

# Utjecaj filtracijskih materijala na stabilnost piva

---

**Đurić, Boris**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:600410>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-23**



**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**

Odjel prehrambene tehnologije

Usmjerenje: Pivarstvo

Boris Đurić

**UTJECAJ FILTRACIJSKIH MATERIJALA NA  
STABILIZACIJU PIVA**

Završni rad

Karlovac, lipanj, 2018. god.

**Veleučilište u Karlovcu**  
Odjel prehrambene tehnologije  
Usmjerenje: Pivarstvo

Boris Đurić

**UTJECAJ FILTRACIJSKIH MATERIJALA NA  
STABILIZACIJU PIVA**

Završni rad

Mentor: Sandra Zavadlav, dipl. ing.

Karlovac, lipanj, 2018. god.

# Utjecaj filtracijskih materijala na stabilizaciju piva

## SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je provesti različite režime stabilizacije Karlovačkog svijetlog piva, te utvrditi najefikasniji režim sterilizacije. Provedena su mjerenja mutnoće i udjela polifenola u pivu raznim metodama kao što su Chapon test, test s taninskom kiselinom i sedam dana test. Ispitano je osamnaest uzoraka Karlovačkog svijetlog piva koje je proizvedeno pod različitim stabilizacijskim režimima koja se razlikuju po upotrebi različitih kombinacija stabilizacijskih materijala i različitim protocima doziranja stabilizacijskih sredstava.

Kemijskim analizama je utvrđeno da je režim stabilizacije gdje se doziralo 40 g/hL PVPP sredstva u pivo, imao je najbolje rezultate glede stabilnosti i održivosti proizvoda. Stabilizacijskim režimom doziranja 20 g/hL PVPP sredstva proizvelo se najmanje održivo pivo. Režimi u kojima se pivo stabiliziralo samo sa PVPP sredstvom dali su loše rezultate u Capon testu i testu s taninskom kiselinom jer je proizvod stabiliziran samo glede polifenola. Tako da su preostali proteini koji nisu uklonjeni stabilizacijskim tretmanom utjecali na loše rezultate. Svi rezultati slijede logičan slijed koji se mogao očekivati uzimajući u obzir prirodu piva.

**Ključne riječi:** Karlovačko svijetlo pivo, polifenoli, proteini, stabilizacija piva

# **Influence of filtering materials on beer stabilization**

## **ABSTRACT**

The goal of this study was to achieve various stabilization regimes of the product Karlovačko bright beer, as to determine which regime is the most effective. Turbidity and polyphenol content measurements were carried out by various methods as Chapon test, test with tannic acid and seven day test. Eighteen samples of Karlovačko bright beer were tested which were produced by different stabilization regimes which contrast in use of different combinations of stabilization materials and various dosing rates of stabilization materials.

It is determined with chemical analysis that the stabilization regime where the dosage of 40 g/hL PVPP material gave the best results concerning the stability and the shelf life of the beer. The stabilization regime where it was dosed 20 g/hL PVPP material gave a beer with the worst shelf life. The PVPP dosing only regimes gave bad results in Chapon test and test with tannic acid because the product were stabilized only for polyphenols. The residual proteins which were not removed with the stabilization treatment did take part in the bad results in the Chapon test and tannic acid test. All results follow a logic order which was anticipated keeping in mind the nature of beer.

**Keywords:** Karlovačko bright beer, polyphenols, proteins, stabilization of beer

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. KOLOIDNA STABILNOST PIVA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1. BIOLOŠKA ZAMUĆENJA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2. NE-BIOLOŠKA ZAMUĆENJA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. MEHANIZMI NASTANKA KOLOIDNIH ČESTICA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. MJERENJE MUTNOĆE.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4. METODE STABILIZACIJE.....</b>	<b>8</b>
<b>2.4.1. FILTRACIJA PIVA.....</b>	<b>8</b>
<b>2.4.1.1. SVJEĆASTI FILTRI NAPLAVNOG TIPA.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.2. FILTRACIJSKI I STABILIZACIJSKI MATERIJALI.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.2.1. KIESELGUHR.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.2.2. PERLIT.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.2.3. SILIKA GEL.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.2.4. POLIVINILPOLIPIROLIDON (PVPP).....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3. STABILIZACIJA PIVA.....</b>	<b>13</b>
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1. MATERIJALI.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.1. UZORCI PIVA.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.2. KORIŠTEN PRIBOR.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.3. KORIŠTENE KEMIKALIJE.....</b>	<b>17</b>

<b>3.2. METODE RADA.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.1. ODREĐIVANJE POLIFENOLA.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.2. CHAPON TEST.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.3. TEST S TANINSKOM KISELINOM.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2.4. SEDAM DANA TEST.....</b>	<b>23</b>
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>25</b>
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>29</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>31</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>33</b>

## **1. UVOD**



Tržišno natjecanje i konkurentnost između pivara je intenzivno. Zbog toga su kvaliteta i konzistentnost mjerodavni čimbenici koji utječu na izbor od potrošača.

Stabilnost piva podrazumijeva mikrobiološki i koloidno stabilno pivo koje će u zadanom roku za uporabu zadržati sve svoje karakteristike. Proces stabilizacije se odnosi na zaštitu konačnog proizvoda od promjena koje mogu nastupiti nakon punjenja proizvoda u ambalažu. Promjene koje mogu nastupiti su promjene okusa, zamućenja pod utjecajem bioloških faktora i zamućenja nastala pod utjecajem ne-bioloških faktora. Promjene okusa nastupaju preko oksidativnih procesa, te su za ove promjene potrebni aerobni uvjeti. Zamućenja utjecajem bioloških faktora nastaju u slučajevima gdje je proizvod kontaminiran bakterijama i virusima u aerobnim ili anaerobnim uvjetima.

U predmetnom radu biti će razrađen i analiziran problem zamućenja piva pod utjecajem ne-bioloških čimbenika. Proces stabilizacije i filtracije piva biti će u fokusu ovog rada. Razvile su se mnogobrojne metode stabilizacije i filtracije piva, različiti materijali i raznovrsna oprema. Jedan mali dio od metoda stabilizacije i filtracije piva će biti analiziran i uspoređen.

Cilj ovog rada je odrediti metodu kojom se postiže najbolja i najefikasnija koloidna stabilnost piva.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## **2.1. KOLOIDNA STABILNOST PIVA**

Stvaranje mutnoće piva je veliki problem u proizvodnji piva jer utiče na kvalitetu gotovog proizvoda. Koloidna stabilnost piva je važan pokazatelj kvalitete proizvoda, jer potrošači uglavnom kvalitetno pivo povezuju s kristalno bistrom tekućinom. Cilj proizvođača piva je predstaviti proizvod koji će mjesecima nakon proizvodnje zadržati svoju bistrinu.

Sirovine u proizvodnji piva su izvor prekursora potrebnih za stvaranje koloidnih čestica. Slad mora biti dobre kvalitete, u dobrom stanju i da sadrži dovoljne količine amilolitičkih enzima. Ne postoji vrsta ječmenog slada koja je posebno zapažena za stvaranje velikog broja prekursora koloida, međutim slad s višim udjelom nitrogena može biti problematičan za koloidnu stabilnost. Uporaba dodataka poput sirupa, riže i kukuruzne krupice smanjuje udio prekursora koloidne nestabilnosti, iako udio proteina koji utječu na zamućenje nije značajno smanjen. Dodaci koji potječu od ječma i pšenice mogu povećati udio prekursora zamućenja. Pšenica povećava udio pentozana, ali poboljšava stabilnost pivske pjene.

Pivo sadrži različite sastojke kao što su proteini, ugljikohidrati, polifenoli, masne kiseline, nukleinske kiseline, amino kiseline i sl. Ti sastojci mogu stvoriti talog ili zamutiti gotovi proizvod. Zamućenje piva potječe od različitih komponenti. Najučestalije organske molekule koje uzrokuju zamućenje su proteini (40-75%), polifenoli (u kombinaciji s proteinima) i u manjem udjelu ugljikohidrati (2-15%). Mineralne tvari imaju veliku ulogu u stvaranju zamućenja u pivu. Uglavnom su ioni željeza i bakra poznati kao katalizatori u procesu oksidacije. Prisutnost kisika ima važnu ulogu u polimerizaciji fenolnih komponenti. Ostaci hmelja, melanoidi, lignin i stabilizatori pjene mogu se pojaviti kao sastavni dijelovi zamućenja piva. Zamućenje piva se može podijeliti na biološka zamućenja i ne-biološka zamućenja.

### **2.1.1. BIOLOŠKA ZAMUĆENJA**

Biološka zamućenja nastaju djelovanjem bakterija i divljeg kvasca. Pivo pod djelovanjem takvom kontaminacijom postaje mutno i kiselo. Srećom pivo ne pruža pogodno okruženje za mikrobiološki rast. Niska pH vrijednost piva (manja od 4,4), prisutnost etanola, ograničena količina nutritivnih sastojaka, nizak udio kisika, visoki udio CO<sub>2</sub> i prisutnost hmeljnih kiselina značajno otežavaju mikrobiološki razvoj u pivu. Većina potencijalnih

kontaminanta u pivu potječe od sirovina i kontaminiranih komponenti za vrijeme procesa. Zbog uporabe pasterizacije i sterilne filtracije biološki određena zamućenja su vrlo rijetka. Međutim, i u sterilnim pivima nakon izvjesnog vremena skladištenja mogu nastati ne-biološka zamućenja. Brzina nastajanja takvog zamućenja određuje održivost punjenog piva za vrijeme skladištenja i transporta.

