Optimiranje postupka namakanja i klijanja golozrnog ječma

Kotris, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:556009

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Maja Kotris

OPTIMIRANJE POSTUPKA NAMAKANJA I KLIJANJA GOLOZRNOG JEČMA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za Procesno inženjerstvo
Katedra za Bioprocesno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjertvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Biotehnološka proizvodnja hrane
Tema rada je prihvaćena na IX. Redovitoj sjednici fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 27. lipnja 2019.
Mentor: prof. dr. sc. Vinko Krstanović
Pomoć pri izradi: dr. sc. Gordana šimić, znan. savj.

Optimiranje postupka namakanja i klijanja golozrnog ječma

Maja Kotris, 0113138070

Sažetak:
Cilj rada bio je ustanoviti optimalnu shemu za namakanje i klijanje zrna kod koje se dobivaju najpovoljnije vrijednosti utjecaja navedenih procesnih faktora na uspješnost citolitičke razgradnje golozrnog ječma. Provedena su tri različita postupaka namakanja i klijanja zrna (s obzirom na duljinu trajanja, temperaturu i aeraciju u pojedinim fazama procesa) radi procjene uspješnosti pojedinog postupka s obzirom na postavljeni cilj. Određena je moć bubrenja pojedine sorte (Osvit i Mandatar), te su analizirani gotovi sladovi. Ustanovljeno je da temperatura namakanja značajno utječe na moć bubrenja golozrnog ječma tako da povećava moć bubrenja i ubrzava dosezanje maksimuma povećanja udjela vode u zrnu. Porastom temperature namakanja dolazi do porasta udjela ekstrakta, razlike ekstrakta i pH kongresne sladovine. Viskoznost sladovine najprije pada s porastom temperature namakanja, a potom s njezinim daljnjim porastom raste do neprihvatljivih vrijednosti uslijed početka djelovanja β-glukanaznog kompleksa i otapanja škroba. Najbolje rezultate za pokazatelje uspješnosti citolitičke razgradnje zrna dao je Postupak slađenja 1. Sorta Osvit daje sladove boljih svojstava u odnosu na sortu Mandatar po sva tri postupka slađenja.

Ključne riječi: golozrni ječam, moć bubrenja, citolitička razgradnja

Rad sadrži: 41 stranica
19 slika
6 tablica
0 priloga
22 literaturnih reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1. izv. prof. dr. sc. Jasmina Lukinac — predsjednik
2. prof. dr. sc. Vinko Krstanović — član-mentor
3. dr. sc. Gordana šimić, znan. savj. — član
4. doc. dr. sc. Kristina Mastanjević — zamjena člana

Datum obrane: 8. srpnja, 2020

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of process Engineering
Subdepartment of Bioprocess Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program of Food engineering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Biotechnological production of food
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. XI. held on June 27, 2019.
Mentor: Vinko Krstanović, PhD, prof.
Technical assistance: Gordana Šimić, PhD, scientific adviser

Optimization of steeping and germination procedure of hulless barley

Maja Kotris, 0113138070

Summary:
The aim of this research was to determine the optimal soaking and germination of grains scheme in which the most favourable values of the influence of cited process factors on the success of cytolytic degradation of the grain were obtained. To evaluate the success of each process to meet the set goal, three different soaking and germination procedures have been conducted (considering the length of time, temperature and aeration at different stages of the procedure). The swelling capacity of each variety (Osvit and Mandatar) was determined and finished malts were analysed. It has been established that soaking temperature has significant impact to the swelling power of bare barley by increasing swelling power and speeds up the maximum of increasing the water content of the grain. Increasing the soaking temperature leads to an increase in the content of the extract, extract differences and the pH value of the congress mash. With increasing soaking temperature the viscosity of the mash decreases and as it continues to grow, it grows to unacceptable values what is resulted by initial action of the β-glucanase complex and starch dissolution. The best results for the indicators of the success of cytolytic degradation was given by malting procedure 1. The Osvit variety gives malts better properties than the Mandatar variety by all three malting procedures.

Key words: naked barley, swelling capacity, cytolitic degradation

Thesis contains:
41 pages
19 figures
6 tables
0 supplements
22 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Jasmina Lukinac*, PhD, associate prof. — chair person
2. *Vinko Krstanović*, PhD, prof. — supervisor
3. *Gordana Šimić*, PhD, scientific adviser — member
4. *Kristina Mastanjević*, PhD, prof. assistant prof. — stand-in

Defense date: July 08, 2020.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek

Zahvaljujem se svojem mentoru prof. dr. sc. Vinku Krstanoviću na uloženom trudu, pomoći i korisnim savjetima tijekom izrade diplomskog rada. Također se zahvaljujem svojim roditeljima što su mi omogućili školovanje.

Sadržaj

1. UVOD **1**

2. TEORIJSKI DIO **3**

2.1. PIVARSKI JEČAM **4**

2.1.1. Građa ječmenog zrna 4

2.1.2. Kemijski sastav ječmenog zrna 5

2.2. GOLOZRNI JEČAM **7**

2.2.1. Sorta Osvit 8

2.3. MIKROSLAĐENJE **9**

2.4. MOČENJE I KLIJANJE ZRNA **10**

2.4.1. Promjene u zrnu tijekom močenja 10

2.4.2. Promjene u zrnu tijekom klijanja 12

3. EKSPERIMENTALNI DIO **14**

3.1. ZADATAK **15**

3.2. MATERIJAL I METODE **15**

3.2.1. Materijal 15

3.2.2. Metode 15

4. REZULTATI I RASPRAVA **28**

4.1. REZULTATI **29**

4.1.1. ODREĐIVANJE MOĆI BUBRENJA 29

4.1.2.MIKROSLAĐENJE 30

4.2. RASPRAVA **33**

4.2.1. Moć bubrenja i pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje 33

4.2.2. Mikroslađenje i i pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje 35

5. ZAKLJUČCI **37**

6. LITERATURA **39**

1. UVOD

U posljednjih nekoliko godina, u svijetu raste interes za upotrebom golozrnog ječma u prehrambenoj industriji, zbog svoje visoke nutritivne vrijednosti i karakteristične neslijepljene pljevice tijekom pune zrelosti, koja opada tijekom žetve. Takva zrna se ne moraju naknadno obrađivati što predstavlja ekonomsku prednost tijekom transporta, obrade i skladištenja.

U pivarstvu upotreba golozrne sorte ječma predstavlja niz prednosti. Zrna imaju povišeni udio ekstrakta koji je odgovoran za nastali udio etanola i punoću gotovog piva. Odsutnošću pljevice je spriječena ekstrakcija tanina i polifenolnih tvari koji smanjuju kvalitetu piva.

Uz niz prednosti, golozrni ječam ima i niz nedostataka. Zrna su bogata β-glukanima koji otežavaju citolitičku razgradnju, koja rezultira smanjenom količinom ekstrakta, kao posljedica otežane hidrolize škroba iz endosperma. Smanjena je i fermentabilnost zrna.

Lošija citolitička razgradnje otežava i sposobnost upijanja vode u odnosu na standardni pivski ječam. Cilj močenja zrna je postići vlažnost od 45 do 48 % kako bi se postigla željena modifikacija zrna, ravnomjerno klijanje, kvalitetan slad i nastajanje ekstrakta.

U ovom radu su provedena tri različita postupka namakanja i klijanja zrna, kako bi se ustanovila optimalna shema kojom su dobivene najpovoljnije vrijednosti utjecaja procesnih faktora na uspješnost citolitičke razgradnje. Kombinacijom procesnih faktora (duljina trajanja, temperatura i jačina aeracije) u pojedinim fazama postupka moguće je značajno utjecati na poboljšanje sposobnosti bubrenja, a samim time i na kvalitetu gotovog slada.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PIVARSKI JEČAM

Osnovna sirovina u proizvodnji piva je ječam (lat. *Hordeum sativum*) koji pripada porodici trava (*Poaceae*), (Gaćeša, 1979.).

Ovisno o broju redova na klasu razlikuju se tri podvrste ječma:

- Hordeum distichum (dvoredni ječam),
- Hordeum intermedium (četveroredni ili nepravilno šesteroredni),
- Hordeum vulgare (šesteroredni ječam).

Ovisno o vremenu žetve razlikuju se dvije vrste ječma:

- Jari ječam (sije se u ožujku ili travnju),
- Ozimi ječam (sije se sredinom rujna), (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Pivarski ječam je uzgajan oko 6 000 godina p.n.e. te se smatra da je podrijetlom sa Srednjeg istoka (Marić, 1995.). Žitarica se vrlo lako prilagođava rastu u područjima s ekstremnim klimatskim uvjetima, stoga se može uzgajati u područjima na većim nadmorskim visinama i geografskim širinama kao i pustinjskim uvjetima (Lalić i sur., 2018.). Unatoč prilagodljivosti rasta u različitim klimatskim uvjetima, postoje različite sorte ječma na kojima se provodi selekcija kako bi se postigao što veći prinos, otpornost na različite bolesti i štetočine te željena kvaliteta zrna (Gaćeša, 1979.). Vremenski uvjeti također utječu na kvalitetu i promjenu kemijskog sastava zrna. Tako, na primjer sunčano, suho i toplo vrijeme povećavaju sadržaj bjelančevina, dok oblačno vrijeme uz povećanu vlažnost povoljno utječu na stvaranje škroba. Poželjan udio proteina je od 9 do 11 %, udio škroba od 63 do 66 %, prinos ekstrakta veći od 78 % i vlažnost zrna ne manja od 13 % (Kovačević i Rastija, 2014.).

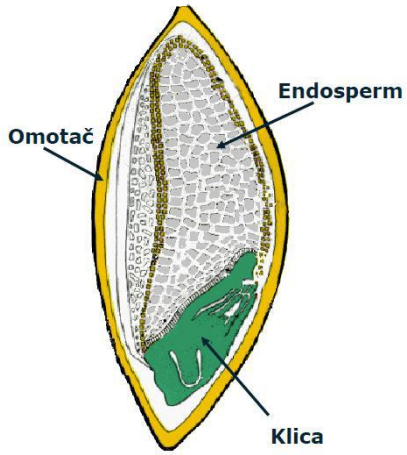
2.1.1. Građa ječmenog zrna

Unutrašnjost zrna se sastoji iz tri osnovna dijela: omotača, endosperma i klice.

Omotač zauzima 12-15 % od ukupne mase zrna. Sastoji se od vanjskog (perikarpa) i unutarnjeg (perisperma) dijela. Uloga mu je štititi unutrašnjost zrna i klicu. Tijekom faze klijanja upija vodu, te omogućuje bubrenje zrna (Kovačević i Rastija, 2014.).

