

Proizvodnja i karakterizacija piva proizvedenog s dodatkom pogače konoplje

Antunović, Klaudija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:109:877656>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-12**

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

Klaudija Antunović

PROIZVODNJA I KARAKTERIZACIJA PIVA
PROIZVEDENOG SA DODATKOM POGAČE KONOPLJE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2024.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Sveučilišni diplomski studij

Zavod za procesno inženjerstvo
Katedra za bioproceno inženjerstvo
Franje Kuhača 18, 31400 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćene na III. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2023./2024. održanoj 21. prosinca 2023.
Mentor: izv. prof. dr. sc. Kristina Mastanjević
Komentor:

**PROIZVODNJA I KARAKTERIZACIJA PIVA PROIZVEDENOG SA DODATKOM POGAČE
KONOPLJE**

Klaudija Antunović, 0113146048

Sažetak:

Ekologija i kružno gospodarstvo dobivaju sve više pažnje. Jedan od najvećih problema s kojima se danas suočava prehrambena industrija je stvaranje otpada i velike količine prehrambenih nusproizvoda. Budući da su nusproizvodi prehrambene industrije bogati bioaktivnim spojevima i predstavljaju potencijalnu nutritivnu vrijednost, imaju važnu ulogu u razvoju nove i održive funkcionalne hrane. Pogača konoplje je nusproizvod koji nastaje tijekom proizvodnje hladno prešanog ulja konoplje. Zadatak ovog rada je proizvesti pivo sa otpadnim biljnim materijalom koji zaostaje nakon prešanja industrijske konoplje. Budući da su konoplja i hmelj srodne vrste, moguća je potreba za smanjenjem udjela hmelja tijekom kuhanja. U ovom radu ispitati će se utjecaj dodatka pogače konoplje na proces proizvodnje piva odnosno utjecaj na fizikalno-kemijske i senzorske karakteristike.

Ključne riječi: pivo, hmelj, industrijska konoplja, pogača

Rad sadrži: 39 stranica
19 slika
5 tablice
0 priloga
27 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu rada:

1.	prof. dr. sc. Marina Tišma	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. Kristina Mastanjević	član-mentor
3.	dr. sc. Gordana Šimić, znan. sav. (POLJINOS)	član
4.	prof. dr. sc. Mirela Planinić	zamjena člana

Datum obrane: 26. rujna 2024.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, 31000 Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
University Graduate Study
Department of Process engineering
Subdepartment of Bioprocess Engineering
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. III held in the academic year 2023/2024 on December 21, 2023
Mentor: Kristina Mastanjević, PhD, assoc. prof.
Co-mentor:

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BEER PRODUCED WITH THE ADDITION OF HEMP POMACE

Klaudija Antunović, 0113146048

Summary:

Ecology and the circular economy are receiving more and more attention. One of the biggest problems facing the food industry today is the creation of waste and large amounts of food by-products. Since the by-products of the food industry are rich in bioactive compounds and represent potential nutritional value, they play an important role in the development of new and sustainable functional foods. Hemp cake is a by-product created during the production of cold-pressed hemp oil. The task of this work is to produce beer with waste plant material that remains after pressing industrial hemp. Since hemp and hops are related species, it may be necessary to reduce the proportion of hops during cooking. In this paper, the impact of the addition of hemp cake on the beer production process will be examined, i.e. the impact on physical-chemical and sensory characteristics.

Key words: beer; hops; industrial hemp; pomace

Thesis contains: 39 pages
19 figures
5 tables
0 supplements
27 references

Original in: Croatian

Review and defence committee:

- | | | |
|----|---|--------------|
| 1. | Marina Tišma, PhD, full prof. | chair person |
| 2. | Kristina Mastanjević, PhD, assoc. prof. | supervisor |
| 3. | Gordana Šimić, PhD, scientific advisor | member |
| 4. | Mirela Planinić, PhD, full prof. | stand-in |

Defence date: September 26, 2024.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, 31 000 Osijek.

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

26. rujna 2024.

TE OCIJENJEN USPJEHOM

izv stan (5)

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Marina Tišma

M. Tišma

(potpis)

2. izv. prof. dr. sc. Kristina Mastanjević

K. Mastanjević

(potpis)

3. dr. sc. Gordana Šimić, znan. sav. (POLJINOS)

G. Šimić

(potpis)

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	4
2.1. PROIZVODNJA PIVA	5
2.2. KONOPLJA (<i>Cannabis sativa L.</i>)	8
2.3. BILJKE CANNABACEAE - <i>Cannabis sativa L.</i> i <i>Humulus lupulus L.</i>	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. ZADATAK	13
3.2. MATERIJALI I METODE	13
3.2.1. Priprema vode za proizvodnju sladovine	13
3.2.2. Proizvodnja sladovine (ukomljavanje).....	14
3.2.3. Hmeljenje i dodatak pogače konoplje	17
3.2.4. Fermentacija.....	20
3.2.5. Gaziranje i pakiranje	21
3.2.4. Analiza fizikalno-kemijskih karakteristika	22
3.2.4.1. Određivanje udjela alkohola, specifične gustoće, prividnog i stvarnog ekstrakta i ekstrakta u osnovnoj sladovini	23
3.2.4.2. Određivanje pH vrijednosti	24
3.2.4.3. Određivanje boje	25
3.2.4.4. Određivanje gorčine	25
3.2.4.5. Određivanje ukupnih polifenola	25
3.2.5. Senzorska analiza.....	26
4. REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1. REZULTATI MJERENJA FIZIKALNO-KEMIJSKIH KARAKTERISTIKA	29
4.2. REZULTATI SENZORSKE ANALIZE	32
5. ZAKLJUČCI	35
6. LITERATURA	37

Popis oznaka, kratica i simbola

CBD	kanabidiol
CBGA	kanabigerolna kiselina
CMC- EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina
Δ 9-THC	Δ -9-tetra-hidrokanabinol

1. UVOD

Proizvodnja piva drevna je biotehnologija čiji se jedinični procesi nisu mijenjali godinama, a praksa je stara između 6000 i 8000 godina (Bamforth 2017). Pivo je najpopularnije, najkonzumiranije, a ujedno i najstarije alkoholno piće diljem svijeta. Proizvodnja piva dio je ljudskih aktivnosti od samog početka civilizacije. Prvo pivo je u osnovi napravljeno od žitarica, vode te spontanom fermentacijom uzrokovanom divljim kvascima prisutnim u zraku, i to neposredno prije nego što je izumljen kruh. Prije se proizvodnja piva odvijala u domaćim razmjerima, no s dolaskom industrijske revolucije proizvodnja piva postala je masovna, što je omogućilo proizvodnju piva u mnogo većoj mjeri (Aroh 2018).

Iako je u mnogim dijelovima svijeta primarni razlog uporabe piva užitak, pivo se kroz povijest koristilo za prehranu i konzumiralo u velikim količinama kao sigurna alternativa vodi. Pivo također posjeduje i određena bioaktivna svojstva izvan osnovnih nutritivnih vrijednosti, koja se zajednički nazivaju i funkcionalni benefiti. Postoji sve veći interes u industriji craft piva koja uz senzorne, imaju i zdravstvene prednosti (Bamforth 2017).

Znanstvena istraživanja unutar pivarske industrije osigurala su da je moderna proizvodnja piva visoko kontrolirana, što dovodi do vrlo konzistentnih, visokokvalitetnih piva. Iako neki još uvijek smatraju da duguje više umjetnosti nego znanosti, pivarska industrija nedvojbeno je vođena znanošću, oslanjajući se na osnove kao što su, upotreba čistih sojeva u fermentaciji, kinetika enzimatskih reakcija i sl. Pivarstvo je napredovalo i postalo fino kontrolirana tehnologija u kojoj se može osigurati dosljedna izvrsnost piva (Bamforth 2017).

U prošlosti su se u proizvodnji piva uz osnovne sirovine koristile i druge različite biljke. Danas je najčešće korišten hmelj, *Humulus lupulus*, koji doprinosi okusu, gorčini i mikrobiološkoj stabilnosti. Nakon ukidanja zabrane uzgoja vrste *Canabis sativa L.*, započela je i proizvodnja piva sa ekstraktima kanabisa napravljenim od svih dijelova biljke. *Canabis sativa* je cvjetna, jednogodšnja, zeljasta biljka iz obitelji *Cannabaceae*. Trend proizvodnje alkoholnih pića sa kanabisom započeo je početkom 2017. godine (Ramirez i Viveros 2021).

