Proizvodnja i karakteristike lager piva proizvedenog kveik kvascem

Vuzem, Marina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:109:221105

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Marina Vuzem

PROIZVODNJA I KARAKTERISTIKE LAGER PIVA PROIZVEDENOG KVEIK KVASCEM

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2022.

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 inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Osnove bioprocesnog inženjerstva
Tema rada je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 28. travnja 2022.
Mentor: izv. prof. dr. sc. *Kristina Mastanjević*

Proizvodnja i karakteristike lager piva proizvedenog kveik kvascem

Marina Vuzem, 0113145654

Sažetak:
Sirovine koje se koriste pri proizvodnji piva vrlo su bitne kako bi se dobilo kvalitetno pivo. Kvasac je jedan od bitnih sastojaka piva koji proizvodi spojeve arome. U kućnom pivarstvu najčešće se proizvode ale piva pomoću ale kvasaca jer takvi kvasci brže provode fermentaciju pri višim temperaturama što odgovara uvjetima kućnog pivarstva. Za razliku od ale piva, za proizvodnju lagera potrebne su niže temperature i više vremena. Kveik kvasci se tradicionalno koriste u kućnom pivarstvu zbog svojih karakteristika kao što su brza provedba fermentacije pri visokim temperaturama, tolerancija na etanol te redukcija neželjenih okusa u pivu. Cilj ovog rada bio je ispitati mogućnosti proizvodnje lager piva uz pomoć kveik kvasca Lutra. Dobivenih 40 L sladovine podijeljeno je u dvije posude za fermentaciju i nacijepljeno kveik kvascem Lutra. Fermentacija se provodila na dvije temperature (21°C i 35°C) kako bismo ispitali mogućnost proizvodnje lager piva pri višim temperaturama. Fermentacija piva na 21°C trajala je 9 dana, a fermentacija piva na 35°C trajala je 2 dana. Završetkom fermentacije, piva su držana na niskoj temperaturi te su prebačena u kegove i karbonizirana. Provedene su analize fizikalno-kemijskih karakteristika piva (pH, udio alkohola, boja, bistroća, polifenoli, gorčina) te senzorna analiza. Uz fizikalno-kemijske i senzorne analize provedena je i GC-MS analiza kako bi usporedili dobivene uzorke.

Ključne riječi: proizvodnja piva, kveik kvasac, pseudo-lager pivo

Rad sadrži: 32 stranice
11 slika
3 tablice
31 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

1. prof. dr. sc. *Vinko Krstanović* — predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. *Kristina Mastanjević* — član-mentor
3. izv. prof. dr. sc. *Ante Lončarić* — član
4. doc. dr. sc. *Krunoslav Aladić* — zamjena člana

Datum obrane: 22. rujna 2022.

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 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. VII held on April 28, 2022
Mentor: *Kristina Mastanjević, PhD, assoc. prof.*

Production and characterization of lager beer produced using kveik yeast

Marina Vuzem, 0113145654

Abstract:
Raw materials used in the production of beer are very important in order to obtain the quality of beer. Yeast is one of the essential ingredients of beer that produces aroma compounds. In homebrewing, ale beers are most often produced using ale yeasts because they carry out fermentation faster at higher temperatures which corresponds to the conditions of homebrewing. Unlike ale beers, lower temperatures and more time are needed to produce lager. Kveik yeasts are traditionally used in homebrewing due to their charachteristics such as fast fermentation rates at higher temperatures, tolerance to ethanol and reduced off flavors. The aim of this paper was to examine the possibilities of lager beer production by using Lutra kveik. The 40 L batch that was produced was divided into two fermenting vessels and inoculated with Lutra yeast. In order to investigate the possibility of producing lager beer at higher temperatures fermentation was carried out at two temperatures (21 °C and 35 °C). Fermentation of beer at 21°C lasted nine days and fermentation at 35 °C lasted two days. After the fermentation, beers were kept at low temperature and were transferred to kegs and carbonated. Analyzes of the physical and chemical charachteristics (pH, alchocol content, color, clarity, polyphenols, bitterness) and sensory analysis were performed. In addition, GC-MS analysis was conducted in order to compare differences between samples.

Key words: production of beer, kveik yeast, pseudo-lager beer

Thesis contains: 32 pages
11 figures
3 tables
31 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Vinko Krstanović,* PhD, prof. — chair person
2. *Kristina Mastanjević,* PhD, assoc. prof. — supervisor
3. *Ante Lončarić*, PhD, assoc. prof. — member
4. *Krunoslav Aladić*, PhD, assis. prof. — stand-in

Defense date: 22. rujna 2022.

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

Iskreno se zahvaljujem,

svojoj mentorici doc. dr. sc. Kristini Mastanjević na pomoći, strpljenju i susretljivosti tijekom izrade diplomskog rada. Također, zahvaljujem svojim prijateljima, Leonu i Mariji, što su mi pomogli da izrada ovog rada prođe u opuštenoj i nasmijanoj atmosferi.

Zahvaljujem se kolegama i prijateljima koji su uljepšali moje studentske dane i učinili ih nezaboravnima.

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji, na pomoći, podršci i ljubavi!

SADRŽAJ

1.UVOD 1
2.TEORIJSKI DIO 3
2.1. Osnovne sirovine za proizvodnju piva 4
2.1.1. Voda 4
2.1.2. Slad 4
2.1.3. Hmelj 5
2.1.4. Kvasac 6
2.2. Kveik kvasac 8
2.3. Proizvodnja piva – kućno pivarstvo 10
2.3.1. Priprema vode 10
2.3.2. Mljevenje slada i ukomljavanje 10
2.3.3. Kuhanje sladovine i hmeljenje 11
2.3.4. Fermentacija 12
3.EKSPERIMENTALNI DIO 14
3.1. Zadatak 15
3.2. Materijali rada 15
3.3. Metode 16
3.3.1. Proizvodnja pseudo-lagera 16
3.3.2. Fizikalno – kemijske analize piva 17
3.3.2.1. Određivanje udjela alkohola, specifične težine, prividnog ekstrakta, stvarnog ekstrakta i ekstrakta u osnovnoj sladovini 17
3.3.2.2. Određivanje ukupnih polifenola 18
3.3.2.3. Određivanje boje 18
3.3.2.4. Određivanje gorčine 18
3.3.2.5. Određivanje bistroće 18
3.3.2.6. Određivanje pH 19
3.3.3. Određivanje hlapljivih spojeva piva 20
4.REZULTATI I RASPRAVA 21
5.ZAKLJUČCI 28
6.LITERATURA 30

Popis oznaka, kratica i simbola

ACE	acetaldehid
EAC	etil-acetat
BU	jedinica gorčine (engl. *bitterness units*)
DMS	dimetil sulfid

