

# Utjecaj postupka slađenja na kakvoću sladova goloznog ječma sorti Poljoprivrednog instituta Osijek

---

Vacek, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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:109:744611>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-22**



image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



image not found or type unknown

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Kristina Vacek**

**UTJECAJ POSTUPKA SLAĐENJA NA KAKVOĆU SLADOVA  
GOLOZRNOG JEČMA SORTI PI OSIJEK**

**DIPLOMSKI RAD**

**Osijek, rujan, 2014.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** 62318 Tehnologija slada i piva  
**Tema rada** je prihvaćena na IX sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj 2013./2014. održanoj dana 18.6.2014.  
**Mentor:** izv.prof. dr.sc. Vinko Krstanović

### UTJECAJ POSTUPKA SLAĐENJA NA KAKVOĆU SLADOVA GOLOZRNOG JEČMA SORTI POLJOPRIVREDNOG INSTITUTA OSIJEK

Kristina Vacek, 196-DI /2012.

#### Sažetak:

Cilj rada bilo je ustanovljavanje utjecaja postupka slađenja na pokazatelje kakvoće sladova golozrnog ječma prema preporučenim vrijednostima za standardni svijetli slad. Ispitivan je utjecaj postupka slađenja na udjel topljivog N u sladu, odnos ukupnog N i topljivog N (Kolbachov index), Hartongov broj, ekstrakt, razliku fino/grubo meljave, boju, boju nakon kuhanja, pH, viskoznost i filtrabilnost sladovine i udjel  $\beta$ -glukana. Slađene su dvije sorte golozrnog ječma (Matko i GZ 184). Provedena su 4 postupaka slađenja i to: (A) standardni postupak (kontrola), te tri postupka sa snižavanjem temperature klijanja drugi i treći dan; (B) blago-intenzivni, (C) umjereno-intenzivni i (D) snažno –intenzivni postupak s naglim snižavanjem temperature klijanja nakon prvog dana, te stalnom temperaturom do kraja procesa. Na temelju dobivenih rezultata, te njihovom usporedbom s dostupnim podacima u znanstveno-stručnoj literaturi, procijenjena je uspješnosti određenog postupka mikroslađenja s obzirom na gore navedena preporučena svojstva.

**Ključne riječi:** golozrni ječam, postupci slađenja, kakvoća slada

**Rad sadrži:** 46 stranica  
15 slika  
3 tablica  
0 priloga  
33 literaturne reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

- |                                     |               |
|-------------------------------------|---------------|
| 1. izv.prof.dr.sc. Marko Jukić      | predsjednik   |
| 2. izv.prof.dr.sc. Vinko Krstanović | član-mentor   |
| 3. izv.prof.dr.sc. Đurđica Ačkar    | član          |
| 4. izv.prof.dr.sc. Jurislav Babić   | zamjena člana |

**Datum obrane:** 29. rujna, 2014.

**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

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Course title:** Basics of Basics of Bioprocess Engineering  
**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. IX held on (June 18, 2014).  
**Mentor:** PhD, Vinko Krstanović, assistant prof.

### INFLUENCE OF THE MALTING PROCEDURE ON THE QUALITY OF NAKED BARLEY MALT

Kristina Vacek, 196-DI /2012.

#### Summary:

The aim of this research was to determine the influence of malting procedure on quality indicators of naked barley malt according to recommended properties for standard pale malt. The influence of four malting procedures on soluble N share in malt, total N and soluble N ratio (Kolbach index), Hartong number, extract, fine/coarse difference, colour, boiled wort colour, pH, viscosity and filterability of wort, and  $\beta$ -glucane was tested. Malted sample was two domestic naked barley varieties (Matko and GZ 184). Four malting procedures have been conducted: (A) standard procedure – control; (B) gently intensive procedure with uniform temperature increase during germination till the end of the process; (C) moderately intensive procedure with increase in germination temperature on the second and third day, and constant germination temperature till the end of the process; (D) procedure with sudden germination temperature decrease after the first day, and constant temperature till the end of the process. Based on obtained results, and their comparison to results in scientific and technical literature, the efficacy of certain micromalting procedure was evaluated, considering recommended properties of naked barley malt.

**Key words:** naked barley, malting procedures, malt quality,

**Thesis contains:** 46 pages  
15 figures  
3 tables  
0 supplements  
33 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |   |              |
|---|--------------|
| 1. PhD, Marko Jukić, associate prof.      | chair person |
| 2. PhD, Vinko Krstanović, associate prof. | supervisor   |
| 3. PhD, Đurđica Ačkar, assistant prof.    | member       |
| 4. PhD, Jurislav Babić, associate prof.   | stand-in     |

**Defense date:** September 29, 2014.

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

## Sadržaj

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. JEČAM .....</b>	<b>4</b>
2.1.1. Proizvodnja goloznog ječma u Hrvatskoj.....	4
2.1.2. Pivarski golozni ječam .....	4
2.1.3. Sorte goloznog ječma Matko i GZ-184.....	6
2.1.4. Građa i sastav ječmenog zrna .....	6
2.1.5. $\beta$ -glukani.....	8
2.1.6. Važnost $\beta$ -glukana u pivovarstvu .....	9
2.1.7. Prednosti i nedostaci goloznog ječma.....	10
2.1.8. Učinak uvjeta slađenja na modifikaciju endosperma goloznog ječma....	11
<b>2.2. PROIZVODNJA SLADA .....</b>	<b>13</b>
2.2.1. Preporučene vrijednosti pokazatelja kakvoće ječmenog slada .....	14
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1. ZADATAK.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2. MATERIJAL I METODE .....</b>	<b>16</b>
3.2.1. Materijal .....	16
3.2.2. Metode .....	17
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1. ODREĐIVANJE POLAZNIH KEMIJSKIH, FIZIKALNIH I FIZIOLOŠKIH POKAZATELJA KVALITETE GOLOZRNIH JEČMOVA .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2. REZULTATI ANALIZE GOTOVIH SLADOVA DOBIVENIH POSTUPCIMA SLAĐENJA A, B, C I D..</b>	<b>31</b>
<b>4.3. DIJAGRAMI OVISNOSTI IZDOJENIH POKAZATELJA KAKVOĆE SLADA U OVISNOSTI O POSTUPKU SLAĐENJA .....</b>	<b>32</b>

<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>37</b>
<b>5.1. POKAZATELJI KAKVOĆE SLADA POVEZANI S DJELOVANJEM AMIOLITIČKE RAZGRADNJE ....</b>	<b>38</b>
<b>5.2. POKAZATELJI KAKVOĆE SLADA POVEZANI S PROTEOLITIČKOM RAZGRADNJOM .....</b>	<b>39</b>
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>41</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>43</b>

## **1. UVOD**

Posljednjih godina u svijetu raste interes za uporabom golozrnog ječma u direktnoj ljudskoj prehrani i industrijskoj preradi, pa tako i u pivarstvu. Primjena u pivovarstvu (proizvodnja slada) ili kao neslađene sirovine ima prvenstveno ekonomski razloge. Nove sorte golozrnog ječma su otpornije na bolesti od mnogih sorti ječmova s pljevicom, a ekonomičniji je i za slađenje (uštede na troškovima prijevoza zbog manjeg volumena, više ekstrakta (5 - 7% u odnosu na pljevičaste sorte), nije potrebno odvajati pljevicu od zrna, smanjen udjel polifenolnih sastojaka povezanih sa stvaranjem mutnoće). Nadalje odsustvo pljevice također isključuje ekstrakciju specifičnih polisaharida iz nje koji uzrokuju preranu flokulaciju kvasaca tijekom vrenja. Osnovni problem kod primjene golozrnog ječma za proizvodnju slada je slabija modifikacija zrna uslijed slabije razgradnje prvenstveno  $\beta$ -glukana što može dovesti do gubitka embrija tijekom faze klijanja (germinacija). Do slabije modifikacije zrna također može dovesti i viši udjel proteina u golozrnim ječmovima. Kako nedovoljna razgradnja zrna (prvenstveno staničnih stijenki) tijekom slađenja (tzv. modifikacija zrna) dovodi do smanjenja ekstrakta, uslijed smanjene hidrolize škroba i njegove slabije topljivosti tijekom ukomljavaanja potrebno je prilikom slađenja nastojati postići što prihvatljiviju razgradnju zrna (friabilnost).

Postupci slađenja s padajućim temperaturama poznati su kao postupci kojima se poboljšava citološka razgradnja (razgradnja staničnih stijenki), te su stoga u ovom radu ispitana 4 postupka slađenja od kojih su 3 bila s padajućim temperaturama klijanja kako bi se ustanovio njihov utjecaj na konačnu kakvoću sladova. Uzorci golozrnog ječma koji je podvrgnut slađenju su bili na tržištu dostupne sorte Matko i GZ-184, Poljoprivrednog instituta u Osijeku. Na temelju dobivenih rezultata, te njihovom usporedbom s dostupnim podacima u znanstveno-stručnoj literaturi, procijenjena je uspješnost određenog postupka mikroslađenja s obzirom na preporučena svojstva sladova od golozrnog ječma.



## **2. TEORIJSKI DIO**

### 2.1. JEČAM

Ječam je prema zasijanim površinama i proizvodnji druga strna žitarica u svijetu: sije se na više od 84 milijuna ha i proizvodi više od 165 milijuna tona. Površine zasijane ječmom u svijetu su u porastu. Među žitaricama ječam ima najveći areal rasprostranjenosti, od 10° do 70° sjeverne širine, što se objašnjava visokim polimorfizmom i otpornošću na nepovoljne uvjete uzgoja. Uspijeva na visokim nadmorskim visinama, na više od 4000 metara (Himalaja, Tibet, Južna Amerika), u polupustinjama i pustinjama, u tropima i suptropima (Kolak, 1994.). Uzgoj ječma poznat je još od prije oko 7000 godina u Egiptu, a u nekim drugim zemljama (Kina, Indija) uspijevao je prije oko 5000 godina. Višeredni ječmovi potječu iz Istočne Azije, a iz Etiopije i Eritreje potječu različite forme i varijeteti jarog ječma. Iz Sirije i Palestine potječe dvoredni divlji ječam. Pretpostavlja se da ječam potječe od divlje vrste *Hordeum spontaneum* (Divjak, 2005., Gagro, 1997.).

#### 2.1.1. Proizvodnja golozrnog ječma u Hrvatskoj

Razvoj pivarstva i sladarstva u Republici Hrvatskoj zahtjeva poboljšanje pivarske kakvoće ječma i povećanje površina zasijanih ječmom. Proizvodnja ječma s visokim urodom zrna i odgovarajućom pivarskom kvalitetom moguća je samo kvalitetnim sortimentom, ali uz povoljne uvjete uzgoja i odgovarajuću tehnologiju proizvodnje (Kovačević i sur., 1994.). U svijetu raste interes za korištenjem golozrnog ječma u ljudskoj prehrani, ali i industrijskoj preradi. U Republici Hrvatskoj nema tradicije uzgoja golozrnog ječma, te nije prepoznata i iskorištena mogućnost većeg namjenskog korištenja ječma u prehrambenoj industriji (Lalić i sur., 2013.).

#### 2.1.2. Pivarski golozrni ječam

Ječam (*Hordeum vulgare*) pripada porodici Poaceae, red Poales. Značaj ječma proizlazi iz različitih mogućnosti uporabe, od humane preko stočne hrane do važne industrijske sirovine. U industriji se od ječma proizvodi slad i ječmeni i sladni sirup. Slad je glavna sirovina za proizvodnju piva, a ječmeni i sladni sirupi koriste se kako u pivarstvu tako i u pekarskoj, tekstilnoj, farmaceutskoj i industriji alkohola (Divjak, 2005.). Sladne klice,

nusproizvodi sladara, dobar su izvor vitamina, proteina i sirovih vlakana te se rabe kao sastojci koncentrata stočne hrane (Beluhan, 2001.).

Golozrni ječam (*Hordeum vulgare nudum*) se može koristiti bez naknadne obrade (ljuštenja, brušenja) nakon žetve i ima mogućnost šire primjene u ishrani ljudi. Ciljano oplemenjivanje kultivara ječma za posebne namjene zrna je vezano uz selekciju i proizvodnju prema određenim parametrima i pokazateljima kvalitete. U tome pogledu kriterije prehrambene kvalitete ječma treba usmjeriti prema fizikalnim kvalitativnim pokazateljima zrna (prisustvo/odsustvo pljevica, boja aleurona, masa zrna, hektolitarska masa zrna, tvrdoća, učešću zrna pojedinih frakcija, hranidbene vrijednosti...) i prema kemijskom sastavu zrna (ugljikohidrati, neškrobni polisaharidi, aminokiseline, vlakna, proteini, masti, minerali i vitamini). Sjemenarstvo i održanje genetske čistoće kultivara golozrnog ječma je zahtjevnije s obzirom na uočeni povećani postotak stranooplodnje kod ove odlike ječma, kao i očuvanja klijavosti i energije klijanja zbog mogućeg većeg oštećenja zrna prilikom žetve u odnosu na pljevičaste forme ječma (Lalić i sur., 2013.).

Golozrni ječmeni slad nudi ogromnu priliku za industriju piva. Gospodarske uštede se mogu ostvariti kroz značajno više razine ekstrakta, te poboljšanja u kvaliteti piva mogu biti moguća s odsustvom nepoželjnih spojeva pljevice kao što su tanini i drugi polifenoli. U prošlosti, korištenje golozrnog slada je bilo ograničeno zbog potrebe za pljevicom prilikom operacije filtracije. Međutim, s dolaskom novijih tehnologija koje provode odvajanje žita, kao što su tlačni filteri i centrifuge, došlo je do povećanog interesa u prednosti golozrnog ječmenog slada (Evans i sur., 1998.).



