European Brewery Convention)

#### Hmeljena sladovina:

- ekstrakt (%)
- gorčina (IBU- International Bitternes Units, međunarodne jedinice gorčine)
- pH
- cjelokupni dušik (mg/100 ml)
- visokomolekularni dušik (mg/100 ml)
- srednjemolekularni dušik (mg/100 ml)
- niskomolekularni dušik (mg/100 ml)
- slobodni amino dušik (mg/l)

#### Pivo:

- alkohol (%)
- gorčina (IBU)
- boja (EBC)
- pH
- cjelokupni dušik (mg/100 ml)
- visokomolekularni dušik (mg/100 ml)
- srednjemolekularni dušik (mg/100 ml)
- niskomolekularni dušik (mg/100 ml)
- slobodni amino dušik (mg/l)
- viskoznost (mPas)

#### Alkohol i ekstrakt

Za analizu udjela ekstrakta u sladovini i hmeljenoj sladovini te udjela alkohola u pivu, korišten je uređaj za analize piva Anton Paar.

### pH

Za analizu pH sladovine, hmeljene sladovine i piva, korišten je pH metar 702 SM Titrimo.

### Boja

Za analizu boje sladovine, i piva, korištena je standardna analiza pomoću spektrofotometra *Shimadzu UV-1900*. Zbog visokih EBC vrijednosti, uzorke je trebalo razrijediti u omjeru 1:5 te krajnji rezultat pomnožiti s 5 kako bi se dobilo realno očitavanje.

### Gorčina

Za određivanje gorčine u hmeljenoj sladovini i pivu, korištena je standardna metoda (Analytica, 2004, 8.8).

U uređaj za centrifugu otpipetira se 10 ml piva ili 5 ml hmeljene sladovine uz dodatak 5 ml vode, 0,5 ml otopina HCl od 6 mol/l te 20 ml izooktana. Uzorci se tresu 22 minute te potom centrifugiraju 3 minute pri 3000 okretaja po minuti. Uzorci se zatim ostave na taloženju 30 minuta te se potom analiziraju na spektrofotometru podešenom na izooktan pri 275 nm.

### Ukupni dušik

Za određivanje koncentracije ukupnog dušika u hmeljenoj sladovini i pivu, korištena je standardna metoda (MEBAK II, 2002, 2.8.8.1.)

U kivetu se otpipetira 20 ml piva ili hmeljene sladovine te se doda 5 ml koncentrirane sumporne kiseline. Tako se pripremljen uzorak uparava dok ne postane gotovo potpuno suh, nakon čega se u isti doda žlica katalizatorske smjese i 20 ml sumporne kiseline te se uzorak promiješa. Kiveta se potom vraća na uređaj za otparavanje te se grijući izdvajaju faze na nižoj temperaturi. Kiveta se potom stavi na hlađenje te se spoji na uređaj za destilaciju, koja traje 4 minute. Otopina se dobivena destilacijom titrira 0,25 molarnom otopinom HCl.

### Visikomolekularni dušik

Za određivanje visikomolekularnog dušika u hmeljenoj sladovini i pivu, korištena je standardna metoda (MEBAK II, 2002, 2.8.3.1.)

U čaši se odvagane 40 g magnezijeva sulfata te se doda 0,65 ml otopine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> te 40 ml piva ili hmeljene sladovine. Uzorak se potom stavi u komoru na 35°C na jedan sat uz miješanje svakih 20 minuta. Po isteku se vremena uzorak filtrira preko filter papira crna vrpca te ispire zasićenom otopinom magnezijeva sulfata. Filter papir sa zaostalim talogom se potom prenese

u kivetu te mu se doda katalizatorska smjesa i sumporna kiselina. Postupak se dalje odvija kao pri analizi cjelokupnoga dušika.

#### Niskomolekularni dušik (metoda po Lundinu)

Za analizu koncentracije niskomolekularnog dušika u hmeljenoj sladovini i pivu, korištena je standardna metoda (MEBAK II, 2002, 2.8.3.2.)

U odmjernu se tikvicu od 200 ml otpipetira 120 ml piva ili hmeljene sladovine, 65 ml destilirane vode te 10 ml otopine natrijeva molibdata. Tikvica se potom dopuni vodom do volumena od 200 ml te se temperira na 20 °C u vodenoj kupelji. Potom se uzorku doda još 10 ml 50% otopine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> te se vraća u vodenu kupelj na 15 minuta. Po isteku se vremena otopina profiltrira kroz naborani filter papir te se u kivetu otpipetira 60 ml iste. Postupak se dalje vrši kao i pri analizi cjelokupnoga dušika.

#### Srednjemolekularni dušik

(MEBAK II, 2002, 2.8.4.)

Koncentracija se srednjemolekularnoga dušika dobiva računski, oduzimanjem zbroja koncentracija visokomolekularnoga i niskomolekularnoga dušika od koncentracije ukupnoga dušika.

#### Slobodni amino dušik

Za analizu koncentracije slobodnog amino dušika u hmeljenoj sladovini i pivu, korištena je standardna metoda (EBC Analytica 2004, 8.10).

Hmeljena se sladovina razrijeđuje u omjeru 1/100 ml, a pivo u omjeru 1/50 ml. U epruvetu se s čepom otpipetira 2 ml razrijeđenoga uzorka te 1 ml ninhidrinskog indikatora te epruvete smjestimo u vrelu vodenu kupelj na 16 minuta. Epruvete se potom hlade na 20°C. paralelno se s navedenim postupcima pripremi slijepa proba u kojoj se uzorak zamijeni destiliranom vodom. Uzorku se zatim doda 5 ml otopine KIO<sub>3</sub> te se mjeri apsorbancija slijepe probe, a zatim i uzorka.

#### Viskoznost

Viskoznost se piva mjeri pomoću uređaja koji se sastoji od stalka te staklene cijevi sa 3 poprečne crte. Unutar cijevi nalazi se staklena kuglica. Mjerenje se vrši tako što se cijev



ispuni uzorkom te preokrene, čime kuglica počinje padati. Iz vremenskog se intervala, koji je potreban kuglici da prijeđe put od prve do zadnje crte, računa viskoznost uzorka.

### 3.3. Postupci ukomljavanja

U svrhu utvrđivanja razlika između kvaliteta sladovine, hmeljene sladovine i piva dobivenih postupcima ukomljavanja sa različitim brojem temperaturnih stanki, korištena su 3 tipa ukomljavanja. Svako je od kuhanja ponovljeno 2 puta, kako bi se utvrdila standardna varijacija. Šarže od 15 litara kuhane su sa niže navedenim sirovinama.

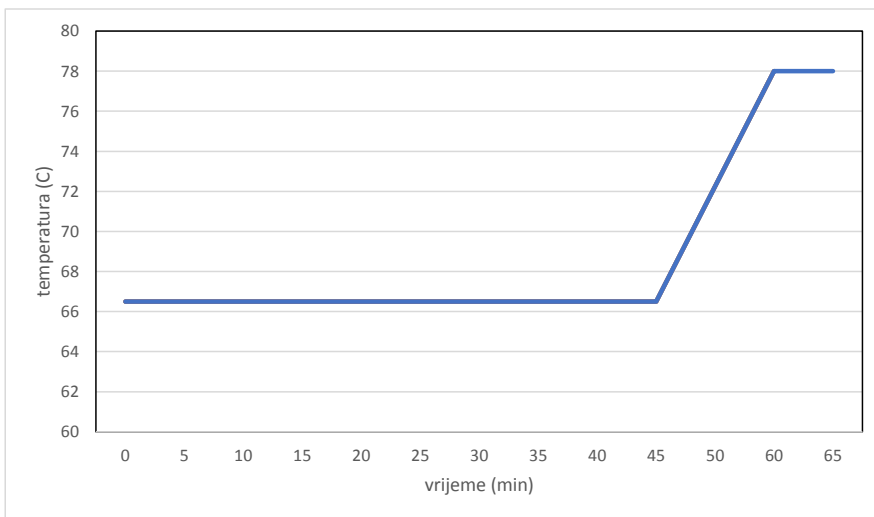
**Tablica 2:** Sirovine za proizvodnju piva

| Sirovina                      | Količina (kg) |
|-------------------------------|---------------|
| Ječmeni slad pale ale         | 2,9           |
| Ječmeni slad München          | 0,15          |
| Ječmeni slad chocolate        | 0,45          |
| Zobene pahuljice              | 0,40          |
| Hmelj styrian Aurora          | 0,025         |
| Kvasac Fermentis SafAle US-05 | 0,01          |

Izuzev temperaturnog režima tijekom ukomljavanja, svaka je šarža proizvedena u istim uvjetima. Ukomljavanje je počinjalo s 14 litara vode, a na kraju je istog, poslije ispiranja, cijedenje trajalo dok se u kotlu za kuhanje nije nakupilo 18 litara sladovine, kako bi krajnji volumen nakon kuhanja bio reduciran na 15 litara. Kuhanje je trajalo 60 minuta. Fermentacija je trajala 6 dana na 20°C pri atmosferskom tlaku, nakon čega je pivo prebačeno na odležavanje u trajanju od 10 dana na 2°C te pritisku od 1 bar.

### 3.3.1. Prvo ukomljavanje (ukomljavanje s jednom temperaturnom stankom)

Prvi se režim ukomljavanja sastojao od infuzijskoga postupka s jednom temperaturnom stankom te završnim podizanjem temperature (mash out). Saharifikacija se odvijala na 66.5°C kroz vremenski interval od 45 minuta. Na spomenutoj su temperaturi aktivni  $\alpha$  i  $\beta$ -amilaza, što omogućava dobivanje fermentabilnih šećera (maloza, glukoza i maltotrioza), ali i udio nefermentabilnih dekstrina. Komina se potom dogrijava do temperature od 78°C u vremenskom intervalu od 15 minuta, kako bi se viskoznost komine smanjila, što znatno olakšava efikasno cijeđenje, koje slijedi nakon spomenutih postupaka.

