

# ANALIZA SLADOVINE I PIVA PROIZVEDENIH RAZLIČITIM POSTUPCIMA UKOMLJAVANJA

---

**Beranek, Antonio**

**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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:611060>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-27**



**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**  
**PIVARSTVO**

ANTONIO BERANEK

**ANALIZA SLADOVINE I PIVA PROIZVEDENIH**  
**RAZLIČITIM POSTUPCIMA UKOMLJAVANJA**

ZAVRŠNI RAD

KARLOVAC, 2022.

**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**  
**PIVARSTVO**

**ANTONIO BERANEK**

**ANALIZA SLADOVINE I PIVA PROIZVEDENIH**  
**RAZLIČITIM POSTUPCIMA UKOMLJAVANJA**

**ZAVRŠNI RAD**

Mentor: dr.sc. Goran Šarić, v. pred.

Matični broj studenta: 0234008093

**KARLOVAC, RUJAN, 2022.**

## IZJAVA O AUTENTIČNOSTI ZAVRŠNOG RADA

Ja, **Antonio Beranek**, ovime izjavljujem da je moj završni rad pod naslovom **Analiza sladovine i piva proizvedenih različitim postupcima ukomljavanja** rezultat vlastitog rada i istraživanja te se oslanja na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Nijedan 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.

Antonio Beranek

---

---

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Veleučilište u Karlovcu

Završni rad

Odjel prehrambene tehnologije

Stručni studij prehrambena tehnologija

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

## ANALIZA SLADOVINE I PIVA PROIZVEDENIH RAZLIČITIM POSTUPCIMA UKOMLJAVANJA

*Antonio Beranek*

Rad je izrađen na Institutu za hmeljarstvo i pivarstvo u Sloveniji

Mentor: Dr.sc. Goran Šarić, prof. v. pred.

### Sažetak

Cilj rada bila je analiza sladovine i piva proizvedenih različitim postupcima ukomljavanja. Analiziralo se da li su različite temperature ukomljavanja imale utjecaja na finalni proizvod. Ječmeni slad koji se koristio bio je svijetli Pale Ale. Parametri koji su se analizirali su ukupni alkohol, boja, količina proteina, količina slobodnog amino dušika, gorčina i pH. Dokazano je, prema rezultatima analiziranih parametara, da pri korištenju kvalitetno modificiranog svijetlog baznog slada nije potrebno koristiti dodatne temperaturne stanke, već je dovoljno ukomljavati slad na temperaturi od 66,5°C. Veća količina proteina dobivena drugim postupcima ukomljavanja nije potrebna kvascima jer je dokazano da pri ukomljavanju na temperaturi od 66,5°C kvasci imaju dovoljno proteina za rast i razmnožavanje, a kako proteini neće biti iskorišteni od strane kvasaca povećava se mogućnost koloidnog zamućenja u finalnom proizvodu.

**Broj stranica:** 42

**Broj slika:** 33

**Broj tablica:** 22

**Broj literaturnih navoda:** 13

**Broj priloga:** -

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** analiza piva, svijetli slad, temperature ukomljavanja

**Datum obrane:** Rujan, 2022.

### Stručno povjerenstvo za obranu:

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

Rad je pohranjen u knjižnici Veleučilišta u Karlovcu, Trg J.J.Strossmayera 9, 47000 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**

### **WORT AND BEER ANALYSIS PRODUCED BY DIFFERENT MASHING PROCEDURES**

*Antonio Beranek*

**Final paper performed at Slovenian Institute of Hop Research and Brewing**

**Supervisor:** Ph.D. *Goran Šarić*, senior lecturer

#### **Abstract**

The aim of this final paper was the analysis of wort and beer produced by different mashing procedures. It was analysed whether different mash temperatures had an effect on the final product. The barley malt used was a light Pale Ale. The parameters that were analysed were: total alcohol, colour, amount of protein, amount of free amino nitrogen, bitterness, and pH. It has been proven that when using well modified light base malt, it is not necessary to use additional temperature mash profiles. It is enough to mash at a temperature of 66.5°C. A larger number of proteins obtained by different temperature mash profiles will not be used by yeasts, because it has been proven that yeast fermentation at a temperature of 66.5°C has enough protein for growth and reproduction, and since the proteins will not be used by the yeasts, the possibility of colloidal turbidity in the final product increases.

**Number of pages:**42

**Number of figures:**33

**Number of tables:**22

**Number of references:**13

**Original in:** *Croatian*

**Key words:** *beer analysis, light Pale Ale, mash profile*

**Date of the final paper defense:** September, 2022.

#### **Reviewers:**

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

**Final paper deposited in:** Library of Karlovac University of Applied Sciences, Trg J.J.Strossmayera 9, 47000 Karlovac .

1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	2
2.1	Tehnološki procesi u proizvodnji piva.....	2
2.2	Osnove ukomljavanja.....	4
2.3	Utjecaj temperature na konverziju i fermentabilnost šećera .....	5
2.4	Enzimi.....	5
2.4.1	Enzimi za pretvorbu škroba.....	6
2.4.2	Enzimi za pretvorbu proteina .....	7
3.	EKSPERIMENTALNI DIO .....	8
3.1	Materijal.....	8
3.1.1	Analitički uređaji.....	8
3.1.2	Kemijski pribor i posuđe .....	8
3.1.3	Otopine i reagensi.....	8
3.2	Metode rada .....	8
3.2.1	Ukupni dušik (MEBAK II 2002, 2.8.8.1.) .....	8
3.2.2	Niskomolekularni dušik - Lundin (MEBAK II, 2002, 2.8.3.2.).....	9
3.2.3	Visokomolekularni dušik-magnezijev sulfat (MEBAK II, 2002, 2.8.3.1.) .....	10
3.2.4	Slobodni amino dušik (Analytica 2004, 8.10).....	10
3.2.5	Određivanje gorčine (Analytica, 2004, 8.8).....	11
3.3	Različiti postupci ukomljavanja.....	13
3.3.1	Prvi način ukomljavanja.....	13
3.3.2	Drugi način ukomljavanja .....	14
3.3.3	Treći način ukomljavanja .....	15
3.4	Korištene sirovine .....	15
3.5	Uvjeti proizvodnje piva .....	16
4.	REZULTATI.....	17
4.1	Rezultati analize sladovine.....	18
4.1.1	Ekstrakt u sladovini .....	18
4.1.2	Prosječni pH u sladovini .....	19
4.1.3	Prosječna boja sladovine .....	20
4.2	Rezultati analize zahmeljene sladovine .....	21
4.2.1	Prosječni ekstrakt u zahmeljenoj sladovini .....	21
4.2.2	Prosječna gorčina u zahmeljenoj sladovini .....	22
4.2.3	Prosječni pH u zahmeljenoj sladovini .....	23
4.2.4	Prosječan udio ukupnog dušika u zahmeljenoj sladovini.....	24
4.2.5	Prosječan udio visokomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini.....	25

4.2.6	Prosječan udio srednje molekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini.....	26
4.2.7	Prosječan udio niskomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini.....	27
4.2.8	Prosječan udio slobodnog amino dušika u zahmeljenoj sladovini.....	28
<b>4.3</b>	<b>Rezultati analize piva .....</b>	<b>29</b>
4.3.1	Prosječni postotak alkohola u pivu.....	29
4.3.2	Prosječna gorčina u pivu .....	30
4.3.3	Prosječni pH u pivu .....	31
4.3.4	Prosječan udio ukupnog dušika u pivu.....	32
4.3.5	Prosječan udio visokomolekularnog dušika u pivu.....	33
4.3.6	Prosječan udio srednje molekularnog dušika u pivu.....	34
4.3.7	Prosječan udio niskomolekularnog dušika u pivu.....	35
4.3.8	Prosječan udio slobodnog amino dušika u pivu .....	36
4.3.9	Prosječna vrijednost boje u pivu .....	37
5.	RASPRAVA .....	38
6.	ZAKLJUČAK .....	39
7.	LITERATURA .....	40
8.	POPIS PRILOGA .....	41