Endosperm čini 80-90 % od ukupne mase zrna. Izvor je rezervnih hranjivih tvari za rast klice. Sastoji se od staničnih stijenki u kojima se nalaze škrobna zrnca. Uz površinu je aleuronski sloj u kojem se nalaze aleuronska zrna koja sadrže bjelančevine, pigmente, enzime i ulja. U proizvodnji piva, endosperm je glavni izvor ekstrakta.

Klica (embrio) čini 2,8-5 % dijela zrna. Između endosperma i klice je polupropusna opna tzv. štitić (scutum) koji omogućuje prijenos hranjivih tvari iz endosperma u klicu. Tijekom faze klijanja nastaju tvari koje provode sintezu enzima. Nastali enzimi prelaze u endosperm gdje razgrađuju rezervne hranjive tvari (Kovačević i Rastija, 2014; Gaćeša, 1979.).



Slika 1 Uzdužni presjek ječmenog zrna (Koceva-Komlenić i sur., 2017.)

2.1.2. Kemijski sastav ječmenog zrna

Tablica 1 Prosječni kemijski sastav suhe tvari ječma (Kunze, 1998.)

Ugljikohidrati	70,0 – 85, 0 %
Bjelančevine	10,5 – 11,5 %
Mineralne tvari	2,0 – 4,0 %
Masti	1,5 – 2,0 %
Ostali sastojci	1,0 – 2,0 %

Najznačajniji ugljikohidrati su škrob, celuloza, hemiceluloza, gumaste tvari i šećeri. Imaju vrlo važnu ulogu tijekom prerade zrna i u kvaliteti gotovog proizvoda. Škrob čini od oko 50

do 56 % ukupnog udjela ugljikohidrata. Nalazi se u obliku škrobnih granula koje sjeme koristi kao rezervnu hranu tijekom mirovanja, klijanja i rasta. Škrobne granule su sastavljene od amiloze i amilopektina. Amiloza je linearni polisaharid koji se sastoji od 200 do 400 jedinica α-D glukoze povezanih α-(1,4) vezama. Amilopektin je razgranati polisaharid sastavljen od jedinica α-D glukoze povezanih α-(1,4) vezama, dok je na mjestima grananja (nakon 15 - 20 jedinica α-D glukoze) povezan α-(1,6) vezama (Kunze, 1998; Šubarić i sur., 2011.).

Celuloza je linearni polisaharid čije su glukozne jedinice, za razliku od amiloze, povezane β-(1,4) vezama. Zbog β položaja enzimi slada ju ne mogu razgraditi, te kao takva nema utjecaj na kvalitetu piva.

Hemiceluloza se sastoji od β-glukana (80 – 90 %) i pentozana i osnovni je sastojak staničnih stijenki endosperma (Kunze, 1998.).

β-glukani su sastavljeni od glukoznih jedinica povezanih β-(1,4) i β-(1,3) vezama. Ostaci nerazgrađenih β-glukana tijekom postupka slađenja rezultiraju nastankom β-glukanskog gela, što kasnije otežava cijeđenje sladovine i filtraciju piva (Marić, 2009.).

Bjelančevine imaju negativan utjecaj na bistroću piva, iako njihov udjel nije velik. Talog nastaje uslijed denaturacije proteina djelovanjem topline ili u reakcijama proteina s drugim sastojcima sladovine, što rezultira zamućenjem i kvarenjem piva. Najznančajniji proteini (prema Osbornu) su: glutelini (30 %), globulini (15 %), prolamini (37 %) i albumini (11 %) (Gaćeša, 1979; Kunze, 1998.).

Masti se najvećim dijelom nalaze u aleuronskom sloju (90 %) i klici. Najvećim dijelom su zastupljeni trigliceridi (65 %), te manja količina derivata (lipoidi, glikolipidi i fosfolipidi). Kod nepravilnog skladištenja zrna može doći do hidrolize masti i nastanka slobodnih m.k. Njihova prisutnost uzrokuje smanjenje pjenušavosti piva (Gaćeša, 1979; Leskošek-Čukalović, 2002.).

Od mineralnih tvari, prisutni su fosfati, sulfati, silikati, kalij, magnezij, kalcij, natrij i željezo, a od vitamina B1, B2, C i E, koji su važni za održavanje životnih funkcija. U ostale sastojke spadaju gorke taninske tvari (polifenoli), koje se najvećim dijelom nalaze u pljevici zrna. Karakterizira ih dobra topljivost u vodi. (Gaćeša, 1979; Gagula, 2013.).

2.2. GOLOZRNI JEČAM

Golozrni ječam (*Hordeum vulgare var. nudum*), u usporedbi sa ostalim sortama, nema slijepljenu pljevicu s zrnom tijekom pune zrelosti, te ona otpada pri žetvi. Stoga se golozrni ječam ne mora naknadno obrađivati što predstavlja prednost tijekom transporta, obrade i skladištenja (Lalić i sur., 2018.).



Slika 2 Zrna ječma pljevičaste forme (Lalić i sur., 2018.)



Slika 3 Zrna golozrnog ječma (Lalić i sur., 2018.)

U pljevici se nalaze specifični polisaharidi, tanini i ostali polifenoli, koji se tijekom različitih procesa obrade ne mogu ekstrahirati. Stoga njeno odsustvo predstavlja niz prednosti, poput nemogućnosti uranjene flokulacije kvasca tijekom procesa fermentacije, poboljšanje kvalitete piva itd. Unatoč pozitivnim svojstvima odsutne pljevice, tijekom rukovanja i slađenja može doći do oštećenja embrija i slabije modifikacije endosperma. Oštećena klica rezultira nepotpunim klijanjem, dok slabija modifikacija endosperma rezultira ograničenom hidrolizom škroba (Krstanović i sur., 2016).

Zemlje Istočne Azije kao što su Kina, Koreja, Japan te sjeverni dijelovi Nepala, Pakistana i Indije koriste golozrni ječam u svojoj prehrani, dok u Republici Hrvatskoj nije još prepoznata mogućnost njegove upotrebe (Taketa i sur., 2008; Lalić i sur., 2018.).

Golozrni ječam ima povišeni udio ekstrakta i β-glukana, u odnosu na ostale sorte ječma. O količini i kemijskom sastavu ekstrakta ovisi uspješnost enzimske hidrolize i udio nastalog etanola, dok o prinosu ekstrakta iz slada ovise okus, boja, punoća i jakost piva (Marić, 2009.; Kovačević i Rastija, 2014.).

Zrna sadrže 25-70 g/kg topljivih vlakana, koji pripadaju skupini β-glukana i koji pozitivno djeluju na zdravlje. Reguliraju sadržaj šećera u krvi, snižavaju LDL kolesterol u krvnoj plazmi, reguliraju tjelesnu masu i smanjuju rizik od kardiovaskularnih oboljenja (Oljača i sur., 2009.). Unatoč pozitivnom djelovanju na zdravlje, β-glukani imaju negativan utjecaj na kvalitetu slada. Otežavaju proces citolitičke razgradnje, te smanjuju udio ekstrakta i fermentabilnost zrna. Negativno djeluju i na procese tijekom proizvodnje, kao što su ometanje normalnog vrenja sladovine, otežano filtriranje i smanjenje koloidne stabilnosti piva (Magdić, 2017).

Karakterizira ih i viši udio proteina koji otežavaju modifikaciju zrna ječma tijekom slađenja (Vacek, 2014.).

2.2.1. Sorta Osvit

Ječam Osvit pripada skupini ozimog dvorednog golozrnog ječma, čija je stabljika visine oko 85 cm, dok čvrstoća i elastičnost rezultira dobrom otpornošću na polijeganje. Sorta je srednje rana, koja postiže rodnost višu od 9 t/ha, te dobro podnosi zimske nepogode, sušu i rasprostranjene bolesti. Osvit ima dobar koeficijent produktivnog busanja, čime je moguće ostvariti oko 900 klasova/m^2 i sjetvu od 400 do 450 klijavih zrna/m^2. Zrno je pogodno za stočarsku proizvodnju i ljudsku prehranu, dok u pivarstvu predstavlja problem zbog povećanog udjela β-glukana. Udio proteina u zrnu je od 12 do 14 %. Sorta je priznata 2014. godine od strane Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (Lalić i sur., 2018).

2.2.2. Sorta Mandatar

Sorta Mandatar također pripada sorti ozimog dvorednog golozrnog ječma namijenjena potrebama ljudske prehrane i stočarstva. Sorta je priznata 15. rujna 2017. godine od strane Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Visina stabljike je oko 90 cm. Vrlo dobru otpornost ima na niske temperature, sušu i polijeganje. Kako ima dobar koeficijent produktivnog busanja, moguće je ostvariti oko 900 klasova/m^2. Sorta ima povećan udio β-glukana, te viši udio proteina (13-16 %), (Lalić i sur., 2018.).



Slika 4 Sorte Osvit i Mandatar

2.3. MIKROSLAĐENJE

Kako bi se mogli utvrditi optimalni uvjeti za močenje i klijanje zrna, provodi se postupak mikroslađenja koji se odvija u tri faze. U 1. fazi se zrna moče do željene vrijednosti vlage. Slijedi 2. faza ili faza klijanja koja se provodi u kontroliranim uvjetima. U zadnjoj fazi se dobiveni „zeleni slad“ suši u struji toplog zraka (Hough i sur., 1976.). Dobiveni slad se analizira, kako bi se utvrdila kvaliteta upotrebljenog ječma.

Tablica 2 Pokazatelji kvalitete dobrog pivarskog slada (Kunze, 2010; Leskošek-Čukalović, 2002.)

Ekstrakt	> 82 %
Razlika ekstrakta	1,2 – 1,8 %
pH sladovine	5,6 – 5,9
Viskoznost sladovine	< 1,55 mPxs
Boja sladovine po EBC	< 3,4 jedinice po EBC
Boja nakon kuhanja	< 5 jedinica po EBC
Bistroća	Bistar
Vrijeme ošećerenja (min)	Svijetli slad: 10 – 15 min Tamni slad: 20 – 30 min
Vrijeme cijeđenja (min)	Do 60 min

U poglavlju 2.4. su detaljno opisane faze i promjene u zrnu tijekom močenja i klijanja.

2.4. MOČENJE I KLIJANJE ZRNA

Uskladišteno zrno je živo, ali se životni procesi u njemu odvijaju jako sporo. Da bi zrno iz stanja anabioze prešlo u stanje aktivnog života, potrebno je provesti proces močenja. Uz aktivaciju zrna, cilj močenja je i postići fiziološko stanje zrna koje će osigurati ravnomjerno i ujednačeno klijanje. U fazi klijanja se nastavljaju transformacije u zrnu započete u fazi močenja. Formira se i enzimski potencijal zrna. Nastali enzimi (citolitički, amilolitički i proteolitički) će kasnije tijekom procesa varenja piva vršiti razgradnju sastojaka zrna (Gaćeša, 1979; Leskošek-Čukalović, 2002.).