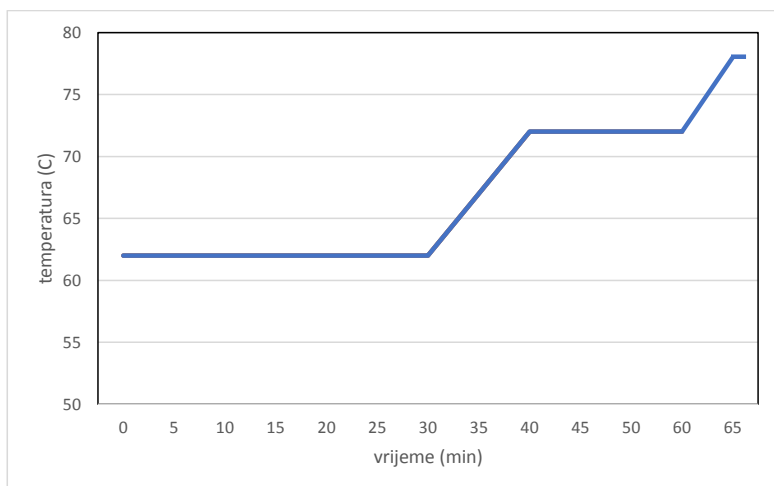


Graf 1: Režim ukomljavanja s jednim korakom i završnim podizanjem temperature

### 3.3.2. Drugo ukomljavanje (ukomljavanje sa dvije temperaturne stanke)

Drugi se režim ukomljavanja sastojao od 2 koraka te *mash outa*. Ukomljavanje je počelo na temperaturi od 62°C, što je optimalna temperatura za djelovanje  $\beta$  amilaze. Taj je korak trajao 30 minuta, kako bi se većina škroba razgradila u fermentabilne saharide.

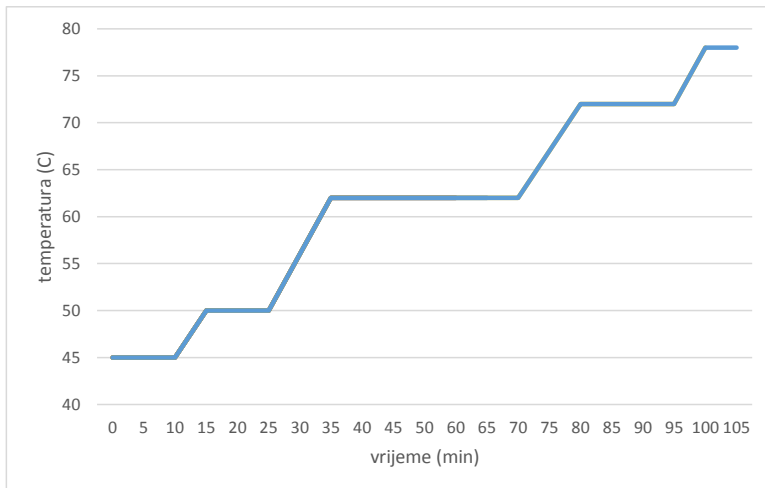
Temperatura je potom, u vremenskom intervalu od 10 minuta, dignuta na 72°C, što je optimalna temperatura za djelovanje  $\alpha$  amilaze. Spomenuti je korak, čija je funkcija razgrađivanje ostatka škroba na nefermentabilne dekstrine koji pivu daju punoću okusa, trajao 15 minuta. Temperatura komine je potom dignuta na 78°C, nakon čega je uslijedilo cijedenje.



Graf 2: Režim ukomljavanja s 2 koraka i završnim podizanjem temperature

### 3.3.3. Treće ukomljavanje (ukomljavanje s četiri temperaturne stanke)

Treći se režim ukomljavanja sastojao od 4 koraka. Ukomljavanje je počelo na 45°C, što je temperatura pogodna za djelovanje endo  $\beta$ -1,4 glukanaže. Djelovanjem spomenutog enzima se razgrađuju  $\beta$ -glukani zaostali u sladu nakon procesa slađenja te  $\beta$  glukani iz zobi. Temperatura se potom povisila na 50°C, u intervalu od 5 minuta, što je temperatura na kojoj je aktivno najviše enzima iz skupine proteinaza i peptidaza. Navedeni enzimi razgrađuju peptidne veze, tvoreći time više niskomolekularnih proteina te slobodnih amino kiselina. Vrijeme trajanja navedenoga koraka bilo je 10 minuta. Nakon prethodnog koraka se temperatura u 7 minuta povisila na 62°C, radi djelovanja  $\beta$ -amilaze. Spomenuti korak je trajao 30 minuta, nakon čega je, u vremenskom intervalu od 10 minuta, temperatura komine podignuta na 72°C radi djelovanja  $\alpha$ -amilaze. Na navedenoj se temperaturi komina zadržala 15 minuta, nakon čega je slijedilo dizanje na 78°C pa cijedenje.



Graf 3: Režim ukomljavanja s 4 koraka

## 4. REZULTATI

U priloženoj su tablici (tablica 3) sistematizirani svi rezultati analize sladovine, hmeljene sladovine i piva. Režim je ukomljavaanja označen prvim brojem, a broj paralelnog kuhanja iza decimale točke. Radi preglednosti rezultata, u daljnjim će pregledima parametara biti naveden samo prosjek dvaju paralelnih kuhanja.

**Tablica 3:** Rezultati analiza sladovine, hmeljene sladovine i piva

|                  |                  |          | F 1.1  | F 1.2  | F 2.1  | F 2.2  | F 3.1  | F 3.2  |
|------------------|------------------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| SLADOVINA        |                  |          | 462    | 463    | 464    | 465    | 466    | 467    |
|                  | EKSTRAKT         | %        | 12,31  | 12,3   | 13,2   | 12,93  | 14,48  | 14,19  |
|                  | pH               |          | 5,39   | 5,36   | 5,32   | 5,36   | 5,37   | 5,35   |
|                  | BOJA             | EBC      | 102,8  | 103,4  | 129,4  | 125,8  | 128,5  | 128,6  |
| HM.<br>SLADOVINA |                  |          | 474    | 475    | 476    | 477    | 478    | 479    |
|                  | EKSTRAKT         | %        | 14,46  | 14,64  | 15,32  | 15,75  | 16     | 16,26  |
|                  | GORČINA          | IBU      | 19,513 | 21,156 | 16,395 | 18,728 | 17,601 | 16,228 |
|                  | pH               |          | 5,27   | 5,17   | 5,13   | 5,18   | 5,19   | 5,26   |
|                  | UKUPNI N         | mg/100ml | 113,4  | 114,1  | 114,1  | 114,8  | 119    | 120,4  |
|                  | VISOKOMOL.<br>N  | mg/100ml | 18,5   | 18,5   | 18,9   | 18,9   | 19,8   | 19,6   |
|                  | SREDNJEMOL.<br>N | mg/100ml | 24,5   | 24,8   | 23,7   | 23,1   | 22,8   | 23,9   |
|                  | NISKOMOL. N      | mg/100ml | 70,3   | 70,7   | 71,5   | 72,8   | 76,4   | 76,9   |
|                  | FAN              | mg/L     | 147,7  | 94,1   | 190,9  | 164,1  | 190,5  | 204,1  |
| PIVO             |                  |          | 450    | 451    | 452    | 453    | 454    | 455    |
|                  | ALKOHOL          | vol%     | 5,55   | 5,84   | 5,98   | 6,26   | 6,41   | 6,03   |
|                  | GORČINA          | IBU      | 28,3   | 27     | 28,5   | 28,5   | 29,3   | 29     |
|                  | BOJA             | EBC      | 131,3  | 133,1  | 123,9  | 128,4  | 120,5  | 120,4  |
|                  | PH               |          | 4,17   | 4,03   | 4,21   | 4,21   | 4,27   | 4,24   |
|                  | UKUPNI N         | mg/100ml | 85,4   | 86,8   | 88,2   | 89,6   | 94,5   | 93,1   |
|                  | VISOKOMOL.<br>N  | mg/100ml | 16,1   | 14,2   | 16,4   | 16,3   | 17     | 17     |
|                  | SREDNJEMOL.<br>N | mg/100ml | 13,3   | 17     | 14,5   | 16,5   | 19,5   | 17,7   |
|                  | NISKOMOL. N      | mg/100ml | 56     | 55,6   | 57,2   | 56,8   | 58     | 58,9   |
|                  | FAN              | mg/L     | 51,7   | 52,6   | 56,2   | 53,7   | 58,4   | 69     |
|                  | VISKOZNOST       | mPas     | 2,095  | 2,087  | 1,997  | 1,995  | 1,664  | 1,676  |