Održiva bioekonomija zahtijeva da se nusproizvodi u poljoprivrednoj i prehrambenoj proizvodnji ponovno uključe u ciklus vrijednosti, koncept koji se također naziva valorizacija ili upcycling. Koncept predstavlja važnu inovacijsku praksu usmjerenu na održivost, a pridonosi smanjenju otpada i učinkovitom korištenju resursa (Aschemann-Witzel i Stangherlin 2021). Jedan od najvećih problema s kojima se suočava prehrambena industrija je stvaranje otpada, što rezultira velikom količinom prehrambenih nusproizvoda. Budući da su nusproizvodi poljoprivredne i prehrambene industrije bogati bioaktivnim spojevima i

predstavljaju potencijalnu nutritivnu vrijednost, imaju važnu ulogu u proizvodnji stočne hrane kao i u razvoju nove i održive funkcionalne hrane. Međutim, ovi bioaktivni spojevi, kao što su vitamini i pigmenti, fenolni spojevi, karotenoidi, višestruko nezasićene masne kiseline, nestabilni su u kontaktu s okolišnim i industrijskim procesnim uvjetima. Stoga je potrebno pronaći zajedničko rješenje za probleme gospodarenja otpadom kroz učinkovito korištenje otpada kao sirovine, promicanjem strategija temeljenih na zelenim i održivim tehnologijama (Comunian, Silva i Souza 2021). U ovom radu će biti prikazana primjena i utjecaj pogače industrijske konoplje, nusproizvoda u proizvodnji hladno prešanog ulja konoplje, na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva piva.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PROIZVODNJA PIVA

Pivo je proizvod dobiven alkoholnim vrenjem pivske sladovine upotrebom čistih kultura pivskih kvasaca *Saccharomyces cerevisiae*, a iznimno spontanom vrenjem ili uporabom mješovitih mikrobnih kultura (NN 142/2011, n.d.).

Pivo se tradicionalno proizvodi od četiri ključna sastojka: slada (ječameni slad i/ili neki drugi), vode, hmelja i kvasca. Svaki od ovih sastojaka doprinosi konačnom okusu i mirisu piva (Thesseling i sur. 2019). Priroda i kvaliteta sirovina, obrada, skladištenje i dorada, glavni su čimbenici koji uvelike određuju sastojke prisutne u pojedinom pivu. Općenito, pivo uključuje ugljikohidrate, proteine ili peptide i tvari hmelja kao što su smole, eterična ulja, taninska kiselina i dr. Nadalje, pivo sadrži etanol i CO₂ te mali postotak octene kiseline i glicerola. Gotovo pivo sadrži oko 85-92 % vode po volumenu, s pH vrijenosti od 4.1-4.5 (Goyal i sur. 2023)

Proces proizvodnje piva uključuje 5 glavnih koraka: proizvodnja sladovine, glavno i naknadno vrenje, bistrenje, dorada i punjenje piva (Mastanjević 2024.). Proizvodnja piva započinje proizvodnjom ječmenog slada (ili slada drugih žitarica, pšenice, raži, zobi ili sirka). Proces proizvodnje slada započinje fazom namakanja i klijanja zrna. Klijanjem se aktiviraju tri skupine enzima: proteaze/peptidaze, amilaze i beta-glukanaze. Svaki od navedenih enzima ima važnu funkciju tijekom procesa proizvodnje slada i proizvodnje piva: proteaze i peptidaze razgrađuju proteine i oslobađaju slobodni amino dušik; amilaze pretvaraju škrob, prisutan u zrnu ječma, u šećere koji se mogu fermentirati; dok beta-glukanaze razgrađuju staničnu stijenu endosperma, dopuštajući drugim enzimima pristup endospermu. Tijekom faze sušenja i pečenja, zagrijavanja jezgre, zaustavlja se klijanje, enzimska aktivnost unutar zrna, smanjuje se rizik od kvarenja te se određuje utjecaj slada na konačnu boju i aromu piva (Thesseling i sur. 2019).

Ječam (*Hordeum vulgare L.*) je glavna žitarica koja se koristi u industriji slada i piva. Ječmeni slad osigurava potreban škrob i enzime za proces proizvodnje piva, koji osiguravaju kvascu potreban šećer i hranjive tvari za fermentaciju. Izmjene u bilo kojem koraku procesa proizvodnje slada mogu promijeniti cjelokupni okus slada (Sayre-Chavez i sur. 2022).

Mljevenjem slada škrobni endosperm postaje pristupačniji enzimima čime se poboljšava proces ekstrakcije. Tehnika mljevenja ovisi o metodama usitnjavanja i separacije. Ukomljavanje započinje miješanjem krupice i vode. Hidratacijom se aktiviraju sladni enzimi. Manipuliranjem temperaturnog profila i trajanja razdoblja odmora na određenim

temperaturama, utječe se na sastav i učinkovitost s kojom se slad ekstrahira. Postupak ukomljavanja utječe na sadržaj alkohola u pivu, koncentraciju neprevrelih šećera, profile aminokiselina i peptida, sladovinu, koncentraciju hranjivih tvari, sadržaj beta-glukana te na pojedina fizička svojstva piva, bistrinu, pjenu i boju (Willaert 2007). Nakon ukomljavanja, sadržaj se filtrira kako bi se odvojilo zrno od sladovine, prvijenca. Filtracija se provodi u cijednjaku ili bistrniku, pri 75-80 °C, otprilike 2 sata. Potrošeno zrno koristi se kao hrana za životinje (Mastanjević 2024).

Kuhanje sladovine složen je proces tijekom kojeg se odvija širok raspon kemijskih, fizikalnih, fizikalno-kemijskih i biokemijskih reakcija (Willaert 2007). U fazi kuhanja u sladovinu se dodaje hmelj. Glavni ciljevi ovog koraka su sterilizacija sladovine, ekstrakcija gorkih i aromatičnih spojeva iz hmelja, koagulacija viška proteina i tanina kako bi se formirao trun koji se kasnije može ukloniti, stvaranje boje i okusa te uklanjanje nepoželjnih hlapljivih tvari i koncentriranje sladovine isparavanjem vode (de Lima i sur. 2022). Sladovina se kuha iz raznih razloga. Olakšava izdvajanje tvari hmelja uključujući eterična ulja, tanine, gorke kiseline i smole. Budući da aromu daje eterično ulje, koje je hlapljivo, puno ga zapravo ispari tijekom vrenja. Međutim, uključivanjem hmelja na kraju procesa, nešto eteričnog ulja ostaje sačuvano u sladovini. Gorke kiseline, humulon i lupulon, koje potječu iz hmelja, imaju antibakterijska svojstva te daju okus pivu. Humulon ima jak, gorak okus i jače antiseptičko djelovanje. Tanini ekstrakta hmelja pomažu u koagulaciji stranih proteina i štite sladovinu tijekom fermentacije od kontaminacije gram-pozitivnim bakterijama. Snižavanjem temperature, kompleksi nastali reakcijom pozitivno nabijenih proteina i negativno nabijenih tanina postaju manje topljivi. Olakšava se stvaranje pjene i izrazito gorkog okusa piva (Goyal i sur. 2023). U dekanteru ili whirlpool-u odvajaju se istaloženi proteini. Prije prebacivanja ohmeljene sladovine u fermentacijski tank, sladovina se hladi na temperaturu bioprocesa (6-15 °C) i aerira (Mastanjević 2024).

Hmelj se koristi stoljećima u procesu proizvodnje piva. Pivu daje karakterističan miris i okus te poboljšava mikrobiološku stabilnost gotovog proizvoda (Klimczak i Cioch-Skoneczny 2023). Provodi se oplemenjivanje novih sorti hmelja s posebnim ciljem doprinosa aromi, kao i povećanja razine smole u tim sortama koje su prvenstveno namijenjene davanju gorčine. Većina pivovara koristi različite vrste peletiziranog hmelja, a koristi se i hmelj ekstrahiran tekućim CO₂. Mogu se subfrakcionirati u ekstrakte smole i arome čime se omogućuje fleksibilnost u uvođenju gorčine odvojeno od arome (Bamforth 2017).

