

Proizvodnja i karakterizacija piva s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje

Antunović, Petra

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:109:422891>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-20**

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**

Petra Antunović

**PROIZVODNJA I KARAKTERIZACIJA PIVA SA DODATKOM EKSTRAKTA
INDUSTRIJSKE KONOPLJE**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Zavod za Procesno inženjerstvo

Katedra za bioprocesno inženjerstvo

Franje Kuhača 18, 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 2022./2023. održanoj 2. svibnja 2023.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Kristina Mastanjević

Komentor: Krunoslav Aladić, doc. prof. dr. sc.

Proizvodnja i karakterizacija piva sa dodatkom ekstrakta industrijske konoplje

Petra Antunović, 0113144342

Sažetak: Pivo je najčešće konzumirano alkoholno piće u svijetu i ima dugu povijest primjene. Zbog svog sastava omogućava velik broj eksperimentiranja prilikom proizvodnje. Za proizvodnju sladovine osim ječmenog slada koriste se i sladovi drugih žitarica. U pivo se danas dodaju različite tvari arome, različiti okusi, aditivi, ali se i uklanjaju komponente iz njegovog sastava npr. alkohol kod proizvodnje bezalkoholnog piva. Jedna od tvari koja se može dodati za promjenu arome i okusa piva je industrijska konoplja. Konoplja se u prošlosti koristila u različite svrhe, ali se s vremenom počela zloupotrebljavati što je dovelo do zakonske zabrane njezina uzgajanja i korištenja. U današnje vrijeme uzgoj konoplje sa najviše 0,3 % THC-a se legalizira u nekim državama te se ponovo prepoznaje potencijal same biljke i njezinih proizvoda. Jedan od njih je i ekstrakt ekstrahiran iz cvijeta i listova biljke. Upravo se, za izradu ovog diplomskog rada, upotrijebio ekstrakt industrijske konoplje koji se dodao u pivo kako bi se dobio novi okus i aroma piva.

Ključne riječi: Industrijska konoplja, pivo, ekstrakt, sladovina

Rad sadrži: 46 stranica
28 slika
4 tablica
0 priloga
31 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

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

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

Datum obrane: 26.09.2023.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, 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 18, 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 May 2nd 2023

Mentor: Kristina Mastanjević, PhD, assoc. prof.

Co-mentor: *Krunoslav Aladić*, PhD, Assistant professor

Production and characterization of beer with the addition of hemp extract

Petra Antunović, 0113144342

Summary: Beer is the most consumed alcoholic beverage in the world and has a long history of use. Due to its composition, it enables many experiments during production. In addition to barley malt, other cereal grain malts are used for its production. Today, different aroma substances, flavours and additives are added to beer, but also components are removed from it, for example, alcohol in the production of non-alcoholic beer. One of the substances added to change the aroma and taste of beer is industrial hemp. Hemp was used for various purposes in the past, but over the time it began to be abused, which led to a legal ban on its cultivation and use. Nowadays, the cultivation of hemp with a maximum of 0.3% THC is legalized in some countries, and the potential of the plant itself and its products is being recognised. One of them is the extract extracted from the flower and leaves of the plant. Production of the extract gives the possibility of using parts of the plant that otherwise represent waste after the production of other products. The extract of industrial hemp was used for the preparation of this thesis and was added to beer in order to obtain a new taste and aroma of beer, an appropriate composition and good acceptability of the beer itself.

Key words: Industrial hemp, beer, extract, wort

Thesis contains: 46 pages
28 figures
4 tables
0 supplements
31 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Stela Jokić</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Kristina Mastanjević</i> , PhD, assoc. prof. | supervisor |
| 3. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, assistant prof. | member |
| 4. <i>Vinko Krstanović</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: 26.9.2023.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

Zahvaljujem svojim roditeljima na velikoj psihološkoj i financijskoj podršci, bezuvjetnoj ljubavi te velikoj vjeri u mene da ću jednog dana ostvariti svoje ciljeve. Želim zahvaliti svojoj sestri Andrei koja je u svakom trenutku bila moj oslonac kako tijekom studiranja tako i u životu, pružala mi veliku moralnu podršku te vjerovala i bila uz mene kada je bilo najteže. Također želim zahvaliti dečku Andreju koji mi je bio velika potpora, zanimao se za moje kolegije i studiranje te se jednako veselio mojim uspjesima kao i ja. Želim zahvaliti svojim prijateljima i obitelji na njihovom ohrabivanju i što su mi pokazali da je moguće ostvariti sve kada to želiš. Na kraju želim zahvaliti mentorici Kristini Mastanjević na velikoj pomoći tijekom studiranja i bez čije pristupačnosti i kolegijalnosti ovaj diplomski rad kao i završetak studija ne bi bio moguć.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 3 |
| 2.1. PROIZVODNJA PIVA | 4 |
| 2.2. PROIZVODNJA PIVA S DODATKOM INDUSTRIJSKE KONOPLJE | 6 |
| 2.3. INDUSTRIJSKA KONOPLJA | 7 |
| 2.3.1. Ekstrakt industrijske konoplje | 9 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 11 |
| 3.1. ZADATAK | 12 |
| 3.2. METODE I MATERIJALI | 12 |
| 3.2.1. Proizvodnja sladovine | 12 |
| 3.2.1.1. Mljevenje slada | 13 |
| 3.2.1.2. Ukomljavanje | 16 |
| 3.2.1.3. Cijeđenje i ispiranje tropa | 19 |
| 3.2.2. Hmeljenje..... | 21 |
| 3.2.3. Dodatak ekstrakta industrijske konoplje | 23 |
| 3.2.4. Hlađenje sladovine s dodanim ekstraktom industrijske konoplje | 23 |
| 3.2.5. Gaziranje i pakiranje piva..... | 26 |
| 3.2.6. Analiza fizikalno-kemijskih karakteristika piva s ekstraktom industrijske konoplje | 28 |
| 3.2.6.1. Određivanje boje piva | 28 |
| 3.2.6.2. Određivanje gorčine piva | 29 |
| 3.2.6.3. Određivanje ukupnih polifenola u pivu..... | 31 |
| 3.2.6.4. Određivanje ostalih fizikalno – kemijskih karakteristika | 32 |
| 3.2.7. Senzorska analiza | 34 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 35 |
| 4.1. REZULTATI ANALIZIRANIH PARAMETARA | 36 |
| 4.2. SENZORSKA ANALIZA | 38 |
| 5. ZAKLJUČCI | 41 |
| 6. LITERATURA | 43 |

Popis oznaka, kratica i simbola

PTFOS – Prehrambeno – tehnološki fakultet u Osijeku

THC – tetrahidrokanabinol

CBD – kanabidiol

1. UVOD

Pivo je najpoznatije i najčešće konzumirano alkoholno piće na svijetu. Postoje zapisi da proizvodnja piva počinje 6000 godina prije Krista na području Mezopotamije, tj. Babilona. Nedavno su otkriveni zapisi na području Kine o konzumaciji pića sličnog pivu koji datiraju unatrag 10000 godina u doba neolitika (Gonzalez Viejo i sur., 2019.; Zugravu i sur., 2023.). Drevni Egipćani su već uvelike konzumirali pivo o čemu svjedoče svici papirusa na kojima je zapisan postupak proizvodnje piva. Pivo se smatralo kao manje vrijedno piće od vina, a pivopije su se nazivale nižim bićima. Takvo mišljenje o pivu se mjenja za vrijeme vladavine Karla Velikog kada se pivo počinje proizvoditi u samostanima (Marić, 2009.). Proučavanje piva u posljednja dva stoljeća je otvorilo mogućnost brojnim temeljnim istraživanjima općenito na području znanosti.

Industrijska konoplja je višenamjenska kultura koja sve više privlači pozornost javnosti zbog jedinstvenih ekoloških, agronomskih i farmaceutskih svojstava što ju čini korisnom sirovinom u proizvodnji različitih proizvoda. Podrijetlo vuče iz središnje Azije, a prvi dokaz uzgoja potječe iz doba Neolitika (4000 godina prije Krista). U Kini je bila osnovna sirovina za proizvodnju odjeće, jedara, papira, užadi itd., a koristila se i u medicinske svrhe. Po nekim zapisima uzgoj konoplje je započeo u zapadnoj Aziji te se proširio od Kine do Egipta i naposljetku u Europu i Ameriku (Karche i Singh, 2019.). Veliku rasprostranjenost diljem svijeta omogućila joj je njezina laka prilagodljivost klimatskim uvjetima, kako tropskim tako i umjerenim klimatskim područjima. Jedan od proizvoda je i eterično ulje, odnosno ekstrakt industrijske konoplje. To je proizvod s dodanom vrijednošću koji otvara različite mogućnosti u području primjene.