## 1. UVOD

Pivo, slabo alkoholno piće, smatra se jednim od najstarijih alkoholnih pića koje je čovjek proizveo, ponajviše zbog činjenice da prvi dokaz o postojanju piva datira iz 4000. godine prije nove ere gdje je na kamenoj ploči isklesan prikaz ljudi koji konzumiraju pivo. Tadašnje pivo koje se bitno razlikuje od današnjeg modernog piva prepoznato je kao visoko energetska piće koje je zbog navedenog svojstva, služilo kao prehrana radnicima. Visoka nutritivna vrijednost dolazi od žitarica koje su jedan od 4 glavna sastojka u proizvodnji piva uz vodu, kvasce i hmelj. U ječmu, koji je danas najviše korištena žitarica u proizvodnji piva, nalazi se velika količina škroba. Škrob je visoko molekularni ugljikohidrat koji nije topljiv u vodi, a za čiju su razgradnju na jednostavnije fermentabilne šećere potrebni enzimi. Dok je većina enzima već prisutna u ječmu, neki enzimi nastaju u procesu klijanja ječma što se još naziva i modifikacijom ječma, a po završetku procesa nastali proizvod se naziva ječmeni slad. U procesu modifikacije ječma, uz nastajanje enzima, također dolazi do razgradnje škroba i proteina. Ukoliko tehnološki proces modifikacije ječma nije odrađen dovoljno dobro, neće biti moguće napraviti kvalitetnu hidrolizu škroba na fermentabilne šećere, u optimalnom vremenu i bez dodatka enzima što će u konačnici utjecati na financijski aspekt poslovanja same pivovare. U ovom radu je provedeno ukomljavanje prekrupe od kvalitetnog i dobro modificiranog slada, koristeći infuzijski postupak s različitim temperaturnim režimima. Dobivena sladovina i pivo naknadno su analizirani.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1 Tehnološki procesi u proizvodnji piva



**Slika 1.** Grafički prikaz toka proizvodnje piva

Izvor: <https://gospodarski.hr/rubrike/ostalo/prilog-broja-kako-proizvesti-pivo/>

Proces proizvodnje piva u pivovari započinje mljevenjem ječmenoga slada na potrebnu granulaciju. Cilj ovog koraka kidanje je pljevice i usitnjavanje endosperma čime se omogućuje pristup enzimima škrobu kojega će u sljedećim koracima razgraditi na jednostavnije i fermentabilne šećere.

Sljedeći korak je ukomljavanje usitnjenog ječmenog slada. Ukomljavanje je proces hidratacije usitnjenog ječmenog slada, aktivacija enzima i hidroliza škroba na jednostavne i fermentabilne šećere. Kada je proces ukomljavanja završen prelazi se na proces cijedenja.

Cijedenje je proces razdvajanja tekuće faze, odnosno, sladovine od pivskoga tropa. Sladovina je tekućina u kojoj se nalaze otopljene tvari iz ječmenog slada i koja služi za daljnju proizvodnju piva, dok je pivski trop netopljivi dio koji se sastoji ponajviše od klica i pljevice, te u koraku cijedenja služi kao moćno filtracijsko sredstvo. Sladovina koja se prva iscijedi i transferira u tank za kuhanje naziva se prvijenac i ona kao takva ima najveću koncentraciju otopljenih tvari. No kako bi se povećalo ukupno iskorištenje procesa, potrebno je napraviti naknadna ispiranja tropa kako bi i otopljenje komponente zaostale u tropu mogle biti iskorištene. Naknadna ispiranja se vrše dok se ne postigne željena koncentracija otopljenih tvari u sladovini (Narziss, 2018).

Kada se postigne željena koncentracija otopljenih sastojaka u sladovini započinje proces kuhanja sladovine. Temperatura sladovine podiže se na 100°C te se potom ubacuje hmelj. Pri toj temperaturi dolazi do izomerizacije hmeljnih sastojaka, steriliziranja sladovine, deaktivacije svih enzima i njihovih djelovanja, isparavanja vode kako bi se postigla željena koncentracija, isparavanja nepoželjnih spojeva kao što je dimetil sulfid (DMS) i drugo. Ovisno o vrsti korištenog slada i stila piva, kuhanje može trajati od 60 do 90 minuta. Po završetku kuhanja potrebno je sladovinu ohladiti na temperaturu pogodnu za inokulaciju kvasca, a što opet ovisi o vrsti piva koje se proizvodi, odnosno o soju kvasca koji se koristi.

Nakon što je zahmeljena sladovina ohlađena prebacuje se u posudu za fermentaciju, dodaju se kvasci i započinje proces fermentacije. Kako bi kvasci kvalitetno odradili fermentaciju potrebno im je osigurati optimalne uvjete djelovanja. Zahmeljena sladovina treba biti dobro aerirana kako bi se kvascima u aerobnoj fazi omogućilo brzo razmnožavanje. Nakon što kvasci apsorbiraju sav kisik prelaze u anaerobni način djelovanja, tj. počinje proces fermentacije u kojem su glavni produkti ugljični dioksid i etanol. Nakon procesa fermentacije slijedi proces odležavanja.

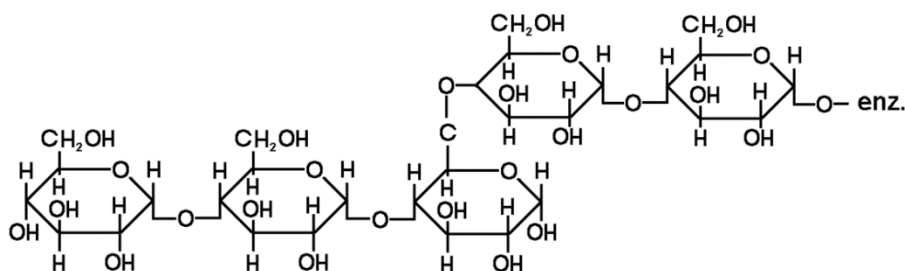
Za vrijeme odležavanja ugljikov dioksid, koji je jedan od produkata djelovanja kvasaca, otapa se u pivu i tako ga karbonizira, kvasac se taloži na dno tanka, pivo se bistri i okusi se profiliraju. Nakon završenih procesa fermentacije i odležavanja, slijedi proces filtracije.

U procesu filtracije dolazi do izdvajanja stanica kvasca i većih tvrdih čestica iz gotovoga piva koje nisu poželjne jer mogu izazvati koloidnu zamućenost. Po završetku procesa filtracije prelazi se na proces pasterizacije.

Glavni cilj tehnološkog procesa pasterizacije je drastično smanjenje broja živih kvašćevih i bakterijskih stanica u pivu izlaganjem piva visokim temperaturama, čime se produžuje vijek trajanja proizvoda. Potom se prelazi na proces punjenja u različitu ambalažu (staklene i plastične boce, aluminijske limenke i bačve), te je proizvod kao takav spreman za distribuciju krajnjim korisnicima.

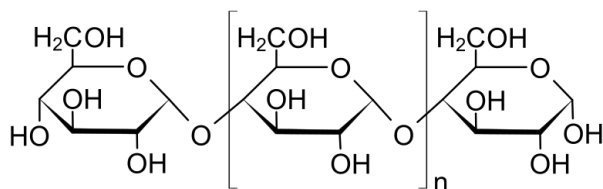
## 2.2 Osnove ukomljavanja

Ukomljavanje je proces pretvorbe svih netopljivih sastojaka (npr. škrob) iz ječmenog slada u topljive (npr. fermentabilni šećeri). Namakanje mljevenog slada u vodi dovodi do aktivacije enzima koji vrše konverziju škroba. Ovo je vrlo jednostavna definicija, a sam postupak je puno kompliciraniji i mnogo je čimbenika koji utječu na konverziju škroba.