**Slika 1** Golozrni ječam (Grainscanada, 2011.)

### 2.1.3. Sorte golozrnog ječma Matko i GZ-184

Na Poljoprivrednom institutu Osijek (PIO) kreirane su linije ozimog golozrnog ječma koje se nalaze u ispitivanjima na PIO, mikropokusima na lokacijama (Slavonski Brod, Požega, Tovarnik), proizvodnim pokusima kod poljoprivrednih proizvođača, te u postupku priznavanja i zaštite novih biljnih sorti kod Zavoda za sjemenarstvo i rasadničarstvo RH.

U provedenim istraživanjima na pokušalištu Instituta ispitivane su linije ozimog golozrnog ječma PIO i standardne sorte PIO pljevičaste forme zrna. Provedena istraživanja ukazuju da novostvorene linije Osk. 4.1/189GZ-10 (Matko) i Osk. 4.1/184GZ-10 golozrnog ječma su u provedenim istraživanjima ostvarivale urod zrna na razini standardne sorte, uz vrlo visoku hektolitarsku masu zrna (iznad 76 kg), udjel zrna I klase iznad 80 %, masu 1000 zrna od 44 grama, sadržaj proteina iznad 14 %.

Na uzorcima golozrnog ječma provedeno je mikroslađenje, a rezultati analize slada ukazuju na vrlo visoki sadržaj ekstrakta, te nešto slabije citolitičke i proteolitičke parametre slada. Analiza sadržaja  $\beta$ -glukana u zrnu ječma ukazuje da linija Matko (5,42 g/100 g.s.t.) i linija Osk. 4.1/186GZ-10 (5,27 g/100 g.s.t.) imaju povećani sadržaj  $\beta$ -glukana u zrnu u odnosu na pljevičastu sortu najvišeg ostvarenog sadržaja  $\beta$ -glukana ozimog dvorednog ječma sorte Bingo (4,24 g/100 g.s.t.). Razgradljiva biljna vlakna (prvenstveno  $\beta$ -glukani), povoljno utječu na ljudsko zdravlje a genotipovi povišenog sadržaja  $\beta$ -glukana u zrnu predstavljaju dobru osnovu za zasnivanje proizvodnje „novel food” i funkcionalne hrane, koja se razvija i ostvaruje visoku cijenu na svjetskom tržištu (Lalić i sur., 2013.).

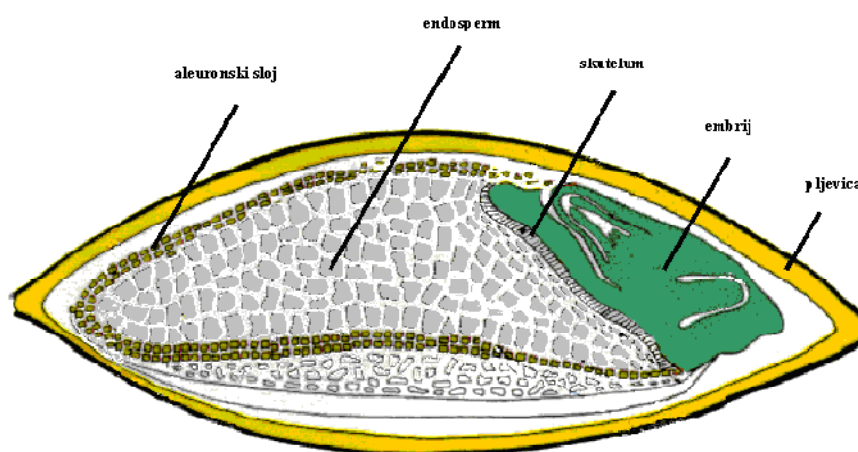
### 2.1.4. Građa i sastav ječmenog zrna

Ječmeno zrno čine tri glavna dijela: klica, endosperm i zaštitni omotač. Klica se sastoji od embrija, akrospore i korjenčića. Klica je odvojena od endosperma štitićem. U sastav štitića ulazi i usisni epitel, sloj šupljih duguljastih stanica kroz koje se, pri prirodnom klijanju u zemlji otopljeni sastojci endosperma prenose u embrio. Endosperm je svojevrsna vreća napunjena mrtvim stanicama koje sadrže velika i mala kristalična škrobna zrnca obavijena  $\beta$ -glukanom (hemicelulozom) u proteinskoj matrici. Tkivo endosperma nema jedinstvenu građu. Sloj neposredno i ispod zaštitnog sloja sadržava manje škroba, a više proteina. To je osobito izraženo u ječma s visokim udjelom dušika.

Tu je najveća koncentracija vezane  $\alpha$ -amilaze. Neki su proteini također u granulama, ali su uglavnom raspršeni u endospermu. Endosperm je pokriven tankim slojem što se sastoji od četiriju redova živih stanica, tzv. aleuronskim slojem. Te su stanice važne za biosintezu hidrolitičkih enzima ( $\alpha$ -amilaza,  $\beta$ -glukanaza, proteaza) što hidroliziraju endosperm tijekom klijanja i opskrbljuju embrio potrebnim hranjivim sastojcima za rast.

Zaštitni omotač sastoji se od sedam različitih slojeva koji se mogu podijeliti na tri osnovna. Unutarnji omotač koji okružuje aleuronski sloj naziva se sjemenjača ili testa. Ona okružuje čitavo zrno i propušta samo čistu vodu ali ne i soli otopljene u njoj. Sljedeći omotač je oplodnjača ili perikarp koji je u bliskoj vezi sa sjemenjačom.

Vanjski omotač zrna naziva se pljevica. Glavni sastojak pljevice su celuloza i lignin, dok ostatak čine pentozani, manani, uronične kiseline i hemiceluloze (Divjak, 2005.).



**Slika 2** Uzdužni presjek pljevičastog ječmenog zrna (Hough i sur.,1976.)

Udjel vode u zrnu ječma tijekom žetve iznosi u prosjeku od 14 do 15%, ali može varirati od 12 do 20% s obzirom na klimatske uvjete žetve. Ostatak suhe mase zrna čine:

Pokazatelj	zračno suhi	suha tvar zrna
Škrob	54,0	63,2
Vlaga	14,5	-
Ostalenedušične ekstraktivne tvari	12,0	14,0
Bjelančevine	9,5	11,1
Sirova vlakna	5,0	5,9
Masti	2,5	2,9
Mineralni sastojci	2,5	2,9

**Slika 3** Kemijski sastav ječma, %. (Schuster i sur., 1988.)

Ugljikohidrati su kvantitativno najvažniji sastojci a vrlo je velika njihova uloga tijekom prerade ječma. Najznačajniji su škrob, šećeri, celuloza i hemiceluloza. Škrob formira 50-63% suhe tvari ječma, a skladišti se u obliku škrobnih zrnaca, u endospermu stanice. Škrobna zrnca se sastoje od dva spoja: amiloze i amilopektina. Amiloza i amilopektin su izgrađeni od lanaca glukoze, ali imaju različitu strukturu i različit način razgradnje tijekom slađenja. Hemiceluloze se sastoje od  $\beta$ -glukana i pentozana i osnovni su sastojak stanične stijenke. Šećer i celuloza se u malom postotku nalaze u ječmenom zrnu i nemaju veliki učinak na produkciju i kvalitetu piva.

Od ukupne količine proteinskih sastojaka zrna samo trećina prelazi u gotovo pivo. Udjel proteina u pivu nije velik, ali oni mogu znatno utjecati na kakvoću piva i njegovu osjetljivost na zamućenje. Udjel ekstrakta slada se smanjuje otprilike za onoliko koliki je udjel proteina u zrnu (od 0.7-1% po postotku proteina). Proteini čine 92% bjelančevinskih sastojaka u pivu. Prema Osbornu dijele se na: gluteline, 30%; prolamine, 37%; globuline, 15%; te albumine 11%.

Od mineralnih tvari su najzastupljeniji fosfati s oko 35% u obliku fosfor-(V)-oksida, silikati s oko 25% u obliku silicij dioksida i kalijeve soli s 20% u obliku kalij-dioksida. Bez prisustva fosfata nije moguće alkoholno vrenje, jer su zbivanja prilikom vrenja ovisna o reakcijama u kojima sudjeluje fosforna kiselina.

Masti se u najvećem dijelu nalaze u aleuronskom sloju i u klici. Ukupni sadržaj masti u aleuronskom sloju je oko devet puta veći nego u klici. Ove masti su gotovo isključivo trigliceridi u kojima je glicerol esterificiran sa tri masne kiseline. Pri tome su najvećim dijelom zastupljene masne kiseline s dugačkim lancima (stearinska, oleinska, linolna i linolenska). Masti su netopljive u vodi pa nepromijenjene ostaju u tropu. Masti razaraju pjenu piva.

U ostale sastojke spadaju taninske supstance ili polifenoli koji se nalaze uglavnom u pljevici. (Kunze, 1999.).

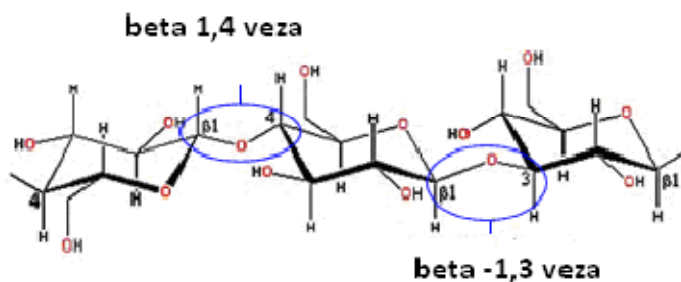
### 2.1.5. $\beta$ -glukani

Nalaze se u bakterijama, algama, kvascima, gljivicama, plijesnima i višim biljkama i zbog toga njihova struktura ovisi o izvoru iz kojeg su izolirani (Zechner-Krpan i sur., 2010.; Gardiner, 2000.; Gardiner i Carter, 2000.; Stone i Clarke, 1992.).  $\beta$ -glukani su sastavljeni od molekula glukoze, koje mogu biti povezane  $\beta$ -(1,3),(1,4) i  $\beta$ -(1,3),(1,6) glikozidnom vezom.

---

(1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glukani se najčešće izoliraju iz žitarica, ječma i zobi. U principu je  $\beta$ -glukan linearni polisaharid koji se može gledati kao celulozni lanac (70% 4-O- $\beta$ -D-glukopiranozil jedinica) prekinutih s 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozil jedinicama (30%) što dovodi do strukture koju dominantno čine celotrioza i celotetroza međusobno povezane (1 $\rightarrow$ 3) vezama (Woodward i sur., 1983.). Premda se nalaze u svim žitaricama, njihova koncentracija je u ječmu 3-11 % , zobi 3-7% , raži 1-2% i u pšenici oko 1% (Skendi i sur., 2003.).

Široko su rasprostranjeni u prirodi. U biljkama funkcioniraju kao strukturni i energetski rezervni materijal. Topljivi i netopljivi  $\beta$ -glukani imaju korisnu primjenu, najčešće u farmaceutskoj, kemijskoj i kozmetičkoj industriji (LaRoche i Michaud, 2007.). (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glukani imaju nisku molekularnu masu, a u dodiru s vodom stvaraju viskoznu, ljepljivu otopinu (Dais i Perlin, 1982.). Woodward i suradnici objavili su da se  $\beta$ -glukan iz ječma u otopini javlja u obliku „crvolikih“ lanaca (Woodward i sur., 1983.). U zrnu ječma razlikujemo dvije vrste hemiceluloze, endospermnog tipa i pljevičastog tipa. Hemiceluloza endospermnog tipa sadrži mnogo  $\beta$ -glukana, a pljevičastog tipa malo  $\beta$ -glukana. (Popović, 2012.).



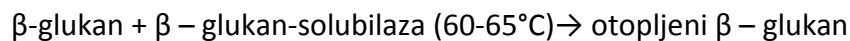
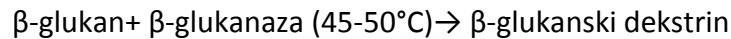
**Slika 4** Struktura ječmenog (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glukana (VitaminPROS, 2012.)

### 2.1.6. Važnost $\beta$ -glukana u pivovarstvu

S obzirom na kemijski sastav sladne prekrupe i usitnjenih neslađenih žitarica najvažnije su: enzimska razgradnja škroba,  $\beta$ -glukana (gumastih sastojaka) i proteina.

Stanične stijenke endosperma žitarica su građene od  $\beta$ -glukana i malo pentozana (hemiceluloze).  $\beta$ -glukan se sastoji od nerazgranatih lanaca sastavljenih od glukoznih jedinica povezanih  $\beta$ -1,3 i  $\beta$ -1,4 vezama omjerom (30:70). Nažalost, ostatak  $\beta$ -glukana u ječmenom zrnu, koji nije razgrađen tijekom slađenja, izaziva poteškoće pri cijedenju sladovine i filtraciji

piva. Još veći problem izaziva  $\beta$ -glukan iz neslađenih žitarica. Naime u oba slučaja nastaje  $\beta$ -glukanski gel koji usporava cijedenje sladovine i filtraciju piva. Stoga bi preostali  $\beta$ -glukan u sladnome zrnu, odnosno, u neslađenim žitaricama trebalo razgraditi (varionica) prije hidrolize škroba. Za razgradnju  $\beta$ -glukana na raspolaganju su dva enzima iz slada s različitim temperaturnim optimumima i proizvodima hidrolize (Marić, 2009.):



Povećan sadržaj  $\beta$ -glukana ne mora nužno imati za posljedicu pogoršanje filtrabilnosti piva. Značajnije je u kolikoj mjeri je nastao  $\beta$ -glukanski gel.