Danas se u pivo dodaju različiti okusi, arome, aditivi i sl., a posebno su zanimljiva piva sa dodatkom konoplje. Za potrebe izrade diplomskog rada u laboratoriju na PTFOS-u smo proizveli pivo u koje smo dodali ekstrakt industrijske konoplje. U ovom diplomskom radu će se obraditi sam proces proizvodnje, analiza fizikalno – kemijskih karakteristika piva te provesti senzorska analiza kako bi ispitali prihvatljivost piva sa dodatkom ekstrakta industrijske konoplje među potrošačima.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PROIZVODNJA PIVA

Pivo je najpoznatije fermentirano alkoholno piće s niskim udjelom alkohola. To je proizvod dobiven alkoholnim vrenjem pивske sladovine upotrebom čistih kultura pivskih kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* iznimno spontanom alkoholnim vrenjem ili upotrebom mješovitih kultura kvasaca. Pivo sadrži različite antioksidanse, fenolne spojeve, vitamine B skupine u tragovima, minerale (selenij, silicij, kalij) i topljiva vlakna. Osnovne sirovine za proizvodnju piva su slad, voda, hmelj i kvasac. Proces proizvodnje piva odvija se kroz nekoliko koraka, a to su proizvodnja sladovine, vrenje, bistrenje, dorada i pakiranje piva u ambalažu (Zugravu i sur., 2023.).

Prvi korak u proizvodnji sladovine je meljava ili drobljenje slada. Slad koji se najčešće koristi u proizvodnji su ječmeni i pšenični, a sirovine koje se mogu još koristiti u proizvodnji slada su raž, proso, sirak, riža i zob. Nakon mljevenja slada slijedi ukomljavanje. Ukomljavanje je postupak u kojem se sladna prekrupa miješa sa toplom vodom u komovnjaku, a neslađene žitarice u kotlu komine koji služi i za kuhanje komine radi prevođenja škroba u škrobni lijepak koji je podložan amilolitičkoj razgradnji (Marić, 2009.). Sladna komina i komina neslađenih žitarica se pomiješaju u komovnjaku u kojem se provodi enzimska hidroliza pri čemu se škrob hidrolizira do jednostavnijih šećera, a proteini do aminokiselina. Za vrijeme ukomljavanja temperatura se podiže do 78 °C. Na toj temperaturi završava ukomljavanje i provodi se filtracija s ciljem odvajanja zrna od sladovine. Postupak filtracije traje oko 2 sata i odvija se na temperaturama 75 – 80 °C. Takva sladovina se zatim kuha 2 sata i prilikom kuhanja se dodaje hmelj. Hmelj se dodaje s ciljem poboljšanja kvalitete i stabilnosti piva, dobivanja karakteristične hmeljne arome i gorčine piva (de Lima i sur., 2022.). Tijekom kuhanja dolazi do oslobađanja tvari gorčine iz hmelja, uklanjaju se nepoželjne hlapljive komponente, sladovina se sterilizira i postiže se njezina konačna koncentracija, te dolazi do taloženja proteina velike molekulske mase i inaktivacije enzima. Nakon kuhanja slijedi bistrenje kada se odvajaju istaloženi proteini, sladovina se hladi i aerira (Mastanjević, 2023.).

Na dobivenu sladovinu nacjepljuje čista kultura kvasca te započinje postupak vrenja, tj. alkoholna fermentacija. Pivo se s obzirom na vrstu kvasca za vrenje može podijeliti na piva donjeg i gornjeg

vrenja (de Lima i sur., 2022.; Mastanjević, 2023.). Kod proizvodnje piva donjeg vrenja fermentaciju provodi kvasac *Saccharomyces pastorianus*. Kvasac se na kraju fermentacije istaloži na dno fermentacijske posude i zato se piva nastala takvim postupkom nazivaju pivima donjeg vrenja. Takva piva nazivamo i pivima hladnog vrenja jer se fermentacija odvija na temperaturama 8 – 15 °C. Piva donjeg vrenja su Lager piva koje karakterizira pun okus, hmeljna aroma, čvrsta pjena i različite boje piva. Lager piva su najčešće konzumirana vrsta piva na svijetu. Za proizvodnju piva gornjeg vrenja koristi se kvasac *Saccharomyces cerevisiae*. On na kraju fermentacije ispliva na površinu piva i zato se nazivaju pivima gornjeg vrenja. Piva gornjeg vrenja nazivamo i pivima toplog vrenja jer se proces fermentacije odvija na temperaturama 14 – 25 °C. To su tzv. Ale piva koje karakterizira prazniji okus u usporedbi s lager pivom, slaba i nestabilna pjena, te činjenica da više podsjećaju na vino (de Lima i sur., 2022.; Mastanjević, 2023.). Prilikom vrenja, tj. fermentacije kvasac provodi transformaciju fermentabilnih šećera u alkohol i ugljikov dioksid (CO₂). Sladovina postupno postaje mlado pivo, tj. tekućina koja sadrži povećan broj kvašćevih stanica, etanol, otopljeni ili plinoviti CO₂ i ostale nusproizvode fermentacije. Na kraju glavnog vrenja mlado pivo se hladi i prebacuje u ležne tankove. Mlado pivo ima neprijatan miris i okus po kvascu te visoke koncentracije diacetila, aldehida i sumpornih spojeva koji se nakupljaju tijekom glavnog vrenja, a uklanjaju tijekom dozrijevanja. Ima nizak udio otopljenog CO₂ zbog čega je reskost slabo izražena. Mutno je radi prisutnih suspendiranih stanica kvasca i proteinskog taloga iz sladovine. Iz tih razloga provodi se naknadno vrenje koje uključuje doviranje i odležavanje mladog piva. Ta dva procesa podrazumijevaju zaštitu piva sa CO₂ otapanjem CO₂ pri niskoj temperaturi i visokom tlaku, ispiranje piva sa CO₂ koji nastaje u procesu doviranja, kreće se prema izlaznom ventilu i na taj način uklanja neželjene komponente, te taloženje suspendiranih sastojaka s ciljem prirodnog bistrenja piva. Prirodno bistrenje piva traje oko 3 mjeseca ako je pivo odležavalo na nižim temperaturama (Mastanjević, 2023.).

Dorada piva uključuje odvajanje stanica kvasca i proteina centrifugom, filtraciju na niskim temperaturama, stabilizaciju piva dodatkom sredstava za stabilizaciju (bentonit, kiselgur i sl.), biološku stabilizaciju piva dubinskom filtracijom ili paterizacijom, biološku stabilizaciju piva nakon punjenja u ambalažu, korekciju vrijednosti nekih sastojaka karbonizacijom, razrijeđivanjem, bojenjem, dodatkom α – kiselina (Mastanjević, 2023.).

Prilikom punjenja u ambalžu, treba spriječiti doticaj piva sa zrakom, gubitak CO₂ i održavati čistoću opreme za punjenje piva u ambalažu. Kao ambalaža najčešće se koriste staklene boce. Boce prije punjenja moraju biti oprane za što se koristi lužina (NaOH) s aditivima. Punjenje se provodi pod povišenim tlakom. Boce se nakon punjenja trebaju što brže zatvoriti čepom, a koriste se krunski, twist off i pull off čepovi. Na boce se lijepe etikete sa informacijama o proizvodu i njegovom proizvođaču. Također se kao ambalaža mogu koristiti PET boce, limenke, bačve i kegovi.