### **2.1.2. NE-BIOLOŠKA ZAMUĆENJA**

Stvaranje mutnoće piva povećava mnogo faktora kao što je temperatura skladištenja, koja ima najveći utjecaj jer povećanje temperature povećava brzinu reakcija između proteina i polifenola. Pasterizacija piva također pospješuje nastajanje zamućenja. Oksidacija ima negativan utjecaj na kolidnu stabilnost piva jer prisutnost kisika djeluje kao katalizator pri stvaranju veza između polifenola i proteina. Prilikom transporta dolazi do pokretanja i mješanja piva što ubrzava stvaranje mutnoće zbog povećanja interakcija između koloida. Svjetlost pridonosi oksidaciji i prema tome ubrzava nastanak zamućenja.

Postoje dvije vrste koloidnih zamućenja: hladno zamućenje i trajno zamućenje. Hladno zamućenje nastaje pri 0°C i nižim temperaturama, a nestaje na višim temperaturama. Ako hladno zamućenje ne nestane na višim temperaturama onda to znači da je riječ o trajnom zamućenju koje je bez obzira na temperaturu piva prisutno.

## **2.2. MEHANIZMI NASTANKA KOLOIDNIH ČESTICA**

Proteini i polifenoli su dvije glavne komponente koje uzrokuju koloidnu nestabilnost. Imaju specifičnu građu koja im omogućuje međusobno povezivanje i stvaranje većih čestica.

Već je dugo vremena poznato da su proteini sadržani u pivu odgovorni za koloidnu stabilnost i stabilnost pjene. Bilo je mnogo pokušaja povezivanja ta dva svojstva s molarnom masom proteina. To se u mnogo slučajeva ispostavilo netočnim pokazateljem. Proteini koji su sposobni stvaranju veza spolifenolima sadrže djelove bogate aminokiselinom prolinom na koji se polifenoli mogu vezati. Prolin je jedina aminokiselina sadržana u sladovini koju kvasac ne može potrošiti za vrijeme fermentacije. Jedino što je sigurno je da samo mali dio proteina djeluje na koloidnu stabilnost. Koncentracija proteina u pivu od 2 mg/l je dovoljna da uzrokuje zamućenje od 1 EBC (Chapon, 1994). Proteini u pivu potiču od ječmenog slada.

Mnogi dodaci poput kukuruzne krupice i rižina krupica sadrže malo proteina, dok šećerni sirupi koji se mogu koristiti za proizvodnju sladovine, sadrže gotovo samo saharozu.

Ostali dodaci poput neoslađenog ječma, ekstrakti ječma i slada se koriste u manjim količinama, tako da ne utiču na značajno povišenje koncentracije proteina u pivu. Izuzetak je oslađena ili neoslađena pšenica.

Polifenoli potiču iz slada i hmelja. Polifenoli obuhvaćaju sve molekule s dva ili više fenolnih prstena (Bamforth, 1999). Polifenoli imaju dvije uloge u pivu. Kao prvo određene vrste su pokazale afinitet stvaranja veza s proteinima i time stvaranje koloidne nestabilnosti. Druga uloga im je utjecaj na stabilnost okusa, pružajući zaštitu od oksidacije (Whittle i sur., 1999). Pivo sadrži oko 100-300 mg/L polifenola (McMurrough, 1997). Suha masa hmelja sadrži oko 2-4% polifenola, gdje aromatske sorte hmelja sadrže više nego gorke sorte. Samo 20% polifenola iz hmelja može opstati u sladovini nakon kuhanja (Bamforth, 1999).

Kao monomeri i dimeri, flavanoli poput katehina imaju svojstvo spojiti veći broj proteina, stvarajući veću koloidnu česticu. Takva veza se prvo očituje kao hladno zamućenje zbog relativno slabe vodikove veze između dva proteina. Vodikova veza između flavanola i proteina se lako kida djelovanjem temperature iznad 20°C. Zbog toga se zamućenje nastalo djelovanjem takvih veza naziva hladno zamućenje. Hladno zamućenje predstavlja svakako veći problem pri proizvodnji lager piva koja se serviraju na 4°C nego pri proizvodnji ale piva. Veličina promjera čestica kod hladnog zamućenja iznosi 0,1-1 µm.

Sa daljnim povezivanjem polifenola nastaju veće molekule polifenola koje se naziva tanoidima. Veličina čestica kod trajnog zamućenja je veća nego kod hladnog zamućenja. Promjer koloidnih čestica trajnog zamućenja je 1-10 µm. Tanoidi su usko vezani s proteinima i omogućavaju nastajanje trajnog zamućenja. Tanoidi imaju svojstvo stvaranja dodatnih hidrofobnih i ionskih veza s aminokiselinama koje imaju kiselo-polarni bočni lanac. Takve veze se ne kidaju povišenjem temperature iznad 20°C što određuje trajno zamućenje. Flavanoidi poput katehina nisu sposobni stvoriti zamućenje bez stvaranja veza za drugim molekulama, ali iste te molekule nakon oksidacije mogu stvoriti mutnoću što opisuje važnost kisika u stvaranju koloidne nestabilnosti.

Već je godinama poznato da kombinacija polifenola i proteina uzrokuje proteinsko-taninske komplekse koji uzrokuju zamućenja. Polifenolna komponenta sadrži proantocijanidne dimere koji se izlažu nekakvom obliku aktivacije prije nego postaju aktivni za stvaranje veza. Slobodne aminokiseline nemaju svojstvo stvaranja veza s polifenolima (Siebert, 1996). Za vrijeme oblikovanja koloidnog zamućenja, polipeptidi i polifenoli sjedinjuju se da bi stvorili topive komplekse koji rastu do koloidnih veličina koje imaju

svojstvo lomiti svjetlost. Ti kompleksi postaju vidljivi i sedimentiraju se u proizvodu (Siebert, 1996).

Postoje dva mehanizma nastanka koloidnih čestica između proteina i polifenola (Siebert, 1996). Kao prvo jednostavni flavanoidi se vežu međusobno da bi stvorili tanine koji se dalje vežu s proteinima i stvaraju sve veće koloidne čestice. Drugi način stvaranja koloida podrazumjeva spajanje već kompleksnih fenola s proteinima uz prisutnost kisika kao katalizatora.

Siebert (1996) je predložio model stvaranja koloidnih čestica gdje svaki polifenol ima dva aktivna mjesta za stvaranje veza, a svaki protein tri mjesta za stvaranje veza. Najveći broj proteinsko-taninskih kompleksa bi nastalo kada bi broj vezivnih mjesta proteina i broj vezivnih mjesta polifenola bio jednak. Ako postoji suvišak proteina, nastati će veze između dva proteina i jednog polifenola. Takva molekula ne bi nudila daljne mogućnosti vezanja. U slučaju suviška polifenola sva vezivna mjesta proteina bi bila zauzeta, tako da slobodna vezivna mjesta polifenola ne bi mogla biti iskorištena za daljnje vezanje proteina i ne bi došlo do zamućenja.

Rehmanjiev model stvaranja koloida predlaže da jednostavni flavanoidi nisu u stanju stvarati zamućenje nakon stvaranja veza s proteinima jer su čestice flavanoida premale. Međutim, oksidirani flavanoidni oligomeri mogu stvoriti hladno zamućenje koje može prijeći u stalno zamućenje nakon što flavanoidi prijeđu u potpuno oksidirane tanoide. Vezanjem polifenola i proteina raste hidrofobnost nastalog spoja jer vodikova veza štiti hidrofilne djelove oba reaktanta.

### **2.3. MJERENJE MUTNOĆE**

Mjerenje mutnoće ili zamućenja je osnovano na principu nefelometrije gdje se mjeri odbijena svjetlost od čestica u nekoj otopini. Kada svjetlost prođe kroz neku otopinu i količina refleksije je zanemariva, onda absorpcija svjetlosti određuje mjeru mutnoće prema Lambertovom zakonu. U slučaju koloidnih čestica poput onih koje se nalaze u pivu, većina svjetlosti se odbija od čestice tako da se mjerenja zasnivaju prema odbijenoj svjetlosti pri nekom određenom kutu. Kut pri kojem se mjeri refleksija je obično 90°, premda se koriste i manji stupnjevi. Odabrani kut mjerenja i veličina koloida su dva važna čimbenika koji određuju veličinu mutnoće (Thorne i Nannested, 1960). Valne duljine odbijene svjetlosti koja se mjeri razlikuje se među uređajima od 350 nm do 860 nm. Uobičajena valna duljina koja se

koristi za mjerenje mutnoće piva je 650nm, dok se za pitku vodu koristi 850nm. Neki uređaji su osjetljiviji na boje od ostalih (Buckee 1986). Manje čestice odbijaju svjetlost pri većim kutovima nego veće čestice. Za vrijeme filtracije piva mjeri se mutnoća pri 90° i 25°. Visoka mjerenja dobivena pri kutu od 25° ukazuju na prisutnost većih čestica poput stanica kvasca ili čestica kieselguhra. Visoka mjerenja pri kutu od 90° ukazuju na prisutnost manjih čestica poput kompleksa proteina i polifenola koji uzrokuju замуćenje. Vrijednost mutnoće je izražena u EBC jedinicama u pivarskim industrijama.

