

# Mjerne tehnike i praćenje procesa izrade sladovine, fermentacije i odležavanja u proizvodnji piva

---

Đaković, Marin

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:782378>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marin Đaković

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marin Đaković

ZAVRŠNI RAD

**Mjerne tehnike i praćenje procesa izrade sladovine, fermentacije i  
odležavanja u proizvodnji piva**

**Voditelj rada:**

prof. dr. sc. Nenad Bolf

**Članovi ispitnog povjerenstva:**

prof. dr. sc. Nenad Bolf

doc. dr. sc. Željka Ujević Andrijić

doc. dr. sc. Anita Šalić

*Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Nenadu Bolfu na velikom strpljenju i povjerenju tijekom izrade ovog rada.*

*Posebno zahvaljujem Katarini Jovanović na velikoj podršci i pomoći, bez čije potpore nebi bilo lako. Također, želim zahvaliti svojoj obitelji na podršci i potpori.*

## SAŽETAK

U ovome radu izložena je kratka pozadina, objašnjenje tehnika mjerenja parametara, opis proizvodnje sladovine i njenog fermentiranja, te konačno odležavanja. Svaki od tih segmenata uključuje interdisciplinarnu pristupe kako bi sam proces postao definiraniji i dao nam veću kontrolu nad svim navedenim faktorima izrade. Poznavanje sirovina je od ultimativne važnosti, kako bi nadolazeći tehnološki procesi bili što lakše i efikasnije izvedeni. Pri izradi sladovine, razumijevanje biokemijskih procesa iza slađenja i njenog ukomljavanja je druga najbitnija stavka, gdje proizvod dobije svoju glavnu odliku kvalitete. Bez sladovine koja zadovoljava kriterije dobrog omjera fermentabilnog i nefermentabilnog udjela šećera, te udjela proteina, nema ni krajnje kvalitete produkta. U procesu fermentiranja ključno je paziti na parametre koje odgovaraju optimalnim uvjetima rada kvasca, kako bi maksimalno smanjili razvijanja nepoželjnih nusprodukata izazvanih stresom stanice. Takve reakcije uglavnom uključuju dovoljan prinos nutrijenata, pogodnu temperaturu i pH<sup>+</sup> smjese, adekvatnu aeriranost sladovine, te dobar genotip i fenotip vrste kvasca stabilnog metabolizma koji neće biti sklon mutacijama. Odležavanje je proces koji danas uključuje nešto drugačiju definiciju od one povijesne. Nekad je odležavanje bilo isključivo temeljeno na gravitacijskom sedimentiranju iz sladovine flokuliranih stanica, tvrdih smola i ostataka proteina iz stabiliziranog koloida, te njenom odstajanju nad sedimentom, čime bi se kemijski sastav promjenio reakcijama razlaganja tanina i oslobađanjem estera iz mase kvasca. Danas se služimo centrifugalnim sedimentacijama i mikro-filtracijama kako bi nastali produkt što brže zadovoljio kriterije proizvoda.

*Ključne riječi: sladovina, fermentacija, fermentabilni i nefermentabilni šećeri, proteini, kvasac, hmelj, voda, odležavanje, mjerenje i vođenje procesa, pivo*

# Sadržaj

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. UVOD.....</b>                             | <b>1</b>  |
| <b>2. OPĆI DIO.....</b>                         | <b>2</b>  |
| 2.1 Općenito o proizvodnji piva.....            | 2         |
| 2.1.1. Slad i proces slađenja.....              | 2         |
| 2.1.2. Voda i minerali.....                     | 4         |
| 2.1.3. Hmelj.....                               | 4         |
| 2.1.4. Kvasac.....                              | 6         |
| 2.1.5. Aditivi.....                             | 8         |
| 2.2. Opis i vođenje tehnološkog procesa .....   | 10        |
| 2.2.1. Priprema slada.....                      | 10        |
| 2.2.2. Priprema vode .....                      | 10        |
| 2.2.3. Ukomljavanje.....                        | 11        |
| 2.2.4. Recirkulacija i cijedenje.....           | 12        |
| 2.2.5. Kuhanje .....                            | 15        |
| 2.2.6. Bistrenje, hlađenje i aeriranje .....    | 16        |
| 2.2.7. Fermentacija.....                        | 19        |
| 2.2.8. Odležavanje .....                        | 22        |
| <b>3. MJERNA TEHNIKE I ANALIZATORI .....</b>    | <b>24</b> |
| 3.1. Mjerene tehnike pri izradi sladovine ..... | 24        |
| 3.2. Mjerne tehnike u fermentaciji .....        | 27        |
| 3.3. Mjerne tehnike u odležavanju.....          | 28        |
| 3.4. Analiza kvalitete.....                     | 30        |
| <b>4. ZAKLJUČAK .....</b>                       | <b>33</b> |
| <b>5. LITERATURA.....</b>                       | <b>34</b> |

## 1. UVOD

Kroz tisućljeća, izrada napitaka od žitarica se u suštini nije puno promjenila. Slaba alkoholna pića općenito dijele turbolentnu povijest, no svima je jedna stvar zajednička – svaki od tih proizvoda je nastao iz potrebe. Pivo je svojim sastavom idealan proizvod povijesti još otkada su problemi društva bili najviše vezani uz sanitarne i prehrambene prepreke svakodnevnice. Zbog svojeg velikog potencijala hranjivosti i relativno malog udjela alkohola, pivo dobija zaslužno mjesto u prehrambenoj piramidi. Nekada se pivo radilo primitivnijim načinima, no logika iza procesa je ostala ista. Ekstrakcija hranjivih tvari vodom iz odstajalog, neiskorištenog djela žetve sa ciljem da se iskoristi sav mogući izvor hrane i time ne prepusti propadanju, pokazalo je veliki potencijal više-mjesečnog skladištenja. Kasnije kroz povijest, ono je dobilo novi status u društvu, gdje to više nije samo način pohrane nutrijenata, već i sredstvo „društvenog katalizatora“. Ono je toliko dobilo na važnosti da su tadašnje njemačke zemlje 15. st. donijele zakone o čistoći pive (*njem. Reinheitsgebot*) [1], koji su strogo određivali dozvoljene sastojke i cijenu proizvoda, kako bi što više omogućili dostupnost i kvalitetu svim stanovnicima zemlje. Današnje razumijevanje sastojaka, tehnološkog procesa i njegovog skladištenja je nemjerljivih razmjera u odnosu na nekadašnje poglede i dostupne činjenice, no usprkos pozadinskoj znanosti, do usavršavanja procesa bile su potrebne stotine generacija pivara koji su isključivo svojim iskustvenim znanjem doveli do onoga što danas prepoznajemo kao nama poznati napitak. Ni hmelj nije bio vječno sastavni dio piva, dok je danas nezaobilazna stavka svake kontrole senzoričke kvalitete. Divlje kvasce zamjenili su kvasci predvidivog metabolizma i minimalne tendencije genetskog mutiranja. Slađenje žitarica više nije prepušteno slučaju, već je postao kontrolirani tehnološki proces koji u svakom svojem segmentu ima pozadinu. Voda je dobila novi značaj u pivarenju, te je postala centralnim predmetom diskusije o kvaliteti proizvoda. Uz sve novije metode možemo dobiti uvid i u najmanji dio metaboličkog puta neke stanice kvasca, čime se postiže vrhunska kvaliteta, a s time i novi pogledi na sve ono što se do sada uzimalo kao samo još jedna stavka svakodnevnice. S ovim radom nadam se približiti čitatelju koliko duboko znanost o pivi može doprijeti i koliko znanje o onome što svakodnevno konzumiramo može pridonijeti većoj kvaliteti života.

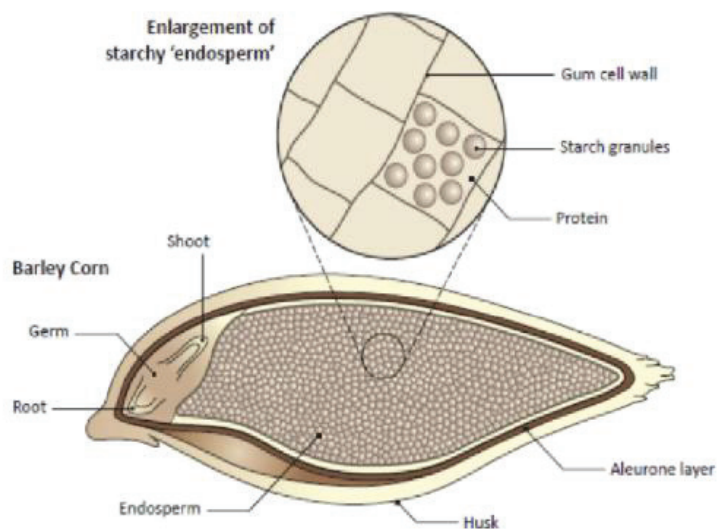
## 2. OPĆI DIO

### 2.1. Općenito o sirovinama i proizvodnji pive

#### 2.1.1. Slad i proces slađenja

U svojoj osnovi, slad je glavni kruti sastojak u proizvodnji piva koji je procesom slađenja zrnja žitarica razvio potrebite enzime za razlaganje kompleksnih šećera i proteina. Glavna podjela je na osnovni i specijalni slad, gdje osnovni sadrži većinski udio enzima, potrebnih za konverziju kompleksnih šećera u jednostavnije oblike pogodne za metabolizam kvasnih stanica. Specijalni slad sadrži većinski udio čimbenika boje, okusa i arome, čiji su osnovni konstituenti „Millardovi produkti“, kompleksni šećeri i proteini, koji su zaostali nakon intenzivne termičke obrade u posljednjoj fazi slađenja. Kao sladne žitarice, najčešće se primjenjuju razne sorte ječma, pšenice i raži. Sorta žitarice je često određena podnebljem u kojem je uzgojena i time okarakterizirana kao glavna sastavnica nekog pivskog stila. Primjerice, izvorno češki pivski stil „Pilsner“ je poznat po tome što je nastao koristeći ječam isključivo iz okolice grada „Pilzen“, po kojemu je i slad dobio naziv, a ujedno naziv samog stila. [4]

Za razumijevanje porijekla šećera, proteina i njihovih mehanizama pretvorbe potrebno je razumjeti strukturu samog zrna. U pojednostavljenom smislu od važnosti su ljuska i endosperma. U endospermi nalazi se tzv. *matrix* protein u kojemu su sadržani kompleksni šećeri koji se kroz proces slađenja i ukomljavanja raznim enzimskim mehanizmima pretvaraju u fermentabilni oblik. Ljuska je bitan dio kasnije separacije sladovine koja sačinjava i održava strukturu nastalog filtarskog kolača iz tropa sladovine. Slad se procesom mljevenja dovodi do te raspodjele veličine čestica da se u uzorku mogu raspoznati potpuno otvorene ljuske, djelomično otvorene i tek



Slika 1; prikaz ječmenog zrna



napuknute. Bitno je napomenuti da slad nikako ne smije biti fino usitnjen upravo zbog kasnijeg nastajanja filtarskog kolača koji svojom strukturom određuje učinkovitost cjelokupne separacije. [4][11]

<sup>1</sup>Procesom prisilnog klijanja pivske žitarice u određenim uvjetima, temperature, vlage i protoka zraka, proizvodi se sladna sirovina, čiji je glavni zadatak zadovoljiti kriterije količine enzimske aktivnosti (npr. dijestatika), udjela proteina, te udjela i odnosa fermentabilnog i nefermentabilnog dijela šećera. Cijeli proces slađenja može se podijeliti u tri faze: močenje zrnja, germinacija i sušenje termičkom obradom. Prilikom močenja zrnja dolazi do inicijacije rasta zrna za čiju uspješnost je najbitniji odabir količine vlage. Tijekom močenja mora se paziti da se žitarica ne ispuni previše vodom, kako ne bi došlo do gubitka jednog dijela razvijenih enzima, dok u slučaju premalog udjela vode u žitarici klijanje neće biti odgovarajuće brzine, što će ponovno dovesti do smanjenje dosega reakcije konverzije šećera prilikom ukomljavanja. Osim količine vlage, važan faktor je i kvaliteta samog zrna, što je uvjetovano kakvoćom žetve, iznosa relativne umjetne abrazije zrnja i udjelom proteinskog djela. Tijekom germinacije dolazi do klijanja uslijed odgovarajuće količine vlage, što dovodi razvijanja enzimske aktivnosti  $\alpha$ -amilaze,  $\beta$ -amilaze, protoaza, glukanaza. S obzirom na strukturu zrna ječma, već spomenuta dva najbitnija strukturalna faktora su endosperma i ljuska zrna. Jednom kad se abraziranjem i močenjem postigne potrebna količina vlage, endosperma, sastavljena od šećernih jedinica u

1. *Tablica; sladovi raznih žitarica u odnosu sa udjelom enzima i njihovim diastatskom snagom izraženom u °L*

| Grain        | $\alpha$ -amylase <sup>b</sup> | $\beta$ -amylase <sup>c</sup> | Diastatic power <sup>d</sup> | Protease <sup>e</sup> | Lipase <sup>f</sup> | Reference |
|--------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|---------------------|-----------|
| Barley       | 134                            | 12.0                          | 264 <sup>b</sup>             | 9.4                   | 3.0                 | 14,47     |
| Wheat        | 119                            | 23.5                          | 355 <sup>b</sup>             | 8.9                   | 6.9                 | 14,47     |
| Oat          | 48                             | 2.7                           | n.r.                         | 11.9                  | 29.5                | 47        |
| Rye          | 224                            | 8.3                           | n.r.                         | 27.3                  | n.r.                | 36        |
| Rice         | 37                             | 1.9                           | 225                          | n.r.                  | n.r.                | 16        |
| Buckwheat    | 19.9                           | 24.7                          | 72                           | 5.5                   | n.r.                | 58,60     |
| Sorghum      | 40                             | 2.0                           | 89                           | n.r.                  | n.r.                | 1         |
| Proso millet | 124                            | 1.8                           | n.r.                         | n.r.                  | n.r.                | 74        |
| Teff         | 68                             | 7.5                           | n.r.                         | n.r.                  | n.r.                | 25        |

<sup>1</sup> a, b, c, d, e i f indeksi odnose se na korespondentne mjerne jedinice koje su dobivene oslobađanjem p-nitrofenola iz slada brzinom reakcije od 1  $\mu$ mol/min

proteinskom matriksu, postaje hrana za rast pri klijanju zrna čime se gubi mali udio iskoristivog šećera za proizvodnju. Istovremeno, klijanjem nastaju navedeni enzimi, čija količina ovisi o količini alkohola koji se planira proizvesti jer bez fermentabilnih šećera nema ni reakcije alkoholnog vrenja. Po završetku germinacije provodi se sušenje i moguća termička obrada, što ovisi o zahtjevima o potrebi za specifikacijama slada. Za proizvodnju osnovnog slada potrebno je provesti sušenje na sobnoj temperaturi kako bi se sačuvali svi enzimi. Pri sušenju na visokim temperaturama gubi se aktivnost, ali dobiva na udjelu melanoidina, transformaciji nekih sulfidnih spojeva i prekursora nekih dušikovih oksida iz dušika vezanog u aminokiselinama i proteinima. Mjerenje dijastatske snage je izraženo u Linter/ °L i definirana je sa 100 °L koji u 0,1 mL ekstrakta slada konvertira dovoljno šećera da reducira 5 mL „Fehlingovog reagensa“.

