

# Utjecaj pulsirajućeg električnog polja na senzorsku stabilnost piva

---

**Petrović, Matija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*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:109:927406>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-04**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

*Repository / Repozitorij:*

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



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

Matija Petrović

**UTJECAJ PULSIRAJUĆEG ELEKTRIČNOG POLJA NA SENZORSKU  
STABILNOST PIVA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2023.



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

**Diplomski sveučilišni studij prehrambeno inženjerstvo****Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija**Nastavni predmet:** Tehnologija slada i piva**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***Komentor:** izv. prof. dr. sc. *Ante Lončarić***Utjecaj pulsirajućeg električnog polja na senzorsku stabilnost piva***Matija Petrović, 0113145238*

**Sažetak:** Stabilnost piva ima više aspekata; koloidna, mikrobiološka, fizikalno-kemijska, senzorska. Ispitivanje utjecaja pulsirajućeg električnog polja na stabilnost piva tema je koja se istražuje u recentnim studijama. Utjecaj pulsirajućeg električnog polja na stabilnost piva često se karakterizira kao negativan na senzorska svojstva, ovaj rad bavio bi se promatranjem na senzorska svojstva industrijski proizvedenog lager piva u usporedbi sa zanatski proizvedenim pivom koje nije prošlo procese stabilizacije (filtracija, pasterizacija). Cilj rada je usporediti utjecaj pulsirajućeg električnog polja na senzorska svojstva sa osvrtom na koncentraciju polifenolnih komponenti piva te utvrditi može li se ova tehnologija primijeniti za stabilizaciju zanatskih piva.

**Ključne riječi:** PEP, pivo, stabilizacija, senzorska analiza**Rad sadrži:** 39 stranica  
7 slika  
7 tablica  
32 literaturnih referenci**Jezik izvornika:** hrvatski**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- |   |               |
|---|---------------|
| 1. <i>prof. dr. sc. Vinko Krstanović</i>          | predsjednik   |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Kristina Mastanjević</i> | član-mentor   |
| 3. izv. prof. dr. sc. <i>Ante Lončarić</i>        | član-komentor |
| 4. doc. dr. sc. <i>Krunoslav Aladić</i>           | zamjena člana |

**Datum obrane:** 26. rujna, 2023.

**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 food engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Technology of malting and brewing

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII. held on April 28<sup>th</sup> 2022.

**Mentor:** *Kristina Mastanjević*, PhD, assoc. prof

**Co-mentor:** *Ante Lončarić*, PhD, associate prof

### Influence of Pulsating Electric Field on Sensory Stability of Beer

*Matija Petrović, 0113145238*

**Summary:** Beer stability has several aspects; colloidal, microbiological, physical-chemical, sensory. Examining the effect of a pulsating electric field on the stability of beer is a topic that has been investigated in recent studies. The influence of a pulsating electric field on the stability of beer is often characterized as negative on the sensory properties, this paper would deal with the observation of the sensory properties of industrially produced lager beer compared to craft beers that did not undergo stabilization processes (filtration, pasteurization). The aim of the work is to compare the impact of a pulsating electric field on sensory properties with reference to the concentration of polyphenolic components of beer and to determine whether this technology can be applied to stabilize craft beers.

**Key words:** PEF, beer, stabilization, sensory analysis

**Thesis contains:** 39 pages  
7 figures  
7 tables  
32 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. <i>Vinko Krstanović</i> , PhD, full prof.       | chair person  |
| 2. <i>Kristina Mastanjević</i> , PhD, assoc. prof. | supervisor    |
| 3. <i>Ante Lončarić</i> , PhD, assoc. prof.        | co-supervisor |
| 4. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, assist. prof.    | stand-in      |

**Defense date:** September 26<sup>th</sup> 2023.

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

*Zahvaljujem svima koji su me pratili kroz moje školovanje, naročito mojoj obitelji koja mi je bila veliki oslonac i podrška svih ovih godina studiranja.*

*Zahvalio bih se svim profesorima i djelatnicima fakulteta na prenesenom znaju i što su uvijek bili na raspolaganju za rješavanje svih mojih pitanja i problema tijekom studiranja.*

*Posebno bih se zahvalio svojoj mentorici Kristini Mastanjević i komentoru Anti Lončariću na kvalitetnom pristupu kako kao mentori tako i kao predavači i profesori. Zahvaljujem Vam se od srca što ste bili uz mene tijekom ovog istraživanja, što ste imali strpljenja za mene i odgovore na sva moja pitanja.*

*Hvala svima od srca!*

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. PIVO</b> .....	<b>4</b>
2.1.1. „Craft“ pivo .....	5
2.1.2. Sirovine za proizvodnju piva .....	6
<b>2.2. TEHNOLOŠKI PROCES PROIZVODNJE PIVA</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3. PULSIRAJUĆE ELEKTRIČNO POLJE (PEP)</b> .....	<b>9</b>
2.3.1. PEP u prehrambenoj industriji .....	12
2.3.2. Primjena PEP-a u proizvodnji piva .....	13
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1. ZADATAK</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2. MATERIJALI</b> .....	<b>18</b>
3.2.1. Odabir uzoraka piva za analizu .....	18
<b>3.3. METODE</b> .....	<b>19</b>
3.3.1. Tretiranje uzoraka pulsirajućim električnim poljem .....	19
3.3.2. Određivanje ukupnih polifenola .....	20
3.3.3. Određivanje antioksidacijske aktivnosti .....	20
<b>3.4. SENZORSKA ANALIZA</b> .....	<b>21</b>
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1. REZULTATI PROVEDBE METODE PULSIRAJUĆIM ELEKTRIČNIM POLJEM</b> .....	<b>26</b>
<b>4.2. REZULTATI I RASPRAVA SENZORSKE ANALIZE</b> .....	<b>29</b>
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>33</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>35</b>

## Popis oznaka, kratica i simbola

PEP → Pulsirajuće električno polje (engl. *Pulsed Electric Field*)

CO<sub>2</sub> → Ugljikov dioksid

F.C. → Folin-Ciocalteu reagens

DPPH → 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

APA → American Pale Ale

IPA → Indian Pale Ale



## **1. UVOD**

Pivo je alkoholno piće karakteristična gorka okusa i arome po hmelju, dobiveno alkoholnim vrenjem pivske sladovine s pivskim kvascem. Pivo je jedno od najkonzumiranijih pića na svijetu. Najstariji dokazi o proizvodnji piva datiraju od prije 5000 tisuća godina na područja Mezopotamije (Zarnkow, 2014). Iako je pivo svojevrsan proizvod čiji je proces proizvodnje razvijen i gotovo usavršen još od davnina, razvoj novih tehnoloških operacija nam daje mogućnosti da ispitamo i njihov utjecaj na svojstva i stabilnost piva. U današnje vrijeme osim one standardne industrijske proizvodnje piva sve više se razvijaju one tzv. male pivovare koje proizvode „craft“ piva što u doslovnom prijevodu znači zanatsko pivo. Glavne razlike između „craft“ piva i onog industrijskog tipa spomenut ćemo u nastavku, no sada nam je važno naglasiti neke razlike u koracima proizvodnje. Naime, kod proizvodnje „craft“ piva su izostavljeni postupci kao što je filtracija i pasterizacija piva što umanjuje stabilnosti piva tijekom skladištenja. Upravo na toj razlici temelji se ideja o uvođenju novih tehnologija u proizvodnju „craft“ piva. Kupci danas zahtijevaju visokokvalitetne prehrambene proizvode, a to se odnosi na stabilnost, svježinu okusa i nutritivnu vrijednost proizvoda. Budući da konvencionalna toplinska pasterizacija može negativno utjecati na svojstva i stabilnost razvijaju se nove tehnološke metode koje bi mogle zamijeniti ili nadopuniti proces pasterizacije, a neke od tih metoda je pulsirajuće električno polje (engl. *Pulsed Electric Field - PEF*). Karakteristike ove inovativne metoda je tretiranje namirnice pri nižim temperaturama u kratkom vremenskom periodu, što minimalizira trajanje procesiranja proizvoda. Metode ne-termalne obrade hrane posljednjih godina dobivaju sve veću pozornost zbog svog potencijala da poboljšaju sigurnost hrane, produže rok trajanja i očuvaju nutritivnu kvalitetu u usporedbi s tradicionalnim tehnikama termičke obrade. Ove se metode uključuju druge metode obrade, osim topline, kako bi postigle svoje ciljeve, što može pomoći u održavanju senzorskih karakteristika i nutritivne vrijednosti prehrambenih proizvoda (Paniagua-Martinez, 2018.). Upravo iz razloga što su ove tehnologije ne-termalne, niskoenergetske i ekološki puno prihvatljivije naziva ih se „zelenim tehnologijama“ i njihov potencijal se sve više nastoji iskoristiti u proizvodnji i procesiranju hrane.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. PIVO

Ime pivo (engl. *beer*) potječe od latinske riječi *bibere* što znači piti. S obzirom na podrijetlo riječi i njezin prijevod možda to i nije najpreciznija definicija, ali može se reći da je pivo piće, najčešće alkoholno, koje nastaje fermentacijom vodenog medija koji sadrži šećere dobivene iz žitarica i koje je aromatizirano hmeljem. Korak fermentacije kataliziraju kvasci. U nekim zemljama, na primjer u Njemačkoj način izrade piva definiran je po zakonu o pivu koji nalaže da se pivo može napraviti isključivo od ječmenog slada, kvasca, hmelja i vode (Boulton, 2013.). Dok se u nekim zemljama za proizvodnju piva koriste neke druge alternative pa se tako pivo aromatizira nekim drugim sastojcima umjesto hmeljem, koriste se mješovite kulture kvasaca za fermentaciju, a mješovit je i izbor žitarica koje se koriste u proizvodnji (Boulton, 2013.).