Formatted: Font: 12 pt, Not Bold

Formatted: Normal, Left, Line spacing: 1,5 lines

**Tablica 4:** Prosječne vrijednosti mjerenih parametara

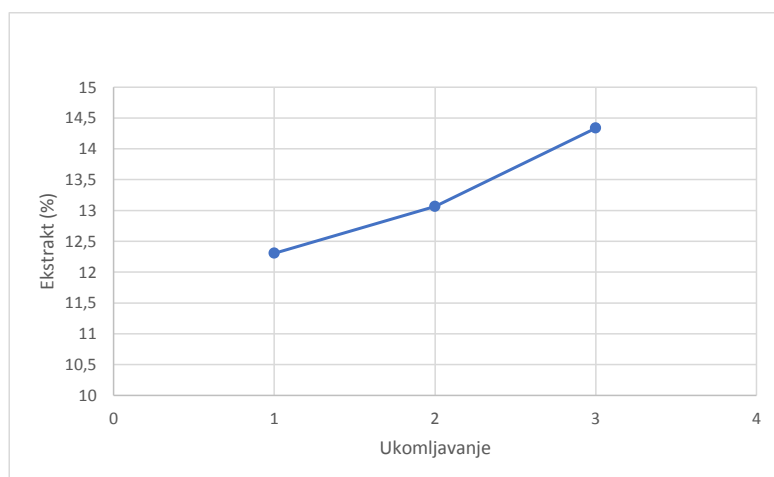
|                  |                  |          | F1      | F2      | F3      |
|------------------|------------------|----------|---------|---------|---------|
| SLADOVINA        |                  |          | PROSJEK | PROSJEK | PROSJEK |
|                  | EKSTRAKT         | %        | 12,305  | 13,065  | 14,335  |
|                  | pH               |          | 5,375   | 5,34    | 5,36    |
|                  | BOJA             | EBC      | 103,1   | 127,6   | 128,55  |
| HM.<br>SLADOVINA |                  |          | 0       | 0       | 0       |
|                  | EKSTRAKT         | %        | 14,55   | 15,535  | 16,13   |
|                  | GORČINA          | IBU      | 20,3345 | 17,5615 | 16,9145 |
|                  | PH               |          | 5,22    | 5,155   | 5,225   |
|                  | UKUPNI N         | mg/100ml | 113,75  | 114,45  | 119,7   |
|                  | VISOKOMOL.<br>N  | mg/100ml | 18,5    | 18,9    | 19,7    |
|                  | SREDNJEMOL.<br>N | mg/100ml | 24,65   | 23,4    | 23,35   |
|                  | NISKOMOL. N      | mg/100ml | 70,5    | 72,15   | 76,65   |
|                  | FAN              | mg/L     | 120,9   | 177,5   | 197,3   |
| PIVO             |                  |          | 0       | 0       | 0       |
|                  | ALKOHOL          | vol%     | 5,695   | 6,12    | 6,22    |
|                  | GORČINA          | IBU      | 27,65   | 28,5    | 29,15   |
|                  | BOJA             | EBC      | 132,2   | 126,15  | 120,45  |
|                  | PH               |          | 4,1     | 4,21    | 4,255   |
|                  | UKUPNI           | mg/100ml | 86,1    | 88,9    | 93,8    |
|                  | VISOKOMOL.N      | mg/100ml | 15,15   | 16,35   | 17      |
|                  | SREDNJEMOL.<br>N | mg/100ml | 15,15   | 15,5    | 18,6    |
|                  | NISKOMOL. N      | mg/100ml | 55,8    | 57      | 58,45   |
|                  | FAN              | mg/L     | 52,15   | 54,95   | 63,7    |
|                  | VISKOZNOST       | mPas     | 2,091   | 1,996   | 1,67    |

#### 4.1. SLADOVINA

Analizirani parametri sladovine bili su: udio ekstrakta, pH vrijednost i boja

##### Ekstrakt

| Postupak ukomljavanja | Udio ekstrakta (%) |
|-----------------------|--------------------|
| 1                     | 12,305             |
| 2                     | 13,065             |
| 3                     | 14,335             |



Graf 4: Udio ekstrakta u slakovini

Na slici 5 vidljiv je jasan trend povećanja udjela ekstrakta od prvoga prema trećem ukomljavanju. Razlika u udjelu ekstrakta izraženija je između drugog (13,065%) i trećeg (14,335%) ukomljavanja.

Formatted: Font: Not Bold

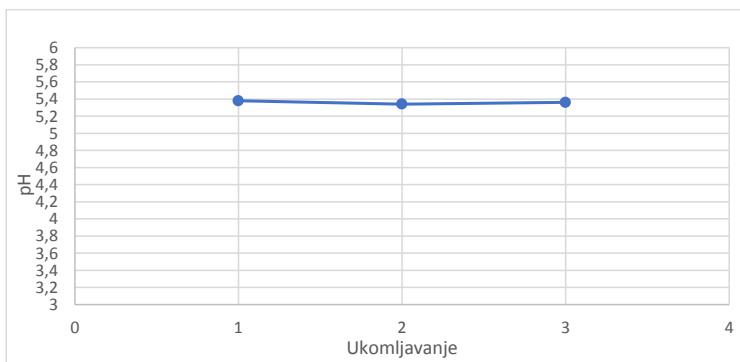
Formatted: Normal, Left, Line spacing: 1,5 lines

Formatted: Left, Line spacing: 1,5 lines, Tab stops: 1,89 cm, Left

## pH

**Tablica 6:** pH vrijednosti sladovine

| Postupak ukomljavanja | pH-vrijednost |
|-----------------------|---------------|
| 1                     | 5,38          |
| 2                     | 5,34          |
| 3                     | 5,36          |



Graf 5: pH sladovine

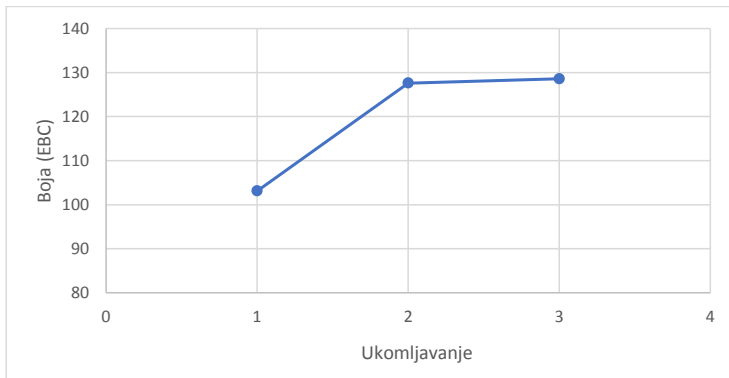
Iz grafa 5 nije vidljiv trend porasta ili pada pH ovisno o režimu ukomljavanja. Nije zabilježena statistički značajna razlika između različitih izmjerenih rezultata za pH-vrijednost

## Boja

**Tablica 7:** Boja različitih sladovina izražena u EBC jedinicama

| Postupak ukomljavanja | Boja (EBC) |
|-----------------------|------------|
| 1                     | 103,1      |
| 2                     | 127,6      |
| 3                     | 128,6      |





Graf 6: Boja sladovina

Izmjerene vrijednosti za boju, izražene u EBC jedinicama, se znatno razlikuju kada se uspoređuje prvo ukomljavanje (103,1 EBC) sa druga dva (127,6 i 128,6 EBC). Razlika u boji između sladovina proizvedenih drugim i trećim ukomljavanjem nije statistički značajna.

## 4.2. HMELJENA SLADOVINA

U hmeljenoj su slakovini analizirani sljedeći parametri: ekstrakt, gorčina, pH, cjelokupni dušik, visokomolekularni dušik, srednjemolekularni dušik, niskomolekularni dušik te slobodni amino dušik.

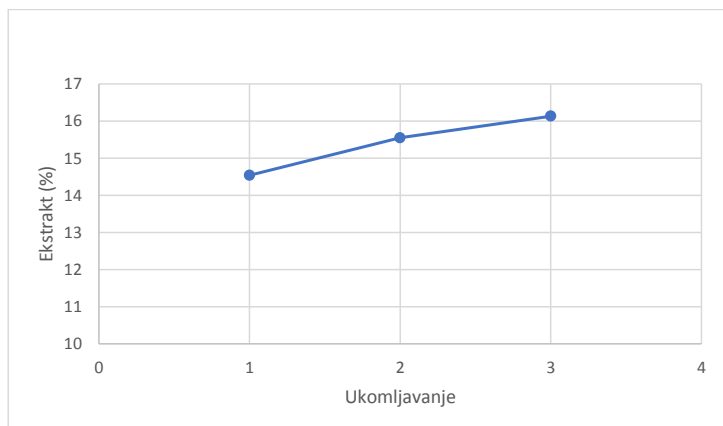
### Ekstrakt

Tablica 8: Udio ekstrakta u hmeljenim slakovinama

| Postupak ukomljavanja | Udio ekstrakta |
|-----------------------|----------------|
| 1                     | 14,55          |
| 2                     | 15,54          |
| 3                     | 16,13          |

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Normal, Left, Line spacing: 1,5 lines



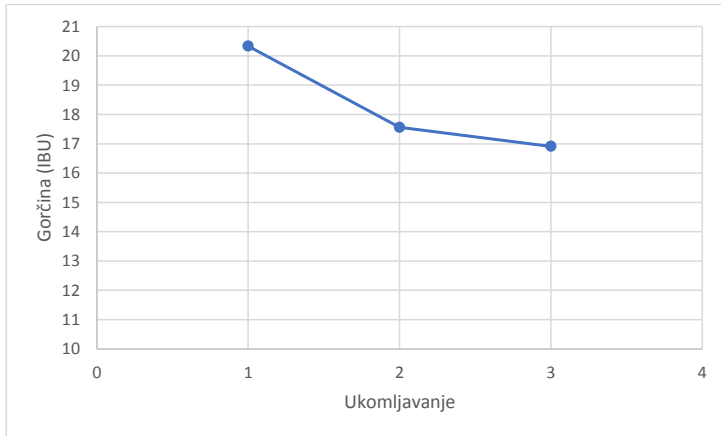
Graf 7: Udio ekstrakta u hmeljenim sladovinama

Iz navedenih je podataka vidljiv trend blagog porasta udjela ekstrakta od prvog (14,55%) prema drugom (15,54%) i trećem ukumljavanju (16,13%)