[5][4]

### **2.1.2. Voda i minerali**

Udjelom najveći sastavni dio, čak i do 95 %, njen sastav i pH u direktnoj su vezi sa kvašćevim metabolizmom i propagacijom, s enzimskom aktivnošću, s percepcijom pojedinih okusa poput gorčine i slatkoće, kao i općoj kvaliteti okusa same vode. U proizvodnji piva se najčešće koristi voda iz gradskih crpilišta, čime već u prvoj razini regulira pH, udio minerala iskazan karbonatnom, prolaznom i ukupnom tvrdoćom, udio nusproizvodnih tvari i minerala, dozvoljena razina mikrobiološke aktivnosti i udio otopljenog zraka, kao i dodatnih plinova. Izuzev crpilišta, pivovare rjeđe mogu imati i svoje bunare što može biti velika prednost ako je kvaliteta vode visoka na nalazištu. [1][12]

Osim za sladovinu, voda se koristi i za razrjeđivanje, pranje i pasterizaciju. Takva tehnička voda ne treba zadovoljavati stroge kriterije kao kod obrade sladovine. Parametri vode bitni za proizvodnju piva najviše su vezani uz njenu alkalnost, tj. mineralni sastav u odnosu sa njezinim pH i njihovim puferskim kapacitetom. Nastalim enzimima pogoduje nešto niži pH, otprilike 5,2 do 5,6, pri čemu se izlazak iz tog intervala očituje kao manji stupanj konverzije kompleksnih u fermentabilne šećere. Nešto viši pH pogoduje kiselim specijalnim tamnim sladovima koji povratno zakiseljavaju smjesu za ukomljavanje na spomenuti interval. Udio otopljenog CO<sub>2</sub> je također jedan od faktora kiselosti, s obzirom da stvara slabu karbonatnu kiselinu. Osim pH, udio određenih minerala uvelike određuje percepciju slatkoće i gorčine, odnosno, omjer sulfata i klorida kalcijevih iona u korist sulfata će potencirati i izoštriti gorčinu,

dok će suvišak klorida zaobliti gorčinu i potencirati slatkoću. Dovoljne količine cinka i magnezija će pripomoći propagaciji i metabolizmu šećera tako što će stanice kvasca imati zadovoljavajući unos esencijalnih minerala potrebnih za fiziološke funkcije takve stanice. Na i K su također važni čimbenici u okusu, a ponajviše slatkoće u kombinaciji s kloridima. U vodi se nalazi niz popratnih minerala i metala u tragovima koji, također, definiraju kvalitetu vode. Veći udio željeza ponekad može stvarati velike probleme u proizvodnji, a pogotovo u fermentaciji, stoga se u tim slučajevima pribjegava njegovoj precipitaciji u ukomljavanju i kuhanju. Ovisno o stilu piva odabire se tretman vode mineralima s obzirom na analize lokalnih laboratorija. Kako je stil piva okarakteriziran određenoj regiji, tako udio i omjer otopljenih minerala mora biti odgovarajući da bi postigli vjerodostojnost pivskog stila. Pivovare često znaju rabiti ionske izmjenjivače i reverznu osmozu kako bi dobili kemijski što čišću vodu, a time i povoljnije uvjete. [5][1][12]

2. *Tablica; prikaz različitih mineralnih profila voda sa različitih geografski područja*

|                        | Burton      | London     | Dublin     | Munich     | Pilsen    | Melbourne   |
|------------------------|-------------|------------|------------|------------|-----------|-------------|
| Beer Type              | Pale Ale    | Mild Ales  | Stout      | Dark lager | Pilsner   | Light Lager |
| Sodium                 | 30          | 24         | 12         | 1          | 3         | 4.5         |
| Magnesium              | 62          | 4          | 4          | 19         | 1         | 0.8         |
| Calcium                | 268         | 90         | 119        | 80         | 7         | 1.3         |
| Chloride               | 36          | 18         | 150        | 1          | 5         | 6.5         |
| Sulphate               | 638         | 58         | 15         | 5          | 6         | 0.9         |
| Carbonate              | 141         | 123        | 20*        | 164        | 9         | 3.6         |
| Nitrate                | 31          | 3          | -          | 3          | -         | 0.2         |
| Total Dissolved Solids | <b>1226</b> | <b>320</b> | <b>320</b> | <b>273</b> | <b>31</b> | <b>25</b>   |

\* = Bicarbonate ( $\text{HCO}_3$ )

Tvrdoća vode karakterizira sastav minerala danog uzorka vode, a dijeli se na: trajnu tvrdoću, prolaznu tvrdoću i ukupnu tvrdoću, karbonatnu tvrdoću i tvrdoću određenu magnezijevim mineralima. Primjerice, sulfati, kloridi i nitrati spuštaju pH vodene otopine i sladovine, dok se magnezijevi i kalcijevi ioni vežu na konstituente unutar sladovine poput fosfata, fitinske kiseline i nekih organskih kiselina, i time također otpuštaju  $\text{H}^+$  ione u otopinu,

čime se snižava pH. Takve reakcije magnezija i kalcija direktno utječu na niz stavki kod proizvodnje kao što su povećana fermentabilnost, povećanje brzine separacije pri izdvajanju sladovine kroz filtarska kolač, smanjena ekstrakcija tanina i silikatnih spojeva, dok mogu utjecati i na iskoristivost izomeriziranih jedinica gorčine kojoj pogoduje viši pH<sup>+</sup>. Druga bitna stvar mineralnog sastava je direktno korelirana s puferskim kapacitetom vode, koji se često zanemari u analizi vode, s obzirom da bez znanja o kapacitetu pufera pH iznos ne znači puno. Cijela teorija koja stoji iza ukomljavanja leži upravo o načinu koliko dobro se manipulira pH<sup>+</sup> smjese. Loše ukomljavanje može dovesti do neželjenih nusaroma i okusa, ali i velikog pada stupnja konverzije. Treća bitna stvar jest da mineralni sastav, osim kod ukomljavanja, ima veliku važnost i u metabolizmu šećera procesom glikolize, fosforilacije i karbonskog dijeljenja. Riječ je o prvim fazama fermentacije kada još ne nastaje etanol. Glavni mineralni čimbenici su Mg<sup>2+</sup> i Zn<sup>2+</sup> koji aktivno sudjeluju u enzimskim reakcijama. [5][1]

### 2.1.3. Hmelj

Sirovina koja je povijesno tek kasnije ušla u svijet proizvodnje piva danas je nezaobilazni sastojak svakog piva. Hmelj je nekad bio isključivo kao prirodni konzervans za *Lactobacillus* koji je djelomično inhibirao kvarenje piva, a danas je tu zbog svojeg velikog spektra okusa gorčine i njegovih prirodnih aroma. Botanički klasificiran kao *Humulus lupulus*, biljka koja raste u visinu i do 5 - 6 m, sačinjena je od svog korijenja, stabljike, lišća i, od najveće važnosti, cvijeta biljke, što je u svojoj suštini sirovina koju zovemo hmeljem.

U samom cvijetu nalaze se tvrde i mekane smole, okarakterizirane po svojoj topljivosti u heksanu, gdje tvrde smole nisu topljive, dok mekane jesu. Upravo mekane smole sadrže sve ono što se smatra od najvećeg značenja sastavnica hmelja za proizvodnju piva.  $\alpha$ -kiseline,  $\beta$ -kiseline i esencijalna ulja su glavni čimbenici u percepciji gorčine i raznolikosti arome. U  $\alpha$ -kiseline ubrajamo tri osnovne forme: humulon, co-humulon i ad-humulon. Njih smatramo prevladavajućim faktorima gorčine i okusa.  $\beta$ -kiseline su generalno nešto nepoželjnije u traženom profilu okusa, jer nakon svoje izomerizacije procesom iskuhavanja znaju razviti okuse



*Slika 2; prikaz peletiziranog hmelja*

neprivlačnog karaktera u većini slučajeva. Među njih ubrajamo lupulon, co-lupulone i ad-lupolone. Od esencijalnih ulja raspoznajemo tri glavne skupine: hidrokarbonski spojevi, spojevi kao glavni prenosioci kisika, te spojevi bazirani sa sumporom. Hidrokarbonski spojevi su najviše zaslužni za većinu dobivenih aroma iz hmelja i sačinjavaju nešto manje od 75 % ukupne arome. Postoje četiri glavna predstavnika: humulon, myrcene, farnasen i kariofilen, kao i alkoholi kao prenosioci kisika zaslužni za preostalih 25 % arome: linalool i geraniol. Raspoznajemo više od 250 različitih sorta hmelja, a grubo ih dijelimo na hmelj za gorčinu, okus i aromu. [3][5]

Bitno je istaknuti kako postoji kvantifikacija jedinica gorčine kroz mjernu jedinicu IBU, što je akronim od eng. *International Bitterness Unit* i direktna je poveznica sa udjelom iso-humulona kao glavnog činioca gorčine. Ta mjerna jedinica je jedna od sastavnih parametara koja opisuje pivo i vrlo je bitna za ukupnu sensoriku, a označava korelaciju sa mg/L. [3]

Procesi obrade hmelja uvelike daju karakteristike proizvodu, kolika se kompleksnost okusa želi postići, kao i iskoristivost, to jest gubitak sladovine apsorbirane u njegovom čvrstom ostatku. Dva najbitnija produkta obrade biljke hmelja su T90 i T45 tip, svaki sa svojom namjenom. T90 je cjelovita stabljika, lišće i cvijet peletizirano u umjereno hlađenim uvjetima kako bi maksimalno spriječili degradaciju  $\alpha$ -kiselina, s obzirom da su termički nestabilne te podložne oksidaciji dajući neugodne arome kvarenja. T45 je sačinjen isključivo od cvijeta koji se mljevenjem i obradom na -30 °C izdvaja od jednog dijela tvrde tvari cvijeta što iza sebe ostavlja koncentriranu smolu izrazitog karaktera i profila okusa. [3][12]

#### 2.1.4. Kvasac

*Saccharomyces cerevisiae* je pivski kvasac pretežito korišten u izradi *ale* piva, poput APA-e (eng. *American pale ale*) i IPA-e (eng. *Indian pale ale*), koji su predstavnici cijele obitelji *ale*ova. Nasuprot *ale*ovima, razlikujemo lagere od ostatka stilova (njem. *lagern* – skladištiti) temeljno po potkategoriji vrste kvasaca. *Saccharomyces carlsbergensis* okarakterizirani su manjim brojem stanica po mL i nižoj temperaturi vrenja od 10 do 12 °C, za razliku od *ale* kvasaca koji fermentiraju na sobnoj temperaturi 20 - 23 °C. Divljim kvascima često nazivamo sve mikroorganizme koji imaju sposobnost metaboliziranja šećera u nekoj mjeri, najčešće u različitoj atenuaciji od klasičnih vrsta pivskog kvasca. To stvara problem potencijalnih gljivičnih infekcija cijele proizvodnje što je ujedno i glavni razlog potrebe za velikom razinom dezinfekcije i sterilnosti procesne opreme i posuđa. Među velikim brojem divljih kvasaca ubrajamo i manje

primjenivani *Brettanomyces lambicus* koji je zaslužan za proizvodnju slavni belgijskih piva, koji također ima određeni broj svojih podvrsti. [5]