Prethodno očišćeni i sortirani ječam se moči u močionicima (velike posude za močenje), uz neophodno prozračivanje, kako bi se postigla vlažnost zrna od 45 do 48 %. Proces najčešće traje oko 3 dana. Nakon močenja slijedi faza klijanja, koja traje 6-7 dana pri temperaturama od 15 do 22°C. Klijanje se odvija u bubanjskim ili ormarskim klijalištima. Na dnu klijališta se formiraju korjenčići, a na vrhu lisna klica (Marić, 1995.).

2.4.1. Promjene u zrnu tijekom močenja

Tijekom močenja zrna, odvijaju se različite promjene poput fizioloških, biokemijskih i fizikalnih. Fiziološke promjene u zrnu uključuju aktivaciju i rast klice. Povećanje volumena zrna, odnosno bubrenje usred upijanja vode rezultira fizikalnim promjenama. Biokemijske promjene se odnose na hidrolizu rezervnih tvari poput škroba i bjelančevina (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Tijekom močenja, voda prodire u unutrašnjost zrna kroz kapilare i pukotine na trbušnoj strani u blizini embrija i kroz embrij (Hough i sur., 1971.). Da bi zrna primila određenu količinu vlage, potrebno je osigurati dovoljnu količinu kisika kako ne bi došlo do intermolekularnog disanja, a time i uginuća zrna. Otopljeni kisik u vodi se brzo potroši, dok se nastali CO_2 spusti na dno posude. Stoga su vrlo važni prekidi močenja i što duže ostavljanje zrna na zraku (Kunze, 1998.).

U prvoj fazi močenja je ubrzano primanje vlage zbog razlike u osmotskom tlaku, uslijed visoke koncentracije šećera u zoni oko klice. Voda dalje prolazi kroz endosperm ka njegovom centru, koji se posljednji vlaži. Zrna povećavaju volumen za oko 30 - 50 %. Nakon određenog vremena, brzina porasta vlage opada, kako se približava vrijednosti granične vlažnosti.

Na brzinu i tijek močenja utječu: temperatura, veličina zrna i oblik, kemijski sastav vode, sadržaj O_2 .

Temperatura

Što je viša temperatura vode za močenje, vlaga u zrnu će rasti brže. Više temperature povećavaju mogućnost rasta mikroorganizama i dobivanje slada smanjene kvalitete. Također dolazi do smanjenja gubitka suhe tvari, sadržaja ekstrakta i porasta viskoznosti sladovine. Stoga se za močenje koriste temperature od 10 do 18°C .

Veličina zrna i oblik

Što je zrno sitnije, to je brži porast vlage. Kod zrna različitog oblika i veličine, primanje vlage nije jednoliko, što rezultira različitim stupnjem namočenosti, promijenjenoj kvaliteti slada i neravnomjernom klijanju.

Kem. sastav vode

Ioni (Na^+, Fe^{2+}, SO_4^{2-}, NO_2^-) prisutni u vodi mogu negativno djelovati na tijek slađenja i kvalitetu slada. Na^+ ioni djeluju inhibitorno na klijanje. Sivkasta boja slada je rezultat djelovanja Fe^{2+} iona. SO_4^{2-} usporavaju difuziju vode u zrnu, što rezultira neravnomjernim klijanjem. NO_2^- uzrokuju nepoželjne promjene u endospermu zrna.

Voda mora biti bistra, bez boje, mirisa i suspendiranih tvari.

Sadržaj O_2

Povećanjem vlage zrno intenzivnije diše i troši kisik pri čemu nastaje CO_2. Kada se potroši otopljeni kisik, zrno prelazi na anaerobno disanje. Takvim disanjem nastaje alkohol i drugi spojevi, koji negativno djeluju na zrna, kao i tijek močenja. Odsutnost kisika potiče i pojavu intramolekularnog disanja koje oštećuje klicu, te može nastati i esterski kiseo miris. Stoga je vrlo važno osigurati dovoljnu količinu kisika, odnosno vršiti aeraciju ili provjetravanje zrna. Aeracijom se postiže i lakši prodor vode, brže upijanje vode, skraćeno vrijeme močenja i izbijanje klice tijekom faze močenja (Gaćeša, 1979; Leskošek-Čukalović, 2002.).

2.4.2. Promjene u zrnu tijekom klijanja

U fazi klijanja nastavlja se rast klice, nastaju enzimi i transformiraju se sastojci zrna (Kunze, 1998.).

Klica nastavlja svoj rast i probija opnu sjemena, te izbija na mjestu gdje je zrno bilo pričvršćeno na klas. Kasnije izbijaju bočni korjenčići. Nakon završetka klijanja duljina klice je 1,5-2 puta veća od početne dužine zrna.

Lisna klica, nakon probijanja opne ploda, nastavlja svoj rast ispod leđne strane pljevice. Nakon završetka klijanja, dužina joj je od 2/3 do 1 dužine zrna (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Tijekom klijanja dolazi do aktivacije citolitičkih, proteolitičkih i amilolitičkih enzima. Aktivirani enzimi djeluju na pojedine sastojke zrna, što rezultira razgradnjom staničnih stijenki endosperma i makromolekularnih sastojaka zrna (Gagula, 2013.).

Citolitički enzimi razgrađuju stanićne stijenke endospermam, koji su po strukturi celuloza i hemiceluloza. Najznačajniji enzim je endo-β-glukanaza koji razgrađuje β-glukan (Gaćeša, 1979.). Nakon citolitičke razgradnje, endosperm ječma prelazi u slad, koji se lako drobi i čije čestice prekrupe olakšano primaju vodu (Leskošek-Čukalović, 2002.). Ako nije postignuta dovoljna razgradnja staničnih stijenki endosperma, doći će do smanjenja količine ekstrakta, kao rezultat smanjene hidrolize škroba (Vacek, 2014.).

Proteolitički enzimi razgrađuju proteine do aminokiselina, dipeptida i polipeptida. Najznačajniji enzimi su endo-peptidaze (odvajaju molekulske lance po sredini) i egzo-

peptidaze (odvajaju po 1 aminokiselinu s kraja lanca), (Gaćeša, 1979.). Razgradnja proteina ima veliki utjecaj na kvalitetu slada. Produkti razgradnje u svom kemijskom sastavu sadrže dušik kojeg kvasci koriste tijekom procesa vrenja, dok u reakcijama s ugljikohidratima (Maillardove reakcije) tijekom sušenja slada utječu na boju, miris i okus (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Amilolitički enzimi razgrađuju škrob do dekstrina i jednostavnih šećera, koji su osnovni sastojci ekstrakta slada. Najznačajniji enzimi su α-amilaza i β-amilaza (Gaćeša, 1979.). Tijekom klijanja razgradi se oko 15-18 % škroba. Male granule škroba nestaju, dok velike granule dobivaju perforacije po površini, što rezultira smanjenom čvrstoćom zrna (Hough i sur., 1976; Leskošek-Čukalović, 2002.).

Tijekom klijanja, zrna intenzivno dišu, prilikom čega troše kisik i hranjive tvari uz oslobađanje CO_2 i topline. Takva zrna je potrebno hladiti. U industriji se hlađenje odvija pomoću zasićenog hladnog zraka kako bi se spriječilo isušivanje zrna (Gaćeša, 1979.).

Proces klijanja završava kada je endosperm razgrađen i kada je sintetizirana dovoljna količina enzima, za daljnje procese proizvodnje gotovog piva. Da bi se odredio točan završetak faze klijanja, vrši se analiza dobivenog slada (Gaćeša, 1979.).

Na sam proces klijanja mogu utjecati i pojedini faktori kao što su: temperatura, vlaga i prisutnost kisika.

Optimalna temperatura klijanja, s kojom je cilj postići željene promjene u zrnu je od 12 do 18°C. Na temperaturama nižim od 10°C se usporavaju disanje i rast klice, dok se na temperaturama višim od 20°C narušava ravnomjerno klijanje. Porast temperature klijanja utječe i na pojačan intenzitet disanja i rast klice, razvoj gljivica, gubitak suhe tvari, smanjenje udjela ekstrakta, smanjenu viskoznost i smanjenu aktivnost α-amilaze. Porast vlage utječe na brzinu razgradnje koja se povećava, kao i na ubrzan rast korjenčića i disanje zrna. Također, dolazi do porasta aktivnosti enzima α-amilaze, polifenola i topljivog dušika, dok se udio β-glukana smanjuje.

Kisik je neophodan za disanje zrna, te ono bez njega ne može intenzivno klijati. Kako tijekom klijanja nastaju enzimi koji provode razgradnju zrna, daljnje klijanje se odvija bez prisustva kisika. Zbog toga se mora provoditi kratkotrajno provjetravanje, kako bi se izbjegli gubici nastali zbog disanja i rasta klice (Gaćeša, 1979; Leskošek-Čukalović, 2002.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Golozrni ječam karakterizira otežano upijanje vode, kao posljedica lošije citolitičke razgradnje, u odnosu na standardni pivski ječam. Zadatak je bio ustanoviti optimalnu shemu namakanja i klijanja zrna kako bi se poboljšala sposobnost upijanja vode, odnosno citolitička razgradnja zrna. Provedena su tri različita postupka namakanja i klijanja zrna s obzirom na duljinu trajanja, temperaturu i aeraciju u pojedinim fazama. Dobiveni rezultati su uspoređeni s rezultatima iz znanstveno-stručne literature kako bi se procijenila uspješnost postupka. Analizirane sorte golozrnog ječma su Osvit i Mandatar.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Materijal

Za potrebe istraživanja pribavljeno je dorađeno (otpljevičeno i bez stranih primjesa) zrno dviju sorti golozrnog ječma iz sortnih pokusa (sorte Osvit i Mandatar) Poljoprivrednog instituta Osijek. Od sezone iz 2018. godine pribavljeno je 10 kg zrna od navedenih sorti. Da bi se spriječila posliježetvena pospanost tzv. „dormantnost“ zrna, očišćena i netretirana zrna su razvagana na po 1 kg te spremljena u papirnate vreće i čuvana do analize (oko 3 mjeseca). Kako bi se izbjegla moguća mikrobiološka kontaminacija zrna, izvršena je kontrola uzoraka na prisutnost *F. graminearuma* i *F. culmoruma* prema MEBAK analitici (metoda 2.6.)

3.2.2. Metode

U radu su najvećim dijelom korištene metode propisane u analitičkom priručniku EBC-a (European Brewery Convention, Analytica 5. ed. (1998) Fachverlag Hans Carl, Nürnberg), odnosno MEBAK-ovim analitičkim priručnicima (Middle European Brewing Analysis Commission), Brautechnische Analysenmethoden 3. ed. Band I (1997) i Band II (1993), Selbstverlag der MEBAK Freising-Weihenstephan).

Sve analitičke metode i postupci rada koji nisu provedeni prema ovim propisima su posebno istaknuti i obrazloženi.