### Gorčina

Tablica 9: Gorčina hmeljenih sladovinama izražena u IBU

| Postupak ukumljavanja | Gorčina (IBU) |
|-----------------------|---------------|
| 1                     | 20,33         |
| 2                     | 17,56         |
| 3                     | 16,91         |



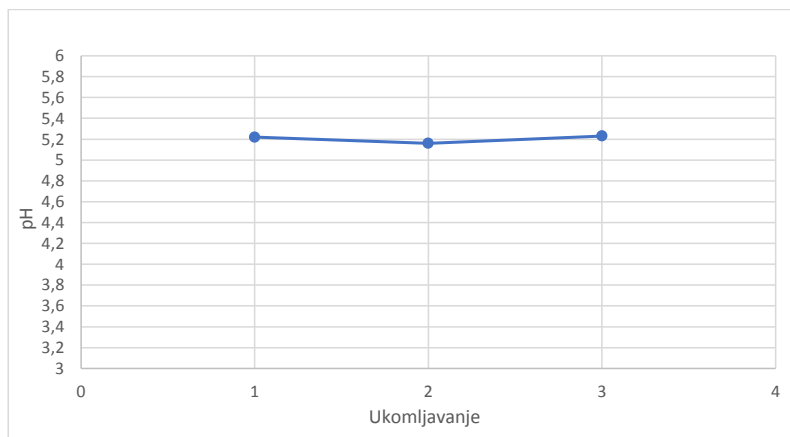
Graf 8: Gorčina hmeljene sladovine

Najveća vrijednost gorčine hmeljene sladovine izmjerena je nakon prvog postupka ukumljavanja (20,33 IBU) dok je najmanja izmjerena u sladovini dobivenoj trećim postupkom (16,91 IBU). Hmeljena sladovina dobivena drugim postupkom ukumljavanja imala je srednje intenzivnu gorčinu (17,56 IBU)

### pH-vrijednost

Tablica 10: pH vrijednosti hmeljene sladovine

| Postupak ukumljavanja | pH-vrijednost |
|-----------------------|---------------|
| 1                     | 5,22          |
| 2                     | 5,16          |
| 3                     | 5,23          |



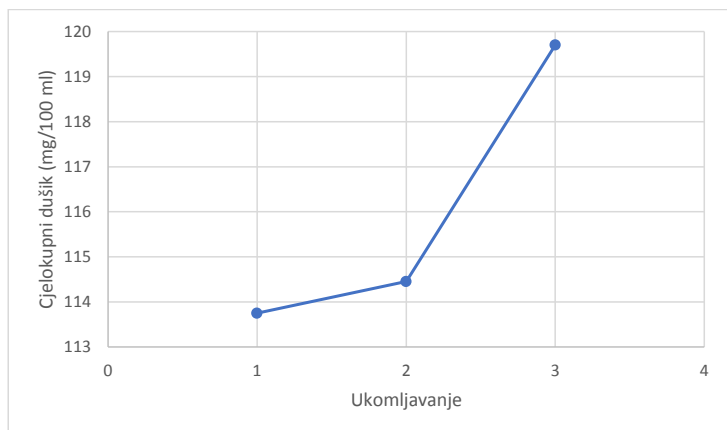
Graf 9: pH hmelenih sladovina

Između pH-vrijednosti hmelenih sladovina nije bilo statistički značajnih razlika

### Ukupni dušik

Tablica 11: Koncentracija cjelokupnog dušika hmelenih sladovina

| Postupak ukumljavanja | Ukupni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|--------------------------|
| 1                     | 113,75                   |
| 2                     | 114,45                   |
| 3                     | 119,7                    |



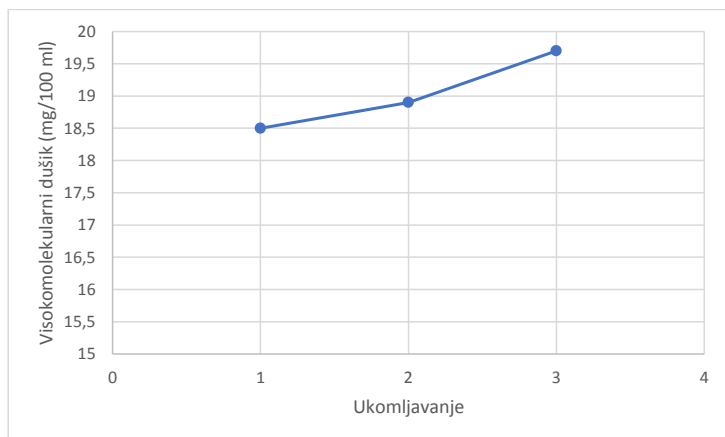
Graf 10: Ukupni dušik hmeljenih sladovina

Iz tablice i grafa vidljiv je trend porasta koncentracije cjelokupnog dušika u hmeljenoj sladovini, s većim skokom između sladovine proizvedene drugim (114,45 mg/100ml) i trećim ukumljavanjem (119,7 mg/100ml), u odnosu na prvo ukumljavanje (113,75 mg/100ml)

#### Visikomolekularni dušik

**Tablica 12:** Koncentracija visikomolekularnog dušika hmeljenih sladovina

| Postupak ukumljavanja | Visikomolekularni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|-------------------------------------|
| 1                     | 18,5                                |
| 2                     | 18,9                                |
| 3                     | 19,7                                |



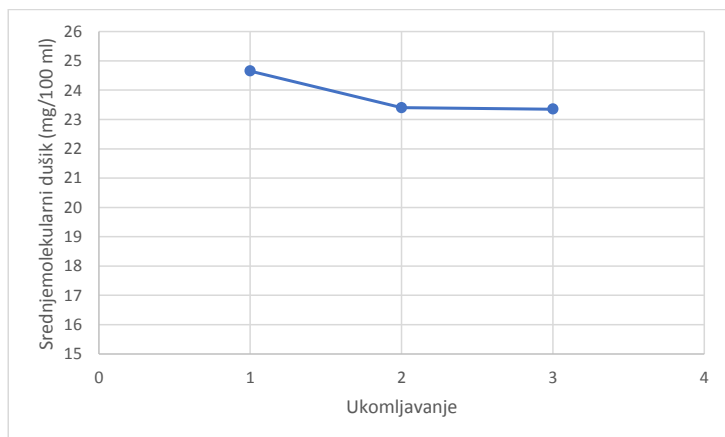
Graf 11: Koncentracija visokomolekularnog dušika hmeljenih sladovina

Iz grafa i tablice vidljiv je trend blagog, gotovo zanemarivog porasta koncentracije visokomolekularnog dušika od hmeljene sladovine proizvedene prvim ukomljavanjem (18,5 mg/100ml) prema onoj proizvedenoj drugim ukomljavanjem (18,9 mg/100ml) i trećim ukomljavanjem (19,7 mg/100ml)

### Srednjemolekularni dušik

Tablica 13: Koncentracija srednjemolekularnog dušika hmeljenih sladovina

| Postupak ukomljavanja | Srednjemolekularni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|--------------------------------------|
| 1                     | 24,65                                |
| 2                     | 23,40                                |
| 3                     | 23,35                                |



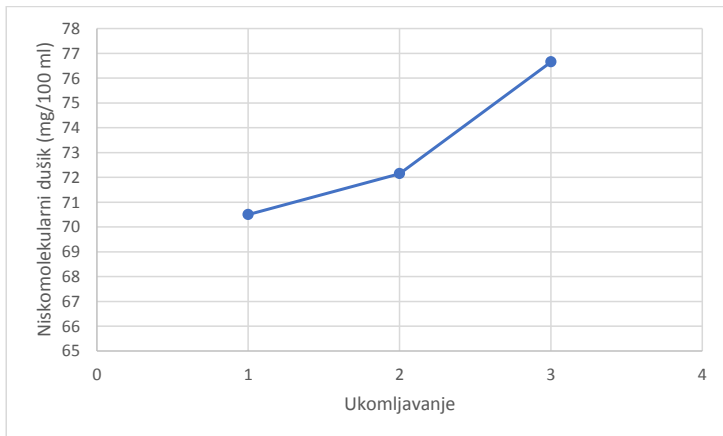
Graf 12: Koncentracija srednjemolekularnog dušika hmeljenih sladovina

iz priloženih podataka ne može se iščitati jasan trend rasta ili pada koncentracije srednjemolekularnog dušika, ali je pad jasan između hmeljene sladovine proizvedene prvim ukumljavanjem (24,65 mg/100ml) i hmeljenih sladovina proizvedenih drugim (23,40 mg/100ml) i trećim ukumljavanjem (23,35 mg/100ml).

#### Niskomolekularni dušik

Tablica 14: Koncentracija niskomolekularnog dušika

| Postupak ukumljavanja | Niskomolekularni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|------------------------------------|
| 1                     | 70,5                               |
| 2                     | 72,15                              |
| 3                     | 76,65                              |



Graf 13: Koncentracija niskomolekularnog dušika

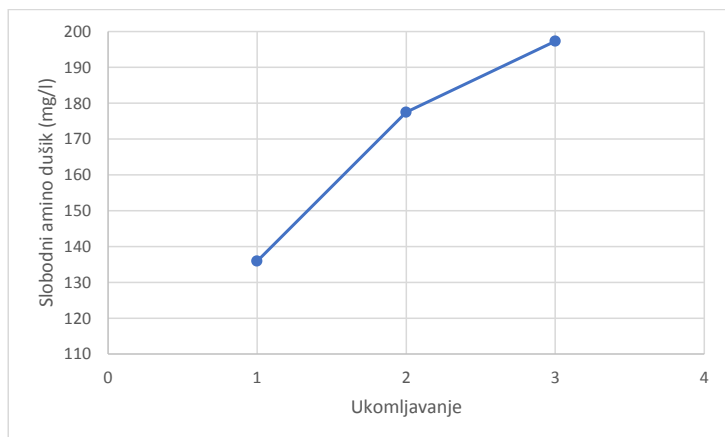
Iz priloženih je podataka jasno vidljiv trend porast koncentracije niskomolekularnog dušika od hmeljene sladovine proizvedene prvim ukumljavanjem (70,5 mg/100ml) do hmeljene sladovine proizvedene trećim ukumljavanjem (76,65 mg/100ml) uz izraženiji skok u koncentraciji između sladovine proizvedene drugim ukumljavanjem (72,15 mg/100ml) i sladovine proizvedene trećim ukumljavanjem.