Sva piva obično sadrže slične skupine spojeva budući da se koriste, manje ili više uobičajeni sastojci koji su podvrgnuti sličnim koracima proizvodnje. Sirovine i voda doprinose širokom rasponu hranjivih sastojaka, a mnogi imaju benefite na naše zdravlje ukoliko je konzumacija umjerena (Zarnkow, 2014.).

Glavni produkt metabolizma kvasaca su etanol i CO<sub>2</sub>, ali iz njihovih stanica oslobađaju se i drugi važni sastojci. Pojavljuje se veliki broj dušikovih spojeva, proteinaze iz kvasca koje ostaju u nepasteriziranom pivu, ali nailazimo i na proteine podrijetlom iz slada. Lipidi se u pivu nalaze uglavnom u tragovima nastali dezintegracijom stanica kvasca. Prisutni su i mnogi fenolni spojevi, podrijetlom iz slada i hmelja koji doprinose razvoju okusa i boje piva. Iz skupine fenolnih spojeva najznačajniji su polifenoli koji imaju antioksidativno djelovanje, a utvrđeno je da imaju određene benefite za kardiovaskularni sustav. Veliki broj vitamina se može pronaći u pivu uglavnom vitamina skupine B koji imaju važnu ulogu za metabolizam i proizvodnju energije u našem organizmu. Također u pivu se nalaze i brojni anorganski spojevi najčešće podrijetlom iz vode (Boulton, 2013.).

**Tablica 1.** Adaptirani prikaz prosječne razine hranjivih sastojaka u pivu (Habschied, 2020.)

Sastojci	Jedinica po L	Iznos
Proteini	g	0.2-6.6
Tiamin (Vitamin B1)	mg	<0.08
Riboflavin (Vitamin B2)	mg	<0.8
Niacin (Vitamin B3)	mg	3-8
Vitamin B6	mg	<1.7
Folna kiselina (Vitamin B9)	µg	40-600
Vitamin B12	µg	3-30
Biotin (Vitamin H/B7)	µg	2-15
Fosfati	mg	260-995
Kalij	mg	200-600
Kloridi	mg	150-400
Sulfati	mg	60-300
Kalcij	mg	20-160
Natrij	mg	10-100
Magnezij	mg	60-250
Cink	mg	0.02-4.5
Bakar	mg	0.02-0.4
Željezo	mg	0.01-0.3
Mangan	mg	0.03-0.2
Fluor	mg	0.09-0.2
Kobalt	mg	0.01-0.1
Olovo	mg	<0.1
Selen	mg	<0.007
Polifenoli	mg	32-426
Melanoidini	g	0.6-1.5
Etanol	%	3-9
Energija	kcal	150-1100

## 2.2. „CRAFT“ PIVO

Posljednjih godina bilježi se značajan rast neovisnih „craft“ pivovara, čak i u zemljama sa slabom pivarskom tradicijom. „Craft“ pivovara definira se kao mala, neovisna i tradicionalna pivovara. U današnje vrijeme potrošači traže originalne, jedinstvene, drugačije i visokokvalitetne proizvode. Proizvođači „craft“ piva na to su odgovorili uvođenjem nove kombinacije sirovina odnosno sladnih žitarica te modificirali arome i okuse piva (Bleier, 2013.). Glavna razlika između „craft“ piva i industrijskog piva je ta što kod „craft“ piva većinom proizvode ale piva, odnosno kvasac *Saccharomyces cerevisiae* se zadržava u gornjem dijelu

fermentacijskog spremnika, a temperatura fermentacije je između 14-20 °C, dok se kod industrijsko pivo proizvodi većinom kao lager pivo kvascem *Saccharomyces pastorianus* koji se taloži na dnu fermentacijskog spremnika, pri temperaturama fermentacije uglavnom oko 10 do 18 °C. Vrijeme fermentacije „craft“ piva može trajati od 10 dana do 2 mjeseca (Bleier, 2013.). Za industrijsko pivo važno je što kraće vrijeme proizvodnje, pa je vrijeme fermentacije industrijskog piva obično samo oko 7 dana. Nakon procesa fermentacije kod industrijskog piva slijede filtracija i pasterizacija što zaustavlja kemijske procese u pivu i povećava njegovu stabilnost tijekom skladištenja (Šakić, 2005.). Kod „craft“ piva filtracija i pasterizacija se ne koriste te se tako kemijski i biokemijski procesi u pivu nastavljaju odvijati, a i rok trajanja je znatno manji u odnosu na industrijsko pivo upravo iz tog razloga (Bleier, 2013.).

### 2.2.1. Sirovine za proizvodnju piva

Osnovne sirovine za proizvodnju piva su slad, pivski kvasac, hmelj i voda. Ječam je osnovna sirovina za dobivanje piva (slad). Zbog svojih svojstava (količina proteina) ječam je pogodniji za proizvodnju piva od ostalih vrsta žitarica iz razloga što se vrlo lako sladovina odvaja od tropa nakon ekstrakcije slada u vodenom mediju. Kvasci (rod *Saccharomyces*) obavljaju proces fermentacije odnosno koriste šećere iz slada i kao glavni produkt stvaraju etanol i CO<sub>2</sub>. Izbor kvasca ima veliki značaj, jer od osobine kvasca ovisi brzina i stupanj fermentacije tako i izbistravanje piva, a također utječe i na okus i aromu piva (Šakić, 2005.). Prema načinu obavljanja fermentacije i mjesta taloženja u spremniku za fermentaciju možemo ih podijeliti na kvasce donjeg vrenja (*S. pastorianus*), (industrijska piva- npr. pilsner i lager) i kvasce gornjeg vrenja (*Saccharomyces cerevisiae*), („craft“ piva- npr. *Indian pale ale*) (Jurinić, 2021.). Hmelj je sastavni dio sirovina za proizvodnju piva, daje posebnu gorčinu i aromu pivu i bitno utječe na kvalitetu i stabilnost piva. Dobiva se iz ženskih cvijetova biljke hmelja. Botanički, biljka hmelja je *Humulus lupulus* i pripada porodici *Cannabaceae* (Boulton, 2013.). Specifični sastojci hmelja značajni za pivarstvo su: ukupne hmeljne smole, hmeljna ulja i taninske tvari tj. polifenoli (Paunović, 2015.). Voda je također značajna sirovina za proizvodnju piva, a njezin sastav uvelike utječe i na kvalitetu piva. Voda sadržava soli koje predstavljaju neznatan dio suhe tvari piva, ali utječu i na okus piva. Također se u vodi nalaze i mineralne tvari koje ne utječu toliko na okus koliko su važni kao posrednici u kemijskim (enzimskim) reakcijama do kojih dolazi u procesu proizvodnje piva (Boulton, 2013.).



Slika 1. Osnovni sastojci za proizvodnju piva (Šarić, 2020.)