1.UVOD

Pivo je jedno od najstarijih alkoholnih pića na svijetu. Postoji mnogo različitih stilova i tipova piva koji isključivo ovise o sirovinama koje se upotrebljavaju u proizvodnji piva (Pavsler i Buiatti, 2009). Najosnovnije sirovine koje se koriste pri proizvodnji piva su voda, slad, hmelj i kvasac. Inače, pivo predstavlja pjenušavo, osvježavajuće piće koje se dobiva alkoholnim vrenjem pivske sladovine pomoću pivskog kvasca. U svijetu se najviše konzumiraju lager piva ili piva donjeg vrenja (Marić, 2009). Pri proizvodnji takvih piva koriste se kvasci donjeg vrenja koji zahtijevaju niske temperature fermentacije (8-15°C) te je proizvodnja lagera poznata kao dug proces (Pavsler i Buiatti, 2009). Iako sve sirovine koje se koriste pri proizvodnji piva utječu na njegovu kvalitetu, kvasci tijekom fermentacije proizvode metabolite i nusprodukte koji najviše doprinose aromi piva (Capece i sur., 2018). Norveški kveik kvasci su već mnogo vremena u upotrebi u kućnom pivarstvu, najčešće u proizvodnji ale piva, no tek unazad nekoliko godina započelo se s istraživanjem njihovih karakteristika i mogućnosti u proizvodnji različitih stilova piva poput lagera.

Cilj ovog diplomskog rada bio je proizvesti pseudo-lager pivo pomoću kvasca Lutra Kveik uz provođenje fermentacije na dvije različite temperature, 21°C i 35°C. Kveik kvasci puno brže odrađuju fermentaciju i podnose velik raspon temperatura. Kako je tijekom proizvodnje lagera najveći problem održavanje niskih temperatura, pogotovo u uvjetima kućnog pivarstva, korišten je kveik kvasac kako bi ispitali njegove mogućnosti proizvodnje piva nalik lageru. Provedena su ispitivanja fizikalno-kemijskih karakteristika te profila arome dobivenih piva kako bi se utvrdilo na kojoj temperaturi ovaj kveik kvasac bolje odrađuje fermentaciju i daje kvalitetnije, pitkije pivo. Također, provedena je i senzorska analiza kako bi se utvrdilo odgovara li takvo pivo potrošačima i koja temperatura fermentacije rezultira sa poželjnijim pivom.

2.TEORIJSKI DIO

2.1. Osnovne sirovine za proizvodnju piva

Prema Mariću (2009), pivo je pjenušavo slabo alkoholno piće gorkog okusa i hmeljne arome. Osnovne sirovine koje se koriste u pivarstvu su slad, hmelj, kvasac i voda. Kvaliteta ovih sirovina je vrlo bitan čimbenik u proizvodnji piva jer upravo o kvaliteti sirovina ovisi kvaliteta gotovog proizvoda (Kunze, 2006).

2.1.1. Voda

Voda čini oko 90% piva. Njezin kemijski i mikrobiološki sastav znatno utječe na svojstva piva te se voda za proizvodnju piva mora nadzirati i obrađivati u skladu sa zakonskim i zdravstvenim normativima (Marić, 2009).Vode se razlikuju prema tvrdoći, alkalitetu i sadržaju pojedinih soli pa je kemijski sastav vode za proizvodnju piva različit. Ovisno o sastavu vode možemo proizvesti različite tipove piva (Lončarić i sur., 2017). U počecima kuhanja piva, pivari su kuhali piva prema kemijskom sastavu lokalne vode. Na primjer, na područjima gdje je voda imala veći udio bikarbonata kuhali su tamnija piva kao što su stout ili porter. No danas, kako bi se proizveo točno određen tip piva, voda se obrađuje i dodaju se određene količine soli i minerala (Mosher i Trantham, 2017). Priprema vode za pivo uključuje brojne procese kao što su membranski procesi, dezinfekcija vode, dekarbonizacija, demineralizacija te mnogi drugi (Lončarić i sur., 2017).

2.1.2. Slad

Jedan od najbitnijih sastojaka piva je slad (**Slika 1**). Prilikom proizvodnje slada najčešće se koristi ječam, iako je moguće koristiti i druge žitarice kao što su pšenica, raž, proso. Tijekom proizvodnje slada zrna ječma prolaze kroz tri procesa: močenje, klijanje i sušenje (Kunze, 2004). Svrha ovih procesa je stvaranje i otpuštanje enzima koji su potrebni za razgradnju škroba u jednostavne šećere i razgradnju proteina na aminokiseline (Mosher i Trantham, 2017). Prema Jansonu (1996), slad predstavlja jedan od glavnih izvora šećera i bjelančevina koje daju punoću okusa i utječu na stabilizaciju pjene u pivu. U proizvodnji piva koristi se standardni slad kao osnovna sirovina te specijalni slad. Kako bi se mogli proizvoditi različiti stilovi piva koriste se razne vrste specijalnih sladova jer pružaju različite profile okusa (Mosher i Trantham, 2017). Neki od specijalnih sladova su: karamelizirani, čokoladni, prženi (Janson,

1996). Tradicionalno, pivari su sami pripremali svoj slad, no danas većina njih kupuje slad (Aasen, 2020).

Slika 1 Ječmeni slad (vlastita arhiva)

2.1.3. Hmelj

Hmelj (*Humulus lupulus*) je prirodni konzervans te se u početku koristio kako bi očuvao trajnost piva (**Slika 2**). Dodavao se nakon fermentacije direktno u bačve kako bi čuvao pivo svježim tijekom transporta. Hmelj daje karakterističan gorki okus i specifičnu aromu pivu. U pivarstvu se koriste samo cvjetovi ženskih biljki jer sadrže žute lupulinske žlijezde koje izlučuju smole i eterična ulja (Palmer, 2006).

Kemijski sastav suhe tvari hmelja sastoji se od:

- gorkih tvari (18,5%)
- hmeljnih ulja (0,5%)
- polifenola (3,5%)
- proteina (20%)
- mineralnih tvari (8%)

Najbitnije komponente hmelja u proizvodnji piva su gorke tvari i hmeljna ulja (Kunze, 2004). Različite vrste hmelja imaju različite udjele gorkih tvari i hmeljnih ulja te upravo takve komponente utječu na intenzitet gorčine, aromu i okus piva. Gorke tvari ili smole sadrže α- i ß- kiseline koje daju gorčinu pivu. α -kiseline su netopljive u vodi pa se moraju prevesti u oblik koji se može otopiti u vodi (Janson, 1996). Tijekom procesa kuhanja sladovine odvija se izomerizacija pri čemu α-kiseline iz svog netopljivog oblika prelaze u izo-α-kiseline koje daju

gorak okus pivu (Kunze, 2004). Za razliku od alfa kiselina, beta kiseline ne izomeriziraju, već oksidiraju do tvari koje daju gorčinu pivu. Takve kiseline se smatraju nepoželjnima u pivu jer daju neugodan okus pivu (Janson, 1996).

Hmelj se općenito može podijeliti u dvije skupine: gorki i aromatični hmelj. Za razliku od aromatičnog hmelja, gorki hmelj ima visok udio alfa kiselina, no aromatični hmelj daje poželjniju aromu piva (Palmer, 2006).