Dakle,  $\beta$ -glukan se sastoji od nerazgranatih lanaca sastavljenih od glukoznih jedinica povezanih  $\beta$ -1,3 i  $\beta$ -1,4 vezama, u obliku nepravilne nesređene spirale (slika 4). Pri tome se javlja do deset uzastopnih 1,4 veza koje čine pravilan odsječak.

Smicajnim silama može doći do pojave većega broja ovakvih sjedinjenja što ima za posljedicu nastajanje gela. Gel nastaje u slučaju kada je prisutna kritična količina makromolekularnoga  $\beta$ -glukana (Kunze, 1999.).

Zbog toga je važno da u proizvodnji piva tj. u sladu sadržaj  $\beta$ -glukana bude što manji. Čim se poveća sadržaj makromolekularnoga  $\beta$ -glukana, poveća se mogućnost nastajanja gela.

Osim već spomenutih pojava povezanih sa sadržajem  $\beta$ -glukana, (povećanje viskoznosti sladovine, otežano cijedenje tj. filtracija sladovine, pogoršavanje filtrabilnosti piva, koloidno замуćenje piva), uzrokuje i smanjenje radnoga ciklusa i kapaciteta filtera, poskupljenje proizvodnje te neoptimalan rad izaziva i ozbiljno ugrožava ukupnu kvalitetu proizvoda (Marić, 2009.).

### 2.1.7. Prednosti i nedostaci golozrnog ječma

Povećana količina ekstrakta iz slada golozrnog ječma nudi ogroman gospodarski potencijal za pivovare. U prošlosti je ova prednost negirana potrebom cjelovitih zrna da djeluju kao filterski kolač u procesu filtracije. Drugi problem je potencijalni gubitak embrija ili acrospire tijekom slađenja zbog nemanja zaštitne pljevice i niske prhkosti slada, koje se smatralo pokazateljem takvog gubitka. Međutim, istraživanja s kanadskim golozrnim sortama, CDC Dawn, pokazala je da loše vrijednosti prhkosti nisu objašnjeni gubitkom embrija. Pretpostavka je da su neadekvatni pivarski uvjeti uzrok loše drobljivosti zbog



visokog udjela beta-glukana i proteina u golozrnom ječmu. Bolji rezultati prhkosti su dobiveni povećanjem vlage kod močenja ili povećanjem vremena klijanja, ali vrijednosti i dalje nisu postigle komercijalno prihvatljive granice. Međutim, korištenje mlinova čekićara u pripremi slada za nove separacijske tehnologije će smanjiti potrebu za visokom razinom drobljivosti kod slada i komercijalna uporaba golozrnog ječmenog slada s visokom količinom ekstrakta će biti moguća (Efneyand i Rossnagel, 2011.).

Slad od golozrnog ječma predstavlja niz izazova, zbog razlike u kemijskim i fizikalnim svojstvima. Nedostatak pljevice čini ječam osjetljivim na oštećenje zametka tijekom rukovanja i slađenja. Prerani gubitak embrija može spriječiti adekvatnu modifikaciju endosperma. Upijanje vode je puno brže tijekom vremena namakanja golozrnog ječma u odnosu na ječam s pljevicom (Singh i Sosulski, 1985.). Bhatti (1996.) je također dokazao da je golozrni ječam teži nego obični pivarski ječam. Uvjeti slađenja se moraju mijenjati kako bi se adekvatno procesirao tvrdi, čvrsti ječam (Briggs, 1981.). Potrebna je veća vlaga namakanja i duže klijanje. Sušenje slada također može uzrokovati problem. Bez zaštitne pljevice, visoke temperature sušenja mogu uzrokovati da golozrni slad bude posebno tvrd uslijed očvršćivanja omotača (Thomas, 1986.).

Evans i sur. (1999.) su ukazali neke prednosti golozrnog ječmenog slada. Međutim, ista grupa (Evans i dr., 1998.) je pronašla jake nedostatke kod upotrebe loše modificiranog golozrnog ječmenog slada. Ova studija istražuje rješenja za slabe modifikacijske vrijednosti viđene kod golozrnog ječmenog slada. Mogućnost gubitka embrija je bio istražen s Calcofluor testom modifikacije. Ispitivan je utjecaj izmijenjenih uvjeta slađenja, uključujući i visoku vlagu kod namakanja i duže vrijeme klijavosti. Također je istražen utjecaj visokog sadržaja proteina kod golozrnog ječma na modifikacije (Efneyand i Rossnagel, 2011.).

### **2.1.8. Učinak uvjeta slađenja na modifikaciju endosperma golozrnog ječma**

Dulje vrijeme namakanja dovodi do veće vlage kod močenja. Ječam koji je močen duže vrijeme je dosegao vlagu od 51,6%. Viša vlaga močenja je rezultirala većom krhkošću i vrijednošću Kolbach-ovog indeksa i nižim razinama  $\beta$ -glukana. Ovo su sve naznake bolje modificiranog slada. Dulje vrijeme klijanja vodi do cjelovitije modifikacije kada je vlaga močenja bila niska. Najviše modificirani slad je nastao kad je produženi režim namakanja kombiniran s dugim klijanjem. Viša vlaga močenja i duža germinacija su povećali gubitke

slada, ali je povećana razina ekstrakta. Dijastatska snaga je ostala relativno konstantna tijekom različitih načina slađenja. Viša razina proteina u ječmu je rezultirala nižim vrijednostima prhkosti što ukazuje na manje brašnast endosperm u sladu.

Slad od golozrnog ječma je pokazao dobar potencijal s visokim razinama ekstrakta slada i dobrim razinama dijastatske snage. Slad je također pokazao vrlo niske vrijednosti krhkosti, ukazujući na nepotpunu modifikaciju ječma, vjerojatno zbog slabe klijavosti ili gubitka klijavosti tijekom slađenja. Međutim, CDC Dawn korišten za testiranje ima prihvatljivu razinu klijavosti (95%), a dobri rezultati iz Calcofluor testa modifikacije su sugerirali da gubitak embrija nije bio problem. Stoga se činilo malo vjerojatnim da su loše vrijednosti prhkosti posljedica oštećenja zametka uzrokovana rukovanjem ili slađenjem golozrnog ječma. Niska mrvljivost bi mogla biti rezultat ne modificirane sekcije unutar endosperma zbog strukture koju je teško modificirati.

Golozrni ječmeni slad proizveden pri višim vlagama močenja i dužim vremenom klijavosti je pokazao veće vrijednosti za drobljivost. Ostali parametri kvalitete, kao što su niske razine beta-glukana i viši Kolbach-ov indeks, također ukazuju na bolje modificirani slad. To je ukazalo da bi se tvrđa struktura endosperma golozrnog ječma mogla bolje mijenjati pri posebnim uvjetima slađenja (Bhatty, 1996.). Briggs (1981.) napominje da je čvršćim tipovima ječma potrebna veća vlaga močenja da bi se dovršile izmjene, ali da će to rezultirati s većim gubitkom slada.

Potreba za posebnim uvjetima slađenja može biti povezana s proteinima. Višeproteinski ječam proizvodi slad s lošijom drobljivosti. Možda višak proteina utječe na strukturu endosperma čineći ga težim za modificiranje. Europski CDC Dawn ima strukturu endosperma koju je najlakše mijenjati. Okoliš može igrati ključnu ulogu u definiranju strukture endosperma. Dakle, uzgoj kultivara golozrnog ječma s endospermom koji se lako modificira se može pokazati teškim.

Istraživanje je pokazalo da se bolji golozrni ječmeni slad može proizvesti s višom vlagom močenja i dužom klijavošću. Slađenjem nisko proteinskog golozrnog ječma je utvrđeno da se proizvodi bolje modificirani slad. Više istraživanja strukture endosperma golozrnog ječma bi moglo pomoći uzgajivačima u razvoju kultivara s boljim karakteristikama slađenja. Na kraju, ipak, niske vrijednosti mrvljivosti ne bi bile problem pri obradi golozrnog

slada u pivovarama zbog uporabe mlinova čekićara, u odnosu na valjčane mlinove, kod pripreme slada za filtriranje i centrifugiranje. (Efneyand i Rosnagel, 2011.).

## 2.2. PROIZVODNJA SLADA

Slad predstavlja zrnje žitarica, koje je tijekom tehnološkog procesa proklijalo i zatim osušeno. Svrha reguliranog postupka vođenja klijanja u proizvodnji slada je:

- sinteza ili aktivacija čitavog niza enzima
- djelovanje ovih enzima na različite grupe sastojaka zrna žitarica
- maksimalna sinteza enzima uz minimalni utrošak (gubitak) sastojaka zrna.

Ove tri pojave međusobno su povezane. Sintezom enzima pojačava se i produbljuje i njihovo djelovanje na pojedine sastojke zrna. Ova zbivanja zavise od četiri faktora u toku klijanja: vlažnosti zrna, temperature, sastava zraka i vremena. Djelovanje enzima u toku klijanja iskazuje se kroz razgradnju staničnih stijenki i povećanje brašnavosti endosperma, te razgradnju makromolekularnih sastojaka zrna. Proizvod dobiven klijanjem naziva se zeleni slad; a nakon sušenja osušeni ili suhi slad odnosno jednostavno slad.

JEČAM	Skladištenje	vlaga temperatura	12-14% 12 °C
↓	Močenje	udjel vode	45%
	Klijanje	vrijeme temperatura	5 dana 12-16 °C
	Sušenje	temperatura vlažnost	iznad 85 °C 4%
SLAD	uklanjanje korjenčića i klice, uskladištenje		

**Slika 5** Faze slađenja od ječma do slada (Schuster i sur., 1988.)

Prva je faza tehnološkog postupka slađenja močenje kako bi ječmeno zrno upilo vodu, te iz stanja anabioze prešlo u stanje bioze tj. počelo klijati. Tijekom klijanja u zrnu se nakupljaju hidrolitički enzimi ( $\alpha$ -amilaze,  $\beta$ -glukanaza i proteaze), kako bi se razgradile stanične stijenke i endosperm i tako dobili hranjivi sastojci potrebni za rast embrija, odnosno rast korjenčića i lisne klice buduće biljke. Djelovanjem  $\alpha$ -amilaze nastaju topivi dekstrini što ih, u ječmenom zrnu prisutna,  $\beta$ -amilaza hidrolizira do šećera. Proteaze, istodobno, hidroliziraju proteine do aminokiselina i malih peptida. Zeleni slad, koji nastaje klijanjem, je zbog velikog udjela vode nestabilan. Zato mu se uklanja voda sušenjem. Pošto je zeleni slad zapravo enzimski

pripravak, sušenje treba obaviti tako da se spriječi toplinska inaktivacija enzima. Osušenom sladu se uklanjaju korjenčići (sladne klice), jer su higroskopni i imaju gorak okus.

Tehnološki proces slađenja ječma se sastoji od pet odijeljenih tehnoloških faza:

- čišćenje i sortiranje ječma
- močenje sortiranog ječmenog zrna
- klijanje namočenog zrna
- sušenje zelenog slada
- dorada osušenog slada (Schuster i sur. 1988.).

### 2.2.1. Preporučene vrijednosti pokazatelja kakvoće ječmenog slada

Osnovne karakteristike dobrog pivarskog slada su:

- Ujednačena svijetložuta boja zrna. Tamne nijanse ukazuju na visoke temperature pri dosušivanju. Crne i crvene fleke su posljedica prisustva plijesni,
- Čist i svjež miris karakterističan za tip slada,
- Cijela zrna, bez prisustva zrna stranog porijekla, prašine i klice.

**Tablica 1** Preporučene vrijednosti za pokazatelje kakvoće ječmenog slada (AACC, 2006.)

Pokazatelj:	jedinica	Min.	Maks.
vlaga	%		5
ekstrakt (suh. tv.)	%	80.0	
razlika ekstrakta	%	1.2	1.8
boja	EBC (Lov.)	< 3,4	
boja nakon kuhanja	EBC (Lov.)	< 5	5.7
ukupni proteini	%	< 10.8	11.5
topljivi proteini (kao topljivi N)	g/100g suh. tv. (%)	> 0,65 (4)	
Kolbach index	%	38.0	42.0
Hartong 45o	%	37.0	41.0
Viskoznost	mPa $\times$ s (cp)		1.55
$\beta$ - glukani u sladovini	mg/l		250
pH		5.6	6.0
Diastatska snaga	WK $^{\circ}$	250	
Friabilnost	%	80.0	86.0
Staklavost (cijelo zrno)	%		2.5
PDMS			5.0
NDMA	ppb		2.5
Filtrabilnost		Normal	
Saharifikacija	Min.		15
Bistroća sladovine		Bistro	

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### 3.1. ZADATAK

Slad od golozrnog ječma je vrsta specijalnog slada koja se koristi zajedno s osnovnim sladom ako se raspolože dovoljnim količinama golozrnog ječma koji se ne može upotrijebiti u druge svrhe. Najčešće se koristi u proizvodnji žitnih rakija. Kod proizvodnje slada od golozrnog ječma udjel  $\beta$ -glukana u zrnu ječma ima izuzetan utjecaj na kvalitetu slada, te utječe na mnoge pokazatelje važne za kvalitetu piva (iskorištenje ekstrakta, filtrabilnost, koloidna stabilnost, punoća okusa, stabilnost pjene i dr.). Kako se radi o pretežito genotipski određenom čimbeniku (značajan utjecaj same sorte) na njega se postupkom slađenja ne može značajno utjecati, a da se ne pokvare ostali važni pokazatelji kvalitete slada. Osnovna značajka ovih sladova jest visok udjel  $\beta$ -glukana i s tim povezanih ostalih pokazatelja: visoka viskoznost, slaba filtrabilnost i dr.