Svaka izvedba pivskog kvasca u velikoj mjeri određuje stil. Sa svojim specifičnim metabolizmom svake skupine, utječe na profil okusa posljedično metabolizaciji, kao što su otpuštanje estera, tiola, diacetila, čija se uloga mijenja od izvedbe do izvedbe. Nekad će u nekom stilu biti nepoželjni, dok su drugi poželjni nusprodukti fermentacije sladovine bitan čimbenik u kvaliteti piva. Pivski kvasac je tipično veličine čestica 3-10  $\mu\text{m}$  i najčešće je okruglog oblika. Sva odstupanja od klasične morfologije mogu indicirati na veliki stres pri metabolizmu ili nastale mutacije posljedično prikupljanju kvasca po završetku fermentacije za nove šarže. Osim morfologije, fizikalno-kemijska svojstva kvasca se daleko razlikuju od vrste do vrste. Flokulacija stanica je genska karakteristika kvasca koja je podložna mutaciji, a određuje suspendiranost i time posljedično i atenuaciju pri fermentaciji sladovine. Također, sposobnost kvasca da metabolizira šećere u određenoj mjeri opisana je pojmom atenuacije, koja je također podliježe genetskim promjenama izazvanih mutacijom genskih nizova. Mogućnost kvasca da probavi određen šećere također je određeno vrstom, gdje primjerice lager kvasci mogu kompletno fermentirati sav udio rafinoze, dok, nasuprot tome, *ale* kvasci mogu razbiti veze između melibioze i fruktoze te zbog toga i fermentirati fruktozu. Velike mutacije uzrokovane stresom mogu smanjiti sposobnost kvasca da fermentira uobičajene trisaharide nađene u sladovini. Pravilna upotreba kvasca može presuditi kvaliteti piva, stoga je nezaobilazna stavka za kvalitetnu fermentaciju i stvaranja okusa. [2][17]

### **2.1.5. Aditivi**

Aditive dijelimo na ekstrakte hmelja, ekstrakte slada, dodatke specijalnih sladova, dodatke termostabilnih enzima u ukomljavanju sa svrhom pospješivanja separacije ili konverzije, posebnih dodataka određenog tipa šećera (npr. laktoze, maltodekstroze) te pomagala kvascu za propagaciju, fermentaciju, suzbijanje neželjenih aromatičnih nusprodukata metabolizma kvašćevih stanica, bistrila i sredstva protiv pjenjenja. Ekstrakti hmelja pomažu kod povećanja efikasnosti proizvodnog procesa, s obzirom da tvrdi ostaci hmelja imaju popriličnu sposobnost upijanja vode pri separaciji. Većina ekstrakata hmelja je sastava iso- $\alpha$ -kiselina sa svrhom doradivanja gorčine i okusa. To su heksa-ekstrakti i tetra-ekstrakti koji imaju sličnu ulogu kao i iso-ekstrakti samo što imaju suptilniji utjecaj na produkt, kao i heksa-ekstrakti koji povećavaju

stabilnost  $\alpha$ -kiselina na svjetlu. Postoje i hmeljni ekstrakti sa ciljem poboljšanja arome hmelja, jer neki stilovi zahtijevaju fokus na aromu i balans okusa, a manje na gorčinu. Ekstrakti slada se najviše rabe za doradu originalnog udjela šećera u sladovini sa svrhom povećanja fermentabilnih šećera kako bi mogli dobiti gušću sladovinu pogodnu za stil ili razrjeđenje. Ječmeni ekstrakti su najčešći u toj ulozi i karakteristično je da su svi sladni ekstrakti viskozni. Glukoзни i saharozni sirupi imaju isti zadatak kao i ječmeni sladni ekstrakti. Osim tekućih sladnih dodataka, razlikujemo i specijalne sladove koji su prošli kroz proces prženja, potpunog karameliziranja ili karboniziranja na temperaturama višim od 260 °C. Kako su proteini degradirali na visokim temperaturama, takvi sladovi specijalne primjene se najviše koriste u korekciji boje i okusa. Osim slađenih žitarica, primjenjuju se i prešane žitarice, najčešće zobi i pšenice, koji sa svojim velikim udjelom proteina i gelatiniziranošću, nakon tretmana prešanja na temperaturi od 85 °C, u konačnom produktu prividno zgušnjavaju proizvod, to jest povećavaju „tijelo“ piva.

Enzimi se u pivarstvu najviše koriste u velikim pivovarama kojima je svrha isključivo poboljšavanje efikasnosti. Dodavanje glukanaza i proteaza povećava se separacija od tropa, a i bistrenje smjese. Enzimi amilaza služe najviše za povećanje stupnja konverzije. Takvi enzimi se dobivaju iz termostabilnih bakterija jer bi se, u protivnom, brzo degradirali kroz ukomljavanje.

Određene vrste šećera također utječu na „tijelo“ piva, odnosno doživljaj teksture u smjeru podatnosti i nježnosti. Primjerice, maltodekstrin ima samo 20 % fermentabilnog šećera, dok je ostali 80 % isključivo tu za promidžbu teksture. Dodatkom laktoze pojačava se doživljaj slatkoće i teksture zajedno, što je generalno praksa u tamnijim stilovima piva. Postoje razni pripravci za poboljšanje kvašćevih stanica prirodnog porijekla, ali uglavnom se sve svodi na dovoljan dotok esencijalnih minerala koji se mogu korigirati i pravilnim tretmanom vode za ukomljavanje. [6]

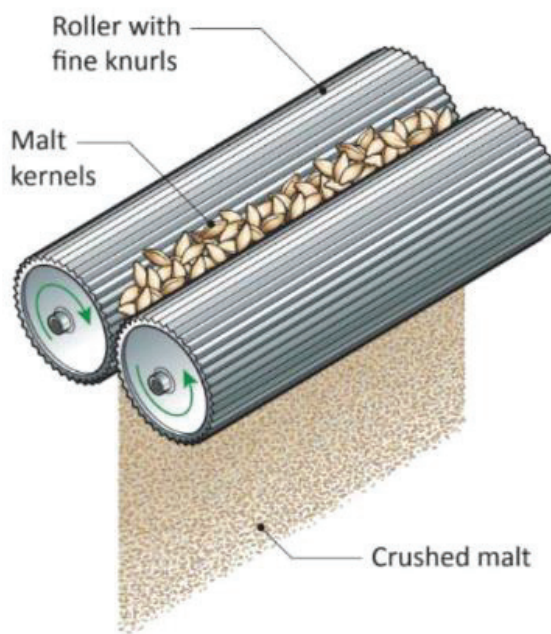
Najpoznatiji nusproizvodi kvasca su acetalni aldehidi i diacetilni ketoni, koji sa svojim karakterističnim aromama i okusima, a malim graničnim vrijednostima osjeta (svega par ppb-a), mogu pokvariti cijeli doživljaj piva preuzimajući u potpunosti okus. Takve arome i okusi se u praksi izbjegavaju pa se time pribjegava dodacima i enzimskim pripravcima kako bi se te nastale molekule što bolje metabolizirale nazad uz pomoć kvasca i korigiranja temperature fermentacije. Bistrenje se uglavnom provodi postfermentacijskim dodavanjem silikata koji funkcioniraju na načelu elektrostatskog vezanja stanica kvasca, uz čiju pomoć lakše flokuliraju na dno fermentora. Takvim načinom može se ubrzati sedimentacija suhog ostatka fermentirane sladovine čak i za nekoliko tjedana, pretežito kod bistrih lager stilova. [12] [5]

## 2.2. Opis i vođenje tehnoloških procesa

### 2.2.1. Priprema slada

Prije početka procesa izdvajanja sladovine iz slada i vode, potrebno je adekvatno pripremiti slad. Pod time se misli na usitnjavanje mljevenjem, pravilno skladištenje u dobrim uvjetima vlažnosti i temperature, kao i nastojanjem da se ta heterogenu smjesa različitih sladova učini što homogenijom kako bi ostatak procesa proizvodnje bio što kvalitetniji. Neke pivovare znaju dodavati ljuške rižinog podrijetla sa ciljem da se pojača struktura filtarskog kolača, čime se direktno utječe na relativnu poroznost kolača. [13]

Usitnjavanje mljevenjem je standardno tretiranje sirovog slada kako bi dobili odgovarajuću raspodjelu veličine čestica. Zrno slada mljevenjem mora napuknuti toliko da voda može prodrijeti i ekstrahirati proteinski matriks šećera iz endosperme zrna što efikasnije, a opet sačuvati strukturu ljuske koliko god je to moguće, kako bi kasniji proces „lauteringa“ (odvajanja sladovine od tropa) bio što brži i kvalitetniji. Naravno, u praksi je nemoguće postići savršenu raspodjelu čestica pa je opće pravilo da je minimum finoće mljevenja postignut kada svako zrno uzetog uzorka iz mljevene smjese ima napuklu ljusku. Usitnjavanje se provodi kroz mlin koji je sastavljen od predakumulacijske zdjele, magneta postavljenih iznad valjaka sa svrhom osiguranja od neželjenih metalnih čestica koje su mogle nehotice završiti u industrijskom procesu sladenja, te spremnika za sakupljanje mljevenog slada. Često se spremnik nalazi pored mlina pa se za transport koriste „augeri“, odnosno spiralne pužnice koje sekundarno usitnjavaju slad, što se svakako mora uzeti u obzir pri dizajnu. Osim mljevenja, bitan je i redosljed kojim podvrgavamo slad usitnjavanju. Naime, neke ječmene sorte imaju veće udjele proteina u endospremi, što bi preranim usitnjavanjem dovelo do velike gelatinizacije jednog dijela smjese, a to dovodi do



*Slika 3; dvovaljak mlina*



manjeg prodora vode u jedan segment i s time gubitak na efikasnosti. Teži se ravnomjernoj raspodjeli svih konstituenata smjese sladova danog recepta s iznimkom da se prvo usitnjava slad manjeg proteinskog udjela. [4] [13]

Bitno je napomenuti da je navedeno karakteristično za pivovare manjih i srednjih veličina, dok se u velikoj industriji, zbog svoje velike izvedbe i težnje za efikasnošću, neki segmenti rade drugačije. Primjerice, unutar velike industrije sastojci nisu svi u potpunosti slađeni, ponekad se koristi i kukuruzna krupica kao izvor škroba. Povrh toga, u velikoj mjeri se koriste i izuzetno termostabilni enzimi amilaza, glukanaza i proteaza bakterijskog i gljivičnog porijekla. Izvedba lauterina je često drukčija zbog prednosti velikog prostora, gdje efikasnosti znaju, ironično, prijeći i 100 %. To je moguće samo ako je očito unijeta greška u danim specifikacijama količine šećera pri evaluaciji sladne sirovine, ali također izvedba lauterina u velikim pogonima je preko ogromne površine, gdje je sam filterski kolač dosta tanak, s čime se postiže brz i efikasan kontakt vode sa usitnjenim sladom i drugim šećernim sirovinama. Pri skladištenju slada bitno je osigurati optimalnu vlažnost i temperaturu kako ne bi došlo prvenstveno do kvarenja sirovine, a i kod prevelike vlažnosti može doći do gubitka enzimske aktivnosti u osnovnim sladovima. [13]



*Slika 4; mljeveni slad*

### **2.2.2. Priprema vode**

Tretiranje vode prethodno proizvodnom procesu izrade piva je jedan od ključnih faktora u cijeloj izvedbi, što će u konačnici najviše utjecati na kvalitetu i efikasnost šarže. pH vode i njen puferski kapacitet su glavni faktori. Ta dva faktora su određena mineralnim profilom vode. Prije početka pripreme prvo se mora ustanoviti kvaliteta vode. Iz javno dostupnih izvještaja analize vode potrebno je ustanoviti je li zaista početni iznos minerala onakav kako analiza tvrdi. Veće pivovare imaju laboratorije u kojima se svakodnevno provjerava mineralni sastav, dok se one manje oslanjaju na javne podatke iz nekog od laboratorija za analizu vode. Nakon toga utvrđuje se potreban iznos minerala za određen stil. Jednom kada znamo sastav, voda se doraduje s minerala dok se ne dostigne željena koncentracija. Uglavnom se cilja da pH vode bude 5,6 do

6,0, tako da se kod ukomljavanja možemo postići interval između 5,2 i 5,6. Ovaj interval se odnosi na kombinaciju vode i slada pa se kao takvo mora uzeti u obzir. [1]

Postoji veliki broj pivskih stilova, pri čemu je teško sumirati sve u jednostavnu formulu, no unatoč tome može se razmotriti koje soli se dodaju za modifikaciju i kako ukloniti neželjene ione. Već je spomenuto da su  $Mg^{+}$  i  $Ca^{+}$  kationi najbitniji za ukupnu tvrdoću. Bikarbonati anioni čine prolaznu tvrdoću vode, a zaslužni su za percepciju oštre gorčine. Termičkom obradom vode prilikom kuhanja smanjuje se količina bikarbonata s obzirom da u sebi sadrže karbonatne ione s vezanim  $CO_2$  i vodom, koji se upravo toplinom razdvajaju iz bikarbonata i iza sebe ostavljaju samo karbonate, što posljedično dovodi do povećanja ukupne tvrdoće vode. Osim iz bikarbonata, otopljeni  $CO_2$  općenito snižava pH kojeg se također može riješiti kuhanjem i zagrijavanjem vode. Plinovi su u pravilu manje topljivi u vrućim otopinama, stoga je kuhanje jedan od prvih alata u korekciji vode za pivo. Ukupna tvrdoća je proporcionalna s alkalnošću vode i precipitacijom  $Ca^{+}$  iona može se smanjiti njenu alkalnost, odnosno spustiti joj  $pH^{+}$  i puferski kapacitet. Takva tehnika precipitacije često se odvija prema pravilu zajedničkog iona s čime se pomiče ravnoteža prema produktima, tj. solima. Konkretno za kalcijev karbonat dodaje se kalcijev oksid koji upravo zbog tog efekta precipitira karbonate iz vode. Magnezij je više topljiv u vodi pa je željeni efekt smanjenja ukupne tvrdoće vode lakše postići preko kalcijevih karbonata. Puferski kapacitet je bitan kasnije u procesu za jednostavnu korekciju pH s obzirom na kasniji „lautering“, kuhanje i izbačaj sladovine u fermentor uz kvasac koji je osjetljiv na uvjete kiselosti u sladovini. Postoji još i način pomicanja pH direktnim dodavanjem kiseline koja će spustiti alkalnost i, također, precipitirati karbonate kao glavne čimbenike alkalnosti. Od kiseline za regulaciju kiselosti, u prehrambenoj industriji često se primjenjuje laktična kiselina. Osim laktične, u pivarstvu se rjeđe koristi još i citrična, kao i fosforna kiselina. U praksi se rjeđe dodaje alkalnost vodi za pivarenje, no kad se i dodaje to se čini sa natrijevim hidrogenkarbonatima, kako bi povećali prolaznu i time eventualno ukupnu tvrdoću. [1] [5] [14]

