



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД



УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ ТРИТИКАЛЕА НА ТЕХНОЛОШКЕ ПАРАМЕТРЕ КВАЛИТЕТА ПИВА

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментор:
проф. др Јелена Пејин

Кандидат:
маст. инж. технол. Милана Прибић

Нови Сад, 2024. године



UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF TECHNOLOGY NOVI SAD



INFLUENCE OF TRITICALE APPLICATION ON TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF BEER QUALITY

PhD THESIS

Supervisor:
Prof. Dr. Jelena Pejin

Candidate:
MSc. Milana Pribić

Novi Sad, 2024

Захвалница

Огромну захвалност дугујем својој менторки, проф. др Јелени Пејин, која ме је са својим ентузијазмом и посвећеношћу увела у свет технологије пива и пружила безрезервну помоћ и знање. Хвала Вам на неизмерном стрпљењу, разумевању, и пријатељској подршци.

Такође, изразила бих захвалност члановима комисије на указаном поверењу, приставши да буду чланови комисије.

Захвална сам и колегама са Института за ратарство и повртарство у Новом Саду, др Милану Миросављевићу и др Љиљани Брбаклић на конструктивним коментарима и саветима, као и на сортама тритикалеа. Велико хвала др Илији Каменку, као и др Саши Деспотовићу, на сарадњи и помоћи приликом израде експерименталног дела докторске дисертације. Захвална сам и техничком сараднику, Биљани Тодоровић на огромној помоћи у превазилажењу свих изазова које са собом носи израда једне докторске дисертације.

Пријатељима, Сандри, Заги, Милицы, Тањи на разумевању и несебичној подршци. Хвала вам што сте увек ту.

Највећу захвалност дугујем својој породици, родитељима Мици и Милану, сестри Јелени, Луки, Лани, који су ми безгранична и безусловна подршка у свему што радим и без чије љубави не бих била ово што јесам.

Милана

ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Милана Прибић
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	др Јелена Пејин, редовни професор, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду
Наслов рада:	Утицај примене тритикалеа на технолошке параметре квалитета пива
Језик публикације (писмо):	Српски (ћирилица)
Физички опис рада:	Унети број: Страница: 202 Поглавља: 7 Референци: 152 Табела: 46 Слика: 40 Графикона: 0 Прилога: 1
Научна област:	Технолошко инжењерство
Ужа научна област (научна дисциплина):	Биотехнологија
Кључне речи / предметна одредница:	Тритикале; несладоване сировине; ензим; слад; пиво
Резиме на језику рада:	<p>Пиво, једно од најчешће конзумираних алкохолних пића у свету, производи се ферментацијом воденог екстракта сладованог јечма са хмељом. За производњу пива потребне су четири сировине и то: јечмени слад, хмељ, вода и квасац. У највећем делу света, део јечменог слада замењује се јефтинијим несладованим сировинама. Поред оправдане употребе са економског аспекта, ове сировине користе се и због позитивног утицаја на пиво, јер чак и при малим уделима значајно утичу на крајњи производ. Једна од таквих житарица је управо тритикале. Ова хибридна житарица, настала укрштањем пшенице и ражи, у потпуности је развијана људском вољом, и као таква, прва је у свету.</p> <p>Тритикале је врло погодан за употребу у производњи пива, како у сладованом, тако и у несладованом облику. Бројне особине зрна могу да оправдају његову примену, а као најважније истичу се висока активност амилолитичких и протеолитичких ензима, чак и у несладованом облику.</p> <p>У првој фази истраживања, у оквиру ове докторске дисертације, урађена је анализа нативног тритикалеа, поступак микросладовања, као и анализа произведеног слада тритикалеа, на основу чега је закључено да обе сорте тритикалеа испуњавају захтеве квалитета за сировине погодне за употребу у производњи пива.</p>

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штампане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штампаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