Kako bi se postupkom slađenja djelomično poboljšali ovi pokazatelji u ovom radu je ispitivan utjecaj procesnih parametara tijekom slađenja s padajućim temperaturama klijanja. Određivani su svi ključni pokazatelji kvalitete polaznog ječma i slada.

Provedena su 4 postupaka slađenja i to: (A) standardni postupak (kontrola) i tri postupka sa padajućim temperaturama klijanja (B), (C) i (D). Cilj rada je bio da se na temelju dobivenih rezultata, te njihovom usporedbom s dostupnim podacima u znanstveno-stručnoj literaturi procijeni koliko se uspješno može utjecati na kvalitetu slada od golozrnog ječma promjenom procesnih parametara tijekom slađenja.

#### 3.2. MATERIJAL I METODE

##### 3.2.1. Materijal

Materijal za ispitivanje je pribavljen kao dorađeno (otpljevičeno i bez stranih primjesa) zrno dviju sorti golozrnog ječma iz sortnih pokusa (sorte Matko i GZ-184). Zrno je pribavljeno od najveće selekcionarske kuće u Hrvatskoj, od Poljoprivrednog Instituta Osijek. Pribavljeno je 10 kg zrna od navedene sorte iz sezone 2013. godine. Uzorak je prikupljen kao očišćeno, netretirano zrno, te razvagan na po 1 kg, spremljen u papirnate vreće i čuvan do analize (oko 3 mjeseca) da bi se prevladala posliježetvena pospanost tzv. „dormantnost“ zrna. Materijal je spremljen neposredno nakon žetve. Radi izbjegavanja eventualnog utjecaja

mikrobiološke kontaminacije zrna na ispitivane pokazatelje kvalitete izvršena je kontrola uzoraka na prisutnost *F. graminearum* i *F. culmorum* prema MEBAK-ovoj analitici.

#### 3.2.2. Metode

##### 3.2.2.1 Određivanje polaznih kemijskih, fizikalnih i fizioloških pokazatelja kvalitete ispitivanih sorti golozrnog ječma

U ispitivanim uzorcima golozrnog ječma određivani sljedeći pokazatelji kakvoće:

##### Sortiranje zrna

Sortiranje je najvažniji mehanički pokazatelj, na osnovi sortiranja dobiva se postotni udjel stočnog zrna ječma (zrna manja od 2,2 mm) i zrna 2. klase (koja se zadržavaju na situ sa otvorima širine 2,2 mm). Kako je sortiran golozrni ječam prikupljena je frakcija koja se zadržava na situ širine 2,8 mm, 2,5 mm, 2,2 mm i ispod 2,2 mm. Sortiranje je izvršeno prema metodi MEBAK 2.3.1.

##### Određivanje primjese u golozrnom ječmu

U ječmu ne smije biti sjemena korova, pijeska, kamenčića, slame, poluzrna, zrna drugih žita (zobi, pšenice, prosa, kukuruza), te metalnih dijelova. Ako je količina nečistoća velika, povećavaju se troškovi u proizvodnji te teškoće prilikom čišćenja i prerade. Primjese u pšenici su određene su ručno prema metodi MEBAK 2.2.9.

##### Određivanje vlažnosti

Poželjno je da se kreće od 12-13%, svakako ne preko 14%. Vlažnost golozrnog ječma 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.

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

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

#### Određivanje mase 1000 zrna

Masa 1000 zrna je u snažnoj pozitivnoj korelaciji s rezultatima sortiranja i s ekstraktom, te je poželjno da je što veća. Masa 1000 zrna je određena metodom MEBAK-I 2.3.2. Raspodjeljivačem uzoraka je odvojeno 100 g golozrnog ječma, te odvagano dva puta po 40 g. Aparatom za brojanje zrna određen je broj zrna u svakoj probi. Lom i strana zrna odvojeni su ručno i njihova masa je oduzeta od izmjerene vrijednosti mase zrna.

$$\text{Proračun: masa 1000 zrna, zr. suh. (g)} = \frac{\text{korig.izmjer.masa} \times 1000}{\text{broj cijelih zrna}}$$

$$\text{masa 1000 zrna, suh. tv. (g)} = \frac{\text{masa 1000 zrna, ZS (g)} \times (100 - w)}{100}$$

#### Određivanje hektolitarske mase zrna

Hektolitarska masa golozrnog ječma je određena metodom MEBAK-2.3.3. Ispitni uzorak rasprostire se po površini stola i podijeli postupkom četvrtanja. Zatim se lopaticom uzima jednaka količina žita iz svih kvadrata i stavlja do oznake u cijev za nasipavanje. S udaljenosti od 4 cm od vrha cilindra žito iz cijevi sipa se takvom brzinom da se cilindar obujma 0,250 l napuni za 8 sek. Ako na Schopperovoj vagi postoji lijevak, vrijeme nasipanja se automatski regulira. Mlaz žita mora padati u sredinu cilindra, a žito se ne smije poravnavati s rubom cilindra. Pridržavajući mjerni cilindar nož brzo, ali bez potresa, treba izvući pri čemu klip, zajedno sa žitom iznad njega, naglo pada na dno cilindra. Tada se nož ponovno uvuče u prorez, žito iznad njega se potpuno ukloni, nož se izvuče, a cilindar se ovjesi na vagu i važe.

Za dobivenu odnosno očitane masu zrna žita iz tablice se pročita vrijednost iskazana u kilogramima. Dobivena se vrijednost pomnoži sa 10 i dobiva se «hektolitarska masa» iskazana u kg/m<sup>3</sup>. «Hektolitarska masa» se preračunava na vlagu od 13%, preko faktora za korekciju. Faktor za korekciju može se očitati iz tablice ili izračunati.

#### Određivanje staklavosti zrna

Staklavost zrna je određena metodom MEBAK-I 4.1.3.5.1., tzv. probom rezanja na farinotomu po Polh-u, te brojanjem staklastih i brašnatih zrna, a rezultat je izražen u %. Na farinotomu se sipa veća količina žita i trese se dok u svaku rupu ne uđe po jedno zrno, a višak zrnja se odstranjuje. Nakon toga se između dviju ploča uvodi nož koji siječe zrno po sredini u dva dijela. Kako se prilikom presijecanja zrna na površini presjeka stvaraju, ovisno o strukturi



zrna, veći ili manji lomovi, prije ocjenjivanja otklanjaju se pomoću četke te se izbroje samo cijela,  $\frac{3}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  i  $\frac{1}{4}$  staklava odnosno brašnava zrna. Umjesto ovog načina razvrstavanja mogu se zrna s manje od  $\frac{1}{4}$  brašnavosti ubrojiti u cijela staklava, a u cijela brašnava ona zrna sa staklavosti manjom od  $\frac{1}{4}$  površine. Ostala zrna se ubrajaju u polustaklava, odnosno polubrašnava. Rezultati dva određivanja se zbrajaju i dobije se staklavost u postocima.

#### **Određivanje energije klijanja po Aubry-ju (EBC metoda)**

Pod energijom klijanja podrazumijeva se postotak zrna koja proključaju u trenutku ispitivanja pod normalnim uvjetima sladenja. Dobra energija klijanja ukazuje na dobro zdravstveno stanje zrna, koje će se uspješno sladiti. Po isteku 72 h isključala zrna odbacimo, a neisključala zrna izbrojimo. Neisključala zrna vraćamo u ormar za klijanje te nakon 48 h brojimo neisključala zrna.

$$\text{Proračun: } \text{Energija klijanja (\%)} = \frac{500 - n}{5} \times 100$$

n = broj neisključalih zrna nakon 3, odnosno 5 dana

#### **Određivanje ukupnih proteina**

Ukupni proteini su određeni metodom po Kjeldahlu kao kod slada uz preračunavanje ukupnog dušika u proteine uz faktor 6,25. Dušične tvari slada se razaraju vrućom sumpornom kiselinom u prisutnosti katalizatora do H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> i NH<sub>3</sub> (tj. amonij sulfata). 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.

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

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

#### Određivanje koncentracije škroba

Udjel škroba u golozrnom ječmu određen je metodom po Ewers-u. Škrob pokazuje visoku optičku aktivnost, pa se na osnovi toga može odrediti i polarimetrijski, pošto se prethodno hidrolizom prevede u otopinu pomoću kiseline.

Postupak: odmjeri se oko 5 g uzorka, s točnošću  $\pm 0,01$  g, i prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL. Doda se 25 mL 1,124% HCl i dobro promiješa da se ne zgruda. Zatim se doda 25 mL iste kiseline, pri čemu se njome speru svi djelići uzorka nahvatani na grlu tikvice. Dobro se promućka i kuha na vodenoj kupelji, točno 15 min, pri čemu se prve 3 min tikvica mućka. Tikvica se se skine sa vodene kupelji i odmah doda 10 mL ohlađene destilirane vode da bi se hidroliza naglo prekinula, a tikvica se i dalje hladi pod mlazom vode iz slavine. Poslije hlađenja doda se 20 mL 25% HCl i 2 mL Carrez-a I, sadržaj se promućka, doda se 2 mL Carrez-a II, opet promućka i dopuni destiliranom vodom do 100 ml. Sadržaj se promućka i filtrira kroz suhi, naborani filter papir, pri čemu se prve količine filtrata vraćaju natrag. Potpuno bistrim filtratom puni se polarimetarska cijev i očita kut skretanja ravni polarizirane svjetlosti.

Izračunavanje količine škroba izražava (u % suhe tvari) se po sljedećoj formuli:

$$\text{škrob}(\%) = \frac{100 \times 100 \times \alpha \times 100}{[\alpha] \times l \times g \times (100 - v)}$$

$\alpha$ - pročitani kut skretanja na polarimetru;  $l$ - dužina polarimetarske cijevi (dm);  $[\alpha]$ - specifično skretanje škroba;  $v$ - sadržaj vlage u uzorku;  $g$ - odmjerena količina uzorka

Specifično skretanje škroba:

- zob 181,3; pšenica 182,7; raž 184,0; ječam 181,5; kukuruz 184,6; riža 185,9.

#### Određivanje $\beta$ -glukana

Udio  $\beta$ -glukana određen je standardnom metodom za  $\beta$ -glukane u ječmu i zobi AOAC 995.16 (EBC 3.11.1, 4.16.1 i 8.11.1; AACC 32-23; ICC 166).

Uzorak i standard odvažuju se u kivete te se doda određena količina etanola i natrijevog fosfata, a zatim vorteksira. Naizmjenice 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 ponovo 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 razdjeli u tri kivete, u prve dvije se dodaje enzim  $\beta$ -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 koji služi kao slijepa proba. Zatim se u sve kivete dodaje GOPOD reagens, te se inkubira 20 minuta na 50 °C. Slijedi mjerenje apsorbancije pri 510 nanometara uz slijepu probu.

Udjel  $\beta$ -glukana se računa prema formuli:

$$\beta\text{-glukan} = \Delta E \times F \times 94 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 9,27 \text{ [g/100 g s. tv. uzorka]}; \text{ gdje su:}$$

$\Delta E$  = apsorbancija umanjena za slijepu probu;  $F = 100 \mu\text{g}$  glukoze/apsorbancija za  $100 \mu\text{g}$  glukoze; 94 – korekcija volumena (0,1 mL uzeto iz 9,4 mL),  $1/1000$  – pretvaranje  $\mu\text{g}$  u mg;  $100/W$  – faktor za izražavanje udjela  $\beta$ -glukana kao postotak od suhe tvari uzorka ( $W$  – masa suhe tvari uzorka u mg);  $162/180$  – prilagodba slobodne glukoze prema bezvodnoj glukozi

#### 3.2.2.2 Mikroslađenje

Standardno mikroslađenje je provedeno postupkom mikroslađenja koji je usvojila Middle European Brewing Analysis Commission (Srednjoeuropska komisija za pivarsku analitiku (MEBAK)). Postupak je usvojen 6. travnja 1971. god. Postupak mikroslađenja je razrađen za pivarski ječam kao sirovinu (MEBAK, 1997.) ali se za potrebe mikroslađenja ostalih žitarica (uključujući i golozrni ječam) vrše korekcije vlažnosti. Naime, kao posljedica odsutnosti pljevice (što je slučaj kod golozrnog ječma) zrno može vrlo brzo primiti vodu pa se vrijeme namakanja može skratiti, a stupanj relativne vlažnosti zraka pri klijanju smanjiti (Sacher, 2000.).

Opća shema mikroslađenja bila je 3+4+1. Močenje (2 uvjetno i treći dan) i sušenje zrna (1 dan) provedeni su u močioniku i sušari mikrosladare tvrtke Seeger prema (MEBAK, 1997.), a klijanje zrna (4 dana) je provedeno u Climatic test chamber (Climacell 222, Medcenter Einrichtungen GmbH). Ovaj postupak provodi se na sljedeći način:

Standardno mikroslađenje ječma (MEBAK, 1997.)