## **2.4. METODE STABILIZACIJE**

### **2.4.1. FILTRACIJA PIVA**

Filtracija je mehanički proces separacije koloidnih čestica iz neke suspenzije. Tekućina koja prođe kroz filter naziva se filtrat, a zaostale čestice na filteru nazivaju se talog. Talog koji se želi izdvojiti za vrijeme filtracije piva je kvasac, proteini, polifenoli i hmeljne smole. Zadaća filtracije je da zaštiti pivo od vidljivih promjena za vrijeme skladištenja i transporta, kao što su замуćenja piva nastala stvaranjem koloidnih čestica. Filtracija je posljednji proces dorade piva prije punjenja u boce. Da bi filtracija bila uspješna pivo koje se šalje na filter mora imati manje od 0,2 miliona stanica kvasca po mililitru piva.

Pogonska sila filtracije je razlika tlakova između ulaznog tlaka na filteru i izlaznog tlaka s filtera. Tlak na ulazu u filter je uvijek veći od izlaznog tlaka s filtera. Razlika između tlakova određuje koliko se filter odupire filtraciji i toku kroz filter. Ovisno o razlici tlaka koje filter može fizički podnijeti što se razlikuje među uređajima, filtracija se prekida najkasnije pri maksimalnoj dopuštenoj razlici tlakova. Međutim debljina sloja naplavljenog filtracijskog sredstva može također odrediti trajanje filtracijskog ciklusa, jer pri smanjivanju međuprostora između svijeća unutar filtera, povećava se tlak koji djeluje na filtracijski element. Prekoračenje maksimalne dopuštene razlike tlakova može dovesti do ozbiljnih mehaničkih oštećenja filtracijskih elemenata, oštećenja pumpi i mogućih ozljeda radnika. U komercijalnoj pivarskoj praksi dužina filtracijskog ciklusa predstavlja važan čimbenik jer su dugi filtracijski ciklusi esencijalni za sveukupnu efikasnost pivovare.

Filtracije se mogu podijeliti s obzirom na mjesto izdvajanja koloida na površinsku i na dubinsku filtraciju. Kod površinske filtracije koloidne čestice zaostaju na površini filtracijskog materijala gdje su čestice koje se izdvajaju veće od pora filtracijskog materijala. Kod dubinske filtracije koloidi zaostaju unutar strukture filtracijskog materijala. U dubinskoj

filtraciji su pore na površini filtracijskog materijala veće od koloida. Dubinska filtracija može djelovati kao filtracija u kojoj koloidi fizički zaostaju unutar filtracijskog materijala ili kao filtracija u kojoj se koloidi adsorpcijom vežu unutar filtracijskog materijala. Proces se naziva naplavnom filtracijom ako se na filtracijski materijal izgradi naplav od pomoćnog filtracijskog materijala.

Proces filtracije se može odvijati u dvije ili više faza. Prva faza bi bila gruba filtracija većih koloida poput kvasca pomoću naplavnih ili pločastih filtera. Druga faza filtracije može biti stabilizacija manjih koloida poput proteinsko-taninskih kompleksa pomoću doziranja stabilizacijskih sredstava. Obe faze se mogu odvijati u istom filtracijskom uređaju ili u dva ili više različitih uređaja. Proces filtracije i stabilizacije se može odvijati u jednom toku piva kroz filtracijske odnosno stabilizacijske medije ili u više navrata. Moderne pivarske industrije provode filtraciju i stabilizaciju u odvojenim fazama, u različitim uređajima i u jednom roku. Primarni filtri su gotovo uvijek naplavnog tipa, što podrazumijeva stvaranje naplavnog materijala na čvrsti filtracijski element poput svijeća, ploča i drugih raznovrsnih elemenata.

Nakon primarnog filtra se obično ugrađuje jedan trap filter koji služi kao sigurnosni hvatač čestica koje prođu kroz primarni filter. Uglavnom su to čestice kieselguhra i krupnijih čestica proteina. Trap filtri su većinom izgrađeni kao stlačive posude unutar kojih se nalaze svijećasti filtri izgrađeni od anorganskih vlakna.

Većinom su u upotrebi filtri naplavnog tipa, gdje je naplavni filtracijski materijal obično kieselguhr koji se naslaže na površinu filtracijskog uređaja, stvarajući tako zvani „filtracijski kolač“. Cilj naplavnog materijala je stvoriti propusni, ali i dalje efikasni filtracijski kolač. Nastoji se tijekom filtracijskog procesa sve više dobivati na oštini filtracijskog sloga. To se postiže doziranjem sve finijih čestica kieselguhra. Veličina pora naplavnog sloja (oko 60-100  $\mu\text{m}$ ) mora biti mnogo veća od pora filtracijskog elementa (2-4  $\mu\text{m}$ ). Naplavni slojevi mogu biti sastavljeni od jednog ili dva sloja. Većinom se koriste dva sloja gdje prvi sloj služi kao temeljni sloj koji pruža stabilnu podlogu za naredne slojeve kieselguhra, ali su pore znatno veće od pora filtracijskog elementa. Zbog toga je nastala potreba za drugim naplavnim slojem koji veže dodatno međuslojeve ali zbog prisutnosti finih čestica kieselguhra pruža oštrinu za početnu fazu filtracijskog procesa. Debljina naplavnog sloja se kreće obično od 1.5 mm do 3 mm.

Na naplavne slojeve se naknadno dozira smjesa kieselguhra gdje omjer grubih i finih čestica ovisi o potrebama pivara. Ubrzani porast razlike tlakova ulaza i izlaza na filtru (više



od 0,2 bar/h) ukazuje na povećanu količinu čestica sadržanih u pivu koje se šalje na filter, kao u slučaju kada pivo sadrži više od 0,2 miliona stanica kvasca po mililitru piva.

#### 2.4.1.1. SVJEĆASTI FILTRI NAPLAVNOG TIPRA

Cilindrično-konusni filtri unutar kojih se nalaze porozne metalne svijeće izrađene od nehrđajućeg čelika, na koje se izgrađuje naplavni materijal. Broj ugrađenih svijeća kod ove vrste filtra se kreće od 500 do 700. Vertikalno usmjereni fitri su učestaliji nego horizontalno usmjereni. Protok koji se koristi u procesu filtracije uporabom svjećastih filtra naplavnog tipa je oko 500 hL/h, iako manji protoci osiguravaju bolju bistrinu filtrata. Pločasti i ramski filtri su jednostavniji za naplaviti kieselguhrom, te su manje osjetljivi na tlačne udare. Nedostatak pločastih i ramskih filtra u usporedbi s svjećastim filtrima je povećani kapacitet što znači i veći gubitak piva za vrijeme pokretanja i prekidanja procesa filtracije. Sterilizacija svjećastih filtra se vrši pomoću pare i vruće vode iznad 80°C, jer su filtri ovog tipa izrađeni uglavnom od nehrđajućeg čelika koji podnosi visoke temperature, što daje izrazitu prednost prema pločastim i ramskim filtrima. Kod filtracije pomoću svjećastih filtra naplavnog tipa, nefiltrirano pivo se tjera na vanjsku površinu svjeća, dok filtrirano pivo izlazi iz unutarnje strane svjeća.



**Slika 1.** Kieselguhr filter (Autor: Boris Đurić)

## **2.4.2. FILTRACIJSKI I STABILIZACIJSKI MATERIJALI**

### **2.4.2.1. KIESELGUHR**

Kieselguhr je diatomejska zemlja iskopana iz doba Miocena istaložena u području Europe, Sjeverne i Južne Amerike. Sastoji se od ćelija morskih algi dijatomeja koje sadrže silicijev dioksid. Kieselguhr zemlja koja se koristi u pivarstvu priprema se sušenjem i mljevenjem iskopanog sirovog materijala. Najefektivnija filtracija se dobiva uporabom kalciniranog kieselguhra, koji je pripremljen zagrijavanjem sirovog materijala u rotirajućim bubnjevima pri temperaturama od 600°C do 800°C. Kieselguhr se kalcinizira zbog razgradnje organskih tvari koje bi ometale poželjna svojstva kieselguhra.

Međutim ovaj materijal je klasificiran kao jako opasan ako je inhaliran, jer aerosoli kieselguhra lako dopijevaju u bronhije pluća koje je teško odstraniti iz tijela. Stoga se kod pripreme filtracijskog materijala mora strogo pridržavati uputa za rad, te nositi odgovarajuća zaštitna oprema.