	<p>Даље, у другој фази, урађена је анализа произведених сладовина из нативног тритикалеа, као и из слада тритикалеа, у различитим уделима у усипку, без и са додатком комерцијалног ензима, уз примену различитих метода комљења. Циљ ове фазе била је процена најповољнијег удела нативног и слада тритикалеа, као замене за јечмени слад у усипку, како би квалитет произведених сладовина био адекватан. Комерцијални ензим, Shearzyme 500L (Novozymes, Данска) одабран је у циљу смањења вискозности произведених сладовина. У овој фази урађена је и оптимизација количине додатог ензима, с обзиром да је количина, прописана по произвођачкој спецификацији, значајно смањила вискозност сладовина, која је, на овај начин, била мања чак и од прописаних вредности.</p> <p>Трећа фаза истраживања обухватала је анализу охмелених сладовина, произведених из удела тритикалеа, као и количине ензима, показаних као најадекватнијим у претходној фази истраживања. Као што је то био случај у производњи сладовине, анализе охмелених сладовина показале су смањење садржаја екстракта са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку, како без, тако и са додатком ензима. Применом слада тритикалеа, са повећањем удела тритикалеа у усипку, садржај екстракта се повећавао.</p> <p>Четврта фаза истраживања обухватала је анализу произведеног младог пива у лабораторијским условима, где је примећено да се током појединачних ферментација садржај етанола повећавао, услед ферментативне разградње шећера, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Највећи садржај етанола, у младом пиву произведеном из нативног тритикалеа, одређен је у уделу тритикалеа од 10%, сорте НС Паун, применом конгресне методе комљења ($2,80 \pm 0,01\% \text{ v/v}$). Када је у питању слад тритикалеа, највећи садржај етанола одређен је у младом пиву произведеном из 50% удела тритикалеа сорте НС Паун ($3,06 \pm 0,01\% \text{ v/v}$), што је у корелацији са резултатима испитиваних охмелених сладовина, из којих је приметан највећи садржај екстракта управо у уделима од 10% нативног и 50% слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку.</p> <p>Анализа аминокиселинског састава сладовине показала је да је са повећањем нативног тритикалеа у усипку, приметно смањење садржаја аминокиселина. Већи садржај одређен је у сладовинама произведеним из слада тритикалеа, у поређењу са нативним тритикалеом. Такође, запажено је да је применом модификованог режима комљења, добијен већи садржај аминокиселина у свим уделима, у поређењу са конгресном методом. У испитиваним ферментацијама, потпуна асимилација аминокиселина догодила се у року од 72 сата, са изузетком групе „D“⁻ пролина.</p> <p>У оквиру ове докторске дисертације урађено је и моделовање и оптимизација производње сладовине, применом вештачких неуронских мрежа и генетског алгорита. На основу оптимизације, утврђено је да су оптимизоване улазне променљиве биле 23% (удео тритикалеа), 9% (запремина ензима), 1 (режим комљења – конгресна метода) и 3 (сорта/форма тритикалеа – слад сорте НС Паун). Добијени резултати, који одговарају овим оптимизованим улазним променљивим, били су 8,65% за садржај екстракта сладовине, 1,52 mPa·s за вискозност сладовине и 148,32 mg/l за садржај слободног аминокиселина азота у сладовини. Након добијања резултата оптимизације, спроведена је експериментална потврда на реалном лабораторијском процесу, где су добијене врло сличне вредности испитиваних параметара, што је потврдило ефикасност примене вештачких неуронских мрежа и генетског алгорита у предвиђању и постизању жељеног квалитета сладовине.</p>
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	12.07.2018. године

Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	Председник: др Марина Шћибан, редовни професор, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду; Члан/ментор: др Јелена Пејин, редовни професор, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду; Члан: др Урош Миљић, ванредни професор, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду; Члан: др Виктор Недовић, редовни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду; Члан: др Саша Деспотовић, ванредни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду.
Напомена:	