2.2. PROIZVODNJA PIVA S DODATKOM INDUSTRIJSKE KONOPLJE

S obzirom da proizvodnja industrijske konoplje sve više raste na svjetskoj razini, raste i interes za proizvodima s dodatkom industrijske konoplje, kako u proizvodnji prehrambenih proizvoda tako i u proizvodnji napitaka, bilo alkoholnih ili bezalkoholnih. Danas već postoje pivovare koje proizvode pivo s dodatkom industrijske konoplje. Treba napomenuti da naziv *Cannabis sativa* obuhvaća 3 različite varijante: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* i *Cannabis ruderalis*. Iz tog razloga potrošači pretpostavljaju da će pivo s dodatkom *Cannabis sativa* cvijeta, lista, sjemenke ili slično imati jednak utjecaj na organizam kao i konzumacija na neke druge načine. Kao što je rečeno, u proizvodnji piva se koristi industrijska konoplja koja ima 0,3 % THC-a u odnosu na kanabis i marihuanu koji imaju 10 %. Proces proizvodnje piva je konvencionalan, ali se dodaje još industrijska konoplja u različitim oblicima. Razlikujemo dvije vrste piva. Pivo s dodatkom industrijske konoplje koje podrazumijeva dodatak različitih dijelova biljke radi dobivanja novog okusa. Druga vrsta piva su piva inkorporiranim CBD-om ili THC-om, ali takva piva nemaju ili imaju vrlo mali postotak alkohola s obzirom da je zabranjeno miješati psihoaktivne komponente s alkoholom, te se dodaje samo 10 mg CBD-a, odnosno THC-a (Ramírez i Viveros, 2020.).

Hmelj i industrijska konoplja pripadaju istoj porodici *Cannabaceae*, te je industrijska konoplja najbliži "rođak" hmelju. Imaju slične osobine kao što je npr. sastav terpena koji prevladavaju u obje biljke (linalol, limonen, geraniol, mircen i drugi). Zbog svoje srodnosti mogu se koristiti zajedno u proizvodnji piva, no hmelj sadrži puno više α – kiselina koje daju karakterističnu gorčinu

pivu. Zbog toga što industrijska konoplja nema dovoljnu količinu α – kiselina ne može zamijeniti hmelj u proizvodnji piva (Ramírez i Viveros, 2020.).

Amandine André sa ZWAH Sveučilišta primijenjenih znanosti u Zürichu provodi istraživanje čiji je cilj zamijeniti hmelj s industrijskom konopljom, točnije cvijetom. Istraživanje je počela provoditi 2019. godine iz razloga što u Švicarskoj ne prevladavaju uvjeti pogodni za proizvodnju hmelja pa proizvođači piva ovise o uvozu i ne mogu se zaštititi od fluktuacije u proizvodnji i kvaliteti. Drugi razlog su klimatske promjene i povišene temperature koje vode do smanjenja kvalitete hmelja i sastava amaroida, tvari gorčine koji pivu daju okus. S druge strane konoplja, kao korov, može rasti i prilagoditi se svim okolišnim uvjetima. S obzirom da se upotrebljavaju samo sjemenke koje se koriste u proizvodnji ulja, te stabljike u proizvodnji građevinskog materijala i papira, cvjetovi ostaju neiskoristivi produkt koji se baca u otpad. Iz tog razloga je od cvjetova konoplje odlučila napraviti jedan od primarnih nusproizvoda (Plüss, 2021.).

Danas postoje craft piva s dodatkom industrijske konoplje. Jedno od takvih je Hempin' Ain't Easy, craft pivo u čijem se sastavu nalaze sjemenke industrijske konoplje (Rouse, 2021.). Još jedan primjer craft piva je Ceria, bezalkoholno pivo s dodatkom kanabisa, koje sadrži THC ali u koncentracijama koje imaju jednako opuštajući utjecaj na organizam kao i alkohol. U zapadnim zemljama lišće industrijske konoplje se u posljednjih nekoliko godina koristi kao zamjena za hmeljnu aromu u malom broju specijalnih piva. Drugi proizvođači piva su koristili sjemenke, uglavnom lagano propržene prije dodatka u posudu za kuhanje jer se smatra da sjemenke daju orašast okus. Uzimajući sve u obzir, industrijska konoplja se u pivarstvu uglavnom koristi radi dodavanja okusa i arome, a ne opojnog djelovanja.

2.3. INDUSTRIJSKA KONOPLJA

Industrijska konoplja (*Cannabis sativa*) pripada porodici konopljovki (*Cannabinaceae*). To je višenamijenska biljka koja ima dugu povijest primjene. Koristila se kao građevinski materijal za proizvodnju užadi i brodova, kao prehrambeni proizvod za ljude i životinje, te u medicinske svrhe. Zbog prisutnosti psihoaktivnih komponenti, ljudi su je počeli zloupotrebljavati zbog čega je u 19. stoljeću izgubila svoju pravu vrijednost i postala zakonom zabranjena. Nakon nekoliko desetljeća

ponovno je prepoznat njezin potencijal u proizvodnji prehrambenih proizvoda, kozmetičkih proizvoda, građevinskog materijala, papira, tekstila, primjeni u medicinske svrhe i kao korisna biljka u poljoprivredi. Konoplja je brzorastuća biljka koja može dosegnuti visinu oko 4 m. Može rasti u različitim uvjetima i lako ju je uzgajati jer nema previše zahtjeva za gnojidbom i zaštitom. Nije potrebno koristiti herbicide i insekticide tijekom uzgoja zbog čega se smatra i ekološkom biljkom. Zbog brzog rasta dokazano je da efikasnije razgrađuje dušične spojeve, uzima puno više CO₂ iz zraka i brzo provodi proces fotosinteze, možda i brže od većine biljaka (Visković i sur., 2023.). Pokazano je da predstavlja dobar predusijev većini ratarskih i povrtnih kultura jer njezin korijen prodire duboko u tlo, rahli i prozračuje ga stoga se jako dobro uklapa u plodored. Naziva se i ekološkim herbicidom jer usporava ili spriječava rast korova pošto ima dobro razvijenu nadzemnu masu. Ima sposobnost da izvlači teške metale (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Cr, Hg, Co, Mo, As) što je jako bitno s obzirom da smo suočeni sa sve većim onečišćenjem tla ovim metalima (Rapčan i sur., 2021.).

U pogledu medicinskog djelovanja, koristila se kao analgetik (u području neurologije, za liječenje glavobolje i zubobolje), antikonvulziv (u liječenju epilepsije, tetanusa i bjesnoće), hipnotik, sredstvo za smirenje (u borbi protiv anksioznosti, manije i histerije). Upotrebljavala se i kao anestetik, protuupalno sredstvo (reumatizam i druge upalne bolesti), antibiotik (liječenje infekcija kože i tuberkuloze), sredstvo u borbi protiv endoparazita i ektoparazita, antispazmodik (kolike, proljev), probavni stimulator, stimulator apetita, diuretik, afrodizijak ili anafrodizijak, antitusik i ekspektorans (bronhitis, astma) (Karche i Singh, 2019.).

Spojevi koji su karakteristični za konoplju su terpenofenolni spojevi kanabinoidi. Najzastupljeniji su THC ili δ 9-THC, što je i psihoaktivna komponenta konoplje. Zbog njezine prisutnosti zabranjeno je uzgajati vrste konoplje koja ima više od 0,3 % δ 9-THC. Drugi najzastupljeniji spoj je CBD koji postaje sve popularniji u kozmetičkoj i prehrambenoj industriji (Ramírez i Viveros, 2020.).

Stoga se u posljednje desetljeće otvara i širi potpuno novo tržište proizvoda od industrijske konoplje. Popratno raste i zanimanje populacije i znanstvenika za mogućnosti koje biljka pruža u budućnosti (Ramírez i Viveros, 2020.).

2.3.1. Ekstrakt industrijske konoplje

Ekstrakti su koncentrirane hidrofobne otopine koje sadrže različite hlapljive spojeve, a ekstrahiraju se iz različitih dijelova biljke najčešće metodom destilacije. Ekstrakt industrijske konoplje dobiva se destilacijom gornjih listova i cvijeta biljke jer se u tim dijelovima biljke nalaze žljezdani trihomi u kojima se luči i skladišti ekstrakt biljke. Ekstrakt industrijske konoplje je nusproizvod s dodanom vrijednošću te predstavlja jako dobro rješenje za iskorištenje lišća i cvjetova koji zaostaju i bacaju se u otpad u preradi vlakana konoplje. Jedini problem kod proizvodnje ekstrakta su mali prinosi, no na to utječe niz faktora kao što su genotip, mjesto uzgoja, agronomske karakteristike, razvojni stadij pri berbi, uvjeti skladištenja ubranog materijala i korištena metoda ekstrakcije (Mezzeta i sur., 2021.). Boja ekstrakta industrijske konoplje je blijedo žuta do svijetlo zelena i ima opuštajuću biljnu aromu karakterističnu za biljku, s gorkim i citrusnim notama.