Slika 2 Šišarice hmelja
(https://craftbeerclub.com/blog/post/do-the-types-of-hops-really-matter-235)

2.1.4. Kvasac

Kvasac je jednostanični eukariotski mikroorganizam svrstan u carstvo gljiva. Eukariotska stanica sadrži jezgru i druge organele koje su obavijene membranom. Kvasci koji se najčešće koriste u proizvodnji piva su kvasci roda *Saccharomyces* jer prevode fermentabilne šećere (glukoza, maltoza, maltotrioza) iz sladovine u alkohol i CO_2. Kvasci prvo provode fermentaciju u aerobnim uvjetima, odnosno uz prisutnost kisika. Kako bi kvasci rasli, oni troše kisik iz otopine i kada se potroši sav kisik to označava ulazak kvasca u anaerobni metabolizam. Anaerobni metabolizam predstavlja uvjete bez prisutnosti kisika te kvasci nastavljaju trošiti fermentabilne šećere i prevoditi ih u etanol i CO_2. Mogu se podijeliti na kvasce donjeg i kvasce gornjeg vrenja. Najpoznatiji soj kvasaca gornjeg vrenja *je Saccharomyces cerevisiae* te se još naziva „ale kvasac“ jer se koristi kod proizvodnje ale piva. Fermentacija ale piva provodi se pri temperaturama od 15 °C-20 °C i pri završetku fermentacije kvasac ispliva na površinu. Donje vrenje provodi kvasac *Saccharomyces pastorianus* ili „lager kvasac“ koji je aktivan pri nižim temperaturama, a karakteristično je da se kvasac istaloži na dno posude. Kvasci tijekom fermentacije proizvode nusprodukte kao što su diacetil, acetaldehiili dimetilsulfid, međutim

nepoželjno je ako se u pivu takvi nusprodukti pronađu u velikim količinama (Mosher i Trantham, 2017). Karakter piva ovisi o vrsti kvasca koji se koristi za provođenje fermentacije (Aasen, 2020).

.

2.2. Kveik kvasac

Kveik kvasci su skupina genetski različitih i pripitomljenih kvasaca koji su svoju upotrebu pronašli u proizvodnji piva. Uglavnom su korišteni od strane domaćih norveških pivara koji su takve kvasce prenosili s koljena na koljeno. Kveik kvasci su vrsta norveških kvasaca koji su danas sve više u upotrebi zbog svojih zanimljivih karakteristika. Glavna značajka ovih kvasaca je da su nepročišćeni (Preiss i sur., 2018). Prema istraživanju Garshol-a i Preiss-a (2018), unazad nekoliko godina prikupljeno je oko 30 različitih vrsta kveik kvasaca s područja zapadne Norveške i ustanovljeno je da se gotovo sve prikupljene vrste sastoje od različitih sojeva kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Ono što kveik kvasce čini zanimljivima su visoka stopa fermentacije, tolerancija na visoke temperature, tolerancija na etanol, dobra flokulirajuća svojstva te redukcija neželjenih okusa u pivu. Fermentaciju mogu provoditi pri visokim temperaturama, najčešće 32-40 °C kroz kratak vremenski period (1-2 dana). Većina kveik kvasaca pokazala je i dobru toleranciju na alkohol u rasponu 13-16%. Također, ovi kvasci pokazuju dobru sposobnost flokulacije što je vjerojatno posljedica česte ponovne upotrebe kvasaca (Garshol i Preiss, 2018).

Tradicionalno, kveik kvasci čuvali su se tako da se velika drvena cjepanica uroni u posudu gdje se odvija fermentacija i stavi se sušiti. Potrebno je osigurati veliku površinu cjepanice da na njoj zaostane što veća količina kvasca (**Slika 3**). Još jedan način čuvanja kveik kvasaca, koji se pokazao najboljim, podrazumijeva postupak sušenja te zamrzavanja (**Slika 4**). Međutim, najlakši način skladištenja kvasca je čuvanjem u staklenci u hladnjaku (Aasen, 2020).

Slika 3 Drvena cjepanica za kveik kvasac
(https://www.brewingnordic.com/farmhouse-ales/practical-guide-to-kveik-and-other-farmhouse-yeast-reusing-and-maintaining-yeast/)

Različiti sojevi kveik kvasaca različito reagiraju na temperature, no uglavnom na temperaturama do 20 °C daju blagu aromu pivu dok jače arome daju na temperaturama iznad 20 °C. Iako se kveik kvasci uglavnom koriste pri proizvodnji ale piva, moguće ih je koristiti i za proizvodnju lagera. Pri proizvodnji lagera potrebne su niže temperature fermentacije, a kveik kvasci mogu rasti i pri temperaturama nižim od 15 °C (Garshol i Preiss, 2018). U nastavku ovog istraživanja biti će opisan kveik kvasac Lutra koji je izoliran iz kulture Hornindal Kveik (OYL-091).

Slika 4 Osušeni kveik kvasac (Garshol i Preiss, 2018)

2.3. Proizvodnja piva – kućno pivarstvo

Proces proizvodnje piva podrazumijeva niz operacija pomoću kojih se iz slada dobiva gotovo pivo. Te operacije su priprema vode, mljevenje slada, proizvodnja sladovine, ispiranje ili cijeđenje slada, kuhanje sladovine i hmeljenje, hlađenje, fermentacija te stabilizacija piva. Proces proizvodnje piva može se provoditi i kod kuće. Takav proces zahtjeva korištenje manje količine sirovina te se dobije manji volumen piva, ali dopušta pivarima da budu kreativniji i slobodniji tijekom proizvodnje piva (Zrinski, 2019).

2.3.1. Priprema vode

Prvi korak proizvodnje piva je priprema vode. Ovisno o mogućnostima pivara, koristi se voda iz gradskog vodovoda ili voda iz bunara (Lončarić i sur., 2018). Ako je tvrdoća vode visoka tada sadrži veliki udio otopljenih soli, metala i minerala koji utječu na pivo. Isto tako, ako je tvrdoća vode niska, ne sadrži dovoljno tvari koje su potrebne za proizvodnju piva (Janson, 1996). Kvaliteta vode koja se koristi za proizvodnju piva znatno utječe na kvalitetu piva. Dakle, ako je vodu potrebno obraditi provode se različiti procesi kao što su deferizacija i demanganizacija, dekarbonizacija, demineralizacija, membranski procesi i mnogi drugi (Lončarić i sur., 2018).

2.3.2. Mljevenje slada i ukomljavanje

Mljevenjem slada, omogućuje se bolje djelovanje enzima na škrobni endosperm te se tako poboljšava ekstrakcija slada (Willaert, 2004).

Ukomljavanje je najbitniji proces proizvodnje piva (**Slika 5**). To je postupak miješanja usitnjenog slada s toplom vodom s ciljem prevođenja netopljivih sastojaka u topljive oblike enzimskom hidrolizom. Aktivnost tih enzima ovisi o pH vrijednosti komine i temperaturi, stoga tijekom hidrolize za svaki enzim treba osigurati vrijednosti pH i temperature za njihovo optimalno djelovanje (Marić, 2009). Enzimi slada prilikom ukomljavanja prevode škrob u fermentabilne i nefermentabilne šećere. Fermentabilni šećeri su vrlo bitni tijekom fermentacije, a neki od njih su: maltoza, glukoza i maltotrioza. Nefermentabilni šećeri tijekom cijelog procesa proizvodnje piva ostaju nepromijenjeni te daju pivu sladak okus. Enzimi osim šećera razgrađuju i proteine na manje molekule i aminokiseline.