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Milana Pribić
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Dr. Jelena Pejin, Full Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad
Thesis title:	Influence of triticale application on technological parameters of beer quality
Language of text (script):	Serbian language (cyrillic)
Physical description:	Number of: Pages: 202 Chapters: 7 References: 152 Tables: 46 Illustrations: 40 Graphs: 0 Appendices: 1
Scientific field:	Technology Engineering
Scientific subfield (scientific discipline):	Biotechnology
Subject, Key words:	Triticale; unmalted cereals; enzyme; malt; beer
Abstract in English language:	<p>Beer, one of the most widely consumed alcoholic beverages globally, is produced by fermenting an aqueous extract of malted barley with hops. The production process involves raw materials such as barley malt, hops, water, and yeast. In many regions, some of the barley malt is substituted with, more economical, unmalted raw materials. Such an alternative is triticale, a hybrid cereal resulting from the crossbreeding of wheat and rye, developed entirely by humans. Its applications in beer production, both in native and malted forms, are noteworthy. Numerous features of the grain can justify its use, and the most important are the high activity of amylolytic and proteolytic enzymes, even in unmalted form.</p> <p>Within the first phase of the research, the analysis of native triticale, micromalting, and the analysis of the produced triticale malt were performed. The findings led to the conclusion that both triticale varieties meet the quality standards necessary for raw materials in beer production.</p> <p>Additionally, in the second phase, an analysis was conducted on the produced wort using native triticale and triticale malt in various ratios within the mash. This was done both with and without the addition of a commercial enzyme, Shearzyme 500L (Novozymes, Denmark), and involved the application of different mashing methods. The objective of this phase was to determine the optimal ratio of native triticale and triticale malt as a substitute for barley malt in the grist, ensuring the adequate quality of the resulting wort. The commercial enzyme was selected in order to reduce the viscosity of the produced wort. At this stage, the amount of added enzyme was optimized,</p>

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

5б – Statement on the authority,

5в – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5г – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

	<p>considering that the amount prescribed by the manufacturer's specification significantly reduced the viscosity of the wort, which, in this way, was even lower than the prescribed values.</p> <p>The third phase of the research included the analysis of hopped wort, produced from triticale ratios, as well as the amount of enzymes, shown to be the most adequate in the previous phase of research. As it was the case in the production of wort, the analysis of hopped wort showed a decrease in the extract content with an increase in the proportion of native triticale, both varieties, in the wort, both without and with the addition of enzymes. Conversely, when employing triticale malt and increasing the triticale proportion in the grist, the extract content increased.</p> <p>In the fourth phase of the research, the focus shifted to analyzing the 'green' beer produced in laboratory. The observations revealed that, during individual fermentations, the ethanol content increased due to the fermentative degradation of sugars, while both the real and apparent extract content decreased. The highest ethanol content in 'green' beer produced from native triticale was noted at a 10% ratios of the NS Paun variety, applying the congress method ($2.80 \pm 0.01\%$ v/v). As for the triticale malt, the peak ethanol content was observed in 'green' beer produced with 50% ratios of NS Paun triticale variety ($3.06 \pm 0.01\%$ v/v). This aligns with the results of hopped wort analysis, where the highest extract content was determined at the proportions of 10% native and 50% triticale malt, variety NS Paun.</p> <p>The analysis of the amino acid composition of the wort showed that with the increase of native triticale in the grist, there was a noticeable decrease in the amino acids content. Worts produced from triticale malt exhibited higher amino acid content compared to those from native triticale. Additionally, the application of the modified mashing method resulted in higher amino acid content across all examined samples, in contrast to the congress mashing method. In all observed fermentations, complete assimilation of amino acids occurred within 72 hours, except for the proline - group 'D'.</p> <p>This doctoral dissertation involved the modeling and optimization of wort production through the utilization of an artificial neural networks and a genetic algorithm. The optimization process identified key input variables as follows: 23% for the malt triticale ratio, variety NS Paun, 9% for the enzyme ratio, applying congress method. The optimization results, corresponding to these input variables, yielded values of 8.65% for wort extract content, 1.52 mPa·s for wort viscosity, and 148.32 mg/L for wort free amino nitrogen content. Subsequent experimental confirmation of these optimized parameters in a real laboratory process produced very similar values, affirming the efficacy of artificial neural networks and the genetic algorithm in predicting and achieving the desired wort quality.</p>
Accepted on Scientific Board on:	12.07.2018.
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	<p>President: Dr. Marina Šćiban, Full Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad; Member/Supervisor: Dr. Jelena Pejin, Full Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad; Member: Dr. Uroš Miljić, Associate Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad; Member: Dr. Viktor Nedović, Full Professor, Faculty of Agriculture, University of Belgrade; Member: Dr. Saša Despotović, Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Belgrade.</p>
Note:	