### 2.2.3. Ukomljavanje

Prvi pravi korak u proizvodnji sladovine je ukomljavanje (*eng. mashing*). To je period u kojem se miješaju voda i slad u određenim intervalima temperature koji ne premašuju  $72\text{ }^{\circ}C$  pri čemu se odvija cijela konverzija kompleksnih šećera pomoću enzima. Određuju ga uvjeti pH, temperature i njezinih intervala sukladnim temperaturama ispod denaturacije enzima, vrijeme

trajanja reakcije i povoljnog miješanja koje je uvjetovano viskoznošću gelatinizacijom i denaturacijom proteina i šećera. [5] [14]

Najprije se odredi udarna temperatura (*eng. strike temperature*) slada tako da hladniji slad ohladi vodu na temperaturu za optimalni rad radom i tip enzima. Potom se po tipu enzima provodi dogrijavanje u više koraka nakon kojeg se mješavina slada i vode ostavlja u izotermalnom stanju dok se sav kompleksan udio šećera ne konvertira. Temperatura varira ovisno o tome koliki enzimski rad očekujemo, uvjetovan željenim šećernim sastavom i koliko fermentabilnog udjela hoćemo. Takav sastav će odrediti konačnu viskoznost sladovine, njen okus i percepciju slatkoće, a s količinom fermentabilnog i količinu alkohola.

Sastavni dijelovi škroba iz slada su amiloza -20 % i amilopektin -80 %. Amiloza je lančani polimer šećera koji daje najveći dio fermentabilnog sastava, dok je amilopektin razgranati tip koji u ukomljavanju oslobađa nešto fermentabilnih jednostavnih šećera i nefermentabilnih dekstrina. Postoji puno različitih šećera koji se nalaze u smjesi za ukomljavanje, ali nama su od interesa glukoza, maltoza, maltotrioza i dekstrini. Glukoza i maltoza su zaslužni za percepciju slatkoće i nešto okusa, dok su maltotrioza i dekstrini predstavnici glavnog dijela okusa i teksture. Tijekom ukomljavanja  $\alpha$  i  $\beta$  amilaze prodiru u zrno slada i kataliziraju, tj. omogućuju razgradnju amiloza i amilopektina u jednostavnije navedene forme. Prethodno amilazama, njihov prodor omogućuju i karboksipeptidaze i protoaze koji razgrađuju okolni proteinski matriks. Prilikom ubačaja slada u reaktor ono se paralelno namače s vodom udarne temperature koja svojim adsorbiranim slojem štiti zrno i endospermu od nepoželjne oksidacije u relativno toplim uvjetima. [5] [14]

Ovisno o ispunjenju svih procesnih parametara, prosječno vrijeme trajanja ukomljavanja je između 45 i 90 min. Jodni test je praktičan test završetka konverzije, gdje se boja otopine jodida promjeni iz plave u žućkasto-smeđu pri kraju reakcije. Nadalje, miješanje mora biti povoljno, te mora zadovoljiti parametre režima turbulentnog miješanja, kako bi raspodjela temperature po reaktoru bila što konzistentnija i sa što manjim gradijentom, te kako bi gelatinizirani viskozni dijelovi prešli u homogeniziranije stanje kao sastavni dio ostatka reakcijske smijese.

Postoje razne tehnike ukomljavanja i sve se razlikuju o tome kako se pristupa regulaciji temperature, s obzirom da je osnova cijelog procesa. Razlikujemo tehnike dekokcije, stepenastog ukomljavanja i infuzijskog ukomljavanja. Dekokcija može biti dvostruka ili trostruka, ovisno o

broju temperatura koje želimo postići, a izvodi se na načelu dogrijavanja malog fragmenta osnovne smjese. Stepenasto ukomljavanje slično je dekokciji, osim što je uvjetovano direktno grijačima i miješanjem, no suštinski se također postiže raspon određenih temperatura. Infuzijsko ili jednostavno ukomljavanje je izotermalna tehnika gdje se sirovine slada i vode zajedno miješaju u određenom temperaturnom omjeru tako da se postignu temperature između 63 i 68 °C bez dodatnog grijanja. [14] [8]

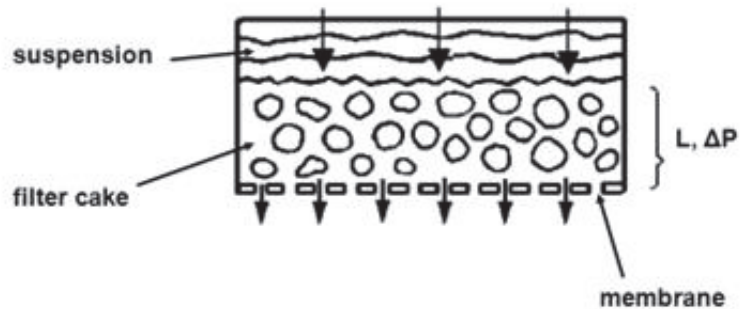
### 3. *Tablica; tip enzima, supstrat i produkti metabolizacije*

|             | Enzyme                         | Substrate  | Product   |
|-------------|--------------------------------|--|---|
| Cytolysis   | $\beta$ -glucan-solubilase     | Matrix linked $\beta$ -glucan                              | Soluble, high molecular weight $\beta$ -glucan                  |
|             | Endo- $\beta$ -(1-3) glucanase | Soluble, high molecular weight $\beta$ -glucan             | Low molecular weight $\beta$ -glucan, cellobiose, laminaribiose |
|             | Endo- $\beta$ -(1-4) glucanase | Soluble, high molecular weight $\beta$ -glucan             | Low molecular weight $\beta$ -glucan, cellobiose, laminaribiose |
|             | Exo- $\beta$ -glucanase        | Cellobiose, laminaribiose                                  | Glucose   |
|             | Xylanase                       | Hemicellulose  | $\beta$ -D-Xylose   |
| Proteolysis | Endopeptidase                  | Proteins   | Peptides, free amino acids                                      |
|             | Carboxypeptidase               | Proteins, peptides   | Free amino acids  |
|             | Aminopeptidase                 | Proteins, peptides   | Free amino acids  |
|             | Dipeptidase                    | Dipeptides   | Free amino acids  |
| Amylolysis  | $\alpha$ -amylase              | High and low molecular weight $\alpha$ -glucans            | Melagosaccharides, oligosaccharides                             |
|             | $\beta$ -amylase               | $\alpha$ -glucans  | Maltose   |
|             | Maltase                        | Maltose  | Glucose   |
|             | Limit dextrinase               | Limit dextrans   | Dextrans  |
|             | Pullulanase                    | $\alpha$ -1,6-D-glucans in amylopectin, glykogen, pullulan | Linear amylose fractions  |
| Other       | Lipase                         | Lipids, lipidhydroperoxide                                 | Glycerine, free fatty acids, fatty acid hydroperoxide           |
|             | Lipoxygenase                   | Free fatty acids   | Fatty acid hydroperoxide  |

Enzymes in barley and barley malt [1, 7, 166, 167]

#### 2.2.4. Cijeđenje

Ukomljavanje i cijeđenje su usko vezani procesi s obzirom da se radi o istoj reakcijskoj smjesi, odnosno separacije sladovine od tropa, a i često se provode u istom reaktoru. Ranije spomenuti enzimi  $\alpha$  i  $\beta$  glukanaze sada dolaze do izražaja jer se upravo zahvaljujući njima i njihovom djelovanju razgradili jedan dio pojačivača viskoznosti – glukana i time cijelu smjesu učinili protočnijom. [10]



*Slika 4; shematski prikaz filterskog kolača tijekom lauteriranja*

Tijekom cijeđenja dijelimo proces u dva segmenta: recirkulacija (*njem. vorlauf*) i separacija. Kod recirkulacije želimo postići bistrenje sladovine tako što izvlačimo prvu sladovinu ispod lažnog dna, na kojemu sjedi iskorišteno zrnje i ostatak sladovine, i šaljemo ju na vrh kako bi ponovno provukli istu kroz novonastali filtarski kolač (*eng. mash bed*) od iskorištenog zrnja. Takvom recirkulacijom filtriramo sladovinu u mjestu i stvaramo kanalice po kojima će kasnije sladovina ocijediti. Pritom moramo paziti da se filtarski kolač ne sabije zbog prebrze recirkulacije, čime dovodimo u opasnost izdvojenju sladovinu od prevelike ekstrakcije tanina ukoliko se ta sladovina previše zadrži u sloju stlačenog kolača. [5][14]

Po završetku recirkulacije, pokrećemo separaciju sladovine od tropa (iskorišteno zrnje), koju ujedno i dodatno ispiramo novim volumenom tretirane vode kako bi postigli što veću efikasnost. Ta voda se zagrijava na standardnih 78 °C, čime se inhibira sva enzimska aktivnost zbog njihove denaturacije. Ispire se toliko dugo dok u reaktoru nije zaostao 1 °P ili se postigao maksimalni pH od 5,8. Pri cijeđenju vodi se briga o 3 glavna parametra: brzini toka cijeđenja, debljina kolača i diferencijalnom tlaku filtracije. Brzina ovisi o viskoznosti sladovine, dok debljina kolača o količini osnovne smjese i dizajna reaktora. Diferencijalni tlak ovisi o prethodne dvije veličine, a definiran je tehničkim opisom filtracije kroz kolač. Cijeli fenomen je opisan Darcyevom jednadžbom i njenim empirijskim izvedenicama:

$$Q = \frac{kA(h_1 - h_2)}{\mu L}, \quad (1)$$

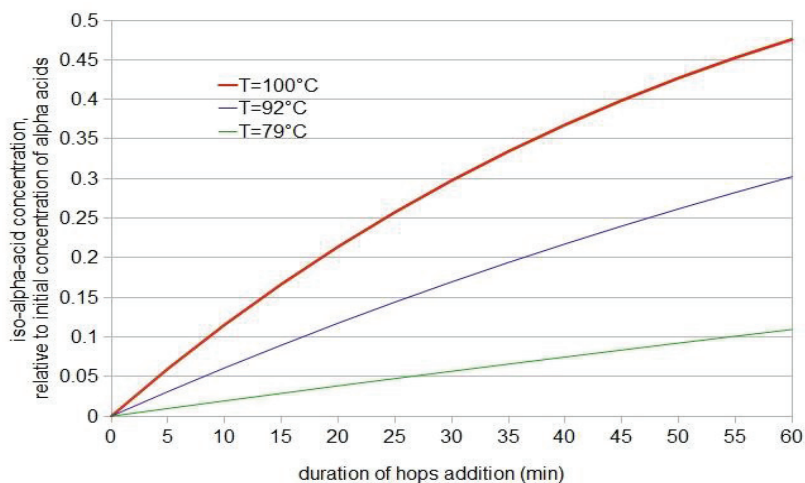
gdje je Q – ukupn tok kapljevine kroz kolač, A – površina filterskog kolača, L – visina filterskog kolača,  $\mu$  – dinamika viskoznost,  $h_1 - h_2$  - diferencijalni tlak na različitim visinama kolača. Iz tog odnosa jasno se vidi da se povećanjem diferencijalnog tlaka povećava pokretačka sila, kao i da procesu pogoduje što veća površina i što manja debljina sloja. Utjecaj na smanjenje otpora separaciji istaknut je u prethodnom poglavlju pri čemu se ponekad pribjegava dodavanju dodatnih ljusaka kako bi povećali relativnu poroznost, pravilnim ukomljavaњem i dodatkom termostabilnih enzima glukanaze. . [10][14]

### 2.2.5. Kuhanje

Ukomljena i separirana sladovina ključa na temperaturi oko 101 °C i prosječno 60 -90 min, a pritom se prate gustoća, pH, boja, uz konstanti tlak i temperaturu. Kuhanje se provodi iz više razloga: zbog sterilizacije sladovine, izomerizacije alfa kiselina iz jedinica gorčine dobivenih pravovremenim dodavanjem hmelja, iskuhavanja viška vode zbog nepovoljnog volumena ili gustoće, iskuhavanja ili konverzije nepoželjnih komponenata ponajviše dimetil sulfida (DMS), koagulacije izdvojenih proteina u svrhu separacije od sladovine, modificiranja početne boje i okusa sladovine, kao i završnog produkta. [5][15]