3.2.2.1. Moć bubrenja

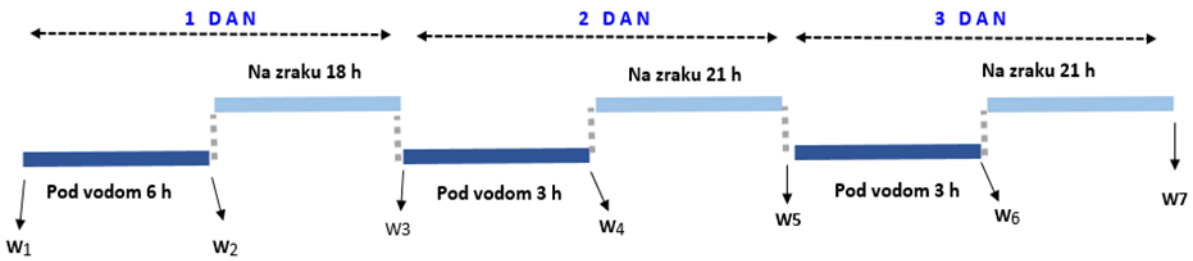
Enzimska aktivnost tijekom posliježetvenog dozrijevanja zrna utječe na sposobnost upijanja vode. Što je jača enzimska aktivnost to je i veća sposobnost vezanja vode, što na kraju rezultira boljom kvalitetom ječmenog slada. Cilj je tijekom močenja zrna ječma postići što veću količinu vlage u određenom vremenu (Mebak, 1997).

Aparatura i pribor:

- Raspodjeljivač uzoraka (EBC metoda)
- Klima komora (Climacell 222, test chamber, Medcenter Einrichtungen GmbH) = 15-17°C
- Sitasta korpica na tronošcu, od mjedene žice debljine 1 mm
- Polietilenska posuda za močenje
- Naborani filter papir, promjera 320 mm (kako bi se spriječilo isušivanje zrna uz rub, postavlja se u sitastu korpu)
- Vaga (točnost mjerenja od 0,1 g)

Postupak:

Raspodjeljivačem uzoraka se odvoji oko 60 g uzorka, zatim odvaže 50 g ječma i prenese u sitastu korpicu. Močenje zrna se odvija pri temperaturi od 15 do 17°C prema shemi prikazanoj na slici.



Slika 5 Shema određivanje moći bubrenja (MEBAK metoda 2.4.4.)

$w_1 ... w_n$ – vlažnost zrna

Ukupno trajanje močenja traje 72 h. Svakih 24 sata je potrebno odrediti vlagu. Prije vaganja se ukloni površinska vlaga hidrofilnim papirom , kako se ne bi dobio pogrešan rezultat.

Izračun:

Ukupna masa vode = namočeno zrno – suha masa zrna

Vlaga zrna = $\frac{ukupna\ masa\ vode\ x\ 100}{masa\ namočenog\ zrna}$

Ocjena rezultata:

< 45 % nezadovoljavajuća moć bubrenja

45-47,5 % zadovoljavajuća moć bubrenja

47,6-50 % dobra moć bubrenja

> 50 % vrlo dobra moć bubrenja

Uzorci: sorte golozrnog ječma Osvit i Mandatar

W_1 = početni udjel vode u zrnu;

W_2 = udjel vode nakon prvog namakanja pod vodom;

W_3 = prvo močenje (udjel vode nakon prvog namakanja pod vodom i stanke na zraku);

W_4 = udjel vode nakon drugog namakanja pod vodom;

W_5 = drugo močenje (udjel vode nakon drugog namakanja pod vodom i druge stanke na zraku);

W_6 = udjel vode nakon drugog namakanja pod vodom;

W_7 = treće močenje (udjel vode nakon trećeg namakanja pod vodom i treće stanke na zraku)



Slika 6 Močenje zrna



Slika 7 Odležavanje zrna na zraku



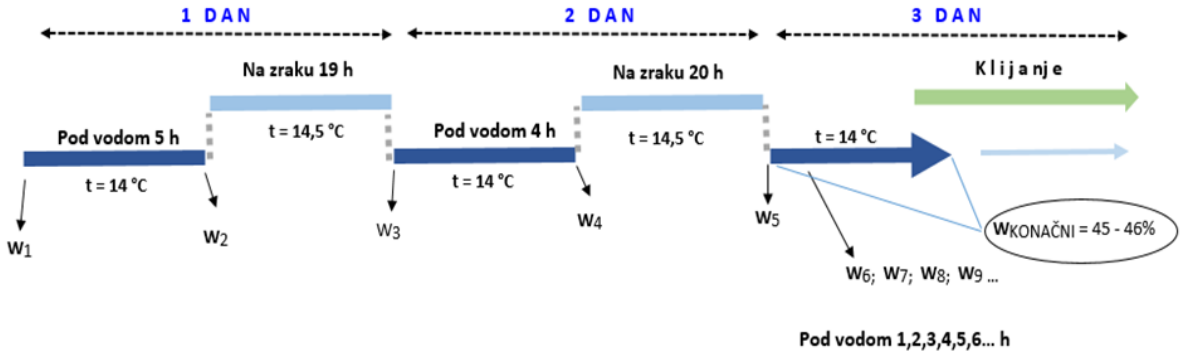
Slika 8 Močenje/odležavanje zrna u klima komori

3.2.2.2. Mikroslađenje

Standardni postupak mikroslađenja je usvojen 6. travnja 1971. od strane MEBAK-a (Srednjoeuropske komisije za pivarsku analitiku), kako bi se predvidio sadržaj ekstrakta i razvio standardni postupak slađenja za pivarski ječam (Mebak, 1997).

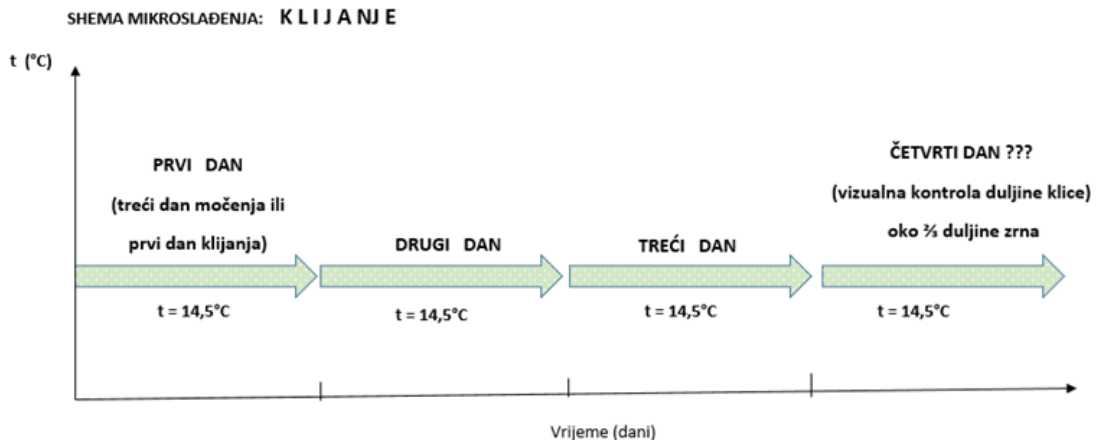
Postupak:

Prije postupka močenja potrebno je preraditi 1 kg šarže zračno suhog ječma. Koristi se samo ječam I klase, frakcija sa sita s otvorima 2,5 i 2,8 mm. Ječam III klase kao i primjese potrebno je odvojiti. Dobiven ječam I klase nakon uklanjanja stranih primjesa se dalje važe kako bi dobili masu ječma koja se preradila iz 1 kg šarže. Močenje ječma se odvija kombinacijom mokro-suhog postupka. Ukupno trajanje močenja je 72 sata, a temperatura vode i zraka su 14 ± 0,1°C. Cilj je postići stupanj namočenosti od 45%. Proces močenja odvija se prema shemi prikazanoj na slici.



Slika 9 Shema namakanja po postupku mikroslađenja MEBAK (2.5.3.1.)

Nakon močenja, slijedi faza klijanja koja traje 4 dana. Primjenjuje se „mirno“ ili pneumatsko klijanje. Temperatura vlažnog zraka za klijanje treba iznositi 14 ± 0,1°C dok temperatura zrna koje klija treba biti 14,5 ± 0,5°C. Relativna vlažnost zraka tijekom mirnog klijanja iznosi 95-98%, dok je prezasićena tijekom pneumatskog klijanja. Tijekom mirnog klijanja zrna je potrebno prevrtati 1 do 2 puta dok je tijekom klijanja zrna u bubnju potrebno navesti učestalost prevrtanja. Vlaga zelenog slada prije početka sušenja mora iznositi 45-45,5%. Shema klijanja prikazana je na **Slici 10.**



Slika 10 Shema klijanja po postupku mikroslađenja MEBAK (2.5.3.1.)

Slijedi faza sušenja koja se odvija prema shemi: 16 h/ 50°C (H2O < 10 %)
1h/60°C
1h/70°C
1h/80°c

U navedenom vremenu je uključeno vrijeme povišenja temperature. Temperatura se mjeri ispod rešetke, dok je dopušteno odstupanje temperature ± 1°C. Tijekom sušenja se ne smije koristiti zrak koji sadrži sumpor.

Na kraju, slad je potrebno očistiti, tako da se osigura potpuno uklanjanje korjenčića bez oštećenja pljevice.

Ukupno trajanje slađenja iznosi 191 h (oko 8 dana), od čega močenje traje 72 h (3 dana), klijanje 96 h (4 dana) i sušenje 23 h (oko 1 dan).