Slika 2. Strukturna formula amilopektina

Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/%C5%A0krob#/media/Datoteka:Amylopectine.png>



Slika 3. Strukturna formula amiloze

Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Amiloza#/media/Datoteka:Amylose2.svg>

Škrob je netopljivi polisaharid sastavljen od molekula glukoze povezanih u dugačke lance. Netopljiv je u hladnoj vodi, alkoholu i eteru. Pod djelovanjem kiselina i enzima razgrađuje se na dekstrine, maltozu i glukozu. Škrob se sastoji od dva građom različita ugljikohidrata iste formule - amiloza (jednostavni lanci molekula glukoze povezanih  $\alpha$ -1,4 glikozidnim vezama) i amilopektin (složeni lanci molekula glukoze međusobno povezanih  $\alpha$ -1,4 i  $\alpha$ -1,6 glikozidnim vezama) (Palmer, 2017).

U vodi netopljivi škrob potrebno je izložiti djelovanju enzima koji će ga hidrolizirati i time stvoriti topljive komponente. Hidroliza škroba dijeli u tri faze: klajsterizacija, likvefakcija i šećerenje. Klajsterizacija je proces pretvorbe škroba u škrobni lijepak, do koje dolazi zbog

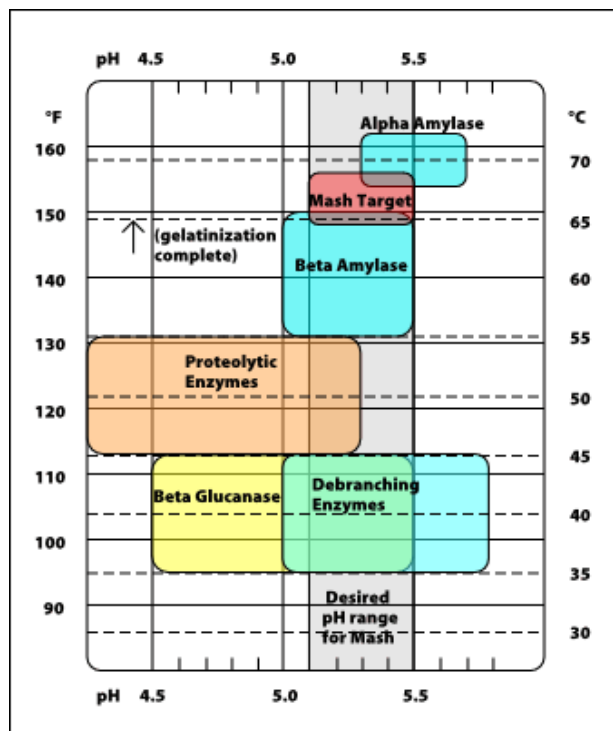
prisutnosti vruće vode pri čemu škrobna zrnca bubre i pucaju. Preduvjet potpunoj razgradnji škroba je potpuna klajsterizacija, a rezultat nepotpune klajsterizacije očitovat će se u nižem prinosu ekstrakta i škrobnom zamućenju piva. U procesu klajsterizacije ne nastaju metabolički produkti i taj proces ne spada u enzimatski proces. Likvefakcija je proces otapanja škrobnog lijepka, u kojem dolazi do cijepanja dugačkih škrobnih lanaca na kraće. Šećerenje je proces razgradnje otopljenog škrobnog lijepka. Skup svih otopljenih sastojaka naziva se ekstrakt i poželjno ga je dobiti što više u tekućini koju po završetku ukomljavanja nazivamo sladovinom.

### **2.3 Utjecaj temperature na konverziju i fermentabilnost šećera**

Različite temperature ukomljavanja rezultirati će sladovinom veće ili manje fermentabilnosti (udjelom nastalih fermentabilnih šećera). Duže vremensko zadržavanje ukomljavanja na nižim temperaturama, a unutar temperaturnog raspona djelovanja enzima zaduženih za hidrolizu škroba (od 60°C do 75°C), direktno će utjecati na stvaranje više fermentabilnih šećera, dok će pri višim temperaturama ukomljavanja, također unutar raspona djelovanja enzima zaduženih za hidrolizu škroba, doći do stvaranja veće količine nefermentabilnih šećera. Duže vremensko zadržavanje ukomljavanja na temperaturama od 62°C do 64 °C rezultirati će sladovinom s puno proizvedene fermentabilne maltoze koja ima visok stupanj prevrenja dok će duže zadržavanje ukomljavanja u rasponu temperature od 72°C - 75 °C rezultirati sladovinom s više nastalog nefermentabilnog dekstrina koji pivu daje punoću. Ovaj podatak je iznimno važan jer o njemu ovisi kakvo pivo će nastati (suho ili pivo punijeg okusa) (Mosher, Trantham, 2017).

### **2.4 Enzimi**

Biološki katalizatori zaduženi za reduciranje škroba na jednostavne fermentabilne šećere nazivaju se enzimi. Enzimi su bjelančevine koje ubrzavaju biokemijske reakcije te, kao i na sve proteine, temperatura ima veliki utjecaj na njihovo djelovanje. U načelu, povećanjem temperature povećava se aktivnost enzima, no bitno je napomenuti kako svaki enzim ima svoju optimalnu temperaturu djelovanja. Ukoliko se za određeni enzim temperatura povisi van njegovog optimalnog temperaturnog djelovanja dolazi do denaturacije i inaktivacije zbog odmotavanja njegove 3-D strukture. Stoga je, kako bi se svakom enzimu omogućilo njegovo djelovanje, potrebno zadržati temperaturu ukomljavanja u optimalnom temperaturnom rasponu. Na slici 4. je prikazan optimalni temperaturni i pH raspon za djelovanje enzima (Palmer, 2017).



Slika 4. Optimalna temperatura i pH za djelovanje enzima

Izvor: <http://howtobrew.com/book/section-3/how-the-mash-works/mashing-defined>

Ječmeni slad, ako je u potpunosti modificiran, sadrži enzime potrebne za konverziju koji se aktiviraju namakanjem ječmenoga slada u vodi određene temperature i pH vrijednosti. Svaki slad ne sadrži jednaku količinu enzima (dijastatska snaga slada) pa tako osnovni sladovi, npr. Pilsner i Pale Ale, zbog nižih temperatura u procesu slađenja, sadrže dovoljnu količinu enzima za konverziju škroba dok specijalne vrste sladova, npr. Karamelni, sadrže male i nedovoljne količine enzima ponajviše zbog viših temperatura prženja u procesu slađenja gdje dolazi do denaturacije enzima. Takve specijalne vrste sladova potrebno je dopuniti osnovnim sladom kako bi se nadomjestio nedostatak potrebnih enzima i postigla potpuna konverzija škroba.

#### 2.4.1 Enzimi za pretvorbu škroba

Enzimi zaslužni za hidrolizu škroba su  $\alpha$ -amilaza,  $\beta$ -amilaza i dekstrinaza.  $\alpha$ -amilaza hidrolizom cijepa dugačke ravne lance spojeva glukoznih jedinica amiloze i amilopektina (škroba) na manje do dekstrina, čime stvara više slobodnih krajeva na molekuli što omogućava bolje djelovanje  $\beta$ -amilaze. Optimalna temperatura djelovanja je između 72°C i 75°C dok je optimalni pH između 5,6 do 5,8 (Mosher, Trantham, 2017).

Isto kao i  $\alpha$ -amilaza,  $\beta$ -amilaza hidrolizom cijepa dugačke ravne lance na maltozu ali s

ne reducirajućeg kraja molekule. Zbog neparnog broja glukoznih jedinica u dekstrinskim lancima, osim maltoze nastaju i drugi šećeri (npr. glukoza i maltotrioza). Optimalna temperatura djelovanja je od 60°C - 65°C dok je optimalni pH od 5,4 do 5,5. (Mosher, Trantham, 2017).