Slika 5 Postupak ukomljavanja (vlastita arhiva)

Kao što je navedeno, temperatura ukomljavanja se mora pažljivo odabrati jer se pri toj temperaturi aktiviraju enzimi. Odabrana temperatura se održava određeno vrijeme kako bi enzim mogao provoditi specifične kemijske reakcije. Takvo održavanje temperature naziva se temperaturna stanka. Najbitniji enzimi kod ovakvog procesa su amilaze, odnosno α-amilaza i ß-amilaza koje razgrađuju škrob. Aktivnost α-amilaze najbolja je pri 63-70 °C i pH vrijednosti od 5,7. Ako temperatura prelazi 70 °C dolazi do denaturacije ovog enzima. Za razliku od α-amilaze, ß-amilaza se aktivira pri temperaturama 55-65 °C i pH vrijednosti između 5,4-5,6. Kako bi se oba enzima aktivirala, ukomljavanje je najbolje provoditi pri temperaturama 65-67 °C. Pri kraju ukomljavanja podiže se temperatura kako bi se enzimi denaturirali (Mosher i Trantham, 2017). Postoje dva načina ukomljavanja: infuzija i dekokcija. Infuzijski način ukomljavanja predstavlja lagano zagrijavanje sladovine do željene temperature, a ukomljavanje dekokcijom znači odlijevanje dijela komine u posebnu posudu koja se zagrijava te se vraća i miješa (Raguž, 2021). Nakon toga slijedi ispiranje slada. Cilj ovog postupka je odvojiti sladovinu od suspendiranih sastojaka odnosno tropa (Marić, 2009).

2.3.3. Kuhanje sladovine i hmeljenje

Kuhanje sladovine provodi se pri temperaturama 100-105 °C oko 60-70 minuta pri čemu se otpari 4-6% od ukupnog volumena sladovine. Promjene koje se događaju tijekom kuhanja sladovine su: sterilizacija sladovine, povećanje obojenosti sladovine, denaturacija proteina, koncentriranje sladovine, smanjenje udjela DMS-a, povećanje kiselosti sladovine, otapanje i izomerizacija hmelja te nastajanje proteinsko-taninskih spojeva i njihovo taloženje (Marić,

2009). Tijekom kuhanja sladovine dodaje se hmelj iz kojeg se tada ekstrahiraju gorki sastojci, tj. α- i ß- kiseline koje daju gorčinu, zatim hmeljno ulje koje je odgovorno za aromu piva i taninski sastojci koji doprinose koagulaciji proteina (**Slika 6**). Ovisno o tome kada se dodaje hmelj, on doprinosi karakterističnom gorkom okusu i karakterističnoj aromi piva. Hmeljna ulja su hlapiva pa se tijekom kuhanja gube zajedno s otparenom vodom. Iz tog razloga, aromatične sorte hmelja dodaju se u kotao tek 15-20 minuta prije završetka kuhanja. Što je hmelj usitnjeniji, to je veća brzina ekstrakcije i iskorištenje gorkih sastojaka pa se u praksi češće koriste mljevene šišarice, hmeljni peleti i hmeljni ekstrakti (Marić, 2009).

Slika 6 Kuhanje sladovine s dodatkom hmelja (vlastita arhiva)

2.3.4. Fermentacija

Nakon završetka kuhanja, ohmeljena sladovina podvrgava se hlađenju do temperature koja je pogodna za fermentaciju. Inače, temperatura fermentacije za lager piva kreće se između 8-12 °C, no mogu se koristiti i druge temperature (Bamforth, 2006). Nakon hlađenja, ohmeljena sladovina prebacuje se u posudu za fermentaciju i inokulira se kvascem (**Slika 7**).

Slika 7 Pretakanje sladovine u posudu za fermentaciju (vlastita arhiva)

Tijekom ovog procesa, fermentabilni šećeri nastali tijekom ukomljavanja prevode se u alkohol i CO_2. Fermentacija traje sve dok se flokule kvasca ne istalože na dno ili isplivaju na površinu. Završetak fermentacije se može pratiti i preko postotka koji pokazuje koliko šećera je prešlo u alkohol (Aasen, 2020). Završetkom fermentacije, pivo se hladi na temperaturu između 0-4 °C kako bi se zaostale tvari (kvasac, hmeljne smole, proteini) istaložile na dno te dale bistrije pivo (Anytime Ale, n.d).

3.EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Cilj ovog rada bio je istražiti mogućnosti proizvodnje lager piva pomoću kveik kvasca (Lutra Kveik) u uvjetima kućnog pivarstva. Fermentacija piva provodila se na dvije različite temperature, 21 °C i 35 °C, te su provedene analize fizikalno-kemijskih karakteristika dobivenih piva i analize profila arome plinskom kromatografijom. Također, provedena je senzorska analiza proizvedenih piva kako bi utvrdili prihvatljivost među potrošačima.

3.2. MATERIJALI RADA

Sirovine

- bazni ječmeni slad „Pilsner“ (Weyermann, Njemačka)
- svijetli ječmeni slad „Best Pale Ale“ (Simpsons, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- Dekstrin slad (Simpsons, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- hmelj „Saphir“ i „Hallertauer Mittelfrueh“ (Hopsi, Njemačka)
- kvasac Omega Lutra Kveik (Omega Yeast, SAD)

Kemikalije

- 80%-tna mliječna kiselina
- $CaCl_2$
- $CaSO_4$
- $MgSO_4$
- HCl
- izooktan
- NaCl (≥ 99 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, SAD)
- CMC-EDTA reagens
- amonijak

3.3. METODE

3.3.1. Proizvodnja pseudo-lagera

Postupak proizvodnje piva započinje mljevenjem slada na prototipnom mlinu. Za proizvodnju 40 L sladovine korišteno je 7,5 kg svijetlog baznog ječmenog slada „Pilsner“, 1,0 kg svijetlog baznog ječmenog slada „Best Pale Ale“ te 500 g dekstrin slada.