Za mikroslađenje se koriste sljedeći sustavi:

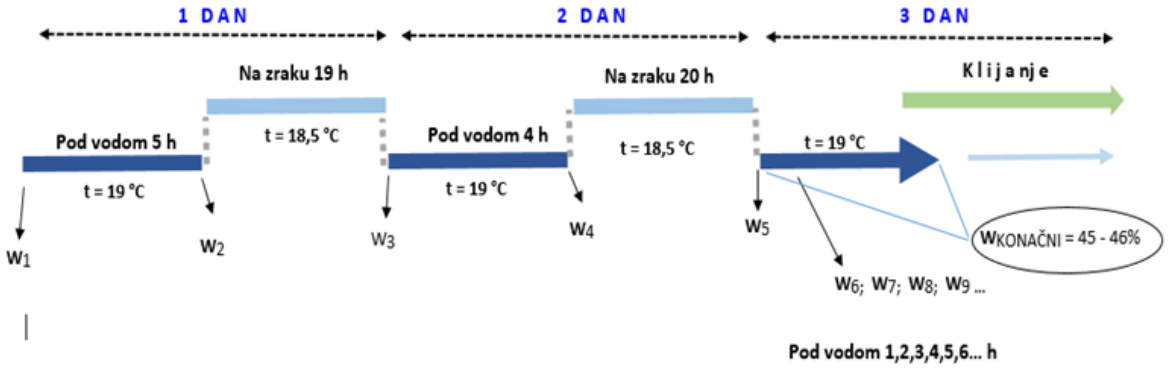
- Sustav Heil, VLB Berlin
- Sustav Weihenstephan
- Weihenstephanska klima komora za močenje i klijanje
- Bubanjska mikrosladara Austrijskog instituta za tehnologiju pića (Mebak, 1997)



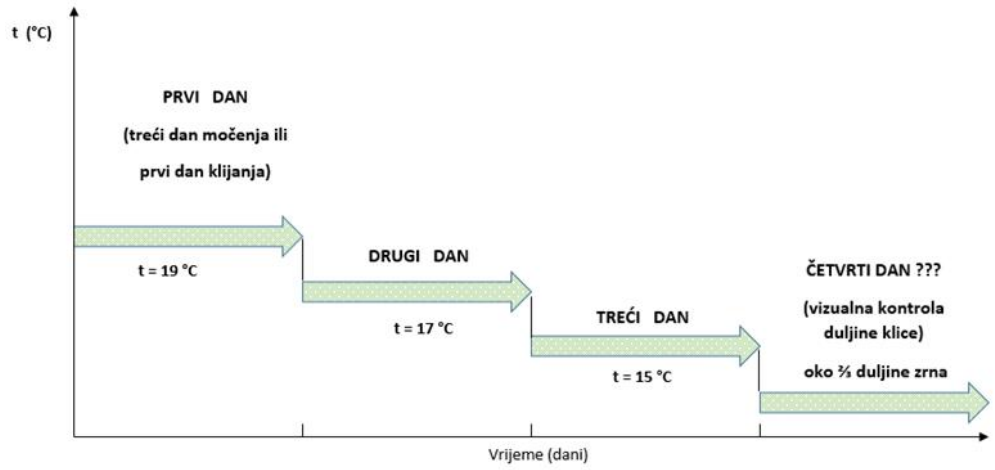
Slika 11 Uređaj za mikroslađenje Poljoprivrednog instituta Osijek (Havlik, 2019.)

Modificirani postupak namakanja i klijanja zrna s obzirom na duljinu trajanja, temperaturu i jačinu aeracije prikazan je na sljedećim shemama.

Postupak mikroslađenja **1**



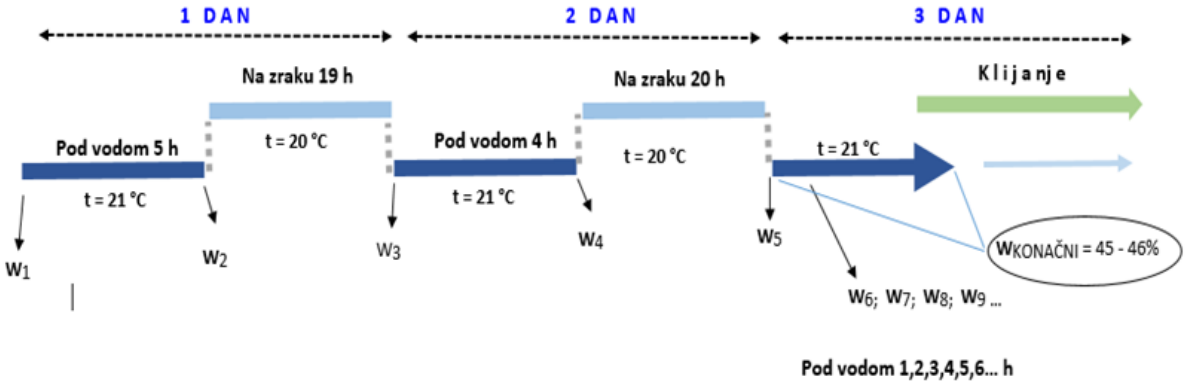
Slika 12 Shema namakanja po postupku mikroslađenja 1



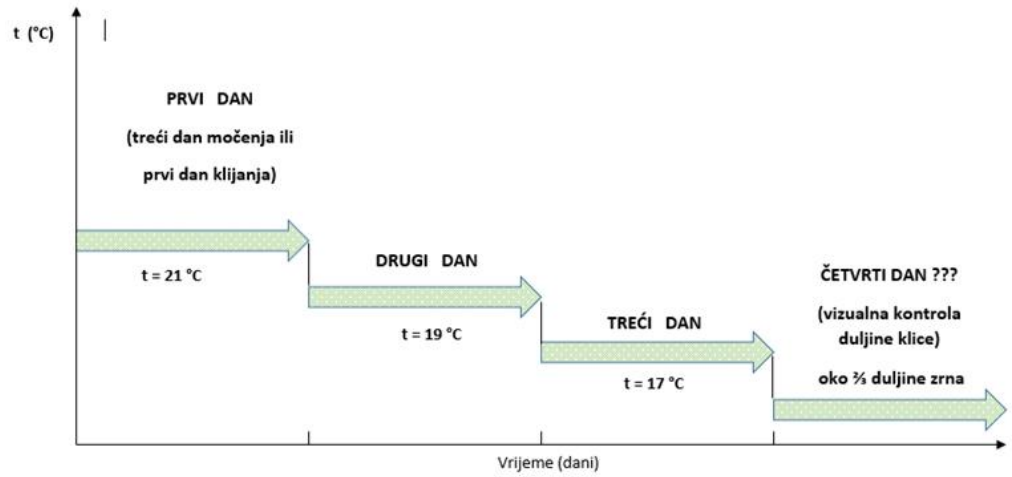
Slika 13 Shema klijanja po postupku mikroslađenja 1

SUŠENJE: temperatura sušenja 16 h na 50 °C, 1 h na 60 °C, 1 h na 70 °C, 1 h na 80 °C

Postupak mikroslađenja **2**



Slika 14 Shema namakanja po postupku mikroslađenja 2



Slika 15 Shema klijanja po postupku mikroslađenja 2

SUŠENJE: temperatura sušenja 16 h na 50 °C, 1 h na 60 °C, 1 h na 70 °C, 1 h na 80 °C

3.2.2.3. Analiza slada

ODREĐIVANJE VLAŽNOSTI ZRNA

Poželjna vlažnost zrna je od 11 do 12 %, ali nikako ne preko 12,5%. Vlažnost golozrnog ječma određena je sušenjem u sušnici (EBC-V Ann. 4.2.). Uzorak (30 g) je prethodno prekrupljen (granulacija $\leq$ 1 mm), te sušen 2 h na 132°C u sušnici s toplim zrakom uz standardizirane uvjete, zatim hlađen u eksikatoru do sobne temperature. Vlažnost je određena mjerenjem gubitka mase prekrupe prije i poslije sušenja.

Proračun: $Vlaga\ (\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0}$

m_0 = masa prekrupe prije sušenja;

m_1 = masa prekrupe poslije sušenja

VLAGA ZRNA NAKON 48 SATI

Mjerilo za moć bubrenja zrna predstavlja vlaga na kraju močenja ili početku klijanja, a određuje se preko sadržaja vlage u zrnu 48 sati od početka močenja (MEBAK-I 2.4.4.). Odražava na sve biokemijske procese u zrnu tijekom slađenja. Vlaga na početku klijanja

predstavlja i mjerilo za "brzinu klijanja". Brže klijaju ona zrna koja imaju veliku energiju klijanja i smanjenu dormantnost, a samim time ranije započinje sinteza enzima. Kod ječma koji brže isklijava su veći gubici jer imaju veću enzimsku aktivnost po završetku klijanja. Kod zrna koja sporije klijaju, produžava se vrijeme slađenja za istu aktivnost enzima u zelenom sladu.

Proračun:

$$Ukupna\ masa\ vode = namočena\ zrna - suha\ masa\ zrna$$

$$Vlaga\ zrna = \frac{ukupna\ masa\ vode\ x\ 100}{masa\ namočenog\ zrna}$$

EKSTRAKT

Ekstrakt slada predstavlja one sastojke zrna (fine prekrupe slada) koji tijekom procesa ukomljavanja prelaze u sladovinu u definiranim uvjetima . Ekstrakt slada pokazuje snažnu povezanost sa sadržajem bjelančevina zrna. Međusobna povezanost između sadržaja sirovih proteina i ekstrakta se ubraja u tzv. „formalne korelacije". Zbog takvog se odnosa međusobno dopunjavaju do približno 100 % (kod izračuna na masu predmeta ispitivanja). Ovaj odnos se javlja i kod pšenice, ali u većoj mjeri zbog odsutnosti pljevice . Porast sadržaja ekstrakta u sladovini je rezultat razgradnje bjelančevina, koje rezultiraju povećanjem sadržaja topljivih spojeva s dušikom. U slučaju veće aktivnosti peptidaza u sladu, nastali spojevi će doprinijeti porastu gustoće sladovine. Nasuprot tome, smanjenje sadržaja ekstrakta uzrokuje velika aktivnost amilolitičkih enzima u sladu (prvenstveno α-amilaze), jer je praćena pojačanim utroškom škroba za disanje. Ekstrakt slada određivan je prema MEBAK-u (metoda 4.1.4.2.2.).

$$Ekstrakt\ slada\ zračno\ suhi, E\ (\%\ zr.) = \frac{e\ x\ (800 + W)}{100 - e}$$

$$Ekstrakt\ slada, E\ (\%\ s.t.) = \frac{100\ x\ E\ (\%\ zračno\ suhi)}{100 - W}$$

e = sadržaj ekstrakta u sladovini, % m/m;
W = vlaga slada, % m/m;
E = sadržaj ekstrakta u sladu, zračno suhi slad (% zr. suh.);
800 + W = količina vode u komini preračunata na 100 g slada (g)

Pri određivanju ekstrakta određivano je vrijeme ošećerenja i vrijeme cijeđenja prema „Priručniku za laboratorijske vežbe iz tehnologije piva“ (Krajovan V., 1972.).

Vrijeme ošećerenja je provedeno tako što je nakon 10 minuta od postignute temperature (70°C), kap komine prenesena na keramičku ploču s utorima te je dodana kap otopine 0,02 mol/L joda (2,54g J_2 + 5g KJ u 1L dest. vode). Kontrola je ponavljana svakih 5 minuta. Praćena je promjena boje otopine do jod normalne reakcije.

Rezultati se izražavaju:

- <10 min;
- 10-15 min;
- 15-20 min., itd.

Vrijeme cijeđenja je određeno mjerenjem vremena filtracije, nakon vraćanja prvih 100 mL filtrata kongresne sladovine ponovno u lijevak. Filtracija je „normalna“ ako je završena u vremenu manjem od 60 minuta, a preko te vrijednosti se označava kao „spora“.