Ima složeni sastav hlapljivih spojeva, prvenstveno monoterpena, seskviterpena i drugih terpenoidima sličnim spojevima čiji sastav ovisi o već navedenim faktorima. Prevladavajući monoterpen je mircen koji je odgovoran za biljnu aromu, a ima i sedativni učinak što je korisno u području medicine. Nadalje, sadrži limonen koji daje citrusnu aromu i obično se u prehrani koristi kao dodatak aromi ili se koristi u proizvodnji parfema. Pomaže u borbi protiv anksioznosti, potpomaže probavu i djeluje protuupalno. Ostali terpeni koji su prisutni su α -pinen (antimikrobna i bronhodilatatorna svojstva (povećava protok zraka u pluća)), inhibitor acetilkolinesteraze (poboljšava pamćenje), β -pinen (lokalni antiseptik, protuupalni i bronhodilatatorni učinak), kamfen, p-cimen, ocimen i terpinolen (svježi citrusni miris sa svojstvima protiv anksioznosti, sedativni učinak). Seskviterpeni koji su prisutni su β -kariofilen (protuupalna svojstva, sprječava oticanje, štiti želudac, pomaže u ublažavanju upale debelog crijeva), α -humulen (antibakterijski, protuupalni i andanorektični (suzbija apetit) učinak) i selinen (Luo i Lim, 2023.).

Navedeni spojevi imaju potencijalnu primjenu u kozmetici, kao prehrambeni aditivi, u aromaterapiji, proizvodnji parfema, a pokazuje potencijal za proizvodnju insekticida, herbicida i baktericida. Može se koristiti u medicinske svrhe zbog prirodnih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava, te antibiotskog učinka. Ima pozitivan učinak kod ublažavanja stresa i anksioznosti,

nesanice, nedostatka apetita, ublažavanja slabosti nakon kemoterapije, štiti kožu od UV zraka i hidratizira ju, povoljno djeluje na ekceme i laskavicu, a pruža i olakšanje kod glavobolje i migrene.

Sudeći po svemu, ekstrakt industrijske konoplje ima širok spektar primjene, a prema rastućem trendu upotrebe biljke i ulja, ima potencijala za proizvodnju još novih različitih proizvoda.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Cilj ovog diplomskog rada bio je proizvesti pivo sa dodatkom ekstrakta industrijske konoplje i odrediti njegove fizikalno – kemijske i senzorske karakteristike. Pretpostavka je da će proizvedeno pivo imati veću alkoholnu jakost od ostalih komercijalno dostupnih piva i da će cvjetna aroma biti izraženija zbog inteziteta samog ekstrakta. Također očekuje se i veći udio polifenola u odnosu na pivo bez dodatka ekstrakta. Provedena je i senzorska analiza kako bi se ispitala prihvatljivost piva od strane potrošača.

3.2. METODE I MATERIJALI

Za proizvodnju piva sa dodatkom ekstrakta industrijske konoplje koristila se destilirana voda u koju je dodana odgovarajuća količina soli. Za proizvodnju se koristio ječmeni slad, a kako bi se osigurala gorčina piva, odnosno provelo hmeljenje, upotrijebio se hmelj Smaragd sa udjelom α -kiselina od 8,1 %. Ekstrakt industrijske konoplje koji se koristio prilikom kuhanja piva je osigurala Katedra za tehnološko projektiranje i farmaceutsko inženjerstvo na PTFOŠ. Analiza fizikalno – kemijskih karakteristika provedena je u laboratoriju Osječke pivovare, dok je senzorska analiza provedena na PTFOŠ-u.

3.2.1. Proizvodnja sladovine

Za proizvodnju sladovine potrebno je samljeti odgovarajuću količinu slada koja ovisi o volumenu vode koji se koristi za kuhanje piva. Nakon toga slijedi ukomljavanje za koje se, u laboratorijskim uvjetima, upotrijebio uređaj Speidel Braumeister od nehrđajućeg prehrambenog čelika kojeg prikazuje **Slika 1**. Postupak ukomljavanja odvija se na 68 °C 1 h. Kada završi proces ukomljavanja trop se ispire i sladovina se cijedi. Potom se sladovina zagrije na 100 °C i doda se hmelj. Hmeljena sladovina se kuha 1 h. S obzirom da se proizvodilo pivo sa ekstraktom industrijske konoplje, na kraju kuhanja se dodao ekstrakt u ohmeljenu sladovinu.



Slika 1: Uređaj za kuhanje piva Speidel Braumeister (izvor: privatna arhiva)

3.2.1.1. Mljevenje slada

Izvagani slad je potrebno mehanički obraditi tako da se endosperm što bolje usitni, a pljevica sladnog zrna očuva. Na taj način se dobije sladna prekrupa koja osigurava veliku dodirnu površinu. Granulometrijski sastav sladne prekrupe je bitan radi provođenja postupka ukomljavanja, tj. ošećerenja komine. Važan je i radi trajanja cijedenja sladovine, odnosno na brzinu cijedenja i razdvajanja sladne komine na sladovinu i trop. Poznavanje granulometrijskog sastava omogućava pouzdanije određivanje trajanja vrenja sladovine i iskorištenje ekstrakta (Marić, 2009.).

Za proizvodnju piva s ekstraktom industrijske konoplje koristilo se 5 kg ječmenog slada Maris Otter (**Slika 2**) kojeg smo mehanički obradili pomoću laboratorijskog mlina (**Slika 3**) na granulaciju 2,5 mm (**Slika 4**).



Slika 2: Ječmeni slad Maris Otter (izvor: privatna arhiva)



Slika 3: Laboratorijski mlin za usitnjavanje ječma (izvor: privatna arhiva)



Slika 4: Usitnjeni ječmeni slad (izvor: privatna arhiva)

3.2.1.2. Ukomljavanje

Ukomljavanje je postupak miješanja sladne prekrupe s toplom vodom. Za vrijeme ukomljavanja odvija se enzimska hidroliza pri čemu dolazi do konverzije netopljivih sastojaka slada u topljivi oblik djelovanjem enzima α - i β -amilaza sintetiziranih tijekom klijanja, tj. slađenja ječma. Aktivnost i stabilnost enzima ovisi o temperaturi i pH vrijednosti komine pa tijekom hidrolize treba održavati optimalne vrijednosti ovih parametara kako bi se postigla optimalna aktivnost enzima (Marić, 2009.).

U Speidel Braumeister uređaj ulije se 23 L destilirane vode i doda se odgovarajuća količina soli. Provodio se način ukomljavanja karakterističan za proizvodnju pale ale piva pa se stoga dodaje 14 g CaCl_2 , 9 g MgSO_4 i 6,5 g CaSO_4 . Na taj način postigla se pH vrijednost vode od 5,5. Pri toj pH vrijednosti postiže se bolja razgradnja proteina, nastaje više spojeva visoke i niske molekularne mase. Također se ubrzava cijedenje sladovine iz komine, smanjuje se viskoznost sladovine i sprječava promjena boje sladovine za vrijeme kuhanja (Marić, 2009.).

Na uređaju za ukomljavanje podesimo da zagrije destiliranu vodu s dodanim solima na 68 °C (**Slika 5**). Početna temperatura ukomljavanja trebala bi biti približna optimalnoj temperaturi aktivnosti proteolitičkih i citolitičkih enzima koji kataliziraju proces oslobađanja škroba iz škrobnih zrnaca (Marić, 2009.). Kada voda postigne zadanu temperaturu, u uređaj se postavi cijev za ukomljavanje sa sitima na dnu cijevi koja će služiti kao filter tijekom cijedenja i ispiranja slada radi što učinkovitije ekstrakcije šećera u sladovinu. Nakon toga se doda 5 kg usitnjenog slada, te se stave čelična sita i mrežice koje prikazuje **Slika 6**. Sita i mrežice sprječavaju prijelaz slada iz posude za vrijeme prelijevanja vode pomoću pumpe. Pumpa povlači vodu odozdo i prelijeva ju radi što bolje ekstrakcije šećera u sladovinu. Taj proces prelijevanja prikazuje **Slika 7**. Pumpa također služi za aeriranje sladovine jer je u prvoj fazi fermentacije potreban kisik kako bi kvasci mogli proizvoditi biomasu.