U proizvodnji su nastale razne vrste kieselguhra koje se razlikuju u veličini čestica. Od finih čestica do grubih zastupljene su razne vrste na tržištu. Finije čestice pružaju oštriju filtraciju odnosno bistriji filtrat, ali i manji filtracijski kapacitet. Dok grublje čestice pružaju veći filtracijski kapacitet, ali i manju bistrinu filtrata. Kieselguhr odlikuje visoka poroznost čestica što nudi mnogo skladišnog prostora za koloide koji se žele izdvojiti iz piva. Doziranje kieselguhra ovisi o filtracijskom uređaju gdje se protok doziranja kreće od 70 do 220 g/hL. Ključni zadatak pivara je izbjeći porast kisika u pivu za vrijeme filtracije. Suspenzije kieselguhra koje se doziraju u filtracijski element se obično pripremaju u deaeriranoj vodi te se drže pod tlakom CO<sub>2</sub>, tako da se na taj način izbjegava otapanje kisika u suspenziji kieselguhra.

### **2.4.2.2. PERLIT**

Perlit je vulkanski materijal koji je većinom sastavljen od aluminijskih silikata. Pronađen je na Grčkim otocima. Sirovi perlit se zagrijava do oko 750°C što izaziva raspršivanje čestica čime nastaju staklaste strukture čestica. Melje se u prah koji je oko 30% lakši po jedinici volumena od praha kieselguhra. Perlit predstavlja nizak rizik za zdravlje zbog svoje niske gustoće. Pri pH vrijednostima nižim od pet može otpuštati željezo, zbog čega se njegova uporaba zabranila u nekim sistemima bistrenja sladovine.

### **2.4.2.3. SILIKA GEL**

Silika gelovi su adsorbenti koji stabiliziraju pivo uklanjajući proteine koji imaju svojstvo stvaranja zamućenja u pivu. Većinom se koristi kao primjesa kieselguhra, te se skupa s smjesom kieselguhra dozira u filtracijski uređaj. U nekim slučajevima se i odvojeno dozira u filtre. Pruža prednost jer sudjeluje u stabilizaciji kao i bistrenju piva. Uporaba silika gelova ne predstavlja rizik za zdravlje. Silika gelovi stvaraju u otopljenom stanju visoko porozne strukture unutar kojih se proteini vežu i zaostaju na unutrašnjoj površini pora. Za silka gelove je adsorptivna površina, volumen i promjer pora od iznimne važnosti za adsorptivna svojstva proteina. Veličina adsorptivne površine ne znači nužno da je silika gel efektivan jer postoji mogućnost da neki dio površine nije iskoristiv ako se nalazi duboko u strukturi silka gela do koje proteini ne mogu doći. Također značajna svojstva koja pružaju silika gelovi su permeabilnost i filtrabilnost. Silka gel se veže na proteine sličnim mehanizmom kao i polifenoli. Veze nastaju preko silanolnih OH grupa umjesto OH grupa od aromatskih prstena u polifenola.

### **2.4.2.4. POLIVINILPOLIPIROLIDON (PVPP)**

PVPP je adsorpcijsko sredstvo koje stvara veze s polifenolima. PVPP je unakrsno vezani polimer vinilpirolidona, koji je netopiv u pivu i vodi. Zahvaljujući svojoj amorfnoj strukturi ima veliku površinu adsorpcije. Na tržištu postoje regenerativni i neregenerativni primjeri. Neregenerativni PVPP ima manje čestice koje pružaju veliku površinu za adsorpciju. Regenerativni PVPP ima veće čestice, što znači da je površina adsorpcije manja u odnosu na neregenerativni PVPP te će se vezati manja količina polifenola. Regenerativni PVPP se zbog tih razloga može više dozirati kao i zbog smanjenog utjecaja na troškove. Obično se u praksi koriste doziranja od 10 do 50 g/hL (Rehmanji, 2000.). Obje vrste PVPP-a se dodaju u vodu i mješaju oko 60 minuta, da bi se dobila željena hidratacija i bubrenje čestica (Gopal, 2000.). Regenerativni PVPP se ispiranjem 1-2% NaOH pri 60-80°C ponovno osposobljava za stvaranje veza s polifenolima, jer lužina raskida veze između PVPP-a i polifenola. PVPP se veže s polifenolima zbog svoje strukture koja je vrlo slična prolinu (Siebert, 1997.). Oboje imaju peteročlane zasićene prstene koji sadrže dušik i amidne veze, te ne sadrže niti jednu drugu funkcionalnu grupu. Veza koja nastaje između PVPP materijala i polifenola je vrlo jaka. Potreban je utjecaj agresivnih kemikalija da bi se veza raskinula (McMurrough, 1997.).

### 2.4.3. STABILIZACIJA PIVA

Stabilizacija piva se može odnositi na stabilizaciju okusa i mikrobiološku stabilizaciju, iako se uglavnom odnosi na fizikalne karakteristike. Stabilizacijom piva se prema tome uglavnom podrazumijeva fizikalna stabilnost na koju utječu koliodna ili ne-mikrobiološka zamućenja koja su rezultat sjedinjenja netopivih tvari koje su sastavni dio piva. Međutim odstranjivanje proteina i polifenola iz piva se mora obaviti pažljivo jer oboje pridonose poželjnim karakteristikama piva kao što su stabilnost pjene putem proteina i stabilnost okusa preko polifenola.

Stabilizacija piva se može odviti adsorpcijom tijekom kieselguhr filtracije, adsorpcijom u odvojenom filtracijskom ciklusu, sedimentacijom i djelovanjem enzima. Proteini se uklanjaju iz piva adsorpcijom pomoću stabilizacijskog materijala silika gela. Silika gel se uglavnom dozira skupa s smjesom kieselguhra. Proteini se mogu odstraniti iz piva djelovanjem enzima papaina. Pivo stabilizirano pomoću papaina se mora brzo pasterizirati da bi se izbjegao gubitak na stabilnosti pivske pjene.

Polifenoli se gotovo isključivo uklanjaju adsorpcijom pomoću polivinilpolipirolidona (PVPP). PVPP se može dozirati u smjesi kieselguhra ili posebno na kieselguhr filter ili PVPP filter. PVPP koji se dozira na kieselguhr filter je za jednokratnu uporabu, što znači da se nakon procesa stabilizacije uklanja skupa s kieselguhrom u kanal ili otpadni tank za kieselguhr. Neregenerativni PVPP se nakon uklanjanja iz filtracijskog elementa ne može ponovo uporabiti jer je izgubio svojstvo adsorpcije. Regenerativni PVPP se dozira na sekundarni stabilizacijski filter koji se obično naziva PVPP filter. PVPP filteri se obično instaliraju nakon kieselguhr filtra, što znači da se u takvoj instalaciji pivo prvo pročisti od grubih čestica poput kvasca i proteina na kieselguhr filteru a zatim se provodi odstranjivanje polifenola na PVPP filteru.

PVPP filteri su većinom konstruirani poput kieselguhr filtra. Čestice regenerativnog PVPP-a su veće u usporedbi sneregenerativnim PVPP-om, zbog čega zaostaju na filterskim svijećama PVPP filtra. PVPP se može regenerirati pomoću djelovanja lužine na PVPP – polifenolni kompleks. Lužina raskida nastale veze između polifenola i PVPP materijala, tako da se slobodni polifenoli ispiru skupa s lužinom i odstranjuju iz filtra. PVPP materijal koji zaostaje na svijećama PVPP filtra nije oštećen niti su mu umanjena stabilizacijska svojstva. Nakon procesa regeneracije lužinom, PVPP materijal se prebacuje pomoću tlačnih udara CO<sub>2</sub> natrag u dozirni tank gdje se čuva do ponovne uporabe.



**Slika 2.** PVPP filtar (Autor: Boris Đurić)

Poželjno je obaviti sedimentaciju piva prije filtracije i stabilizacije. Sedimentacija se može obaviti uporabom centrifugalnih separatora, što povećava kapacitet filtracijskog ciklusa.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **3.1. MATERIJALI**

#### **3.1.1. UZORCI PIVA**

Ispitano je 18 uzoraka Karlovačkog svijetlog piva koja su stabilizirana različitim omjerima doziranja stabilizacijskih sredstava. Zbog referentne usporedbe utjecaja različitih stabilizacijskih režima, nisu mjerene druge vrste piva.