Kvaliteta piva ovisi o aktivnosti fermentirajućih kvasaca, ne samo zbog njihove dobre učinkovitosti fermentacije, već i zbog utjecaja na aromu piva (Capece i sur. 2018). Procesom fermentacije, kvasac pretvara fermentabilne šećere u CO₂ i etanol. Istodobno, proizvode se stotine sekundarnih metabolita koji utječu na aromu i okus piva. Varijacije u ovim metabolitima u različitim sojevima kvasaca ono je što omogućuje kvascu da jedinstveno utječe na okus piva. Primjeri tipičnih aroma piva dobivenih od kvasca su esteri izoamilacetat (aroma banane), etil heksanoat (aroma ananasa) i etil acetat (aroma slična otapalu). Primarna fermentacija obično je dovršena unutar 10 dana, a krajnji proizvod naziva se zeleno pivo. Nakon toga se veći dio kvasca uklanja. Zeleno pivo se prenosi u spremnik za odležavanje i čuva na niskim temperaturama (-1 °C do 5 °C), nekoliko dana (ale pivo) ili do nekoliko tjedana (lager piva). Tijekom odležavanja, preostali kvasac je još uvijek metabolički aktivan i može proizvesti dodatni etanol i CO₂, ali i smanjiti neugodne okuse kao što je diacetil (maslac, užegla aroma) (Thesseling i sur. 2019). Biokemijske reakcije izazivaju kvalitativne i kvantitativne promjene sastojaka mladog i dozrelog piva, a samo se uvjetno mogu podijeliti na glavno i naknadno vrenje, jer se međusobno isprepliću. Najvažnija primjena je da sladovina nacijepljena kvašćevim stanicama postupno postaje mlado pivo, tekućina koja sadrži povećan broj živih kvašćevih stanica, otopljen i plinoviti CO₂, etanol i druge nusproizvode alkoholnog vrenja. To je rezultat metabolizma kvašćevih stanica razgradnje šećera, uglavnom pomoću reverzibilnih biokemijskih reakcija kataliziranih enzimima (Mastanjević 2024).

Tijekom tradicionalne proizvodnje piva, *Saccharomyces* je jedina mikrobnja komponenta, a svako odstupanje se smatra manom. Međutim, danas se pivarski sektor suočava sa sve većom potražnjom za inovativnim proizvodima, te se širi korištenje autohtonih starter kultura, spontane fermentacije i ne-*Saccharomyces* startera. Pivski kvasci uglavnom su dio roda *Saccharomyces* i dijele se u dvije glavne skupine: lager i ale kvasci, odnosno kvasci donjeg i gornjeg vrenja. Iako je optimalna temperatura rasta za *Saccharomyces* 25-30 °C, rast i fermentacija kvasca gornjeg vrenja odvija se između 14 °C i 15 °C, dok se za kvasce donjeg vrenja koriste temperature između 4 °C i 12 °C. Iako se ale kvasci koriste za proizvodnju piva s vrlo različitim karakteristikama, kao što su ale, porter i stout, sojevi koji se koriste za ova piva uglavnom pripadaju vrsti *S. cerevisiae*. Za proizvodnju lager piva koriste se kvasci vrste *Saccharomyces pastorianus*. Budući da su kvasci donjeg vrenja odgovorni za više od 90 % piva proizvedenog u svijetu, posvećuje im se puno više pažnje. Lager kvasci klasificirani su

kao alopoliploidni hibridi *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces eubayanus* (Capece i sur. 2018).

Nakon fermentacije, pivo se prenosi u spremnike ili ohlađene podrumne i čuva se na temperaturi između 0 °C i 3°C nekoliko dana do nekoliko tjedana. Za to vrijeme se netopljivi fosfati, smole i stanice kvasca koje su koagulirale iz piva istalože na dno. Pivo stari, razvija estere, koji mu pomažu da izgubi oštrinu. Kako bi se izbjeglo stvaranje zamućenja kada se gotovo pivo kasnije izloži hladnoći, tijekom procesa odležavanja koristi se "*chillproofing*" odnosno provjera stvaranja mutnoće uzrokovane niskim temperaturama. Za tu zamućenost najviše su krive nestabilne bjelančevine. Chillproofing je proces taloženja ili adsorpcije nestabilnih proteina. Proteolitički enzimi koriste se kako bi se smanjila molekularna težina preostalih proteina i proteinskih hidrolizata, osiguravajući njihovu topljivost čak i na niskim temperaturama (Goyal i sur. 2023).

Pivo je karbonizirano ili "Krausen" postupkom, u kojem se koristi kvasac koji aktivno fermentira kako bi se stvorila "prirodna karbonizacija", ili ubrizgavanjem čistog ugljičnog dioksida (Goyal i sur. 2023). Kod punjenja u ambalažu važno je spriječiti doticaj piva sa zrakom, spriječiti gubitak CO₂ odnosno tlaka piva, redovito održavati čistim dijelove uređaja koji dolaze u dodir s pivom te zatvaranje boce provesti što brže nakon punjenja (Mastanjević 2024).

2.2. KONOPLJA (*Cannabis sativa* L.)

Cannabis sativa L., poznatija kao konoplja, je zeljasta, anemofilna biljka iz porodice *Cannabaceae*. Smatra se jednom od najstarijih kultiviranih biljaka. Zbog duge povijesti uzgoja teško je odrediti njezino točno podrijetlo. Prema filogenetskim studijama temeljenim na molekularnoj analizi i studijama homologije sekvenci drevne i moderne DNK ekstrahirane iz arheobotaničkih i modernih uzoraka, većina se istraživača složila da ova biljna vrsta potječe iz središnje Azije te da je tijekom brončanog doba uvedena u Europu kao kultivirana i pripitomljena poljoprivredna biljka. To je višenamjenska, održiva kultura s malim utjecajem na okoliš koja može biti korisna za nekoliko područja primjene, od poljoprivrede i fitoremedijacije do industrije hrane i stočne hrane, farmaceutske, kozmetičke i građevinske industrije. Od ove vrlo svestrane biljke moguće je dobiti razne proizvode od industrijskog značaja kao što su vlakna i strijele; biograđevni i toplinski izolacijski materijali; sjemenke, brašno i ulje važnih nutritivnih i funkcionalnih svojstava; i bioaktivni spojevi od

farmakološkog interesa. U osnovi, *C. sativa* L. može se uzgajati u tri glavne svrhe: industrijska, medicinska te narkotička/rekreacijska (Farinon i sur. 2020).

Unatoč visokoj nutritivnoj vrijednosti, sjemenke ove biljke u početku su se smatrale nusproizvodom proizvodnje vlakana i uglavnom su se koristile kao stočna hrana. Od prve polovice 21. stoljeća uzgoj opada zbog sve većeg širenja sintetičkih vlakana i korištenja nekih narkotičkih sojeva biljke *C. sativa* L. za proizvodnju opojnih droga. Tek od posljednja dva desetljeća dolazi do ponovnog uvođenja uzgoja *C. sativa* L. isključivo u industrijske svrhe. Danas postoji sve veće zanimanje za sjemenke biljke *C. sativa* L. zbog povećanog znanja o njihovoj visokoj nutritivnoj vrijednosti i potencijalnoj funkcionalnosti. Sorte *C. sativa* L. koje su dopuštene za uzgoj sadrže razinu Δ^9 -THC manju od 0,3 % ili 0,2 % reproduktivnog dijela ženske biljke tijekom cvatnje (Farinon i sur. 2020)

Na tržištu postoji niz proizvoda od sjemenki konoplje, uključujući cijelo i oljušteno sjeme konoplje, ulje sjemenki konoplje, pogače sjemenki konoplje, brašno od sjemenki konoplje, ljuske konoplje i koncentrat/izolati proteina konoplje (Burton i sur. 2022). Konopljina pogača dobiva se cijedenjem ulja iz sjemenki u procesu proizvodnje hladno prešanog ulja. Pogača je nusproizvod bogat vlaknima, proteinima, mineralima i biološki aktivnim spojevima (Kotecka-Majchrzak i sur. 2021). Istraživanje Kasula i sur. iz 2021. godine je pokazalo da pogača konoplje ne sadrži kanabinoide konoplje i srodne spojeve koji se mogu otkriti dostupnim laboratorijskim metodama analize.

