Ispitivanje pivarske kakvoće višenamjenskih sorti ječma Poljoprivrednog instituta Osijek

Lenart, Leon

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:109:248401

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

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

Leon Lenart

ISPITIVANJE PIVARSKE KAKVOĆE VIŠENAMJENSKIH SORTI JEČMA POLJOPRIVREDNOG INSTITUTA OSIJEK

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad, 2016.

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 Procesno inženjersvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Osnove bioprocesnog inženjerstva
Tema rada je prihvaćena na IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2015./2016. održanoj 28. lipnja 2016.
Mentor: prof. dr. sc. *Vinko Krstanović*
Komentor: dr. sc. *Kristina Mastanjević*

Ispitivanje pivarske kakvoće višenamjenskih sorti ječma Poljoprivrednog instituta Osijek

Leon Lenart, 245-DI/2013.

Sažetak:

U ovom radu je provedeno istraživanje sladarske kakvoće 11 sorti ječma: sedam pivarsko-stočnih, dvije čisto pivarske i dvije stočne sorte ječma. Istraživanja obuhvaćaju analize iz 2011., 2012. i 2013. godine. Za udjele β-glukana uspoređivane su vrijednosti za ječam sa tri lokacije, Osijek, Slavonski Brod i Tovarnik. Analize ostalih parametara kakvoće radile su se samo na ječmu s Osječke lokacije. Cilj rada je bila usporedba dobivenih rezultata s dostupnim podacima u znanstveno-stručnoj literaturi, kako za pivarske i pivarsko-stočne tako i za stočne sorte ječma. Prema pokazateljima sladarske kakvoće ocijenjena je njihova podobnost za proizvodnju piva. Najbolje vrijednosti svih parametara kakvoće očekivano su pokazale obje pivarske sorte ječma (Vanessa i Tiffany). Kod pivarsko-stočnih sorti nisu zabilježena velika odstupanja od zadanih parametara, no među njima Maxim, Lukas i Gazda pokazuju lošije rezultate razlike fine i grube meljave i viskoznosti za 2011. godinu, te friabilnosti tijekom sve tri godine. Međutim, treba naglasiti da je stočna sorta Bravo pokazala izvrsne rezultate sladarske kakvoće 2011. godine u nekoliko određivanih parametara: friabilnosti (89,16 %), razlike fine i grube meljave (2 %), viskoznosti (1,5 mPas) i Kolbachovom indeksu (41,55 %).

Ključne riječi: višenamjenske sorte ječma, sladarska kakvoća

Rad sadrži: 42 stranice
10 slika
0 tablica
0 priloga
31 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

1.	doc. dr. sc. *Natalija Velić*	predsjednik
2.	dr. sc. *Kristina Mastanjević*	član-komentor
3.	dr. sc. *Gordana Šimić, znanstveni savjetnik*	član
4.	izv. prof. dr. sc. *Marko Jukić*	zamjena člana

Datum obrane: 10. Listopada 2016.

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 **Process Engineering**

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Basics of Bioprocess Engineering
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. IX held on June 28., 2016.
Mentor: *Vinko Krstanović*, PhD, prof.
Co-mentor: *Kristina Mastanjević*, PhD

The investigation of brewing quality of multipurpose barley cultivars of Agricultural Institute Osijek

Leon Lenart, 245-DI/2013.

Summary:

This paper presents a malting quality investigation of the 11 barley cultivars: seven brewing and feed (P/S), two strictly brewing (P) and two only feed barley cultivars (S), during 2011, 2012 and 2013. Three locations were also considered (Slavonski Brod, Tovarnik and Osijek) in this investigation, but only for content of β-glucans. Other malting quality analyses were carried out only on barley cultivars from Osijek. Based on obtained results, and their comparison to results in scientific and technical literature, the aim of this research was to assess the malting quality of strictly brewing, strictly feed and combined brewing and feed barley cultivars. According to their malting quality, their suitability for beer production was assessed. As expectedly, both of strict brewing cultivars (Vanessa and Tiffany) demonstrated the best malting quality parameters. Most of combined brewing and feed cultivars were within recommended values, except Maxim, Lukas and Gazda, which results were worse in difference between fine and coarse ground malt and in viscosity in 2011 and in friability during all three years. However, it should be noted that feed variety Bravo showed excellent results in 2011 in several parameters: friability (89,16 %), difference between fine and coarse ground malt (2%), viscosity (1,5 mPas) and Kolbach index (41,55 %).

Key words: Multipurpose barley cultivars, malting quality

Thesis contains: 42 pages
10 figures
0 tables
0 supplements
31 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Natalija Velić*, PhD, assistant prof. — chair person
2. Kristina Mastanjević, PhD, — member-cosupervisor
3. *Gordana Šimić*, PhD, sciente advisor — member
4. *Marko Jukić*, PhD, associate prof. — stand-in

Defense date: October 10, 2016.

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

Posebnu zahvalnost iskazujem znanstvenicima Poljoprivrednog instituta u Osijeku na velikoj stručnoj i praktičnoj pomoći, a posebno znanstvenim savjetnicima dr. sc. Alojziju Laliću i dr. sc. Gordani Šimić. Zahvaljujem prof. dr. sc. Vinku Krstanoviću na izuzetnoj pomoći tijekom cjelokupnog studiranja, kao voditelju mog završnog rada i posebno kao mentoru mog diplomskog rada. A u najtežim trenutcima priskočila mi je u pomoć, kao komentorica, dr. sc. Kristina Mastanjević, koja je zaslužila jedno posebno, veliko – hvala.

Zahvaljujem mojoj majci Lidiji na velikoj podršci tijekom studiranja kao i stručnoj pomoći. Zahvaljujem se ocu Dragutinu na svemu, a mojim dragim kolegicama i kolegama na dobrom druženju i nesebičnoj pomoći tijekom studiranja.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 3

2.1. JEČAM 4

2.1.1. Vanjski pokazatelji kakvoće ječma 5

2.1.2. Mehaničke osobine ječma 6

2.1.3. Fiziološke osobine ječma 7

2.1.4. Kemijsko-fizikalne osobine ječma 9

2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE SLADA 11

2.2.1. Postupak slađenja 12

2.2.2. Gubitci u proizvodnji slada 14

2.3. OCJENA KAKVOĆE SLADA 14

2.3.1. Osnovne osobine slada 14

2.3.2. Mehaničke osobine slada 14

2.3.3. Fizikalne, kemijske i biokemijske osobine slada 17

3. EKSPERIMENTALNI DIO 19

3.1. ZADATAK 20

3.2. MATERIJAL I METODE 20

3.2.1. Mikroslađenje 20

3.2.2. Analiza slada 20

4. REZULTATI I RASPRAVA 25

4.1. SADRŽAJ PROTEINA SLADA 26

4.2. TOPLJIVI PROTEINI SLADA 27

4.3. KOLBACHOV INDEKS SLADA 28

4.4. UDIO Β-GLUKANA U SLADU 29

4.5. FRIABILNOST SLADA 30

4.6. VLAŽNOST SLADA 31
4.7. EKSTRAKT SLADA 32
4.8. RAZLIKA FINE I GRUBE MELJAVE SLADA 33
4.9. VISKOZNOST SLADOVINE 34
4.10. BOJA SLADOVINE 35
5. ZAKLJUČCI 36
6. LITERATURA 39

Popis oznaka, kratica i simbola

PTF	Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
P	pivarski ječam
S	stočni ječam
P/S	pivarsko-stočni ječam
F/C	razlika fine i grube meljave slada
s.t.	suha tvar
MEBAK	Srednjoeuropska komisija za pivarsku analitiku
EBC	European Brewery Convention

1. UVOD

Pivarski ječam je osnovna sirovina za proizvodnju slada. Izravna sirovina za proizvodnju piva je pivarski slad. Slad se koristi kao izvor škroba i potrebnih enzima za prevođenje škroba u vodotopljivi oblik. Prema tome, slad služi za proizvodnju sladovine iz koje se alkoholnim vrenjem dobiva pivo. Osim u proizvodnji piva, ječam se koristi i kao sirovina u različitim prehrambenim industrijama, za stočnu hranu, ali i sve više u direktnoj prehrani ljudi. Ovisno o krajnjoj namjeni ječma, selekcioniraju se i razvijaju nove sorte sa specifičnim osobinama. Dvojako označavanje pojedine sorte ječma, sa svrhom njezine komercijalne namjene nije uobičajeno u Europskoj Uniji (EU), ali postoji u nekoliko zemalja uključujući i Republiku Hrvatsku (RH). Dvojako označavanje omogućuje selekcionarima da određenu sortu preporuče za npr. proizvodnju slada i ishranu stoke. Razlog ovakvom stavu Sortne komisije Republike Hrvatske je to što se ulaskom RH u EU na domaćem tržištu pojavilo više strogo pivarskih sorti iz zemalja EU koje su zadovoljavale oštre kriterije za potrebe sladarske, a samim time i pivarske kvalitete ječma. Te zemlje imaju dugu tradiciju selekcije i oplemenjivanja strogo pivarskih sorti, pa kako se ne bi dogodilo da ni jedna domaća sorta ne bude pogodna za pivarstvo, komisija je dopustila dvojako (eng. *two point*) deklariranje sorti koje su se, iako registrirane kao stočne, pokazale dobre i u sladarskoj praksi. To znači da se neka sorta koja izvorno nije bila selekcionirana i oplemenjivana kao pivarska, a pokazala je dobre vrijednosti za pokazatelje kvalitete koji su bitni sa pivarskog stajališta (što viši udjel zrna I. klase, nizak udjel β-glukana, dobru friabilnost zrna, nizak udio proteina, što manje staklastih zrna, a unutar njih što veću tzv. „prolaznu staklavost“ itd.) može koristiti kao pivarska. Prednost stočnih sorti je da one urodom zrna nadmašuju grupu čistih pivarskih sorti te su zbog toga zanimljivije proizvođačima ječma.

U ovom radu je provedeno istraživanje kakvoće 7 višenamjenskih (pivarsko-stočnih) sorti ječma Poljoprivrednog Instituta Osijek, kao i četiri kontrolne sorte (dvije pivarske i dvije stočne) iz sortnih pokusa na lokaciji Osijek. Cilj rada bio je ustanoviti njihovu sladarsku kakvoću. Na temelju dobivenih rezultata te njihovom usporedbom s dostupnim podacima u znanstveno-stručnoj literaturi, ocijenjena je kvaliteta za svaku ispitivanu sortu ječma.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JEČAM

Ječam pripada porodici trava (*Gramineae*), rod *Hordeum*. Sve kultivirane sorte pripadaju jednoj vrsti nazvanoj *Hordeum sativum*. Ovisno o rasporedu zrna u klasu ova vrsta se dijeli u tri podvrste:

- *Hordeum vulgare* (šestoredni ili stočni ječam);
- *Hordeum distichum* (dvoredni ili pivarski ječam);
- *Hordeum intermedium* (nepravilni šestoredni ili četveroredni ječam) (Kumlehn i Stein, 2014.).

Za proizvodnju pivarskoga slada upotrebljava se uglavnom pljevičasti dvoredni ječam (*Hordeum distichum*) koji se može sijati u proljeće (jari ječam) ili u jesen (ozimi ječam). Sorte dvorednog jarog ječma najbolje udovoljavaju zahtjevima koje postavlja sladarska i pivarska industrija, pa se stoga najčešće i koriste. Unatoč tome, povećao se uzgoj dvoredno ozimog ječma koji kvalitetom gotovo nadmašuje jari ječam. Zahvaljujući znanstveno-istraživačkim radovima na području genetike i selekcije pivarskog ječma, danas postoje i fakultativne ozimo-jare sorte ječma koje se mogu sijati u jesen i na proljeće (Kumlehn i Stein, 2014.).

Zrno dvoredne sorte ječma je veliko i trbušasto, obično s tanjom i finije naboranom pljevicom. Udio korisnih sastojaka u ovom ječmu je relativno veći, dok je udio pljevice smanjen, što utječe na smanjenje gorkih i taninskih sastojaka. Kod šestorednog ječma zrna nisu ujednačene veličine. Naime, kako nema dovoljno prostora za razvoj svih zrna, zrna iz bočnih redova su manja i pri dnu su udubljena, što je karakteristika šestorednom ječmu. Zbog toga se šestoredni ječam samo uvjetno može koristiti za proizvodnju piva (Nilan i Ullrich, 1993.).

Za dobivanje kvalitetnog, jednoličnog slada vrlo je bitno da je zrnje ječma dobiveno od iste sorte. Iz tog razloga nužan je uzgoj čistih sorti. Samo na takav način prednost uzgoja čistih sorti može biti u potpunosti iskorišten. Prilikom uzgoja novih sorti velika pozornost se pridodaje parametrima kvalitete. (Marić, 1982.).

Za proizvodnju slada ječam se ocjenjuje na osnovu:

- vanjskog izgleda (izgled, boja, miris, oblik i veličina zrna, oštećenost zrna, čistoća, prisustvo urodica, stranih zrna i biljnih štetočina);
- mehaničke analize (hektolitarska težina, težina 1000 zrna, ujednačenost debljine zrna, presjek zrna);
- tehnoloških ispitivanja (klijavost, energija klijanja, hidrosenzibilnost) (Marić, 1982.).