#### Slobodni amino dušik

Tablica 15: Slobodni amino dušik

| Postupak ukumljavanja | Slobodni amino dušik (mg/l) |
|-----------------------|-----------------------------|
| 1                     | 135,9                       |
| 2                     | 177,5                       |
| 3                     | 197,3                       |





Graf 14: Koncentracija slobodnog amino dušika

Iz priloženih je podataka lako uočljiv trend porasta koncentracije slobodnog amino dušika od hmeljene sladovine proizvedene prvim (135,9 mg/l) do hmeljene sladovine proizvedene trećim (197,3 mg/l) ukomljavanjem. Hmeljena sladovina proizvedena drugim ukomljavanjem imala je srednju koncentraciju slobodnog amino dušika (177,5 mg/l).

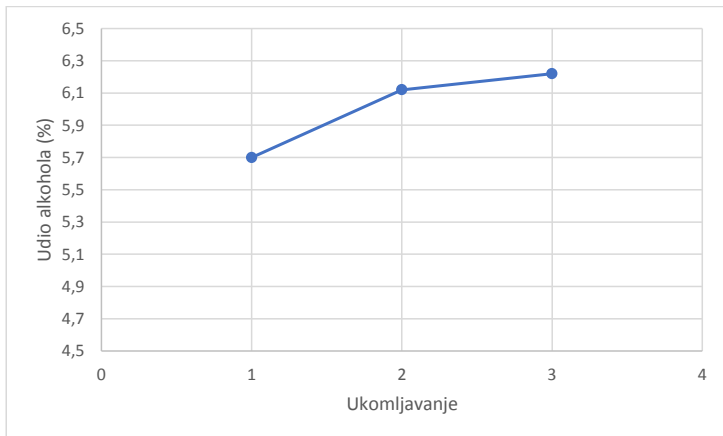
### 4.3. PIVO

U pivu su analizirani sljedeći parametri: Udio alkohola, gorčina, boja, pH, koncentracija cjelokupnog, visokomolekularnog, srednjemolekularnog, niskomolekularnog te slobodnog amino dušika.

#### Udio alkohola

Tablica 16: Udjeli alkohola u pivima

| Postupak ukomljavanja | Udio alkohola |
|-----------------------|---------------|
| 1                     | 5,695         |
| 2                     | 6,12          |
| 3                     | 6,22          |



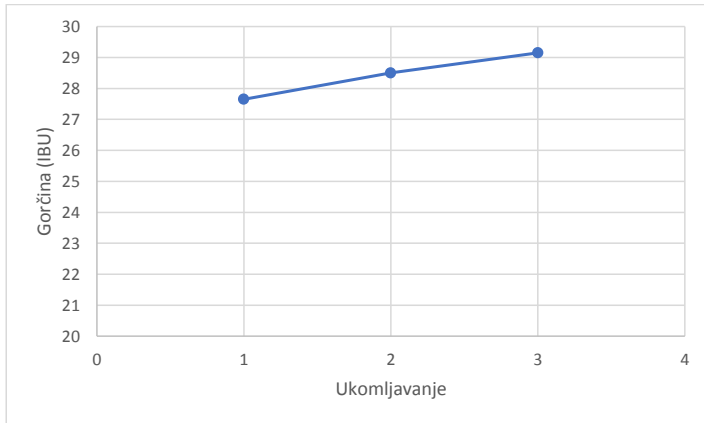
Graf 15: Udio alkohola u pivima

Iz priloženih je podataka vidljiv blagi trend rasta udjela alkohola od prvog (5,695%) prema drugom (6,12%) i trećem ukumljavanju (6,22%)

### Gorčina

Tablica 17: Gorčina u pivima

| Postupak ukumljavanja | Gorčina (IBU) |
|-----------------------|---------------|
| 1                     | 27,65         |
| 2                     | 28,50         |
| 3                     | 29,15         |



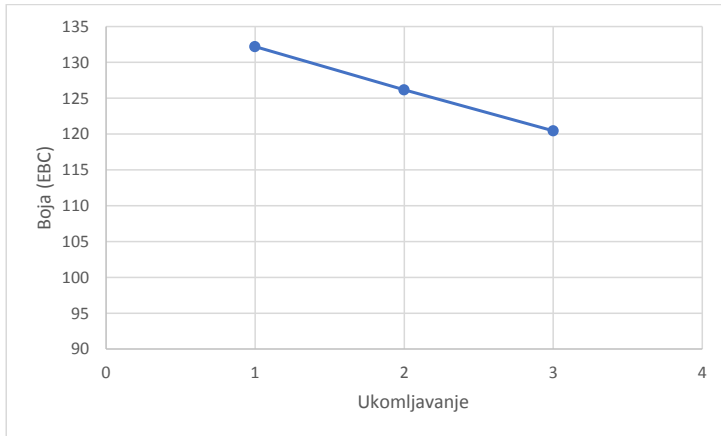
Graf 16: Gorčina u pivama

Iz priloženih je podataka vidljiv blagi trend rasta gorčine od prvog (27,65 IBU) prema drugom (28,50 IBU) i trećem ukumljavanju (29,15 IBU)

### Boja

Tablica 18: Boja piva

| Postupak ukumljavanja | Boja (EBC) |
|-----------------------|------------|
| 1                     | 132,2      |
| 2                     | 126,15     |
| 3                     | 120,45     |



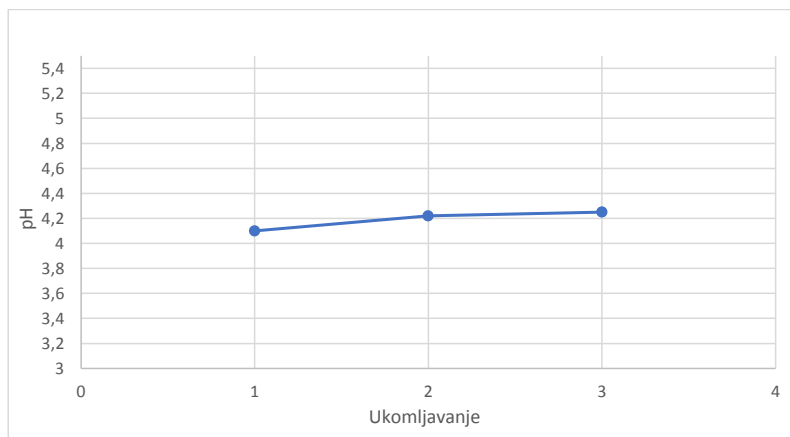
Graf 17: Boja u pivama

Iz priloženih je podataka vidljiv trend pada intenziteta boje od prvog (132,2 EBC) prema drugom (126,15 EBC) i trećem ukomljavanju (120,45 EBC)

## pH

Tablica 19: pH vrijednost piva

| Postupak ukomljavanja | pH-vrijednost |
|-----------------------|---------------|
| 1                     | 4,10          |
| 2                     | 4,21          |
| 3                     | 4,25          |



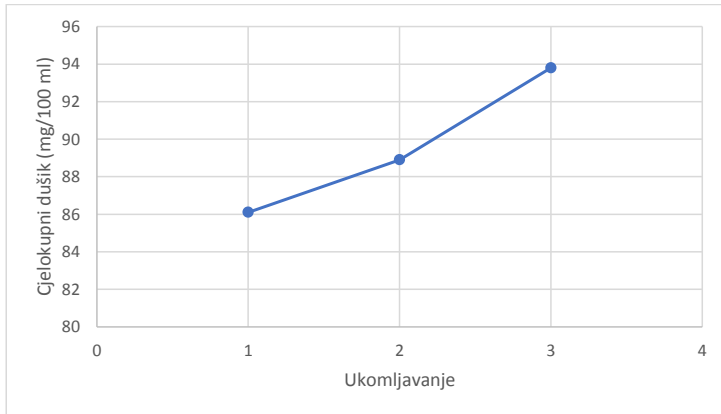
Graf 18: pH vrijednost piva

Razlike u pH vrijednosti piva dobivenih različitim ukumljavanjima vrlo su male te nisu statistički značajne.

### Ukupni dušik

Tablica 20: Koncentracija cjelokupnog dušika u pivu

| Postupak ukumljavanja | Cjelokupni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|------------------------------|
| 1                     | 86,1                         |
| 2                     | 88,9                         |
| 3                     | 93,8                         |



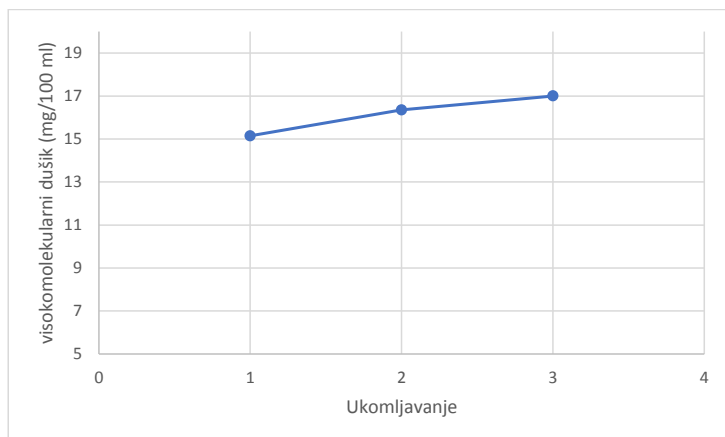
Graf 19: Koncentracija cjelokupnog dušika u pivima

Iz priloženih je podataka jasan trend rasta koncentracije cjelokupnog dušika od prvog (86,1 mg/100ml) prema trećem (93,8 mg/100ml) ukomljavanju, a posebno je očit između drugog (88,9 mg/100ml) i trećeg ukomljavanja.