Zatim slijedi proces ukomljavanja koji se provodi 1 h na 68 °C. Sladovina dobivena ukomljavanjem naziva se prvijenac.



Slika 5: Prikaz kontrole temperature za vrijeme ukomljavaanja (izvor: privatna arhiva)



Slika 6: Postavljanje sita i mrežica u uređaj Speidel Braumeister (izvor: privatna arhiva)



Slika 7: Prelijevanje vode pomoću pumpe (izvor: privatna arhiva)

Prilikom ukomljavanja odvijaju se biokemijske reakcije enzimske hidrolize. Dolazi do razgradnje netopljivog škroba na topljive dekstrine i fermentabilne šećere maltozu, glukozu i maltotriozu. Proces razgradnje kataliziraju α - i β -amilaze sintetizirane tijekom klijanja, tj. slađenja ječma. Proteolitički enzimi razgrađuju proteine do polipeptida, peptona i slobodnih aminokiselina. S obzirom da su prisutni različiti enzimi s različitim optimalnim temperaturama aktivnosti, ukomljavanje se provodi u temperaturnom rasponu 35 – 76 °C uz postupno zagrijavanje i zadržavanje na određenim temperaturama. Koja količina šećera će nastati ovisi o temperaturi na kojoj se komina zadržava, trajanju zadržavanja komine, pH vrijednosti i koncentraciji komine. Kada je cilj dobiti sladovinu s većom koncentracijom maltoze, komina se zadržava na 62 – 64 °C što je optimalna temperatura za aktivnost β -amilaze. A ako se želi dobiti sladovina s većom količinom dekstrina, komina se zadržava na 72 – 75 °C što je optimalna temperatura za aktivnost α -amilaze. U praksi je završna temperatura enzimske hidrolize škroba 76 – 78 °C jer je to malo niža temperatura od temperature toplinske inaktivacije α -amilaze, pa ona može nastaviti hidrolizu i tijekom cijedenja sladovine iz komine (Marić, 2009.).

3.2.1.3. Cijeđenje i ispiranje tropa

Kada završi proces ukomljavanja, posuda sa sladom se izvadi iz sladovine i trop se cijedi kako prikazuje **Slika 8** i **Slika 9**. Nakon cijeđenja, trop se polagano ispire vodom, u koju su dodane soli odgovarajućih količina, tako da se obuhvati cijela površina što prikazuje **Slika 10**. Soli i njihova količina koja se dodaje u vodu za ispiranje su: 1,13 g CaSO_4 , 1,56 g MgSO_4 i 2,53 g CaCl_2 . Ispiranjem tropa povećava se iskorištenje šećera u sladovini. Zaostali trop je nusproizvod koja može poslužiti za ishranu stoke.



Slika 8: Posuda sa sladom izvađena iz uređaja Speidel Braumeister (izvor: privatna arhiva)



Slika 9: Cijeđenje tropa (izvor: privatna arhiva)



Slika 10: Ispiranje tropa vodom s dodanim solima (izvor: privatna arhiva)



Slika 11: Trop, nusproizvod ukomljavaanja (izvor: privatna arhiva)

3.2.2. Hmeljenje

Nakon cijedenja tropa, sladovina se zagrijava na 100 °C. Da bi se proces fermentacije piva što učinkovitije kontrolirao, otpipetira se 2 mL sladovine i pomoću EasyDens (Anton Paar) uređaja se odredi vrijednost fermentabilnih šećera u sladovini koji je u ovom slučaju iznosio 13,5 °P. Kada se sladovina zagrije na temperaturu od 100 °C, u nju se doda 40 g hmelja. Za potrebe izrade diplomskog rada upotrebljavali smo hmelj Smaragd sa 8,1 % α -kiselina u obliku briketa pakiran u vakuumu kako prikazuje **Slika 12**. Zatim se hmeljena sladovina kuha oko 1 h na 100 °C.



Slika 12: Hmelj Smaragd (izvor: privatna arhiva)

Kuhanje se provodi radi isparavanja suvišne vode iz sladovine. Ispiranjem tropa sladovina se razrijedi vodom i ima udio suhe tvari manji od željenog pa se kuhanjem sladovina uparava na odgovarajuću koncentraciju suhe tvari za određeni tip piva. Također se inaktiviraju enzimi koji su obavili svoju funkciju, dolazi do koagulacije proteina, sterilizacije sladovine, ekstrakcije tvari gorčine i arome iz hmelja. Najbitniji proces koji se odvija tijekom kuhanja sladovine u koju je dodan hmelj je konverzija netopljivih α -kiselina u topljive izo- α -kiseline, odnosno humulone, i beta kiseline, odnosno lupulone (Mastanjević, 2023.). Humuloni su sastojci gorčine hmelja, a lupuloni imaju jaka antiseptička svojstva.

3.2.3. Dodatak ekstrakta industrijske konoplje

Nakon 1 h kuhanja ohmeljene sladovine, sladovinu pretočimo iz uređaja Speidel Braumeister u lonac i dodamo ekstrakt industrijske konoplje. Ekstrakt se dodaje "na vrh" špatule s obzirom da ima jaku aromu i ne želimo da nadvlada aromu piva. Kada smo dodali ekstrakt industrijske konoplje, sladovina se hladi. **Slika 13** prikazuje ekstrakt industrijske konoplje koji je osigurala Katedra za tehnološko projektiranje i farmaceutsko inženjerstvo na PTFOŠ.



Slika 13: Ekstrakt industrijske konoplje (izvor: privatna arhiva)

3.2.4. Hlađenje sladovine s dodanim ekstraktom industrijske konoplje

Kada smo dodali ekstrakt industrijske konoplje u sladovinu, u lonac smo stavili cijevni izmjenjivač topline tzv. oblika zmijače. Izmjenjivač topline smo spojili na dovod vodovodne vode koja struji kroz izmjenjivač, hladi sladovinu, a on se sterilizira. Hlađenje se provodi kako bi se osigurala sigurna temperatura za kvasce jer ako je temperatura sladovine previsoka dolazi do uništenja

stanica kvasca. Temperaturni raspon rada kvasca prilikom izrade diplomskog rada bio je 15 – 24 °C.

Hlađenjem sladovina postaje mutna jer na temperaturama nižim od 60 °C dolazi do formiranja čestica proteinsko – taninskog ili hladnog taloga koji se sporo taloži, a sposoban je vezati se za mjehuriće zraka ili stanice kvasca. Prema podacima dobre proizvođačke prakse, iz sladovine se treba ukloniti najviše do 70 % taloga jer je ostatak odgovoran za pjenjenje i stabilnost pjene (Marić, 2009.).

Nakon kuhanja i hlađenja uzima se uzorak za određivanje ukupne količine fermentabilnih šećera u sladovini koja je iznosila 13,3 °P kako prikazuje **Slika 14**. Na temelju te informacije mogla se pretpostaviti očekivana količina alkohola u pivu nakon fermentacije.



Slika 14: EasyDens uređaj za određivanje količine fermentabilnih šećera (izvor: privatna arhiva)

Kada se temperatura sladovine spustila na 20 °C, sladovinu smo prebacili u plastični spremnik. Zatim smo dodali 5,75 g kvasca *Saccharomyces cerevisiae* i nakon toga slijedi odležavanje, tj. fermentacija u trajanju od 5 dana na 20 °C.



Slika 15: Plastični spremnik za sladovinu (izvor: privatna arhiva)



Slika 16: Dodatak kvasca u sladovinu (izvor: privatna arhiva)

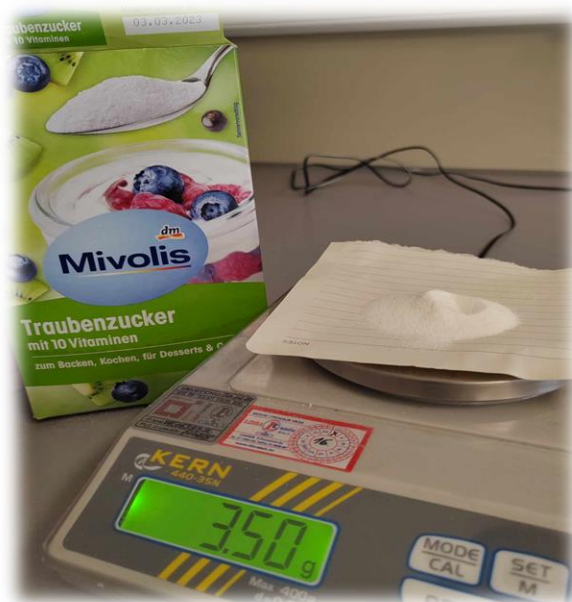
Nakon 7 dana, uzet je uzorak za ispitivanje prevrelosti na uređaju EasyDens. Dobivena vrijednost iznosila je 3,8 °P. Zatim se buduće pivo stavlja na hlađenje 3 dana. Kvasac koji smo koristili za proizvodnju bio je kvasac gornjeg vrenja.