Kvaliteta ječma određuje se na temelju više pokazatelja: ocjene vanjskog izgleda, mehaničkih ispitivanja, fizioloških ispitivanja te kemijsko-fizikalnih ispitivanja.

2.1.1. Vanjski pokazatelji kakvoće ječma

Miris ječma. Miris ječma treba biti svjež, čist i podsjećati na miris slame. Miris na plijesni pokazatelj je nepravilnog skladištenja ječma u vlažnim uvjetima. Prerada takvog ječma rezultira smanjenjem klijavosti zrna (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Vlažnost. Suho, sipljivo zrno odlika je poželjne vlažnosti. Povišena vlažnost zrna je posljedica lošeg sušenja nakon žetve ili nepravilnog čuvanja tijekom skladištenja.

Boja i sjaj. Zrno ječma treba imati ujednačenu, sjajnu, svjetložutu boju. Zelenkasta boja ukazuje da je žetva obavljena prerano. Blijeda zrna ukazuju na povećanu staklavost, a plavičasta često označavaju prisutnost mikroorganizama. Povećana vlaga prilikom žetve rezultira smeđe obojanim vrhovima zrna (Marić, 1982.).

Svojstva pljevice. Izgled pljevice je svojstvo sorte i podrijetla. Na svojstva pljevice uvelike utječu uvjeti sazrijevanja. Zrno bogato ekstraktom ima fino naboranu i tanku pljevicu. Glatka ili debela pljevica znak je nepotpuno sazrelih zrna (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Čistoća ječma. Ječam ne smije sadržavati: sjemenke korova, zrna pijeska, kamenčiće, metalne dijelove, slamu, klasje, poluzrna ili glavničasta zrna te zrna drugih žitarica. Povišena količina nečistoća rezultira gubitcima u proizvodnji i proizvodom smanjene kakvoće. Maksimalna dozvoljena granica je pod strogom zakonskom kontrolom (Marić, 1982.).

Oštećena zrna. Oštećenja zrna mogu biti posljedica grešaka prilikom vršidbe ili napada štetočina. Oštećena zrna uklanjaju se prije prerade jer umanjuju poželjnu klijavost tijekom slađenja.

Oblik i veličina zrna. Dobro ispunjena i okruglasta zrna imaju veći sadržaj ekstrakta od spljoštenih, dugačkih zrna, pa su stoga takva zrna poželjna u proizvodnji slada.

Proklijala zrna. Unaprijed proklijala zrna su nepoželjna i neupotrebljiva za proizvodnju kvalitetnog slada. Proklijala zrna ukazuju na vlažne klimatske uvjete prije i nakon žetve.

Prisustvo štetočina. Najčešći nametnik zrna ječma je žitni žižak. Zrna koja je napao žižak su nagrižena uz pojavu rupica i plivaju na površini vode pa se stoga ne preporučuju za korištenje pri slađenju (Marić, 1982.).

2.1.2. Mehaničke osobine ječma

Sortiranje. Određuje se na osnovi debljine zrna pomoću specijalnih sita duguljastih otvora različite širine. Širine otvora za sortiranje ječma iznose 2,8; 2,5 i 2,2 mm. Na osnovi sortiranja dobiva se uvid u sadržaj zrna manjih od 2,2 mm (stočni ječam), zrna II. klase (veličina od 2,2 - 2,5 mm) te zrna I. klase (veličina zrna preko 2,5 mm). Standardne vrijednosti za udio I. klase:

- prosječan pivarski ječam - najmanje 85 %;
- dobar pivarski ječam - najmanje 90 %;
- odličan pivarski ječam - najmanje 95 % (Marić, 1982.).

Masa 1000 zrna ili apsolutna masa. U korelaciji je sa rezultatima sortiranja i sa ekstraktom ječma, jer se povećanjem mase 1000 zrna povećava udio ječma I. klase, a time se povećava i sadržaj ekstrakta. Masa 1000 zrna pouzdaniji je pokazatelj kakvoće od hektolitarske mase jer se masa 1000 zrna povećava porastom vlage, a za objektivnu ocjenu potrebno je izraziti je na suhu tvar zrna. Određuje se tako da se na raspodjeljivaču uzoraka odvoji 100 g ječma, odmjeri 2 puta po 40 g te aparatom za brojenje zrna odredi broj zrna u svakoj probi.

Standardne vrijednosti mase 1000 zrna na suhu tvar ječma iznose:

- 38 - 40 g - normalne vrijednosti mase 1000 zrna;
- 30 - 45 g - granične vrijednosti mase 1000 zrna.

Standardne vrijednosti mase 1000 zrna za zračno suhi ječam:

- 37 - 40 g - lak ječam;
- 41 - 44 g - osrednje težak ječam;
- preko 45 g - težak ječam (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Hektolitarska masa pokazuje kolika je masa 100 litara ječma izražena u kg. Hektolitarska masa pivarskog ječma kreće se od 68 do 75 kg, dok su granične vrijednosti od 65 do 78 kg. Hektolitarska masa ovisi o više činilaca: obliku zrna, vlažnosti zrna, načinu vršidbe i čišćenju. Ječam sa većom hektolitarskom masom pogodniji je za proizvodnju slada jer povećanje hektolitarske mase podrazumijeva povećavanje sadržaja škroba (molekula velike specifične mase), a time i sadržaj ekstrakta. Hektolitarska masa se određuje na posebnim vagama.

Osobine endosperma. Brašnavost, odnosno veća ili manja tvrdoća ječma u prvom redu je svojstvo sorte, ali u velikom omjeru ovisi i o uvjetima tijekom vegetacije. Kontrola endosperma obavlja se tzv. probom rezanja. Uređaj koji se koristi je farinatom po Polh-u ili po Grobecker-u kojima se određuje broj brašnastih, polustaklastih i staklastih zrna. Udio brašnastih zrna u kvalitetnom pivarskom ječmu treba biti najmanje 80 %, jer staklasta zrna imaju povećani udio proteina (Štefanić i Marić, 1990.).

2.1.3. Fiziološke osobine ječma

Klijavost ječma je najvažnije svojstvo pivarskog ječma. Podrazumijeva postotak svih viabilnih zrna u uzorku. Klijavost zrna određuje se metodom bojenja (EBC metoda) i metodom sa H_2O_2 (EBC metoda). Princip metode bojenja je taj da se u živim zrnima ječma uz sudjelovanje oksireduktaza i odgovarajućih koenzima bezbojni trifenil-tetrazolijklorid reducira u crveno obojeni formazan. Klijava su ona zrna čija je klica potpuno obojena (jako ili slabo) kao i ona zrna kod kojih je obojeno najmanje 2/3 površine klice, ali i ona koja su obojena, ali na klici mjestimično ima pojava mrlja svijetle boje. Nisu klijava ona zrna kojima je obojeno manje od 2/3 površine, zrna koja su obojena slabo narančasto-žuto ili koja nisu obojena. Rezultati se izražavaju kao klijavost u postotcima. Dobro osušeni ječam treba imati klijavost najmanje 95 % (Leskošek-Čukalović, 2002.).

Kod metode sa H_2O_2 pod utjecajem kisika se prevladava pospanost ječma, pa zrno može proklijati u svakom trenutku. Određena količina uzorka moči se u otopini H_2O_2 u Petrijevoj zdjelici, 2 dana na 19,5°C te nakon dodatka 200 ml otopine H_2O_2 moči još 1 dan, odvoji tekućina preko sita te izbroje isklijala zrna. Pod oštećenim zrnima podrazumijevaju se ona zrna kod kojih se ne zapaža kompletan rast lisne klice ili korjenčića. Rezultati se izražavaju kao klijavost u postocima, a standardna vrijednost je najmanje 96 %.

Energija klijanja podrazumijeva postotak zrna koja proklijaju u trenutku ispitivanja pod normalnim uvjetima slađenja. Dobra energija klijanja ukazuje na dobro zdravstveno stanje ječma, koji će se uspješno sladiti. Energija klijanja određuje se metodom po Aubry-ju (EBC metoda), metodom po Schönfeld-u (EBC metoda), BRF metodom (EBC metoda) te kao postotak isklijavanja i indeks isklijavanja. Princip svih metoda je da se određena količina zrna ječma stavi u posudu za klijanje (Petrijeva zdjelica, lijevak) sa određenom količinom vode između dva filter papira i nakon 5 dana izbroje se neisklijala zrna. Energija klijanja izražava se kao postotak isklijalih zrna nakon određenog vremena klijanja. Energija klijanja treba nakon 5 dana biti:

- za prosječan pivarski ječam - najmanje 95 %;
- za dobar pivarski ječam - najmanje 98 % (Marić, 1982.).

Pospanost (dormantnost) ječma je karakteristika od praktičnog značenja za sladarsku industriju, a javlja se u dva oblika:

- niska energija klijanja ili primarna pospanost;
- osjetljivost na vodu ili hidrosenzibilnost.

Primarna pospanost

Neposredno nakon žetve ječam ima malu energiju klijanja. U toku skladištenja energija klijanja se povećava. Kada se izjednači sa klijavošću, ječam je tehnološki zreo i spreman za proizvodnju slada. Pospanost ječma određuje se klijanjem 100 zrna u Petrijevim zdjelicama promjera 10 cm, sa 4 ml vode, za vrijeme 72 sata pri temperaturi 18 - 21 °C, a izračunava se na sljedeći način:

Pospanost ječma (%) = Klijavost (%) – Energija klijanja (%)

(Leskošek-Čukalović, 2002.)

Hidrosenzibilnost. Prilikom rada sa 4 mL vode dobiva se normalna energija klijanja. Rezultat dobiven sa 8 mL vode ukazuje na hidrosenzibilnost zrna. Hidrosenzibilnost je važna za močenje ječma. Što je ona veća, to duže trebaju biti pauze bez vode. Hidrosenzibilnost se dobiva iz razlike energija klijanja sa 4 i sa 8 mL vode. Izražava se u postotcima, a rezultati se ocjenjuju kao:

- do 10 % - vrlo mala hidrosenzibilnost;
- 11 - 25 % - mala hidrosenzibilnost;
- 26 - 45 % - osrednja hidrosenzibilnost;
- preko 45 % - velika hidrosenzibilnost.

(Leskošek-Čukalović, 2002.)

Moć vezivanja vode (moć bubrenja). Na sposobnost ječma da upija vlagu utječu enzimska zbivanja u zrnu tijekom postžetvenog dozrijevanja, odnosno pospanost zrna. Što je neka sorta ječma enzimski jača, to joj je moć vezivanja vode veća i to je sladarska kakvoća ječma bolja. Odmjeri se određena količina zrna ječma i unosi u sitastu korpu te moči na 15-17°C kroz 72 sata. Nakon svakih 24 sata vaganjem se odredi vlaga ječma.
Ocjena rezultata:

- do 45 % - nezadovoljavajuća moć bubrenja;
- 45 - 47,5 % - zadovoljavajuća moć bubrenja;
- 47,6 - 50,0 % - dobra moć bubrenja;
- preko 50 % - vrlo dobra moć bubrenja.

(Štefanić i Marić, 1990.)

2.1.4. Kemijsko-fizikalne osobine ječma

Udio vlage u ječmu značajan je za mogućnost čuvanja ječma. Povoljno je da udio vlage bude ispod 14 %. Udio vlage određuje se sušenjem i brzim metodama. Određivanje vlage sušenjem u sušnici (EBC metoda) obavlja se prema ISO 712, 1985., pri čemu se ječmena prekrupa suši određeno vrijeme, na određenoj temperaturi, u sušnici sa suhim zrakom zagrijavanoj električnim putem. Udio vlage se izračunava na osnovi razlike masa. Ova metoda nije pogodna za određivanje udjela vlage u sladu. Od brzih metoda koriste se metoda sušenja sa infracrvenim zrakama, refleksijska spektroskopija u blisko infracrvenom

području, transmisijska spektroskopija u blisko infracrvenom području, sušenje mikrovalovima te mjerenje elektroprovodljivosti (MEBAK, 1997.).

Sadržaj proteina vrlo je važan pokazatelj kakvoće pivarskog ječma. Ječam sa većim sadržajem proteina teže se sladi, a i gubitci tijekom slađenja su veći. Posebno je važno u proizvodnji svijetlog piva da udio proteina bude mali. Porastom sadržaja proteina smanjuje se sadržaj ekstrakta. Određivanje udjela proteina određuje se preko sadržaja dušika: metodom po Kjeldahl-u (EBC metoda), metodom po Dumas-u (EBC metoda), metodom refleksijske spektroskopije u blisko infracrvenom području-NIR (EBC metoda) te metodom transmisijske spektroskopije u blisko infracrvenom području-NIT (EBC metoda). Udio proteina dobije se tako da se udio dušika pomnoži sa faktorom 6,25. Ovaj faktor daje samo prosječan sadržaj sirovih proteina. Normalni sadržaj proteina u pivarskom ječmu je 10 - 11 % (MEBAK, 1997.).