1. Prerađuje se šarža od 1 kg zračno suhog ječma
  2. Smije se koristiti samo ječam prve klase, frakcije sita sa otvorima 2,5 i 2,8 mm. Ječam III klase i primjese se moraju odvojiti. Masa ječma koji se prerađuje od 1 kg se dobiva vaganjem zrna I klase nakon uklanjanja stranih sastojaka.
  3. Močenje ječma se obavlja kombiniranim mokro-suhim postupkom. Pri tome su temperature voda i zraka  $14 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , a močenje traje 72 h. Treba postići stupanj namočenosti od 45%.
  4. Shema močenja:
    1. dan: 5 h močenje pod vodom  
19 h suho močenje
    2. dan: 4 h močenje pod vodom  
20 h suho močenje
    3. dan: Močenje pod vodom do stupnja namočenosti 44,5% (stupanj namočenosti određen vaganjem pri tome mora biti 45,5%, jer se računa da na zrnu ima 1% površinske vode). Ostatak dana suho močenje. Ako se utvrdi da nakon 48 h prilikom vaganja uzorka dati ječam ne može više podnijeti treće močenje, stupanj namočenosti od 45% se podešava orošavanjem.
  5. Za klijanje je dozvoljena primjena "mirnog" ili "pneumatskog" klijanja

Trajanje klijanja:	4 dana
Temperatura vlažnog zraka za klijanje:	$14 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$
Temperatura zrna koje klija:	$14,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (stalno)
Relativna vlaga zraka za klijanje:	
- prilikom mirnog klijanja	95-98%
- prilikom pneumatskog klijanja	prezasićen
  6. Prevrtnanje zrna koje klija:

- prilikom mirnog klijanja	1 do 2 puta na dan
- prilikom klijanja u bubnju	navesti učestalost prevrtanja
  7. Vlaga zelenog slada prije početka sušenja mora biti 45-45,5%.
-

8. Shema sušenja:	16 h na 50°C ( H <sub>2</sub> O < 10%)
	1 h na 60°C
	1 h na 70°C
	1 h na 80°C

Vrijeme povisivanje temperature uključeno je u navedena vremena;

Temperatura se mjeri ispod rešetke;

Tolerancija za temperature  $\pm 1^\circ\text{C}$ ;

Za sušenje se ne smije upotrijebiti zrak u kome ima sumpora.

9. Čišćenje slada se mora obaviti tako da se osigura potpuno uklanjanje korjenčića bez oštećenja pljevice.

10. Trajanje slađenja:

- močenje	72 h	3 dana
- klijanje	96 h	4 dana
- sušenje	23 h	oko jedan dan
<hr/>		
- ukupno	191 h	oko osam dana

Za mikroslađenje se koriste sljedeći sistemi:

1. Sistem Heil, VLB Berlin (1)
2. Sistem Weihenstephan (1)
3. Weihenstephanska klima komora za močenje i klijanje (1)
4. Bujanjska mikrosladara Austrijskog instituta za tehnologiju piva.

Pored standardnog postupka mikroslađenja (postupak A) provedeni su i modificirani postupci mikroslađenja (B), (C) i (D) u kojima su mijenjani sljedeći procesni parametri: temperatura klijanja i vrijeme zadržavanja zrna na pojedinoj temperaturi prema shemi prikazanoj u tablici 2.

Mikroslađenje je provedeno u mikrosladari Seeger koja se sastoji od močionika, kljališta i sušare s pratećom opremom i automatikom. Izvršena je korekcija relativne vlažnosti zraka pri klijanju golozrnog ječma na 85% ( $\pm 1\%$ ). Uzorci su slađeni u količini od 1 kg. Otklicavanje

(uklanjanje korjenčića i sladne klice) je izvršeno ručno, prosijavanjem kroz sito za korjenčiće. Period od sušenja do analize iznosio je mjesec dana kako bi se slad stabilizirao.

<b>Tablica 2</b> Opća shema mikroslađenja uzoraka golozrnog ječma	
1 dan	Močenje i klijanje za različite postupke mikroslađenja je provedeno pod sljedećim uvjetima:
2 dan	
3 dan (*)	
3 dan	
4 dan	
5 dan	
6 dan	
7 dan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• = sati močenja pod vodom, • = sati močenja na zraku, • = sati klijanja u kljajalištu, (---) = vizualni pregled završetka slađenja</li> <li>Relativna vlažnost zraka u kljajalištu: r.H. = 85%</li> <li>(*) kontrola stupnja namočenosti zrna prije početka trećeg dana namakanja pod vodom, te kada je utvrđeno da zrno ne može podnijeti treće močenje korekcija udjela vlage do 44,5% je bila izvršena vlaženjem orošavanjem (spray steeping) u kljajalištu (1 dan klijanja)</li> </ul>
8 dan	Trajanje sušenja je bilo 19 h, prema standardnoj MEBAK-ovoj proceduri nakon zadnjeg sata klijanja, osušeno zrno je spakirano u papirnate vrećice i čuvano na sobnoj temperaturi 4 tjedna do analiza

### 3.2.2.3 Analiza slada

U gotovim sladovima određivani su sljedeći pokazatelji: vlaga, ekstrakt fini, ekstrakt grubi, razlika ekstrakta F/G, ukupni N, topljivi N i Kolbachov indeks, Hartongov broj, slobodni  $\alpha$ -amino N (FAN), vrijeme ošećerenja, viskoznost, filtrabilnost i pH laboratorijskih komina, boja i boja nakon kuhanja i miris za laboratorijski dobivene komine, udjel  $\beta$ -glukana u sladovini, te friabilnost i staklavost zrna prema analitičkom priručniku (MEBAK, 1997.).

### Udjel sirovih bjelančevina

Ukupni N u sladu određen je metodom po Kjeldahlu (EBC-V 4.3.1.) kako bi se mogao izračunati odnos ukupni N : topljivi N (Kolbach index). 20 mL sladovine od fino mljevenog slada je uz dodatak konc. 2-3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> upareno do sirupaste konzistencije izbjegavajući pri tom pjenušanje, te se zatim udio N određivao standardnom metodom po Kjeldahlu (MEBAK, 1997.).

$$\text{Proračun: } total\ N\ (\%d.m.) = \frac{(GP - SP) \times 14}{o \times (100 - W)} \times F$$

#### Topljivi dušik i Kolbachov broj

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

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

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

$$\text{Proračun na suhu tvar slada: } soluble \text{ } N \text{ (g / 100 g d.m.)} = \frac{N \times E \text{ (\% d.m.)}}{e \times 10000}$$

Veći sadržaj bjelančevina u zrnju djeluje na porast količine topljivog dušika jer bjelančevine zrna na određeni način predstavljaju supstrat za proteolizu, tj. vrijedi zakonitost po kojoj se koncentracija produkta povećava s porastom koncentracije supstrata. Razgrađenost bjelančevina (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.

$$\text{Proračun: } Kolbach \text{ number (\%)} = \frac{soluble \text{ } N \text{ (g / 100g d.m.)}}{total \text{ } N \text{ (g / 100g d.m.)}} \times 100$$

#### Slobodni $\alpha$ -amino dušik (FAN)

$\alpha$ -amino dušik je određivan EBC-ovom ninhidrinskom metodom koja daje vrijednosti koje odgovaraju slobodnom  $\alpha$ -amino N iz aminokiselina. Ninhidrin je oksidacijsko sredstvo koje izaziva oksidativnu dekarboksilaciju aminokiselina uz odvajanje CO<sub>2</sub> i NH<sub>3</sub> i nastajanje aldehida koji, u odnosu na polaznu aminokiselinu, ima jedan C atom manje. Reducirani ninhidrin reagira s nereduciranim ninhidrinom i oslobođenim NH<sub>3</sub> dajući plavo obojenje (prolin daje žuto). U ovoj bojenoj reakciji sudjeluje i fruktoza kao redukcijско sredstvo. Uzorak se zagrijava zajedno s ninhidrinom pri pH 6,7, a intenzitet nastalog obojenja mjeri se spektrofotometrijski pri 570 nm (EBC Ann. 4.10.).

$$\text{Proračun za slobodni amino N: (mg/100 g SM slada)} = \frac{N \times E}{e \times 10}$$

N = sadržaj slobodnog dušika u sladovini; E = ekstrakt fino mljevenog slada (%SM); e = ekstrakt kongresne sladovine (%SM)

**Hortongov broj (VZ 45°C)**

VZ 45°C, koji se određuje kao odnos ekstrakta dobivenog nakon izoternog ukomljavanja u trajanju od jednog sata i ekstrakta fino mljevenog slada (MEBAK, 4.1.4.11.), kod svijetlog slada je mjerilo aktivnosti u prvom redu, onih enzima koji uspješno rade na ovoj temperaturi. To su uglavnom proteaze, od kojih većina ima optimum djelovanja na navedenoj temperaturi. Zbog toga su vrijednosti VZ 45°C u najboljoj (pozitivnoj) korelaciji s drugim pokazateljima proteolize, tj. s količinom topljivog dušika, Kolbachovim brojem i FAN-om.

$$\text{Proračun: Relativni ekstrakt (VZ45)} = \frac{\text{ekstrakt slada na danoj temperaturi}}{\text{ekstrakt fino mljevenog slada}} \times 100$$

**Ekstrakt**

Ekstrakt slada je najvažnija karakteristika slada s ekonomskog gledišta. Predstavlja one sastojke zrna (fine prekrupe slada) koji pod definiranim uvjetima ukomljavanja prelaze u sladovinu. Ekstrakt slada pokazuje snažnu negativnu korelaciju sa sadržajem bjelančevina zrna. Ova zavisnost je odavno poznata. Korelacija između sadržaja sirovih proteina i ekstrakta se ubraja u tzv. "formalne korelacije". Pod tim se podrazumijeva odnos kod kojeg se dva sastojka međusobno dopunjavaju do približno 100% (izračunato na masu predmeta ispitivanja). Ekstrakt slada određivan je prema MEBAK-u (metoda 4.1.4.2.2.).

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

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

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

Pri određivanju ekstrakta određivano je i vrijeme ošecerenja prema "Priručniku za laboratorijske vježbe iz tehnologije piva" (Krajovan V., 1972.). 10 minuta nakon dostizanja temperature od 70°C prenesena je kap komine na keramičku ploču s utorima i dodana kap otopine 0,02 mol/L joda (2,54 g J<sub>2</sub> + 5 g KJ u 1L dest. vode). Kontrola je dalje ponavljana nakon svakih 5 minuta. Praćena je promjena boje otopine do jod normalne reakcije. Izražavanje rezultata je <10 min., 10-15 min.; 15-20 min., itd.



Vrijeme cijedenja (FILTRABILNOST) je određeno mjerenjem vremena filtracije nakon vraćanja prvih 100 mL filtrata kongresne sladovine ponovno u lijevak, također prilikom određivanja ekstrakta prema "Priručniku za laboratorijske vježbe iz tehnologije piva" (EBC 4.1.4.2.5). Ako je filtracija završena u vremenu ispod 60 min, brzina cijedenja se označava kao "normalna", a preko te vrijednosti kao "spora".

#### **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 zavisi i od vremenskih uvjeta tijekom sezone.

#### **Viskoznost**

Viskoznost slada (izražena kao viskoznost kongresne sladovine) je važan tehnološki pokazatelj koji je kod golozrnog ječma pretežito genotipski određen. Viskoznost je određena EBC metodom (MEBAK 4.1.4.4.1.) neposredno nakon početka filtracije pomoću viskozimetra s padajućom kuglicom po Höppleru.

$$\text{Proračun: } \eta = K(\rho_1 - \rho_2) \times \tau$$

$\eta$  = dinamički viskozitet (mPas);  $K$  = konstanta kugle (mPas\*cm<sup>2</sup>/g);  $\rho_1$  = gustoća kugle (g/cm<sup>3</sup>);  $\rho_2$  = gustoća analizirane tekućine (g/cm<sup>3</sup>);  $\tau$  = vrijeme padanja kugle (s)

#### **pH kongresne sladovine**

pH kongresne sladovine određivan je metodom MEBAK-I 4.1.4.2.7. Vrijednosti pH utječu na enzimске procese razgradnje tijekom ukomljavanja, na topljivost bjelančevina i gorkih sastojaka hmelja, kao i na promjenu boje tijekom kuhanja. Pojačavanjem proteolitičkih pojava pH opada, jer putem njih aminokiseline koje su oslobođene prilikom sušenja u vodenoj sredini reagiraju s kiselim melanoidinima. Dok s druge strane, na niskim vrijednostima pH poboljšana je razgradnja bjelančevina.

#### **Boja kongresne sladovine**

Boja kongresne sladovine jako zavisi od enzimsko-hidrolitičkih zbivanja tijekom klijanja. Boja sladovine je mjerena spektrofotometrijski, odmah poslije filtracije, mjerenjem apsorbancije na 430 nm i množenjem s odgovarajućim faktorom (MEBAK, 4.1.4.2.8.2.).

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

#### **Boja nakon kuhanja**

Kako ne postoji statistički pouzdana zavisnost između boje kongresne sladovine i boje piva, preporučuje se da se boja sladovine odredi i nakon 2 sata kuhanja uz povratni hladnjak (MEBAK I 4.1.4.2.9.). Bojom nakon kuhanja obuhvaćaju se daljnje reakcije između šećera i aminokiselina i pretvorba u melanoidine tijekom procesa kuhanja sladovine. Boja sladovine nakon kuhanja se također izražava u EBC jedinicama i ne bi trebala biti viša od boje kong. sladovine + ½.