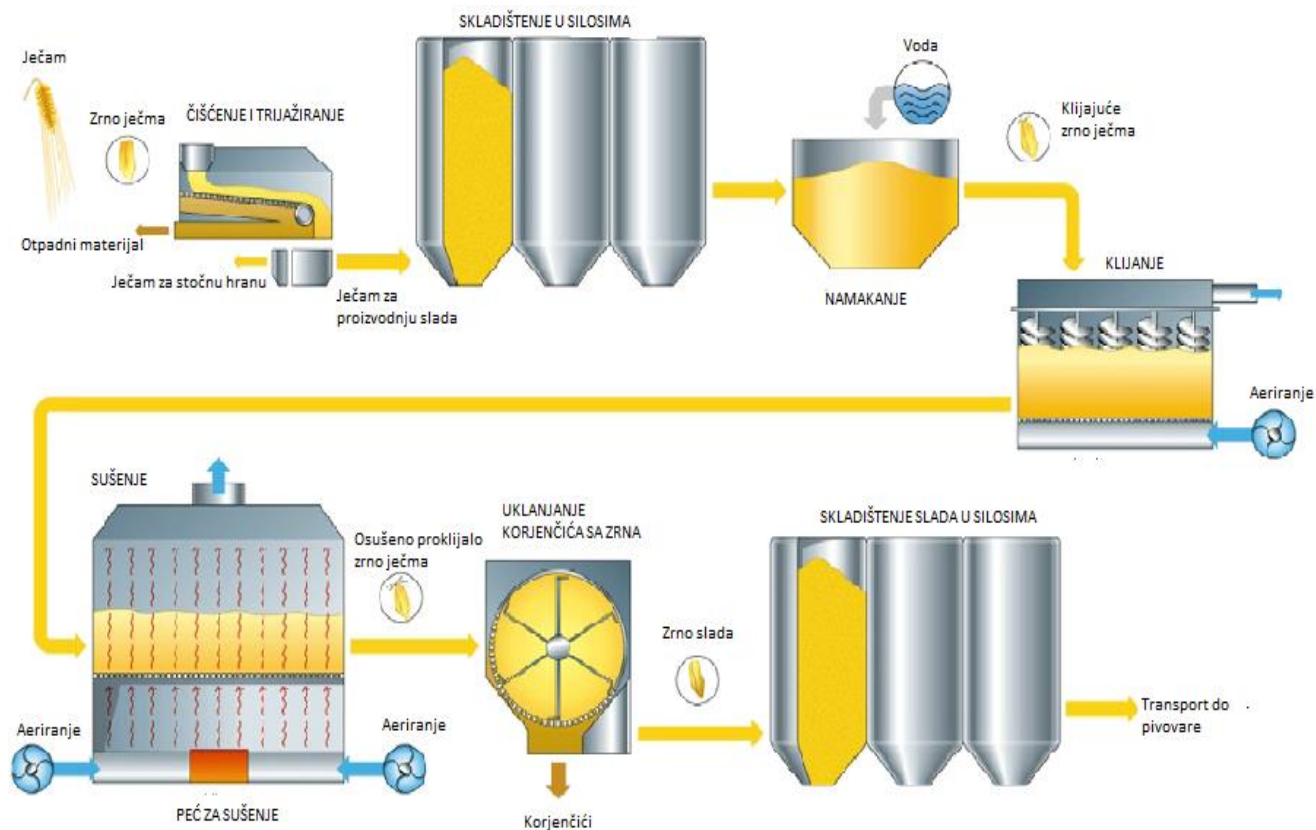
### 2.3. TEHNOLOŠKI PROCES PROIZVODNJE PIVA

Proizvodnja piva je biotehnološki proces tijekom kojeg enzimi u sladu razgrađuju sadržaj zrna ječma do točke u kojoj se mogu otopiti u vodi. Dobiveni ekstrakt (sladovina) prevodi se fermentacijom uz pomoć kvasca do alkohola i CO<sub>2</sub>. Prema tome proizvodnja piva može se podijeliti u dva tehnološka procesa, a to su priprema slada i sladovine i vrenje (fermentacija) piva. Slad je zapravo proklijali ječam što podrazumijeva prirodan način klijanja isto kao kada je zrno posađeno (Zarnkow, 2014.). Priprema slada može se podijeliti u tri faze: 1. natapanje- ječam se potapa u vodu dok se ne postigne razina potrebne vlažnosti, 2. klijanje- natopljeni ječam klija u kontroliranim uvjetima, 3. sušenje- proklijali ječam se zagrijava i suši te dalje prži dok se ne postigne željeni izgled slada (svijetli ili tamni). Nakon pripreme slada slijedi priprema sladovine. Cilj proizvodnje sladovine je da se ne topive tvari konvertiraju u topivi oblik djelovanjem enzima. Priprema sladovine obuhvaća niz operacija : mljevenje slada, ukomljavanje, kuhanje komine, cijedenje sladovine, ohmeljavanje i bistrenje sladovine (Šakić, 2005.). Fermentacija se odnosi na kemijsku pretvorbu fermentabilnog šećera u sladovini u alkohol i CO<sub>2</sub> kroz djelovanje kvasca. O fermentaciji ovisi i kvaliteta gotovog proizvoda. Fermentacija se može podijeliti u dvije faze, glavna fermentacija i naknadna odnosno faza sazrijevanja. Kod lager piva glavna fermentacija traje oko 4 dana na temperaturi između 5 do 8 °C, a prekida se kada se postigne određena vrijednost prevrelosti koja se određuje prema sadržaju preostalih šećera. Acetaldehid i hlapljivi spojevi koji sadrže sumpor također nepovoljno utječu na okus i aromu piva i u fazi sazrijevanja se uklanjaju uz pomoć CO<sub>2</sub>. Faza sazrijevanja ima za cilj poboljšati kvalitetu piva odležavanjem što daje stanicama kvasca vremena za taloženje. U ovoj fazi kvasac dobiva aminokiseline i druge tvari (više masne kiseline) koje su potrebne za stvaranje novih stanica (Zarnkow, 2014.).

Završna faza u proizvodnji piva je filtracija i mikrobiološka stabilizacija piva (pasterizacija). Cilj filtracije je ukloniti eventualnu zamućenost prisutnu u pivu koja potječe od proteinskih spojeva, hmeljne smole, zaostale gorke tvari ili ostatke kvasca te naravno kako bi se uklonili

mikroorganizmi koji imaju potencijal da pokvare pivo. Na ovaj način postiže se koloidna stabilnost piva. Biološka stabilnost piva postiže se pasterizacijom. Povišene temperature uništavaju mikroorganizme, i zaostale kvasce koji mogu prouzrokovati kvarenje piva (Šakić, 2005.).

Nakon filtracije slijedi proces gaziranja, odnosno karbonizacije te punjenje u ambalažu.



**Slika 2.** Shematski prikaz proizvodnje sladovine (Zarnkow, 2014.)





Slika 3. Shematski prikaz proizvodnje piva (<https://mlinarica.hr/proizvodnja-piva/>, n.d.)

## 2.4. PULSIRAJUĆE ELEKTRIČNO POLJE (PEP)

Pulsirajuće električno polje (engl. *Pulsed Electric Field - PEF*) predstavlja ekološku, nisko energetska ne termalnu metodu konzerviranja hrane koja se koristi za inaktivaciju mikroorganizama i doprinosi boljem očuvanju boje, okusa, teksture i nutritivnih komponenata hrane (Evrendilek i sur., 2004.). Danas se ovakvim metodama služi i za ekstrakciju polifenola i šećera iz namirnica, najčešće voća i povrća (Sarkis i sur., 2015.). PEP primjena se temelji na kratkotrajnom električnom tretmanu koji traje od nekoliko nanosekundi do nekoliko milisekundi s pulsirajućim poljem snage od  $100\text{-}300\text{ V/cm}^2$  do  $20\text{-}80\text{ kV/cm}^2$  (Rajha i sur., 2020.). Pulsirajuće električno polje podrazumijeva tretiranje prehrambenog proizvoda koji se nalazi između dvije elektrode sa visokonaponskim električnim impulsima kratkog trajanja. To uzrokuje reverzibilno ili ireverzibilno stvaranje pora u staničnoj membrani stanica (elektropermeabilizaciju) (Jeyamkondan i sur., 1999.). Kao posljedica tzv. elektroporacije, dolazi do propusnosti stanične membrane za određene tvari. Ovisno o primijenjenom naponu i vremenu trajanja tretiranja namirnica elektroporacija može biti reverzibilna i ireverzibilna. Ukoliko je nastanak pora ireverzibilan, dolazi do trajnog oštećenja stanice što je jednako

gubitku njezine vitalnosti. Ova vrsta ne termalne inaktivacije mikroorganizama može biti od koristi za razvoj procesa i očuvanja kvalitete u prehrambenoj industriji. Međutim, sigurnost procesa, isplativost i prednosti za potrošača koje daje PEP trebaju se još istražiti i potvrditi (Teopfl i sur., 2006.)!

PEP se pokazala kao vrlo dobra metoda za inaktiviranje patogenih mikroorganizama u mlijeku, jogurtu, sokovima, tekućem jajetu i pivu. Osim produljenja roka trajanja, na ovaj način izbjegavaju se kemijske promjene koje inače utječu na organoleptička svojstva i stabilnost piva tijekom skladištenja. Te kemijske promjene obično utječu na organoleptičku stabilnost piva razvijajući neugodan okus sličan papiru/kartonskoj ambalaži tijekom starenja ili kvarenja. Brzina reakcija tijekom starenja piva ovisi o vanjskim (npr. ambalaži, temperaturi i svjetlu) i unutarnjim (npr. sadržaju kisika, pH i antioksidansima) faktorima (Gad i Jayaram, 2015).

PEP uređaj se sastoji od spremnika energije odnosno kondenzatora, visokonaponskog generatora te komore za tretiranje.

Specifični unos energije za HVED i PEP računa se po formuli:

$$W = \frac{E_p \times n}{m}$$

Gdje je  $W$  input energije [ $kJ/kg$ ],  $E_p$  energija jednog pulsa [ $kJ$ ], a  $m$  masa suspenzije [ $kg$ ].