Pogača sjemenki konoplje pokazala se važnim izvorom visokokvalitetnih proteina s prisutnošću osam esencijalnih aminokiselina. Biološki aktivan potencijal pogače dokazan je visokim udjelom polifenola, posebice onih iz skupine kanabizina. Konopljina pogača sadrži do 50 % proteinskih tvari, 9-20 % lipida, 6-7 % dijetalnih vlakana te značajne količine minerala i može se uspješno koristiti u proizvodnji prehrambenih proizvoda za ljudsku prehranu (Capcanari i sur. 2023). Međutim, pogača konoplje nema široku primjenu u prehrambenoj industriji i obično se odlaže kao otpad (Feng, Sun i Fang 2022).

2.3. BILJKE *CANNABACEAE*-*Cannabis sativa* L. i *Humulus lupulus* L.

Hmelj (*Humulus lupulus*) posjeduje jedinstvene kemijske spojeve koji uvelike pridonose aromi, okusu i gorčini piva. Konoplja (*Cannabis sativa*), blizak je rođak hmelja, uglavnom se uzgaja zbog svojih psihotropnih i ljekovitih svojstava. Obje vrste pripadaju taksonomskoj obitelji *Cannabaceae*, imaju srodna fiziološka svojstva te sadrže slične sekundarne metabolite, od kojih neki pokazuju antioksidativni kapacitet. Biljni antioksidansi imaju važnu ulogu u aklimatizaciji ili prilagodbi biljaka na različite stresore iz okoliša i korisni su za ljudsko zdravlje. Kao dio uravnotežene prehrane, antioksidansi pružaju zaštitu od oštećenja uzrokovanih slobodnim radikalima koji su uključeni u razvoj mnogih kroničnih bolesti poput kardiovaskularnih bolesti i raka (Addo i sur. 2023).

Cannabis sativa L. je važna, ali i kontroverzna biljka te zajedno sa svojim sestrinskim rodnom *Humulus* predstavlja skupinu biljaka od industrijskog, farmaceutskog, poljoprivrednog i društvenog interesa (Ramirez i Viveros 2021). Složeni kemijski sastav sirovog hmelja predmet je istraživanja već desetljećima. Unatoč tome, znanje o ovoj sirovini, njenim složenim interakcijama i transformacijama koje se odvijaju tijekom procesa proizvodnje piva, još uvijek je nepotpuno. Opće je poznato da je karakteristična gorčina piva posljedica izomeriziranih alfa-kiselina koje nastaju pri visokim temperaturama kuhanja sladovine (Klimczak i Cioch-Skoneczny 2023). Hmelj sadrži α -kiseline (humulon, kohumulen i adhumulon), β -kiseline (n-lupulon, kolupulen i adlupulon) i ksantohumol, koji su prekursori gorkih tvari u pivu. Ksantohumol je glavni prenilirani flavonoid u hmelju. Gorke kiseline u hmelju nastaju acilacijom jedne molekule acil-CoA i tri molekule malonil-CoA da bi se formirao florisovalerofenon. Hmelj se može smatrati prirodnim antioksidansom budući da α -kiseline, β -kiseline i ksantohumol imaju značajnu antioksidacijsku aktivnost i hvataju hidroksilne radikale (Addo i sur. 2023). Do sada se vjerovalo da tvari sadržane u frakciji eteričnog ulja hmelja daju samo aromu. Što se tiče senzorskih svojstava, sadržaj polifenola još je jedan važan čimbenik koji može značajno utjecati na parametre kvalitete piva, prenijeti antioksidativna svojstva te promijeniti percipiranu razinu gorčine. Prema provedenim istraživanjima koja su uključivala dodavanje određenih količina izo- α -kiselina i/ili polifenola pivu, piva kojima su dodani polifenoli karakterizirala je viša razina gorčine, koja je opisana kao dugotrajna (Klimczak i Cioch-Skoneczny 2023).

Nedavna legalizacija marihuane u nekoliko država u Sjedinjenim Državama dovela je do razvoja novih proizvoda nazvanih 'jestivi proizvodi od kanabisa' koji sadrže kanabinoide kao što su Δ -9-tetra-hidrokanabinol (Δ 9-THC) i kanabidiol (CBD). CBD je jedna od najvažnijih

kanabinoidnih komponenti biljke kanabisa, koja je prisutna u različitim količinama, ovisno o sorti. Dok je u nekima minimalna, u drugima, npr. sorta "industrijska konoplja", može biti obilnija. Δ^9 -THC je najzastupljeniji kanabinoid u biljci kanabisa. Pojedine pivarske tvrtke proizvode piva s infuzijom kanabisa s Δ^9 -THC i CBD uljima dobivenim iz marihuane i konoplje (Ramirez i Viveros 2021). Kanabinoidi su skupina kemijskih spojeva koji mijenjaju aktivnost neurotransmisije u mozgu djelovanjem na kanabinoidne receptore. Istraživanja su pokazala da kanabinoidi pokazuju antioksidativna svojstva. Hmelj ne može sintetizirati kanabinoide jer mu nedostaju enzimi oksidociklaze koji su potrebni za pretvaranje kanabigerolne kiseline (CBGA) u kanabinoide (Addo i sur. 2023)

Potražnja za proizvodima od konoplje, kao što su vlakna, proteini, ulja, pića (pivo, vino, bezalkoholna pića, limunada i likeri), brašno i kozmetički proizvodi je u globalnom porastu. *Cannabis sativa* L. i *Humulus lupulus* L. sadrže velike količine terpena ili izoprenoida, što predstavlja do 3-5% suhe mase ženskog cvata. Iako postoje kemijske sličnosti između *H. lupulus* i *C. sativa*, smole dviju vrsta su različite. Smole hmelja daju gorke spojeve piva, dok smole iz kanabisa uključuju psihomimetički lijek, tetrahidrokanabinol. Kako ovi spojevi prelaze u tekućine, takva piva bi se mogla smatrati funkcionalnim pićem, budući da su zabilježene zdravstvene dobrobiti (Ramirez i Viveros 2021)

Amandine André, znanstveni asistent u istraživačkoj grupi za kemiju hrane na ZHAW-ovom Institutu za inovacije u hrani i pićima, provodi istraživanja kojima se pokušava zamijeniti hmelj u pivu konopljom te iznosi nekoliko razloga za ovaj poduzetan pristup. Hmelj ne uspjeva osobito dobro u Švicarskoj, te su pivovare ovisne o uvozu i imaju malo prostora da se zaštite od fluktuacije u proizvodnji i kvaliteti, ali i cijeni. Nadalje, na kvalitetu hmelja i sadržaj amaroida, gorkih spojeva, značajno utječu klimatske promjene. Stalnim porastom temperature uzgoj postaje sve izazovniji i u tradicionalnim regijama uzgoja. U odnosu na hmelj, konoplja jako dobro uspjeva te bi domaća konoplja mogla pomoći lokalnim pivarima da prevladaju svoju ovinost o uvozu. Također, konoplja nema problema sa toplinom te klimatske promjene vjerojatno neće uzrokovati probleme (Plüss 2021).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Cilj ovog diplomskog rada je da se ovaj biljni materijal upotrijebi kao zamjena dijela slada prilikom proizvodnje piva. Zadatak je u laboratoriju proizvesti pivo sa 10 % otpadnog biljnog materijala koji zaostaje nakon prešanja industrijske konoplje. Budući da su konoplja i hmelj srodne biljke, moguća je i potreba za smanjenim udjelom hmelja u sladovini tijekom kuhanja. Nadalje ovaj rad bavi se i mogućnošću proizvodnje piva sa smanjenim udjelom slada, i hmelja u svrhu reutilizacije otpadnog materijala nastalog prešanjem industrijske konoplje. Tijek fermentacije i svojstva piva pratit će se mjereći osnovne fiziklano-kemijske parametre (etanol, ekstrakt, pH, polifenole, gorčinu) te senzorskom analizom gotovog proizvoda.