#### **3.1.2. KORIŠTEN PRIBOR**

- vodena kupelj,  $-5.0 \pm 0.5$  °C,
- nefelometar (mjerač mutnoće),
- kivete za nefelometar,
- graduirana pipeta, 200 ml,
- štoperica,
- spektrofotometar,
- odmjerne tikvice, 25, 100, 1000 ml,
- analitička vaga, preciznosti do 0,0001 g,
- magnetna mješalica i magnet,
- stalak s epruvetama,
- bireta, 25 ml,
- stakleni štapić,
- staklene čaše,
- čepilica za boce,
- kapaljka,
- forsir aparat

### 3.1.3. KORIŠTENE KEMIČALIJE

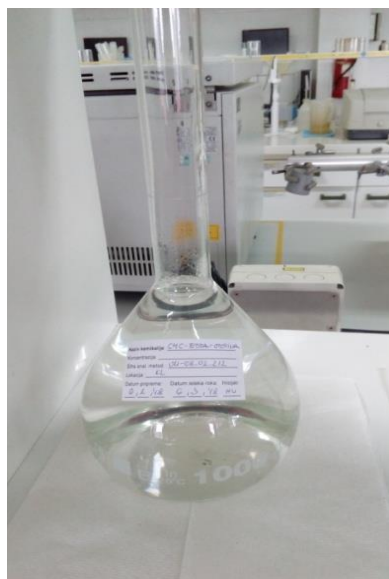
- etanol, 99,7 do 99,9%,
- karboksi-metilceluloza,
- etilendiamintetraoctena kiselina, EDTA- $\text{Na}_2$ ,
- 3,5% Fe - reagens, amonijevfericitratzeleni,
- otopina taninske kiseline
- koncentrirani amonijak

## 3.2. METODE RADA

### 3.2.1. ODREĐIVANJE POLIFENOLA

#### METODA RADA:

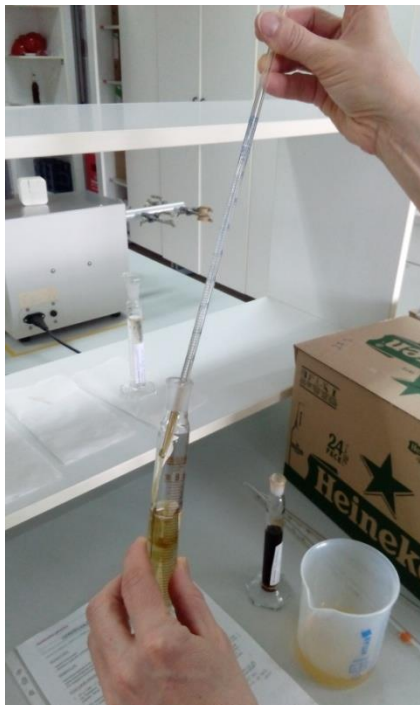
10 g karboksi-metilceluloze i 2 g EDTA- $\text{Na}_2$  otopi se u 500 ml destilirane vode. Otapanje traje 1 do 3 h uz mješanje na magnetnoj mješalici. Nakon otapanja se reagens prenosi u odmjernu tikvicu od 1000 ml i nadopuni do oznake. Trajnost otopine je mjesec dana.



**Slika 3.** Otopina EDTA- $\text{Na}_2$  (Autor: Boris Đurić)



Za pripremu 3,5% otopine amonijum željezo (III)-citrata potrebno je 3,5 g zelenog amonijum željezo (III)-citrata otopiti u 10 ml vode. Otopina mora biti bistra i trajnost joj je tjedan dana. Koncentrirani amonijak se razrijedi s vodom (1/3 amonijaka, 2/3 vode).



**Slika 4.** Otopina amonijum željezo (III)-citrata (Autor: Boris Đurić)

Pivo se oslobodi  $\text{CO}_2$  mućkanjem u boci. Mutna sladovina ili mlado pivo se centrifugira. Filtriranje se ne radi jer bi utjecalo na rezultat. Uz glavnu probu mora se uraditi i slijepa proba da se isključi utjecaj kemikalija.

Glavna proba - u odmjernu tikvicu od 25 ml dodati 10 ml uzorka i 8 ml CMC-EDTA-otopine i dobro promućkati. Zatim dodati 0,5 ml Fe-reagensa i opet dobro promućkati. Nakon toga dodati 0,5 ml razrijeđene otopine amonijaka i ponovo dobro promućkati. Nakon 10 minuta mjeri se ekstinkcija na 600 nm, u kiveti za vodu od 10 mm, u odnosu na slijepu probu. Važno je da se uzorak s kemikalijama dobro promućka.

Slijepa proba - u odmjernu tikvicu od 25 ml dodati 10 ml uzorka i 8 ml CMC-EDTA-otopine, promućkati, dodati 0,5 ml razrijeđenog amonijaka i ponovno promućkati, nadopuniti do 25 ml s destiliranom vodom, opet promućkati i nakon 10 minuta stajanja mjeri se apsorbanca na spektrofotometru kod 600 nm.



**Slika 5:** Spektrofotometar (Autor: Boris Đurić)

IZRAČUN:

$$P = A \times 820 \times F$$

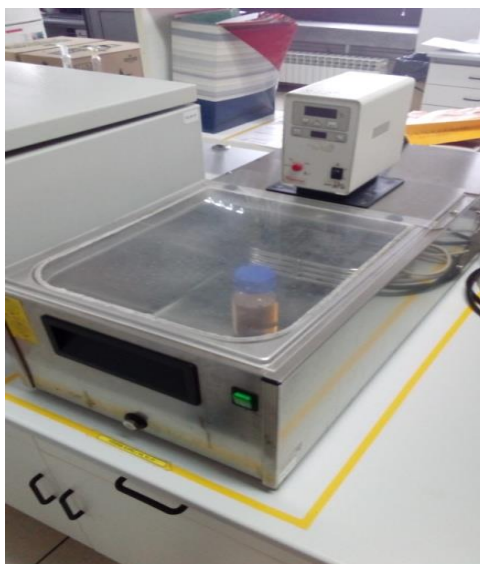
Gdje je:

- P – ukupni sadržaj polifenola (mg/L)
- A – absorbancija kod valne duljine 600 nm
- F – faktor razrijeđenja ( = 2 ako se koristi volumetrijska tikvica od 50 mL)

### **3.2.2. CHAPON TEST**

Chapon test je metoda pri kojoj se pomoću nefelometra mjeri mutnoća piva kojem je dodana određena količina etanola pri niskim temperaturama. Ova metoda je preporučena kao smjernica za praćenje efektivnosti stabilizacijskih tretmana i za predviđanje održivosti piva. Metoda se zasniva na činjenici da relativno nisko-alkoholne otopine pružaju bolju koloidnu stabilnost u usporedbi s otopinama s povišenim udjelom alkohola.

Izmjereni volumen alkohola se dodaje na alikvotni udio otplinjenog piva. Uzorci piva se čuvaju na -5 °C neko određeno vrijeme.



**Slika 6:** Vodena kupelj (Autor: Boris Đurić)

#### METODA RADA:

Pivo se oslobodi CO<sub>2</sub> mućkanjem 250 ml piva u boci od 500 ml pri temperaturi od 17 do 20 °C. Ultrazvuk je alternativa za otplinjavanje piva pri kojoj se mora posebno posvetiti pažnja jer može doći do gubitka pjene a time i netočnih rezultata.

Natočiti 200 ml otplinjenog piva u bocu i temperirati je na 20 °C. Izmjeriti mutnoću otplinjenog piva pomoću nefelometra. Dodati 12 ml etanola u uzorak i zatvoriti bocu čepilicom i zaokrenuti naopako bocu pet puta. Staviti bocu u vodenu kupelj pri -5 °C i držati točno 40 minuta. Izvaditi uzorak iz kupelji i odmah izmjeriti mutnoću pomoću nefelometra.



**Slika 7:** Nefelometar (Autor: Boris Đurić)

IZRAČUN:

$$\text{Alkoholno hladno zamućenje} = \text{KM} - \text{PM}$$

Gdje je:

- KM = konačna mutnoća
- PM = početna mutnoća

Rezultati se izražavaju u EBC jedinicama na jedno decimalno mjesto.

### 3.2.3. TEST S TANINSKOM KISELINOM

Test s taninskom kiselinom je metoda za određivanje proteina koji uzrokuju zamućenje piva nefelometrijskim mjerenjem mutnoće nakon dodatka taninske kiseline u uzorak. Ova metoda je preporučena kao smjernica za praćenje efektivnosti stabilizacijskih tretmana i za predviđanje održivosti piva. Taninska kiselina stvara veze s proteinima u pivu čime nastaje talog koji uzrokuje povišenje zamućenja uzorka koji se mjeri.

METODA RADA:

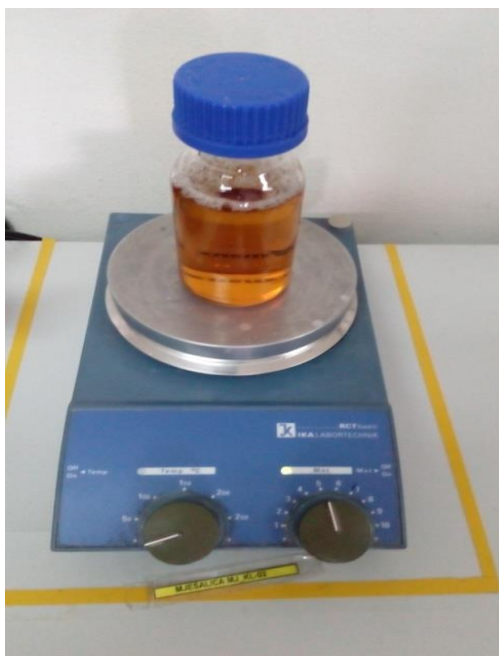
Priprema otopine taninske kiseline - usuti 200 mg suhe mase praha taninske kiseline kvantitativno u odmjernu tikvicu od 1000 ml i dodati 500 ml destilirane vode. Mješati prah taninske kiseline pomoću staklenog štapića do otapanja. Zatim natočiti destiliranu vodu do oznake od 1000 ml. Otopina mora biti svježe pripremljena prije uporabe.