Energija jednog pulsa dobivane je iz formule:

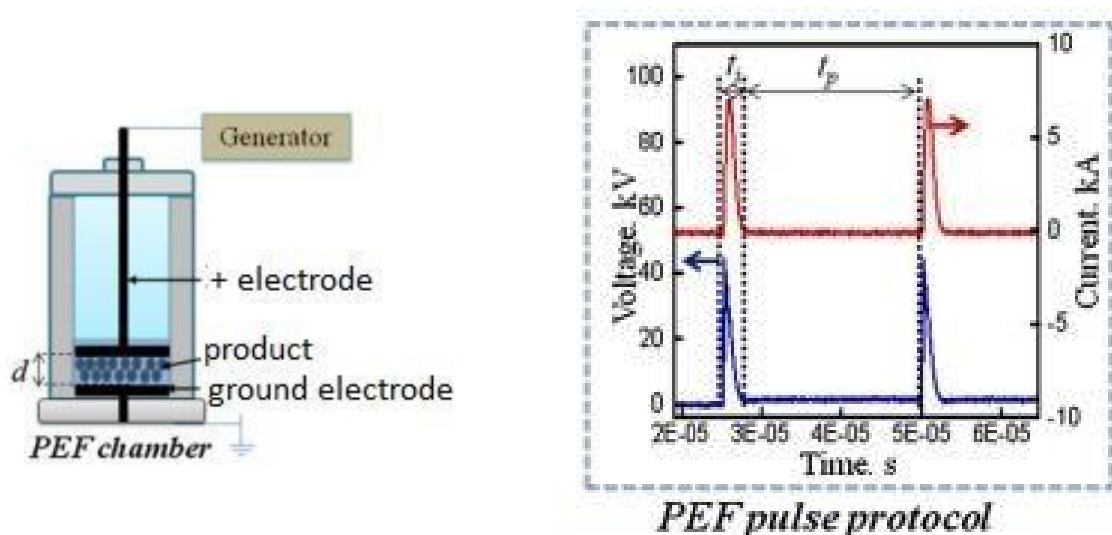
$$E_p = \int_0^t U \times I \times dt$$

Gdje  $U$  označava napon [ $V$ ], a  $I$  jakost električne struje [ $A$ ].

Intenzitet električnog polja dobiva se iz formule:

$$E = \frac{V}{d} [kV/cm]$$

Gdje  $V$  predstavlja napon u kilovoltima [ $kV$ ], a  $d$  udaljenost između elektroda [ $cm$ ] (Jelinić, 2020.).



**Slika 4.** Shematski prikaz komore za PEF i grafički prikaz jednog električnog pulsa (Boussetta i sur., 2012.)

Prednosti metode pulsirajućeg električnog polja:

- Produljenje trajnosti i roka trajanja proizvoda inaktivacijom mikroorganizama, kvasaca i plijesni (Milani i sur., 2015. i Evrendilek i sur., 2004.)
- Uzrokuje minimalne senzorske, fizikalne i nutritivne promjene namirnice (npr. boja, okus, tekstura, nutritivna vrijednost) (Gad i Jayaram, 2015.)
- Omogućuje prijenos tvari u proizvodima (voda, šećeri, tvari arome) (Vaquero i sur., 2021.)
- Može se koristiti i za ekstrakciju pigmenata i bioaktivnih spojeva (npr. polifenola) (Zare i sur., 2023.)
- Dobra energetska učinkovitost.

Nedostaci metode pulsirajućeg električnog polja:

- Metoda ograničena samo na obradu tekućih i polutekućih namirnica (Oziemblowski i sur., 2017.)
- Kompleksnost i veliki troškovi opreme (Jeyamkondan i sur., 1999.)
- Varijacije u električnom polju unutar namirnice mogu dovesti do nejednakih rezultata
- Nedostatak informacija dobre standardizacije te specifičnih protokola koji se odnose na određeni cilj PEP-a (Carvalho i sur., 2023.)

- Transmisija kemijskih elemenata (teških metala!) materijala od kojih je izrađena elektroda na uzorak, tj. namirnicu (Evrendilek, 2004.)

### 2.4.1. PEP u prehrambenoj industriji

Primjena pulsirajućeg električnog polja (PEP) kao netermalna metoda pasterizacije u preradi hrane je od sve većeg interesa zbog inaktivacije mikroorganizama, očuvanja toplinski osjetljivih spojeva i senzorskih svojstava proizvoda (Evrendilek i sur., 2004.).

Osnovni princip PEP-a, kao što je već navedeno u poglavlju prije, uključuje korištenje kratkih impulsa visokog intenziteta električnog polja (10-80 kV/cm) s trajanjem impulsa od nekoliko mikrosekundi do nekoliko milisekundi. Proces se temelji na utjecaju jačine struje električnih pulsa poslanih u proizvod, tj. namirnicu koja se nalazi između dviju elektroda. Razlog iza sve veće popularnosti i primjene PEP metode je bolja kvaliteta finalnog proizvoda (bolja senzorska kvaliteta), u nekim slučajevima može smanjiti troškove proizvodnje te kompatibilnost ove metode jer se može kombinirati sa drugim tehnologijama. Ova metoda koristi se kao dio tehnološke proizvodnje i namijenjena je poboljšanju strukture proizvoda (npr. hrskavost mesa peradi, obrada krumpira...) ili za povećanje učinkovitosti ekstrakcije određenih tvari iz biljaka (Oziemblowski i sur., 2017.).

Tehnologija pulsirajućim električnim poljem primjenjuje se na različite namirnice u prehrambenoj industriji kako bi se postigli različiti ciljevi, uključujući poboljšanje konzerviranja, teksture, okusa i druge karakteristike proizvoda.

Evo nekoliko najčešćih namirnica koje se podvrgavaju PEP tretmanu:

- Voće i povrće → posebno za dezinfekciju i produljenje roka trajnosti (jabuke, krastavci, špinat), pomoćna metoda kod sušenja i zamrzavanja voća i povrća
- Sokovi → zbog produljenja svježine i inaktivacije enzima koji mogu utjecati na neka svojstva sokova
- Mlijeko i mliječni proizvodi → uglavnom zbog mikrobiološke stabilnosti i produljenja roka trajanja
- Jaja → obrada tekućih jaja kako bi se inaktivirali patogeni mikroorganizmi (Salmonella)
- Meso (mljeveno) → zbog poboljšanja teksture, mikrobiološke stabilnosti

- Pivo i vino → poboljšanje ekstrakcije boje, arome, okusa iz sirovina poput hmelja i grožđa
- Voćni pire i kaše → poboljšanje konzistencije i senzorskih svojstava

Istraživanje u vezi ove nove tehnologije trenutno je u tijeku diljem svijeta, pokazujući obećavajuće rezultate i visoku potencijalnu kao alternativa pasterizaciji. Paralelno s napretkom istraživanja ove metode poboljšava se i izvedba PEP sustava od malih laboratorijskih sustava do velikih instalacija proizvodnih razmjera (Zhao i sur., 2013.). Usvajanje PEP-a za komercijalnu pasterizaciju voćnih sokova implementirao je *Genesis Juices*, Oregon, SAD. *Genesis Juice* uspješno je patentirao PEP sustav pod nazivom OSU-5 koji ima sposobnost obrade 200 L/h, može postići 5log redukciju mikroorganizama te produžiti rok trajanja 4 tjedna (Zhao i sur., 2013.).

#### **2.4.2. Primjena PEP-a u proizvodnji piva**

Industrija proizvodnje piva je već razvijena, dobro organizirana i konkurentna grana djelatnosti. Poznata je po svojoj prilagodljivosti prema promjenama potražnje potrošača. Osim toga, nastoji integrirati nove tehnologije koje postaju dostupne kao rezultat istraživačkih, razvojnih i inovacijskih aktivnosti razvijenih diljem svijeta. Važno je razumjeti kako poboljšati proizvodnju piva tako da ona bude energetski učinkovita, očuva okoliš i održava visoku kvalitetu, a nove tehnologije mogu pomoći u smanjenju potrošnje energije i iskorištavanju resursa i nusproizvoda. Današnji tehnološki napredak zajedno s potrebom za većom učinkovitošću proizvodnje, kvalitetom proizvoda i održivošću procesa, stvorio je mogućnosti za razvoj novih pristupa obradi, a jedan od njih je obrada pulsirajućim električnim poljem (Carvalho i sur., 2023.).

Kada govorimo o primjeni PEP-a kao koraku procesa u proizvodnji piva, još danas ga ne možemo pronaći niti u jednoj pivskoj industriji. Utjecaj PEP-a na pivo i dalje je u razvojnoj i istraživačkoj fazi, no veliki broj znanstvenika ulaže svoje vrijeme i trud upravo kako bi dokazali da ova metoda može izazvati revoluciju u pivarskom svijetu. Prema istraživanju Milani i sur. (2015.) tretman PEP-om na 9 različitih vrsta piva pod određenim kontroliranim uvjetima (sobna temperatura, intenzitet električnog polja od 45 kV/cm, 46 impulsa i ukupno vrijeme