Sadržaj ekstrakta. Za određivanje sadržaja ekstrakta koristi se, prema MEBAK-u, postupak mikroslađenja kao standardni postupak rada. Sadržaj ekstrakta može se odrediti i pomoću enzimskog ekstrakta slada. Pod pojmom ekstrakta ječma podrazumijevaju se oni sastojci ječma koji pod utvrđenim uvjetima komljenja prelaze u otopinu. Ekstrakt ječma najvećim je dijelom škrob i obično je za oko 14,7 % veći od sadržaja škroba u njemu. Standardne vrijednosti sadržaja ekstrakta kreću se od 75 - 82 % na suhu tvar ječma (MEBAK, 1997.).

Sadržaj sirovih vlakana. Pojam sirova vlakna obuhvaća najvećim dijelom netopljive balastne sastojke biljnog porijekla, koji zaostaju nakon razgradnje smjesom octene, dušične i trikloroctene kiseline. Sirova vlakna se najvećim dijelom sastoje od celuloze i drugih sastojaka biljnih staničnih stijenki. Mljeveni ječam se razgrađuje smjesom kiselina, ostatak se tretira octenom kiselinom i nakon ispiranja vrućom vodom suši se do konstantne mase i važe. Spaljivanjem filtra i oduzimanjem ostatka nakon žarenja, od mase materijala koji je ostao neotopljen nakon razgradnje se dobiva sadržaj sirovih vlakana. Prosječni sadržaj sirovih vlakana u zrnu ječma je 4 % (MEBAK, 1997.).

Sadržaj pljevice (EBC metoda). Zbog velikog sadržaja fenolnih tvari, pljevica je značajna za boju, okus i stabilnost piva. Za proizvodnju kvalitetnih svijetlih piva poželjan je ječam sa nježnom pljevicom, a za tamnija piva je poželjno da pljevica bude grublja. Pljevica se odvaja od zrna prilikom obrade otopinom natrijevog hipoklorita uz dodatak natrijevog hidroksida.

Nakon odvajanja pljevice odredi se suha masa zrna bez pljevice i na osnovi gubitka mase izračuna se sadržaj pljevice. Ječam sadrži 0,1 - 0,3 % polifenola na suhu tvar (MEBAK, 1997.).

Udio β-glukana. β-glukani su neškrobni polisaharidi koji se ubrajaju u tzv. Hemicelulozne spojeve. Slično pentozanima, i oni se pojavljuju kao gradivne tvari staničnih stijenki stanica sa škrobom u endospermu. β-glukani se otapaju u komini te dovode do porasta viskoznosti, ali i punoće okusa i stabilnosti pjene, a negativno djeluju na filtrabilnost jer zbog svoje nitaste građe dolazi do stvaranja gela na filteru (Marić, 2009.).

Sadržaj β-glukana u ječmu utječe na tijek razgradnje prilikom slađenja, a time i na kakvoću slada (Šimić i sur., 2015.). Metode određivanja β-glukana su enzimska metoda (EBC metoda) i fluorimetrijska metoda (EBC metoda). Sadržaj β-glukana u ječmu iznosi od 1 do 2,5 % ovisno o sorti i uvjetima vegetacije (Mebak, 1997.).

Stanične stijenke endosperma žitarica su građene od β-glukana i malo pentozana (hemiceluloze). β-glukan se sastoji od nerazgranatih lanaca sastavljenih od glukoznih jedinica povezanih β-1,3 i β-1,4 vezama omjerom (30:70). Ostatak β-glukana u ječmenom zrnu, koji nije razgrađen tijekom slađenja, izaziva poteškoće pri cijeđenju sladovine i filtra piva. Još veći problem izaziva β-glukan iz neslađenih žitarica. U oba slučaja nastaje β-glukanski gel koji usporava cijeđenje sladovine i filtraciju piva. Stoga bi preostali β-glukan u sladnome zrnu, odnosno, u neslađenim žitaricama trebalo razgraditi (varionica) prije hidrolize škroba. Za razgradnju β-glukana na raspolaganju su dva enzima iz slada s različitim temperaturnim optimumima i proizvodima hidrolize (Marić, 2009.):

β-glukan + β-glukanaza (45 - 50 °C) ⟶ **β-glukanski dekstrin**

β-glukan + β-glukan-solubilaza (60 - 65 °C) ⟶ **otopljeni β-glukan**

2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE SLADA

Polazna sirovina za proizvodnju piva je pivarski ječam. On sadrži škrob koji se ne može otopiti u vodi, pa se ječam ne koristi izravno u proizvodnji piva, nego se podvrgava postupku slađenja ili prerade ječma u slad. Pivarski slad je ječmeno zrnje koje je proklijalo u umjetno stvorenim uvjetima.

Svrha klijanja je:

1. nakupljanje hidrolitičkih enzima u zrnu (amilolitičkih, proteolitičkih, citolitičkih i dr.) koji mogu prevesti škrob i druge sastojke zrna u vodotopljivi oblik,
2. razaranje stanične strukture zrna kako bi stanični sastojci postali dostupni enzimima.

Pivarski slad istovremeno služi kao izvor enzima, ugljikohidrata i proteina, koji se s tim enzimima prevode u vodotopljivi oblik sladovine, stoga slađenje treba provesti tako da se dobije što više aktivnih enzima i utroši što manje endosperma zrna za disanje, rast klice i korjenčića, odnosno da se dobije slad odgovarajuće kvalitete, ovisno o tipu piva koje će se iz njega proizvoditi (Marić 2000.).

2.2.1. Postupak slađenja

Postupak slađenja se sastoji od sljedećih pet faza:

1. Prijem, čišćenje, sortiranje i čuvanje ječma;
2. Močenje ječma;
3. Klijanje ječma;
4. Sušenje zelenog slada;
5. Dorada i čuvanje slada (Marić, 2000.).

Slad se proizvodi samo iz krupnog zrna, ujednačene debljine (promjera: 2,2 - 2,8 mm). Zato se ječam prije slađenja čisti i sortira u tri klase. Za proizvodnju slada koriste se samo I. i II. klasa, koja se u pravilu slade odvojeno.

Za uspješno klijanje zrnu je potrebno 42 - 48 % vode. Da bi se u zrnu podigla vlažnost sa početnih 14 % vode, na poželjnih >40 %, zrno treba namakati 60 - 100 sati, ovisno o temperaturi i postupku namakanja. Porastom sadržaja vode, zrnu se povećava i potreba za kisikom, pa se tijekom močenja zrno opskrbljuje i odgovarajućom količinom zraka (aerira). Zato se močenje odvija u posudama za močenje - močionicama, koje su napravljenje tako da omogućuju izmjenu vode za močenje i aeraciju zrna tijekom faze močenja (Marić, 2000.).

Za vrijeme klijanja, u zrnu se odvijaju fiziološki i biokemijski procesi jednaki onima pri prirodnom klijanju u zemlji. Razvijaju se lisna klica i korjenčići za što je potrebna hrana, odnosno energija. Izvor hrane i energije je rezervni materijal iz endosperma zrna (škrob i proteini). Da bi škrob mogao poslužiti kao izvor energije za biosintezu klice i korjenčića potrebno ga je razgraditi, tj. najprije pretvoriti u topljivi oblik, a zatim hidrolizirati. Zato se

moraju aktivirati u zrnu prisutni enzimi i sintetizirati novi (npr.α-amilaza). Optimalno odvijanje ovog procesa zahtijeva optimalne uvjete: temperature, vlažnosti i sadržaja kisika, što se postiže primjenom odgovarajućih uređaja za klijanje. Temperatura klijanja ovisi o vrsti slada i kreće se oko 12 °C, ali u pravilu ne prelazi 25 °C (Marić, 2000.).

Maksimalna temperatura klijanja za svijetle tipove slada iznosi 18 °C. Regulacija temperature se izvodi mehaničkim prevrtanjem slada i odvođenjem topline disanja, propuhivanjem gomile što klija, a pomoću struje kondicioniranog zraka. Propuhivanjem se istovremeno opskrbljuje gomila s kisikom, ali i uklanja nastali ugljikov dioksid. Ovisno o tipu slada, konstrukciji klijališta i načinu vođenja procesa klijanje traje 6 - 8 dana.

Kako se u toku klijanja jedan dio škroba (oko 25 %) hidrolizira do šećera (glukoza, maltoza itd), isklijalo zrno je slatkastog okusa pa ga nazivamo slad ili točnije zeleni slad. To je poluproizvod (Marić, 2000.).

Zeleni slad je efikasno sredstvo koje se nekada koristilo za ošećerenje škrobnih sirovina u proizvodnji žitnih alkohola. Zeleni slad je nestabilan zbog velike količine sadržane vode, lako se kvari, ne daje pivo zadovoljavajućih organoleptičkih osobina, pa se za pivarske svrhe zeleni slad podvrgava sušenju. Sušenjem se zeleni slad prevodi u trajni proizvod koji osim enzima sadrži odgovarajuću količinu aromatičnih i obojenih tvari. Nakon uklanjanja klice i korjenčića sa zrna osušenog slada dobiva se gotov proizvod - pivarski slad (Marić, 2000.).

Sušenje zelenog slada provodi se toplim zrakom pri 80 - 105 °C, ovisno o tipu slada. Maksimalna temperatura sušenja svijetlog slada je 80 °C, ali se ta temperatura primjenjuje tek onda kada se iz zelenog slada ukloni većina slobodne vode. Sušenje započinje pri niskim temperaturama zraka (20 - 30 °C) i traje tako dugo (obično 12 sati) pri toj temperaturi dok ne prestane opasnost od denaturacije, tj. trajne inaktivacije prisutnih enzima u sladu. Tek u fazi dosušivanja ili uklanjanja vezane vode moguće je primijeniti temperature sušenja. Sušenje i dosušivanje traju oko 24 sata (Marić, 1982.).

Nakon sušenja i uklanjanja korjenčića, slad se skladišti i koristi za proizvodnju piva tek nakon četiri tjedna, kada se slad rehidrira vlagom iz zraka, a enzimi koji su tijekom sušenja ipak pretrpjeli određeni toplinski šok ponovo aktiviraju. Prema tome, pivarski slad je isklijali, osušeni i od klica i korjenčića oslobođen ječam, koji ima odgovarajuću enzimsku aktivnost, boju i miris (Marić, 1982.).

2.2.2. Gubitci u proizvodnji slada

Od 1000 kg sortiranog ječma dobije se oko 1480 kg namočenog ječma, odnosno 1400 kg zelenog slada. Nakon sušenja, skidanja korjenčića i poliranja dobije se oko 760 kg gotovog proizvoda, koji nakon rehidracije, zbog primanja vode iz zraka, može povećati težinu na 780 kg. U toku slađenja se prema tome početna masa ječmenog zrna smanjuje za 20 - 25 %. Slad naime ima za oko 10 % manje vode nego ječam, a stvarni gubitci zbog uklanjanja splavnice, izluživanja, disanja te rasta klice i korjenčića iznose 10 - 15 %. Polazna količina ječma povećava svoj volumen u toku klijanja za 2,2 - 2,4 puta. Volumen gotovog, osušenog i poliranog slada je za 1,16 - 1,23 puta veći od volumena polazne količine ječma (Štefanić i Marić, 1990.).

2.3. OCJENA KAKVOĆE SLADA

Točni pokazatelji kakvoće slada dobiju se primjenom brojnih fizikalnih, kemijskih i fizioloških analitičkih metoda razvijenih u Europskom udruženju pivara (EBC – analitika). One su poznate i pod nazivom MEBAK.

2.3.1. Osnovne osobine slada

Osnovne osobine dobrog pivarskog slada su:

- ujednačena svjetložuta boja zrna;
- čist i svjež miris karakterističan za tip slada;
- cijela zrna bez prisutnosti zrna stranog podrijetla, prašine i klice.

(Marić, 2000.)

2.3.2. Mehaničke osobine slada

Sortiranje - određivanje veličina zrna slada

Određivanje ujednačenosti zrna slada po veličini obavlja se na isti način kao kod ječma. Frakcija koja se nalazi ispod sita sa otvorima od 2,2 mm označava se kao «nečisto».

Normalne vrijednosti:

- udio zrna I. klase (2,8 i 2,5 mm) najmanje 85 %;

- udio nečistoća, najviše 0,5 % (Marić, 2000.).

Masa tisuću zrna predstavlja apsolutnu masu zrna slada i određuje se na isti način kao kod ječma. Masa tisuću zrna pokazuje stupanj razgrađenosti slada i ona je utoliko manja ukoliko je slad bolje razgrađen i ukoliko su veći gubitci pri klijanju uslijed disanja zrna. Ako se usporedi sa masom 1000 zrna ječma, može se odrediti gubitak pri slađenju. Normalne vrijednosti su:

- 28 - 38 g na zračno suhi slad;
- 25 - 35 g na suhu tvar slada (Marić, 2000.).

Hektolitarska masa slada predstavlja masu 100 litara slada izraženu u kilogramima. Kako škrob od svih sastojaka zrna ima najveću specifičnu masu, smatra se da je ječam veće hektolitarske mase bogatiji u sadržaju škroba. Hektolitarska masa ovisi o broju zrna koja se mogu smjestiti u određeni volumen, no kako taj broj ovisi o puno čimbenika, ona se smatra manje značajnim i manje pouzdanim parametrom. Dobro razgrađen i pravilno osušen slad ima hektolitarsku masu manju od 55 kg. Kratko klijali slad i slad u kome ima neproklijalih zrna ječma ima hektolitarsku masu oko 60 kg. Sa većim sadržajem vode i kod oštrijeg poliranja hektolitarska masa slada raste. Normalne vrijednosti su 47 - 60 kg na zračno suhi slad (Marić, 2000.).