Prilikom proizvodnje piva korišten je sistem Hopcat zapremnine 65L. Za ukomljavanje korišteno je 53 L vode koja je prethodno obrađena postupkom reverzne osmoze. U vodu koja se nalazila u kotlu za kuhanje dodano je 1 g $CaCl_2$, 2,7 g $MgSO_4$, 1,6 g $CaSO_4$ te 10 mL 80%-tne mliječne kiseline kako bi se dobio odgovarajući profil vode za odabrani stil piva. Prije početka kuhanja sladovine, 19 L vode, koja je potrebna za ispiranje tropa, prebačeno je u plastičnu posudu. Ukomljavanje se provodilo 60 min na 65 °C te 5 min na 75 °C kako bi se inaktivirali enzimi. Nakon završetka ukomljavanja, posuda sa sladom se podiže kako bi kroz filter ploču na dnu započelo cijeđenje sladovine i ispiranje tropa s 19 L vode. Nakon završetka cijeđenja, posuda s tropom se ukloni i slijedi postupak kuhanja sladovine na 100 °C. Kuhanje se provodilo samo 15 minuta. Na samom početku, u vrećicu za hmelj, koja se nalazi uronjena u sladovinu, dodano je 40 g Saphir hmelja, nakon 5 minuta dodano je 40 g Hallertauer Mittelfrueh hmelja te zadnjih 5 minuta dodano je 60 g Saphir hmelja. Nakon završetka kuhanja sladovine na sistem smo priključili pločasti izmjenjivač topline kako bi se sladovina ohladila. Pločasti izmjenjivač topline sastoji se od određenog broja tankih ploča za izmjenu topline između kojih protustrujno struji sladovina i voda za hlađenje. Hlađenje se provodilo do temperature 35 °C nakon čega je 20 L sladovine prebačeno u jedan fermentor i drugih 20 L sladovine u drugi fermentor. Fermentori su prethodno dezinficirani Star San otopinom. Unaprijed pripremljeni kveik kvasac dodaje se u oba fermentora. Jedan fermentor je stavljen da fermentira na temperaturu od 35 °C, a drugi je stavljen na 20 °C. Fermentacija pri 35°C trajala je 2 dana, a fermentacija pri 21 °C 9 dana. Nakon završetka fermentacije, provodi se „cold crash“, odnosno temperatura se snižava između 0-4 °C na 24 h kako bi se talog kvasca i ostaci hmelja istaložili na dno te dali bistrije pivo. Pivo se zatim prebacuje u keg i gazira se pomoću CO_2 pod tlakom od 2,5 bara.

3.3.2. Fizikalno – kemijske analize piva

Kako bi dobili uvid u fizikalno – kemijske karakteristike dobivenih piva, uzorci piva prije gaziranja odnose se na analize u laboratorij Osječke pivovare d.o.o. Prije provođenja analize, uzorci se filtriraju uz dodatak dijatomejske zemlje preko nabranog filter papira pomoću lijevka u čiste boce.

3.3.2.1. Određivanje udjela alkohola, specifične težine, prividnog ekstrakta, stvarnog ekstrakta i ekstrakta u osnovnoj sladovini

Ekstrakt u osnovnoj sladovini (p) pokazatelj je jačine piva (Marić, 2009). Pokazuje s kolikim postotnim udjelom ekstrakta je započela fermentacija. Najveći dio ekstrakta koji su nastali ukomljavanjem su šećeri (glukoza, maltoza, maltotrioza) i šećeri iz upotrebljenog ječma (fruktoza, saharoza). Stvarni ekstrakt određuje se eliminiranjem alkohola iz piva, a prividni ekstrakt predstavlja neprevreli ekstrakt koji se određuje uz prisutnost alkohola (Gagula, 2017).

Prethodno profiltrirani uzorci stavljaju se, jedan po jedan, na prostor za bocu na analizatoru piva DMA 4500 M te se pokrene uređaj (**Slika 8**). Analizator radi na princip da se preko igle za uzorkovanje povuče uzorak i izmjeri zadane parametre.

Slika 8 Analizator piva DMA 4500 M (vlastita arhiva)

3.3.2.2. Određivanje ukupnih polifenola

Polifenoli u pivu potječu od slada (70-80%) i hmelja (20-30%) (Jurkova i sur., 2012). Ovi spojevi imaju antioksidativna svojstva i mogu utjecati na okus, boju, stabilnost pjene i bistrinu piva (Gagula, 2017).

U odmjernu tikvicu od 25 mL dodano je 10 mL uzorka piva i 8 mL CMC-EDTA reagensa. Zatim je dodano 0,5 željezovog reagensa Fe(III) i 0,5 mL amonijaka te je tikvica nadopunjena destiliranom vodom do oznake. Sadržaj odmjerne tikvice je nakon toga snažno izmiješan i pušten da stoji 10 minuta. Nakon stajanja uzorka, očitana je apsorbancija uzorka na valnoj duljini od 600 nm na spektrofotometru (Lambda 25). Analize su provedene u laboratoriju Osječke pivovare d.o.o.

3.3.2.3. Određivanje boje

Prethodno profiltrirani uzorak, koristi se za određivanje boje mjerenjem apsorbancije na 430 nm u kvarcnoj kiveti na spektrofotometru. Za slijepu probu koristi se destilirana voda. Analize su provedene u laboratoriju Osječke pivovare d.o.o.

3.3.2.4. Određivanje gorčine

Gorčina piva je pokazatelj stalne kvalitete. Određuje se mjerenjem udjela alfa- i ß- kiselina u pivu spektrofotometrijskom metodom (Marić, 2009).

U odmjernu tikvicu otpipetira se 10 mL uzorka piva, doda se 0,5 mL klorovodične kiseline (HCl), 20 mL izooktana te tri staklene kuglice. Odmjerna tikvica se nakon toga zatvori i stavi na miješanje kroz 15 minuta. Nakon toga slijedi centrifugiranje 3 minute na 3000 o/min. Mjeri se apsorbancija izooktanskog sloja pri 275 nm na spektrofotometru. Za slijepu probu koristi se izooktan. Analize su provedene u Osječkoj pivovari d.o.o.

3.3.2.5. Određivanje bistroće

Mjerenje bistroće provodi se turbidimetrom koji mjeri količinu svjetlosti raspršenu na česticama koje su suspendirane u uzorku, a kut pod kojim se mjeri raspršena svjetlost je 90°

(Bolf, 2020). Profiltrirani uzorci piva prebačeni su u staklene boce i stavljeni su na mjerenje bistroće pomoću turbidimetra (**Slika 9**). Analize su provedene u Osječkoj pivovari d.o.o.

Slika 9 Turbidimetar LabScat Sigrist (vlastita arhiva)

3.3.2.6. Određivanje pH

Prethodno profiltrirani uzorci piva, prebacuju se u čašice te im se pomoću pH-metra mjeri pH vrijednost (**Slika 10**). U uzorak se uroni elektroda i na uređaju se pritisne tipka „Read“ nakon čega se pH vrijednost prikaže na zaslonu uređaja. Nakon završetka mjerenja, elektrodu je potrebno isprati destiliranom vodom.

Slika 10 pH metar FiveEasy (vlastita arhiva)

3.3.3. Određivanje hlapljivih spojeva piva

Određivanje hlapljivih spojeva u pivu (acetaldehid, etil-acetat, n-propanol, izobutanol, 3-metilbutanol, 2-feniletanol, izoamil acetat, 2-feniletil acetat, dimetilsulfid, 2,3-butandion, 2,3-pentandion) provedeno je pomoću plinskog kromatografa Shimadzu GC-2030 s četverostrukim masenim spektrofotometrom GCMS-TQ 8050 NX (Shi-madzu, Kyoto, Japan) uparenim sa headspace / SPME autosamplerom (AOC-6000 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japan) i MS detektorom. Korištena je kapilarna analitička kolona (SH-Rxi-5Sil-MS (30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm) Shimadzu, Kyoto, Japan). Uzorci piva (10 mL) su odvojeni u vialice od 20 mL, u koje je prethodno dodano 1 g NaCl (≥ 99 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, SAD), odmah su zatvorene i stavljene na analizu.