tretiranja od 70  $\mu$ s) rezultirao je inaktivacijom askospora *Saccharomyces cerevisiae* za 0,2 do 2,2 log redukcije za 0 odnosno 7% alc/vol pivo u usporedbi s toplinskom inaktivacijom. Nadalje ovo istraživanje je pokazalo kada se isti ovi uvjeti PEP-a kombiniraju sa termičkom obradom (52-53 °C) redukcija spora kvasca se povećava za 2 log. Drugo istraživanje provedeno od strane Walkling-Ribeiro i sur. (2011.) proučavalo je utjecaj PEP-a na tipične uzročnike mikrobnog kvarenja piva (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* i *Salmonella choleraesuis*), koji također utječu na bistroću i okus piva, mogu uzrokovati kiselost, atipičan miris i zamagljenost što utječe i na filtraciju piva. Pivo inokulirano s navedenim mikroorganizmima tretirali su PEP-om na dva različita načina, tj. pri dvije različite ulazne temperature piva (1. sobna temperatura, 2. prethodno ohlađeno pivo). Rezultati su pokazali da je u oba slučaja postignuta inaktivacija mikroorganizama s naglaskom da je kod piva sobne temperature učinak bio puno bolji i jednak učinku termičke pasterizacije, dok je kod prethodno ohlađenog piva učinak redukcije bio manji, ali je bio unutar granica zakonske regulative za prisutnost spomenutih mikroorganizama u pivu. Ntourtoglou i sur. (2020.) procjenjivali su sposobnost PEP-a da ekstrahiraju  $\alpha$ -kiseline (humulone) i  $\beta$ -kiseline (lupulone) kao i važna eterična ulja iz peletiranog hmelja. Rezultati istraživanja pokazuju da je ekstrakcija  $\alpha$ -kiselina,  $\beta$ -kiselina PEP metodom (1,5 kV/cm, 15  $\mu$ s, 1800 impulsa) dala 20% bolje rezultate u odnosu na ekstrakciju metanolom (kontrola) te 5-7% bolje rezultate ekstrakcije eteričnih ulja. S druge strane, ovo istraživanje tvrdi kako PEP metode nije utjecala na aromatsku raznolikost hmelja. Važno je spomenuti i to kako u proizvodnji piva ostaje neiskorištena velika količina nusproizvoda kao što je trop odnosno ostatak ječmenog zrna nakon dobivanja sladovine te višak pivskog kvasca, koji su poznati po svom bogatom kemijskom i nutritivnom sastavu sa bioaktivnim svojstvima. Martin-Garcia i sur. (2020.) koristili su PEP metodu kao pred tretman za ekstrakciju polifenolnih tvari iz ostataka žitarica korištenih u proizvodnji piva. Istraživanje je pokazalo da je ekstrakcija sa u kojoj je korištena PEP metoda kao pred tretman dala do 2 puta veće rezultate u odnosu na onu u kojoj PEP nije korišten. Liu i sur. (2012.) dobili su povoljnije rezultate u ekstrakciji proteina iz ostataka pivskog kvasca potpomognutoj PEP metodom, iako je studija na kraju zaključila kako su potrebna daljnja istraživanja da bi se utvrdio specifični mehanizam PEP-a koji djeluje na membranu stanice kvasca.

**Tablica 2.** Adaptirani sažeti prikaz utjecaja PEP-a kod određenih koraka proizvodnje piva (Carvalho i sur., 2023.)

METODA	UTJECAJ	KORAK PROIZVODNJE
PEP	Inaktivacija bakterija i kvasaca	Pasterizacija
	Smanjenje gorčine i mutnoće piva	Pasterizacija
	Poboljšanje ekstrakcije korisnih sastojaka iz hmelja	Predtretman obrade sirovina
	Poboljšanje ekstrakcije vrijednih komponenata iz nusproizvoda	Upravljanje nusproizvodima i otpadom





### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak eksperimentalnog dijela istraživanja bio je ispitati utjecaj pulsirajućeg električnog polja na senzorska svojstva i stabilnost industrijskog i „craft“ piva. Riječ je o relativno novoj tehnologiji koja se još uvijek istražuje, a koristi se u procesima obrade namirnica, bilo u primarnom procesu proizvodnje ili kao nadopuna konvencionalnim metodama procesiranja namirnica. Cilj je istražiti do kakvih promjena unutar uzoraka dovodi ova metoda, na koje sastojke djeluje te dovodi li do povećanja antioksidacijske aktivnosti i ukupnih fenola u pivu. Naknadno uz pomoć senzorske analize dat će se subjektivna ocjena o utjecaju navedene metode na uzorke.

### 3.2. MATERIJALI

- Folin-Ciocalteu reagens (F.C.)
- 20 %-tna otopina  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)
- Spektrofotometar
- Uzorci piva za analzu
- Uređaj za tretiranje hrane pulsirajućim električnim poljem

#### 3.2.1. Odabir uzoraka piva za analizu

Za potrebe ovog istraživanja odabrali smo pet različitih vrsta piva. Jedno od odabranih bilo je komercijalno lager pivo, dok su ostale četiri vrste piva proizvedene na katedri za Bioprocesno inženjerstvo Prehrambeno tehnološkog fakulteta Osijek, u sklopu kolegija Tehnologija slada i piva. Proizvodnja piva na Fakultetu je detaljno opisana u diplomskim radovima Rozman (2022.) i Vuzem (2022.). Ta četiri uzorka međusobno se razlikuju po nekim dodanim sastojcima, ali generalno za razliku od komercijalnog industrijskog lager piva koje je korištena kao kontrola, ova piva ubrajaju se u skupinu „craft“ ili zanatskih piva, odnosno *ale* piva. Popis uzoraka nalazi se u **Tablici 3**.

**Tablica 3.** Popis uzoraka korištenih u istraživanju

Uzorak	
Kontrola	Lager 1
Pale ale	APA 1
	APA 2
Crno	Crno 1
KVEIK	KVEIK 1

### 3.3. METODE

#### 3.3.1. Tretiranje uzoraka pulsirajućim električnim poljem

Za provedbu metode pulsirajućeg električnog polja koristili smo uređaj „GROM“, konstruiran u suradnji s Fakultetom elektrotehnike, računalstva i informacijskih tehnologija Osijek na Prehrambeno tehnološkom fakultetu Osijek. Uređaj se sastoji od sigurnosne sklopke za uključivanje/isključivanje, generatora visokog napona od 30kV i maksimalne jačine struje od 10 mA, kondenzatora u kojem se energija pohranjuje te potom prazni u obliku pulsa unutar komore za tretiranje. U već spomenutoj komori za tretiranje nalaze dvije paralelne elektrode izrađene od nehrđajućeg čelika. Uređaj također sadrži digitalno sučelje na kojem su vidljivi izgledi pulsa te nam je to ujedno i znak da je puls iz kondenzatora poslan prema uzorku. Tu se nalazi i sklop za automatsko upravljanje i podešavanje načina izvođenja tretiranja (podešavanje jakosti, vremena trajanja i broja impulsa) te daljinski upravljač s kojim možemo podešavati način tretiranja sa sigurne udaljenosti.

Za ovu analizu pet uzoraka piva, svaki uzorak je tretiran u tri paralele, prema izmjeni broja pulsa (25, 50, 100). Koristio se konstantni visoki napon od 20 kV/cm za svako tretiranje.



**Slika 5.** PEP uređaj „Grom“ – Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

### **3.3.2. Određivanje ukupnih polifenola**

Određivanje ukupnih polifenola obavljeno je spektrofotometrijskom metodom po Folin-Ciocalteu (F.C.). Metoda se temelji na oksidaciji fenolnih grupa dodatkom Folin-Ciocalteu reagensa i nastajanju obojenja uzorka (Grgić, 2019.). Priprema uzorka: 0,5 mL ekstrakta otpipetira se u epruvetu, zatim je u istu epruvetu otpipetirano 2,5 mL F.C. reagensa i 2 mL 7,5%-tnog natrijevog karbonata. Tako pripremljeni uzorak se promiješa i ostavi da odstoji otprilike 2 sata. Na isti način pripremljena je i slijepa proba, ali se umjesto uzorka koristila destilirana voda. Promjena obojenja odnosno intenzitet obojenja određen je spektrofotometrijski mjerenjem apsorbancije pri 765 nm (Lončarić, 2014.).

### **3.3.3. Određivanje antioksidacijske aktivnosti**

Određivanje antioksidacijske aktivnosti obavljeno je DPPH metodom. Ova metoda koristi DPPH reagens za usporedbu mjerenja antioksidacijskih svojstava prirodnih sirovina. DPPH je vro stabilan slobodni radikal koji se ponaša kao donor elektrona. Princip mjerenja temelji se na pretpostavci da DPPH radikal reagira sa antioksidansima te se postotak gubitka radikala u određenom vremenu (15 min, 30min) testira spektrofotometrijski. DPPH tvori stabilni kationski radikal, a otopina ima tamnoljubičastu boju. Reakcijom sa antioksidansima boja

postaje sve svjetlija te se intenzitet novo nastale bojem mjeri pri iznosu apsorbancije od 517 nm (Galazka-Czarnecka i sur., 2019.).

Priprema uzorka: Otpipetirano je 0,2 mL ekstrahiranog uzorka te dodano 3 mL otopine DPPH. Dobro je promiješano i ostavljeno stajati 15 minuta. Nakon 15 minuta, izmjerena je vrijednost apsorbancije pri 517 nm. Za slijepu probu, umjesto uzorka, dodan je etanol. Rezultat je preračunat iz kalibracijske krivulje troloxa (Lončarić, 2014).