Садржај

1. УВОД	1
2. ТЕОРИЈСКИ ДЕО	2
2.1. Историја производње пива.....	2
2.2. Основне сировине у производњи пива.....	6
2.2.1. Јечам.....	6
2.2.2. Хмељ.....	9
2.2.3. Квасац.....	10
2.2.4. Вода.....	13
2.3. Процес производње пива.....	14
2.3.1. Технологија слада.....	14
2.3.2. Несладоване сировине - сурогати.....	19
2.3.3. Технологија пива.....	23
2.4. Тритикале.....	33
2.4.1. Историја настанка тритикалеа.....	35
2.4.2. Услови узгајања тритикалеа.....	38
2.4.3. Карактеристике зрна тритикалеа.....	39
2.4.4. Тритикале у технологији пива.....	41
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	43
3.1. Материјал.....	43
3.1.1. Хемикалије и прибор.....	43
3.1.2. Сировине.....	43
3.2. Методе.....	44
3.2.1. Анализа нативног тритикалеа.....	44
3.2.2. Микросладовање.....	44
3.2.3. Анализа слада.....	45
3.2.4. Анализа хмеља.....	46
3.2.5. Анализа охмељене сладовине.....	46
3.2.6. Анализа младог пива.....	46
3.2.7. Припрема инокулума за ферментацију.....	46
3.2.8. Припрема сладовине за ферментацију и ферментација.....	46
3.2.9. Одређивање активности α - и β -амилазе.....	47

3.2.10. Одређивање садржаја β -гљукана	47
3.2.11. Одређивање садржаја пентозана	49
3.2.12. Одређивање садржаја аминокиселина	49
3.2.13. Статистичка обрада добијених резултата	50
4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	51
4.1. Анализа нативног тритикалеа и слада тритикалеа –фаза 1	51
4.1.1. Анализа нативног тритикалеа.....	51
4.1.2. Микросладовање.....	56
4.1.3. Анализа слада тритикалеа	60
4.2. Анализа произведених сладовина – фаза 2	65
4.2.1. Анализа сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа – фаза 2.1.....	66
4.2.2. Анализа сладовина произведених од нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима – фаза 2.2.....	71
4.2.3. Анализа сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз примену модификованог режима комљења – фаза 2.3	86
4.2.4. Анализа сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења – фаза 2.4. 91	
4.2.5. Примена методе одзивне површине.....	106
4.3. Анализа произведених охмељених сладовина – фаза 3.....	106
4.3.1. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа – фаза 3.1	108
4.3.2. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима – фаза 3.2	112
4.3.3. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз примену модификованог режима комљења – фаза 3.3.....	116
4.3.4. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења – фаза 3.4.....	120
4.4. Анализа произведених младих пива – фаза 4	124
4.4.1. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа – фаза 4.1	125
4.4.2. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима – фаза 4.2.....	134
4.4.3. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз примену модификованог режима комљења – фаза 4.3	142