Sterilizacija je postupak uništavanja svih mikroorganizama i njihovih spora. Zahvaljujući relativno visokim temperaturama i slabo pregrijane pare vode, smjesa nakon takve termičke obrade ispunjava mikrobiološke kriterije. Sladovina, jednom kad je sterilizirana, nebi više smijela imati ikakvu mikrobiološku aktivnost. Osim što mikrobi mogu dovesti do kvarenja, mogu ući i u kompeticiju za nutrijente sa kasnije dodanim kvascem, što nekad može biti i veći problem ako kvarenje nije odmah očito. Najveći udio gorčine postiže se dodavanjem hmelja na početku kuhanja jer je za primarnu izomerizaciju co-humulona potrebna temperatura minimalno 100 °C na kojoj se 40 % konverzije provede u 2 h, dok na 135 °C 40 % konverzije u 3 min. Ponekad recept definira veći postotak ukupnog iznosa šećera, tako da bi se dobivena sladovina određena volumenom kuhala mogla dodatno zgusnuti zbog veće iskoristivosti fermentora. Tijekom toplinske obrade većina plinova izlazi van reakcijske smjese, dok neke teže hlapive komponente prolaze kroz pretvorbu i tek onda u pogodne oblike za isparavanje van smjese,

poglavito DMS čiji je prekursor s-metilmetionin – SMM, a potječe iz sekundarnih veza proteina i pojedinih aminokiselina. U slučaju da se koristi slad s većim udjelom SMM-a potrebno je odužiti iskuhavanje toliko dugo dok se ne dogodi zadnji stupanj konverzije i posljedično stigne ispariti. Većina proteina iz žitarica denaturira puno prije 80 °C pa se intenzivnim grijanjem većinski udio proteina koagulira i flokulira u vrijućoj smjesi. Reakcijom proteina i šećera uslijed



*Slika 5; grafički prikaz ovisnosti rasta koncentracije izomeriziranih  $\alpha$ -kieslina o vremenu na različitim temperaturama*

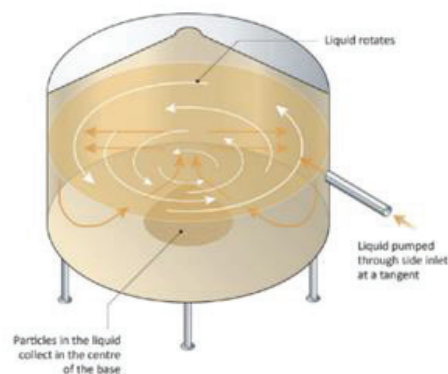
toplinskog tretmana stvaraju se melanoidini. Takve reakcije nazivamo „Millardovim reakcijama“, čiji produkti određuju boju i konačni okus piva dajući joj tamnije nijanse početne boje i karamelizirane, dimne arome. Njihov intenzitet može se ograničiti s režimom iskuhavanja pri čemu postoje dva krajnja slučaja: vrenje i ključanje. Razlikuje ih intenzivnost nastajanja para pri isparavanju i popratni mjehurići. Paralelno smanjenju intenziteta „Millardove reakcije“, režimom možemo i utjecati na intenzitet koagulacije proteina, s obzirom da su tekstura i „tijelo“ piva korelirani sa količinom disperziranog proteina u vodi. [5] [6]

### 2.2.6. Bistrenje, hlađenje i aeriranje

Po završetku kuhanja potrebno je izdvojiti čistu gorku sladovinu od neželjenih proteina, tvrdih ostataka hmelja i ostalih popratnih sedimenata u manjim količinama. Postoji više načina kako izbistriti smjesu, što najviše ovisi o tehnici i sastojcima poput peletiziranog ili cjelovitog hmelja, sredstva za koagulaciju i pomagala pri sedimentaciji, ekstrakta slada ili hmelja i slično. Suvremeni sustavi za kuhanje piva uključuju separaciju vrtložnom recirkulacijom (*eng. whirlpool*), gdje se iskuhana i sterilizirana sladovina dodatno, tangencijalno recirkulira, što dovodi do geometrijski centralnog nakupljanja sedimenta proteina i netopljivog dijela peletiziranog hmelja i time olakšava izdvajanje čiste gorke sladovine nad kupom proteina i hmelja. Također, ovisno o tome je li se koristio cjeloviti hmelj, potrebna je dodatna separacija i u posebnom spremniku s lažnim dnom kako bi što više isprali filistarski kolač od hmelja i proteina. Danas se rijetko koristi cjeloviti hmelj, no unatoč tome i dalje ima svoj potencijal u davanju veće kompleksnosti okusa. [9] [16]

Osim dizajnom sustava i dodatkom novih spremnika, bistrenje se provodi i sedimentacijom u kuhu uz pomoć koagulanata prirodne baze, dobivenih iz sušenih algi koji u sebi sadrže aktivnu komponentu karagenan (*eng. K-carrageenan*), koja zbog svojeg elektrostatskog naboja pospješuje agregaciju i koaguliranje. Sedimentacija je opisana Stoecksovim zakonom koji govori da se povećanjem veličine čestica, odnosno agregiranjem u višečestične oblike, može pozitivno utjecati na pokretačku silu. [16][10]

Hlađenje iskuhane sladovine provodi se iz dva razloga. Dodatkom hladnije vode za razrjeđivanje u određenom omjeru u svrhu relativno malog iznosa korekcije kako bi spustili temperaturu sladovine na 80 do 85 °C i time omogućili pogodnu temperaturu za izdvajanje esencijalnih ulja iz hmelja umjesto jedinica gorčine, odnosno njihove izomerizacije. Drugi razlog je pogodna temperatura za fermentaciju kvascem koja se provodi u izmjenjivačima topline, najčešće pločaste izvedbe, makar postoje i starije tehnologije koje se oslanjaju na cijevne izmjenjivače koje koriste glikol kao rashladni medij. Danas se češće može naći kombinacija vode i glikola, što omogućuje rekuperaciju jednog dijela topline prenesene sa vruće sladovine na hladnu vodu. Takva voda se rekuperira u spremnik sa tretiranom vodom čime se ostvaruju i do



**Slika 6;** shematski prikaz posude za separaciju „whirlpool“



10-15 % uštede na proizvodnji ogrjevne pare. [16]

Aeracija sladovine je nezaobilazan dio pri kojemu kvasac prolazi kroz fazu propagacije bez da prolazi stres uzrokovan manjkom nutrijenata potrebnih za njegovu razdiobu. Zahvaljujući aeraciji količina ubačenog kvasca može biti i dvostruko manja u odnosu na neaeriranu sladovinu čime se znatno smanjuju troškovi proizvodnje. Oksidacija sladovine je nepoželjan proces, ali ako se aerira s adekvatnom količinom kisika do nje neće doći jer će propagacija iskoristi skoro sav dostupan kisik u sladovini i time inhibirati reakciju radikalne oksidacije. Za dobru izvedbu moraju se postići turbulentni hidrodinamički uvjeti tijekom aeracije te osigurati dovoljno dugu cijev koja će zbog svoje relativne hrapavosti smanjiti Reynoldsovu značajku smjese i time omogućiti otapanje kisika u sladovini. Aeracija se provodi najčešće putem sinteriranih nastavaka koji sa svojim mikroporama povećavaju međugraničnu površinu prijenosa i time omogućuju dobro otapanje kisika.[5][16]

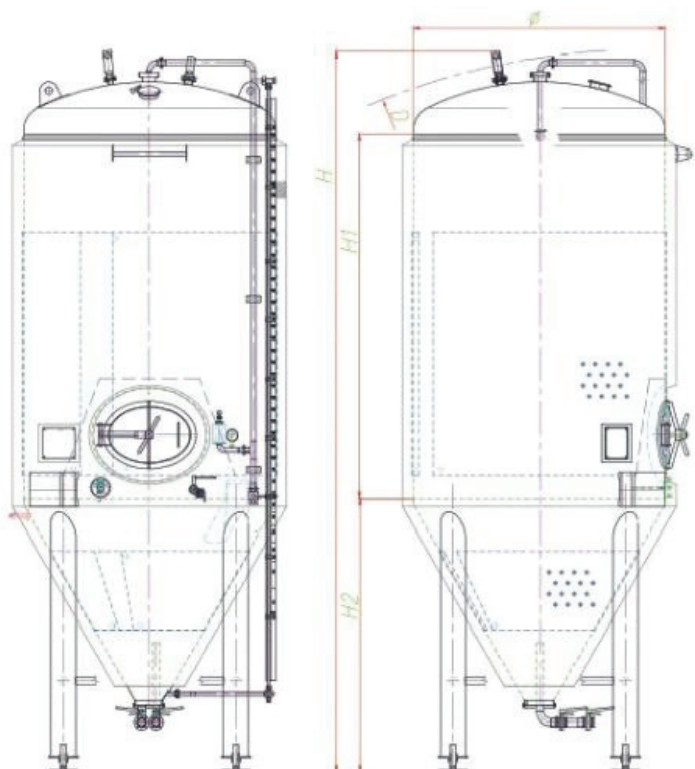
### 2.2.7. Fermentacija

Jedan od najkompleksnijih procesa u pivarstvu je niz metaboličkih reakcija kvasca i njihovih pripadajućih enzima koji se odvijaju tijekom fermentacije. Sve počinje od vaibilnosti kvasca, odnosno koliki je broj stanica po mL, koje je vrste i genusa i, ono najbitnije, koji su nusprodukti, s obzirom da će dati završni utjecaj na profil okusa.

Pod procesom fermentacije podrazumijevaju se tri odvojene faze: propagacija, inicijalna faza i Embden-

Meyerhof-Parnes metabolički put. Propagacija je proces stanične razdiobe kvasca u kojem nastaju

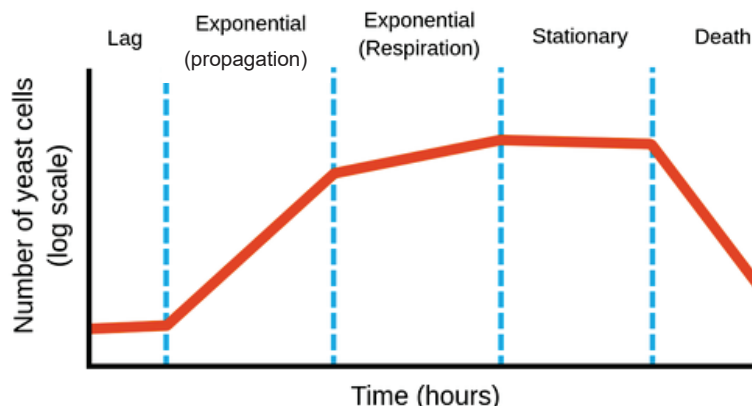
dvije stanice kvasca od jedne početne. Kroz period propagacije stanice svojom razdiobom dobivaju „ožiljke“ koji kasnije utječu na metaboličku sposobnost same stanice. Svaka stanica



*Slika 7; tehnički prikaz fermentora*

može podnijeti 10-40 takvih ožiljaka nakon čega je ta stanica metabolički neupotrebljiva. Jednom kada se izvrši razdioba stanice, početna stanica dobije ožiljak dok novonastala ne. Iz toga proizlazi da 50 % novonastali stanica ima samo jedan ožiljak, 25 % dva ožiljka, 12,5 % tri ožiljka itd. Upravo iz tih razloga, prikupljanje kvasca se obično nastavlja do 5. generacije kada je akumulacija ožiljaka na stanicama i mutacija gena dostigla maksimalnu vrijednost. Stanice kvasca imaju tendenciju mutirati u stresnom okruženju u kojem vlada termička nestabilnost, nedostatak nutrijenata, sredina u kojoj prevladava hipoaerobno stanje, visoko koncentrirane alkoholom i ugljikohidratima. Osim toga, neke vrste kvasca su općenito podložnije stresu i mutaciji, stoga je potrebno dobro razumjeti specifikacije dane vrste kako bi dobili njezinu najveću iskoristivost. Mutacije često znaju prvo utjecati na sposobnost stanica kvasca flokulaciji i atenuaciji. Potom se mutacije prikazuju kao smanjena sposobnost stanične respiracije, koja je osnovni mehanizam unosa nutrijenata i ugljikohidrata za njihovu probavu. U pivarstvu je vrlo bitan faktor sposobnost probave određenih nusproizvoda fermentacije kao što je vicinalni diketon (VDK) koji daje karakteristične nepoželjne okuse i arome koje podsjećaju na užegli maslac. Naime, ovisno o sastavu slada postoji veći ili manji potencijal za razvijanjem VDK koji se može razložiti pri kraju fermentacije manipulacijom kvašćevog metabolizma na povišenim temperaturama od one na kojoj je fermentirao. [5][17][8]

<sup>2</sup>U inicijalnoj fazi fermentacije, stanice kvasca pripremaju se za unos nutrijenata u kojoj troši zalihe svoje energije, skladištene u obliku glikogena, a koristi ju za sintezu raznih sterola i pripremu stanične stijenke za respiraciju. Kisik je od najveće važnosti za ovu fazu pa je ključno da sladovina ima dovoljno preostalog kisika korištenog nakon faze propagacije. Nakon pripreme



**Slika 8;** grafički prikaz podjela faza fermentacije

<sup>2</sup> U grafu je prikazana „lag“ faza okarakterizirana mirovanjem kvasca po njegovoj neposrednoj inokulaciji

stanične stjenke i sinteze sterola, stanica počinje u sebe unositi aminokiseline i elementarne peptide u kombinaciji sa šećerima u određenom redosljedu ovisno o kompleksnosti tih šećera.