3.2. MATERIJALI I METODE

Za proizvodnju piva sa dodatkom pogače konoplje korsitila se destilirana voda u koju je dodana odgovarajuća količina soli, ječmeni slad "Best pale ale" (proizvođač: Simpsons Malt Ltd, Tweed Valley Maltings, TD15 2UZ, UK), a kako bi se osigurala gorčina, koristio se hmelj "Hallertau Mittelfruh" (zemlja podrijetla: Njemačka; berba: 2021.) s 5,3 % alfa-kiselina i pogača industrijske konoplje. Za provedbu fermentacije koristio se kvasac "Safale US-05". Analiza fizikalno-kemijskih karakteristika provedena je u laboratoriju Osječke pivovare, a senzorska analiza na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku.

3.2.1. Priprema vode za proizvodnju sladovine

Kuhanje piva je proces koji zahtijeva veliku količinu vode. Voda koja ulazi u pivovaru općenito se obrađuje kako bi se oslobodila nečistoća i kako bi se osiguralo da ima sastav koji se smatra prikladnim za pivo koje se proizvodi. Voda se također obrađuje kako bi se uklonila tvrdoća prije upotrebe u sustavima za proizvodnju pare te se deaerira kada se koristi za razne radnje u pivovari, osobito prilagodbu sadržaja alkohola u proizvodnji piva visoke gustoće (Bamforth 2017).

U prirodnoj vodi uvijek postoji određena količina raznih otopljenih mineralnih tvari. Mineralne tvari iz vode predstavljaju neznatan dio ekstrakta piva (0,3-0,5 g/L), ali izrazito utječu na ukus piva. Mineralne tvari vode utječu na ukus piva svojim utjecajem na enzimske i koloidno-kemijske reakcije, do kojih dolazi u toku procesa proizvodnje piva. Kvaliteta vode je jedan od najvažnijih čimbenika dobre kvalitete piva (Lončarić i sur. 2017).

U Brewtaurus uređaj (**slika 1**) ulije se 23 L destilirane vode u koju se doda odgovarajuća količina soli kako bi se postigao pH karakterističan za ukomljavanje pale ale piva: 1,5 g CaSO₄, 5 g CaCl₂, 4 g MgSO₄, 2,5 g NaHCO₃, 2,5 g CaCO₃. Dio vode odvoji se za ispiranje tropa i u nju se također dodaju odgovarajuće količine soli: 0,35 g CaSO₄, 1,1 g CaCl₂, 0,9 g MgSO₄, 0,55 g NaHCO₃, 0,55 g CaCO₃. Voda se zagrijava na temperaturu od 69 °C kroz 60 minuta.



Slika 1 Brewtaurus uređaj za kuhanje piva (izvor: privatna arhiva)

3.2.2. Proizvodnja sladovine (ukomljavanje)

Za proces ukomljavanja u laboratorijskim uvjetima korišten je uređaj Brewtaurus od nehrđajućeg prehrambenog čelika. Kada se postigne potrebna temperatura vode, u uređaj se postavlja cijev za ukomljavanje sa sitima na dnu cijevi (**slika 2**) koja će poslužiti kao filter kod cijedenja i ispiranja tropa kako bi se što učinkovitije ekstrahirao šećer u sladovinu. U procesu proizvodnje sladovine (**slika 3**) u pripremljenu vodu dodaje se 5 kg ječmenog slada (**slika 4**). Na slad se postavljaju čelična sita i mrežice koji sprječavaju prijelaz slada iz posude za vrijeme prelijevanja vode pomoću pumpe. Pumpa povlači vodu s dna posude i prelijeva ju s ciljem što bolje ekstrakcije šećera. Također, pumpa služi i za aeraciju sladovine. U prvom

dijelu fermentacije kisik je potreban kvascima za rast biomase. Ukomljavanje se provodi na 69 °C kroz 60 minuta.



Slika 2 Postavljanje sita i mrežica (izvor: privatna arhiva)



Slika 3 Ukomljavanje (izvor: privatna arhiva)



Slika 4 Ječmeni slad "Best Pale Ale" (izvor: vlastita arhiva)

Kada se kaša od ječmenog slada i vode zagrijavaju na temperaturi od oko 60 °C, enzimi slada, uglavnom amilaze, ali i proteaze, razgrađuju škrob i proteine, što dovodi do nastanka mješavine šećera i peptida ili aminokiselina (Aroh 2018). Tradicionalno, ukomljavanje započinje na 45 °C. Na ovoj temperaturi aktiviraju se proteaze koje razgrađuju proteine na kratke peptide i aminokiseline, koji će tvoriti glavni izvor dušika za kvasce tijekom fermentacije. Na 62-64 °C, škrob želatinizira i postaje pristupačan amilazama. Beta-amilaze odcijepuju maltozu od molekula škroba. Kaša se zatim zagrijava na 72 °C 15-25 minuta, omogućujući razgradnju dugolančanih polisaharida alfa-amilazama. Zagrijavanjem na 78 °C, zaustavljaju se gotovo sve enzimske aktivnosti (Thesseling i sur. 2019). Završetkom ukomljavanja trop se ispiru pripremljenom vodom i sladovina se cijedi kroz filter ploču. Ispiranjem tropa pospješuje se iskorištenje šećera u sladovini, a zaostali trop, nusproizvod, može poslužiti u ishrani stoke.

3.2.3. Hmeljenje i dodatak pogače konoplje

Nakon filtracije, otopina šećera, "sladovina", prenosi se u kotao za kuhanje, gdje se kuha najmanje jedan sat uz dodatak hmelja. Osim stvaranja netopljivih kompleksa s proteinima i polipeptidima (što doprinosi stabilnosti piva), hmelj djeluje antimikrobno na sladovinu te osigurava gorčinu. Nadalje, hmelj je neophodan za stabilizaciju pivske pjene (Aroh 2018).

Nakon uklanjanja tropa, sladovina se zagrijava na 100 °C (**slika 5**) te započinje proces ohmeljavanja sladovine. Kada se postigne temperatura 100 °C u sladovinu se dodaje 40 g hmelja (**slika 6**) i 300 g konopljine pogače (**slika 7**). Za potrebe izrade diplomskog rada upotrijebljen je hmelj Hallertau Mittelfruh s 5,3 % alfa kiselina. Slijedi kuhanje 60 minuta. 15 minuta prije završetka kuhanja, u ohmeljenu sladovinu uvodi se spiralno hladilo koje se na taj način sterilizira. Hlađenje sladovine provodi se kako bi se osigurala radna temperatura za kvasce, jer kod previsokih temperatura dolazi do uništenja stanica kvasaca. Temperaturni raspon za rad kvasca upotrijebljenog za izradu rada je 15-25 °C.

Kuhanje sladovine provodi se u svrhu oslobađanja tvari gorčine iz hmelja, eliminacije nepoželjnih komponenata, sterilizacije sladovine, precipitacije proteina veće molekularne mase i eliminacije enzima koji su odradili svoju zadaću te kako bi se ustalila konačna koncentracija vode isparavanjem vode (Mastanjević 2024).

Konopljina pogača je bogata vitaminima, vlaknima, proteinima, polifenolima i esencijalnim aminokiselinama (Feng, Sun i Fang 2022). I alfa kiseline i kanabinoidi slabo su topljivi u vodi jer su uljasti i hidrofobni, što otežava njihov izravan prijelaz u pića. Alfa-kiseline iz hmelja se izomeriziraju kuhanjem u slabo kiselom okruženju i daju izo- α -kiseline koje su bolje topljive i daju gorčinu (Ramirez i Viveros 2021). Hmelj i konoplja sadrže i antioksidativne spojeve, terpene i fenole. Terpeni su jedna od najvećih skupina u biljkama. Iako su terpeni i hlapljivi fenoli uglavnom odgovorni za njihovu karakterističnu aromu, oni posjeduju i korisne zdravstvene prednosti poput antikarcinogenog, antivirusnog, antimikrobnog, analgetskog, protuupalnog i antiparazitskog djelovanja (Addo i sur. 2023).