#### **Miris komine**

Miris komine određuje laborant sa iskustvom i to samo kao "normalan" ili "stran" (metoda MEBAK 4.1. 4.2.3.).

#### **Friabilnost (prhkost) slada**

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

#### **3.2.2.4 Ocjenjivanje rezultata i računske metode i program za obradu rezultata**

Prilikom statističke obrade rezultata i njihovog prikazivanja u odgovarajućim tablicama i dijagramima korišteni su računarski programi Microsoft Excel 2007. Statističke metode obuhvatile su analizu distribucije vrijednosti rezultata mjerenja (sr. vrijednost, standardna greška, i standardna devijacija), te ustanovljavanje funkcionalnih ovisnosti dobivenih varijabli pomoću korelacijskog računa (Vasilj, 2000.).

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. ODREĐIVANJE POLAZNIH KEMIJSKIH, FIZIKALNIH I FIZIOLOŠKIH POKAZATELJA KVALITETE GOLOZRNIH JEČMOVA

**Tablica 3** Polazni pokazatelji kvalitete ispitivane sorte (žetva 2013. god.)

Fizikalna analiza:		GZ-184	Matko	
1.	Sortiranje	- iznad 2,8 mm (%)	2,05	20,01
		- iznad 2,5 mm (%)	19,33	36,18
		- iznad 2,2 mm (%)	48,86	34,93
		- ispod 2,2 mm (%)	29,76	8,88
		udjel zrna I klase	21,38	56,19
2.	Masa 1000 zrna (g s.tv.)	46,58	46,3	
3.	Hektolitarska težina kg/L	71,2	70,38	
Fiziološka analiza:				
5.	Energija klijanja (3 dana)	94	95	
6.	Energija klijanja (5 dana)	98	99	
Kemijska analiza:				
7.	Vlažnost zrna (%)	11,65		
8.	Ukupni proteini (% s.tv.)	13,8	13,2	
9.	škrob (% s.tv.)	61,8	62	

## 4.2. REZULTATI ANALIZE GOTOVIH SLADOVA DOBIVENIH POSTUPCIMA SLADENJA A, B, C I D

	1	2	3	4	5	6	7	8
Vlaga	%	8,4	8,4	8,6	8,9	9,2	8,9	8,9
Ekstrakt /fina meljava/	%	64,4	79	65,8	56,7	67,3	67,6	77,5
Ekstrakt /gruba meljava/	%	55,4	75,5	59,3	42,6	61,2	62	74,9
Razlika ekstrakta	%	9	3,5	6,5	14,1	6,1	5,6	2,6
Vrijeme ošecerjenja	min	15	15	20	60	20	20	15
Bistroća sladovine	EBC	4	1	4	4	4	5	1
Brzina filtracije		R normalna	R normalna	R normalna	L spora	R normalna	R normalna	R normalna
Miris komine		N	N	N	N	N	N	N
Proteini, na suhu tvar	%	13,1	12,3	13	13,4	13,4	13,4	12,6
Dušik, na suhu tvar	%	2,1	1,97	2,08	2,14	2,14	2,14	2,02
Topljivi proteini	%	3,4	4,9	3,6	2,4	3,9	4,1	5,1
Topljivi dušik	%	0,55	0,78	0,58	0,38	0,63	0,66	0,82
Hartong VZ45		33,9	48,1	34,3	25	33	39,5	48,4
Kolbachov Index		26	40	28	18	29	31	41
Boja sladovine	EBC	3	2,6	2,7	2,4	2,6	3,1	2,9
Boja nakon kuhanja	EBC	3,5	5	3	2,8	3,3	4	6,2
Viskoznost	mPas	2,17	1,65	2,15	2,17	1,9	1,78	1,62
Friabilnost (prhkost) zrna	%	26	32	21	15	18	28	33
Staklavost zrna	%	*	*	*	*	*	*	*
β-Glukan	mg/l	500	320	500	500	500	500	355
Djelomično staklasta zrna	%	*	*	*	*	*	*	*
FAN (slobodni α-amino dušik)	mg/l	117	174	126	83	133	150	204

\* prema rezultatima za friabilnost (ekstremno niska) svi uzorci su označeni kao staklasti ili djelomično staklasti

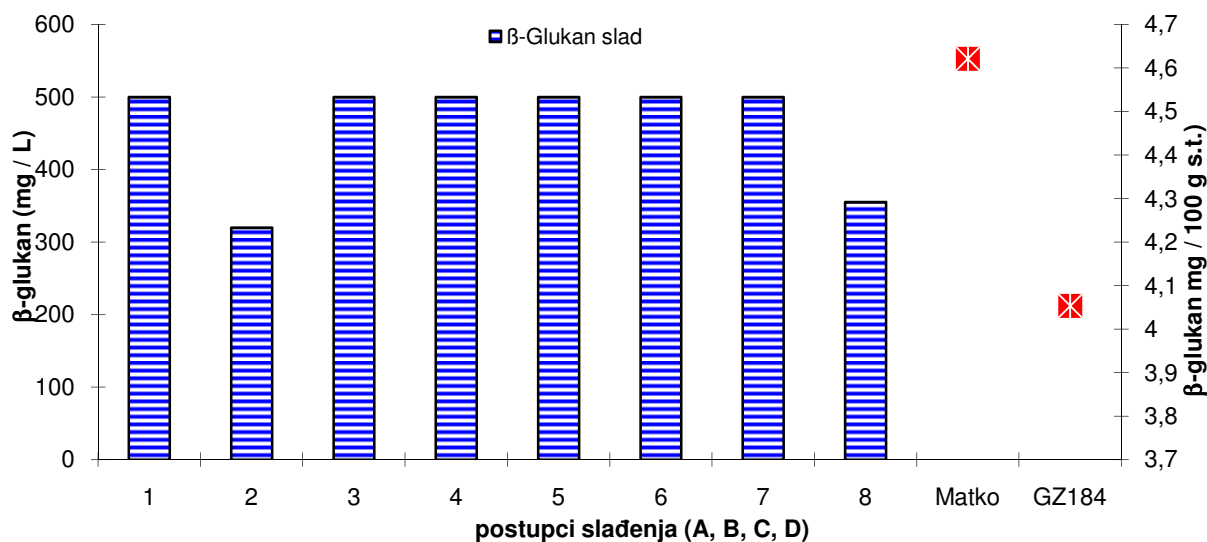
OZNAKA UZORKA: 1=Matko (postupak A); 2= GZ-184 (postupak A);

3= Matko (postupak B); 4= GZ-184 (postupak B);

5=Matko (postupak C); 6= GZ-184 (postupak C);

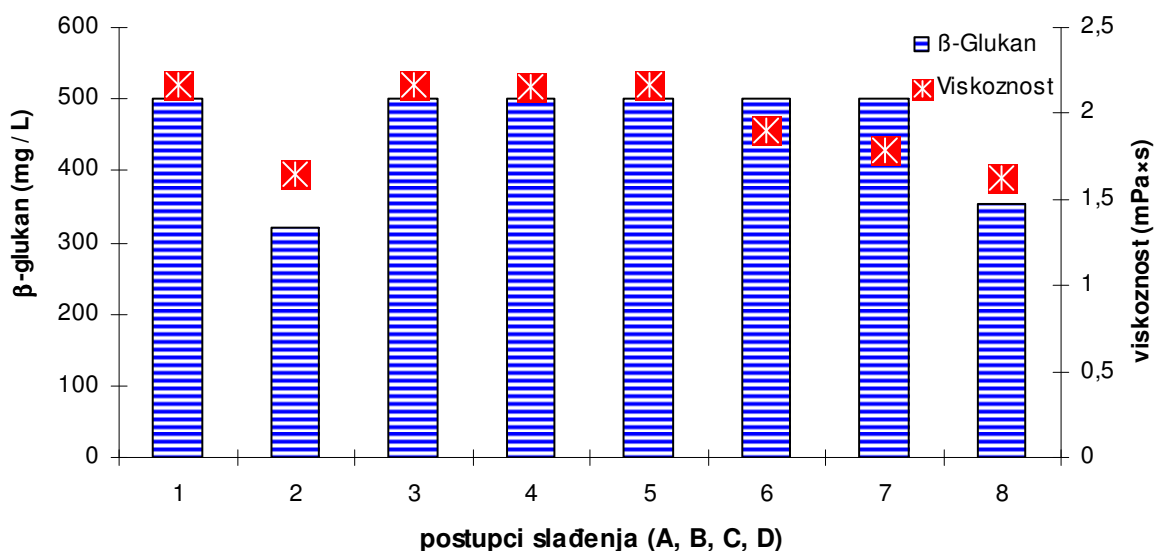
7= Matko (postupak D); 8= GZ-184 (postupak D);

### 4.3. DIJAGRAMI OVISNOSTI IZDVOJENIH POKAZATELJA KAKVOĆE SLADA U OVISNOSTI O POSTUPKU SLAĐENJA

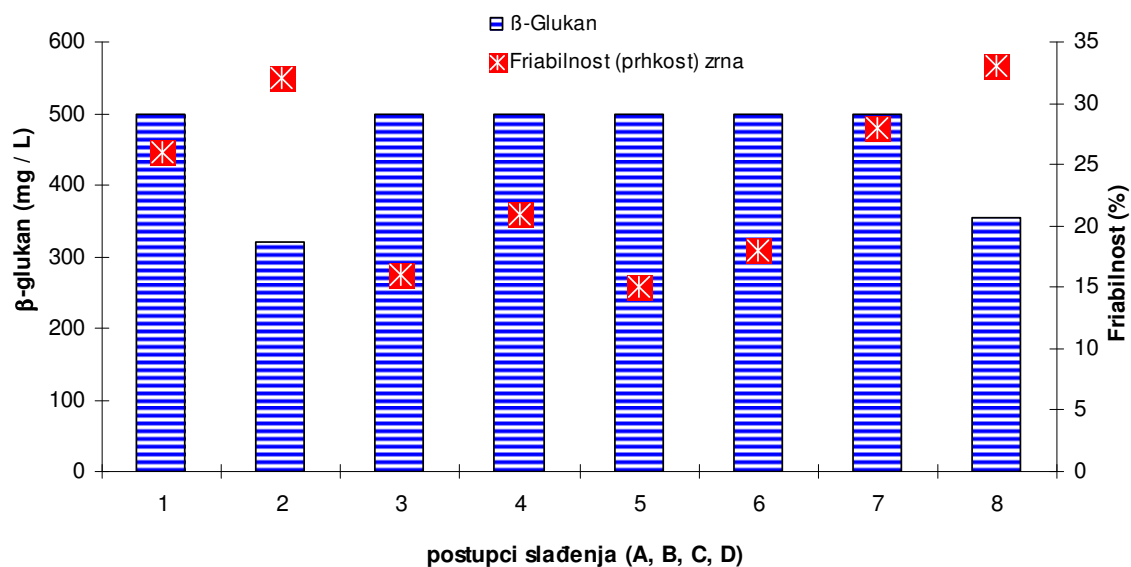


Slika 6 Međusobni odnos  $\beta$ -glukana u ječmu i sladovima po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)

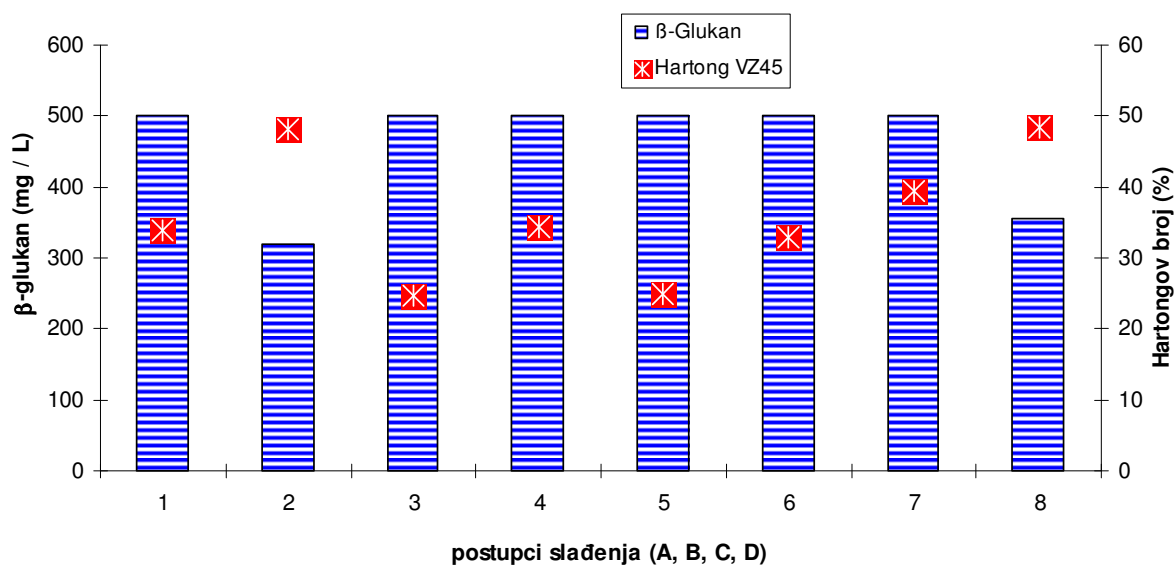
Slike 7-13 prikazuju međusobne odnose pokazatelja uspješnosti citolitičke i amilolitičke razgradnje po provedenim postupcima slađenja (A, B, C i D).