3.2.5. Gaziranje i pakiranje piva

Nakon 3 dana hlađenja pivo se gazira i pakira.

Tijekom fermentacije kvasci prevode šećer u alkohol uz istovremenu konverziju dušičnih spojeva šećera u CO₂. Količina CO₂ koja nastaje fermentacijom nije dovoljna za željenu pjenušavost piva pa se provodi gaziranje. Gaziranje piva najčešće podrazumijeva gaziranje piva ubrizgavanjem CO₂ u keg s pivom. Gaziranje šećerom uključuje dodavanje dodatne količine glukoze kako bi se preostalim kvascima omogućila proizvodnja dodatne količine CO₂ (Gonzalez Viejo i sur., 2019).

S obzirom da je proizvedena mala količina piva, provedeno je gaziranje dodatkom šećera glukoze. Najprije smo pivo ulili u tamne boce od 0,5 L, dodali 3,5 g glukoze (**Slika 17**) i zatim smo bocu zatvorili metalnim čepom (**Slika 18**). Na taj način istovremeno smo proveli i gaziranje i ambalažiranje piva. **Slika 19** prikazuje pakiranje piva s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje.



Slika 17: Glukoza upotrebljena za gaziranje piva (izvor: privatna arhiva)



Slika 18: Uređaj Grifo za zatvaranje staklenih boca metalnim čepom (izvor: privatna arhiva)



Slika 19: Pivo pakirano u tamne staklene boce sa metalnim čepom (izvor: privatna arhiva)

3.2.6. Analiza fizikalno-kemijskih karakteristika piva s ekstraktom industrijske konoplje

Analiza fizikalno – kemijskih karakteristika piva provedena je u laboratoriju Osječke pivovare. Provedeno je određivanje boje, gorčine, ukupnih polifenola, udio alkohola i pH vrijednost. Za potrebe provođenja analize pivo se prvo moralo profiltrirati s obzirom da je proizvedeno pivo bilo mutno, i zatim temperirati na 20 °C.



Slika 20: Filtracija piva (izvor: privatna arhiva)

3.2.6.1. Određivanje boje piva

Kemijski spojevi mogu apsorbirati, transmitirati, disperzirati ili reflektirati svjetlost u točno određenom intervalu valnih duljina. Mogu emitirati svjetlost zbog, npr. apsorpcije u određenom dijelu spektra pri čemu dolazi do remisije svjetlosti. Uzorak apsorbira ili emitira zračenje

određene valne duljine koje se mjeri i analizira. Praćenjem količine apsorbirane svjetlosti omogućena je identifikacija i određivanje koncentracije kemijskog spoja prisutnih u uzorku (Germer i sur., 2014.).

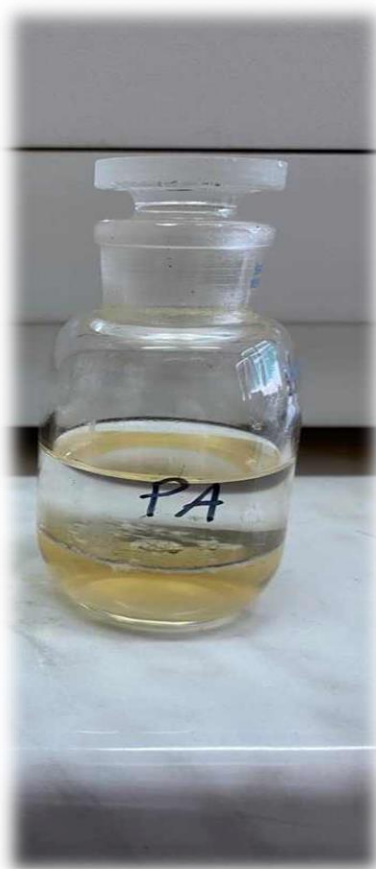
Određivanje boje provedlo se spektrofotometrijski na valnoj duljini od 340 nm na način da se u kvarcnu kivetu otpipetirao uzorak piva što je bila glavna proba. Kao slijepa proba koristila se destilirana voda. Na prvo mjesto u spektrofotometru postavila se slijepa proba, tj. kvarcna kiveta s destiliranom vodom, dok se na drugo mjesto stavila kiveta s glavnom probom, tj. uzorkom. Rezultat koji se dobije izražava se u EBC jedinici.

3.2.6.2. Određivanje gorčine piva

Određivanje gorčine piva se također provodi spektrofotometrijski, a uključuje određivanje sastava α - i β -kiselina koje pivu daju gorčinu, a ekstrahirane su iz hmelja u procesu kuhanja. Za provođenje analize najprije se otpipetiralo 10 mL piva. U uzorak se dodaje: 0,5 mL 6 N HCl i 20 mL izooktana. Kako bi se miješanje ravnomjerno provelo u bočicu se stave staklene kuglice. Nakon toga uzorci se stave na mućkanje 15 min i centrifugiranje 3 min pri 3000 okretaja/min (**Slika 21**). Centrifugiranjem se uzorak podijeli na 2 sloja kako prikazuje **Slika 22**. Gornji sloj je proziran izooktanski sloj u kojem se nalaze tvari gorčine. Dio gornjeg sloja se otpipetira u kvarcnu kivetu koja se stavi na drugo mjesto u spektrofotometru. Slijepa proba sastoji se samo od izooktana i ona se postavlja na prvo mjesto u spektrofotometru. Apsorbancija se određuje pri 275 nm.



Slika 21: Mućkanje i centrifugiranje uzorka (izvor: privatna arhiva)



Slika 22: Uzorak podijeljen na 2 sloja (izvor: privatna arhiva)

3.2.6.3. Određivanje ukupnih polifenola u pivu

Za provođenje određivanja količine ukupnih polifenola u uzorku potrebno je pripremiti slijepu i glavnu probu. Za slijepu probu otpipetira se 25 mL uzorka i doda se 8 mL CMC-EDTA. Zatim se doda 0,5 mL amonijaka i tikvica se vodom nadopuni do oznake. Za pripremu glavne probe otpipetira se 25 mL uzorka, doda se 8 mL CMC-EDTA, 0,5 mL trovalentnog iona željeza (Fe(III)), 0,5 mL amonijaka i tikvica se nadopuni vodom do oznake kako prikazuju **Slika 23** i **Slika 24**. Uzorak prije mjerenja mora odstajati 10 min. Količina ukupnih polifenola određuje se spektrofotometrijski na valnoj duljini od 600 nm. Na prvo mjesto u spektrofotometru stavlja se slijepa proba. Na drugo mjesto stavljaju se kvarcne kivete koje su prvo isprane uzorkom, a zatim se napunjene istim.



Slika 23: Priprema uzorka za određivanje ukupnih polifenola u pivu (izvor: privatna arhiva)



Slika 24: Uzorak za određivanje ukupnih polifenola u pivu (izvor: privatna arhiva)

3.2.6.4. Određivanje ostalih fizikalno – kemijskih karakteristika

Ostala svojstva koja su se određivala su: udio alkohola, ekstrakt u osnovnoj sladovini, pravi ekstrakt, prevrelost, specifična težina, udio kisika O_2 i ugljikovog dioksida CO_2 . Za određivanje ovih parametara koristio se uređaj Beer Analyzer proizvođačke tvrtke Anton Paar prikazan na **Slici 25**. U uređaj se postavi uzorak piva nakon čega on samostalno injektira količinu piva koja je potrebna za provođenje mjerenja. Rezultati se prikazu automatski na ekranu uređaja kako prikazuje **Slika 26**.