U slučaju da je osmotski tlak u okolici stanice velik, može se smanjiti respiracija uzorkovana prevelikom koncentracijom jednostavnih šećera, što će rezultirati nedovršenom fermentacijom čime će kompleksniji šećeri ostati nefermentirani unatoč tome što su u fermentabilnom obliku. Šećeri poput maltoze i maltotrioze dolaze kasnije u fermentaciju zbog čega je ključan adekvatan sastav sladovine i dobro stanje stanice kvasca. Uz pripremu za metabolizam nadolazećih šećera, stanica kvasca zakiseljava svoje okruženje što uvelike određuje kvalitetu buduće fermentacije, stoga kvasac treba imati već dovoljno zakiseljeno okruženje kako se ne bi previše podlegao stresu. Na početku inicijalne faze pH se kreće od  $\pm 0.1$  sa 5,0 sladovine. Tijekom inicijalne faze pH se spušta do 4,4 – 4,6 nakon koje kreće primarna faza fermentacije EMP metaboličkog puta. [2] [5] [17]

EMP metabolički put okarakteriziran je glikolizom. U ovom stupnju još uvijek se ne proizvodi alkohol, ali stanice kvasca počinju razbijati već pojednostavljene šećere na još jednostavnije oblike pogodnijima za fermentaciju. Mg i Zn kationi igraju ključnu ulogu kao kofaktori u enzimskoj aktivnosti. Prvi dio EMP-a je fosforilacija koja opisuje probavu glukoze sa fosfatnom strukturom kako bi se povećala metabolička energija potrebna za pravu fermentaciju. Drugi dio EMP-a je dijeljenje struktura heksoza u trioze (*eng. carbon splitting*). U ovom koraku reakcije je popraćena enzimom aldolaze i ne zahtjeva korištenje skladištene energije iz stanice, ali je okarakterizirana prisutnošću Zn iona. Unatoč tome što je slad primarni izvor cinka, nekad se dodaje umjetno u slučaju da se koristi veći udio specijalnih sladova ili neslađenih žitarica. Treći dio EMP-a su redoks reakcije NAD-a u NADH<sub>2</sub> koji je glavni faktor u skladištenju energije stanice. Četvrti dio EMP-a je stvaranje piruvatne kiseline čiji su glavni faktori magnezijevi ioni koji potpomažu i omogućuju enzimatski rad enolaze koji pretvaraju 2-fosfogliceričnu kiselinu u piruvatnu kiselinu kao glavni prekursor prave fermentacije. Peti dio EMP-a metabolizma je, napokon, prava fermentacija u kojoj se odvija alkoholno vrenje jednostavnih oblika šećera glukoze, fruktoze i niza drugih oblika. [5]

Prilikom fermentacije nusproizvodno nastaju razni karakteristični esteri i ketoni koji daju pozamašni dio profila završnom proizvodu. Svaki ester ima svoj karakterističan miris i aromu, pri čemu primjerice nastajanje isoamil-acetata ima aromu banana, dok etil-acetat voćne karakteristike sa neželjenom aromom otapala. U ovoj fazi također nastaje i već spomenuti VDK

koji kao predstavnik produkata u obliku ketona predstavlja neželjeni nusprodukt. Ketoni često daju nepoželjne arome pa se nastoji u što većoj mjeri izbjeći stvaranje prekursora ili ih se nastoji metabolički razgraditi.[5] [7]

Osim primarne fermentacije postoji i sekundarna fermentacija koja može biti poželjna ili nepoželjna ovisno o njenom trenutku i količini fermentiranja. Poželjna sekundarna fermentacija se odvija kada se dodaju šećeri kako bi se potrošio kvasac i time dodatno karbonizirala sladovina u svrhu vjerodostojnosti stila, a i doživljaja samog napitka. Nepoželjna sekundarna fermentacija je najčešće produkt nedovršene primarne fermentacije koja rezultira dodatnim smanjenjem preostalog šećernog ekstrakta sa problemima pri pakiranju i povećanom udjelu alkohola od predviđenog, time stvarajući probleme legalne naravi i doživljaja proizvoda. [17]

### 2.2.8. Odležavanje

Povijesno lager piva preferiraju dugo odležavanje i sazrijevanje okusa zbog svojih karakterističnih sladova s velikim udjelom nepoželjnih proteina, stoga je za većinu lagera krucijalno da odležavaju dovoljno dugo kako bi postigli maksimalni iznos estera i drugih čimbenika okusa dobivenih iz metabolizma kvasca, te ono bitnije, čistoću i bistrinu piva.

Odležavanje se zasniva na procesima

sedimentacije i difuzije komponenti okusa i aroma.

Ujedno se u odležavanju provodi sekundarna

fermentacija radi povećanja osnovnog udjela  $\text{CO}_2$  u dobivenoj fermentiranoj sladovini kao

jednog od glavnog produkata klasične fermentacije. Danas se klasično odležavanje provodi sve

manje zbog dugotrajnosti, što znatno usporava cijeli proces proizvodnje. Ponekad je potrebno

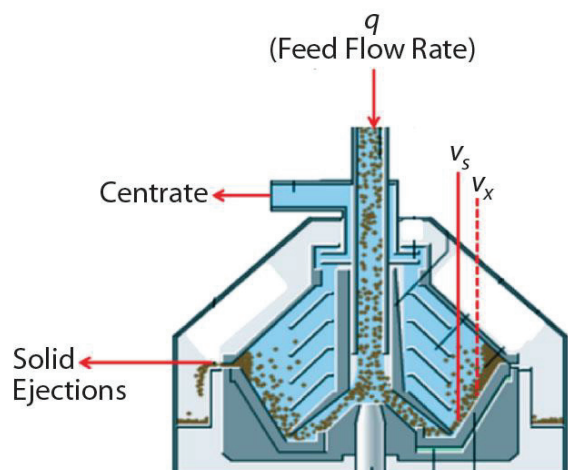
mjesec dana odležavanja piva u spremniku za sedimentaciju. Sve se više pribjegava procesima

filtracije i centrifugalne separacije kako bi se dobio što čistiji i bistriji proizvod s čime korelira i

udio zaostalog kvasca suspendiranog u gotovom produktu jer se takve kvašćeve stanice ponovno

moгу aktivirati i započeti nepoželjnu sekundarnu fermentaciju. Osim zbog tehničkih problema,

pivo mora zadovoljiti bistrinu, boju i tijelo stila. Centrifugalna sedimentacija jednim dijelom



*Slika 9; shematski prikaz centrifugalnog separatora*

smanjuje kvalitetu piva, jer se pri velikim brzinama okretaja (do 8300 o/min) i paralelne separacije proizvod pjene i prolazi turbulencije, što rezultira većim izbačajem emuliranih esencijalnih ulja hmelja, a i poželjnih estera iz fermentacije. Izvedenica Stoeksovog zakona je prilagođena uvjetima centrifugalne sile na što se i dalje može utjecati sa sličnim parametrima kao i kod prvog slučaja objašnjenja sedimentacije:

$$v_{ss} = \frac{d^2 g (\rho_p - \rho_l)}{18\eta}, \quad (2)$$

gdje je  $v_{ss}$  – brzina slobodne sedimentacije,  $d$  – čestični dijametar,  $\rho_p$  – gustoća čestica,  $\rho_l$  – gustoća kapljevine u sedimentaciji  $g$  – gravitacijska konstanta akceleracije. Kod jednadžbe izvedene iz Stoeksovog zakona specifično za centrifugalnu sedimentaciju glasi:

$$v_{ss} = \frac{d^2 (\rho_p - \rho_l) r \omega^2}{18\eta}, \quad (3)$$

gdje je  $v_{ss}$  – brzina slobodne sedimentacije,  $d$  – čestični dijametar,  $\rho_p$  – gustoća čestica,  $\rho_l$  – gustoća kapljevine u sedimentaciji,  $r$  – radijus centrifugalne sile i  $\omega$  – kutna brzina. [10] [5]

Filtracija kao zamjena za odležavanje najčešće se provodi preko pločastih filtara koji s dovoljno malim porama mogu i pripomoći mikrobiološkoj slici proizvoda, s obzirom da su neki problematični divlji kvasci poput *Saccharomyces diastaticus* veće fizionomije od klasičnih pivskih kvasca. Odležavanje čistog produkta gotovo se uvijek provodi na temperaturi od 0 °C i nominalnom tlaku od 0,7 bar, zbog prevencije promjene udjela otopljenog CO<sub>2</sub> s obzirom na podtlak ili pretlak s obzirom na nominalni tlak. [5]

U fazi odležavanja odvija se i razlaganje tanina nastalih kuhanjem i ukomljavanjem, kao i razlaganje VDK. Osim prirodno stvorenih nepoželjnih aroma, tijekom odležavanja dodaju se, po potrebi, reagensi za dodatnu stabilizaciju mutnoće i aditivi za postizanje nekonvencionalnih aroma kao što je maceriranje piva s kavom, kakaom, briketima bačava ruma, burbona i slično. Takvo odležavanje se zasniva na hladnoj ekstrakciji željenih aroma iz tih aditiva koji se kasnije, po završetku ekstrakcije, dodatno miruju u spremniku kako bi okusi i arome pravilno raspodjelili i time stabilizirali i homogenizirali smjesu. [9] [7]

### 3. MJERNE TEHNIKE I ANALIZATORI

U proizvodnji piva postoji niz parametara koje je potrebno pratiti, te svaki dio procesa za iste parametre nekad koristi različite mjerne tehnike. Ovo poglavlje ćemo podijeliti na 3 glavna segmenta proizvodnje, a to su: izrada sladovine, fermentacija i odležavanje.

#### 3.1. Mjerne tehnike pri izradi sladovine

Kod izrade sladovine pratimo nekolicinu parametara: raspodjelu veličinu čestica mljevenog slada, količina adsorbirane vlage slada, provjera kvalitete vode korištene za izradu sladovine, mjerenje i vođenje temperature smjese za ukomljavanje, vode za ispiranje te temperature sladovine pri njenom kuhanju, mjerenje gustoće ukomljene sladovine, spektrofotometrijsko mjerenje boje dobivene sladovine, mjerenje jedinica gorčine, mjerenje volumena, mjerenja protoka sladovine i zaključno mjerenje količine otpoljenog kiska hladne, gorke i aromatizirane sladovine prije ulaska u fermentor. [8] [14]

Mjerenje raspodjele veličine čestica usitnjavanja mljevenjem provodi se prvo pravilnim uzorkovanjem iz mljevene smjese sa „kopljastim“ alatima za uzorkovanje osiguravajući pritom dobar i reprezentan uzorak iz heterogene smjese mješavine sladova pripremljene za ukomljavanje. Takav uzorak se podvrgava sitenom analizom u kojem se određuje raspodjela veličina koja bi trebala odgovarati procesnom dizajnu, s obzirom da postoje izvedbe koje toleriraju visoke finoće sladne sirovine. [4] [14]

Količina adsorbirane vlage slada mjeri se sušenjem uzorka slada koji reprezentira dani sastav, te se shodno tome mjeri razlika u masi kao rezultat adsorbirane vlage sladne sirovine. Mjerenje se provodi analitičkim vagama koje se precizne u četvrtu decimalu sa nesigurnom petom.

Provjera kvalitete vode se odnosi na niz parametara vezanih uz vodu, od  $\text{pH}^+$ , do ukupne, prolazne tvrdoće i karbonatne tvrdoće, koje se uglavnom mjere titrimetrijskim metodama ovisno o traženom ionu. Danas postoje i ionsko-selektivne elektrode većeg spektra selektivnosti (i.e. ISE) koje imaju veliki potencijal za *in situ* mjerenja kako bi se dobile neke osnovne informacije o mineralnom sastavu



**Slika 10;** različite izvedbe ISE

vode, odnosno analitička informacija o kationskom udjelu kalcija, magnezija i nekih većih anionskih konstituenata kao što su sulfati, karbonati i hidrogenkarbonati, te kloridi. Kako je pH<sup>+</sup> jedan najbitnijih parametara za izradu sladovine, neizostavno je adekvatno korištenje pH<sup>+</sup> sonde. Takve sonde su najčešće bazirane na kombiniranim staklenim elektrodama sa semipermeabilnom staklenom stjenkom koja u doticaju sa uzorkom vode isključivo interaktira sa H<sup>+</sup> ionima, gdje referentna elektroda zatvara strujni krug i time daje povratnu informaciju o razlici potencijala, odnosno generiranom naponu vode koji je direktno proporcionalan sa pH<sup>+</sup>. [1]

Temperatura u izradi sladovine je uglavnom provedena mjerenjem sa termoparima koji u svojem čeličnom utoru dodiruju stijenku utora, te koriste termopare „K“ izvedbe. Takav termopar je sastavljen od kombinacije nikal/krom ili nikal/alumel (i.e. legura od pretežito nikla i manjim udjelom aluminija i mangana). „K“ termopari imaju široku uoptrebu u industriji zbog svoje male cijene i velike točnosti u odnosu na zahtjeve primjene. Raspon mogućnosti mjerenja je 0-100 °C, a preciznost je ograničena sa odstupanjem od +/- 2.2 °C. Ukomljavanje zahtjeva nešto veću preciznost od klasične izvedbe, no uz namještanje „offseta“ mogu se postići

konzistenti podaci mjerenja, potgotovo ako je uzmješavanje smjese slada i vode povoljno. Pri mjerenju temperature najbitnije je pripaziti na stvaranje tzv. toplinskih džepova koji mogu u automatski izvedbama sustava za ukomljavanje poremetiti temperaturu i time znatno podgrijati ili previše pregrijati smjesu. Pregrijavanje je veći problem s obzirom da se radi o enzimatskoj aktivnosti koja jednom kad se denaturira gubi svoju svrhu. [5] [14]