Specifična masa je pouzdan pokazatelj stupnja razgradnje slada i utoliko je manja ukoliko je slad bolje razgrađen. Određivanje se obavlja pomoću piknometra sa toluolom. Specifična masa slada se nalazi u pozitivnoj korelaciji sa Brabender tvrdoćom, a u negativnoj sa Hartongovim brojem. Određuje se neposredno nakon sušenja i uklanjanja klica slada. Vrijednosti specifične mase manje od 1,10 g/cm^3 predstavljaju vrlo dobru razgrađenost slada, dok ona iznad 1,18 g/cm^3 predstavlja slabu razgrađenost (Gačeša, 1979.).

Proba tonjenja

Dobro razgrađen slad sadrži manje od 25 % zrna koja tonu. Nedovoljno razgrađena zrna slada i ona koja su dobila staklastu strukturu, u toku sušenja imaju gustoću veću od 1,0 i tonu kada se potope u vodu (Gačeša, 1979.).

Brašnavost i staklavost

Ova svojstva se određuju na bazi izgleda endosperma na uzdužnom presjeku zrna slada i daje informaciju o stupnju razgrađenosti slada i homogenosti. Dobro razgrađen slad sadrži više od 93,5 % brašnavih zrna (Marić, 2000.).

Friabilnost

Friabilnost slada predstavlja vrijednost krhkosti slada i obrnuto je proporcionalna staklavosti zrna. Što je veća krhkost, manja je staklavost. Staklavost sladnog zrna veća od 5 % može izazvati probleme u varionici, teškoće pri filtraciji piva i smanjenje koloidne stabilnosti piva, jer je tada povišena i količina β-glukana. Nedostaci metoda za mjerenje tvrdoće otklonjeni su uvođenjem aparata za mjerenje krhkosti slada, friabilimetra. Princip rada se sastoji u mehaničkom usitnjavanju 50 g zrna slada u rotirajućem bubnju od pletene žice, pri čemu su zrna izložena pritisku gumenih valjaka na mrežu od metalne žice. Količina slada koja prođe kroz sito, izražena u postotku, predstavlja se kao vrijednost krhkosti ili Friabilimetarska vrijednost, a ostatak u bubnju dalje se diferencira na djelomično ili potpuno staklaste dijelove. Staklavost zrna veća od 5 % može izazvati probleme u varionici, teškoće pri filtraciji piva te smanjenje koloidne stabilnosti piva (Marić, 2000.).

Iako fizikalne i fiziološke analize slada daju bitne podatke za sortiranost slada, masu 1000 zrna, udio zrna sa sposobnošću tonjenja, udio staklastih odnosno brašnastih zrna, prhkosti (friabilimetarska vrijednost), klijavosti i specifičnoj masi slada, iz kojih se može procijeniti njegova kvaliteta, za pivare su najvažniji rezultati dobiveni kemijsko-tehnološkom analizom. Slad se najprije samelje, grubo i fino, a zatim ukomi s vodom, prema tzv. kongresnoj metodi. Potom se određuju pokazatelji kakvoće koji slijede u nastavku.

Pokazatelji kakvoće dobroga svijetlog tipa slada:

- udio proteina ispod 10,8 %;
- stupanj razgradnje proteina (Kolbachov broj) od 38 do 42 %;

- udio ekstrakta viši od 80 %;
- razlika ekstrakta fine i grube meljave od 1,2 do 1,8 %;
- viskoznost ispod 1,55 mPas;
- topljivi dušik više od 0,65 g/100g s.t. slada;
- udio β-glukana od 2,58 do 4,87 g/100 g s.t.;
- boja ispod 3,4 EBC jedinice;
- friabilnost od 80 do 86 %;
- potpuno staklasta zrna ispod 2 %;
- Hartongov broj od 37 do 41 %;
- udio vode ispod 5 %;
- otpatci pri čišćenju ispod 0,8 % (Marić, 2000.).

2.3.3. Fizikalne, kemijske i biokemijske osobine slada

Mljevenje

Od 1978. godine Udruženje europskih proizvođača piva (E.B.C.) za mljevenje slada preporučuje samo upotrebu DLFU Bűhler Miag mlina sa diskovima. Podešavanjem razmaka između diskova na 0,20 mm dobiva se fina meljava, a sa veličinom razmaka od 1,00 mm gruba meljava slada. Sadržaj brašna u finoj meljavi je 90 ± 1 %, a u gruboj meljavi oko 32 %. Određuje se standardnim postupkom u sušioniku. Ako se primjenjuju brze metode rezultati se moraju poklapati sa onima iz standardnog postupka. Normalne vrijednosti za sadržaj vode svijetlog slada iznosi 3,0 - 5,8 %, a kod tamnog slada 1,0 - 4,5 % (MEBAK, 1997.).

Kontrola finoće mliva

Za kontrolu finoće mliva koristi se specijalni Pfungstadt Plansihter uređaj za prosijavanje koji se sastoji od dna, poklopca i pet sita od žičane mreže sa veličinom otvora od 0,125 do 1,270 mm. Prosijavanje traje 5 minuta pri 300 o/min. Količina brašna u finoj i gruboj meljavi računa se kao količina mliva koja se nalazi na tri donja sita (MEBAK, 1997.).

Količina vode (vlage)

Količina vode u sladu je značajna zbog utjecaja na količinu ekstrakta. Određuje se standardnim postupkom u sušioniku. Ako se primjenjuju brze metode rezultati se moraju poklapati sa onima iz standardnog postupka. Normalne vrijednosti za sadržaj vode svijetlog slada iznosi 3,0 - 5,8 %, a kod tamnog slada 1,0 - 4,5 % (MEBAK, 1997.).

Količina ekstrakta

Najznačajnija karakteristika slada u ekonomskom pogledu je količina ekstrakta ili tzv. laboratorijsko iskorištenje slada. Pod pojmom ekstrakta podrazumijevaju se svi otopljeni sastojci slada i svi oni koji u toku ukomljavanja postanu topljivi. Laboratorijsko iskorištenje fine meljave slada kreće se od 72 do 79 % za zračno suhi slad i od 76 do 84 % za suhu tvar slada (Marić, 2000.).

Viskoznost

Viskoznost sladovine daje uvid u citolitičku razgradnju slada, odnosno aktivnost endo-ß-glukanaze i stupanj razgradnje hemiceluloze i gumenih tvari do niskomolekularnih spojeva. Viskoznost sladovine povećavaju makromolekule polisaharida poput β-glukana i pentozana, jer imaju lančastu strukturu koja u vodenoj otopini bubri i pri tome ometaju međusobnu pokretljivost slojeva. Dakle niža vrijednost viskoznosti se postiže ako je i niža zastupljenost β-glukana u sladnom zrnu. Viskoznost preračunata na 8,6 %-tnu kongresnu sladovinu se kreće u granicama od 1,4 do 1,9 mPas. Pa tako viskoznost manja od 1,53 mPas predstavlja vrlo dobar stupanj razgrađenosti, dok ona veća od 1,68 mPas označava slab stupanj razgrađenosti. Viskoznost se određuje pomoću:

- Höpplerovog viskozimetra sa kuglicom,
- Rotacionog viskozimetra ili
- Ubbelohdeovog viskozimetra sa nivo kuglicom i kapilarom

(MEBAK, 1997.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

U ovom radu ispitivana je kakvoća slada 7 višenamjenskih sorti ječma (P/S) te četiri kontrolne, od čega su dvije bile pivarske sorte (P), a dvije sorte su definirane kao stočni ječam (S).

3.2. MATERIJAL I METODE

Višenamjenske sorte analiziranog ječma bile su: Rex, Barun, Maxim, Premium, Lukas, Maestro i Gazda. Stočne sorte ispitivane u ovom radu bile su Bingo i Bravo, a pivarske Vanessa i Tifanny. Uzorci ječma za slađenje dobiveni su od Poljoprivrednog Instituta Osijek koji vrši dugogodišnju selekciju ječma za različite namjene. Uzorci su prikupljeni kroz tri sezone (2011., 2012. i 2013. god.) iz sortnih pokusa koji su postavljeni po standardnom tzv. "slučajnom bloknom rasporedu" u četiri ponavljanja. Prikupljeno je po 5 kg ječma od svake sorte, tijekom svake sezone sa tri lokacije (Slavonski Brod, Tovarnik, Osijek). Na ječmu sa tri lokacije određeni su udjeli β-glukana, a ostali parametri kakvoće određivani su samo na ječmu s Osječke lokacije. Neposredno nakon žetve prikupljeni materijal je spremljen kao dorađeno i netretirano zrno te do analize čuvan na suhom i hladnom mjestu (do 20 °C) oko tri mjeseca da bi se prevladala poslije žetvena "pospanost zrna".

3.2.1. Mikroslađenje

Mikroslađenje je provedeno postupkom prema Middle European Brewing Analysis Commission - Srednjoeuropska komisija za pivarsku analitiku (MEBAK). Postupak mikroslađenja je razrađen za pivarski ječam (MEBAK, 1997.). Mikroslađenje je provedeno u klima komori (Climatic test chamber “Climacell 222“). Uspoređivale su se sljedeće osobine sladnog zrna ječma: sadržaj ukupnih proteina, sadržaj topljivih proteina, Kolbachov indeks, udio β-glukana, friabilnost, vlažnost zrna, ekstrakt slada, razlika fine i grube meljave slada, viskoznost te boja sladovine.

3.2.2. Analiza slada

Udio ukupnih proteina (određivanje ukupog dušika kao ukupni N)

Ukupni dušik određivan je metodom po Kjeldahlu MEBAK-I (2.5.2.1.), a preračunavanje u ukupne proteine množenjem s faktorom 6,25. Dušične tvari slada se razaraju vrućom sumpornom kiselinom u prisutnosti katalizatora do H_2O, CO_2 i NH_3 (tj. amonijsulfata). Digest se alkalizira sa NaOH, a oslobođeni amonijak se predestilira u otopinu borne kiseline i određuje titracijom sa standardnom otopinom 0,1 N sumporne ili solne kiseline.

Proračun:

ukupni N (% s.tv.) = $\frac{GP - SP}{odv \times (100 - w)} \times F$

GP = utrošak 0,1 N kiseline za glavnu probu u mL; SP = utrošak 0,1 N kiseline za slijepu probu u mL; odv. = odvaga uzorka gr; F = faktor 0,1 N kiseline; w = vlaga uzorka %

Topljivi dušik je onaj dio spojeva s dušikom koji pod uvjetima ukomljavanja prelazi u otopinu. Topljivi N se određuje prema gore navedenoj metodi za ukupni N s izuzetkom pripreme uzorka i prikazivanja rezultata (EBC-V 4.9.1.).

Proračun:

$$topljivi\ N\ (mg/L) = (GP - SP) \times 1{,}4 \times F \times 50$$

GP = utrošak 0,1 M kiseline u glavnoj probi, mL; SP = utrošak 0,1 M kiseline u slijepoj probi, mL; F = faktor 0,1 M kiseline

Kolbachov broj

Razgrađenost proteina (odnos ukupnog i topljivog N) ili Kolbachov index je pokazatelj proteolitičke razgrađenosti slada i ukazuje na aktivnost proteolitičkih enzima. Točnost ovog pokazatelja mora se uvijek promatrati zajedno s ukupnim udjelom N u sladu, jer je to zavisna veličina.

Kolbach-ov broj (%) $= \frac{otopljeni\ N\ \left(^{g}/_{100}\, g\ \ SM\ slada\right)}{ukupni\ N\ (\%\ SM\ slada)} \times 100$

Određivanje β-glukana

Ispitivanja su vršena tzv. Mixed-Linkage Beta-Glucan enzimskom metodom (McCleary metoda) (AACC, 2006.) koja je službena metoda za β-glukane u analitičkim priručnicima: EBC Methods 3.11.1, 4.16.1 and 8.11.1; AACC Method 32 - 23; AOAC Method 995.16; ICC

Standard Method No. 166. Ovom metodom se određuju β-glukani u ječmu i zobi. Uzorak i standard se odvažu u kivete te se doda određena količina etanola i natrijevog fosfata, a zatim vorteksira. Naizmjence se inkubira u kipućoj vodenoj kupelji i vorteksira tri minute, a zatim se inkubira na 50 °C, pet minuta. Dodaje se enzim lihenaza, zatvore se kivete te se ponovno inkubira na 50 °C, sat vremena uz vorteksiranje svakih 15 minuta.