4.REZULTATI I RASPRAVA

Pregled osnovnih fizikalno-kemijskih pokazatelja kvalitete sladovine nakon ukomljavanja i nakon kuhanja prikazan je u **Tablici 1**. Gorčina nakon kuhanja bila je 33 BU, a pH vrijednost sladovine nakon ukomljavanja je unutar poželjnih vrijednosti 5,8-5,4, što je prihvatljivo za lager piva. Podaci također pokazuju da sladovina nakon kuhanja ima dovoljno ekstrakta za fermentaciju (14,6 °P) (Kunze, 2004).

Tablica 1 Fizikalno-kemijski pokazatelji sladovine nakon ukomljavanja i nakon kuhanja

Analiza	**Nakon ukomljavanja**	**Nakon kuhanja**
PH	5.38	5.35
Ekstrakt (°P)	10.74	14.6
Gorčina (BU)	-	33

Tablica 2 Praćenje toka fermentacije

Dan	**Početna gustoća (°P)**		**Konačna gustoća (°P)**		**Alkohol po volumenu (%)**		**Iskorištenje (%)**	
Uzorak	1	2	1	2	1	2	1	2
1	10.6	10.6						
2				2.5		4.4		77
4			5.6		2.7		46	
6			5.3		2.9		50	
7			5.0		3.1		53	
8			3.9		3.6		63	
9			3.0		4.1		71	

*uzorak 1 fermentira se na 21°C; uzorak 2 fermentira se na 35°C

Tablica 2 predstavlja praćenje parametara tijekom fermentacije. Uzorak 1 fermentira se na 21 °C, dok se uzorak 2 fermentira na 35 °C. Prema podacima u tablici vidljivo je da je fermentacija u posudi pohranjenoj na 35 °C završila za dva dana, a fermentacija u posudi pohranjenoj na 21 °C trajala je 9 dana. Fermentacija uzorka 2 završena je dan nakon nacjepljivanja sladovine kvascem te se njen završetak mogao vidjeti iz vrijednosti konačne gustoće koje su pale sa 10,6 °P na 2,5 °P. Fermentacija uzorka 1 tekla je mnogo sporije i

trajala je 9 dana. Njen završetak očitovao se padom vrijednosti konačne gustoće na 3,0 °P. Prema Deux Kanadier Bräu (2021), Lutra fermentira jednakom brzinom na 22 °C i 35 °C. Također, vrijeme fermentacije na 22 °C je bilo 88 h, dok je u ovom istraživanju fermentacija trajala 216 sati, tj. 9 dana. Fermentacija na 35 °C trajala je samo 24 h, dok je u Deux Kanadier Brau-ovom istraživanju fermentacija trajala 71 h. Iako postoje razlike u dobivenim vrijednostima, u oba slučaja Lutra® brže fermentira na 35 °C. Udio alkohola u uzorku 1 (4,1%) nešto je niži od udjela alkohola u uzorku 2 (4,4%). Niži udio alkohola posljedica je manjeg stupnja iskorištenja šećera tijekom fermentacije na 21 °C.

Prema podacima u **Tablici 3**, najveće razlike uzoraka vidljive su kod vrijednosti specifične gustoće i prividnog ekstrakta. Zbog manjeg udjela alkohola (4,11%) i većeg sadržaja stvarnog ekstrakta (4,59 °P) vrijednosti specifične gustoće i prividnog ekstrakta mnogo su veće u uzorku 1. Višu koncentraciju polifenola u uzroku 1 možemo povezati s izraženijom gorčinom istog uzorka. Bistroća se pokazala boljom u uzorku 2 što je posljedica dužeg stajanja piva budući da je fermentacija završila mnogo brže nego u uzorku 1. Razlika u pH vrijednosti je vjerojatno prisutna zbog razlike u udjelu alkohola i sadržaju ekstrakta u gotovom pivu. Naime, alkohol djeluje kao slaba kiselina, a u uzorku 2 udio alkohola je veći zbog čega je pH niži. Također, sadržaj ekstrakta niži je u uzorku 2 što pogoduje nižoj pH vrijednosti.

Tablica 3 Osnovni fizikalno-kemijski pokazatelji kvalitete piva

Pokazatelj kvalitete	**Jedinica**	**Uzorak 1**	**Uzorak 2**
Specifična gustoća	gmL^{-1}	1.01217	1.00359
Stvarni ekstrakt	°P	4.59	3.80
Ekstrakt u osn. sladovini	°P	10.58	10.59
Prividni ekstrakt	°P	2.98	2.19
Sadržaj alkohola	%	4.11	4.40
Sadržaj polifenola	mgL^{-1}	243	238
Boja	EBC	11	10
Ogorčenje	BU	19	17
Bistroća 90 °	EBC	0.78	0.49
pH		4.75	4.34

Tablica 4 Rezultati GC-MS analize uzoraka proizvedenih piva

Uzorak	acetaldehid mgL^{-1}	etil acetat mgL^{-1}	n – propanol mgL^{-1}	Izobutanol mgL^{-1}	3 – metilbutanol mgL^{-1}	2 – feniletanol mgL^{-1}	izoamil acetat mgL^{-1}	2 – feniletil acetat mgL^{-1}	dimetilsulfid μgL^{-1}	2,3 – butanedione μgL^{-1}	2,3 – pentanedione μgL^{-1}
Lager	$3,68^{b}$	$11,66^{c}$	$8,89^{c}$	$4,92^{c}$	$33,73^{b}$	21.47^{b}	$0,82^{b}$	$0,35^{b}$	$19,37^{c}$	$12,15^{c}$	27.20^{a}
1	4.42^{a}	17.15^{b}	13.36^{b}	14.87^{b}	$29,67^{c}$	$19,70^{c}$	$0,62^{c}$	$0,33^{b}$	68.92^{a}	40.05^{a}	6.05^{b}
2	$3,42^{c}$	18.99^{a}	25.79^{a}	35.05^{a}	57.40^{a}	42.59^{a}	1.09^{a}	0.52^{a}	55.16^{b}	14.05^{b}	$4,05^{c}$

*komercijalno lager pivo koristilo se kao kontrolni uzorak; uzorak 1 fermentirao je na 21 °C; uzorak 2 fermentirao je na 35 °C

U **Tablici 4** prikazani su rezultati GC-MS analize proizvedenih piva. Provedena je analiza 11 spojeva arome koji se mogu pronaći u pivu. Piva koja se analiziraju klasificiraju se kao pseudo-lager pa je stoga u ovu analizu uključeno i klasično lager pivo kako bi uvidjeli sličnosti i razlike između lager piva i pseudo-lagera proizvedenog kveik kvascem.