### 3.4. SENZORSKA ANALIZA

Senzorska analiza se definira kao znanstvena disciplina koja se bavi procjenom okusne senzacije. Kao znanstvena disciplina pojavila se u 20. stoljeću i bila definirana kao procjena organoleptičkih svojstava hrane isključivo od strane ljudskih osjetila. Senzorska analiza bila je ključni dio ljudske povijesti te se koristila za određivanje jestivih i nejestivih tvari, kao za procjenu razvrstavanja poželjnih namirnica od nepoželjnih. Senzorska procjena sastoji se od pet osnovnih osjetila: 1. olfaktometrija – miris; 2. okus; 3. opipljivost – dodir; 4. izgled – vid; 5. sluh (Habschied i sur., 2022.)



**Slika 6.** Shematski prikaz ljudskog jezika i položaja receptora okusa (Habschied i sur., 2022)

Svrha provođenja senzorske analize je da se dobije željeni odgovor koji će nam pomoći za izradu statističkih analiza rezultata i utvrđivanje povezanosti senzorske analize sa instrumentalnim metodama (Habschied i sur., 2022.)

Na konačni okus piva utječu osobine i količine korištenih sirovina i naravno uvjetima koji se koriste u procesu proizvodnje piva. S obzirom na sirovine, odabir žitarice i hmelja ima najveću utjecaj na konačni okus piva. Okus piva je u stanju stalne promjene tijekom proizvodnje i skladištenja. Željene karakteristike piva definiraju se po završetku procesa bilo tu u pivovari, bačvi ili ambalaži (boci) (Boulton, 2013.).

Kemijski spoj	UTJECAJ NA SENZORSKA SVOJSTVA PIVA
CO <sub>2</sub>	Trnci u ustima
Etanol	Osjećaj topline
Viši alkoholi	Osjećaj topline, punoća okusa
Esteri	Voćni, cvjetni okus
Organske kiseline	Kiselost
Hmelj	Gorčina
Anorganski kloridi	Slanost
Šećeri	Slatkoća
Polifenoli	Trpkost, oporost
Sumporni spojevi	Miris izgorjele šibice, pokvarenog jajeta
Masne kiseline	Užglost, sapunast
Kratkolančani aldehidi	Zelena jabuka
Aldehidi dužeg lanca	Ustajalost, mokraća

**Tablica 4.** Utjecaj glavnih sastojaka piva na senzorska svojstva (Boulton, 2013.)

Senzorska analiza uzoraka provodila se među profesorima, osobljem i studentima Prehrambeno – tehnološkog fakulteta Osijek. Ocjenjivane senzorske karakteristike su miris, okus, reskost, punoća okusa, gorčina, trpkost i kvaliteta pjene. Ocjenjivanje se vršilo pomoću dolje prikazanog obrasca (**Slika 7.**). Uzorci su označeni šifrom i ponuđeni panelistima. Između kušanja, panelistima su ponuđeni kruh sir, te negazirana voda.

Potpis ocjenjivača:				
Stil piva:				
Uzorak:				
Karakteristika:	Opis	Bodovi	Negativni bodovi	Ukupno
Prekomjerno pjenjenje (gushing)		Diskvalifikacija		
Prekiselo		Diskvalifikacija		
Miris	Svojtven	5		
	Manje svojstven	4		
	Blage greške mirisa	3		
	Zamjetne greške mirisa (užeglost, zagorenost, staro pivo, sumporni spojevi)	2	-1	
	Jake greške mirisa (otapala, autoliza kvasca, diacetil, dimetilsulfid)	1	-2	
Okus	Svojtven	5		
	Manje svojstven	4		
	Blage greške okusa	3		
	Zamjetne greške okusa (po kvascu, slatko, na žitarice)	2	-1	
	Jake greške okusa (metalni okus, kiselkasto)	1	-2	
Reskost (sadržaj CO <sub>2</sub> ):	Ugodno resko	5		
	Resko	4		
	Manje resko	3		
	Bljutavo	2		
	Vrlo bljutavo	1		
Punoća okusa:	Svojtvena, vrlo punog okusa	4		
	Manje svojstvena, punog okusa	3		
	Vodenasto	2		
	Nesvojtvena, praznog okusa	1		
Gorčina	Vrlo ugodna	5		
	Ugodna	4		
	Malo zaostaje u ustima	3		
	Zastaje u ustima	2		
	Jako zaostaje u ustima	1		
Trpkost	Malo zaostaje u ustima	3		
	Zastaje u ustima	2		
	Jako zaostaje u ustima	1		
Kvaliteta pjene:	Postojana	3		
	Slabije postojana	2		
	Ne postojana	1		
Ukupno bodova:				

Slika 7. Senzorski obrazac za procjenu karakteristika piva nakon tretmana sa PEP uređajem





## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

#### 4.1. REZULTATI PROVEDBE METODE PULSIRAJUĆIM ELEKTRIČNIM POLJEM

U **Tablici 5.** prikazani su uzorci piva na kojima se provodila analiza te vrijednosti primijenjenog PEP-a. Svaki uzorak tretirali smo u tri puta različitim vrijednostima PEP-a. Uzorke smo izlagali istoj snazi uređaja od 20 kV/cm, ali različitom broju pulseva i različitom vremenu tretiranja.

Uzorci	Snaga [kV/cm]	Broj pulseva	Trajanje [ $\mu$ s]
Lager			
Lager 1	20	100	19,58
Lager 2	20	50	9,79
Lager 3	20	25	4,90
APA 2			
APA 2.1	20	100	19,58
APA 2.2	20	50	9,79
APA 2.3	20	25	4,90
APA 1			
APA 1.1	20	100	19,58
APA 1.2	20	50	9,79
APA 1.3	20	25	4,90
Crno			
Crno 1	20	100	19,58
Crno 2	20	50	9,79
Crno 3	20	25	4,90
KVEIK			
Kveik 1	20	100	19,58
Kveik 2	20	50	9,79
Kveik 3	20	25	4,90

**Tablica 5.** Uzorci na kojima je provedena metoda i vrijednosti primijenjenog pulsirajućeg električnog polja

Iz **Tablice 5.** vidljivo je da su vrijednosti broja pulseva imali raspon 25-100, a trajanje pulsa bilo je najkraće za broja pulseva 25 i iznosilo je 4,90  $\mu$ s, za broj pulseva 50 vrijeme trajanja bilo je 9,79  $\mu$ s, dok je za broj pulseva 100 vrijeme trajanja bilo 19,58  $\mu$ s.

U **Tablici 6.** nalazi se prikaz rezultata vrijednosti antioksidacijske aktivnosti (DPPH) i ukupnih polifenola. Svaki uzorak analiziran je u dvije paralele ( $X_1$ ,  $X_2$ ) pri čemu je u tablici prikazana i srednja vrijednost (AVG) te standardna devijacija između paralela (SD). Kontrolni uzorci nisu tretirani PEP-om.

Uzorci	Antioksidacijska aktivnost (DPPH) [mmol trolox/L]						Ukupni polifenoli [mg/L]					
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	DPPH <sub>1</sub>	DPPH <sub>2</sub>	AVG	SD	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	UP <sub>1</sub>	UP <sub>2</sub>	AVG	SD
Lager kont.	0.422	0.417	0.077	0.078	0.077	0.00	0.832	0.845	108.36	110.03	109.19	1.18
Lager 1	0.435	0.432	0.075	0.076	0.075	0.00	0.860	0.864	111.95	112.46	112.21	0.36
Lager 2	0.426	0.419	0.076	0.077	0.077	0.00	0.850	0.851	110.67	110.79	110.73	0.09
Lager 3	0.423	0.419	0.077	0.077	0.077	0.00	0.869	0.873	113.10	113.62	113.36	0.36
APPA 2. kont.	0.200	0.195	0.106	0.107	0.107	0.00	1.159	1.184	150.28	153.49	151.88	2.27
APPA 2. 1	0.218	0.211	0.104	0.105	0.104	0.00	1.163	1.160	150.79	150.41	150.60	0.27
APPA 2. 2	0.223	0.211	0.103	0.105	0.104	0.00	1.171	1.168	151.82	151.44	151.63	0.27
APPA 2. 3	0.205	0.205	0.106	0.106	0.106	0.00	1.178	1.178	152.72	152.72	152.72	0.00
APPA 1. kont	0.178	0.170	0.109	0.110	0.110	0.00	1.171	1.174	151.82	152.21	152.01	0.27
APPA 1. 1	0.207	0.196	0.105	0.107	0.106	0.00	1.158	1.167	150.15	151.31	150.73	0.82
APPA 1. 2	0.188	0.187	0.108	0.108	0.108	0.00	1.146	1.161	148.62	150.54	149.58	1.36
APPA 1. 3	0.181	0.170	0.109	0.110	0.109	0.00	1.160	1.158	150.41	150.15	150.28	0.18
Crno kont.	0.908	0.903	0.045	0.047	0.046	0.00	1.200	1.215	155.54	157.46	156.50	1.36
Crno 1.	0.972	0.975	0.019	0.018	0.019	0.00	1.212	1.230	157.08	159.38	158.23	1.63
Crno 2.	0.962	0.975	0.023	0.018	0.021	0.00	1.198	1.207	155.28	156.44	155.86	0.82
Crno 3.	0.993	0.991	0.011	0.012	0.012	0.00	1.211	1.200	156.95	155.54	156.24	1.00
Kveik. kont.	0.609	0.593	0.109	0.113	0.111	0.00	1.037	1.039	134.64	134.90	134.77	0.18
Kveik 1	0.617	0.602	0.107	0.111	0.109	0.00	1.053	1.047	136.69	135.92	136.31	0.54
Kveik 2	0.637	0.599	0.101	0.111	0.106	0.01	1.041	1.050	135.15	136.31	135.73	0.82
Kveik 3	0.701	0.693	0.085	0.087	0.086	0.00	1.048	1.040	136.05	135.03	135.54	0.73