Nakon sat vremena dodaje se natrijev acetat, vorteksira, a zatim centrifugira 10 minuta pri 1000 okretaja u minuti. Alikvot se razdijeli u tri kivete, u prve dvije se doda enzim β-glukozidaza, a u treću natrijev acetat. Inkubira se na temperaturi od 50 °C, 10 minuta. U posebne dvije kivete pripremi se glukozni standard s natrijevim acetatom, a u trećoj samo natrij acetat. Zatim se u sve kivete doda GOPOD reagens te se inkubira 20 minuta na 50 °C. Slijedi mjerenje apsorbancije pri 510 nanometara uz slijepu probu. Udio β-glukana se računa prema formuli:

$$\beta\text{-glukan} = \Delta E \times F \times 94 \times 1/1000 \times 100/W \times 162/180$$

$$= \Delta E \times F/W \times 9{,}27 \text{ [g/100 g suhe tvari uzorka]}$$

- ΔE = apsorbancija umanjena za slijepu probu,
- F = 100 µg glukoze/apsorbancija za 100 µg glukoze,
- 94 - korekcija volumena (0,1 ml uzeto iz 9,4 ml),
- 1/1000 - pretvaranje µg u mg,
- 100/W - faktor za izražavanje udjela β-glukana kao postotak od suhe tvari uzorka (W - masa suhe tvari uzorka u mg),
- 162/180 - prilagodba slobodne glukoze prema bezvodnoj glukozi (AACC, 2006.).

Friabilnost (prhkost) slada je određivana na friabilimetru marke Perten 220 L. Cijela zrna slada (50 g) se fragmentiraju mehaničkim putem u bubnju friabilimetra. Mali fragmenti, fiziološki modificiranog materijala prolaze van iz bubnja dok veći nerazgrađeni zaostaju. Zaostalim, nerazgrađenim fragmentima se nakon 8 minuta određuje masa te se izračunava friabilnost (metoda MEBAK 4.1.3.6.1.).

Vlažnost sladnog zrna određena je sušenjem u sušnici (EBC-V Ann. 4.2.). Prethodno prekrupljen (granulacija $\leq$ 1 mm) uzorak (30 g) sušen je 2 h na 132 °C u sušnici s toplim

zrakom uz standardizirane uvjete te hlađen u eksikatoru do sobne temperature. Vlažnost je određena mjerenjem gubitka mase prekrupe prije i poslije sušenja.

proračun: vlaga (%) = $\frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$

m_0 = masa prekrupe prije sušenja; m_1 = masa prekrupe poslije sušenja

Ekstrakt fini

Ekstrakt slada određivan je prema MEBAK-u (metoda 4.1.4.2.2.).

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

$$Ekstrakt\ slada\ E\ (\%\ s.t.) = \frac{100 \times E(\%\ zracno\ suhi)}{100 - W}$$

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.

Ekstrakt grubi

Pri određivanju grubog ekstrakta rabi se ista metoda kao kod određivanja finog ekstrakta, samo što je granulacija (promjer sita) pri mljevenju slada veća (1 mm).

Razlika ekstrakta fino i grubo mljevenog slada

Razlika ekstrakta fino i grubo mljevenog slada je pokazatelj uspješnosti razgradnje staničnih stijenki endosperma, a određivana je po MEBAK 4.1.4.2.10. Ona je velikim dijelom odlika sorte, ali ovisi i o vremenskim uvjetima tijekom sezone.

Viskoznost slada (izražena kao viskoznost kongresne sladovine) je bitan tehnološki pokazatelj. Viskoznost je određena EBC metodom (MEBAK 4.1.4.4.1.) neposredno nakon početka filtracije pomoću viskozimetra s padajućom kuglicom po Höppleru.

$\eta = K(\rho_1 - \rho_2) \times \tau$

η = dinamička viskoznost, mPas

K = konstanta kugle, $\frac{mPas \times cm^3}{g}$

ρ_1 = gustoća kugle, g/cm^3

ρ_2 = gustoća analizirane tekućine, g/cm^3

τ = vrijeme padanja kugle, s

Boja kongresne sladovine je mjerena spektrofotometrijski, odmah poslije filtracije, mjerenjem apsorbancije na 430 nm i množenjem s odgovarajućim faktorom (MEBAK, 4.1.4.2.8.2.).

Proračun:

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

Obrada rezultata

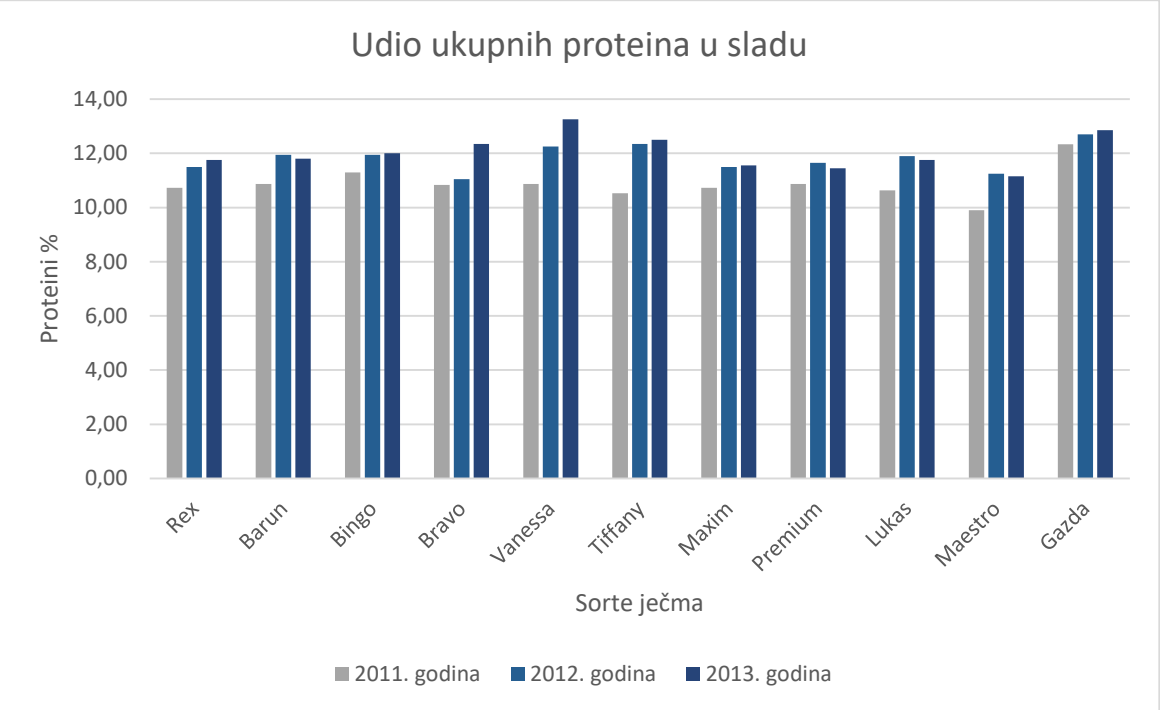
Prilikom statističke obrade rezultata i njihovog prikazivanja u odgovarajućim tablicama i dijagramima korišten je računalni program Microsoft Excel 2013.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Ako neka sorta koja izvorno nije bila selekcionirana i oplemenjivana kao pivarska, nego kao stočna, a pokaže dobre vrijednosti za pokazatelje kvalitete koji su važni sa pivarskog stajališta (nizak udjel proteina, nizak udjel β-glukana, dobru friabilnost zrna, što manje staklastih zrna, a unutar njih što veću tzv. „prolaznu staklavost“ itd.) može se koristiti kao pivarska. Daljnja prednost stočnih sorti je da one urodom zrna nadmašuju grupu čistih pivarskih sorti te su zbog toga zanimljivije proizvođačima ječma. Na temelju dobivenih rezultata te njihovom usporedbom s dostupnim podacima u znanstveno-stručnoj literaturi, ocijenjena je kvaliteta za svaku ispitivanu sortu ječma.

4.1. SADRŽAJ PROTEINA SLADA

Udio ukupnih proteina u sladnom zrnu ima izuzetan utjecaj na kvalitetu i strukturu analitičkih podataka ječmenog slada. Pokazatelj kakvoće dobrog slada je udio proteina ispod 10,80 %. Najniži, pa prema tome i najpoželjniji udio proteina (9,90 %), imala je višenamjenska sorta Maestro 2011. godine. U 2011. godini su i ostale sorte imale uglavnom zadovoljavajući udio proteina, za razliku od 2012. i 2013. godine kada je taj udio bio viši od 11 %, a kod nekih sorti i od 12 %, (Slika 1).

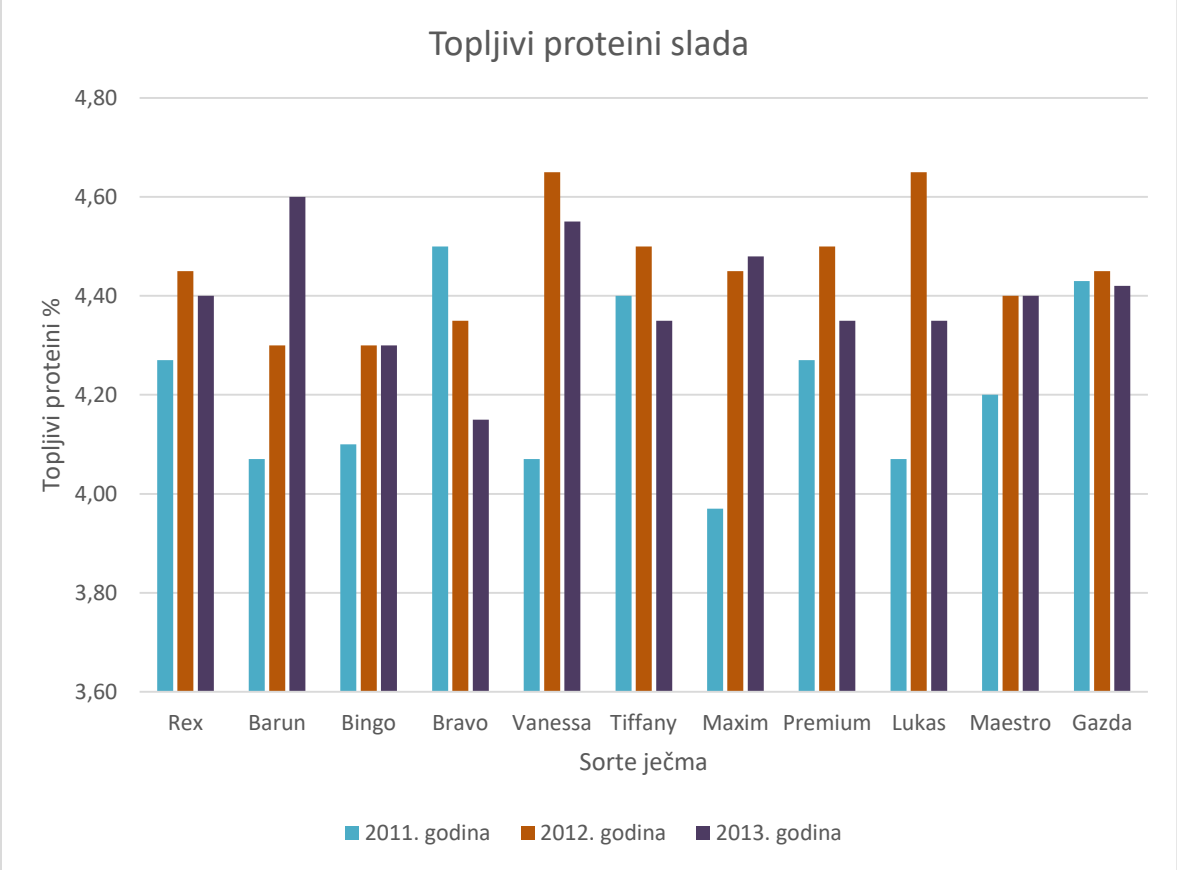


Slika 1 Prosječni udio ukupnih proteina u sladu u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

4.2. TOPLJIVI PROTEINI SLADA

Topljivi dušik je onaj dio spojeva s dušikom koji pod uvjetima ukomljavanja prelazi u otopinu, a vrijednost za topljive proteine se dobijem množenjem udjela topljivog dušika s faktorom 6,25. Veći sadržaj proteina u zrnu djeluje na porast količine topljivog dušika jer proteini zrna na određeni način predstavljaju supstrat za proteolizu, tj. vrijedi zakonitost po kojoj se koncentracija produkta povećava s porastom koncentracije supstrata. Kako uzrokuje procesne probleme i jako narušava senzorske osobina piva, udio topljivih proteina u sladu ne smije biti previsok. Poželjna proteolitička razgradnja (Kolbachov indeks 38 - 42 %), bilo da je posljedica tehnoloških zahvata tijekom slađenja ili uvjetovana kvalitetom same sirovine, daje piva poželjnih karakteristika (Gačeša, 1979.).