Slika 5 Sladovina nakon uklanjana tropa (izvor: privatna arhiva)



Slika 6 Hmelj (izvor: privatna arhiva)



Slika 7 Pogača industrijske konoplje (izvor: privatna arhiva)



Slika 8 Hlađenje na temperaturu inokulacije (izvor: privatna arhiva)

Kako bi se proces fermentacije bolje pratio, nakon kuhanja i hlađenja uzima se uzorak u kojem se određuje ukupna količina fermentabilnih šećera, na uređaju EasyDens, koja je iznosila 11,7 °P. Na temelju ove vrijednosti mogla se pretpostaviti očekivana količina alkohola u pivu nakon fermentacije.

3.2.4. Fermentacija

Ohlađena sladovina pretače se u fermentacijsku posudu u koju se dodaje kvasac. Prema Pravilniku (NN 42/05) za alkoholno vrenje piva mora se koristiti čista kultura pivskog kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (Mastanjević 2024).

Fermentacija se provodi pri 25 °C. Proces završava kada u otopini više nema fermentabilnih šećera, otprilike nakon 5-7 dana. Nakon 7 dana uzet je uzorak za analizu prevrelosti. Dobivena vrijednost iznosila je 3.9 °P. Pravi stupanj prevrenja je mjera pretvorbe ekstrakta iz sladovine u CO₂ i alkohol. Kada prividni stupanj ekstrakta dostigne 66-68 % za svijetlo, odnosno 60 % za tamno pivo, glavno vrenje završava tj. mlado pivo se hladi i prebacuje u ležne tankove. Mlado pivo ima neprijatan i specifičan miris po kvascu. Sadrži oko 10 % od ukupno fermentabilnih šećera iz sladovine. Zbog niskog sadržaja CO₂ reskost je slabo izražena. Mlado pivo je visoke mutnoće zbog prisustva suspendiranih stanica kvasca i hladnog proteinskog taloga iz sladovine (Mastanjević 2024).



Slika 9 Kvasac (izvor: vlastita arhiva)

3.2.5. Gaziranje i pakiranje

Pivo je nakon fermentacije pretočeno u keg (**slika 10**) i stavljeno na hlađenje 3 dana na 2-4 °C. Ohlađeno pivo se gazira pomoću CO₂ u kegu pod tlakom od 2.5 bara. Keg je metalna cilindrična posuda sa ventilom na vrhu. Ventil se spaja na cijev koja ulazi u bačvu, a služi za čišćenje, izlazak CO₂ iz bačve pri punjenju te izlaz piva iz bačve prilikom potrošnje. Danas se proizvode u volumenima od 7 L do 100 L (Mastanjević 2024). Gazirano pivo se puni u tamne staklene boce (**slika 11**). Kontrolno pivo proizvedeno je na isti način, ali bez dodatka pogače konoplje.



Slika 10 Keg (izvor: privatna arhiva)



Slika 11 Punjenje gotovog piva u boce (izvor: privatna arhiva)

3.2.4. Analiza fizikalno-kemijskih karakteristika

Analiza fizikalno-kemijskih karakteristika provedena je u laboratoriju Osječke pivovare. Prije provođenja ispitivanja pivo je filtrirano pomoć dijatomejske zemlje i filter papira (**slika 12**). Provedeno je određivanje udjela alkohola, boje, gorčine, pH vrijednosti i ukupnih polifenola.



Slika 12 Filtiranje piva (izvor: vlastita arhiva)

3.2.4.1. Određivanje udjela alkohola, specifične gustoće, prividnog i stvarnog ekstrakta i ekstrakta u osnovnoj sladovini

Za određivanje se koristio uređaj DMA 4500 M, Beer Analyser, tvrtke Antona Paara (**slika 13**). Profiltrirani uzorak postavlja se u prostor za bocu na analizatoru piva. Pomoću igle za uzorkovanje, uzorak se provuče kroz uređaj te se izmjere zadani parametri.



Slika 13 Uređaj DMA 4500 M za analiziranje piva (izvor: vlastita arhiva)



Slika 14 Prikaz rezultata izmjerenih na uređaju DMA 4500 M (izvor: vlastita arhiva)

3.2.4.2. Određivanje pH vrijednosti

pH metar (slika 15) je analitički instrument za određivanje pH vrijednosti. Uzorak se prethodno miješa na mješaču kako bi se uklonio prisutan CO₂. U uzorak se uroni elektroda pH metra i pritisne se tipka "Read". Kroz par minuta na zaslonu uređaju prikaže se izmjerena vrijednost. Elektrodu je prije i nakon mjerenja potrebno isprati destiliranom vodom.



Slika 15 pH metar (izvor: vlastita arhiva)

3.2.4.3. Određivanje boje

Određivanje boje provodi se na spektrofotometru u kvarcnim kivetama, mjerenjem apsorbancije pri 430 nm. Prethodno se provodi slijepa proba destiliranom vodom.

3.2.4.4. Određivanje gorčine

Pivo se centrifugira 15 minuta na 3000 o/min. U 10 mL izbistrenog piva bez CO₂ doda se 0,5 mL 6 N HCl-a, 20 ml izo-oktana i staklene kuglice. Kivete mućkati 15 minuta u tresilici i centrifugirati 3 minute na 3000 o/min. Nastaju 2 sloja. Gornji sloj, u kojem su izdvojene gorke tvari, se otpipetira u kvarcne kivetice. Spektrofotometrom na 275 nm izmjeriti ekstinkciju izo-oktanskog ekstrakta u odnosu na izo-oktan (slijepa proba).



Slika 16 Određivanje gorčine (izvor: vlastita arhiva)

3.2.4.5. Određivanje ukupnih polifenola

U odmjernu tikvicu od 25 mL otpipetira se 10 mL uzorka. U uzorak se doda se 8 mL CMC-EDTA, 0,5 mL Fe(III) i 0,5 mL amonijaka. Tikvica se nadopuni vodom do oznake. Uz glavnu probu pripremi se i slijepa proba. Za slijepu probu se u odmjernu tikvicu od 25 mL otpipetira se 10 mL uzorka. U uzorak se doda se 8 mL CMC-EDTA i 0,5 mL amonijaka te se tikvica nadopuni vodom do oznake. Tikvice sa uzorcima se snažno izmiješaju te se ostave 10 minuta. Nakon 10 minuta očitava se apsorbancija uzorka na 600 nm u spektrofotometru.



Slika 17 Određivanje ukupnih polifenola (izvor: vlastita arhiva)

3.2.5. Senzorska analiza

Senzorska analiza proizvedenog piva sa pogačom konoplje provedena je među studentima Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek. Ocjenjivanje senzorskih karakteristika provedeno je između 8 ispitanika, a one su miris, okus, reskost (sadržaj CO_2), punoća okusa, gorčina, trpkost i kvaliteta pjene. Prije serviranja pivo (kontrolno i sa dodatkom pogače konoplje) je ohlađeno na $10\text{ }^\circ\text{C}$ i označeno brojevima da se postigne anonimnost uzoraka. Uzorci su svakom ispitivaču bili posluženi na pladnju sa dvije čaše označene brojevima uzoraka. Ispitivačima je dano po 100 mL piva, a kao neutralizatore okusa imali su dostupnu vodu i kruh. Uzorci su posluženi u staklenim čašama, poklopljenima sa satnim stakalcem da se spriječi gubitak hlapivih komponenata. **Slika 18** prikazuje obrazac koji je bio ponuđen panelistima pri provođenju senzorske analize.

Potpis ocjenjivača:				
Stil piva:				
Uzorak:				
Karakteristika:	Opis	Bodovi	Negativni bodovi	Ukupno
Prekomjerno pjenjenje (gushing)		Diskvalifikacija		
Prekiselost		Diskvalifikacija		
Miris	Svojtven	5		
	Manje svojtven	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 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		
	Blijutavo	2		
	Vrlo blijutavo	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 18 Ocjenjivački listić (izvor: vlastita arhiva)

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. REZULTATI MJERENJA FIZIKALNO-KEMIJSKIH KARAKTERISTIKA

Kako bi se utvrdio utjecaj dodatka pogače industrijske konoplje u sladovinu na osnovne pokazatelje kakvoće piva, provedene su fizikalno-kemijske analize uzoraka piva. Analiza je provedena na kontrolnom pivu, U1, bez dodatka pogače konoplje, i pivu sa dodatkom pogače industrijske konoplje, U2. Rezultati analize prikazani su u **tablici 1**.