**Tablica 6.** Vrijednosti antioksidacijske aktivnosti i ukupnih polifenola u uzorcima tretiranim PEP-om

U uzorcima lager piva možemo primijetiti da je antioksidacijska aktivnost u odnosu na kontrolu (0,77 mmol trolox/L) kod svih tretiranih uzoraka opadala s povećanjem broja impulsa kod tretiranja uzoraka. Tako je uzorak lager piva 1 izložen broju pulseva 100, pokazao niže vrijednosti (0,76 mmol trolox/L) u odnosu na uzorke izložene nižim vrijednostima broja pulseva (25 i 50). Uzorak Lager 3 imao je gotovo iste rezultate kao i kontrolni uzorak (0,77 mmol trolox/L). Sadržaj ukupnih polifenola je generalno bio veći kod svih tretiranih uzoraka u odnosu na kontrolu (109.19 mg/L). Uzorak Lager 3. koji je tretiran s najmanjim brojem impulsa (25), imao je najveće povećanje ukupnih polifenola u odnosu na kontrolni uzorak lagera i iznosio je 113.36 mg/L.

Uzorci piva APA 2 za antioksidacijsku aktivnost pokazuju istu zakonitost kao i kod uzoraka lager piva, odnosno njihova antioksidacijska aktivnost opada s povećanjem broja impulsa tijekom

tretiranja. Tako je uzorak APA 2.3, tretiran brojem impulsa 25, imao gotovo jednaki rezultat (0,106 mmol trolox/L) kao i kontrolni uzorak (0,107 mmol trolox/L). Ukupni polifenoli samo kod uzorka APA 2.3. pokazuju povećanje (152,72 mg/L) u odnosu na kontrolni uzorak (151,88 mg/L).

Uzorci piva APA 1 pokazali su manju antioksidacijsku aktivnost kod tretiranih uzoraka, s time da je najveći iznos tretiranih uzoraka, u odnosu na kontrolni uzorak (0,110 mmol trolox/L), određen u uzorku APA 1.3 (0,109 mmol trolox/L). Ukupni polifenoli u ovom uzorku su također bili niži nego u kontrolnom uzorku pri čemu je najniža vrijednost izmjerena kod uzorka APA 1.2 (149,58 mg/L).

Uzorak crnog piva pokazivao je generalno nižu antioksidacijsku aktivnost u tretiranih uzorka nego u kontrolnom uzorku (0,046 mmol trolox/L). Najniža vrijednost određena je u uzorku crno 1.3 (0,012 mmol trolox/L) dok je sadržaj ukupnih polifenola samo kod uzorka Crno 1.1, koji je tretiran s brojem pulseva 100, bio veći (158.23 mg/L) nego kod kontrolnog uzorka (156.50 mg/L).

Svi uzorci piva Kveik bilježe niže rezultate antioksidacijske aktivnosti, dok je kod ukupnih polifenola obrnuta situacija te svi uzorci bilježe veći broj ukupnih polifenola u odnosu na kontrolu.

Dobiveni rezultati su podijeljeni, kod većine analiziranih uzoraka antioksidacijska aktivnost se smanjila, dok je broj ukupnih polifenola porastao. Iako je to teško objašnjivo iz razloga što polifenoli zapravo doprinose antioksidacijskoj aktivnosti, prema tome za očekivati je bilo da ako je jedna varijabla u porastu onda mora biti i druga, ali rezultati tome ne idu u prilog.

Utjecaj PEP-a na pivo minimalno je istražen u odnosu na druge vrste proizvoda kao što su voćni sokovi, mlijeko pa čak i vino. To može biti posljedica procesa karbonizacije piva budući da mikromjehurići CO<sub>2</sub> mogu oslabiti intenzitet električnog polja te proizvesti neke sekundarne, možda nepoželjne reakcije. Iako se PEP može primijeniti prije koraka karbonizacije i/ili fermentacije (Zare i sur., 2023.).

Najsrodnija studija s kojom se ovo istraživanje može usporediti je ona provedena na vinu. Na vinu se dosta proučava utjecaj PEP-a, iz aspekta mikrobiološke stabilnosti i utjecaja na antioksidacijsku aktivnost, a tako i na sadržaj ukupnih polifenola.

Studija koje su proveli Galazka-Czarnecka i sur. (2018., 2019.) dokazala je pozitivan utjecaj PEPa na antioksidacijsku aktivnost i sadržaj ukupnih polifenola u vinu. U toj studiji PEP se koristio kao predtretman u pripremi ulazne sirovine, odnosno za pripremu grožđa prije same proizvodnje vina.

## 4.2. REZULTATI I RASPRAVA SENZORSKE ANALIZE

Senzorska analiza uzoraka pokazala je zanimljive rezultate, prikazane u **Tablici 7**. Iz **Tablice 7**. se može vidjeti da se senzorska analiza razlikovala u uzorcima. Opisani atributi su bili važniji nego sama tablica ocjene uzorka. Naime, gotovo su svi uzorci bili ocjenjeni lošim ocjenama, oko 20 bodova, ali su opisni atributi dali realan opis i uvid u promjene koje se mogu detektirati i očekivati u pivu podvrgnutom PEP-u. Iz tog razloga smo izdvojili opisne attribute u **Tablici 7**. Najbolje su ocjenjeni uzorci crnog piva, svi su imali preko 20 bodova. Čini se da primjena PEP-a ne utječe previše na senzorska svojstva ovog stila piva. U opisnoj ocjeni također se može iščitati da se u ovim uzorcima ne osjeća velika promjena komponenti piva. To se vjerojatno može pripisati sirovinama koje se koriste u proizvodnji crnog piva. Naime, crni, prženi slad već ima zagoreni okus pa se vjerojatno teže detektira promjena nastala primjenom PEP-a.

Uzorak	Senzorski atributi	Bodovi
Lager kont.	u stilu	27
Lager 1	bez CO <sub>2</sub> spaljen okus nepoznati miris	15
Lager 2		16
Lager 3		16
APPA 2. kont.	u stilu	28
APPA 2. 1	metalni okus	18
APPA 2. 2	bez nepoželjnih aroma i mirisa	22
APPA 2. 3	metalni okus kiselo	13
APPA 1. kont	u stilu	26
APPA 1. 1	slabije izražen metalni okus	15
APPA 1. 2	slabije izražene nepoželjne komponente	19
APPA 1. 3		19
Crno kont.	u stilu	27
Crno 1.	bez izražene promjene	25
Crno 2.		22
Crno 3.		24
Kveik. kont.	u stilu	24
Kveik 1	kiselo	17
Kveik 2		18
Kveik 3		19

**Tablica 7.** Senzorski atributi i bodovi analiziranih uzoraka

Opaska da se osjeti gubitak CO<sub>2</sub>, zabilježena je kod lager piva, i to u svim uzorcima. Također, svi uzorci imali su spaljeni okus i nepoželjan, nepoznati miris. Kod uzoraka piva „APA 2.“ osjetio se metalni okus, a kod jednog uzorka uz metalni okus osjetio se i kiseli okus, također uz gubitak CO<sub>2</sub>. Uzorci piva „Kveik“ imali su osjetan kiseli okus nakon tretmana PEP-om, i to u svim uzorcima.

Prema studiji Milani i sur. (2015) pivovare se uvijek boje nepoželjnog neugodnog okusa piva. Glavni uzročnici nastajanja neugodnog okusa i arome piva su sunčeva svjetlost („light- struck flavor“) i 3-metil-2-buten-1-tiol, koji uzrokuju razgradnju izo- $\alpha$ -kiselina što ima za posljedicu ograničenje roka trajanja odnosno njegovo znatno smanjivanje. Cilj istraživanja Milani i sur. (2015.) bio je utvrditi utječe li PEP tretman na razvoj tih nepovoljnih karakteristika okusa i arome piva. Uspoređivana su tri različita načina pripreme svakog od devet uzoraka; 1) uzorak pozitivne kontrole (netretiran PEP-om i ne izložen svjetlosti), 2) uzorak tretiran PEP-om i ne

izložen svjetlu, 3) negativni kontrolni uzorak (ne tretiran PEP-om i izložen svjetlosti). Rezultati senzorske analize ukazuju na to da ocjenjivači nisu primijetili razliku u okusu kod piva vrste Pilsner, tamnog Ale piva i Ale piva s visokom koncentracijom alkohola, što ukazuje na to da kod ovih vrsta piva teže dolazi do nepoželjnih karakteristika okusa. Međutim, kod ostalih vrsta piva ocjenjivači su primijetili razliku i osjetili neugodnu aromu i kod piva tretiranim PEP-om i onim ne tretiranim, ali izloženom sunčevoj svjetlosti. Zaključili su da su neka piva otpornija od drugih te da je važno odabrati pivo te prema njemu optimizirati uvjete obrade PEP-om kako bi se izbjegle nepoželjne promjene na okus piva. Također, kao još jednu manu PEP tretmana navode dekarbonizaciju, odnosno gubitka CO<sub>2</sub>, što je bio slučaj i u ovom istraživanju.