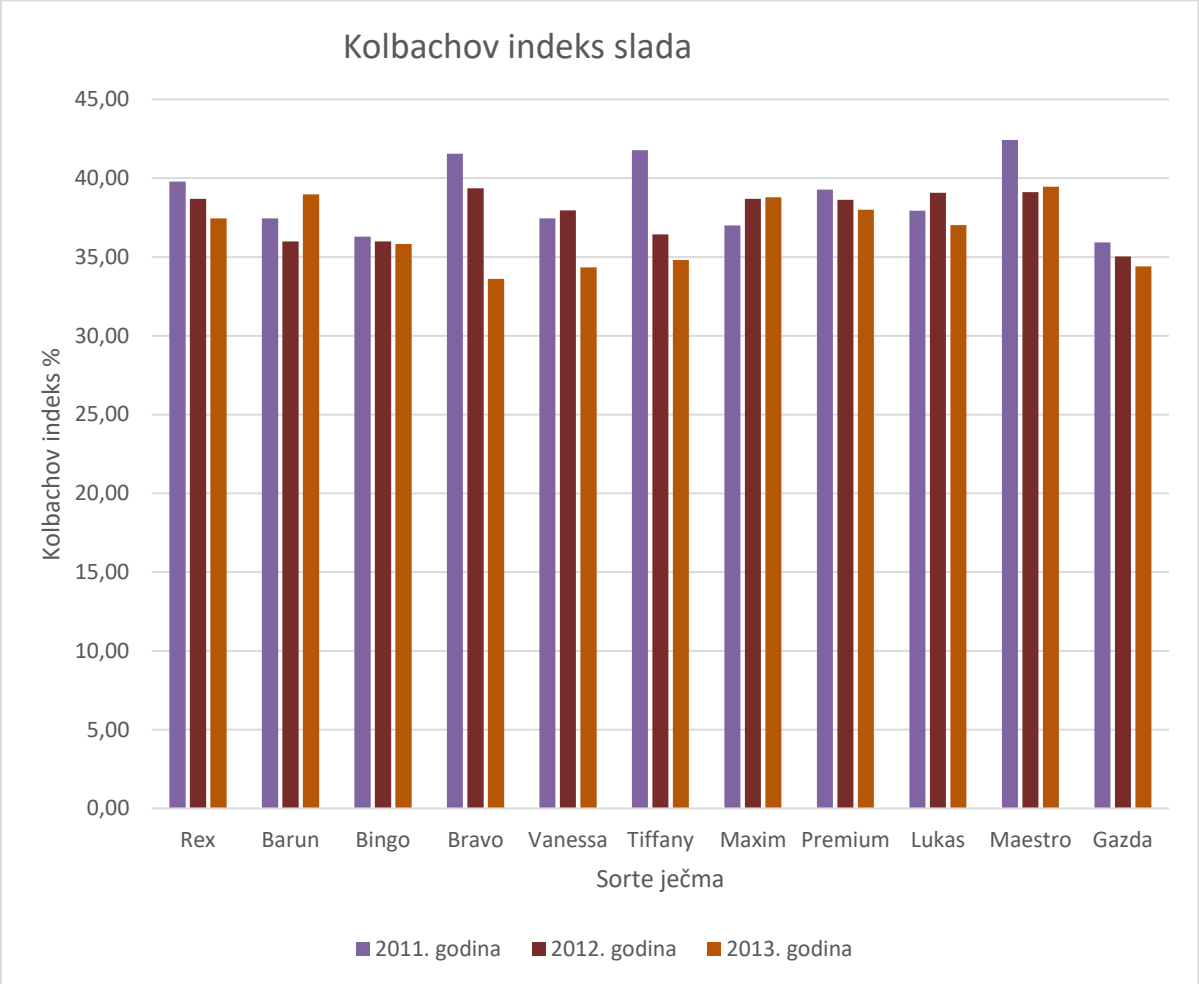
Najniža vrijednost topljivih proteina zabilježena je kod pivarsko-stočne sorte Maxim (3,97 %) 2011. godine, a najvišu vrijednost pokazuju sorte Vanessa i Lukas 2012.g (4,65 %), (Slika 2).



Slika 2 Udio topljivih proteina slada u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

4.3. KOLBACHOV INDEKS SLADA

Kolbachov indeks slada ili Kolbachov broj predstavlja stupanj razgradnje proteina i najbolje vrijednosti za proizvodnju piva kreću se od 38,0 do 42,0 %. Što je slad bolje razgrađen to je Kolbachov broj veći. Po pitanju Kolbachovog indeksa najlošije rezultate daje pivarsko-stočna sorta Gazda tijekom sve tri godine ispitivanja (35,93 %, 35,04 % i 34,4 %). Najveći Kolbachov indeks imala je pivarsko-stočna sorta Maestro, 42,42 % 2011. godine, a iste godine ovu vrijednost slijede pivarska sorta Tiffany sa 41,79 % i stočna sorta Bravo sa 41,55 %, (Slika 3).

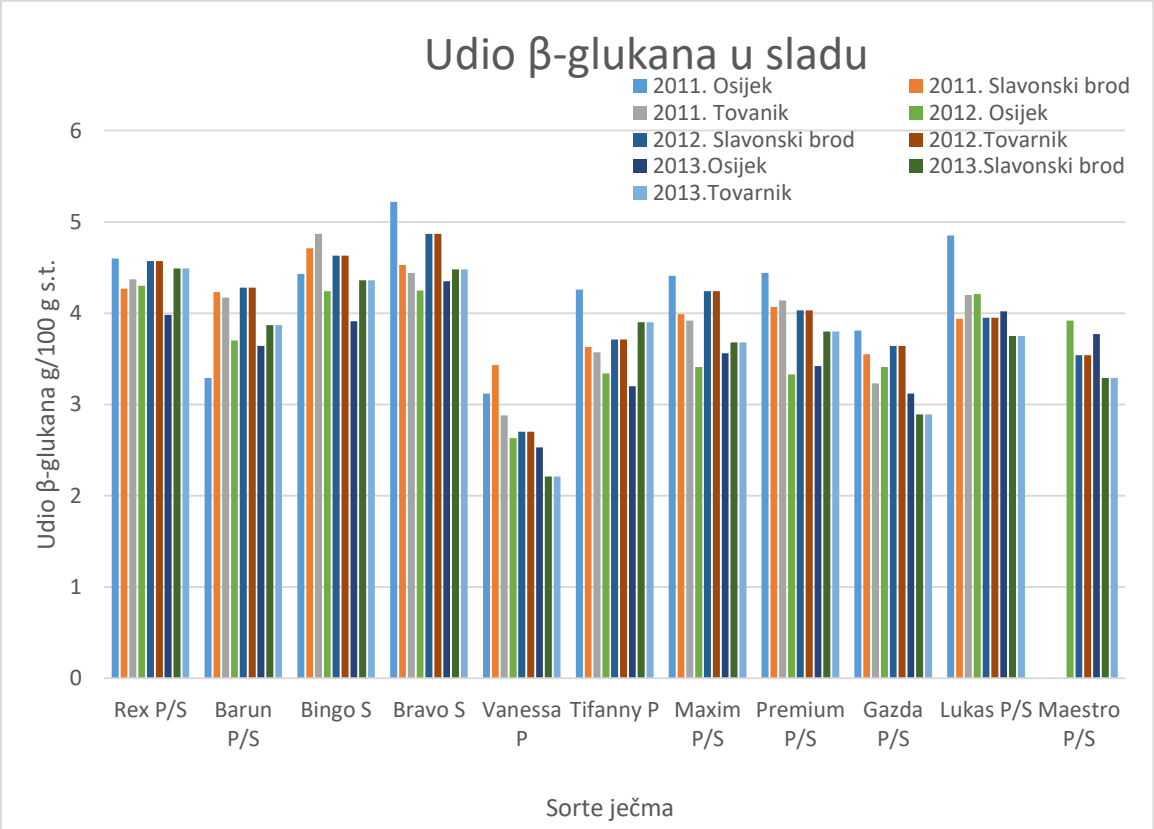


Slika 3 Kolbachov indeks slada u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

4.4. UDIO β-GLUKANA U SLADU

Stanične stijenke endosperma žitarica su građene od β-glukana. Ostatak β-glukana u ječmenom zrnu, koji nije razgrađen tijekom slađenja, izaziva poteškoće pri cijeđenju sladovine i filtraciji piva. Poteškoće nastaju zbog stvaranja β-glukanskog gela koji usporava cijeđenje sladovine i filtraciju piva. Sadržaj β-glukana u ječmu utječe na tijek razgradnje prilikom slađenja, a time i na kakvoću slada (Marić, 2009.).

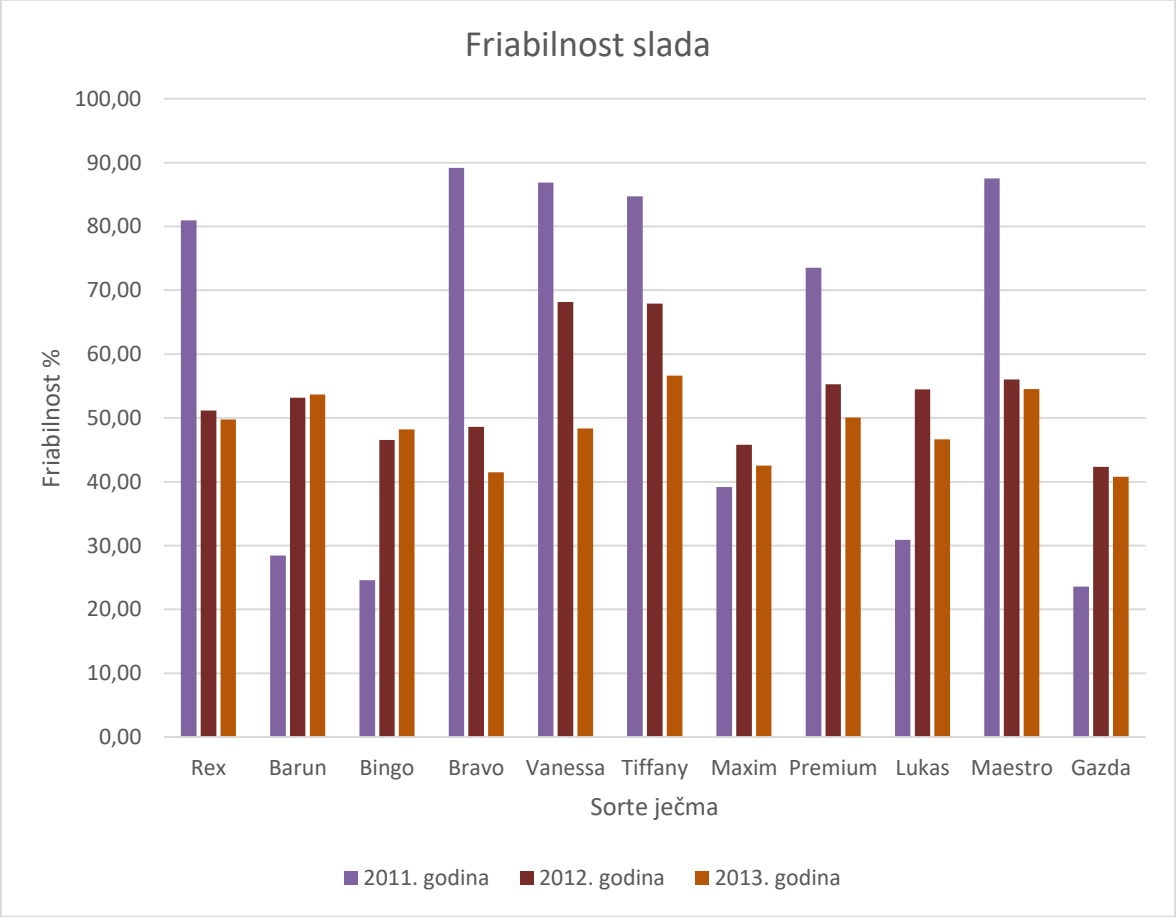
Rezultati za udio β-glukana (Slika 4) bili su u okviru preporučene vrijednosti od 2,58 - 4,87 g/100 g s.t. Najniži, pa prema tome i najbolji udio β-glukana imala je pivarska sorta Vanessa (2,21 g/100 g s.t.) 2013. godine na Lokacijama Slavonski brod i Tovarnik te 2,53 g/100 g s.t. na lokaciji Osijek iste godine. Slične rezultate su dobili i Krstanović i sur. (rad u postupku objavljivanja), gdje se Osijek pokazao kao najpogodnija lokacija za uzgoj ječma koji daje niske vrijednosti β-glukana. Iako se smatra da je količina β-glukana u ječmu genotipski određena, ipak postoje određeni tipovi tla koji su pogodniji za uzgoj ječma ukoliko je poželjan nizak sadržaj β-glukana.