RAZLIKA EKSTRAKTA FINO I GRUBO MLJEVENOG SLADA

Važan pokazatelj uspješnosti razgradnje staničnih stijenki endosperma je razlika ekstrakta fino i grubo mljevenog slada. Razgradnja staničnih stijenki najviše ovisi o odlici sorte, ali i o vremenskim uvjetima tijekom sezone. Razlika ekstrakta ne pokazuje suodnos s ostalim pokazateljima analize slada, te se stoga razmatra zasebno. No, kod konačnog stupnja prevrenja kongresne sladovine je utvrđena slaba veza. Velika razlika ekstrakta označava prisutnost velikih dijelova nerazgrađenog endosperma zrna, kao rezultat slabije aktivnosti enzima. Kako su stanice sa škrobom tijekom slađenja nedovoljno dostupne enzimima, slad ima manji sadržaj fermentabilnih šećera, što rezultira slabijom razgradnjom slada tijekom ukomljavanja. Zbog slabije fermentabilnosti, nastaje sladovina slabije kvalitete. Analiza je određivana po MEBAK 4.1.4.2.10.

VISKOZNOST

Važan tehnološki pokazatelj je viskoznost, odnosno viskoznost kongresne sladovine. Ona ne pokazuje zavisnost s razlikom ekstrakta, dok je ona uočena kod niza pokazatelja proteolize i aktivnosti α-amilaze. Pokazatelji proteolize jasno ukazuju na utjecaj makromolekulskih, topljivih, bjelančevinastih tvari u formiranju reoloških svojstava

sladovine. Enzim α-amilaza nastaje za vrijeme klijanja i o njemu ovisi razgradnja škroba. Ako su nedovoljno razgrađeni fragmenti škroba tj. dekstrini, doći će do porasta viskoznosti kao posljedica nastanka škrobnog lijepka.

Pretpostavlja se da postoji zajednička točka (najvjerojatnije preko srodnih mehanizama nastajanja enzima tijekom klijanja) koja utječe i na razgradnju škroba i na razgradnju bjelančevina, što se naknadno odražava na viskoznost. Viskoznost je određena EBC metodom (MEBAK 4.1.4.4.1.).

pH KONGRESNE SLADOVINE

pH vrijednosti utječu na enzimske procese razgradnje tijekom ukomljavanja, na topljivost bjelančevina i gorke sastojke hmelja, te na porast boje tijekom kuhanja. Kod pojačane proteolitičke aktivnosti enzima pH opada, jer putem njih aminokiseline (oslobođene prilikom sušenja) u vodenoj sredini reagiraju s kiselim melanoidinima. S druge strane, kod niskih vrijednosti pH, poboljšana je razgradnja bjelančevina. Između pH sladovine i proteolitičkih pokazatelja Kolbachovog broja, naročito topljivog dušika i FAN, utvrđeno je da postoje negativne korelacije. pH kongresne sladovine određivan je metodom MEBAK-I 4.1.4.2.7.

BOJA KONGRESNE SLADOVINE

Boja kongresne sladovine ovisi o enzimsko-hidrolitičkim zbivanjima tijekom klijanja. Povišena vlaga na početku klijanja povoljno djeluje na aktivnosti hidrolaza u sladu, kao i na boju koja se blago povećava. Utjecaj na procese nastajanja obojenih spojeva, imaju proteolitička zbivanja i pokazatelji proteolize, što rezultira nastankom razgradnih produkata bjelančevina (odnos FAN/topljivi dušik, sam topljivi dušik, VZ 45°C, Kolbachov broj, FAN). Sadržaj FAN-a se najizrazitije odražava na boju i određuje njezinu jakost. Utjecaj ne boju ima i aktivnost enzima α-amilaze kojom nastaju veće količine ugljikohidrata s malim molekulskim masama. Iz nastalih ugljikohidrata, daljnjim reakcijama u kongresnoj komini i sladovini s razgradnim produktima bjelančevina (male molekulske mase), nastaju obojeni spojevi melanoidini.

Nakon filtracije, spektrofotometrijski je mjerena boja sladovine, mjerenjem apsorbancije na 430 nm i množenjem s odgovarajućim faktorom (MEBAK, 4.1.4.2.8.2.).

Proračun: Boja (EBC jedinice), $C = 25 \times E_{430}$

BOJA NAKON KUHANJA

Ne postojanjem statistički pouzdane zavisnosti između boje kongresne sladovine i boje piva, preporuka je da se boja sladovine odredi i nakon 2 sata kuhanja uz povratni hladnjak (MEBAK, 4.1.4.2.9.). Bojom nakon kuhanja se obuhvaćaju daljnje reakcije između šećera i aminokiselina i njihova pretvorba u melanoidine, tijekom procesa kuhanja sladovine. Na boju nakon kuhanja utječe količina slobodnih aminokiselina (1. reakcijski partner) i aktivnost enzima α-amilaze koja je odgovorna za nastanak šećera (2. reakcijski partner). Boja će naravno ovisiti i o već prisutnoj boji kongresne sladovine.

Boja sladovine nakon kuhanja se izražava u EBC jedinicama i ne bi trebala biti viša od boje kongresne sladovine + ⅓.

BISTROĆA

Bistroća kongresne sladovine, nakon hlađenja na sobnu temperaturu se određuje mjerenjem transparencije (optička metoda MEBAK 2.19.1) uz 650 nm /90°/, uz destiliranu vodu kao standard (MEBAK 2.19.2). Prije mjerenja su uzorci zagrijani na aparatu do temperature od 20 -25°C. Uzorak piva se ulije u staklenu kivetu, te se kiveta s uzorkom stavi u uređaj. Aparat se uključi i čeka se nekoliko minuta da se vrijednost ustali. Nakon toga se očita rezultat i preračuna na EBC jedinice.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. REZULTATI

4.1.1. ODREĐIVANJE MOĆI BUBRENJA

Tablica 3 Rezultati određivanja moći bubrenja po MEBAK metodi (2.4.4.)

	Vlažnost uzorka [%]					
	t= **15,5** °C		t = **20,5** °C		t = **24,5** °C	
	OSVIT	**MANDATAR**	**OSVIT**	**MANDATAR**	**OSVIT**	**MANDATAR**
W_1	12,23	12,59	12,27	13,36	10,34	10,83
W_2	24,48	24,03	28,01	35,00	28,37	28,93
W_3	**33,94**	**35,25**	**36,64**	**38,46**	**37,79**	**37,83**
W_4	36,48	37,15	40,16	41,45	40,22	40,93
W_5	**39,80**	**41,24**	**44,93**	**43,27**	**45,17**	**47,03**
W_6	41,61	43,83	46,07	46,08	48,54	49,53
W_7	**43,19**	**46,01**	**49,79**	**45,88**	**54,92**	**55,63**

Tablica 4 Pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje za ispitivane uzorke slada tijekom namakanja na različitim temperaturama vode i slađenja standardnim postupkom po MEBAK-u

Pokazatelj	**Temperatura namakanja i slađenja**					
	t= **15,5** °C		t = **20,5** °C		t = **24,5** °C	
	3	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Ekstrakt fini (% suh. tv.)	72,2	73,3	75,8	73,6	74,8	75,3
Razlika ekstrakta (% suh. tv.)	1,5	2,1	4,07	1,9	2,5	2,1
pH sladovine	5,07	5,85	5,90	5,92	6,01	6,00
Viskoznost sladovine (mPa×s 8,6 %e)	2,76	2,00	2,11	2,84	4,00	3,59

Broj uzorka: 3, 5 i 7 su sladovi od Osvita; 4, 5 i 8 su sladovi od Mandatara

4.1.2.MIKROSLAĐENJE

Tablica 5 Rezultati za vrijednosti vlažnosti zrna kod namakanja za postupke slađenja po MEBAK-u (metoda 2.5.3.1.), Postupku 1 i Postupku 2

	Vlažnost uzorka [%]					
	1		**2**		**MEBAK**	
	3	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
W_1	12,99	13,01	11,79	12,74	11,43	12,26
PRVO MOČENJE; **W_2**	24,30	25,07	25,18	26,75	25,5	28,39
W_3	32,16	31,32	30,04	31,40	31,42	30,42
DRUGO MOČENJE; W_4	35,10	36,73	35,20	36,69	36,54	37,19
W_5	37,83	40,07	37,73	38,28	39,79	41,94
TREĆE MOČENJE; W_6	39,29	41,29	39,74	41,87	41,09	41,78
PRVI DAN KLIJANJA; W_7	41,85	43,96	40,94	45,41	41,88	45,62
DRUGI DAN KILIJANJA; W_8	42,11	43,11	41,31	46,73	42,33	46,07
TREĆI DAN KLIIJANJA; W_9	43,25	45,30	43,28	/	43,86	/
W_{10}	/	/	/	/	/	/

1, 2, MEBAK = postupak mikroslađenja

Broj uzorka:
3. slad od OSVITA (shema slađenja 1.)
4. slad od MANDATARA (shema slađenja 1.)
5. slad od OSVITA (shema slađenja 2.)
6. slad od MANDATARA (shema slađenja 2.)
7. slad od OSVITA (shema slađenja po MEBAK-u)
8. slad od MANDATARA (shema slađenja po MEBAK-u)

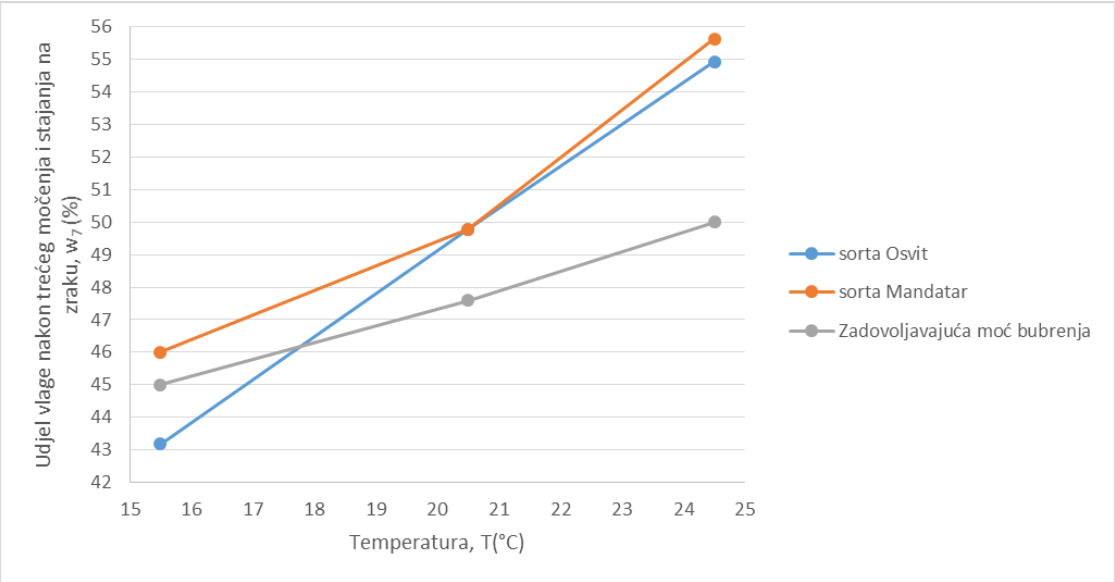
Tablica 6 Pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje za ispitivane uzorke slada i postupke slađenja po MEBAK-u, postupku 1 i postupku 2