### Visikomolekularni dušik

Tablica 21: Koncentracija visikomolekularnog dušika u pivu

| Postupak ukomljavanja | Visikomolekularni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|-------------------------------------|
| 1                     | 15,15                               |
| 2                     | 16,35                               |
| 3                     | 17,0                                |



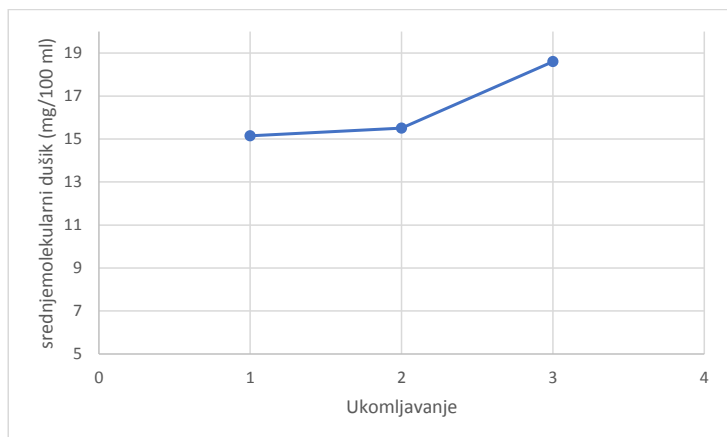
Graf 20: Koncentracija visokomolekularnog dušika u pivima

Iz priloženih je podataka vidljiv trend blagog porast koncentracije visokomolekularnog dušika od piva proizvedenog prvim (15,15 mg/100 ml) do piva proizvedenog drugim (16,35 mg/100ml) ukumljavanjem i trećim ukumljavanjem (17,0 mg/100 ml).

### Srednjemolekularni dušik

Tablica 22: Koncentracija srednjemolekularnog dušika u pivu

| Postupak ukumljavanja | Srednjemolekularni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|--------------------------------------|
| 1                     | 15,15                                |
| 2                     | 15,50                                |
| 3                     | 18,60                                |



Graf 21: Koncentracija srednjemolekularnog dušika u pivima

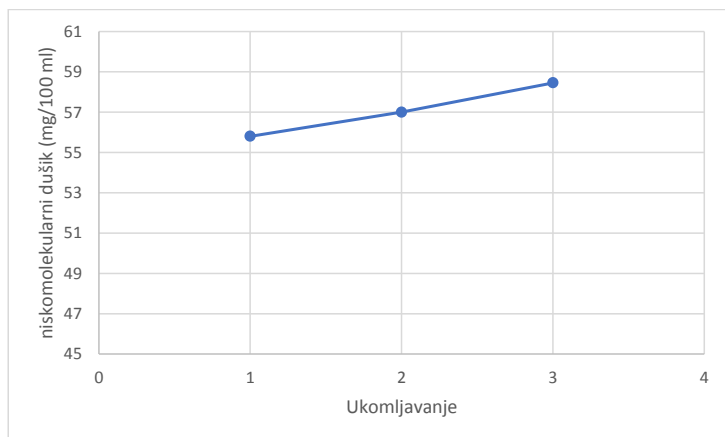
Iz priloženih je podataka vidljiv blagi trend rasta koncentracije srednjemolekularnog dušika od piva proizvedenog prvim ukumljavanjem (15,15 mg/100ml) do piva proizvedenog trećim ukumljavanjem (18,6 mg/100 ml), uz naglašeni skok između piva proizvedenog drugim (15,5 mg/100ml) i trećim ukumljavanjem.

#### Niskomolekularni dušik

Tablica 23: Koncentracija niskomolekularnog dušika u pivu

| Postupak ukumljavanja | Niskomolekularni dušik (mg/100 ml) |
|-----------------------|------------------------------------|
| 1                     | 55,80                              |
| 2                     | 57,0                               |
| 3                     | 58,45                              |





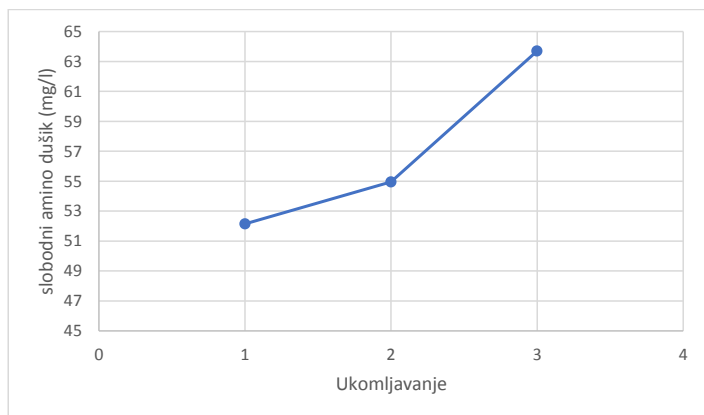
Graf 22: Koncentracija niskomolekularnog dušika u pivima

Iz priloženih je podataka vidljiv trend blagog porasta u koncentraciji niskomolekularnog dušika u pivu od piva proizvedenog prvim (55,8 mg/100ml) do piva proizvedenog drugim (57,0 mg/100ml) i trećim ukumljavanjem (58,45 mg/100ml).

### Slobodni amino dušik

Tablica 24: Slobodni amino dušik u pivu

| Postupak ukumljavanja | Slobodni amino dušik (mg/l) |
|-----------------------|-----------------------------|
| 1                     | 52,15                       |
| 2                     | 54,95                       |
| 3                     | 63,7                        |



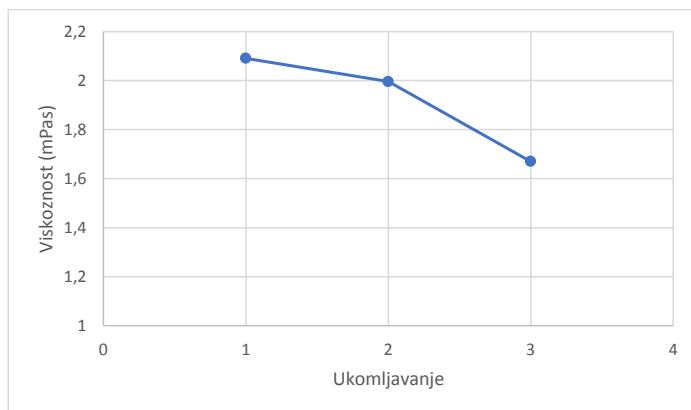
Graf 23: Koncentracija slobodnog amino dušika u pivima

Iz priloženih je podataka jasan trend porasta koncentracije alfa amino dušika od piva proizvedenog prvim (52,15 mg/l) do piva proizvedenog trećim ukumljavanjem (63,7 mg/l) uz posebno naglašen skok između drugog (54,95 mg/l) i trećeg ukumljavanja.

## Viskoznost

Tablica 25: Viskoznost piva

| Ukumljavanje | Viskoznost (mPas) |
|--------------|-------------------|
| 1            | 2,091             |
| 2            | 1,996             |
| 3            | 1,670             |



Graf 24: Viskoznost piva

Iz priloženih je podataka vidljiv trend pada viskoznosti od prvog (2,091 mPas) prema trećem ukumljavanju (1,67 mPas), koji je posebno naglašen između drugog (1,996 mPas) i trećeg ukumljavanja.

## 5. RASPRAVA

Većina se pivara slaže da pri proizvodnji piva gornjega vrenja, pod uvjetom da se koriste kvalitetni sladovi, nije potrebno uvoditi dodatne korake ukumljavanja izuzev jednostupanjske saharifikacije na temperaturama između 64 i 69°C, ovisno o željenim karakteristikama piva. Rasprava se ipak vodi oko potrebe za dodatnim koracima ukumljavanja pri korištenju prekrupe s udjelom neslađenih sirovina. Opći je konsenzus da je poželjno raditi sve korake infuzijskog postupka pri proizvodnji „oatmeal stouta“, djelomično zbog povećanog udjela proteina, djelomično zbog  $\beta$ -glukana, koji značajno otežavaju cijedenje ukoliko nisu dostatno

razgrađeni. U ovome je radu stoga napravljen pregled svih bitnih parametara koji utječu na kvalitetu krajnjeg proizvoda, kako bi pivari mogli odlučiti je li vrijedno ulagati više vremena, ali i koristiti više energenata u svrhu dodavanja dodatnih koraka ukomljavanja.