Slika 4 Udio β-glukana u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine na tri lokacije

4.5. FRIABILNOST SLADA

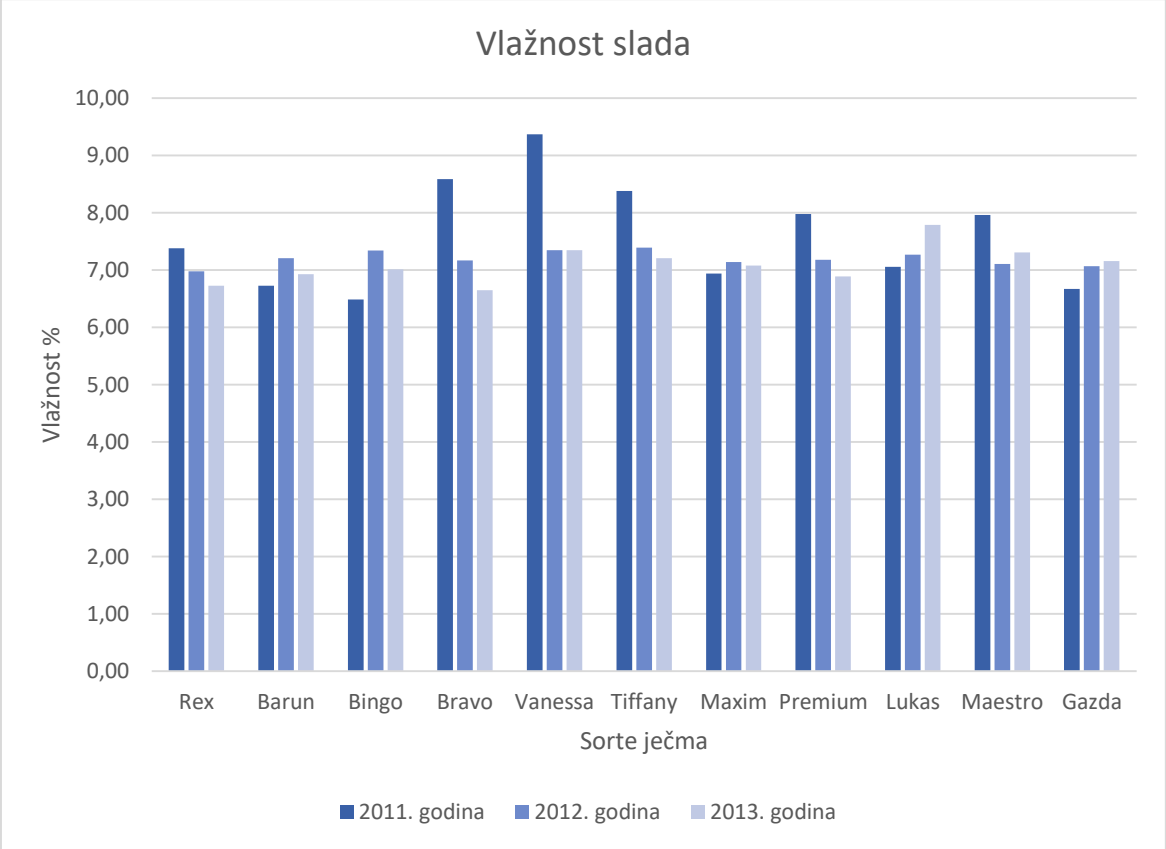
Pokazatelj dobre kakvoće slada su vrijednosti za friabilnost veće od 80 %. U ovom istraživanju taj kriterij je zadovoljen jedino 2011. godine i to u samo pet sorti ječma. To su bile stočna sorta Bravo (89,16 %), obje pivarske sorte Vanessa i Tiffany (86,86 % i 84,74 %) te pivarsko-stočne sorte Rex (80,94 %) i Maestro (87,54 %). Najniže vrijednosti friabilnosti sladnog zrna izmjerene su također 2011. godine, ali kod stočne sorte Bingo (24,69 %) i kod pivarsko-stočne sorte Gazda (23,60 %), (Slika 5).



Slika 5 Friabilnost slada u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

4.6. VLAŽNOST SLADA

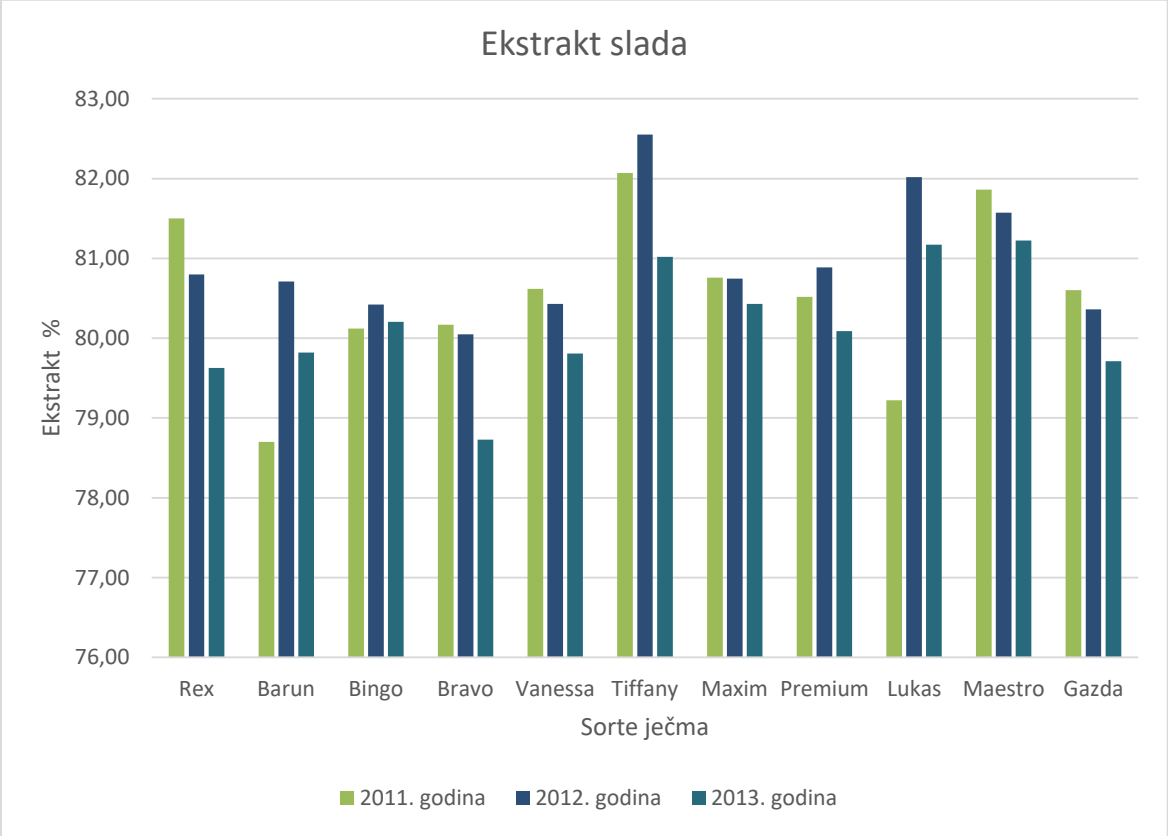
Količina vode u sladu je značajna zbog utjecaja na količinu ekstrakta. Mjerenjem vlažnosti tijekom sve tri godine (2011., 2012., i 2013.) sve sorte imale su povišenu vlažnost koja se kretala od 6,49 % (Bingo, 2011.) do čak 9,37 % (Vanessa, 2011.). Dakle i najniža i najviša vlažnost sladnog zrna zabilježena je iste godine, (Slika 6). Kao pokazatelj dobre kakvoće slada smatra se vlažnost sladnog zrna ispod 5 %.



Slika 6 Prosječna vlažnost slada u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

4.7. EKSTRAKT SLADA

Ekstrakt slada je osnovni ekonomski pokazatelj uspješnosti postupka slađenja i kakvoće zrna, a predstavlja sve vodotopljive sastojke (i fermetabilne i nefermentabilne) koji prelaze u otopinu tijekom ukomljavanja. Kao pokazatelj dobre kakvoće slada vrijedi udio ekstrakta slada viši od 80 %. Najniži udio sladnog ekstrakta imala je pivarsko-stočna sorta Barun 2011. godine (78,70 %). Više od 80 % ekstrakta slada imale su sve sorte 2012. godine, a najveći udio iste godine imala je pivarska sorta Tiffany (82,55 %), (Slika 7).



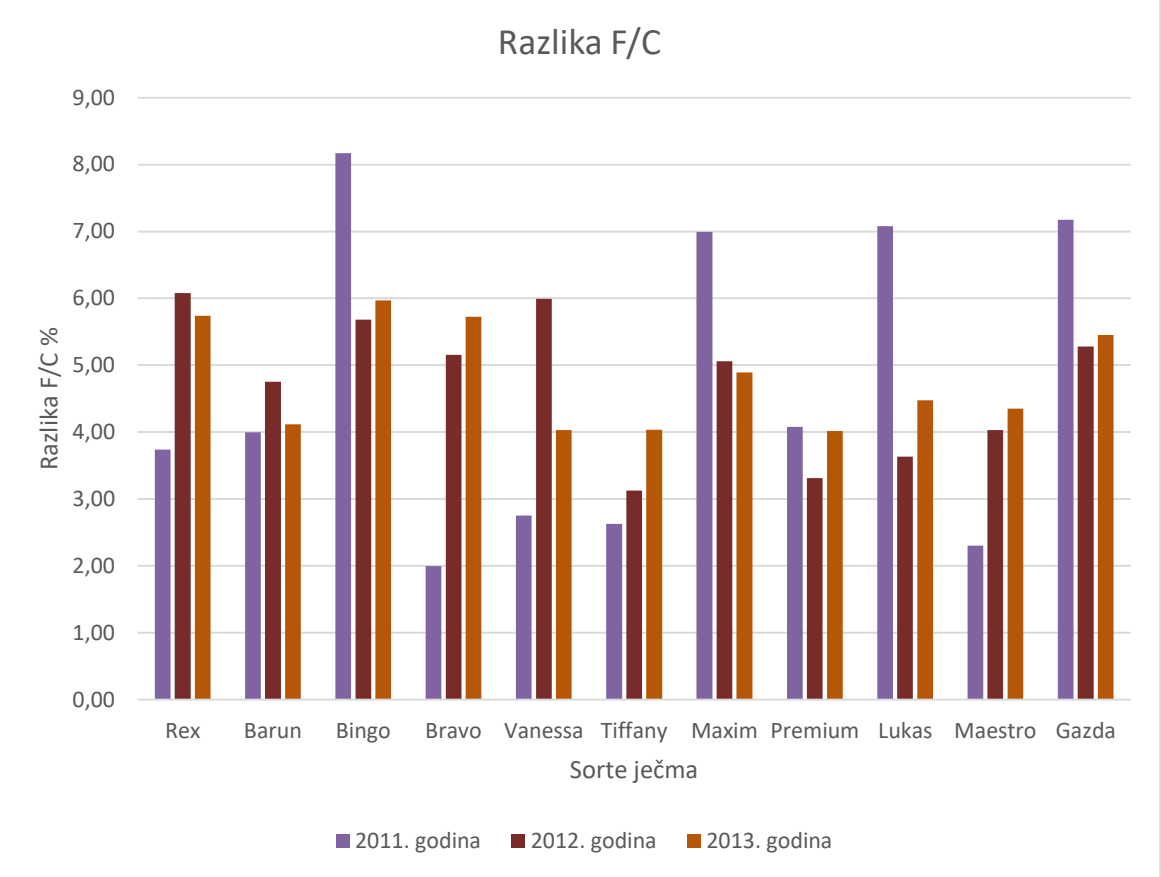
Slika 7 Prosječan udio ekstrakta slada u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

Prema pokazateljima vrijednosti za ekstrakt slada obje stočne sorte ječma (Bingo i Bravo) bi se mogle uvrstiti i u pivarske, jer su tijekom sve tri godine imale povoljan udio ekstrakta.

4.8. RAZLIKA FINE I GRUBE MELJAVE SLADA

Razlika fine i grube meljave slada je pokazatelj uspješnosti razgradnje staničnih stijenki endosperma. Ako je ta razlika velika dobija se sladovina slabije kakvoće koja zbog toga ima i slabiju aktivnost enzima. Za dobru kakvoću slada najbolje bi bile vrijednosti razlike fine i grube meljave od 1,20 do 1,80 % (Gačeša, 1979.).