**Slika 8:** Vaganje taninske kiseline (Autor: Boris Đurić)

Priprema uzorka – 250 ml piva se oslobodi CO<sub>2</sub> mućkanjem u boci od 500 ml pri temperaturi od 17 do 20 °C. Ultrazvuk je alternativa za otplinjavanje piva pri kojoj se mora posebno posvetiti pažnja jer može doći do gubitka pjene a time i netočnih rezultata.

Određivanje mutnoće – natočiti 200 ml otplinjenog piva u bocu od 250 ml i temperirati uzorak pri 20 °C. Izmjeriti mutnoću otplinjenog piva nefelometrom. Nakapati uz mješanje pri 300 okretaja u minuti, 10 ml otopine taninske kiseline u pivo kroz 5 minuta. Nastaviti s mješanjem uzorka 40 minuta. Natočiti uzorak u kivetu i izmjeriti mutnoću uzorka pomoću nefelometra.



**Slika 9:** Magnetna mješalica (Autor: Boris Đurić)

IZRAČUN:

$$\text{Zamućenje taninskom kiselinom} = \text{KM} - \text{PM}$$

Gdje je:

- KM = konačna mutnoća
- PM = početna mutnoća

Rezultati se izražavaju u EBC jedinicama na jedno decimalno mjesto.

### 3.2.4. SEDAM DANA TEST

Sedam dana test je metoda za kontrolu ne-biološke stabilnosti piva. Metoda se temelji na mjerenju bistrine, inducirane pomoću forsir testa u laboratoriju i daje ranu indikaciju o mutnoći i nestabilnosti produkta. Metoda je primjenjiva na sve tipove piva, čak do boje 50 EBC jedinica.



**Slika 10:** Forsir aparat (Autor: Boris Đurić)

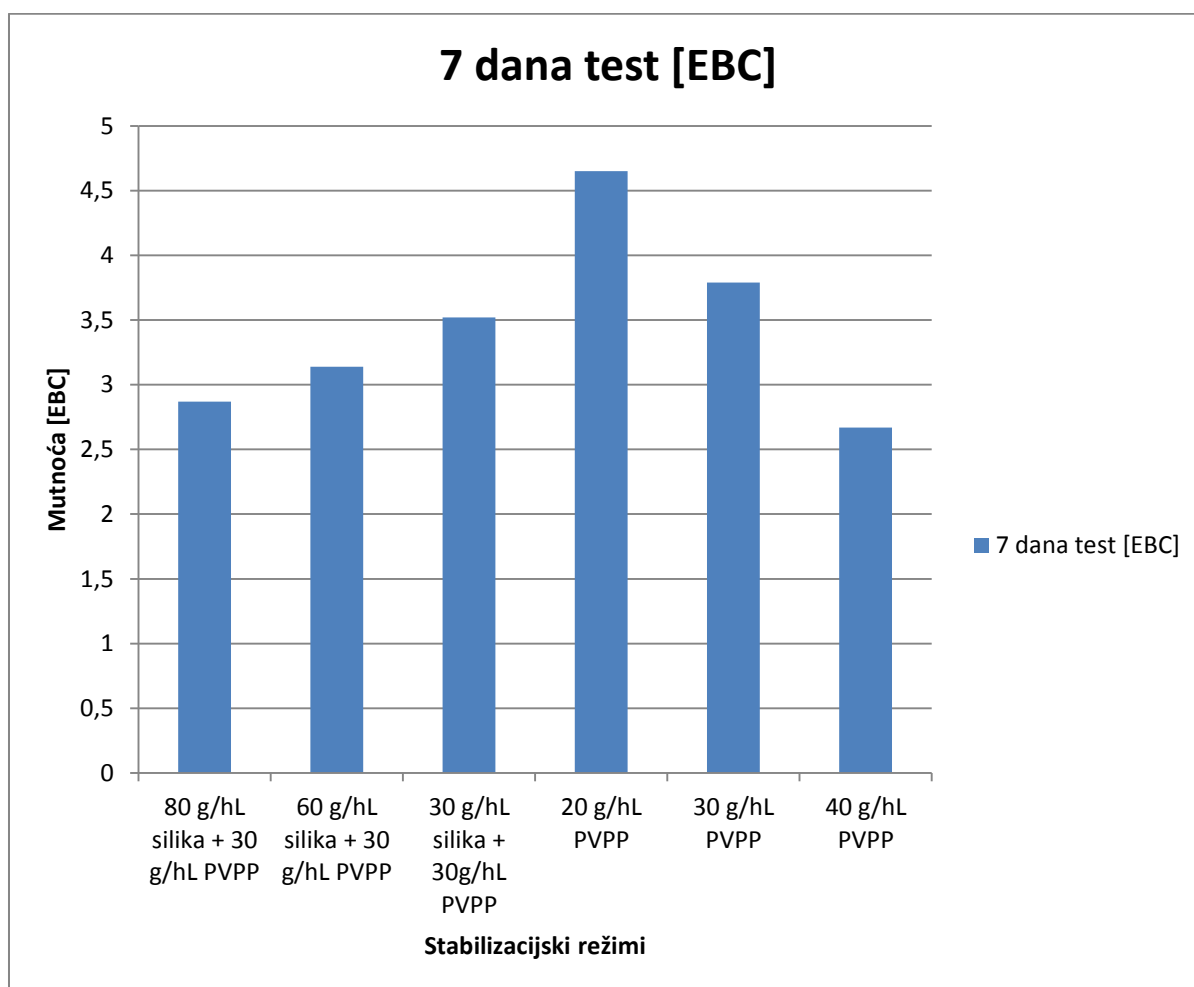
#### METODA RADA:

Uzeti dva paralelna uzorka piva. Samo jedan staviti u kupelj, a drugi čuvati pokraj kupelji za slučaj da prva boca pukne. U slučaju puknuća stavlja se druga boca. Bez mućkanja staviti bocu u kupelj i držati ju na 57°C sedam dana u forsiraparatu. Nakon sedam dana bocu ohladiti na sobnu temperaturu tri sata. Zatim ohladiti uzorak na 0°C u vodenoj kupelji i tako držati 24 h, nakon čega se očitava bistrina pomoću nefelometra. Boce se trebaju pažljivo vaditi iz kupelji. Ne vaditi više od dvije, tako da se ne bi zagrijale za više od 2°C. U slučaju da se ugriju talog bi se izbistrio. Odmah početi mjeriti razinu mutnoće pomoću turbidimetra. Za održavanje 0°C povremeno treba dodati u kupelj 96%-tni etanol. Kada temperatura padne na 30°C dodati 2 litre 96 % etanola da se kupelj ne zamrzne. Rezultati se izražavaju na jednu decimalu.

## **4. REZULTATI**

U niže prikazanim grafičkim primjerima prikazani su rezultati ispitivanja udjela polifenola kao i rezultati mjerenja mutnoće piva različitim metodama.

Prikazani rezultati mjerenja metodom sedam dana test su prosječni rezultati od tri mjerenja za svaki provedeni režim stabilizacije piva.