Pokazatelj	Postupak slađenja					
	1		**2**		**MEBAK**	
	3	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Ekstrakt grubi (% suh. tv.)	74,7	74,2	72,8	73,8	71,3	73,4
Ekstrakt fini (% suh. tv.)	76,2	76,3	75,1	75,6	73,8	71,3
Razlika ekstrakta (% suh. tv.)	1,5	2,1	2,4	1,9	2,5	2,1
Vrijeme ošećerenja (min)	5-10	35-40	45-50	45-50	45-50	>60
Vrijeme cijeđenja (min)	42	57	>60	59	>60	>60
Bistroća sladovine (EBC u)	12,7	13,4	5,8	19,6	3,7	11,3
Boja sladovine (EBC u)	1,5-2,4	2-2,3	1,5-2,1	1,5-1,7	1-1,5	1,5-2
Ph sladovine	5,05	5,92	5,91	5,95	6,06	5,95
Viskoznost sladovine (mPaxs 8,6%e)	2,76	2,00	4,11	2,84	10,00	3,59

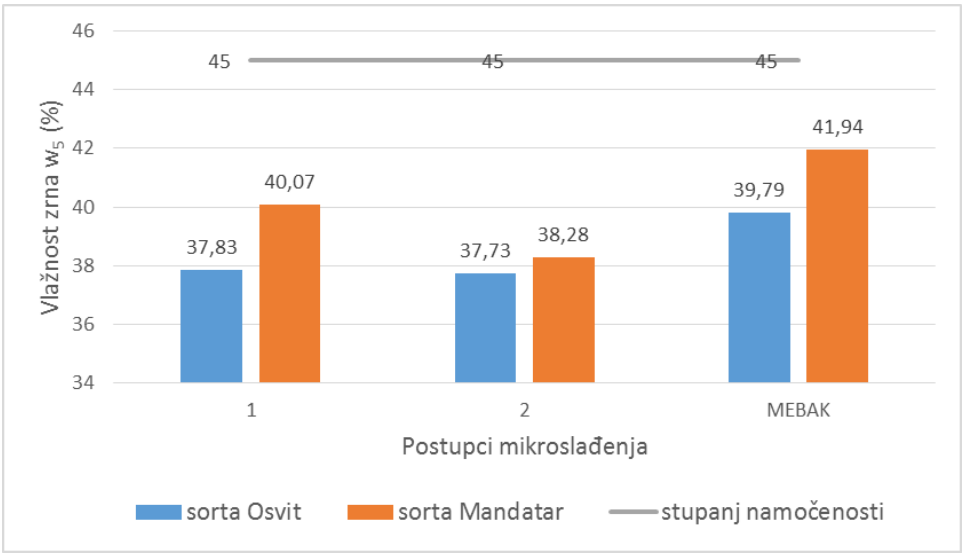
1, 2, MEBAK = postupak mikroslađenja

Broj uzorka:

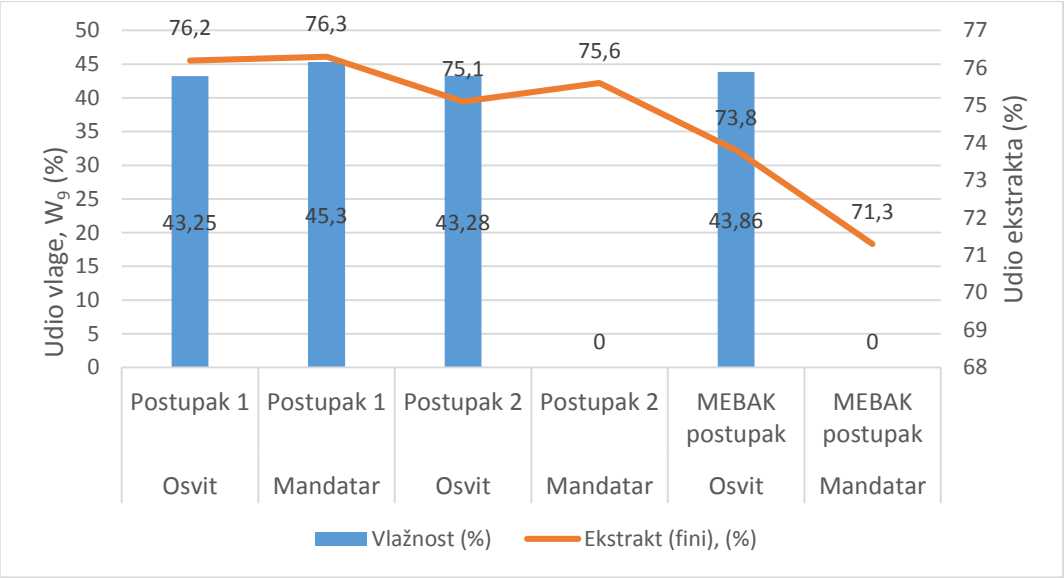
3. slad od OSVITA (shema slađenja 1)
4. slad od MANDATARA (shema slađenja 1)
5. slad od OSVITA (shema slađenja 2)
6. slad od MANDATARA (shema slađenja 2)
7. slad od OSVITA (shema slađenja po MEBAK-u)
8. slad od MANDATARA (shema slađenja po MEBAK-u)



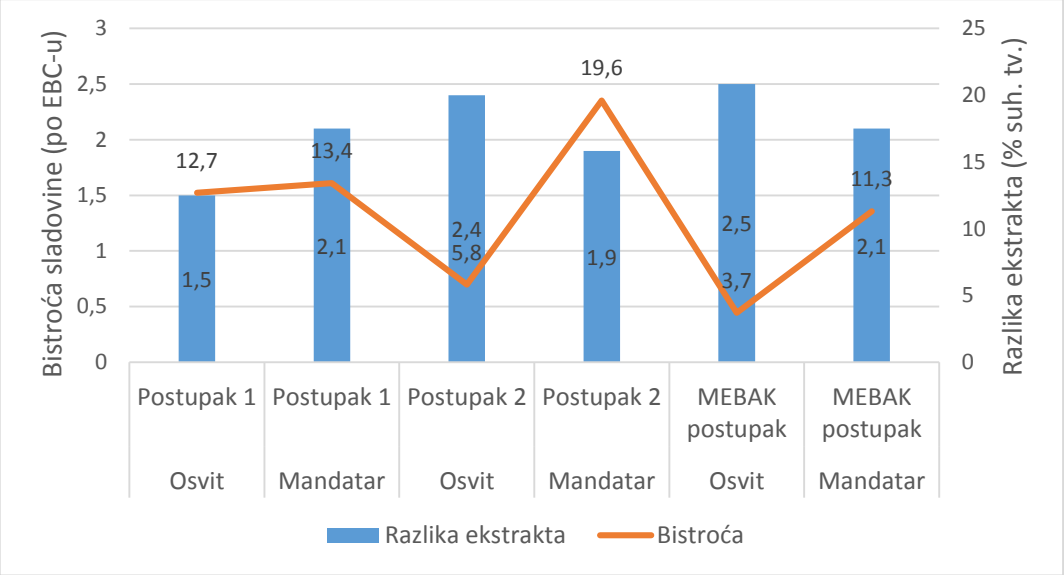
Slika 16 Odnos vlažnosti, w_7 (%) i temperature, T (°C) ovisno o sorti ječma



Slika 17 Ovisnost postupka mikroslađenja o postignutom stupnju namočenosti



Slika 18 Odnos udjela vlage zrna(W_9) i finog ekstrakta u ovisnosti o postupku slađenja



Slika 19 Odnos bistroće sladovine i razlike ekstrakta u ovisnosti o postupku slađenja

4.2. RASPRAVA

4.2.1. Moć bubrenja i pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje

Iz **Tablice 3** i grafičkog prikaza prikazanog na **Slici 16,** može se jasno zaključiti da temperatura namakanja ima značajan utjecaj na moć bubrenja analiziranih sorti. Pri temperaturi od 15,5°C, sorta Osvit sa svojom vlažnošću od 43,19 % ima nezadovoljavajuću

moć bubrenja, dok sorta Mandatar s vlažnošću od 46,01 % zadovoljava kriterij od 45 do 47,5 %. Povišenjem temperature namakanja za 5°C , sorta Osvit je postigla dobru moć bubrenja (47,6-50 %) sa svojih 49,79 %, dok na sortu Mandatar nije značajno utjecala temperatura, te je ona zadovoljila kriterij sa svojih 45,88 %. Pri temperaturi namakanja od 24,5 °C su obje sorte postigle vrlo dobru moć bubrenja (> 50 %), s tim da sorta Mandatar ima nešto veću moć bubrenja od sorte Osvit. Na grafičkom prikazu (**Slika 16**) je jasno vidljiv utjecaj povišenja temperature močenja na povišenje udjela vlažnosti kod obje sorte.

U **Tablici 4** su prikazani pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje tijekom namakanja, a to su: ekstrakt fini (% suh. tv.), razlika ekstrakta (% suh. tv.), pH sladovine i viskoznost sladovine (mPaxs 8,6 %e). Što je veći udio ekstrakta iz slada, to je on bolji. Porastom temperature namakanja došlo je do porasta ekstrakta, ali do nedovoljnih 80 % koji je odlika dobrog pivarskog ječma. Najvišu vrijednost je imala sorta Osvit pri temperaturi od 20,5 °C sa svojih 75,8 %. Razlika ekstrakta je pokazatelj uspješnosti citolitičke razgradnje. Što je veća razlika ekstrakta to je slad slabije razgrađen kao rezultat slabije aktivnosti enzima (Gaćeša, 1979.). Dobar slad ima razliku ekstrakta od 1,2 do 1,8 %. Sorta Osvit je pri temperaturi od 15,5°C imala dobru razliku ekstrakta, dok je daljnje povišenje temperature negativno utjecalo na razgrađenost slada. Sorta Mandatar je u odnosu na ostale temperature , najbolju razliku ekstrakta postigla pri temperaturi od 20,5°C sa svojih 1,9 %, dok pri ostalim temperaturama nije došlo do značajnog odstupanja od navedene vrijednosti. Idealan pH je od 5,6 do 5,9 %. Zadovoljavajući pH su postigle obje sorte pri temperaturama od 15,5°C i 20,5°C. Daljnji porast temperature je utjecao na porast pH čije vrijednosti ne zadovoljavaju kriterij idealnog pH. Još jedan pokazatelj je i viskoznost. On daje uvid u filtrabilnost budućeg piva te ovisi o: stupnju želiranja škroba, razgrađenosti škroba, aktivnosti α-amilaze i udjelu β-glukana (Leskošek-Čukalović, 2002). Najnižu vrijednost viskoznosti je imala sorta Mandatar pri temperaturi od 15,5°C sa svojih 2,00 mPaxs, a sorta Osvit pri temperaturi od 20,5°C sa svojih 2,11 mPaxs. Daljnji porast temperature je utjecao na porast viskoznosti kod obje sorte čije su vrijednosti neprihvatljive.