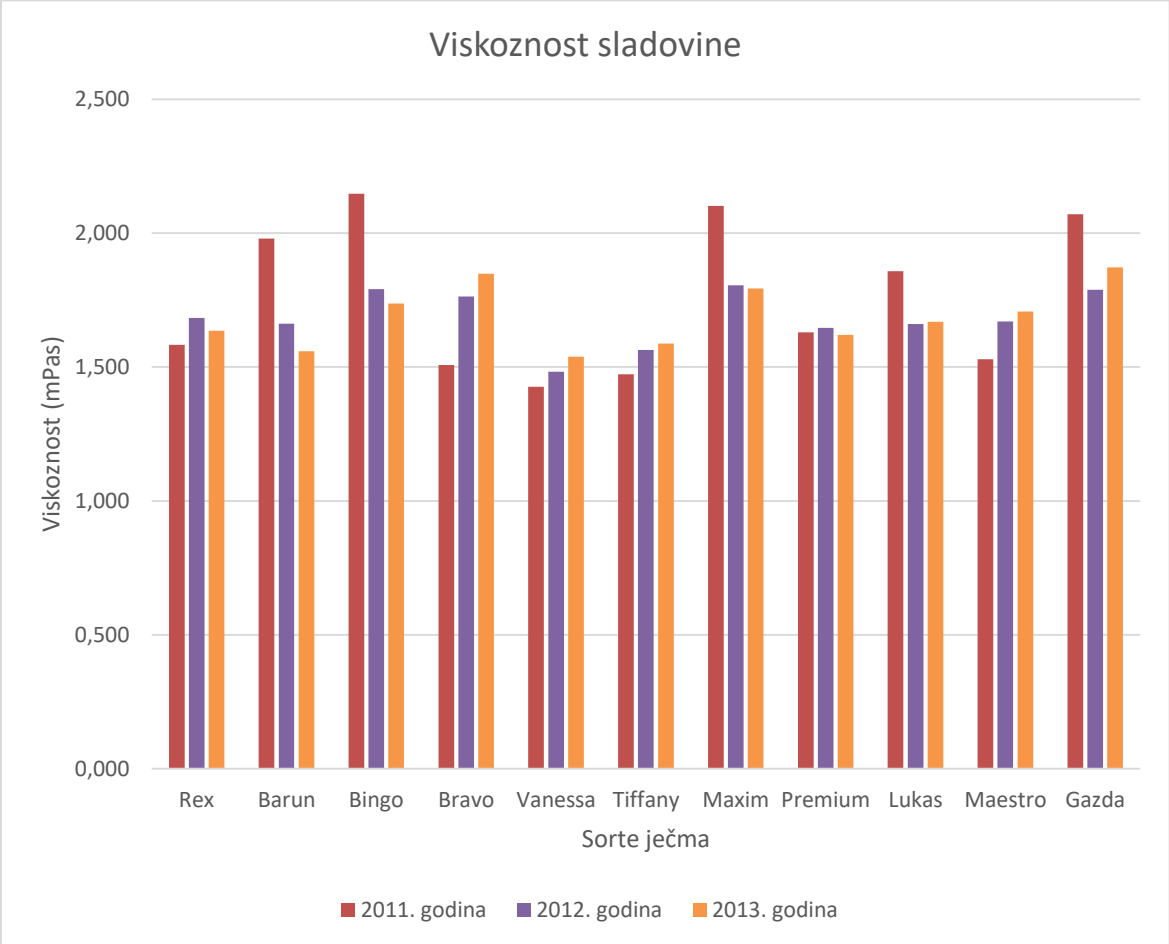
Na slici 8 prikazane su razlike fine i grube meljave slada 11 sorti ječma tijekom tri godine i niti jedan pokazatelj ne pokazuje zadani odnos, ali najniži omjer od 2 % pokazao se kod stočne sorte Bravo 2011. godine. Najviši pokazatelj razlike fine i grube meljave ukazao se kod također stočne ječmene sorte Bingo. Iste godine (2011.) zabilježene su i vrlo visoke vrijednosti razlike fine i grube meljave slada kod većine pivarsko-stočnih sorti (Maxim, Lukas i Gazda), (Slika 8).



Slika 8 Razlika fine i grube meljave slada u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

4.9. VISKOZNOST SLADOVINE

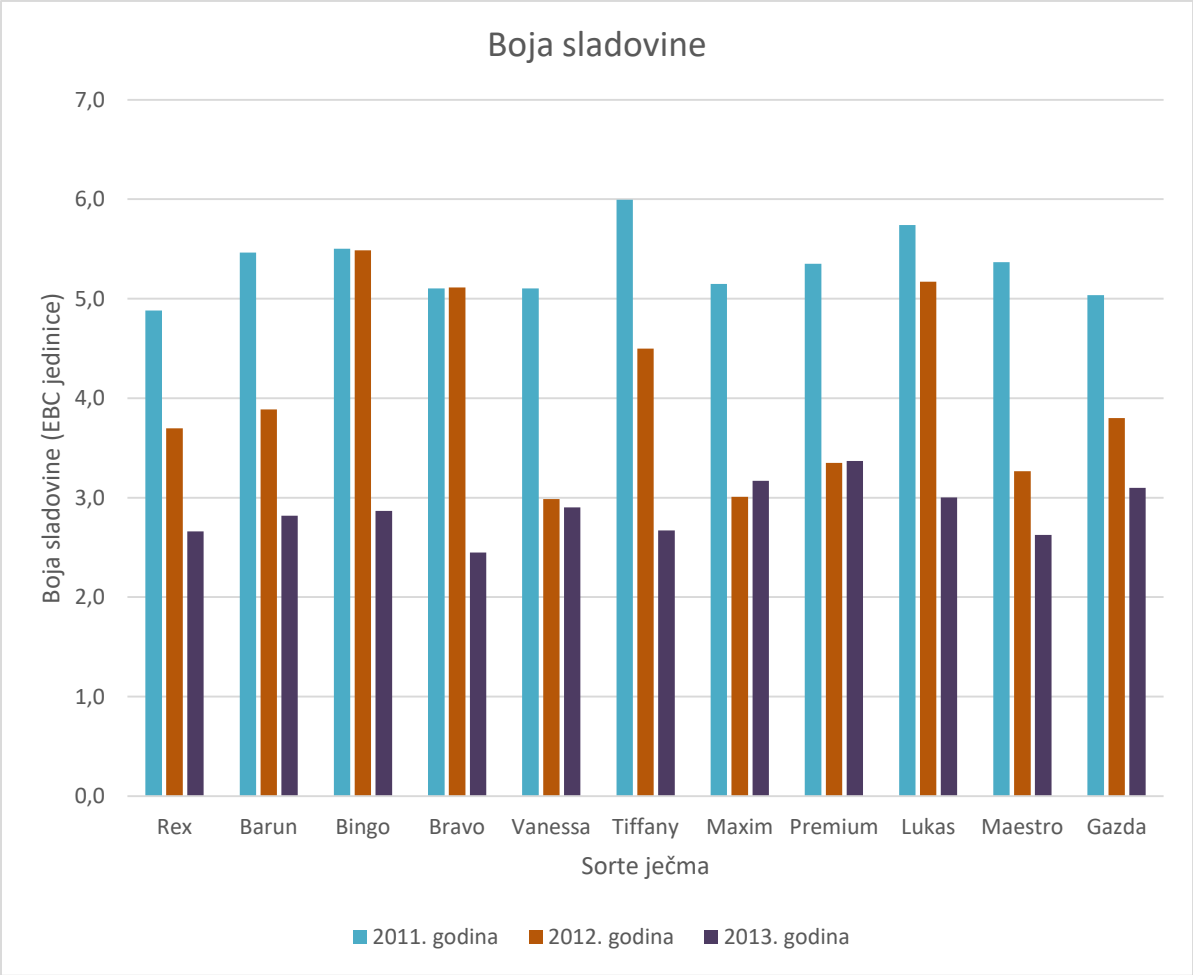
Viskoznost manja od 1,53 mPas predstavlja vrlo dobar stupanj razgrađenosti, dok veća od 1,68 mPas označava slab stupanj razgrađenosti. Najbolju viskoznost sladovine u ovom istraživanju imale su prema očekivanjima pivarske sorte Vanessa i Tiffany tijekom sve tri godine, a 2011. su i stočna sorta Bravo i pivarsko-stočna sorta Maestro imale također zadovoljavajuću viskoznost sladovine. Najveća odstupanja od te vijednosti zabilježena su kod stočne sorte Bingo (2,148 mPas) i kod pivarsko-stočnih sorti (Barun, Maxim, Lukas i Gazda) 2011. godine, (Slika 9).



Slika 9 Viskoznost sladovine u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

4.10. BOJA SLADOVINE

Boja kongresne sladovine jako ovisi o enzimsko-hidrolitičkim zbivanjima tijekom klijanja, a trebala bi biti ispod 3,4 EBC jedinice (Gačeša, 1979.). Ovom kriteriju udovoljavaju sve sorte ječma ispitivane 2013. godine, dok su 2011. godine zabilježene najlošije vrijednosti kod svih sorti, (Slika 10).



Slika 10 Boja sladovine u pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma tijekom tri godine

5. ZAKLJUČCI

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

1. 2011. godine gotovo sve sorte su pokazale zadovoljavajući udio proteina u sladnom zrnu. Za topljive proteine i količinu sladnog ekstrakta sve sorte su ispunile zadane uvjete kakvoće, tijekom sve tri godine.

2. Kod svih sorti su rezultati udjela β-glukana u sladu u okviru preporučenih vrijednosti tijekom sve tri godine istraživanja na sve tri lokacije.

3. Pivarske sorte Vanessa i Tiffany su prema očekivanjima imale izmjerene parametre u zadanim okvirima i ujednačenu kakvoću koja je primjerena ječmu za proizvodnju piva.

4. Stočna sorta Bravo imala je dobru sladarsku kakvoću prema većini mjerenih parametara pa bi se stoga mogla uvrstiti i u višenamjensku odnosno pivarsko-stočnu kategoriju.

5. Za vrijeme trogodišnjeg ispitivanja sladarske kakvoće višenamjenskih sorti najbolje pokazatelje imala je pivarsko-stočna sorta Maestro.

6. LITERATURA

American Association of Cereal Chemists: β-Glucan Content of Barley and Oats-Rapid Enzymatic Procedure. AACC Method 32-23, 2006.

ANALYTICA-EBC: European Brewery Convention, 5th edition, Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag, Nürnberg, 1998.

Baik B K, Ullrich S E: Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science*, 48, 233-242, 2008.

Bewley J D, Black M: Seeds: Physiology of Development and Germination. Plenum Press, New York, USA, 1985.

Divjak T: Usporedba klasičnih i novih metoda za analizu pivarskog ječma i slada. Disertacija. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2005.

Drezner G, Dvojković K, Horvat D, Novoselović D, Lalić A: Environmental impacts on wheat agronomic and quality traits. *Cereal Research Communications*, 35: 2, 357-360, 2007.

Gačeša S: Tehnologija slada sa sirovinama za tehnologiju piva. Poslovna zajednica industrije piva i slada Jugoslavije, Beograd, 1979.

Gagro M: Ratarstvo obiteljskog gospodarstva - Žitarice i zrnate mahunarke. Zagreb, 1997.

Kolak I: Sjemenarstvo ratarskih i krmnih kultura. Globus, Zagreb, 1994.

Krstanović V: Istraživanje postupaka slađenja domaćih sorti pšenica. Disertacija. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2004.

Krstanović V, Lalić A, Kosović I, Velić N, Mastanjević K, Mastanjević K: A survey of total β-glucan content in Croatian barley varieties. *Cereal Research Communications*, DOI: 10.1556/0806.44.2016.032, 2016.

Kumlehn J, Stein, N: Biotechnological Approaches to Barley Inprovement. Leibniz Institute of Plan Genetics and crop plant research (IPK), Gatersleben, Germany, 2014.

Kunze W: Technology Brewing and Malting. 2nd revised ed. VLB, Berlin, 1999.

Lalić A, Kovačević J: Stanje i budućnost domaće proizvodnje pivarskog ječma i slada. *Svijet piva* 21: 6-12, 1999.

Lalić A, Šimić G, Kovačević J, Novoselović D, Abičić I, Duvnjak V, Lenart L: Sadržaj bjelančevina i urod zrna kod ozimog ječma s obzirom na sinergiju genotipa i okoliša u Republici Hrvatskoj. *Poljoprivreda*, 15:1, 2009.

Lalić A, Kovačević J, Šimić G, Drezner G, Guberac V: Environmental effects on grain yield and malting quality parameters of winter barley. *Cereal Research Communications*, 35:2, 709-712, 2007.

Lalić A, Kovačević J, Novoselović D, Šimić G, Abičić I, Guberac V: Agronomic and quality traits of winter barley varieties (*Hordeum vulgare* L.) under growing conditions in the Republic of Croatia. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74:4, 283-289, 2009.

Lalić A, Šimić G, Kovačević J, Novoselović D, Horvat D, Abičić I, Lenart L, Mijaković R, Ugarčić-Hardi Ž: Analysis of Grain Yield and Cytolytic Degradation of Winter and Spring Barley Cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, Cluj-Napoca 38:1, 2010.

Leskovšek-Čulaković I: Slad i nesladovane sirovine. Poljoprivredni fakultet Beograd, 2002.

Marić V: Biotehnologija i sirovine, stručna i poslovna knjiga d.o.o. Zagreb, 2000.

Marić V: Tehnologija piva. Veleučilište u Karlovcu. Karlovac, 2009.

Marić V: Tehnologija slada i piva. Zagreb, 1982.

MEBAK-Mitteleuropaische Brautechnische Analysenkommision Brautechnische Analysenmethoden, Bd. I, 3: 89-90, 1997.

Newman R K, Newman C W: Barley for Food and Health. Science, Technology, and Products. Wiley, 2008.

Popović T: Određivanje β-glukana u domaćim sortama ječma. Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2012.

Qi J C, Chen, J X, Wang, J M, Wu F B, Cao L P, Zhang G P: Protein and hordein fraction content in barley seeds as affected by sowing date and their relations to malting quality. J. Zhejiang Univ., 6, 1069–1075, 2005.

Štefanić K, Marić V: Pivarski riječnik. Jugoslavensko udruženje pivovara, Beograd, 1990.

Šimić G, Sudar R, Lalić A, Jurković Z, Horvat D, Babić D: Relationship between hordein proteins and malt quality in barley cultivars grown in Croatia. *Cereal Research Communications*, 35: 3, 1487-1496, 2007.

Šimić G, Lalić A, Kovačević J. Horvat D, Lenart L: Effect of genotype and environment on spring barley hordeins. *Cereal Research Communications,* 36:3, 1491-1494, 2008.

Šimić G, Lalić A, Horvat D, Abičić I, Beraković I: β-Glucan content and β-glucanase activity of winter and spring malting barley cultivars *Acta Alimentaria*, Vol. 44: 4, 542–548, 2015.

Vasilj Đ: Biometrika i eksperimentiranje u bilinogojstvu. Hrvatsko Agronomsko društvo, Zagreb, 2000.