Dekstrinaza razdvaja 1-6 veze unutar molekula amilopektina. Kako je temperaturni optimum djelovanja od 55°C - 60°C ima vrlo malu ulogu u većini temperaturnih rasporeda ukomljavanja jer iznad 65°C postaje neaktivna, odnosno dolazi do denaturacije.

#### **2.4.2 Enzimi za pretvorbu proteina**

Ovi enzimi zaduženi su za trganje dugačkih lanaca proteina na kraće lance. Veliki dio razgradnje proteina odrađen je u procesu modifikacije odnosno slađenja ječmenoga zrna, što u prošlosti nije bio slučaj jer se procesi slađenja nisu odrađivali kvalitetno zbog neznanja i nerazumijevanja samog procesa slađenja. Razgradnjom dugih lanaca proteina nastaju srednje dugi i kratki lanci proteina te slobodne aminokiseline. Srednje dugi lanci proteina bitni su za stabilnost pjene i punoću okusa piva (tijelo), no isto tako imaju negativan utjecaj na koloidno zamućenje piva pa je potrebno naći povoljan omjer (Mosher, Trantham, 2017).

Proteinaza i peptidaza dvije su vrste proteolitičkih enzima koji hidrolizom kidaju peptidne veze između aminokiselina. Proteinaza kida veze u proteinskoj molekuli na manje lance, dok peptidaza kida peptide (kratke lance polimeriziranih amino kiselina). Rezultat djelovanja proteinaze i peptidaze nije samo razgradnja proteina i peptida već i otpuštanje kratkih lanaca amino kiselina koji su neophodni za metabolizam kvasca. Djelovanje navedenih enzima također potpomaže oslobađanju škroba iz proteinskih staničnih stjenki čime škrob postaje topljiv. Temperaturni optimum djelovanja je između 47°C i 54°C dok je optimalni raspon pH vrijednosti između 4,5 i 5,3. U današnje vrijeme s kvalitetno odrađenom modifikacijom ječmenoga zrna u načelu nije potrebno provoditi ovaj korak ukomljavanja (Mosher, Trantham, 2017).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1 Materijali**

##### **3.1.1 Analitički uređaji**

Korišteni uređaji za analize su:

1. pH metar 702 SM Titrino,
2. spektrofotometar Shimadzu UV-1900,
3. uređaj za destilaciju Kjeldahl flex K-360,
4. uređaj za uparavanje Speed Digester K-436,
5. uređaj za analizu piva Anton Paar- sp1.

##### **3.1.2 Kemijski pribor i posude**

Korišteni kemijski pribor i posude su: bireta, stalak za biretu, kivete, Erlenmeyerove tikvice (250 i 500 ml), laboratorijske čaše (150, 200 i 250 ml), epruvete s čepom, stakleni lijevci, plastični lijevci, stalak za lijevke, glatki filtarski papir, naborani filtarski papir S&S 597, filtarski papir crna vrpca, viskozimetar, uređaj za centrifugiranje, odmjerne tikvice (50 i 200 ml), automatska pipeta, pipete (10, 20 i 50 ml).

##### **3.1.3 Otopine i reagensi**

Korištene otopine i reagensi su: sumporna kiselina (96-98%), borna kiselina (20 g/l), bromkrezol zeleno (0.1 g/100 ml), klorovodična kiselina (0.25 mol/l), zasićena otopina magnezijeva sulfata (350 g magnezijev sulfat x 7H<sub>2</sub>O+0.5 ml konc. sumporna kiselina/500 ml), sumporna kiselina (5 mol/l), natrijev molibdat (50%), sumporna kiselina (50%), ninhidrinski indikator (10g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 12H<sub>2</sub>O + 6g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 0.5g ninhidrin + 0.3g fruktoze/ 100ml), otopina kalijeva jodida (0.2 KIO<sub>3</sub>+60ml H<sub>2</sub>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 rada**

##### **3.2.1 Ukupni dušik (MEBAK II 2002, 2.8.8.1.)**

U kivetu se otpipetiralo 20 mL uzorka, potom se dodalo 5 mL koncentrirane sumporne kiseline i sadržaj zagrijavao i ispario do suhoga, nakon što se sadržaj osušio dodano je 20 mL koncentrirane sumporne kiseline i ponovo zagrijavano na nižim temperaturama i isparilo do



suhoga. Nakon hlađenja sadržaj se destilirao, a dobiveni destilat titirao s klorovodičnom kiselinom. Korišteni uređaj za destilaciju je bio Buchi KjellFlex K-360.



**Slika 5.** Buchi KjellFlex K-360

Izvor: vlastita izrada autora

### **3.2.2 Niskomolekularni dušik - Lundin (MEBAK II, 2002, 2.8.3.2.)**

U tikvicu volumena 200mL otpipetiralo se 120 mL uzorka, 65 mL destilirane vode i 10 mL topine natrijeva molibdata. Nakon temperiranja na 20°C destiliranom vodom se dopunila tikvica do oznake 200mL. Dodalo se 10 ml sumporne kiseline i postavilo u vodenu kupelj na temperiranje od 20°C. Po isteku vremena se filtriralo. 60ml dobivenog uzorka je otpipetirano u kivetu, potom se dodalo 5 mL koncentrirane sumporne kiseline i sadržaj zagrijavao i ispario do suhoga, nakon što se sadržaj osušio dodano je 20 mL koncentrirane sumporne kiseline i ponovo zagrijavano na nižim temperaturama i isparilo do suhoga. Nakon hlađenja sadržaj se destilirao, a dobiveni destilat titirao s klorovodičnom kiselinom.



**Slika 6.** Uređaj za otparavanje Buchi

Izvor: vlastita izrada autora

Srednje molekularni dušik (MEBAK II, 2002, 2.8.4.), postupak: srednje molekularni dušik mg/L = cjelokupni – visokomolekularni – niskomolekularni.

### **3.2.3 Visokomolekularni dušik-magnezijev sulfat (MEBAK II, 2002, 2.8.3.1.)**

U laboratorijsku čašu se odvagalo 40 g magnezijevog sulfata, dodalo se 0,65 mL 5N sumporne kiseline i otpipetiralo se 40 mL uzorka. Čaša je stavljena u komoru za grijanje namještenu na 35°C u trajanju od 60 minuta. Svakih 20 minuta bilo je potrebno sadržaj promiješati. Istekom vremena se filtriralo i filter papir isprao magnezijevim sulfatom. Filter papir se stavio u kivetu, U kivetu se stavio filter papir, potom se dodalo 5 mL koncentrirane sumporne kiseline i sadržaj zagrijavao i ispario do suhoga, nakon što se sadržaj osušio dodano je 20 mL koncentrirane sumporne kiseline i ponovo zagrijavano na nižim temperaturama i isparilo do suhoga. Nakon hlađenja sadržaj se destilirao, a dobiveni destilat titrirao s klorovodičnom kiselinom.

### **3.2.4 Slobodni amino dušik (Analytica 2004, 8.10)**

Uzorak se razrijedio (sladovina 1/10 0mL, pivo1/50 mL), otpipetiralo se 2 mL uzorka u epruvetu, te se dodalo 1 mL reagensa. Epruveta je stavljena 16 minuta u vruću kupelj, nakon toga u hladnu kupelj na 20°C na 20 minuta. Po isteku vremena dodalo se 5 mL otopine kalijevog jodida i izmjerila se absorbancija spektrofotometrom.