Najizraženije razlike u mjeranim parametrima između 3 režima ukomljavanja bile su u koncentracijama slobodnog amino dušika. U hmeljenoj sladovini, proizvedenoj 3. režimom ukomljavanja, koncentracija slobodnog amino dušika bila je 10% veća (197,3 mg/l) nego u hmeljenoj sladovini proizvedenoj 2. režimom ukomljavanja (177,5 mg/l) te 31% veća nego u hmeljenoj sladovini proizvedenoj 1. režimom ukomljavanja (120,9 mg/l). Uzrok razlika u spomenutim koncentracijama djelovanje je proteinaza i peptidaza koje su razgradnjom proteina unijele veću količinu slobodnoga amino dušika u sladovinu trećeg režima ukomljavanja. Količina slobodnoga amino dušika ipak nije bila ograničavajući faktor fermentacije te je, čak i u pivu proizvedenom 1. ukomljavanjem, nakon fermentacije ostalo 52.15 mg/l slobodnoga amino dušika. Kvasac nikada ne koristi sav raspoloživi slobodni amino dušik nego ga metabolizira redom po skupinama aminokiselina: A (arginin, asparagin, aspartat, glutamat, glutamin, lizin, serin, treonin), zatim B (histidin, izoleucin, leucin, metionin, i valin), završno sa skupinom C (alanin, glicin, fenilalanin, tirozin, triptofan te amonijak). U skupini D je samo prolin, kojeg kvasac ne metabolizira. Udio prolina u slobodnom amino dušiku može znatno varirati ovisno o sirovinama iz kojega dolazi ali je uvijek niži od koncentracije zaostale u pivama proizvedenima svima trima režimima ukomljavanja. (Shopska i sur., 2019) Iz navedenih se podataka može zaključiti da je slobodnog amino dušika ostalo u suvišku nakon fermentacije, što znači da je koncentracija istog bila dovoljna pri svim režimima ukomljavanja.

Zbog djelovanja spomenutih enzima, koncentracija ukupnog dušika u hmeljenoj sladovini dobivenoj trećim postupkom ukomljavanja (119,7 mg/100ml) je bila blago povećana u odnosu na prethodna 2 postupka (113,75 u 1. i 114,45 mg/100 ml u 2.), dok u koncentracijama visokomolekularnog i srednjemolekularnog dušika nema statistički značajnih razlika. Pretpostavka je da je vjerojatan razlog tome djelovanje proteinaza i peptidaza, koje su, ukupno veću koncentraciju proteina u 3. ukomljavanju, djelomično razgradili na one manje molekulske mase, što se odrazilo i na povišenom udjelu niskomolekularnog dušika. Većina se koncentracija ukupnog, visoko, srednje i niskomolekularnog dušika nakon fermentacije smanjila proporcionalno.

Od ostalih je parametara najuočljivija razlika u viskoznosti piva. Pivo proizvedeno prvim ukomljavanjem (2,091 mPas) za 4.5% je viskoznije od onog proizvedenog drugim (1,996

mPas) te 20.1% od onog proizvedenog trećim ukomljavanjem (1,67 mPas). Pretpostavlja se da je najvjerojatniji razlog djelovanje glukanaza. U trećem je ukomljavanju bila aktivna endo- $\beta$ -1,4 glukanaza, koja je najaktivniji enzim za razgradnju  $\beta$ -glukana te  $\beta$ -glukan solubilaza, enzim aktivan do 62 °C. Spomenuti je enzim bio aktivan i u drugom ukomljavanju, ali je njegovo djelovanje slabije od onoga endo- $\beta$ -1,4 glukanaze, stoga je pivo bilo viskoznije. Najviskoznije je pivo bilo proizvedeno prvim ukomljavanjem jer sladovina tijekom tog procesa nije bila podvrgnuta temperaturi optimalnoj ni za koji enzim koji cijepa  $\beta$ -glukane te su dugački lanci tih molekula ostali nerazgrađeni u sladovini.

Sva su 3 piva, hmeljene sladovine i sladovine imala međusobno sličnu pH-vrijednost, na koju, u ovom slučaju, nije utjecala temperatura ukomljavanja, što znači da fitaza nije bila aktivna dovoljno vremena da hidrolizira značajnije količine fitinske kiseline.

Udio ekstrakta u sladovini je imao trend blagog porasta od prvog prema trećem ukomljavanju. Najvjerojatniji razlog tome je djelovanje glukanaza. Što je djelovanje glukanaza izraženije, razgrađuje se više staničnih stijenki u endospermu žitarica.  $\beta$ -glukani u endospermu ječma većinom su razgrađeni u procesu slađenja, ali su i dalje prisutni u manjim koncentracijama.  $\beta$ -glukani iz zobi nisu razgrađeni u procesima proizvodnje pahuljica, zbog čega je njihova adekvatna razgradnja ključna za kvalitetnu ekstrakciju. Osim glukanaza, razlog kvalitetnijoj ekstrakciji vjerojatno je i djelovanje  $\alpha$  i  $\beta$ -amilaze na njihovim optimalnim temperaturama. Spomenuti enzimi bili su u optimalnom temperaturnom rasponu za djelovanje tijekom drugog i trećeg ukomljavanja, dok to tijekom prvog ukomljavanja nije bio slučaj. Nadalje, djelovanje oba enzima trajalo je duže zbog same dužine ukomljavanja jer, iako mnogo slabije, spomenuti enzimi djeluju i na temperaturama višima i nižima od optimalnih. Udio ekstrakta hmeljene sladovine rastao je proporcionalno u odnosu na koncentraciju istoga u sladovini kod svih uzoraka.

Vrijednosti za boju sladovine su rasle sa svakim procesom ukomljavanja pa je tako u drugom izmjerena vrijednost od 127,6 EBC jedinica, što je znatno više od vrijednosti dobivene u prvom postupku (103,1 EBC jedinica). U trećem postupku je izmjerena vrijednost od 128,55 EBC jedinica.

Razlog tom porastu bi mogao biti u povećanoj koncentraciji polifenola u drugom i trećem ukomljavanju. Zbog dužeg termičkog izlaganja sladovine te razgradnje aleuronskog sloja, u kojem je najveća koncentracija polifenola, koncentracija je spomenutih spojeva veća u drugom i trećem ukomljavanju, a njihova je koncentracija u direktnoj korelaciji s intenzitetom

boje sladovine. (Hodžić i sur., 2007) Zbog većeg se termičkog izlaganja također formira veća količina Maillardovih produkata koji su važni spojevi za boju i aromu sladovine. Većoj koncentraciji spomenutih spojeva također pridonosi veća koncentracija aminokiselina i reducirajućih šećera, koji su u većoj mjeri prisutni u sladovinama proizvedenim drugim i trećim ukomljavanjem. (Wang Y., Ye L. 2021) U pivu je trend promijene boje bio suprotan onome promijene boje sladovine. Boja je piva proizvedenog prvim ukomljavanjem bila najtamnija (132,2 EBC), drugim ukomljavanjem srednje tamna (126,15 EBC), a trećim ukomljavanjem najsvjetlija (120,45 EBC). Razlog bi tome moglo biti antioksidativno djelovanje polifenola. Polifenoli (ponajviše flavan-3-oli) kroz nekoliko mehanizama, kao što su inaktivacija slobodnih radikala te pojedinih enzima, djeluju antioksidativno čime se smanjuje potamnivanje boje piva uslijed oksidacije. (Aron i sur., 2010) Piva s većim udjelom zobi u prekrupi posebno su osjetljiva na oksidaciju zbog većeg udjela nezasićenih masnih kiselina, čije dvostruke i trostruke veze između atoma ugljika lakše pucaju te na sebe vežu kisik.

Izmjerene vrijednosti za gorčinu u dobivenom pivu su također bile veće sa svakim postupkom ukomljavanja. Takav se trend može objasniti činjenicom da izo- $\alpha$ -kiseline, ponajviše izohumulon i izoadhumulon tvore ionske veze sa proteinima prisutnim u sladovini. (Gänz, i sur. 2022) Iz tog je razloga u pivama s višim udjelom proteina iskoristivost gorkih spojeva hmelja veća. Trend promijene u koncentraciji  $\alpha$ -kiselina bio je suprotan u hmeljenoj sladovini. Razlog bi tome mogao biti slabija izomerizacija  $\alpha$ -kiselina pri većim udjelima dušika i ekstrakta u sladovini. Količina izomeriziranih gorkih spojeva ipak se bolje održala nakon fermentacije u pivama proizvedenim drugim i trećim postupkom ukomljavanja zbog veće količine proteina na koje su se izo- $\alpha$ -kiseline mogle vezati.

## 6. ZAKLJUČAK

Pri odlučivanju o vrsti ukomljavanja kod proizvodnje piva s udjelom neslađene zobi u prekrupi, važno je u obzir uzeti više faktora. Prvi je od faktora volumen proizvedene sladovine. Proizvodnjom manjih količina sladovine ne šteti se vrijeme dodavanjem dodatnih koraka. Brže cijedenje manje viskoznih komina ne nadoknađuje vrijeme izgubljeno provođenjem svih temperaturnih stanki. Ukoliko je volumen sladovine veći, trajanje je cijedenja značajnije, dok je trajanje ostatka ukomljavanja slično (komina se grije, ovisno o dostupnoj opremi, brzinom od oko 1 do 2°C po minuti neovisno o volumenu). U tom slučaju valja razmisliti o uvođenju koraka za razgradnju  $\beta$ -glukana i proteina kako bi cijedenje bilo brže.

Drugi je bitan faktor u donošenju odluke cijena energenata potrebnih za uvođene dodatnih temperaturnih stanki pri ukomljavanju. Ukoliko je cijena istih manja od količine prekrupe koja se treba dodati pri jednostupanjskom ukomljavanju kako bi se kompenzirala nešto slabija ekstrakcija, dodavanje novih temperaturnih stanki može biti isplativo. U slučaju ovog eksperimenta, ukomljavanje sa svim koracima je prosječno dalo 2.3 °P više od jednostupanjskog ukomljavanja te 1.27 °P više od dvostupanjskog ukomljavanja. Posljedično tome, pivo proizvedeno 2. ukomljavanjem imalo je 0.43% više alkohola, a pivo proizvedeno 3. ukomljavanjem 0.53% više alkohola od piva proizvedenog samo s jednim temperaturnim korakom tijekom ukomljavanja.