Mjerenje gustoće se uglavnom provodi grubim načinom mjerenja, a to bi bilo korištenjem hidrometara i nešto finijom tehnikom sa piknometrima. Postoje i sofisticiranije metode korištenjem jednostavnih refraktometara, a skuplje metode se uglavnom odnose na principu poluautomatskog pipetiranja uzorka i provlačenja kroz oscilirajuću u cijevčicu, koja svojom razlikom u frekvenciji prije i poslije uzorkovanja automatski računa relativnu gustoću u odnosu na nominalne vrijednosti gustoće vode. Gustoća u sladovini primarno je okarakterizirana količinom ukupno otopljenog šećera iz slada u odnosu na gustoću vode. Takve male promijene u



*Slika 11; termopar K-tipa*

gustoći dovele su do nekolicine mjernih jedinica korištenih u mjerenju. Osim klasčnog mjerenja u SI sustavu jedinica, često se koristi i mjerne jedinice „plato/ °P“, „balling/ °Balling“, „brix/ °Bx“, koji se odnose na relativnu podjelu, za koju vrijedi da će na 10 °P biti 10 g ekstrakta na 100 g sladovine. Razlika između navedenih jedinica je standard temperature pri kojoj se bazira mjerenje, gdje je za °P mjerenje definirano na 20°C dok je za 17,5°C definirano za °Balling. Spektrofotometrijsko mjerenje boje sladovine mjeri se uz apsorbanciju UV/VIS djela spektra na par različitih valnih duljina. Prva tehnika mjerenja se provodi na 430 nm, puta svjetlosti duljine 1.27 cm, gdje uzorak mora biti izuzetno niskog turbiditeta, tj. u maksimalnom mirovanju, koje se potom iskazuje u „SRM“ mjernim jedinicama (eng. „Standard Reference Method“). Druga metoda je mjerenjem sa valnom duljinom 700 nm koje ne treba biti u mirovanju i iskazuje se u „EBC“ mjernim jedinicama turbiditeta (eng. „European Brewery Convention“) koje više služi za

#### 4. Tablica; boja u odnosu na pivski stil

| Beer Colors and SRM Value   |     |              | Beer Style SRM Color Ranges |           |
|---|-----|--------------|-----------------------------|-----------|
| Color Swatch  | SRM | Color        | Style                       | SRM Range |
|  | 2   | Pale Straw   | Pilsner                     | 2 - 7     |
|  | 3   | Straw        | Witbier, Berliner Weisse    | 2 - 4     |
|  | 4   | Pale Gold    | Belgian Strong Ale          | 4 - 7     |
|  | 6   | Deep Gold    | Maibock                     | 4 - 10    |
|  | 9   | Pale Amber   | Vienna Lager                | 7 - 14    |
|  | 12  | Medium Amber | Oktoberfest                 | 4 - 12    |
|  | 15  | Deep Amber   | American Pale Ale           | 6 - 14    |
|  | 18  | Amber-Brown  | Pale Ale                    | 5 - 14    |
|  | 20  | Brown        | English Golden Ale          | 4 - 8     |
|  | 24  | Ruby Brown   | Bavarian Weizen             | 4 - 10    |
|  | 30  | Deep Brown   | Bitter, ESB                 | 8 - 14    |
|  | 40  | Black        | Märzen                      | 7 - 15    |
|   |     |              | Imperial Pale Ale           | 5 - 11    |
|   |     |              | Bière de Garde              | 6 - 13    |
|   |     |              | Dunkel Weizen               | 9 - 13    |
|   |     |              | Amber Ale                   | 11 - 18   |
|   |     |              | English Brown Ale           | 12 - 22   |
|   |     |              | Bock                        | 15 - 30   |
|   |     |              | Porter                      | 20 - 40   |
|   |     |              | Oatmeal Stout               | 25 - 40   |
|   |     |              | Baltic Porter               | 17 - 40   |
|   |     |              | Foreign Stout               | 30 - 65   |
|   |     |              | Imperial Stout              | 50 - 80   |

Source: Tasting Beer by Randy Mosher



iskazivanje bistrine pive, za razliku od SRM-a koji služi za okarakteriziranje boje. [14] [5]

Mjerenje volumena u reaktorima najčešće se provodi sa razinomjerima izvedbe spojene posude. U preciznijim izvedbama mjeri se vrijeme propuštanja kroz mjerilo protoka kako bi dobili informaciju o ubačenom volumenu vode. Osim vremenom, mjeri se i radarskim razinomjerima koji šalju radio valove i mjere vrijeme potrebno da se val vrati u radio senzor, gdje se iz vremena izračunava udaljenost poznavajući brzinu putovanja vala kroz parni medij. [12]

Postoje razna izvedba mjerila protoka, a ona najviše ovise procesnim uvjetima temperature i viskoznosti mjerene pojne smjese. Često se znaju upotrebljavati elektro-magnetska mjerila protoka koji prolaskom tekućine kroz mjerno područje izazivaju indukciju u zavojnici obavijenom oko cijevi, time izazivajući napon koji je odziv brzine protoka. Koriste se i mjerni zasloni za malo jednostavnije potrebe mjerenja protoka. [12]

Kod otopljenih plinova koriste se uređaji koji funkcioniraju na principu dvostruke ekspanzije koji pri prvoj i drugoj ekspanziji uzetog uzorka u komoru za mjerenje unutar uređaja, uz konstantu temperature i poznati tlak, mogu izmjeriti i izračunati razliku u te dvije informacije iz kojih se prema Henryevom zakonu i činjenici da su različiti plinovi različito topljivi pri određenim tlakovima može izračunati parcijalni tlak para otpoljenog plina, a s time i udio u samoj otopini. [19] [5]

### **3.2. Mjerne tehnike u fermentaciji**

Mjerne tehnike u fermentaciji sadrže gotovo iste procesne parametre kao i kod sladovine, no u ovom slučaju postoji razlika u kemijskom sastavu, s obzirom da pri fermentaciji imamo i parametar količine nastalog alkohola, te broja stanica kvasca po mL u različitim zonama fermentora. Količina alkohola je podatak koji se može dobiti izračunom početne količine šećera „OG“ (*eng. „original gravity*) i završne količine neizfermentiranog „FG“ (*eng. „final gravity“*). Podatak OG-a znamo pri izradi sladovine, dok FG računamo iz uzorka uzetog na početku fermentacije podlegnutog procesu „prisilne fermentacije“, gdje se uzorak podliježe velikom mješanju, što znatno ubrzava fermentaciju u uzorku. Već nakon dva dana dobivamo isfermentirani uzorak koji je dostigao svoju finalnu točku fermentacije i time dobivamo apsolutnu razliku OG i FG iz čeg jednostavnom jednadžbom izračunavamo ekstrakt, a s time i postotak ABV (*eng. alcohol by volume*). Mjerenje broja stanica kvasca se provodi

mikroskopskom metodom, gdje na stakalcu sa mrežastom podjelom u svakom danom kvadratiću možemo izbrojati broj kvasca i dobiveni broj pomnožiti sa razrijeđenjem, s čime instantno znamo približan broj stanica. Uz takvo mjerenje dobro je i zadnje razrijeđenje pomiješati sa kapi metilnog modrila, koje će u slučaju raspknute membrane stanice kvasca izazvati plavo obojenje i time takvu stanicu okarakterizirati mrtvom. Time računamo postotak viabilnih stanica u odnosu na naš uzorak. U fermentaciji je osim procesnih parametara izuzetno bitno riješavanje neželjenih okusa i aroma na vrijeme, dokle god je kvasac još uvijek metabolički aktivan. Već više puta spomenuti VDK je jedan od prvih i najvećih primjera za takvu aromu. Pri samom kraju fermentacije uzimamo uzorak fermenta i podliježemo ga termičkoj obradi sa svrhom postizanja uzorka od 60°C, čime ćemo izazvati ubranu konverziju prekursora u VDK i time odrediti potencijal fermenta za razvijanjem nepoželjne arome provedbom senzoričkog testa uz pomoć osjetila njuha (*eng. sinff test*). [5] [7]

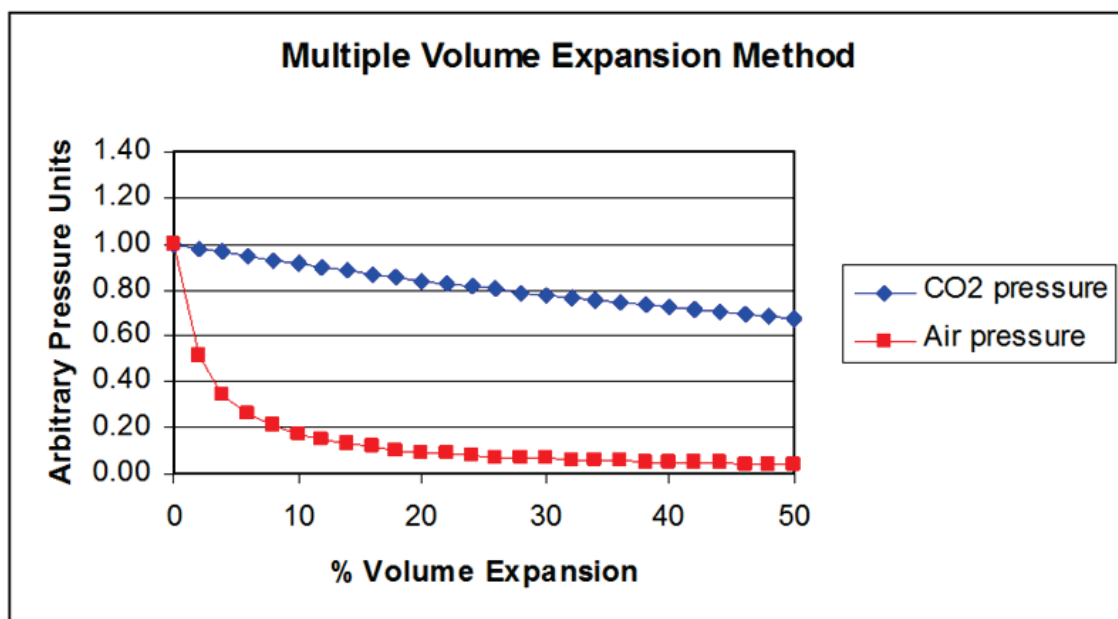
### 3.3. Mjerne tehnike u odležavanju

Kod odležavanja najbitniji parametri su karbonizacija i DO (*eng. dissolved oxygen*), tj. količina otopljenog CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>, njegova relativna gustoća i pH<sup>+</sup>, rezultat FG, turbiditet izražen u EBC i SRM kao mjerna jedinica boje koja mora odgovarati traženom stilu. Mjerne tehnike pri odležavanju se ne razlikuju u svom načinu provedbe od onih prethodno spomenutih u poglavlju mjerne tehnike pri izradi sladovine i mjerne tehnike u fermentaciji. Eventualno je nešto drugačija izvedba mjerenja karbonizacije i kisika, jer sada u gotovoj smjesi nemamo puno čvrste ili flokulirane tvari koja bi mogla opstruirati mjerenja pa se shodno tome mogu koristiti direktniji načini mjerenja. Karbonizacija i DO se mjere već spomenutom tehnikom dvostruke ekspanzije volumena, no postoje je i drugačiji pristupi mjerenju DO i karbonizacije, a većina se temelji na korištenju relativno skupih selektivnih elektroda. Korištenje moderne izvedbe Clarkovog članka je jedan od takvih primjera, gdje se redukcijom kisika na katodi



*Slika 11; prikaz mjerne opereme potrebne za mmjerenje DO i DCO<sub>2</sub>*

mijenja jakost struje, što je korelirano sa koncentracijom reduciranog kisika. Danas poznajemo još i kolorimetrijske metode koje se baziraju na gradaciji obojenja, pri dodavanju luminiscentnih boja koje emitiraju različite količine svjetlosti u različitim koncentracijama otopljenog kisika u uzorku. Uz takve modernije načine mjerenja, danas se rijetko pribjegava klasičnim titracijskim metodama koje su unatoč svojoj velikoj pouzdanosti, dugotrajnije, te zahtjevaju puno više pripreme. Jedna od takvih metoda je „Winklerova titracija“, gdje kisik u lužnatoj sredini oksidira manganov(II) hidroksid do manganova(IV) hidroksida. Po završetku prve reakcije radi se jodometrijska titracija u čijoj konačnici dobijemo ekvivalent količini kisika u analiziranom uzorku. Količina otopljenog CO<sub>2</sub> se iskazuje u volumnim jedinicama koje se odnose kao volumen otopljenog CO<sub>2</sub> jednak je volumenu otopljenog CO<sub>2</sub> na 1 L piva. Dakle, ako smo izmjerili karbonizaciju nekog uzorka, primjerice „Češkog pilsnera“ i dobili rezultat od 2.52 vol., u tom slučaju na 1L pive imamo 2.52 L otopljenog CO<sub>2</sub>. Obično se otopljeni volumen nalazi u intervalu 1.5 – 2.7, gdje bi donja razina bila karakteristična za jako guste „Stoutove“, a gornja za čiste i bistre lagere, poput „Hellelsa“ i „Pilsnera“. [18]



*Slika 12; grafički prikaz ovisnosti o parcijalnom tlaku CO<sub>2</sub>, tlaku zraka u ovisnosti o volumnoj ekspanziji*

Navedene metode mjerenja su uvjetovane isključivo procesnim uvjetima, što najviše dolazi do izražaja u mjerenju parametara kod odležavanja, s obzirom na čistinu našeg produkta.