Tablica 1 Rezultati mjerenja fizikalno-kemijskih karakteristika kontrolnog uzorka i piva sa dodatkom pogače industrijske konoplje

Uzorak	U1	U2
Alkohol (%)	5,19	5,63
Specifična težina (g/mL)	1,01502	1,00986
Ekstrakt u osnovnoj sladovini (°P)	13,46	13,02
Pravi ekstrakt (%)	5,69	4,53
Prevrelost (%)	3,83	2,51
CO ₂ (g/L)	0,727	0,852
O ₂ (ppb)	4149	3747
Boja (EBC)	9,48	8,75
Gorčina (IBU)	18,140	57,341
Ukupni polifenoli (mL/L)	291,92	229,38
pH	4,21	4,22

Na temelju rezultata prikazanih u **tablici 1** i rezultata dobivenih mjerenjem prevrelosti i ekstrakta u osnovnoj sladovini, udio alkohola je u skladu s očekivanim. Udio alkohola u pivu sa dodatkom konopljine pogače veći je od udjela alkohola u kontrolnom uzorku i komercijalno dostupnim pivima s dodatkom konoplje. pH vrijednost proizvedenog piva ne odstupa od standardnih vrijednosti pH za ovaj stil piva.

Iz rezultata prikazanih u tablici, vidljivo je da postoji značajna razlika u gorčini i sadržaju polifenola između ova dva uzorka. U odnosu na pivo proizvedeno sa dodatkom suhog cvijeta

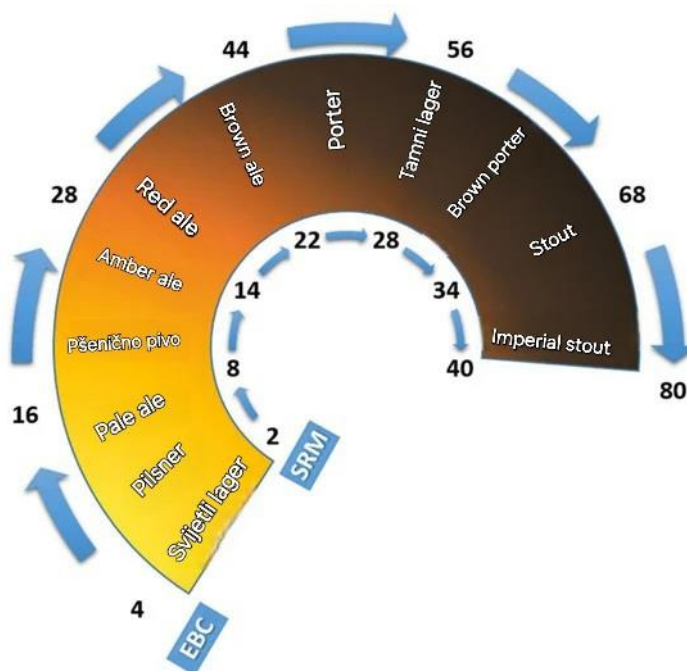
konoplje (339 mL/L) (Šplajt 2024), proizvedeno pivo ima značajno manju količinu polifenola. Pivo proizvedeno sa dodatkom ekstrakta industrijske konoplje (Antunović 2023) imalo je još manji sadržaj polifenola (182 mL/L). Pivo proizvedeno sa dodatkom pogače ima značajno veću vrijednost gorčine u odnosu na oba navedena piva (25 IBU). Usporedba vrijednosti ukupnih polifenola i gorčine sa drugim stilovima piva nalazi se u **tablici 2 i tablici 3**.

Tablica 2 Udio ukupnih polifenola u različitim vrstama piva (prilagođeno iz: Vukomanović 2016)

Vrsta piva	Ukupni polifenoli EBC
Pivo s dodatkom pogače konoplje	229,38
Industrijsko svijetlo	147,61
Industrijsko pšenično	151,07
Industrijsko crveno	204,23
Industrijsko crno	206,31

Tablica 3 Različite vrste piva i vrijednosti gorčine u IBU jedinicama (prilagođeno iz: Glukov 2021)

Vrsta piva	IBU
Pivo s dodatkom pogače konoplje	57,341
Svijetlo pivo, India Pale Ale	55
Svijetlo pivo, American Pale Ale	15-25
Svijetlo pilsner pivo	27
Tamno pšenično pivo	22-30
Rezano pivo	18-22
Svijetlo lager pivo	5-15
Tamno lager pivo	22-30



Slika 19 EBC i SRM vrijednosti boja različitih vrsta piva (preuzeto i prilagođeno iz: Lukinac i sur. 2019)

Prema **slici 19**, na temelju dobivenih rezultata za boju (9 EBC), pivo proizvedeno s dodatkom pogače konoplje ima boju karakterističnu za Pilsner pivo.

4.2. REZULTATI SENZORSKE ANALIZE

Tablica 4 Rezultati senzorske analize piva sa dodatkom pogače industrijske konoplje

Karakteristike	Opis i bodovanje	Ukupna ocjena	
Miris	Svojstven	5	
	Manje svojstve	4	
	Blage greške mirisa	3	5
	Zamjetne greške mirisa	2	
	Jake greške mirisa	1	
Okus	Svojstven	5	
	Manje svojstven	4	
	Blage greške okusa	3	5
	Zamjetne greške okusa	2	
	Jake greške okusa	1	
Reskost (sadržaj CO ₂)	Ugodno resko	5	
	Resko	4	
	Manje resko	3	4
	Bljutavo	2	
	Vrlo bljutavo	1	
Punoća okusa	Svojstvena, vrlo punog okusa	4	
	Manje svojstvena, punog okusa	3	4
	Vodenasto	2	
	Nesvojstvena, praznog okusa	1	
Gorčina	Vrlo ugodna	5	
	Ugodna	4	
	Malo zaostaje u ustima	3	4
	Zaostaje u ustima	2	
	Jako zaostaje u ustima	1	
Trpkost	Malo zaostaje u ustima	3	
	Zaostaje u ustima	2	3
	Jako zaostaje u ustima	1	
Kvaliteta pjene	Postojana	3	
	Slabije postojana	2	2
	Ne postojana	1	
Ukupno bodova		27	

Tablica 5 Rezultati senzorske analize piva bez dodatka pogače konoplje

Karakteristike	Opis i bodovanje	Ukupna ocjena	
Miris	Svojstven	5	
	Manje svojstve	4	
	Blage greške mirisa	3	5
	Zamjetne greške mirisa	2	
	Jake greške mirisa	1	
Okus	Svojstven	5	
	Manje svojstven	4	
	Blage greške okusa	3	5
	Zamjetne greške okusa	2	
	Jake greške okusa	1	
Reskost (sadržaj CO ₂)	Ugodno resko	5	
	Resko	4	
	Manje resko	3	5
	Bljutavo	2	
	Vrlo bljutavo	1	
Punoća okusa	Svojstvena, vrlo punog okusa	4	
	Manje svojstvena, punog okusa	3	4
	Vodenasto	2	
	Nesvojstvena, praznog okusa	1	
Gorčina	Vrlo ugodna	5	
	Ugodna	4	
	Malo zaostaje u ustima	3	5
	Zaostaje u ustima	2	
	Jako zaostaje u ustima	1	
Trpkost	Malo zaostaje u ustima	3	
	Zaostaje u ustima	2	3
	Jako zaostaje u ustima	1	
Kvaliteta pjene	Postojana	3	
	Slabije postojana	2	2
	Ne postojana	1	
Ukupno bodova		29	

Tablica 4 i **tablica 5** prikazuju rezultate senzorske analize piva sa dodatkom pogače konoplje i kontrolnog piva. Ocjenjivanje je provedeno u skupini od 8 ispitanika, a rezultati su u tablici izraženi kao srednja vrijednost. Na temelju dobivenih rezultata, oba piva su dobro prihvaćena među ispitanicima. Senzorska analiza piva s dodatkom kopljine pogače rezultirala je ocjenom 27/30. Prema dobivenim ocjenama proizvedeno pivo je svojstvenog miris i okusa, resko, ugodne gorčine, zaostaje ili malo zaostaje u ustima, a pjena je slabije postojana u odnosu na kontrolno pivo. Pivo bez dodatka konopljine pogače ispitanici su ocijenili nešto višom ocjenom, 29/30. Za razliku od piva s dodatkom pogače konoplje, reskost kontrolnog piva ocijenjena je kao ugodno resko, a gorčina kao vrlo ugodna.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja provedenih za potrebe izrade diplomskog rada izvedeni su sljedeći zaključci:

Dodatak industrijske pogače u proces proizvodnje piva nije značajno utjecao na aromu piva, ali je značajno utjecao na udio polifenola i gorčinu gotovog proizvoda.