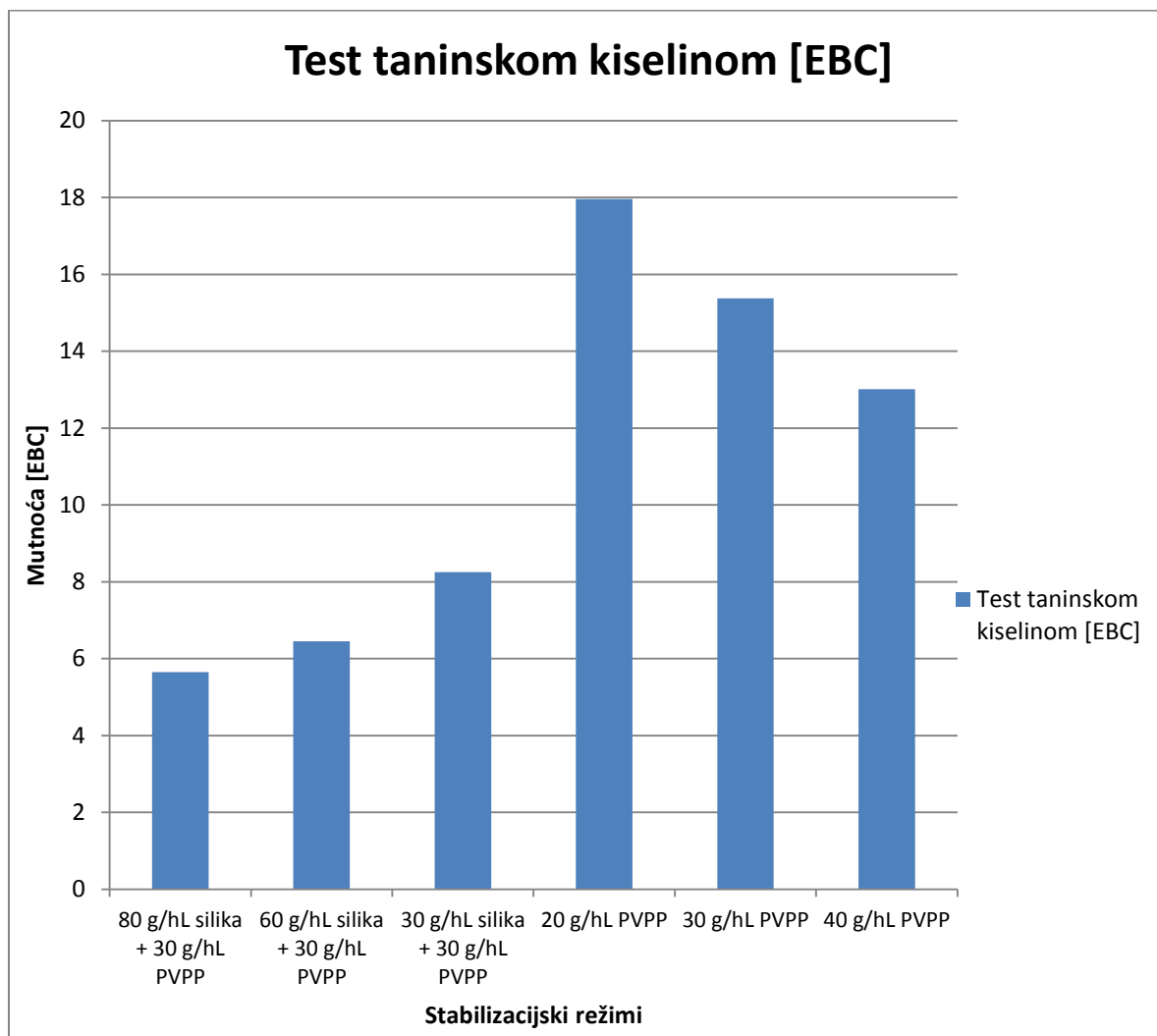


**Slika 11:** Usporedba rezultata sedam dana test metode

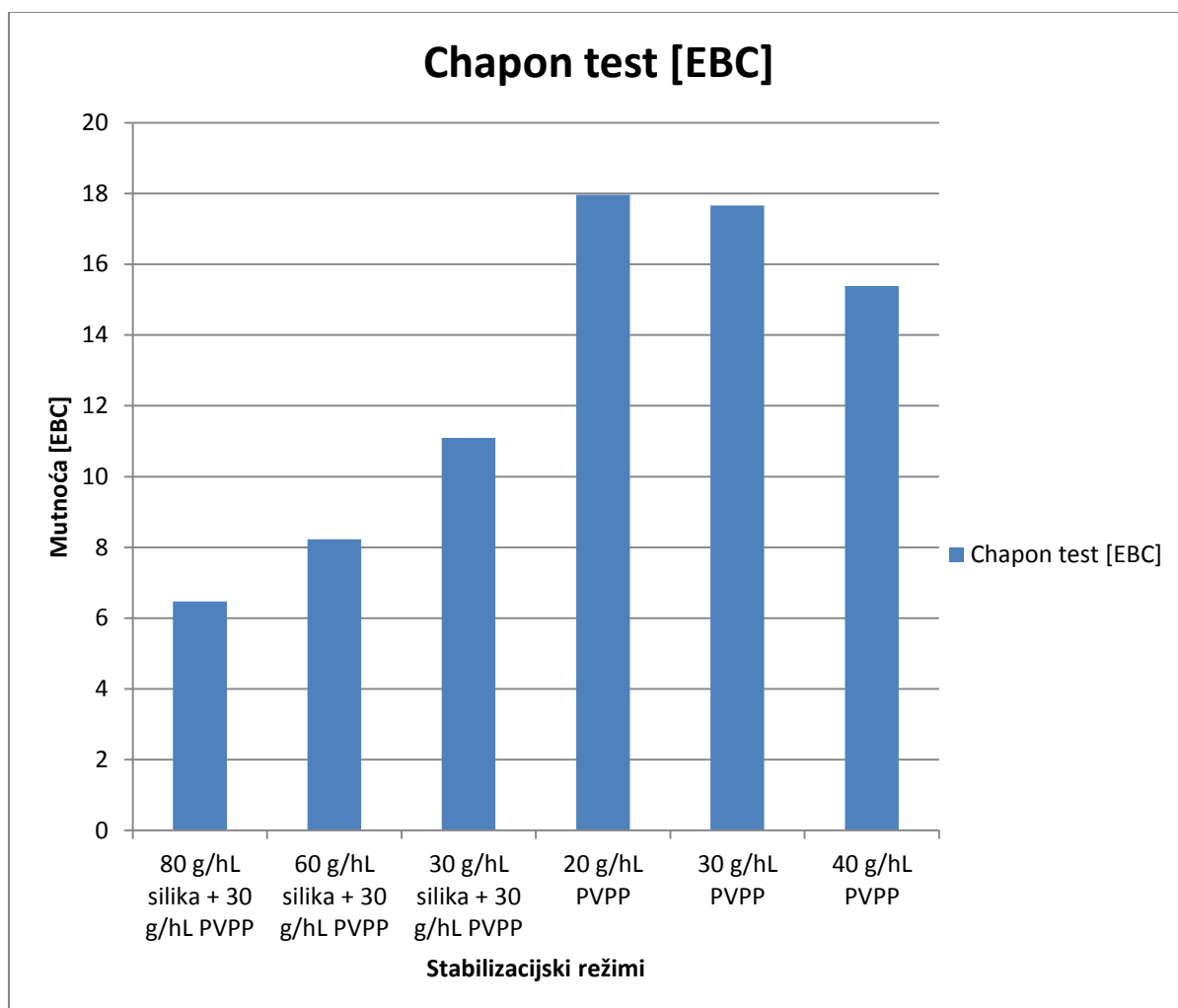


**Tablica 1:** Popis mjerenja sedam dana test metode

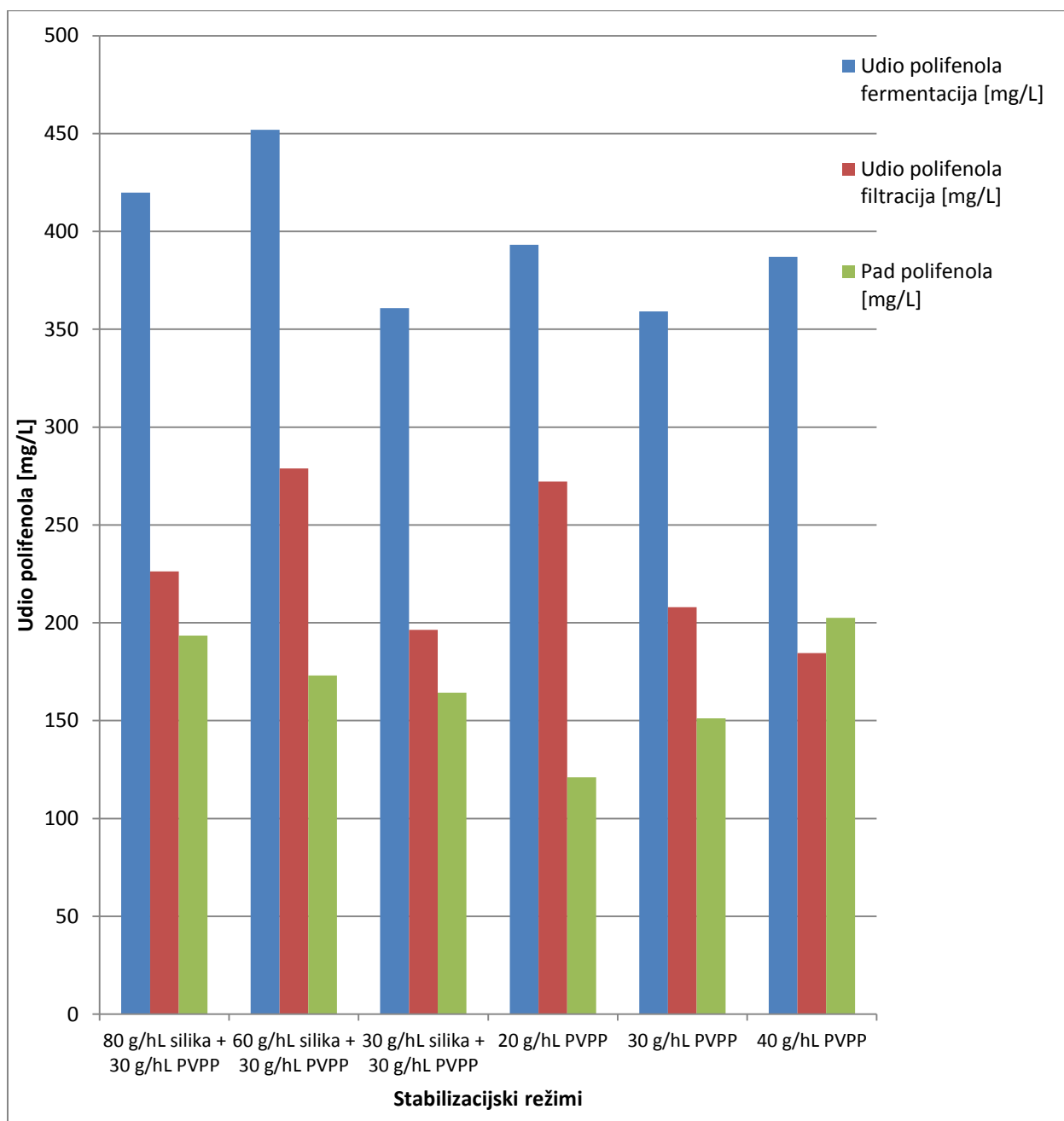
Rezultati sedam dana test	80 g/hLsilika gel + 30 g/hL PVPP	60 g/hL silika gel + 30 g/hL PVPP	30 g/hL silika gel + 30 g/hL PVPP	20 g/hL PVPP	30 g/hL PVPP	40 g/hL PVPP
Mjerenje 1	2,85	3,12	3,50	4,60	3,86	2,64
Mjerenje 2	2,79	3,11	3,52	4,66	3,77	2,75
Mjerenje 3	2,97	3,19	3,55	4,69	3,75	2,63
Prosječna vrijednost	2,87	3,14	3,52	4,65	3,79	2,67