4.2.2. Mikroslađenje i i pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje

Analizom rezultata vlažnosti iz **Tablice 5**, najveći stupanj namočenosti postigle su obje sorte MEBAK metodom mikroslađenja. Dobivene vrijednosti nisu zadovoljile željeni cilj od 45 % što je vidljivo na dijagramu prikaznom na **Slici 17**. Stupanj namočenosti od oko 45 % nakon trećeg dana klijanja (W_9) je postigla sorta Mandatar Postupkom 1 mikroslađenja, te se za navedenu sortu ovaj postupak pokazao uspješnim. Nešto nižu vrijednost (43,86 %) je postigla sorta Osvit MEBAK postupkom mikroslađenja.

U **Tablici 6** su prikazani pokazatelji uspješnosti citolitičke razgradnje navedenim postupcima.

Osnovni pokazatelj uspješnosti provedbe postupka slađenja je udio ekstrakta. Poželjna vrijednost je ona koja je veća od 82 % suh.tv. Analizom ekstrakta finog iz **Tablice 6**, može se zaključiti da ni jedan slad nije postigao željenu vrijednost. Najveći udio ekstrakta finog je dao slad sorte Mandatar Postupkom slađenja 1, a najmanju vrijednost je također imao slad sorte Mandatar kod MEBAK postupka slađenja. Značajan utjecaj na količinu dobivenog ekstrakta ima postignuta vlažnost zrna tijekom postupka namakanja (**Slika 18**).

Daljnji pokazatelj je i razlika ekstrakta. Velika razlika ekstrakta pokazuje da je u dobivenom sladu prisutna velika količina nerazgrađenog endosperma. Poželjna razlika ekstrakta je od 1,2 do 1,8 % suh.tv. Postupkom slađenja 1 je kod sorte Osvit postignuta željena razlika ekstrakta, dok je kod sorte Mandatar približno željena razlika ekstrakta dobivena Postupkom slađenja 2.

Sljedeći pokazatelj je viskoznost. Dobivene vrijednosti sladovine nisu zadovoljile željenu vrijednost od 1,55 mPa·s Najbližu vrijednost je imala sorta Mandatar dobivena Postupkom slađenja 1 s vrijednošću od 2,00 mPa·s.

pH sladovine ima utjecaj na enzimske procese razgradnje tijekom ukomljavanja. Kod pojačane proteolitičke aktivnosti, njena vrijednost opada, a nizak pH poboljšava razgradnju bjelančevina. Idealna pH vrijednost je od 5,6 do 5,9. Uvidom u **Tablicu 6** se može zaključiti da većina analiziranih sladova približno zadovoljava idealnu vrijednost. Najnižu vrijednost je imao slad sorte Osvit dobiven Postupkom slađenja 1, dok je najviši pH imao također slad sorte Osvit, ali dobiven MEBAK postupkom slađenja.

Idući pokazatelj je bistroća sladovine. Iz dijagrama prikazanog na **Slici 19** se može uočiti da je bistroća sladovine veća što je razlika ekstrakta manja. Izuzetak je slad sorte Osvit dobiven Postupkom slađenja 2 i MEBAK postupkom slađenja, što je vjerojatno rezultat nepovoljnog utjecaja temperature tijekom postupka mikroslađenja. Najvišu vrijednost ima slad sorte Mandatar dobiven Postupkom slađenja 2.

Boja sladovine mora zadovoljiti vrijednost manju od 3,4 jedinice po EBC-u kako bi slad imao odliku dobrog pivarskog slada. Uvidom u **Tablicu 6** je vidljivo da dobiveni sladovi zadovoljavaju željene vrijednosti.

Ostali pokazatelji su vrijeme ošećerenja i vrijeme cijeđenja. Vrijeme ošećerenja je ono vrijeme koje je potrebno da bi se složeni šećeri poput dekstrina i oligosaharida enzimski razgradili do jednostavnih šećera tzv. glukoze (Vacek, 2014). Samo slad sorte Osvit dobiven Postupkom slađenja 1 ima optimalno vrijeme, dok ostali sladovi ne zadovoljavaju željene vrijednosti zbog dužeg trajanja ošećerenja. Poželjno trajanje vremena cijeđenja je ono do 60 minuta. Sladovi sorti Osvit i Mandatar dobiveni Postupkom slađenja 1 i slad sorte Mandatar dobiven Postupkom slađenja 2 zadovoljavaju kriterij, dok kod ostalih sladova je vrijeme cijeđenja duže od 60 minuta.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Temperatura namakanja značajno utječe na moć bubrenja golozrnog ječma, na način da povećava moć bubrenja i ubrzava dosezanje maksimuma povećanja udjela vode u zrnu
2. Zrno sorte Mandatar ima značajno veću moć bubrenja u odnosu na sortu Osvit pri svim postupcima namakanja
3. Porastom temperature namakanja dolazi do porasta udjela ekstrakta, razlike ekstrakta i pH kongresne sladovine
4. Viskoznost sladovine najprije pada s porastom temperature namakanja, a potom s njezinim daljnjim porastom raste do neprihvatljivih vrijednosti
5. Najbolje rezultate za moć bubrenja zrna u prvom i drugom danu mikroslađenja dao je postupak namakanja pri najvišoj temperaturi, dok su se kod trećeg močenja i tijekom klijanja vrijednosti za moć bubrenja praktički izjednačile za sva tri postupka namakanja
6. Najbolje rezultate za pokazatelje uspješnosti citolitičke razgradnje zrna dao je postupak slađenja 1
7. Sorta Osvit daje sladove boljih svojstava po sva tri postupka slađenja
8. Primjenom odgovarajućih postupaka slađenja golozrnog ječma moguće je znatno poboljšati kakvoću gotovih sladova i dobiti sladove slične kakvoće kao i kod običnog ječma

6. LITERATURA

European Brewery Convention: *Analytica 5. ed*. Verlag Hans Carl, D-Nürnberg, 1998.

Gaćeša S: *Tehnologija slada sa sirovinma za tehnologiju piva*. Poslovna zajednica industrije piva i slada Jugoslavije, Beograd str. 13-16, 19-21, 115, 118-120, 128, 132-135, 140, 141, 194, 1979.

Gagula G: Određivanje udjela β-glukana u domaćim sortama pivarskoga ječma. *Specijalistički rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2013. str. 10, 13 https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A822 [11.11.2019.]

Gospodarski list: Pivarski ječam-sve popularnija žitarica, objavljeno 6. ožujka 2018. https://gospodarski.hr/rubrike/ratarstvo-krmno-bilje/pivarski-jecam-sve-popularnija-zitarica/ [11.11.2019.]

Havlik I.: Ocjena kakvoće ječma Pivarac iz žetve 2017. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2019. str. 33 https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A1763 [11.11.2019.]

Hough J.S. i sur.: *Naučni aspekti sladarstva i pivarstva* (preveo Gaćeša, S), Poslovno udruženje industrije piva i slada Jugoslavije, Beograd, 1976. str. 53-55, 57

Kovačević V, Rastija M: *Žitarice*, Poljoprivredni fakultet Osijek str. 15,16, 109, 2014.

Krstanović V i sur.: Influence of malting procedure on the quality of hulless barley malt. In *Proceedings of the 8th International Congress Flour - Bread '15 [and] 10th Croatian Congress of Cereal Technologists*, 2016. 168-175 (str. 169)

Kunze W:, *Tehnologija sladarstva i pivarstva* (7. njemačko izdanje preveo Gaćeša S), Jugoslavensko udruženje pivara, Beograd, str. 5-8, 94, 101, 139, 1998.

Kunze W: *Technology brewing and malting*, Chap 4, 4th updated edn. VLB, Berlin, p 609, 2010.

Lalić A i sur.: *Razvoj proizvodnje i upotrebe golozrnog ječma u ljudskoj prehrani, stočarstvu i sladarstvu* : Priručnik VIP projekta, ur. Tatjana Ledenčan, Poljoprivredni institut Osijek, str. 6, 7, 9, 51, 52, 2018.

Leskošek-Čukalović I: *Tehnologija piva 1.dio; Slad i nesladovane sirovine*, Poljoprivredni fakultet Beograd str. 31, 32, 45, 93-95, 98-102, 117, 119, 133,136,137, 227, 2002.

Magdić M.: Citolitička razgradnja zrna tijekom slađenja različitih sortnih skupina ječma. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, str. 2, 2017. https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A1219 [11.11.2019.]

Marić V, Nadvornik Z: *Pivo-tekuća hrana*, Prehrambeno-tehnološki inženjering Zagreb str. 19, 1995.

Marić V.: *Tehnologija piva*, Veleučilište u Karlovcu, str. 39, 57, 90, 2009.

MEBAK-Mitteleuropaische Brautechnische Analysenkommision Brautechnische Analysenmethoden, Bd. I, 3, izdanje, str. 71, 80, 81, 1997. https://www.mebak.org/de/methodensammlung.html [11.11.2019.]

Oljača S i sur.: *Produktivnost golozrnog ječma u organskom i konvencionalnom sistemu gajenja*. Poljoprivredni fakultet Beograd, Zemun, str. 150, 2009. http://arhiva.nara.ac.rs/bitstream/handle/123456789/264/PT_2-2009%20-%20Oljaca.pdf?sequence=1&isAllowed=y [11.11.2019.]

Šubarić D, Babić J, Ačkar Đ: *Tehnologija škroba: Interna skripta za kolegij: Tehnologija škroba*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, str. 2 [2011.]

Taketa S i sur.: Monophyletic origin of naked barley inferred from molecular analyses of a marker closely linked to the naked caryopsis gene. Theor Appl Genet (2004) 108:1236–1242 DOI 10.1007/s00122-003-1560-1, 2004. str. 1236. https://link.springer.com/article/10.1007/s00122-003-1560-1 [15.10.2019.]

Koceva-Komlenić D i sur.: Sirovine biljnog podrijetla. (žitarice, leguminoze i uljarice) žitarice uvod, ppt. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017. http://studenti.ptfos.hr/Preddiplomski_studij/Sirovine_biljnog_podrijetla/zitarice/1_SIROVINE_uvod_17_18.pdf [15.10.2019.]

Vacek K: Utjecaj postupka slađenja na kakvoću sladova golozrnog ječma sorti PI Osijek. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, str. 2, 39, 2014. https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A118 [15.10.2019.]