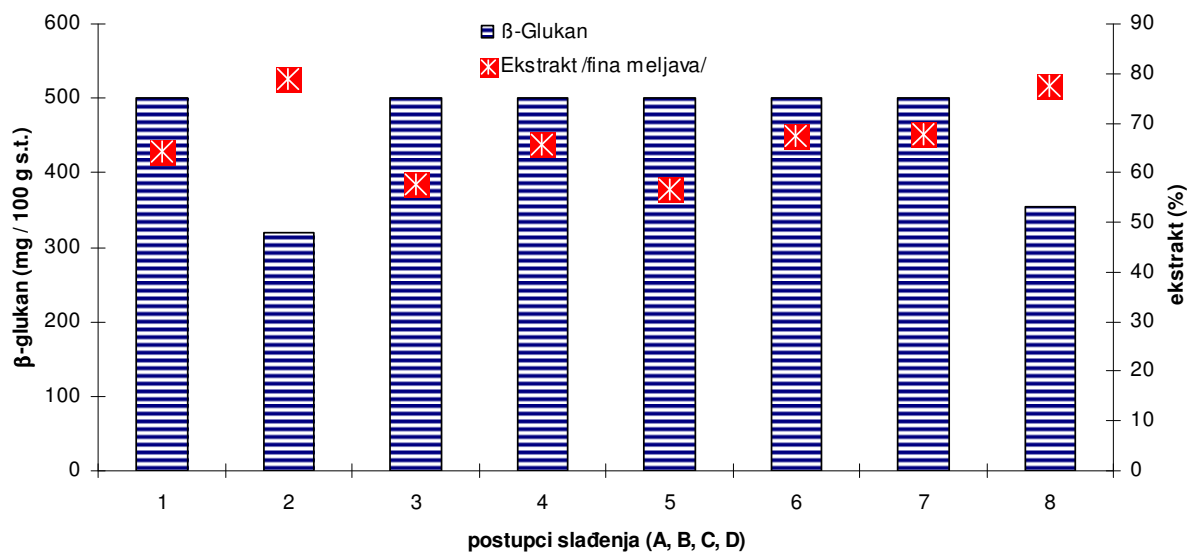
Slika 7 Međusobni odnos  $\beta$ -glukana i viskoznosti po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)



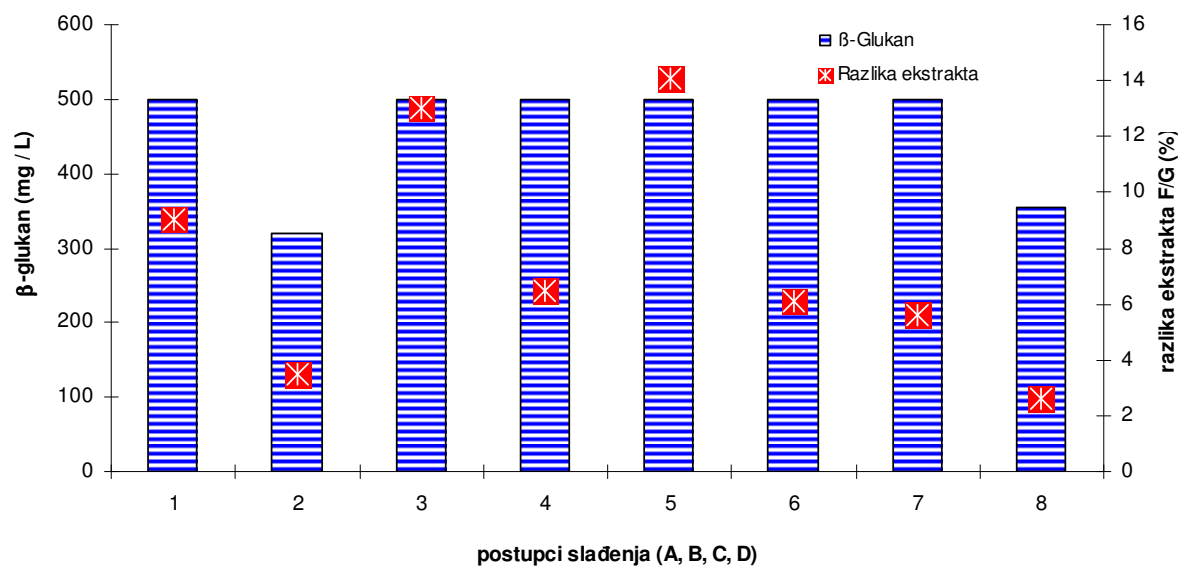
**Slika 8** Međusobni odnos  $\beta$ -glukana i friabilnosti (prhkosti) zrna po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)



**Slika 9** Međusobni odnos  $\beta$ -glukana i Hartongovog broja zrna po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)

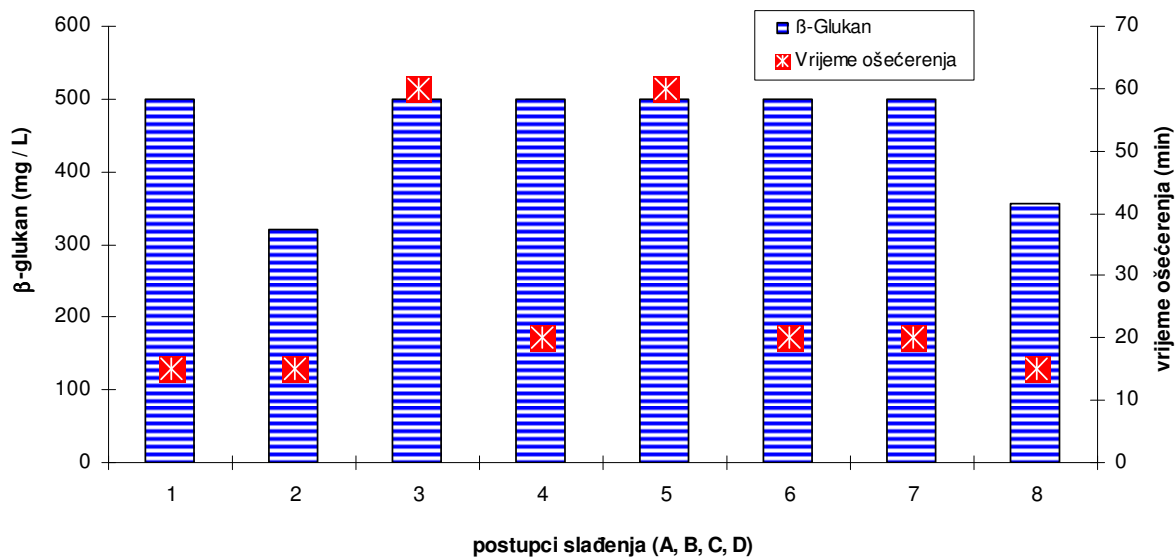


**Slika 10** Međusobni odnos β-glukana i ekstrakta po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)

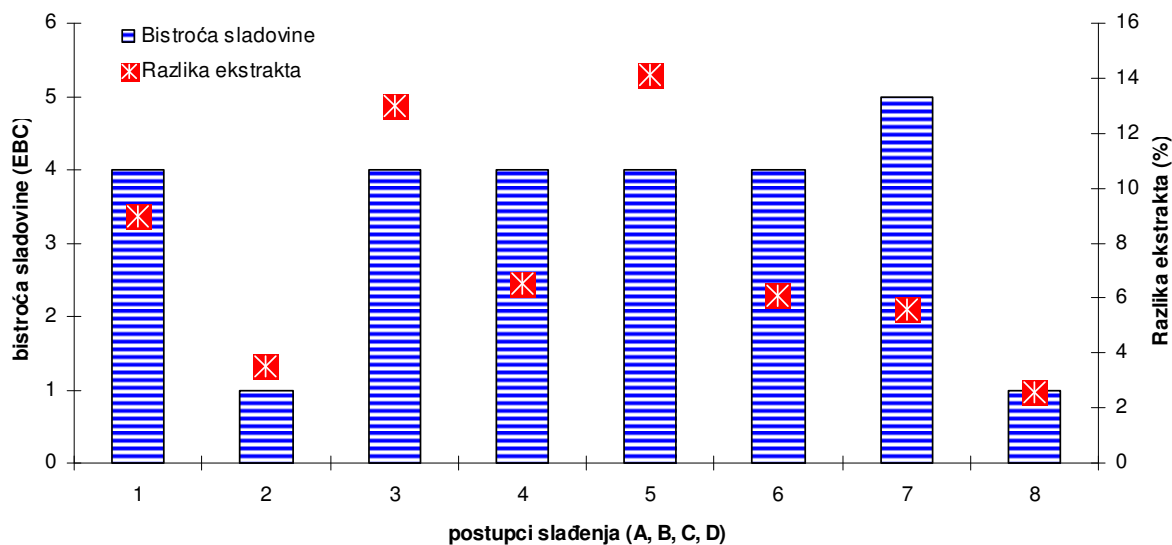


**Slika 11** Međusobni odnos β-glukana i razlike ekstrakta F/G po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)



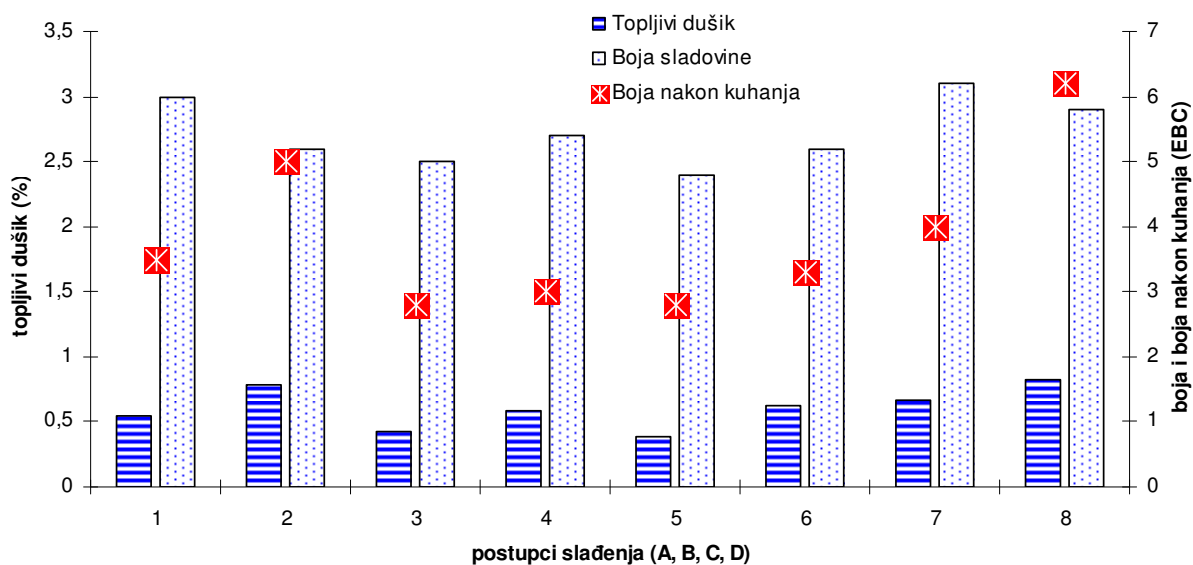


**Slika 12** Međusobni odnos  $\beta$ -glukana i vremena oštećenja sladovina po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)

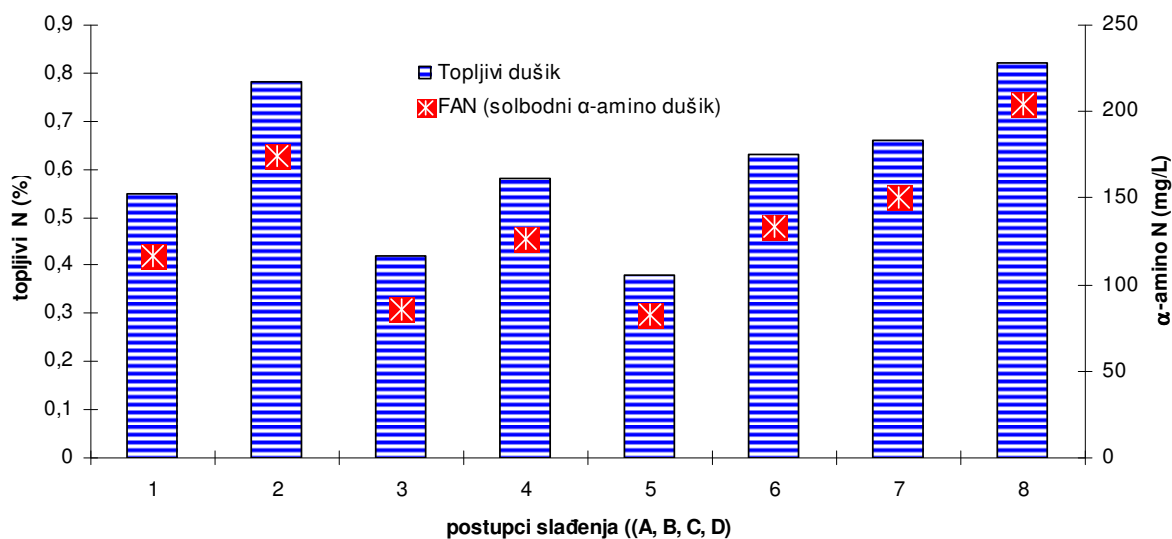


**Slika 13** Međusobni odnos bistroće sladovine i razlike ekstrakta po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)

Slike 14-15 prikazuju međusobne odnose pokazatelja uspješnosti proteolitičke razgradnje slada, po provedenim postupcima slađenja.