### 3.2.5 Određivanje gorčine (Analytica, 2004, 8.8)

U epruvetu za centrifugu otpipetiralo se 10 ml uzorka, dodano je 6N klorovodične kiseline i 20 mL izooktana, treslo se u aparatu za treskanje 22 minute i centrifugiralo 3 minute. Ostavljeno da miruje 30 minuta. Absorbancija je mjerena pri 275 nm na uređaju za mjerenje absorbancije (slika 7.).



**Slika 7.** Uređaj za mjerenje absorbancije, SHIMADZU UV-1900

Izvor: vlastita izrada autora

Analiza udjela alkohola i ekstrakta odrađena je na uređaju ANTON PAAR- sp1 (slika 8.).



**Slika 8.** Anton Paar – sp1

Izvor: vlastita izrada autora

Analiza pH vrijednosti odrađena ja na uređaju TITRINO 702SM (slika 9.)



**Slika 9.** TITRINO 702SM, uređaj za određivanje pH vrijednosti

Izvor: vlastita izrada autora

### 3.3 Različiti postupci ukomljavanja

#### 3.3.1 Prvi način ukomljavanja

Početna temperatura ovog načina ukomljavanja bila je 66,5°C, a vremensko trajanje je bilo 45 minuta. Na ovoj temperaturi odvijala se saharifikacija. Temperatura je optimalna za djelovanje enzima  $\alpha$ -amilaze i  $\beta$ -amilaze koji su zaduženi za pretvorbu škroba u fermentabilne šećere. Istekom 45 minuta temperatura se kroz 15 minuta podizala na 78°C čime se postigla deaktivacija svih enzima.

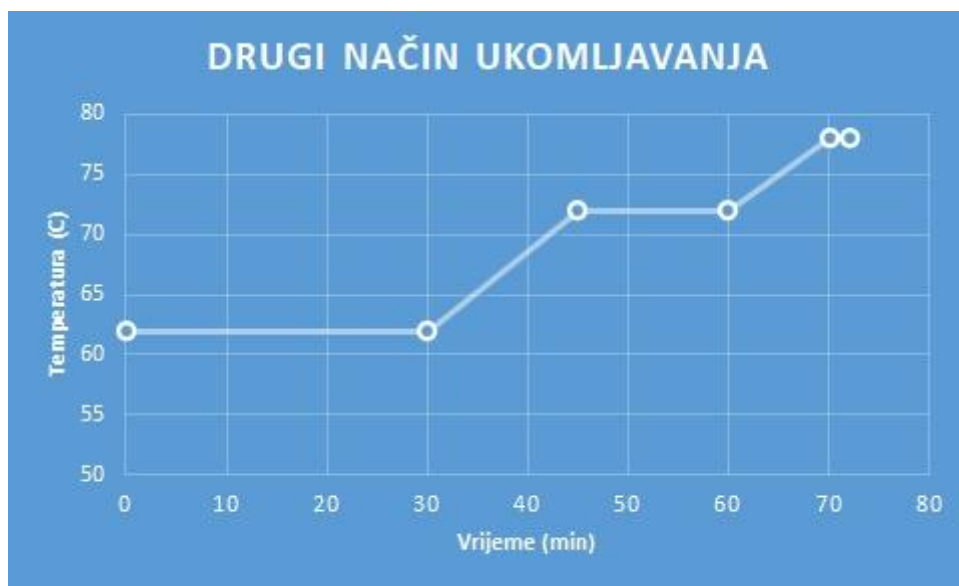


**Slika 10.** Prvi načina ukomljavanja

Izvor: vlastita izrada autora

### 3.3.2 Drugi način ukomlјavanja

Početna temperatura drugog načina ukomlјavanja bila je 62°C u vremenskom trajanju od 30 minuta. U ovom koraku djelovao je enzim  $\beta$ -amilaza koji stvara najviše maltoze, a potom u malim količinama glukoze i maltotrioze. Istekom 30 minuta započelo je podizanje temperature u trajanju od 15 minuta na temperaturu od 72°C čime se aktivirao enzim  $\alpha$ -amilaza koji reducira škrob do dekstrina. Temperaturna stanka na navedenoj temperaturi trajala je 15 minuta. Nakon toga temperatura se podigla na 78°C kako bi se deaktiviralo enzimatsko djelovanje.



**Slika 11.** Drugi načina ukomlјavanja

Izvor: vlastita izrada autora

### 3.3.3 Treći način ukomljavanja

Početna temperatura trećega načina ukomljavanja bila je 45°C u trajanju od 10 minuta. Ova temperatura aktivirala je enzim endo- $\beta$ -1,4 glukanaza koji je zaslužan za razgradnju  $\beta$ -glukana. Istekom 10 minuta temperatura se podigla na 50°C u trajanju od 10 minuta čime su se postigli optimalni uvjeti za djelovanje proteinaze i peptidaze. Potom se temperatura podigla na 62°C i zadržala u trajanju od 30 minuta za djelovanje  $\beta$ -amilaze. Istekom 30 minuta temperatura se podigla na 72°C u trajanju od 15 minuta za djelovanje  $\alpha$ -amilaze. Na kraju se temperatura podigla na 78°C radi deaktivacije enzima.



Slika 12. Treći načina ukomljavanja

Izvor: vlastita izrada autora

### 3.4 Korištene sirovine

Tablica 1. Korištene sirovine

SIROVINA	KOLIČINA
Ječmeni slad Pale Ale	3,5kg
Hmelj Aurora	20g
Kvasac Fermentis SafAle US-05	10g

### 3.5 Uvjeti proizvodnje piva

Svi parametri proizvodnje uvaraka osim temperaturnih stanki ukomljavanja bili su identični. Vrijeme kuhanja je iznosilo 60 minuta. Fermentacija je trajala 6 dana na temperaturi od 20°C. Svaki uvarak je rađen dva puta kako bi rezultati bili što točniji. Volumen uvaraka je iznosio 15 L.

Ukomljavanje i kuhanje piva vršilo se na Ziemann uređaju.



**Slika 13.** Ziemann uređaj za proizvodnju piva

Izvor: vlastita izrada autora



## 4. REZULTATI

**Tablica 2.** Skupni prikaz rezultata analiza sladovine, zahmeljene sladovine i piva. Prvim brojem označen je način ukomljavanja, a brojem iza decimalne točke označen je broj paralelnog kuhanja (npr. A 1.1 označava prvi način ukomljavanja i prvo paralelno kuhanje). Oznake A1, A2 i A3 prikazuju srednje vrijednosti određenog načina ukomljavanja (npr. oznaka A3 prikazuje prosjek dobivenih rezultata trećeg načina ukomljavanja).