Acetaldehid (ACE) pivu daje kiseli okus zelenih jabuka (Janson, 1996). Ako se ovaj spoj u pivu nalazi iznad praga (10-20 mgL^{-1}) tada ima takav okus (Lodolo i sur., 2008). U ovim uzorcima nije pređen senzorski prag osjetljivosti te potrošači nisu mogli osjetiti aromu ovog spoja. Međutim, između analiziranih uzoraka postoji velika razlika u koncentracijama acetaldehida pri čemu u uzorku 1, koji je fermentirao na 21 °C, koncentracija je vrlo visoka i iznosi 4,42 mgL^{-1}. Budući da je fermentacija u uzorku 1 trajala duže, stanice kvasca su vjerojatno počele izumirati što bi objasnilo povišenu koncentraciju acetaldehida (Stone Brewing, 2014). Etil-acetat (EAC) uglavnom nastaje tijekom fermentacije i daje voćni okus pivu (16). Koncentracija EAC-a viša je u uzorku 2 (18,99 mgL^{-1}) zbog više temperature i brže odrađene fermentacije. Kako se aroma EAC-a u pivu ne bi osjetila, koncentracija treba biti do 33 mgL^{-1} (Beer Sensory Science, 2011). Kemijski spoj n-propanol je viši alkohol koji je važan čimbenik okusa, a na koncentraciju viših alkohola u pivu utječu korišteni sojevi kvasca i uvjeti fermentacije, najčešće temperatura. Koncentracija propanola u ale pivima je četiri puta veća nego kod lagera (Beer&Brewing, 2004). To je u skladu s ovim istraživanjem jer je

koncentracija n-propanola u uzorku 2 (25,79 mgL^{-1}), koji je fermentirao na 35 °C, mnogo veća od uzorka 1 (13,36 mgL^{-1}). Prag osjetljivosti propanola je 800 mgL^{-1} (Olaniran i sur., 2016). Još jedan spoj koji se svrstava u više alkohole je izobutanol. Koncentracija ovog spoja u uzorku 2 bila je 35,05 mgL^{-1}, dok je u uzorku 1 bila 14,87 mgL^{-1}. Znatno veća koncentracija izobutanola u uzorku 2 posljedica je brže fermentacije na višoj temperaturi. Prema istraživanju Kawa-Rygielska i sur. (2022) rezultati pokazuju kretanje koncentracija izobutanola od 38 do 57 mgL^{-1}.

3-metilbutanol ili izoamil alkohol pokazao je najnižu koncentraciju u uzorku 1 (29,67 mgL^{-1}) dok je u uzorku 2 koncentracija iznosila 57,40 mgL^{-1}. Dobivene vrijednosti su znatno niže od onih dobivenih u istraživanju Kawa-Rygielska i sur. (2022). Kako je i ovaj spoj viši alkohol, ove dobivene koncentracije povezane su s temperaturama fermentacije.

Prag osjetljivosti spoja 2-feniletanola je 125 mgL^{-1}, a pivu daje slatkasti okus (Olaniran i sur., 2016). Koncentracija ovog spoja bila je veća u uzorku 2 i iznosila je 42,59 mgL^{-1}, a u uzorku 1 19,70 mgL^{-1}.

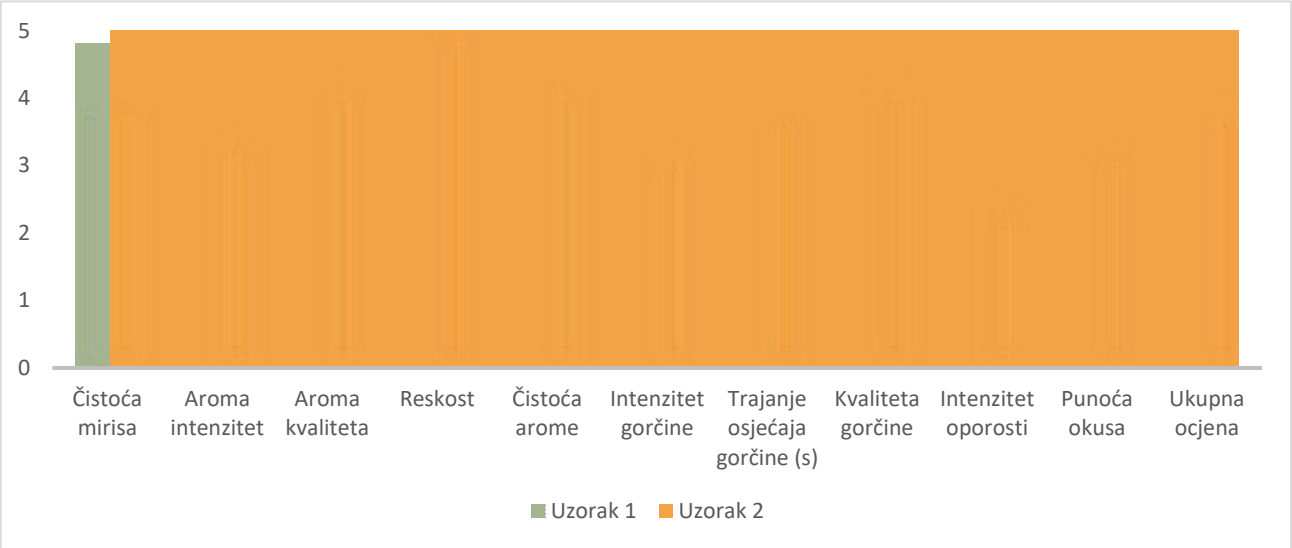
Izoamil acetat je kemijski spoj koji pivu daje okus voća, banane, jabuke. Prag osjetljivosti ovog spoja u pivu je 1,2 mgL^{-1} (Olaniran i sur., 2016). Vrijednosti dobivene ovim istraživanjem su ispod tog praga.

2-feniletil acetat daje aromu koja podsjeća na ruže ili med. Prag osjetljivosti je 3,8 mgL^{-1} (Olaniran i sur., 2016), a koncentracije uzoraka u ovom istraživanju ne prelaze prag osjetljivosti.

Dimetilsulfid (DMS) potječe od slada i obično isparava tijekom kuhanja. Prag osjetljivosti za DMS u pivu je 30 μgL^{-1} (Anderson i sur., 1975). Razina ovog spoja u uzorku 1 iznosi 68,92 μgL^{-1}, a u uzorku 2 55,16 μgL^{-1}. Rezultati pokazuju značajno visoke razine DMS-a koje prelaze prag osjetljivosti. Uzorak 1 ima veću koncentraciju DMS-a jer pri nižim temperaturama fermentacije koncentracija DMS-a raste (Scott Janish, n.d.).

2,3-butandion ili diacetil (vicinalni diketon) daje kremasti okus maslaca. Prag osjetljivosti je 0,15 mgL^{-1} (Ferreira i Guido, 2018). Uzorci ovog istraživanja pokazali su znatno niže vrijednosti od navedenog praga.

2,3-pentandion također daje pivu okus maslaca. Prag osjetljivosti ovog spoja je 10 puta veći od diacetila (Ferreira i Guido, 2018). Dakle, koncentracije svih uzoraka istraživanja su ispod ovog praga.