4.4.4. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења – фаза 4.4	150
4.5. Аминокиселине у производњи пива	158
4.5.1. Аминокиселински састав сладовине	159
4.5.2. Аминокиселински састав охмељене сладовине	162
4.5.3. Аминокиселински састав пива	164
4.6. Примена вештачких неуронских мрежа и генетског алгоритма у моделовању и оптимизацији производње сладовине	171
4.6.1. Моделовање процеса производње сладовине применом ANN-а	172
4.6.2. Оптимизација модела производње сладовине	173
4.6.3. Коришћени подаци у моделовању и оптимизацији процеса производње сладовине	174
4.6.4. Резултати обучавања ANN модела	174
4.6.5. Резултати тестирања ANN модела	175
4.6.6. Резултати оптимизације процеса производње сладовине применом GA	176
4.6.7. Потврда резултата моделовања и оптимизације процеса производње сладовине	177
5. ЗАКЉУЧЦИ	179
6. ЛИТЕРАТУРА	185
7. ПРИЛОЗИ	196

1. УВОД

Производња пива позната је још од давнина и једна је од најстаријих производњи алкохолних пића. По дефиницији, пиво је освежавајуће пиће настало алкохолном ферментацијом воденог екстракта сладованог јечма са хмељом. Основне сировине у производњи пива су јечам (слад), хмељ, вода и квасац. Поред основних, користе се и несладоване сировине, које представљају алтернативни извор ферментабилног екстракта, као јефтинија замена дела јечменог слада. Такође, могу се користити како би утицале на различите карактеристике пива, као што су боја, укус и стабилност пене. У Европи се у производњи пива замењује од 10 до 30% слада несладованим сировинама, што значајно смањује трошкове производње пива.

Житарица тритикале настала је укрштањем женског родитеља - пшенице и мушког родитеља - ражи. Сходно томе, тритикале поседује карактеристике оба родитеља - висок принос и добар квалитет зрна попут пшенице и отпорност на болести и могућност раста у неповољним условима попут ражи, што је омогућило његово комерцијално узгајање широм света. Последњих пар деценија, нашао је примену у храни за животиње и у производњи обновљиве енергије, док су истраживања усмерена на примену тритикалеа у производњи пива у константној експанзији.

Хемијски састав зрна тритикалеа ближи је пшеници него ражи, у смислу морфологије, величине гранула скроба и садржаја амилозе. Несладоване сировине, у већини случајева, не доприносе ензимском активношћу или растворљивим азотом у сладовини. Међутим, поједине сорте тритикалеа, чак и у несладованом облику, имају високу амилолитичку и протеолитичку активност, што га чини пожељном сировином у производњи пива. Уз амилолитичку активност, тритикале поседује и ниску температуру клајстеризације, што омогућава укомљавање на температурном режиму сличном јечменом сладу. Услед оваквих повољних карактеристика, тритикале се може додати директно у току процеса комљења, без претходне термичке обраде, што значајно утиче на смањење трошкова производње пива.

У оквиру ове докторске дисертације испитана је примена тритикалеа у производњи пива, од зрна тритикалеа до крајњег производа - пива. Истраживања су била усмерена ка производњи сладовине оптималног квалитета, како би се произвело пиво задовољавајућих карактеристика, уз процену најповољнијег режима комљења. Такође, испитан је утицај различитих удела нативног тритикалеа и слада тритикалеа у усипку, уз додатак комерцијалног ензима, у циљу производње сладовине одговарајућих технолошких параметара.

2. ТЕОРИЈСКИ ДЕО

2.1. Историја производње пива

Производња пива је стара колико и цивилизација. У прошлости се сматрала за активност спровођену искључиво у домаћинству, са циљем обогаћења трпезе. Међутим, данас је то развијена индустрија, која нуди прегршт различитих врста пива, на челу са неколицином компанија које се боре за водећу позицију на тржишту (Anderson, 2006; Buiatti, 2009). Суштински, сам процес производње пива није се значајно променио од његовог настанка. Упркос огромном технолошком развоју, који одваја древно од данашњег, комерцијалног пиварства, процес је у великој мери остао исти - зрна житарица, попут јечма, кроз неколико кључних процеса преводне се у пиво (Pires и Brányik, 2015; Ferreira и Guido, 2018).