	ANALIZIRANI PARAMETAR		A 1.1	A 1.2	A 2.1	A 2.2	A 3.1	A 3.2	A1	A2	A3
SLADOVINA	EKSTRAKT	%	12,51	12,33	12,49	12,51	12,72	12,66	12,42	12,5	12,69
	pH		5,65	5,63	5,68	5,73	5,67	5,69	5,64	5,705	5,68
	BOJA	EBC	18,7	18,8	17,8	17,1	16,7	16,9	18,75	17,45	16,8
ZAHMELJENA	EKSTRAKT	%	15,83	14,72	15,1	14,21	15,15	14,76	15,275	14,655	14,955
SLADOVINA	GORČINA	IBU	19,686	19,669	20,234	19,797	19,52	18,693	19,6775	20,0155	19,1065
	pH		5,35	5,46	5,43	5,38	5,43	5,4	5,405	5,405	5,415
	UKUPNI DUŠIK	mg/100ml	113,4	112	120,4	119	128,8	126	112,7	119,7	127,4
	VISOKOMOLEKULARNI DUŠIK	mg/100ml	14,5	14,3	15,2	15,1	16,1	15,9	14,4	15,15	16
	SREDNJEMOLEKULARI DUŠIK	mg/100ml	29,4	27,7	32,8	32	34,2	32	28,55	32,4	33,1
	NISKOMOLEKULARNI DUŠIK	mg/100ml	69,5	69,9	72,4	71,9	78,5	78,1	69,7	72,15	78,3
	ALFAAMINO DUŠIK	mg/L	133,2	158,2	179,1	169,5	189,5	187,3	145,7	174,3	188,4
PIVO	EKSTRAKT	%	14,5	14,59	14,43	14,74	14,99	14,7	14,545	14,585	14,845
	ALKOHOL	vol%	6,2	6,07	6,25	6,4	6,35	5,98	6,135	6,325	6,165
	GORČINA	IBU	23,6	23,4	24,8	25	25,9	25,7	23,5	24,9	25,8
	BOJA	EBC	19,6	16,7	18,5	19,1	17,9	18,1	18,15	18,8	18
	pH		4,2	4,17	4,28	4,26	4,34	4,33	4,185	4,27	4,335
	UKUPNI DUŠIK	mg/100ml	82,6	77,7	86,1	87,5	91,7	93,1	80,15	86,8	92,4
	VISOKOMOLEKULARNI DUŠIK	mg/100ml	17,3	17,7	18,2	18	18,7	18,7	17,5	18,1	18,7
	SREDNJEMOLEKULARI DUŠIK	mg/100ml	17	12,2	17,6	18,8	21,5	22	14,6	18,2	21,75
	NISKOMOLEKULARNI DUŠIK	mg/100ml	48,2	47,8	50,3	50,7	51,5	52,3	48	50,5	51,9
	ALFAAMINO DUŠIK	mg/L	66,8	54,1	66,4	68	79,9	83,2	60,45	67,2	81,55



## 4.1 Rezultati analize sladovine

### 4.1.1 Ekstrakt u sladovini

**Tablica 3.** Ekstrakt u sladovini

Način ukomlјavanja	Prosječni udjel ekstrakta (%)
Prvi način ukomlјavanja	12,42
Drugi način ukomlјavanja	12,5
Treći način ukomlјavanja	12,69



**Slika 14.** Prosječni udio ekstrakta u sladovini

Iz dobivenih podataka vidljiv je rast vrijednosti prema načinu ukomlјavanja.

#### 4.1.2 Prosječni pH u sladovini

**Tablica 4.** pH u sladovini

Način ukomljavanja	pH
Prvi način ukomljavanja	5,64
Drugi način ukomljavanja	5,7
Treći način ukomljavanja	5,68



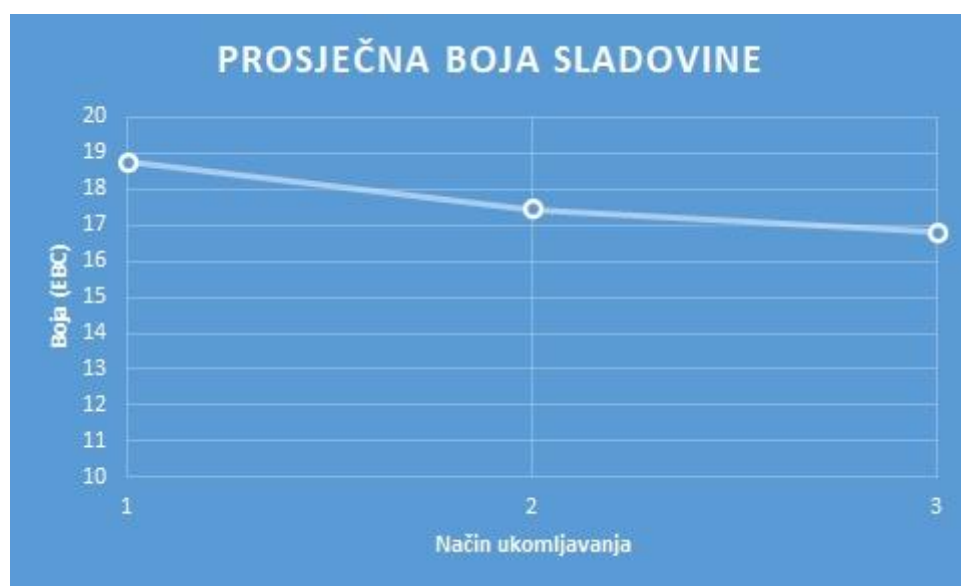
**Slika 15.** Prosječni pH u sladovini

Iz analiziranih uzoraka pH vrijednost se nije statistički bitno promijenila.

### 4.1.3 Prosječna boja sladovine

**Tablica 5.** Boja sladovine

Način ukomljavanja	Boja (EBC)
Prvi način ukomljavanja	18,75
Drugi način ukomljavanja	17,45
Treći način ukomljavanja	16,8



**Slika 16.** Prosječna vrijednost boje izražene u EBC jedinicama

## 4.2 Rezultati analize zahmeljene sladovine

### 4.2.1 Prosječni ekstrakt u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 6.** Ekstrakt u zahmeljenoj sladovini

Način ukomlјavanja	Prosječni udjel ekstrakta (%)
Prvi način ukomlјavanja	15,2
Drugi način ukomlјavanja	15
Treći način ukomlјavanja	14,95



**Slika 17.** Prosječan ekstrakt u zahmeljenoj sladovini

Prema analiziranim podacima nije došlo do statistički bitne promjene.

#### 4.2.2 Prosječna gorčina u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 7.** Gorčina u zahmeljenoj sladovini

Način ukomljavanja	Gorčina (IBU)
Prvi način ukomljavanja	19,67
Drugi način ukomljavanja	20,01
Treći način ukomljavanja	19,1



**Slika 18.** Prosječna gorčina u zahmeljenoj sladovini

### 4.2.3 Prosječni pH u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 8.** pH u zahmeljenoj sladovini

Način ukomljavanja	pH
Prvi način ukomljavanja	5,4
Drugi način ukomljavanja	5,4
Treći način ukomljavanja	5,4



**Slika 19.** Prosječna pH vrijednost u zahmeljenoj sladovini

Prema dobivenim podacima pH vrijednost se nije mijenjala.



#### 4.2.4 Prosječan udio ukupnog dušika u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 9.** Cjelokupni dušik u zahmeljenoj sladovini

Način ukomljavanja	Ukupni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavanja	112,7
Drugi način ukomljavanja	119,7
Treći način ukomljavanja	127,4



**Slika 20.** Prosječan udio cjelokupnog dušika u zahmeljenoj sladovini

Prema dobivenim podacima uočljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

#### 4.2.5 Prosječan udio visokomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 10.** Visokomolekularni dušik u zahmeljenoj sladovini

Način ukomljavanja	Visokomolekularni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavanja	14,4
Drugi način ukomljavanja	15,15
Treći način ukomljavanja	16



**Slika 21.** Prosječan udio visokomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

#### 4.2.6 Prosječan udio srednje molekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 11.** Srednje molekularni dušik u zahmeljenoj sladovini

Način ukomljavanja	Srednje molekularni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavanja	28,55
Drugi način ukomljavanja	32,4
Treći način ukomljavanja	33,1



**Slika 22.** Prosječan udio srednje molekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

#### 4.2.7 Prosječan udio niskomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 12.** Niskomolekularni dušik u zahmeljenoj sladovini

Način ukomljavanja	niskomolekularni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavanja	69,7
Drugi način ukomljavanja	72,15
Treći način ukomljavanja	78,3



**Slika 23.** Prosječan udio niskomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

#### 4.2.8 Prosječan udio slobodnog amino dušika u zahmeljenoj sladovini

**Tablica 13.** Slobodan amino dušik u zahmeljenoj sladovini

Način ukomljavanja	Slobodan amino dušik (mg/1000ml)
Prvi način ukomljavanja	145,7
Drugi način ukomljavanja	174,3
Treći način ukomljavanja	188,4



**Slika 24.** Prosječan udio slobodnog amino dušika u zahmeljenoj sladovini

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

### 4.3 Rezultati analize piva

#### 4.3.1 Prosječni postotak alkohola u pivu

**Tablica 14.** Alkohol u pivu

Način ukomljavanja	Prosječni alkohol (%)
Prvi način ukomljavanja	6,1
Drugi način ukomljavanja	6,3
Treći način ukomljavanja	6,1



**Slika 25.** Prosječan udio alkohola u pivu

Prema dobivenim podacima nije došlo do statistički bitne promjene.