Slika 25: Uređaj Beer Analyzer tvrtke Anton Paar (izvor: privatna arhiva)



Slika 26: Prikaz rezultata izmjerenih parametara na uređaju Beer Analyzer (izvor: privatna arhiva)

3.2.7. Senzorska analiza

Senzorska analiza provedena je među 25 ocjenjivača kako bi se ocjenila prihvatljivost piva. U analizi su sudjelovali kolegice i kolege, te zaposlenici PTFOS-a. Pivo je bilo dostupno i široj populaciji kako bi se dobila što reprezentativnija slika prihvatljivosti piva. Senzorske karakteristike piva koje su se ocjenjivale su miris, okus, reskost (sadržaj CO₂), punoća okusa, gorčina, trpkost i kvaliteta pjene. **Slika 27** prikazuje obrazac koji su panelisti ispunjavali prilikom ocjenjivanja senzorskih karakteristika.

| Potpis ocjenjivača: | | | | |
|-------------------------------------|--|------------------|------------------|--------|
| Stil piva: | | | | |
| Uzorak: | | | | |
| Karakteristika: | Opis | Bodovi | Negativni bodovi | Ukupno |
| Prekomjerno pjenjenje (gushing) | | Diskvalifikacija | | |
| Prekiselo | | Diskvalifikacija | | |
| Miris | Svojtven | 5 | | |
| | Manje svojtven | 4 | | |
| | Blage greške mirisa | 3 | | |
| | Zamjetne greške mirisa (užglost, zagorenost, staro pivo, sumporni spojevi) | 2 | -1 | |
| | Jake greške mirisa (otapala, autoliza kvasca, diacetil, dimetilsulfid) | 1 | -2 | |
| Okus | Svojtven | 5 | | |
| | Manje svojtven | 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 ₂): | Ugodno resko | 5 | | |
| | Resko | 4 | | |
| | Manje resko | 3 | | |
| | Bljutavo | 2 | | |
| | Vrlo bljutavo | 1 | | |
| Punoća okusa: | Svojtvena, vrlo punog okusa | 4 | | |
| | Manje svojtvena, 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 27: Obrazac za senzorsku ocjenu piva

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. REZULTATI ANALIZIRANIH PARAMETARA

Tablica 1: Rezultati analize fizikalno – kemijskih parametara piva s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje određenih upotrebom uređaja Beer Analyzer proizvođačke tvrtke Anton Paar.

| | |
|------------------------------------|---------|
| Alkohol (%) | 6,48 |
| Specifična težina (g/mL) | 1,01015 |
| Ekstrakt u osnovnoj sladovini (°P) | 14,57 |
| Prevrelost (%) | 2,57 |
| Pravi ekstrakt (%) | 4,87 |
| pH vrijednost | 4,03 |
| CO ₂ (g/L) | 1,11 |
| O ₂ (ppb) | 3934 |













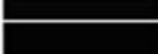

Na temelju dobivenih rezultata mjerenja prikazanih u **Tablici 1**, u proizvedenom pivu, s obzirom na rezultate dobivene mjerenjem prevrelosti i ekstrakta u osnovnoj sladovini, udio alkohola bio je u skladu s očekivanim. Udio alkohola piva s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje veći je od komercijalno dostupnih piva s dodatkom konoplje. Proizvedeno pivo ima manju pH vrijednost od uobičajene koja je 4,2-4,4.

Tablica 2: Rezultati analize fizikalno – kemijskih parametara piva s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje određenih spektrofotometrijski.

| | |
|-------------------|-----|
| Boja (EBC) | 7 |
| Gorčina (IBU) | 25 |
| Polifenoli (mL/L) | 182 |

U **Tablici 2** prikazani su rezultati spektrofotometrijskih mjerenja, a za prikaz rezultata uzoraka koji su ispitivani koristio se program Lambda 25 (PerkinElmer). Prilikom određivanja boje i polifenola

morali smo se pobrinuti da vrijednosti za slijepu probu budu 0,0000 ili $\pm 0,0001$ kako bi nam dobivene vrijednosti mjerenja bile valjane.

| SRM/Lovibond | Primjer | Boja piva | EBC |
|--------------|----------------|--|-----|
| 2 | Svijetli lager |  | 4 |
| 3 | Pilsner |  | 6 |
| 4 | Pilsner Uguell |  | 8 |
| 6 | |  | 12 |
| 8 | Pšenično |  | 16 |
| 10 | Svijetli ale |  | 20 |
| 13 | |  | 26 |
| 17 | Tamni lager |  | 33 |
| 20 | |  | 39 |
| 24 | |  | 47 |
| 29 | Porter |  | 57 |
| 35 | Stout |  | 69 |
| 40 | |  | 79 |
| 70 | Vrhunski Stout |  | 138 |

Slika 28: Različite vrste piva i pripadajuće boje, odnosno vrijednost boje u EBC jedinicama (Gukov, 2021.)

Na temelju dobivenih rezultata mjerenja boje, prema **Slici 28**, pivo s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje ima boju koja je karakteristična Pilsner pivu.

Tablica 3: Usporedba količine ukupnih polifenola u pivu s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje i prosječnih vrijednosti za ostale vrste piva (Prilagođeno iz: Vukomanović, 2016.)

| Vrsta piva | Ukupni polifenoli (EBC) |
|---|-------------------------|
| Pivo s ekstraktom industrijske konoplje | 182 |
| Svijetlo pivo | 158,10 |
| Pšenično pivo | 151,07 |
| Crveno pivo | 204,23 |
| Crno pivo | 206,31 |

U **Tablici 3** prikazani su rezultati dobiveni mjerenjem ukupnih polifenola u proizvedenom pivu. Na temelju ostalih podataka tablice, pivo s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje ulazi u raspon vrijednosti ukupnih polifenola karakterističnih za svijetla piva. Iz **Tablice 3** vidi se da je dodatak ekstrakta povećao količinu polifenola u proizvedenom pivu, u odnosu na svijetlo ili pšenično pivo.

4.2. SENZORSKA ANALIZA

Tablica 4 prikazuje primjer ocjenjivačkog listića i prosječne ocjene za sve navedene karakteristike. Senzorska analiza rezultirala je prosjekom ocjene 25/30 bodova. Obzirom da se dodatkom ekstrakta industrijske konoplje najviše utječe na senzorska svojstva mirisa i okusa piva, ove ocjene su pri ocjenjivanju bile gotovo najvažnije. Ocjene okusa i mirisa su bile 4, što je samo za jedan bod manje od maksimalnog broja bodova. To znači da se dodatkom ekstrakta konoplje može proizvesti potrošačima odgovarajuće pivo koje tim dodatkom dobiva posebnost i razlikuje se od uobičajenog ale piva.

Tablica 4: Ocjenjivački listić i prosjek ocjena

| KARAKTERISTIKA | OPIS I BODOVANJE | | OCJENA |
|---|---|---|--------|
| Miris | Svojstven | 5 | 4 |
| | Manje svojstven | 4 | |
| | Blage greške mirisa | 3 | |
| | Zamjetne greške mirisa (užeglost, zagorenost, staro pivo, sumporni spojevi) | 2 | |
| | Jake greške mirisa (otapala, autoliza kvasca, diacetil, dimetilsulfid) | 1 | |
| Okus | Svojstven | 5 | 4 |
| | Manje svojstven | 4 | |
| | Blage greške okusa | 3 | |
| | Zamjetne greške okusa (po kvascu, slatko, na žitarice) | 2 | |
| | Jake greške okusa (metalni okus, kiselkasto) | 1 | |
| Reskost (sadržaj CO₂) | Ugodno resko | 5 | 4 |
| | Resko | 4 | |
| | Manje resko | 3 | |
| | Bljutavo | 2 | |
| | Vrlo bljutavo | 1 | |
| Punoća okusa | Svojstvena, vrlo punog okusa | 4 | 3 |
| | Manje svojstvena, punog okusa | 3 | |
| | Vodenasto | 2 | |
| | Nesvojstvena, praznog okusa | 1 | |
| Gorčina | Vrlo ugodna | 5 | 4 |
| | Ugodna | 4 | |
| | Malo zaostaje u ustima | 3 | |
| | Zaostaje u ustima | 2 | |
| | Jako zaostaje u ustima | 1 | |
| Trpkost | Malo zaostaje u ustima | 3 | 3 |
| | Zaostaje u ustima | 2 | |
| | Jako zaostaje u ustima | 1 | |
| Kvaliteta pjene | Postojana | 3 | 3 |
| | Slabije postojana | 2 | |
| | Nepostojana | 1 | |

| | | | |
|---------------|--|--|----|
| UKUPNO | | | 25 |
|---------------|--|--|----|

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata provedenih analiza za potrebe izrade ovog diplomskog rada izvedeni su ovi zaključci:

1. Pivo s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje ima izraženu cvijetnu aromu karakterističnu za industrijsku konoplju. To je posljedica toga što ekstrakt ima intenzivniju aromu u odnosu na sami cvijet, list, sjeme ili neki drugi dio biljke.
2. Nakon provedbe laboratorijskih analiza potvrđena je pretpostavka da će pivo s ekstraktom industrijske konoplje imati veći udio alkohola u odnosu na ostala piva dostupna na tržištu.
3. Potvrđena je i pretpostavka da će pivo s dodanim ekstraktom industrijske konoplje imati povećani udio polifenola u odnosu na piva bez dodanog ekstrakta.
4. Iako se proizvodilo Pale Ale pivo, rezultati boje u EBC jedinicama pokazuju odstupanje od standardnih vrijednosti boje za Pale Ale pivo i uvrštava pivo s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje u Pilsner piva.
5. Prema provedenoj senzorskoj analizi pokazalo se da je ocjenjivačima miris i okus manje svojstven. Pivo su opisali kao resko s manje svojstvenom punoćom okusa. Panelisti su se izjasnili da pivo ima ugodnu gorčinu, trpkost koja malo zaostaje u ustima, i slabiju postojanost, tj. kvalitetu pjene.

6. LITERATURA

- Ascrizzi R, Iannone M, Cinque G, Marianelli A, Pistelli L, Flamini G: "Hemping" the drinks: Aromatizing alcoholic beverages with a blend of *Cannabis sativa L.* flowers. *Food Chemistry* 325:126909, 2020.
- Bamforth CW: The Horace Brown Medal. Forever in focus: researches in malting and brewing sciences. *Journal of the Institute of Brewing* 126:4-13, 2020.
- Bogner J: *The New Frontier: Cannabis in Beer*. Craft Beer & Brewing, 2019.
<https://beerandbrewing.com/the-new-frontier-cannabis-in-beer/> [12.09.2023.]
- De Lima AC, Aceña L, Mestres M, Boqué R: An Overview of the Application of Multivariate Analysis to the Evaluation of Beer Sensory Quality and Shelf-Life Stability. *Foods* 11:2037, 2022.
- Germer TA, Zwinkels JC, Tsai BK: Theoretical Concepts in Spectrophotometric Measurements. U *Spectrophotometry - Accurate Measurement of Optical Properties of Materials*, 11–66. Elsevier B.V., Amsterdam, 2014.
- Gonzalez Viejo C, Torrico DD, Dunshea FR, Fuentes S: Bubbles, Foam Formation, Stability and Consumer Perception of Carbonated Drinks: A Review of Current, New and Emerging Technologies for Rapid Assessment and Control. *Foods* 8:591, 2019.
- Gukov A: Mikrobiološki i fizikalno – kemijski profil hrvatskih piva. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2021.
- Hunt C, Bunder D: *Initial Investigation of the Chemical Contribution of Hemp to Beer Aroma*. CCU Digital Commons, 2019.
<https://digitalcommons.coastal.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1724&context=ugrc> [12.09.2023.]
- Janelle C: Using Hemp and Hemp Derivatives in Alcohol Beverages. Alcohol and tobacco tax and trade bureau, 2019. <https://www.ttb.gov/images/pdfs/presentations/part2.pdf> [12.09.2023.]
- Karche T, Singh M: The application of hemp (*Cannabis sativa L.*) for a green economy: a review. *Turkish Journal of Botany* 43:710-723, 2019.
- Linko M, Haikara A, Ritala A, Penttila M: Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology* 65:58-98, 1998.
- Luo X, Lim LT: A colorimetric assay for the detection of monoterpenes in hemp (*Cannabis sativa*) essential oil. *Measurement: Food* 11:100102, 2023.
- Marić V: Tehnologija piva. Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2009.

- Mastanjević K: *Tehnologija slada i piva*. Prezentacija. Osijek, 2023.
- Mather AC: *Cannabis and craft beer: risks and opportunities*. DLA Piper, 2018.
<https://www.californiacraftbeer.com/wp-content/uploads/2018/09/Cannabis-and-Beer.pdf> [12.09.2023.]
- Mazzara E, Carletti R, Petrelli R, Mustafa AM, Caprioli G, Fiorini D, Scortichini S, Dall'Acqua S, Sut S, Nuñez S, López V, Zheljaskov VD, Bonacucina G, Maggi F, Cespi M: Green extraction of hemp (*Cannabis sativa L.*) using microwave method for recovery of threevaluable fractions (essential oil, phenoliccompounds and cannabinoids): a centralcomposite design optimization study. *Journal of The Science of Food and Agriculture* 102:6220-6235, 2022.
- Mezzetta A, Ascrizzi R, Martinelli M, Pelosi F, Chiappe C, Guazzelli L, Flamini G: Influence of the Use of an Ionic Liquid as Pre-Hydrodistillation Maceration Medium on the Composition and Yield of *Cannabis sativa L.* Essential Oil. *Molecules* 26:5654, 2021.
- Ovidi E, Masci VL, Taddei AR, Torresi J, Tomassi W, Iannone M, Tiezzi A, Maggi F, Garzoli S: Hemp (*Cannabis sativa L.*, Kompolti cv.) and Hop (*Humulus lupulus L.*, Chinook cv.) Essential Oil and Hydrolate: HS-GC-MS Chemical Investigation and Apoptotic Activity Evaluation. *Pharmaceuticals* 15:976, 2022.
- Piani B, Ferfua C, Bortolomeazzi R, Verardo G, Baldini M: Development and Optimization of an HPLC-PDA Method for the Determination of Major Cannabinoids in Hemp (*Cannabis sativa L.*) Essential Oil Obtained by Hydrodistillation. *Food Analytical Methods* 15:1677-1686, 2022.
- Pieracci Y, Fulvio F, Isca V, Pistelli L, Bassolino L, Montanari M, Moschella A, Flamini G, Paris R: The phenological stage of hemp inflorescences affects essential oil yield and its chemical composition. *Industrial Crops and Products* 197:116605, 2023.
- Plüss M: Brewing sustainable beer with hemp instead of hops. Impact zhaw, 2021.
<https://impact.zhaw.ch/en/article/brewing-sustainable-beer-with-hemp-instead-of-hops> [12.09.2023.]
- Rapčan I, Jurišić M, Plaščak I, Jakubek A, Galić Subašić D: Ekološki uzgoj industrijske konoplje (*Cannabis sativa L.*) na obiteljskom gospodarstvu. *Agronomski glasnik : Glasilo Hrvatskog agronomskog društva* 84:191-202, 2021.
- Rouse A: *Another Use for Hemp: Craft Hemp-Seed Beer*. Victory hemp food, 2021.
<https://blog.victoryhempfoods.com/hemp-seed-beer> [12.09.2023.]
- Sabo N: Primjena spektrofotometrije u učenju Biologije i ostalih predmeta prirodoslovnog područja. *Educatio Biologiae* 7:70-82, 2021.

- UMG, Unfiltered Media Group, LCC: *The Oxford Companion to Beer definition of hemp*. Craft Beer & Brewing, 2023.
<https://beerandbrewing.com/dictionary/GrByk83xVM/#:~:text=The%20use%20of%20hemp%20in,than%20of%20flavor%20and%20aroma> [12.09.2023.]
- Visković J, Zheljaskov VD, Sikora V, Noller J, Latković D, Ocamb CM, Koren A: Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.) Agronomy and Utilization: A Review. *Agronomy* 13:931, 2023.
- Vukomanović K: Usporedba dviju metoda za određivanje ukupnih polifenola u pivu. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2016.
- Web 1: <https://www.thehempshop.co.uk/hemp-essential-oil-guide> [12.09.2023.]
- Web 2: <https://www.konoplja-osvobaja.si/hr/izdelek/esencijalno-ulje-kanabisa-konoplje-1ml/> [12.09.2023.]
- Web 3: <https://mountainroseherbs.com/hemp-essential-oil> [12.09.2023.]
- Zugravu CA, Medar C, Manolescu LSC, Constantin C: Beer and Microbiota: Pathways for a Positive and Healthy Interaction. *Nutrients* 15:844, 2023.