О настанку пива постоји више теорија. Једна од њих указује да је прво пиво настало још 9000. године пре нове ере (п.н.е.) током неолитске револуције, односно током постепеног преласка са номадског живота ловаца на сталоженији живот пољопривредника и сматра се за велику прекретницу ране људске историје. Могуће је да се пиво производило и пре неолитске револуције, јер су неке од кључних сировина за ферментацију, попут одређеног воћа или шећера из сока од коре дрвета, већ биле доступне номадима у довољним количинама. Међутим, са новонасталим, седелачким животним стилем, појавила се и потреба за узгајањем житарица, као и њиховим складиштењем (Poelmans и Swinnen, 2011; Pires и Brányik, 2015). Стога, сам почетак сложеније производње пива везује се за развој пољопривреде, односно сматра се да је пиво настало као споредни производ све распрострањенијег узгајања житарица. Овој теорији доприносе многи историјски артефакти, који датирају још из времена Месопотамије, настали пре 6000 - 7000 година. Због ове изузетно дуге историје, пиварство се често истиче као типичан пример традиционалне или „старе“ биотехнологије. Археолози су, помоћу анализа микрофосилних остатака на грнчарским посудама, нашли доказе о производњи ферментисаног напитка који датира из 7000. године п.н.е. из неолитског села Јиаху у Кини, али ипак први писани трагови о конзумацији пива датирају из Месопотамије, између 5400. и 5000. године п.н.е. са места Хаџи Фируз Тепе, у северним планинама Загрос. Пиво се помиње и у „Епу о Гилгамешу“, једном од најстаријих књижевних дела, где у песми „Дивљи човек“ Енкиду пије „седам врчева пива“. Данас се остаци древног начина производње пива могу пронаћи на сликама из гробница, али и на глиненим плочама на којима су писана упутства о прављењу пива. Као главне сировине, у ову сврху, коришћене су пшеница и јечам, засебно или заједно. Осим њих, у употреби су били и емер, овас, спелта и др. (Behre, 1999; Sicard и Legras, 2011; Liu и сар., 2020).

У Азији, ферментисани напици су се углавном правили од пиринча, док су антички Египћани производили пиво од сирка. Оно што је интересантно је чињеница да обе наведене житарице и данас доминирају азијском и афричком пиварском културом (Anderson, 2006; Sicard и Legras, 2011).

Почетак производње пива може бити директно повезан и са прављењем, односно печењем хлеба, јер се за оба производа користе три иста састојка - житарице, вода и квасац, што иде у прилог теорији да је прво пиво настало управо од квасног теста. Ово тесто се пекло, а добијени хлеб се мрвио и цедио кроз сито, те је коришћен као каша за ферментацију. Међутим, анализа пронађених остатака пива, који датирају од 1500 - 1300. године п.н.е., сугерише да је пиво ипак прављено од проклијалих и осушених житарица мешаних са водом, након чега се смеша цедила и инокулисала квасцем. Оно што остаје нејасно је да ли је употребљивани квасац потицао из теста за хлеб, воде из Нила или из ваздуха (Wolf и сар., 2007; Buiatti, 2009; Poelmans и Swinnen, 2011; Sicard и Legras, 2011). Дакле, на основу свега наведеног јасно је да је у прошлости људима процес ферментације био добро познат. Међутим, иако су успевали да произведу пиво, нису постојала сазнања о кључним биохемијским корацима који су доводили до крајњег производа, како ни о процесу ферментације или активностима ензима (Sicard и Legras, 2011).