Slika 11 Ispitivanje prihvatljivosti proizvedenih piva

Za potrebe ovog diplomskog rada provedena je i analiza među potencijalnim potrošačima, odnosno studentima i zaposlenicima Prehrambeno-tehnološkog fakulteta u Osijeku. Uzorak 1 predstavljao je pivo koje se fermentiralo na 21 °C, a uzorak 2 fermentirao se na 35 °C. Kušanje ovih uzoraka rezultiralo je boljom ukupnom srednjom ocjenom na strani uzorka 1 koja je iznosila 4,5, dok je uzorak 2 dobio ukupnu srednju ocjenu 3,8. Ne postoje velike razlike što se tiče intenziteta i kvalitete arome i mirisa, međutim punoća okusa i intenzitet gorčine pokazali su se boljima u uzorku 1 (**Slika 11**).

5.ZAKLJUČCI

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

1. Kveik kvasac Lutra uspješno odrađuje fermentaciju pri 21 °C i pri 35 °C. Međutim, brzine fermentacije im se razlikuju gdje je pri 21 °C potrebno 9 dana za završetak fermentacije, a pri 35 °C potrebno je samo 2 dana.
2. Rezultati provedenih fizikalno-kemijskih analiza pokazuju da proizvedeno pivo ima dobre fizikalno-kemijske karakteristike koje su usporedive s komercijalnim lager pivom.
3. Rezultati mjerenja hlapljivih spojeva piva pokazuju da se vrijednosti većine ispitanih spojeva nalaze ispod praga osjetljivosti. Spoj acetaldehid ne prelazi taj prag no dobivene su vrlo visoke vrijednosti kod uzorka 1 zbog duže fermentacije. Jedini spoj koji prelazi granice osjetljivosti je DMS pri čemu uzorak 1 ima znatno veće koncentracije od uzorka 2 jer niže temperature fermentacije rezultiraju višim koncentracijama DMS-a .
4. Senzorskom analizom utvrđeno je da su dobivena piva prihvatljiva potrošačima za konzumaciju te su preferirali pivo koje je fermentiralo na 21 °C vjerojatno zbog punoće okusa i kvalitetnije gorčine i arome.

6.LITERATURA

Aasen NM: Growth, metabolism and beer brewing with kveik. *Diplomski rad.* Norwegian University of Life Sciences, Ås, 2020.

Anderson RJ, Clapperton JF, Crabb D, Hudson JR: Dimethyl sulphide as a feature of lager flavour. *Journal of the Institute of Brewing*, 81, 208-213, 1975.

Anytime ale. https://anytimeale.com/cold-crash-beer-process/ (17.8.2022.)

Bamforth CW: *Brewing New technologies*. Woodhead Publishing, Cambridge, England, 2006.

Beer sensory science. https://beersensoryscience.wordpress.com/2011/02/04/esters/ (17.8.2022.)

Beer&Brewing. https://beerandbrewing.com/off-flavor-of-the-week-alcoholic/ (17.8.2022.)

Bolf N: Mjerenje mutnoće-turbidimetrija i nefelometrija. U *Mjerna i regulacijska tehnika*, Kem. Ind. 69 (11-12), 711-714, 2020.

Capece A, Romaniello R, Siesto G, Romano P: Conventional and non-conventional yeasts in beer production. *Fermentation* 4(2): 38, 2018.

Deux Kanadier Bräu. https://www.deuxkanadierbraeu.com/post/is-kveik-thermophilic-or-thermotolerant-fermentation-rates-part-1 (14.8.2022.)

Ferreira IM, Guido LF: Impact of wort amino acids on beer flavour: A review. *Fermentation,* 4(2):23, 2018.

Gagula G: Modeliranje promjena fizikalno-kemijskih svojstava piva tijekom skladištenja u različitoj ambalaži. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.

Garshol LM, Preiss R: How to brew with Kveik. *MBAA TQ*, 55:4, 76-83, 2018.

https://craftbeerclub.com/blog/post/do-the-types-of-hops-really-matter-235 (10.8.2022.)

https://www.brewingnordic.com/farmhouse-ales/practical-guide-to-kveik-and-other-farmhouse-yeast-reusing-and-maintaining-yeast/ (22.8.2022.)

Janson LW: *Brew Chem 101: The basics of homebrewing chemistry.* Storey Publishing, LLC, 1996.

Jurková M, Horák T, Hašková D, Čulík J, Čejka P, Kellner V: Control of antioxidant beer activity by the mashing process. *Journal of the Institute of Brewing,* 118(2), 230-235, 2012.

Kawa-Rygielska J, Adamenko K, Pietrzak W, Paszkot J, Glowacki A, Gasińsk A: Characteristics of New England India Pale Ale Beer Produced with the Use of Norwegian KVEIK Yeast. *Molecules,* 27, 2291, 2022.

Kunze W: *Technology brewing and malting*. 3rd international edition, VLB Berlin, 2004.

Lodolo EJ, Kock JLF, Axcell BC, Brooks M: The yeast Saccharomyces cerevisiae – the main character in beer brewing. *FEMS yeast research*, 8(7), 1018-1036, 2008.

Lončarić A, Kovač T, Nujić M, Habuda-Stanić M: Priprema tehnološke vode za industrijsku proizvodnju piva. U *7. međunarodni znanstveno-stručni skup Voda za sve,* str. 177-187. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.

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

Mosher M, Trantham K: *Brewing science: A multidisciplinary approach*. Springer International Publishing, Switzerland, 2017.

Olaniran AO, Hiralal L, Mokoena MP, Pillay B: Flavour-active volatile compounds in beer: production, regulation and control. *Journal of the Institute of Brewing*, 123, 13-23, 2017.

Palmer JJ: *How to brew: Everything you need to know to brew beer right the first time.* Brewers Publications, 2006.

Pavsler A, Buiatti S: Lager beer. *Beer in health and disease prevention.* Academic Press (31-34), 2009.

Preiss R, Tyrawa C, Krogerus K, Garshol LM, Van der Merwe G: Traditional Norwegian Kveik are a genetically distinct group of domesticated *Saccharomyces cerevisiae* brewing yeasts. *Frontiers in microbiology,* 9:2137, 2018.

Raguž Ž: Osnovni principi proizvodnje zanatskog (craft) piva. *Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2021.

Scott Janish. http://scottjanish.com/how-to-prevent-dms-in-beer/#:~:text=The%20flavor%20threshold%20for%20DMS,the%20flavor%20of%20a%20beer (17.8.2022.)

Stone brewing. https://www.stonebrewing.com/blog/stochasticity-lab/2014/guide-flavors-acetaldehyde#ageGatePassed (17.8.2022.)

Willaert R: The beer brewing process: Wort production and beer fermentation. In *Handbook of food products manufacturing*, 443-506, 2007.

Zrinski T: Usporedba kveik kvasca s kvascem T-58 kod proizvodnje Amber ale-a na homebrew sistemu. *Završni rad*. Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2019.