Laboratorijskim analizama potvrđena je pretpostavka da će pivo s dodatkom pogače industrijske konoplje imati veći udio alkohola u odnosu na kontrolu.

Pivo proizvedeno s dodatkom konopljine pogače je tip Pale Ale. Međutim, dobivena boja piva više odgovara nešto svjetlijim pivima, tj. Pilsneru u odnosu na kontrolu koja je nešto tamnija.

Rezultati laboratorijske analize pokazali su da pivo proizvedeno s dodatkom pogače konoplje ima niži udio polifenola u odnosu na kontrolu, ali veći u odnosu na piva na tržištu. Također, razina gorčine proizvedenog piva veća je u odnosu na kontrolu i ostale stilove piva te piva proizvedenih s ekstraktom i suhim cvijetom industrijske konoplje.

Prema dobivenim rezultatima senzorske analize, i pivo s dodatkom konopljine pogače i kontrola, su dobro prihvaćeni među ispitanicima. Pivo s dodatkom pogače industrijske konoplje je resko, svojstvenog mirisa i okusa te ugodne gorčine.

6. LITERATURA

- Addo, P. W., Poudineh, Z., Shearer, M., Taylor, N., MacPherson, S., Raghavan, V., Orsat, V., i Lefsrud, M. (2023) "Relationship between Total Antioxidant Capacity, Cannabinoids and Terpenoids in Hops and Cannabis." *Plants*, 12 (6): 1225. <https://doi.org/10.3390/plants12061225>.
- Antunović, P. (2023) Proizvodnja i karakterizacija piva sa dodatkom ekstrakta industrijske konoplje. Diplomski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.
- Aroh, K. (2018) "Review: Beer Production." SSRN Scholarly Paper. Rochester, NY. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3458983>.
- Aschemann-Witzel, J., i Stangerlin, I. D. C. (2021) "Upcycled By-Product Use in Agri-Food Systems from a Consumer Perspective: A Review of What We Know, and What Is Missing." *Technological Forecasting and Social Change*, 168 (2021): 120749. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2021.120749>.
- Bamforth, C. W. (2017) "Progress in Brewing Science and Beer Production." *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 8: 161–76. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-060816-101450>.
- Burton, R. A., Andres, M., Cole, M., Cowley, J. M., i Augustin, M.A. (2022) "Industrial Hemp Seed: From the Field to Value-Added Food Ingredients." *Journal of Cannabis Research*, 4 (1): 45. <https://doi.org/10.1186/s42238-022-00156-7>.
- Capcanari, T., Covaliov, E., Negoita, C., Siminiuc, R., Chirsanova, A., Reșitca, V., i Țurcanu, D. (2023) "Hemp Seed Cake Flour as a Source of Proteins, Minerals and Polyphenols and Its Impact on the Nutritional, Sensorial and Technological Quality of Bread." *Foods* 2023, 12: 4327. <https://doi.org/10.3390/foods12234327>.
- Capece, A., Romaniello, R., Siesto, G., i Romano, P. (2018) "Conventional and Non-Conventional Yeasts in Beer Production." *Fermentation*, 4: 38. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020038>.
- Comunian, T. A., Silva, M. P., i Souza, C. J. F. (2021) "The Use of Food By-Products as a Novel for Functional Foods: Their Use as Ingredients and for the Encapsulation Process." *Trends in Food Science & Technology*, 108 (Veljača): 269–280. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.003>.
- de Lima, A.C., Aceña, L., Mestres, M. Boqué, R. (2022) "An Overview of the Application of Multivariate Analysis to the Evaluation of Beer Sensory Quality and Shelf-Life Stability." *Foods*, 11 (14): 2037. <https://doi.org/10.3390/foods11142037>.
- Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., i Merendino, N. (2020) "The Seed of Industrial Hemp (*Cannabis Sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition." *Nutrients*, 12 (7): 1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>.
- Feng, X., Sun, G., i Fang, Z. (2022) "Effect of Hempseed Cake (*Cannabis Sativa* L.) Incorporation on the Physicochemical and Antioxidant Properties of Reconstructed Potato Chips." *Foods*, 11 (2): 211. <https://doi.org/10.3390/foods11020211>.
- Goyal, A., Shukla, G., Mishra, S., Mallik, S., Singh, A., i Dubey, M.K. (2023) "BEER PRODUCTION BY FERMENTATION PROCESS: A REVIEW." *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*, 13 (4): e9532. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9532>.
- Gukov, A. (2021) Mikrobiološki i fizikalno – kemijski profil hrvatskih piva. Diplomski rad. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.

- Kasula, R., Solis, F., Shaffer, B., Connett, F., Barrett, C., Cocker, R., i Willingham, E. (2021) "Characterization of the Nutritional and Safety Properties of Hemp Seed Cake as Animal Feed Ingredient." *International Journal of Livestock Production* 12 (2): 53–63. <https://doi.org/10.5897/IJLP2020.0750>.
- Klimczak, K., i Cioch-Skoneczny, M. (2023) "Changes in Beer Bitterness Level during the Beer Production Process." *EUROPEAN FOOD RESEARCH AND TECHNOLOGY*, 249 (1): 13–22. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04154-0>.
- Kotecka-Majchrzak, K., Kasalka-Czarna, N., Spsychaj, A., Mikołajczak, B., i Montowska, M. (2021) "The Effect of Hemp Cake (*Cannabis Sativa* L.) on the Characteristics of Meatballs Stored in Refrigerated Conditions." *Molecules*, 26 (17): 5284. <https://doi.org/10.3390/molecules26175284>.
- Lončarić, A., Kovač, T., Nujić, M., i Habuda-Stanić, M. (2017) "PRIPREMA TEHNOLOŠKE VODE ZA INDUSTRIJSKU PROIZVODNJU PIVA." 7. međunarodni znanstveno-stručni skup *Voda za sve*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 177-187.
- Mastanjević, K. (2024) Tehnologija slada i piva. Prezentacija. Osijek. NN 142/2011. n.d. "Pravilnik o Pivu." https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2011_12_142_2867.html. Datum pristupa: 27.08.2024.
- Plüss, M. (2021) "Brewing Sustainable Beer with Hemp Instead of Hops." <https://impact.zhaw.ch/en/article/brewing-sustainable-beer-with-hemp-instead-of-hops>. Datum pristupa: 03.09.2024.
- Ramirez, A., i Viveros, J. M. (2021) "Brewing with *Cannabis Sativa* vs. *Humulus Lupulus*: A Review." *Journal of the Institute of Brewing*, 127 (3): 201-209. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jib.654>.
- Sayre-Chavez, B., Bettenhausen, H, Windes, S., Aron, P., Cistué, L., Fisk, S., Helgerson, L., Heuberger, A. L., Tynan, S., Hayes, P., Muñoz-Amatriaín, M. (2022) "Genetic Basis of Barley Contributions to Beer Flavor." *Journal of Cereal Science* 104 (2022): 103430. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103430>.
- Thesseling, F. A., Bircham, P. W., Mertens, S., Voordeckers, K., i Verstrepen, K. J. (2019) "A Hands-On Guide to Brewing and Analyzing Beer in the Laboratory." *Current Protocols in Microbiology* 54 (1): e91. <https://doi.org/10.1002/cpmc.91>.
- Vukomanović, K. (2016) Usporedba dviju metoda za određivanje ukupnih polifenola u pivu. Diplomski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.
- Willaert, R. (2007) "The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer." U: Sinha, N. K. *Handbook of Food Products Manufacturing*. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Šplajt, I. (2024) Proizvodnja i karakterizacija piva s dodatkom suhog cvijeta industrijske konoplje. Diplomski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.