### 4.3.2 Prosječna gorčina u pivu

**Tablica 15.** Gorčina u pivu

Način ukomljavanja	Gorčina (IBU)
Prvi način ukomljavanja	23,5
Drugi način ukomljavanja	24,9
Treći način ukomljavanja	25,8



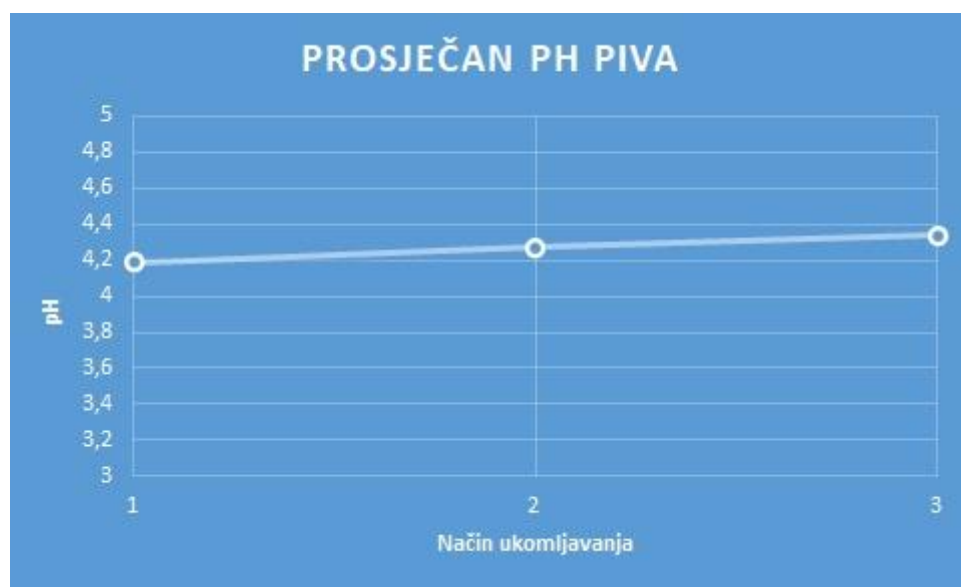
**Slika 26.** Prosječna gorčina u pivu

Prema dobivenim podacima vidljiv je lagani rast u odnosu na način ukomljavanja.

### 4.3.3 Prosječni pH u pivu

Tablica 16. pH u pivu

Način ukomljavanja	pH
Prvi način ukomljavanja	4,185
Drugi način ukomljavanja	4,27
Treći način ukomljavanja	4,335



Slika 27. Prosječan pH piva

Prema dobivenim podacima nije došlo do statistički bitne promjene.



#### 4.3.4 Prosječan udio ukupnog dušika u pivu

**Tablica 17.** Cjelokupni dušik u pivu

Način ukomljavaanja	Ukupni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavaanja	80,15
Drugi način ukomljavaanja	86,8
Treći način ukomljavaanja	92,4



**Slika 28.** Prosječni udio ukupnog dušika u pivu

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavaanja.

### 4.3.5 Prosječan udio visokomolekularnog dušika u pivu

**Tablica 18.** Visokomolekularni dušik u pivu

Način ukomljavanja	Visokomolekularni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavanja	17,5
Drugi način ukomljavanja	18,1
Treći način ukomljavanja	18,7



**Slika 29.** Prosječni udio visokomolekularnog dušika

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

#### 4.3.6 Prosječan udio srednje molekularnog dušika u pivu

**Tablica 19.** Srednje molekularni dušik u pivu

Način ukomljavanja	Srednje molekularni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavanja	14,6
Drugi način ukomljavanja	18,2
Treći način ukomljavanja	21,7



**Slika 30.** Prosječni udio srednje molekularnog dušika

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

### 4.3.7 Prosječan udio niskomolekularnog dušika u pivu

Tablica 20. Niskomolekularni dušik u pivu

Način ukomljavanja	niskomolekularni dušik (mg/100ml)
Prvi način ukomljavanja	48
Drugi način ukomljavanja	50,5
Treći način ukomljavanja	51,9



Slika 31. Prosječni udio niskomolekularnog dušika

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

### 4.3.8 Prosječan udio slobodnog amino dušika u pivu

**Tablica 21.** Slobodan amino dušik u pivu

Način ukomljavanja	Slobodan amino dušik (mg/1000ml)
Prvi način ukomljavanja	60,45
Drugi način ukomljavanja	67,2
Treći način ukomljavanja	81,55



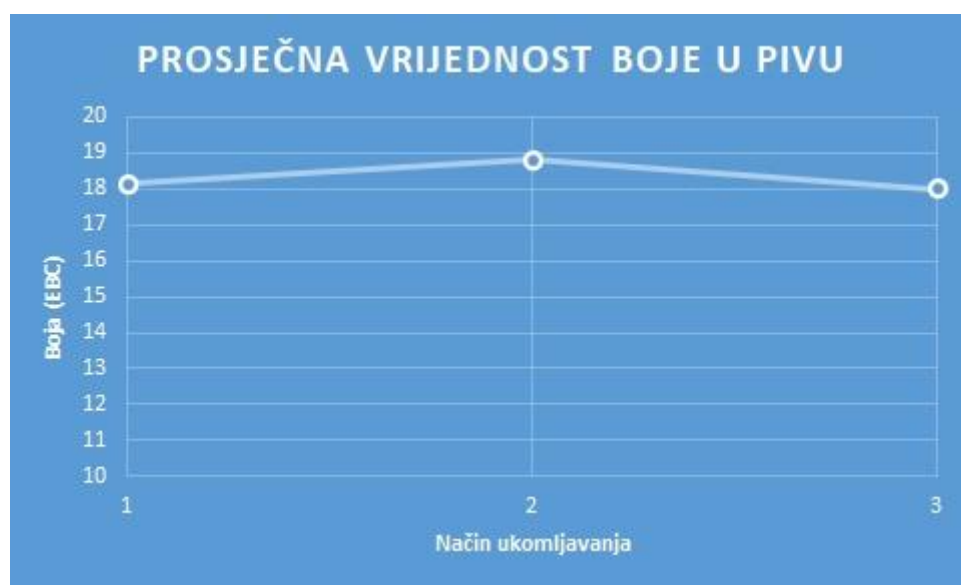
**Slika 32.** Prosječni udio slobodnog amino dušika

Prema dobivenim podacima vidljiv je rast prema načinu ukomljavanja.

### 4.3.9 Prosječna vrijednost boje u pivu

**Tablica 22.** Boja u pivu

Način ukomljavanja	Boja (EBC)
Prvi način ukomljavanja	18,15
Drugi način ukomljavanja	18,8
Treći način ukomljavanja	18



**Slika 33.** Prosječna vrijednost boje u pivu

Prema dobivenim podacima nije došlo do statistički bitne promjene.

## 5. RASPRAVA

Nakon provedenih analiza zaključeno je da je koncentracija ekstrakta u zanemarivom porastu od prvog do trećeg načina ukomljavanja (slika 7.) što je vjerojatno rezultat korištenja dobro modificiranog slada. U takvome je sladu stijenka endosperma dobro razgrađena što olakšava izlaganje škroba enzimatskom djelovanju.