U drugom istraživanju kojeg su provodili Evrendilek i sur. (2004.) provodila se senzorska analiza od strane 25 ocjenjivača. Ocjenjivači su detektirali metalni okus u ustima, koji je najvjerojatnije povezan s migracijom spojeva sa PEP elektroda u pivo tijekom obrade, što su i dokazali analizom koncentracije metalnih iona (Fe, Cr, Zn, Mn) kojih je bilo prisutno znatno više u pivu tretiranim PEP-om u odnosu na ne tretirano pivo.

Za kraj spomenut ćemo jedno istraživanje koje iznosi korist PEP tehnologije, a proveli su ga Oziemblowski i sur. (2017.) te uspješno dokazala utjecaj PEP-a na smanjenje gorčine i zamućenosti piva.





## **5. ZAKLJUČCI**

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

- Pulsirajuće električno polje kao nova tehnologija, koju nazivamo „zelenom tehnologijom“ zbog svojih niskoenergetskih i ekološki prihvatljivih osobina, omogućava nove načine za poboljšanje svojstava i stabilnosti piva.
- Rezultati su pokazali da su „craft“ piva podložna značajnijim promjenama polifenola nakon tretmana PEP-om. Analize su pokazale povećanje antioksidacijske aktivnosti i ukupnih polifenola u tretiranim uzorcima.
- U pogledu senzorske analize, ona i nije bila baš zadovoljavajuća za tretirane uzorke. Gotovo svako analizirano pivo nije imalo prihvatljiv okus nakon tretmana.
- Važno je napomenuti da se ove tehnologije još uvijek istražuju te da postoje određene varijacije u rezultatima i učincima na različite vrste piva. Također, postoje određene ograničenja i izazovi kao što su troškovi opreme, a i potreba za daljnjim istraživanjima kako bi se potvrdila njihova učinkovitost i sigurnost te prihvaćenost u cijelom svijetu.

## **6. LITERATURA**

- Bleier B, Callahan A, Farmer S, Min H: *Craft beer production*, Department of Chemical and Biomolecular Engineering School of Engineering and Applied Science, University of Pennsylvania, 2013.
- Boulton C: *Encyclopaedia of brewing*, John Wiley & Sons, Ltd., United Kingdom, 2013.
- Carvalho G, Leite AC, Leal R, Pereira R: *The role of emergent processing technologies in beer production*, *Beverages* 9(1), 2023.
- Evrendilek GA, Li S, Dantzer WR, Zhang QH: *Pulsed Electric Field Processing of Beer: Microbial, Sensory, and Quality Analyses*, *Journal of Food Science*, 69(8), M228–M232, 2004.
- Gad A, Jayaram SH: *Processing of carbonated beer by pulsed electric fields*, *IEEE Transactions on Industry Application*, Vol. 51(6), 4759-4765, 2015.
- Galazka-Czarnecka I, Korzeniewska E, Czarnecki A: *Modification of antioxidant activities in wines using pulsed electric field*, *Applications of Electromagnetics in Modern Engineering and Medicine (PTZE)*, 30-33, 2019.
- Galazka-Czarnecka I, Korzeniewska E, Czarnecki A: *Influence of pulsed electric field on the content of polyphenolic compounds in wine*, *Applications of Electromagnetics in Modern Engineering and Medicine (PTZE)*, 2018.
- Grgić J: *Ekstrakcija bioaktivnih komponenti iz duhanskog otpada primjenom visokonaponskog električnog pražnjenja*, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2019.
- Habschied K, Krstanovic V, Mastanjevic K: *Beer Quality Evaluation—A Sensory Aspect*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, *Beverages* 8(1), 2022.
- Habschied K, Krstanovic V, Mastanjevic K, Živković A: *Functional Beer—A Review on Possibilities*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, *Beverages* 6(3):51, 2020.
- Jelinić J: *Primjena novih tehnologija za ekstrakciju polifenola iz komine borovnice*, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Diplomski rad, 2020.

- Jeyamkondan S, Jayas DS, Holley RA: *Pulsed Electric Field Processing of Foods: A Review*, Journal of Food Protection, Vol. 62, No. 9, 1088–1096, 1999.
- Jurinić T: *Utjecaj procesnih parametara i sirovine na optimizaciju procesa filtrabilnosti piva*, Veleučilište u Karlovcu, završni rad, 2021.
- Liu M, Zhang M, Lin S, Liu J, Yang Y, Jin Y: *Optimization of extraction parameters for protein from beer waste brewing yeast treated by pulsed electric fields (PEF)*, African Journal of Microbiology Research, 6(22), 4739-4746, 2012.
- Lončarić A: *Utjecaj dodatka šećera i praha kore jabuka na udio polifenola i antioksidacijsku aktivnost kaša od jabuka*, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Doktorska disertacija, 2014.
- Martin-Garcia B, Tylewicz U, Verardo V, Pasini F, Gomez-Caravaca AM, Caboni MF, Dalla Rosa M: *Pulsed electric field (PEF) as pre-treatment to improve the phenolic compounds recovery from brewers' spent grains*, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 64, 2020.
- Milani EA, Alkhafaji S, Silva F: *Pulsed Electric Field continuous pasteurization of different types of beers*, Food Control, Vol. 50, 223-229, 2015.
- Ntourtoglou G, Tsapou EA, Drosou F, Bozinou E, Lalas S, Tataridis P, Dourtoglou V: *Pulsed Electric Field Extraction of  $\alpha$  and  $\beta$ -Acids From Pellets of *Humulus lupulus* (Hop)*, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 8, 297, 2020.
- Oziemblowski M, Drozd M, Kielbasa P, Drozd T, Gliniak M, Nawara P, Ostafin M: *Impact of pulsed electric field on the quality of unpasteurized beer*, Progress in Applied Electrical Engineering (PAEE), 2017.

- Paniagua-Martinez I, Ramirez-Martinez A, Serment-Moreno V, Rodrigues S, Ozuna C: *Non-thermal Technologies as Alternative Methods for Saccharomyces cerevisiae Inactivation in Liquid Media: a Review*, Food and Bioprocess Technology, 11(3), 487–510, 2018.
- Paunović D: *Hemijski sastav i antioksidativna aktivnost piva i sirovina za proizvodnju piva. Kinetika ekstrakcije*, Doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu, Prirodno- matematički fakultet, 2015.
- Pivovara i pivnica Mlinarica: *Naš proces proizvodnje piva*. [Mrežno] Dostupno na: <https://mlinarica.hr/proizvodnja-piva/> [Pristupljeno: rujan 2023].
- Rajha HN, Abi-Khattar AM, Boussetta N, Vorobiev E, Maroun RG, Louka N: *Effect of PEF and HVED on polyphenol extraction from pomegranate peels*, 5th International Conference on Renewable Energies for Developing Countries (REDEC), 2020.
- Rozman L: *Senzorska i fizikalno-kemijska svojstva piva proizvedenog pomoću dvije vrste kveik kvasca*, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Diplomski rad, 2022.
- Sarkis JR, Boussetta N, Blouet C, Tessaro IC, Marczak LDF, Vorobiev E: *Effect of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on polyphenol and protein extraction from sesame cake*, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 29, 170–177, 2015.
- Šakić N: *Tehnologija proizvodnje piva*, Gospodarska komora federacije BiH, Sarajevo, 2005.
- Šarić G: *Proizvodnja piva: kako proizvesti pivo?* (2020.) [Mrežno] Dostupno na: <https://gospodarski.hr/rubrike/ostalo/prilog-broja-kako-proizvesti-pivo/> ,[Pristupljeno 2023].
- Vaquero C, Loira I, Raso J, Alvarez I, Delso C, Morata A: *Pulsed electric field to improve the use of non-saccharomyces starters in red wine*, Foods, 10(7), 2021.

Vuzem M: *Proizvodnja i karakteristike lager piva proizvedenog kveik kvascem*, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Diplomski rad, 2022.

Walkling-Ribeiro M, Rodriguez-Gonzalez O, Jayaram SH, Griffiths MW: *Processing temperature, alcohol and carbonation levels and their impact on pulsed electric fields (PEP) mitigation of selected characteristic microorganisms in beer*, *Food Research International*, 44(8), 2524-2533, 2011.

Zare F, Ghasemi N, Bansal N, Hosano H: *Advances in Pulsed electric stimuli as a physical method for treating liquid foods*, *Physics of Life Reviews*, Vol 44, 207-266, 2023.

Zarnkow M: *Beer*, *Encyclopedia of microbiology: second edition*, Tehničko sveučilište u Münchenu, Freising, Njemačka, 209-215, 2014.

Zhao W, Tang Y, Lu L, Chen X, Li C: *Review: Pulsed Electric Fields Processing of Protein-Based Foods*, *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 114–125, 2013