**Slika 12:** Usporedba rezultata testa s taninskom kiselinom



**Slika 13:** Usporedba rezultata Chapon testa



**Slika 14:** Usporedba smanjenja udjela polifenola korištenjem različitih stabilizacijskih režima

## **5. RASPRAVA**

Na svim uzorcima Karlovačkog svijetlog piva mjerene su vrijednosti udjela polifenola u nefiltriranom pivu. Na uzorcima filtriranog i stabiliziranog piva korištene su metode Chapon test, test taninskom kiselinom, sedam dana test i mjereni su polifenoli. Korišteni režimi stabilizacije se zasnivaju na različitim kombinacijama stabilizacijskih materijala i različitim protocima doziranja stabilizacijskih materijala. Za svaki režim stabilizacije su provedena tri mjerenja na različitim uzorcima piva da bi se dobio prosječni rezultat.

Provedene metode u radu su se koristile isključivo na uzorcima Karlovačkog svijetlog piva zbog referentne usporedbe efikasnosti različitih stabilizacijskih režima. Metode koje su se koristile služe za određivanje koloidne stabilnosti i održivosti piva. Provedene su metode mjerenja udjela polifenola u pivu prije i nakon stabilizacije. Provedene su metode mjerenja mutnoće piva kao što su; sedam dana test, chapon test i test s taninskom kiselinom.

Na slici 11 prikazani su rezultati dobiveni metodom sedam dana test. Rezultati dobiveni metodom sedam dana test izraženi su kao prosječni rezultati od tri mjerenja za svaki stabilizacijski režim (tablica 1). Na osi y nalaze se vrijednosti dobivene metodom sedam dana test koje su izražene u EBC jedinicama, dok su na osi x upisani različiti stabilizacijski režimi. Stabilizacijskim režimom doziranja 20 g/hL PVPP sredstva dobiveni su najlošiji rezultati, dok je stabilizacijski režim doziranja 40 g/hL PVPP sredstva dao najbolje rezultate sedam dana testa. Ovom metodom je predočeno koliki utjecaj PVPP sredstvo ima na stabilizaciju kao i što stabilizacija proteina u pivu nije zanemariva.

Na slici 12 prikazani su rezultati dobiveni metodom test s taninskom kiselinom grafičkim prikazom. Vidljivo je da su najlošiji rezultati dobiveni režimima u kojima se pivo stabiliziralo samo s PVPP sredstvom, dok su režimi u kojima se pivo stabiliziralo na osnovi proteina dali bolje rezultate. Preostali proteini utjecali su na loše rezultate u stabilizacijskim režimima gdje se pivo stabiliziralo samo na osnovi polifenola. Najbolji rezultat se dobio režimom doziranja 80 g/hL silika gela i 30 g/hL PVPP sredstva, dok je najlošiji rezultat dobiven režimom doziranja 20 g/hL PVPP sredstva. Na osi y nalaze se vrijednosti rezultata dobivenih metodom test s taninskom kiselinom izražene u EBC jedinicama, dok se na osi x nalaze različiti stabilizacijski režimi.

Na slici 13 prikazani su rezultati dobiveni metodom chapon test grafičkim prikazom. Slično kao i u metodi test s taninskom kiselinom bolji rezultati su dobiveni kombiniranim stabilizacijskim tretmanom za razliku od režima gdje su stabilizirani samo polifenoli. Najbolji rezultat se dobio režimom doziranja 80 g/hL silika gela i 30 g/hL PVPP sredstva, dok je

najlošiji rezultat dobiven režimom doziranja 20 g/hL PVPP sredstva. Na osi y nalaze se vrijednosti rezultata dobivenih metodom test s taninskom kiselinom izražene u EBC jedinicama, dok se na osi x nalaze različiti stabilizacijski režimi.

Na slici 14 prikazani su rezultati mjerenja udjela polifenola u stabiliziranom pivu kao i u pivu prije stabilizacije. Prikazan je i pad udjela polifenola koji ima veliki značaj za ovaj rad jer daje referentan odnos stabilizacijskih režima bez obzira što su stabilizirani uzorci različite koloidne stabilnosti. U praksi je bilo za očekivati da će se vrijednosti uzoraka piva mnogo mijenjati jer mnogo faktora utječe na koloidnu stabilnost kao što su; sirovine, rad kvasca, žetva kvasca, period odležavanja piva, temperatura piva za vrijeme stabilizacijskog tretmana i slično. Na osi y su vrijednosti udjela polifenola izražene u mg/L. Na osi x se nalaze različiti stabilizacijski režimi s udjelima polifenola prije i nakon stabilizacijskog tretmana kao i pad udjela polifenola. Plavim stupcem prikazan je udio polifenola prije stabilizacijskog tretmana, crvenim stupcem prikazan je udio polifenola nakon stabilizacijskog tretmana i zelenim stupcem je prikazana razlika udjela polifenola. Vidljivo je iz grafičkog prikaza da se najveći pad udjela polifenola postigao stabilizacijskim režimom doziranja 40 g/hL PVPP sredstva dok se najmanji pad udjela polifenola dobio stabilizacijskim režimom doziranja 20 g/hL PVPP sredstva.

## **6. ZAKLJUČCI**



1. Najbolji rezultati po pitanju stabilnosti i održivosti proizvoda dokazani kemijskim analizama dobiveni su režimom stabilizacije gdje je dozirano 40 g/hL PVPP sredstva u pivo.
2. Stabilizacijskim režimom doziranja 20 g/hL PVPP sredstva dobiveno se najmanje održivo pivo.
3. Režimi u kojima se pivo stabiliziralo samo sa PVPP sredstvom dali su loše rezultate u Capon testu i testu s taninskom kiselinom jer je proizvod stabiliziran samo po pitanju polifenola, te su preostali proteini koji nisu uklonjeni stabilizacijskim tretmanom utjecali na rezultate.

## **7. LITERATURA**

1. Charles W. Bamforth, Inge Russell, Graham G. Stewart. (2009). *Beer a quality perspective*, UK, str. 111-154.
2. Dennis E. Briggs, Chris A. Boulton, Peter A. Brookes, Rodger Stewens. (2004). *Brewing science and practice*, str. 571-578, 583-597, 713-725.
3. Fergus G. Priest, Graham G. Stewart. (2006). *Handbook of brewing second edition*, str. 537-545, 715-723.
4. Gaćeša, S. (1979). Tehnologija slada sa sirovinama za tehnologiju piva, Poslovna zajednica industrije piva i slada Jugoslavije, Beograd.
5. Hans Michael Eßlinger, Surburg H. Panten. (2009). *Handbook of brewing*, str. 225-233, 365, 371-385, 399-420, 428-433, 456-457.
6. Interna dokumentacija (2016). Carlsberg Croatia d.o.o.
7. Kunze, W. (1996). *Technology Brewing and Malting (Int. ed.)*, Westekreuz – Druckerei Ahreis KG, Berlin.
8. Malcev, P. M. (1964). Tehnologija slada i piva, Poslovno udruženje industrije piva, Beograd.
9. Marić, V. (2009). Tehnologija piva, Veleučilište u Karlovcu, Karlovac.
10. Rehmanji, M., Gopal, C., Mola, A., (2005): *Beer Stabilization Technology - Clearly a Matter of Choice*, str. 332-338.
11. Narodne novine (2005) Pravilnik o pivu i pivu s dodacima. Zagreb: Narodne novine d.d. broj 117/03, 130/03, 48/04.
12. Narodne novine (2011) Pravilnik o pivu. Zagreb: Narodne novine d.d. broj 46/07, 84/08, 55/11.
13. Narodne novine (2011) Zakon o hrani. Zagreb: Narodne novine d.d. broj 46/07, 84/08, 55/11.
14. Narodne novine (2013) Pravilnik o izmjeni pravilnika o pivu. Zagreb: Narodne novine d.d. broj 81/2013.