Udio proteina je rastao u sladovini i pivu dobivenim postupcima ukomljavanja s većim brojem koraka. Proteina je u trećem ukomljavanju bilo 5,2% više nego u drugom te 8,2% više nego u prvom postupku. Kako bi se utvrdile prednosti piva s navedenom razinom povećanja proteina, potrebno je provesti daljnja istraživanja. Navedeno povećanje u koncentraciji proteina može utjecati na stabilnost pjene piva, ali i njegovu koloidnu stabilnost.

Udio slobodnog amino dušika je rastao od ukomljavanja s jednim, prema ukomljavanju s četiri koraka. Koncentracija slobodnog amino dušika je bitna za zdravu i brzu fermentaciju, s obzirom da je spomenuta skupina spojeva bitan faktor u metabolizmu kvasca. S obzirom na činjenicu da je fermentacija svih piva bila gotova u periodu od 6 dana te da je slobodnog amino dušika ostalo u suvišku u svakome pivu, može se zaključiti da je, u ovome slučaju, koncentracija istoga bila dostatna za dobru i potpunu fermentaciju. Potrebno je provesti daljnja istraživanja mladoga piva u procesu fermentacije kako bi se utvrdila razlika u brzini fermentacije s različitim udjelima slobodnog amino dušika.

Formatted: Line spacing: 1,5 lines

Formatted: Line spacing: 1,5 lines, Tab stops: 4,3 cm, Left

## 7. LITERATURA

1. Analytica-EBC (2004), European brewery convention (5. izdanje, 3. dopuna), Nurnberg: Verlag Hans Carl Getranke-Fachverlag, Brisel, Belgija
2. Crabb, D., Bathgate, G.N. (1973): The influence of  $\beta$ -glucanase on efficiency of wort separation. *Journal of the Institute of Brewing*, **62** (4) 155-162.
3. Fox, G. P. (2009): Chemical Composition in Barley Grains and Malt Quality, Genetics and Improvement of Barley Malt Quality, Springer, Dordrecht, Nizozemska. 63-98.
4. Gänz, N., Becher, T., Drusch, S. (2022): Interaction of proteins and amino acids with iso- $\alpha$ -acids during wort preparation in the brewhouse. *European Food Research and Technology*, **248**, 741–750.
5. Hodzic, Z., Karahmetović, A., Saletovic, M., Šestan, A. M. (2007): Relationship between total polyphenols and colour values of wort and beer. *ANNALS of Faculty Engineering Hunedoara– International Journal of Engineering*, **1**, 145-148.
6. Holopainen-Mantila, U. (2015) : Composition and structure of barley (*Hordeum vulgare* L.) grain in relation to end uses
7. Jones, A. M., Ingledeu, W.M. (1994): Fermentation of very high gravity wheat mash prepared using fresh yeast autolysate. *Bioresource Technology*, **50**, 97-101
8. MEBAK (2013) "Wort, beer and beer-based beverages" The Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission, Nürnberg, Njemačka
9. Mosher, M., Trantham, K., (2017): *Brewing Science: A Multidisciplinary Approach*, Springer Cham, Švicarska
10. Shopska, V., Denkova, R., Lyubenova, V., Kostov G. (2019): *Fermented Beverages*, Grumezescu, A., Holban, A.M., ur. Woodhead Publishing, Sawston, Ujedinjeno Kraljevstvo.
11. Sterna, V., Zute, S., Brunava, L. (2016): Oat Grain Composition and its Nutrition Benefice, *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, **8**, 252-256
12. Wang Y., Ye L. (2021): Haze in Beer: Its Formation and Alleviating Strategies, from a Protein-Polyphenol Complex Angle, *Foods*, **10**, 12, 3114.
13. Zhang, K., Dong, R., Hu, X., Ren, C., Li, Y. (2021): Oat-Based Foods: Chemical Constituents, Glycemic Index, and the Effect of Processing. *Foods*, **10**, 6, 1304.

Formatted: Font: Italic



### **Izvori slika preuzetih s Internet stranica**

**Slika 1.** Shema mlina za slad sa 6 valjaka, Izvor:

[https://www.zhbrewery.com/data/editor/php/image/20200113/20200113171308\\_13205.png](https://www.zhbrewery.com/data/editor/php/image/20200113/20200113171308_13205.png)

**Slika 2.** Shema mlina čekičara, Izvor :

<https://www.pharmanotes.org/2021/10/hammer-mil.html>

**Slika 3:** Djelovanje  $\alpha$  i  $\beta$  amilaze, izvor:

<https://core.ac.uk/download/pdf/197869529.pdf>

**Slika 4:** Temperaturni raspon djelovanja enzima, izvor:

<https://missionarybrewer.wordpress.com/2012/02/01/the-brewers-window-what-temperature-should-i-mash-at/>

**Slika 5:** Primjer grafa infuzijskog ukomljavanja, izvor:

<https://www.arishtam.com/product/pale-ale-beer-malt-barley-malt/>

**Slika 6:** Primjer grafa dekokcijskog ukomljavanja sa 2 koraka, Izvor:

<https://crisp malt.com/news/the-crisp-guide-to-mashing/>

**Slika 7:** Shema cjednjaka za odvajanje sladovine, Izvor:

[https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-1-4615-0729-1\\_12.pdf](https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-1-4615-0729-1_12.pdf)

**Slika 8:** Anatomski sastav zrna ječma, Izvor:

<https://ars.els-cdn.com/content/image/3-s2.0-B9780128120439000047-f04-14-9780128120439.jpg>

**Slika 9:** Želatinizacija škroba, Izvor:

<https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A1092/datastream/PDF/view>

### **7.1. Popis slika**

**Slika 1.** Shema mlina za slad sa 6 valjaka

**Slika 2.** Shema mlina čekičara

**Slika 3:** Djelovanje  $\alpha$  i  $\beta$  amilaze

**Slika 4:** Temperaturni raspon djelovanja enzima

**Slika 5:** Primjer grafa infuzijskog ukomljavanja

**Slika 6:** Primjer grafa dekokcijskog ukomljavanja s 2 koraka

**Slika 7:** Shema cjednjaka za odvajanje sladovine

**Slika 8:** Anatomski sastav zrna ječma

**Slika 9:** Želatinizacija škroba

## 7.2 Popis grafova

**Graf 1:** Režim ukomljavanja s 1 korakom

**Graf 2:** Režim ukomljavanja s 2 koraka i mash outom.

**Graf 3:** Režim ukomljavanja s 4 koraka

**Graf 4:** Udio ekstrakta u sladovini

**Graf 5:** pH sladovina

**Graf 6:** Boja sladovina

**Graf 7:** Udio ekstrakta u hmeljenim sladovinama

**Graf 8:** Gorčina hmeljene sladovine

**Graf 9:** pH hmeljenih sladovina

**Graf 10:** Ukupni dušik hmeljenih sladovina

**Graf 11:** Koncentracija visokomolekularnog dušika hmeljenih sladovina

**Graf 12:** Koncentracija srednjemolekularnog dušika hmeljenih sladovina

**Graf 13:** Koncentracija niskomolekularnog dušika

**Graf 14:** Koncentracija slobodnog amino dušika

**Graf 15:** Uio alkohola u pivima

**Graf 16:** Gorčina u pivima

**Graf 17:** Boja u pivima

**Graf 18:** pH piva

**Graf 19:** Koncentracija cjelokupnog dušika u pivima

**Graf 20:** Koncentracija visokomolekularnog dušika u pivima

**Graf 21:** Koncentracija srednjemolekularnog dušika u pivima

**Graf 22:** Koncentracija niskomolekularnog dušika u pivima

**Graf 23:** Koncentracija slobodnog amino dušika u pivima

**Graf 24:** Viskoznost piva

### 7.3. Popis tablica

**Tablica 1:** Temperatura želatinizacije žitarica (*Mosher, Trantham 2017*)

**Tablica 2:** Sirovine za proizvodnju piva

**Tablica 3:** Rezultati analiza sladovine, hmeljene sladovine i piva

**Tablica 4:** Prosječne vrijednosti mjerenih parametara

**Tablica 5:** Udio ekstrakta u sladovini u 3 različita ukomljavanja

**Tablica 6:** pH vrijednosti sladovine

**Tablica 7:** Boja različitih sladovina u EBC

**Tablica 8:** Udio ekstrakta u hmeljenim sladovinama

**Tablica 9:** Gorčina hmeljenih sladovina u IBU

**Tablica 10:** pH vrijednosti hmeljene sladovine

**Tablica 11:** Koncentracija cjelokupnog dušika hmeljenih sladovina

**Tablica 12:** Koncentracija visokomolekularnog dušika hmeljenih sladovina

**Tablica 13:** Koncentracija srednjemolekularnog dušika hmeljenih sladovina

**Tablica 14:** Koncentracija niskomolekularnog dušika

**Tablica 15:** Slobodni amino dušik

**Tablica 16:** Udjeli alkohola u pivima

**Tablica 17:** Gorčina u pivima

**Tablica 18:** Boja piva

**Tablica 19:** pH piva

**Tablica 20:** Koncentracija cjelokupnog dušika u pivu

**Tablica 21:** Koncentracija visokomolekularnog dušika u pivu

**Tablica 22:** Koncentracija srednjemolekularnog dušika u pivu

**Tablica 23:** Koncentracija niskomolekularnog dušika u pivu

**Tablica 24:** Slobodni amino dušik u pivu

**Tablica 25:** Viskoznost piva