Sve prethodne tehnike mogu varirati od proizvodnje do proizvodnje, te će ono uvijek biti diktirano veličinom šaržnog procesa i ekonomskim uvjetima.

### 3.4. Analiza kvalitete

Pod analizom kvalitete smatra se već prethodno obrađena tema mjernih tehnika, no postoji i drugačiji, vrlo bitan pristup, uzevši u obzir da se opisuje prehrambreni proizvod. Kao takav, proizvod mora zadovoljiti senzoričke kriterije, bez čega nemožemo donijeti zaključak o krajnjem opisu kvalitete. Senzorika pive uključuje niz faktora: karakterizaciju arome, okusa, pjene, tijela, boje, karbonizacije, te percepcije alkohola. [6] [7]

Aroma je možda i najbitniji dio jer je ona prvi organoleptički doživljaj pri konzumaciji, a određena je nizom parametara. Količina karbonizacije i brzina otpuštanja mjehurića CO<sub>2</sub> će sa sobom iz tekućine povesti i veliki dio emulziranih esencijalnih ulja slada, hmelja i kvasca i time stvoriti veliki osmotski tlak na površini mirisnih receptora, što će dovesti do većeg transfera aroma u receptore što je više ugljikovog(IV) oksida. Postoji i gornja granica koja nije okarakterizirana brojkom, no uglavnom je određena prekišelim osjećajem u nosu koji spriječava daljnju organoleptičku percepciju u nosu, jer okus i njuh su izuzetno vezani osjeti. Osim karbonizacijom, alkohol svojim hlapljenjem iz otopine jako pridonosi doživljaju gorčine i njenih aroma. Jako je bitno imati dobre uvjete za degustaciju kako bi mogli donijeti što objektivnije zaključke o senzoričkoj kvaliteti, jer će okusi općenito ovisiti o atmosferskom tlaku i vlazi u zraku, a ono nezaobilazno, subjekt koji provodi senzoričko ispitivanje će uvijek imati određeni dio subjektivnog doživljaja, stoga je bitno ozbiljno pristupiti cijelom procesu kako bi mogli donijeti kvalitativne zaključke. Uz aromu, okus je ono što je njena podloga, te kao takvo ima kriterij da postoji balans između različitih recepcija na tkivu receptora okusa, koji će uz kompleksnost arome i tijela, dati ukupan organoleptički doživljaj. Okus je posljedica utjecaja izomeriziranih jedinica gorčine, ostatka nefermentiranog šećera i mineralnog sastava vode. Osjećaj i udio alkohola je popratni faktor koji daje spektar aromama, jer zbog lakše hlapivosti od vode sa sobom povećava tlak para esencijalnih ulja, odnosno čimbenika arome. Naravno, nije poželjno osjećati alkohol u svom izvornom obliku, stoga se očekuje dovoljna recepcija koja je u službi ostalih aroma i okusa, te teksture. [6] [7]

Pjena u pivi je jedna od sastavnica koja je dobila na važnosti sukladno sa razvijanjem tehnologije izrade piva. Glavnu ulogu u njenom formiranju imaju proteini srednje-lančanih

duljina, a također su i glavni faktori u retenciji pивske pjene. Naime, zbog svojeg jedinstvenog vezanja takvih proteina, međusobno stvaraju površinsku napetost određene jačine, čija je glavna uloga što dulje opstati i biti što gušćeg karaktera. Naravno, specifikacije su uglavnom određene stilom, ali nikada nije na odmet imati kvalitetnu pjenu. [6] [7]

Boja je većinski produkt slađenja, kuhanja i filtracije. Iz slađenja i njegove termičke obrade, te kuhanja dobivaju se već spomenuti melanoidi koji jako utječu na nijansu i boju. Ovisno o tipu i procesu slađenja, takva će biti glavna nota boje, što je gotovo uvijek pokazatelj odabranog recepta mješavine sladova, kvalitete izvedbe i sukladnosti sa stilom. Tijelo pive je uglavnom određeno sladnim ekstraktom koji podrazumjeva nefermentabilni ostatak kompleksnih šećera i količinu suspendiranih proteina, koje svojom teksturom daju posebnu dimenziju okusa u usnoj šupljini [6]

Zaključno sa segmentima sensorike piva, treba predstaviti neke od predstavnika nepoželjnih aroma kako bi lakše razumjeli što točno i zašto ne pripada u dozvoljene kriterije. Naime, većina neželjenih aroma ima vrlo malu graničnu vrijednost osjeta, čime se lako postiže loša kvaliteta proizvoda, unatoč tome što je on prehrambeno ispravan. [7] [5]

Okusi metalnog karaktera koji podsjećaju na okus krvi i željeza mogu biti nusprodukti oksidacije sladovine na hladnoj strani, te češće iz otopljenih soli željeza u vodi. Granična vrijednost osjeta je 0,15 ppm. [7]

Siraste arome dolaze od izo-valerične kiseline, koji su okarakterizirani neugodnim mirisima pljesnivih sireva i vonja nogu. Potječu od nepravilnog skladištenja sirovine hmelja, a ponekad se mogu i očitati kao indikator bakterijske infekcije. Ova nepoželjna aroma je rijedeg tipa. Granična vrijednost osjeta je 0,70 ppm. [7]

Arome koje podsjećaju na fermentirani kupus i imaju sulfidni karakter, dolaze od dimetil sulfida (DMS), a nastaje prilikom već spomenute konverzije s-metilmationina u DMS. Ponekad su male vrijednosti dozvoljene, ali nikada nebi trebale prelaziti graničnu vrijednost osjeta od 50 ppb. [7]

Produkti oksidacije su prvi simptomi lošeg pakiranja ili predugog skladištenja na toplom. Općenito su i jedan od prvih znakova kvarenja nakon datuma isteka roka trajanja. Dolaze od trans-2-nonenala i imaju okus po kartonu i papiru. Granična vrijednost osjeta je 0,05 ppb. [7]

Diacetil je već spomenut kroz rad i okarakteriziran je sa maslačnom aromom koja dolazi od stresne fermentacije, dok u većim količinama zna biti pokazatelj bakterijske infekcije.

Granična vrijednost okusa je 0,30 ppm [7]

Etilacetat ima solventske karakteristike arome i nastaje u inicijalnoj fazi fermentacije u kojem se sintetiziraju višemasne kiseline i steroli. Mogući je pokazatelj bakterijske infekcije bakterijom *Acetobacter*. Granična vrijednost okusa je 18 ppm. [5] [7]

Acetaldehid je aroma koja podsjeća na okus zelene jabuke i vezan je uz metabolički proces kvasca u jednoj od sporednih reakcija prije nastajanja piruvata potrebnog za nastajanje alkohola etanola. Pokazatelj je ne sazrijeelog piva, a može se riješiti nastavljanjem fermentacije ukoliko nije inhibiran rad kvasca ili procesom nadodavanja vrha sladovine iz nekog od paralelnih reaktora kako bi stimulirali ponovni rad kvasca (*njem. Krausen*). Granična vrijednost osjeta je 10 ppm. [5] [7]

Arome ljepila i dezinfekcijskog sredstva uzrokuju klorofenoli nastali u fermentaciji zbog suviška klora. Granična vrijednost osjeta je 0,5 ppb. [7]

Miris paljenje gume je uzrokovan metilmerkaptanom ili isopentilmerkaptanom koji je prekursor izo-humulona izloženim jakim svjetlom. Nastaje kao posljedica neadekvatne ambalaže. Granična vrijednost osjeta je 0,05 ppb. [5] [7]

#### 4. ZAKLJUČAK

Proizvodnja pive je kompleksan proces u kojemu se odvija veliki broj različitih interdisciplinarnih fenomena. Od biokemijskih procesa i kemijskih pretvorbi, do raznih tehnoloških operacija separacije i toplinskih izmjena. Piva nastaje kao kvascem fermentirani ekstrakt jednog od najkompleksnijih prehrambenih sirovina– žitarica. Cijela proizvodnja sladovine je šaržnog tipa u kotlastom reaktoru, dok su fermentacija i odležavanje u izoliranim reaktorima koji u sebi sadrže plašt namijenjen za hlađenje i održavanje potrebne temperature. Tijekom izrade postoji niz parametara koji utječu na veliki broj segmenata odjednom, te je to kombinacija više paralelnih reakcija koje se trebaju odvijati skladno kako bi postigli visoku kvalitetu produkta bez neželjenih nusproizvoda. Velika većina industrijskih izvedbi je često iskustvenog tipa, što danas daje veliku prednost na tržištu, s obzirom da postoji puno prostora za rast kvalitete. Danas je pivo jedan od sastavnih čimbenika svakodnevne prehrane, te je ujedno i jedno od najstabilnijih prehrambenih proizvoda, uz pravilno skladištenje.

## 5. LITERATURA

1. Palmer J., Kaminski C. (2013) *Water: A Comprehensive Guide For Brewers*. A Division of the Brewers Association. Boulder, Colorado: Brewers Publications. 42 – 91 str; 65 – 118 str.
2. White C., Zainasheff J. (2010) *Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation*. A Division of the Brewers Association. Boulder, Colorado: Brewers Publications. 10 – 41 str.
3. Hieronymus S. (2012) *For The Love Of Hops: The Practical Guide to Aroma, Bitterness and the Culture of Hops*, A Division of the Brewers Association, Brewers Publications, Boulder, Colorado. 15 – 45; 131 – 205 str.
4. Mallet J. (2014) *Malt: A Practical Guide from Field to Brewhouse*. A Division of the Brewers Association. Boulder, Colorado: Natl Book Network; Brewers Publications. 35 - 52; 75 – 100 str.
5. Fix G. (1999;2015) *Principles of Brewing Science: A Study of Serious Brewing Issues, Second Edition*. A Division of the Brewers Association. Boulder, Colorado: Brewers Publications. 2 – 120; 141 – 156; 157 – 174 str.
6. Daniels R. (1996;2000) *Designing Great Beers: The Ultimate Guide to Brewing Classic Beer Styles*. A Division of the Brewers Association. Boulder, Colorado: Brewers Publications. 7 – 121 str.
7. Mosher R., Calagione S. (2009) *Tasting Beer: An Insider's Guide to the World's greatest Drink*. North Adams: Storey Publishing. 28 – 114 str.
8. De Keukeleire D. *Fundamentals of Beer and Hop Chemistry*, Química Nova, 2000.
9. Kunze W. *Technology Brewing and Malting*, Berlin: VLB, 1996.
10. A. Rushton, A. S. Ward, R. G. Holdich, *Solid-Liquid Filtration and Separation Technology, Second Edition*, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, 2000. 2 – 11; 35 – 40 str.
11. *IBD: Module 1.1. Brewing Raw Materials 1.1.1. Malt*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017
12. *IBD: Module 1.1 Brewing Raw Materials, 1.1.2 Adjuncts, 1.1.3 Water, 1.1.4 Hops*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017



13. *IBD: Module 1.2. Milling*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017
14. *IBD: Module 1.3. Mashing and Wort Separation*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017
15. *IBD: Module 1.4 Wort Boiling*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017
16. *IBD: Module 1.5 Wort Clarification, Cooling and Oxygenation*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017
17. *IBD: Module 2.2.1 Yeast Fundamentals 2.1.1 Yeast Morphology 2.1.2 Characteristics of Brewing Yeasts*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017
18. *IBD: Module 2.7.1. Quality management 2.7.2. Laboratory Analysis 2.7.3 Sensory Analysis*, The Institute of Brewing & Distilling, 2017
19. <https://wiki.anton-paar.com/en/multiple-volume-expansion-method/>
- Tablice:
1. Tablica; [https://www.researchgate.net/figure/Enzyme-Activities-of-Malts-Produced-from-a-Variety-of-Grains-a\\_tbl1\\_282686714](https://www.researchgate.net/figure/Enzyme-Activities-of-Malts-Produced-from-a-Variety-of-Grains-a_tbl1_282686714)
2. Tablica; vidi referencu 12; 22 str.
3. Tablica; [https://www.researchgate.net/figure/Enzymes-in-barley-and-barley-malt-1-7-166-167\\_tbl1\\_226773564](https://www.researchgate.net/figure/Enzymes-in-barley-and-barley-malt-1-7-166-167_tbl1_226773564)
4. Tablica; <https://www.ignite.beer/what-influences-beer-color/>
- Slike:
- Slika 1; vidi referencu 11; 9 str.
- Slika 2; <https://fermentaholics.com/product-category/beer-brewing/brewing-ingredients-supplies/hops-for-brewing-beer-brewing-ingredients-supplies/>
- Slika 3; vidi referencu 13; 7 str.
- Slika 4; vidi referencu 14;
- Slika 5; *Solid - Liquid Separations Pharmaceutical API Process Development and Design*, Powerpoint prezentacija, 7 slajd.
- Slika 6; <https://alchemyoverlord.wordpress.com/2016/03/06/an-analysis-of-sub-boiling-hop-utilization/>
- Slika 7; <https://letina.com/hr/inox-bacve/pivarske-bacve/zb-cilindro-konicni-fermentor/>