Nije bilo statistički značajne razlike u pH vrijednosti u svim načinima ukomljavanja (tablica 2.) zbog činjenice da je fitazi, jedinom enzimu koji sudjeluje u spuštanju pH, potrebno 8 sati za djelovanje. (Palmer, 2017.)

Razlika u boji između prvog i trećega načina ukomljavanja iznosi 0,7 EBC jedinica (Slika 26.) što je razlika nevidljiva ljudskom oku te kao takva ne predstavlja značajan faktor u konačnom proizvodu.

Razlika u gorčini između prvog i trećeg načina ukomljavanja iznosi 2,3 IBU jedinica u korist trećeg načina ukomljavanja (Slika 19.) što je vrlo vjerojatno uzrokovano vezanjem izo- $\alpha$  kiselina hmelja na proteine kojih je bilo najviše u trećem načinu ukomljavanja. (Roberts, 2016.)

Vidljiv je porast koncentracije ukupnog, visokomolekularnog, srednje molekularnog, niskomolekularnog i slobodnog amino dušika, kako u zahmeljenoj sladovini, tako i u gotovome pivu ( tablica 2.). Vjerojatan razlog tome je djelovanje proteinaza i peptidaza čiji je temperaturni optimum djelovanja postignut trećim načinom ukomljavanja. U drugom načinu ukomljavanja temperatura ukomljavanja bila je na granici djelovanja navedenih enzima zbog čega su isti bili aktivni u manjoj mjeri. Temperaturni optimum djelovanja navedenih enzima je između 47°C i 54°C, ali navedeni enzimi djeluju, u manjoj mjeri, izvan temperaturnog optimuma. U prvom načinu ukomljavanja temperatura je bila 66,5°C što je previsoko za djelovanje proteinaza i peptidaza (Palmer, 2017).

## 6. ZAKLJUČAK

Temeljem rezultata napravljenih analiza dokazano je da u procesu ukomljavanja svijetlog(baznog) ječmenog slada koji je kvalitetno modificiran nije potrebno raditi temperaturne stanke na temperaturama nižim od 66,5°C već je dovoljno napraviti ukomljavanje na navedenoj temperaturi u vremenskom trajanju od 45 minuta. Niže temperaturne stanke zahtijevaju više vremena i energije što direktno utječe na povećanje troškova proizvodnje. Također, povećanje količine nastalih proteina direktno utječe na povećanje koloidnog zamućenja ako pivo neće biti filtrirano. Povećana koncentracija visokomolekularnih i srednje molekularnih proteina može pozitivno utjecati na stabilnost pjene. Povećana koncentracija slobodnog amino dušika može pozitivno utjecati na brzinu fermentacije, što u ovom slučaju nije došlo do izražaja.

Povećanje gorčine za dvije IBU (International Bitterness Unit, međunarodna jedinica gorčine) između prvog i trećeg načina ukomljavanja, u odnosu na potrošenu energiju, potrebnu za uvođenje više temperaturnih stanki u većini slučajeva nije ekonomski isplativo.

U udjelu ekstrakta nema značajnih razlika neovisno o načinu ukomljavanja (tablica 2.), što u ovom slučaju, dovodi do zaključka da uvođenje dodatnih temperaturnih stanki nije potrebno kao ni ekonomski isplativo.



## 7. LITERATURA

1. Analytica – EBC (2004): European brewery convention (5. izdanje, 3. dopuna), Nurnberg: Verlag Hans Carl Getranke – Fachverlag, Brussels, Belgija.
2. Bamforth, C.B. (2016): Brewing materials and processes: A Practical Approach to Beer Excellence, Elsevier, London, Ujedinjeno Kraljevstvo.
3. MEBAK (2013): Wort, Beer, Beer-based Beverages: Collection of Brewing Analysis Methods of the Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission.
4. Mosher, M., Trantham, K. (2017): Brewing Science: A multidisciplinary approach, Springer Cham, Švicarska.
5. Narziss, L., (2018): Handbook of Brewing (3. izdanje), Taylor and Francis Group, Ujedinjeno Kraljevstvo.
6. Palmer, J. (2017): How to Brew, Brewers Publications, SAD.

## 8. 8. POPIS PRILOGA

### Tablice

- Tablica 1. Korištene sirovine
- Tablica 2. Skupni prikaz rezultata
- Tablica 3. Ekstrakt u sladovini
- Tablica 4. pH u sladovini
- Tablica 5. Boja sladovine
- Tablica 6. Ekstrakt u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 7. Gorčina u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 8. pH u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 9. Cjelokupni dušik u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 10. Visokomolekularni dušik u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 11. Srednje molekularni dušik u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 12. Niskomolekularni dušik u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 13. Slobodan amino dušik u zahmeljenoj sladovini
- Tablica 14. Alkohol u pivu
- Tablica 15. Gorčina u pivu
- Tablica 16. pH u pivu
- Tablica 17. Cjelokupni dušik u pivu
- Tablica 18. Visokomolekularni dušik u pivu
- Tablica 19. Srednje molekularni dušik u pivu
- Tablica 20. Niskomolekularni dušik u pivu
- Tablica 21. Slobodan amino dušik u pivu
- Tablica 22. Boja u pivu

### Slike

- Slika 1. Grafički prikaz toka proizvodnje piva (Izvor: <https://gospodarski.hr/rubrike/ostalo/prilog-broja-kako-proizvesti-pivo/>. Pristupljeno 20.07.2022.)
- Slika 2. Amilopektin (Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/%C5%A0krob#/media/Datoteka:Amylopectine.png>. Pristupljeno 14.05.2022.)
- Slika 3. Amiloza (Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Amiloza#/media/Datoteka:Amylose2.svg>. Pristupljeno 20.07.2022.)
- Slika 4. Optimalna temperatura i pH za djelovanje enzima (Izvor: <http://howtobrew.com/book/section-3/how-the-mash-works/mashing-defined>. Pristupljeno 14.05.2022.)
- Slika 5. Buchi KjellFlex K – 360 (Vlastiti izvor)
- Slika 6. Uređaj za otparavanje (Vlastiti izvor)
- Slika 7. SHIMADZU UV – 1900 (Vlastiti izvor)
- Slika 8. Anton Paar (Vlastiti izvor)

- Slika 9. TITRINO 702SM (Vlastiti izvor)
- Slika 10. Prvi način ukomljavanja (Vlastiti izvor)
- Slika 11. Drugi način ukomljavanja (Vlastiti izvor)
- Slika 12. Treće način ukomljavanja (Vlastiti izvor)
- Slika 13. Ziemann uređaj za proizvodnju piva (Vlastiti izvor)
- Slika 14. Prosječni udio ekstrakata u sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 15. Prosječni pH u sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 16. Prosječna vrijednost boje izražene u EBC jedinicama (Vlastiti izvor)
- Slika 17. Prosječan ekstrakt u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 18. Prosječna gorčina u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 19. Prosječan pH u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 20. Prosječan udio ukupnog dušika u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 21. Prosječan udio visokomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 22. Prosječan udio srednje molekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 23. Prosječan udio niskomolekularnog dušika u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 24. Prosječan udio slobodnog amino dušika u zahmeljenoj sladovini (Vlastiti izvor)
- Slika 25. Prosječan udio alkohola u pivu (Vlastiti izvor)
- Slika 26. Prosječna gorčina u pivu (Vlastiti izvor)
- Slika 27. Prosječan pH piva
- Slika 28. Prosječni udio ukupnog dušika u pivu (Vlastiti izvor)
- Slika 29. Prosječni udio visokomolekularnog dušika (Vlastiti izvor)
- Slika 30. Prosječni udio srednje molekularnog dušika (Vlastiti izvor)
- Slika 31. Prosječni udio niskomolekularnog dušika (Vlastiti izvor)
- Slika 32. Prosječni udio slobodnog amino dušika (Vlastiti izvor)
- Slika 33. Prosječna vrijednost boje u pivu (Vlastiti izvor)