**Slika 14** Međusobni odnos topljivog dušika i boje sladovine nakon kuhanja po provedenim postupcima slađenja (A, B, C, D)



**Slika 15** Međusobni odnos ukupnog topljivog N i slobodnog  $\alpha$ -amino N, po provedenim postupcima slađenja (A, B, C i D)

## **5. RASPRAVA**

---

## 5.1. POKAZATELJI KAKVOĆE SLADA POVEZANI S DJELOVANJEM AMILOLITIČKE RAZGRADNJE

### $\beta$ -glukan

$\beta$ -glukani su neškrobni polisaharidi koji se ubrajaju u tzv. hemiceluloze. Slično pentozonima oni se pojavljuju kao gradivne i skeletne supstance staničnih stijenki stanica sa škrobom u endospermu. Otapanjem u komini dovode do porasta viskoznosti, punoće okusa, stabilnosti pjene i pada filtrabilnosti zahvaljujući svojoj nitastoj građi te može doći do stvaranja gela na filteru. Vrijednost  $\beta$ -glukana je manja kod postupka slađenja A i D za sortu ječma GZ-184, dok je kod ostalih postupaka slađenja razgradnja  $\beta$ -glukana slabija (slika 6).

### Viskoznost

Do pojave povišene viskoznosti sladovine od ječmenog slada su odgovorne vodotopljive makromolekule koje posjeduju veliku moć bubrenja. Pretpostavlja se da su njihove molekule lančaste strukture koje u vodenoj otopini ometaju međusobnu pokretljivost slojeva, te su vezane preko vodikovih mostova i hidrofobnih interakcija. To su prvenstveno makromolekulski polisaharidi poput  $\beta$ -glukana i pentozana. Kod goloznog ječma pentozani mogu potjecati samo iz endosperma. Najniže, odnosno najprihvatljivije vrijednosti za viskoznost dobivene su u postupku slađenja A i D za sortu goloznog ječma GZ-184 (slika 7) i odudarale su od vrijednosti za ostale postupke slađenja koji su svi imali povišene vrijednosti. Iz slike 7 se vidi uska povezanost  $\beta$ -glukana i viskoznosti. Što je niža vrijednost  $\beta$ -glukana niža je i viskoznost, te što je veća vrijednost  $\beta$ -glukana veća je i viskoznost.

### Friabilnost (prhkost) zrna

Vrijednosti za frijabilnost zrna su niske. Vrijednost frijabilnosti kod postupka slađenja A i D (slika 8) su veće. Zbog povišene količine  $\beta$ -glukana manja je prhkost zrna.

### Hartongov broj

Hartongov broj (VZ 45°C) je mjerilo aktivnosti onih enzima koji djeluju na toj temperaturi. To su uglavnom proteaze od kojih većina ima optimum djelovanja na navedenoj

temperaturi, odnosno pokazuje razgrađenost slada. Hartongov broj ima optimalne vrijednosti pri uvjetima slađenja B i C, dok se sniženjem vrijednosti  $\beta$ -glukana povisuje vrijednost VZ 45°C kod uvjeta slađenja A i D (slika 9).

### Ekstrakt

Ekstrakt slada je osnovni ekonomski pokazatelj uspješnosti postupka slađenja i kakvoće zrna, a predstavlja sve vodotopljive sastojke (i fermentabilne i nefermentabilne) koji prelaze u otopinu tijekom ukomljavanja. Iz slike 10 je vidljivo da sa povećanjem vrijednosti  $\beta$ -glukana ima manje ekstrakta. U postupcima slađenja A i D kod uzorka GZ-184 (2 i 8), gdje je niža vrijednost  $\beta$ -glukana, veća je vrijednost ekstrakta.

### Razlika ekstrakta F/G

Razlika ekstrakta fino i grubo mljevenog slada je pokazatelj uspješnosti razgradnje staničnih zidova endosperma. Velika razlika ekstrakta odražava prisutnost velikih dijelova nerazgrađenog endosperma zrna slada sa slabijim aktivnostima enzima (dobiva se sladovina slabije kvalitete). Niže vrijednosti razlike ekstrakta su kod postupka slađenja D. Kod sorte golozrnog ječma Matko je veća razlika ekstrakta za postupke slađenja A, B i C (slika 11).

### Vrijeme ošećerenja sladovina

Ošećerenje je enzimska razgradnja dekstrina i oligosaharida do maltoze, odnosno glukoze. Vrijeme ošećerenja je optimalno za sve postupke slađenja, osim kod uzoraka 2 i 5 za sortu ječma Matko (postupak slađenja B i C) gdje su vrijednosti vremena ošećerenja povišene (ošećerenje traje duže) (slika 12).

## 5.2. POKAZATELJI KAKVOĆE SLADA POVEZANI S PROTEOLITIČKOM RAZGRADNJOM

### Bistroća sladovine

Nepovoljan utjecaj temperaturnog stresa na citolitičku i proteolitičku razgradnju zrna dovodi do manje koncentracije topljivih čestica, a time i niže mutnoće ili više bistroće

komina. Iz slike 13 je vidljivo da što je manja razlika ekstrakta to je i veća bistroća. Najniže vrijednosti za bistroću dobivene su u postupcima slađenja A i D.

### Boja i boja nakon kuhanja

Na boju komine, te u još većoj mjeri na boju nakon kuhanja utječu proteolitička zbivanja tijekom klijanja, osobito koncentracija niskomolekularnih proteinskih spojeva i slobodnih aminokiselina (FAN) i šećera jer oni tijekom kuhanja reagiraju i daju obojene spojeve. Rezultati prikazani na slici 14 pokazuju da temperaturni stres tijekom klijanja utječe na ova zbivanja, te se dobivaju niže vrijednosti za boju i boju nakon kuhanja (postupci slađenja B i C).

### Topljivi dušik

Udio topljivog N u sladovini ne smije biti previsok jer uzrokuje procesne probleme i narušava senzorske osobine piva. Utvrđena je pozitivna korelacija topljivog N i boje sladovine što je vidljivo kod postupka slađenja A i D za uzorke sorte GZ-184 (slika 15).

### Slobodni $\alpha$ -amino dušik

Slobodni  $\alpha$ -amino N (FAN) u sladu je mjerilo za količinu aminokiselina koje su nastale proteolitičkom razgradnjom tijekom slađenja i u postupku ukomljavanja po kongresnom postupku, a za njega je odgovoran prvenstveno uravnotežen odnos endo- i egzopeptidaza. Prvi od ovih enzima hidrolizom molekula bjelančevina unutar molekule osigurava mnoštvo mjesta za djelovanje drugoga sa krajnjim  $-\text{COOH}$  ili  $-\text{NH}_2$  grupama. Ako dominantnu ulogu imaju endopeptidaze, posljedica je sladovina s povećanim sadržajem frakcija proteina velikih i srednjih molekulskih masa, a količina slobodnih aminokiselina ostaje nedovoljna. Same makro- i srednje- molekularne frakcije kvasac ne može iskoristiti. Vrijednosti FAN su visoke za sve postupka slađenja, a najviše za postupke A i D za sortu GZ-184.

## **6. ZAKLJUČCI**

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

1. Slađenjem golozrnog ječma moguće je dobiti sladove slične kakvoće kao i od običnog ječma,
2. Modificirani postupci slađenja s padajućim temperaturama klijanja dali su općenito lošije rezultate od standardnog postupka slađenja A, izuzev postupka D koji je prema profilima temperatura, vlažnosti i vremena najbliži standardnom postupku,
3. Linija GZ-184 je dala slad bolje kvalitete od sorte Matko,
4. Postupkom slađenja D dobiveni su najbolji rezultati za pokazatelje kakvoće ekstrakta ( $\beta$ -glukani u sladovini, viskoznost, vrijeme ošećerenja i brzina filtracije),
5. Standardni postupak slađenja A i modificirani postupak slađenja D dali su lošije rezultate za vrijednosti pokazatelja uspješnosti proteolitičke razgradnje zrna (topljivi dušik u sladovini, Hartongov broj i Kolbachov indeks).



## **7. LITERATURA**

- American Association of Cereal Chemists:  $\beta$ -Glucan Content of Barley and Oats-Rapid Enzymatic Procedure, AACC Methods 32-23, 2006.
- Beluhan, S.: Nova valorizacija sladnih klica, nusproizvoda sladara. *Svijet piva* 35,10-13, 2001.
- Bhatty, R.S., *Cereal Chemistry* 73, 75-80, 1996.
- Briggs, D.E., Hough, J.S., Stevens, R. and T.W. Young: *Malting and Brewing Science. Volume 1 Malt and Sweet Wort*. Chapman & Hall, London, 1981.
- Dais, P., Perlin, A.S.,. High-field, C-N.M.R. spectroscopy of  $\beta$ -D glucans, amylopectin, and glycogen. *Carbohydrate Research* 100, 103–116, 1982.
- Divjak T.: Usporedba klasičnih i novih metoda za analizu pivarskog ječma i slada , Diplomski rad , Zagreb ,1-3, 6-7,9, 2005.
- Edney M.J., i Rossnagel B.G.: *Producing a Quality Malt from Hulless Barley*, 2011.
- European Brewery Convention, *Analytica* 5. ed. Fachverlag Hans Carl, D-Nürnberg, 1998.
- Evans, D.E., Stenholm, K., Vilpola, A., Home, S. and G. Hughe:. *MBAA Technical Quarterly* 35, 1998.
- Evans, E., Vilpola, A., Stewart, D.C., Stenholm, K., Pöyri, S., Washington, J.M., Barr, A.R. and S. Home: *MBAA Technical Quarterly* 36, 375-382, 1999.
- Gagro, M.: *Ratarstvo obiteljskog gospodarstva: Žitarice i zrnate mahunarke*, Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb 97-110, 1997.
- Gardiner T, Carter G: Beta-glukan biological activities: A review (condensed version), *Glycoscience and Nutrition*, 1, 1- 6, 2000.
-

- Grainscanada 2011. <http://www.grainscanada.gc.ca/research-recherche/edney/barley/orge/hb-ogn-eng.htm> (2014.)
- Hough, J.S. i sur.: *Naučni aspekti sladarstva i pivarstva* (preveo Gaćeša, S.), Poslovno udruženje industrije piva i slada Jugoslavije, (preveo Gaćeša, S.), 31, Beograd, 1976.
- Kolak, I.: *Sjemenarstvo ratarskih i krmnih kultura*, Nakladni zavod Globus, Zagreb 186-193 1994.
- Kovačević, J. i sur.: Mogućnosti proizvodnje ječma i slada u Republici Hrvatskoj. *Poljoprivredne aktualnosti* 30,457-469, 1994.
- Krajovan I sur.: Priručnik za laboratorijske vježbe iz tehnologije piva, II izdanje. Teh. Fakultet Novi Sad, str. 108, 1972.
- Kunze, W.: *Technology of brewing and malting*, 2nd revised Edition VLB, Berlin 5, 26-40, 104-105,196-198, 1999.
- Lalić, A. i suradnici: Rezultati oplemenjivanja golozrnog ječma na Poljoprivrednom institutu Osijek. *Hrvatsko agronomsko društvo*, 32-33, 2013.
- Laroche C., Michaud P. H. New developments and prospective applications for  $\beta$ -(1,3)-glucans. *Recent Patents on Biotechnology* 1: 59-73, 2007.
- Marić V.: *Tehnologija piva*, Veleučilište u Karlovcu 39-40, 2009.
- MEBAK-Mitteleuropaische Brautechnische Analysenkommission Brautechnische Analysenmethoden, Bd. I, 3, izdanje, str. 89-90, 1997.
- Popović T.: Određivanje  $\beta$ -glukana u domaćim sortama ječma, Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 7, 2012.

Schuster K., Weinfurtner, F. i Narziss L. ; *Die Technologie der Würzebereitung*, 1985.

Tehnologija proizvodnje sladovine.15-18,25-33, 236-243, prijevod S.Gaćeša, Posl. zajed. ind. piva i slada Jug. 1988.

Singh, T. and F.W. Sosulski: *Journal of Food Science* 50, 342-346, 1985.

Skendi, A., Biliaderis, C.G., Lazaridou, A., Izydorczyk, M.S.,. Structure and rheological properties of water soluble  $\beta$  -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena byzantina*. *Journal of Cereal Science* 38, 15–31, 2003.

Stone B. A., Clarke A. E. :*Chemistry and Biology of (1→3)- $\beta$ -glucans*, La Trobe University Press, Australia, 1992.

Thomas, D.A.: *Journal of the Institute of Brewing* 92, 65-68, 1986.

Woodward J.R. and G.B. Fincher, Purification and chemical properties of two 1,3;1,4- $\beta$ -glucan endohydrolases from germinating barley. *European Journal of Biochemistry*, 121, 663–669, 1983.

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

VitaminPROS 2012. <http://www.vitaminpros.com/barley-beta-glucan.htm> (2014).

Zechner-Krpan V., Petravić-Tominac V., Slobodan Grba, Siniša Srećec, Ines Panjkota-Krbavčić, Lana Vidović. Biological Effects of Yeast  $\beta$ -Glucans. *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS)*, Vol.75 No.4 Prosinac 2010.