Са сазнањима која имамо о коришћеним сировинама, може се закључити да су се произведена пива умногоме разликовала од данашњих, односно била су знатно веће вискозности и слатког укуса, са мање етанола и више протеина (Anderson, 2006; Buiatti, 2009; Pires и Brányik, 2015). У корист тадашњој популарности пива говори и чињеница да су Сумери око 40% од укупно произведених житарица користили за производњу овог пића. Сем што је представљао значајан додатак трпези, био је и извор минералних материја и витамина, у зависности од коришћених житарица и земљишта на којима је вршено њихово узгајање (Wolf и сар., 2007). Поред свих бенефита које је доносило, Сумери су схватили да пиво поседује и вредност „валуте“. У сумерском граду Уруку, који је био један од првих модерних градова и чија је одлика била врло плодно земљиште, око 3500. године п.н.е. становници су пиво и жито мењали за друге, дефицитарне сировине попут дрва и метала. Колика је била вредност пива говори и чињеница да су Вавилонци донели законе о заштити и очувању метода производње пива. Из Месопотамије, око 3000. године п.н.е. производња је почела да се шири и у Египат (Poelmans и Swinnen, 2011). Такође, захваљујући све чешћим путовањима и постепеном откривању света, пиво се преносило са Блиског истока у Европу и Африку, али је такође почело и спонтано да се производи на другим, удаљенијим крајевима планете. Наиме, Инке су правиле алкохолна пића на бази кукуруза, као и на бази маниоке и кикирикија, односно од сировина које су биле доступне у том делу света (Wolf и сар., 2007). Након што је Римско царство покорило Египат, вино је потиснуло пиво и постало пиће које је конзумирала египатска „елита“ (Poelmans и Swinnen, 2011). Пре ширења Римског царства, пиво је било омиљено пиће келтских народа у Француској, Шпанији, Португалу, Белгији, Немачкој и Великој Британији. Међутим, као

и у Египту, и на овим просторима дошло је до развоја винске културе, све до 5. века нове ере (н.е.), након што су Римљани претрпели пораз, те је пиво повратило своју доминантну позицију (Pires и Brányik, 2015).

Око 800. године н.е., у време владавине Карла Великог Светим римским царством, отворио се пут и производњи пива. Широм царства, градио је бројне манастире, од којих су многи постали центри пиварства. У почетку се већина манастира налазила у јужној Европи, где је клима погодовала узгајању грожђа, те су монаси правили вино за себе и за посетиоце. Међутим, касније, када су се изградили манастири у северним деловима Европе, где је хладнија клима била погоднија за узгој јечма него винове лозе, монаси су производњу вина заменили пивом. Како је у Средњем веку вода често била контаминирана, монаси су преферирали пиво или вино, што је додатни разлог популарности ових напитака. Такође, алкохолна пића су се конзумирала и из нутритивних разлога јер је просечан оброк у манастирима био прилично оскудан (Poelmans и Swinnen, 2011). Уколико говоримо о зачецима производње комерцијалних пива, потребно је истаћи швајцарски манастир „Saint Gall“, у којем се налазе први докази о економским почецима пиварства у виду цртежа на зидовима који датирају из 820. године н.е. До 12. века искључиво су манастири производили пиво у количинама које се могу сматрати комерцијалним. До овога је дошло јер су монаси производили веће запремине пива него што су могли да потроше, те су их на самом почетку делили ходочасницима или сиромашнијем становништву. Тек касније било им је дозвољено да продају пиво у манастирским „пабовима“ (Pires и Brányik, 2015).

Као једна од значајнијих прекретница у производњи пива наводи се почетак употребе хмеља. Немачки манастири су још око 800. године н.е. додавали екстракте хмеља, како би пиво што дуже очувало првобитно стање. Штавише, употреба хмеља и његова горчина коначно је уравнотежила и решила проблем прилично слатког укуса пива. Пре хмеља, пивари су се ослањали на мешавину зачина познатију као „грут“, чији задатак је био да побољша арому пива или да прикрије његове недостатке. Тачни састојци „грута“ били су строго чувана тајна, али је познато да је садржао биљке попут мирте, рузмарина, аниса, ђумбира, кима и др. Међутим, како је хмељ имао бројне предности у односу на до тада познате биљке, „грут“ је полако падао у заборав (Poelmans и Swinnen, 2011; Thomas и Leeson, 2012). Употреба хмеља у производњи пива се из Немачке, у 10. веку, раширила и на друге делове Европе. На самом почетку, хмељ није био добро прихваћен. Међутим, временом, пријатна арома којој је доприносио, као и антимикуробна активност која је штитила пиво од утицаја различитих контаминената, допринела је све већој употреби, па су тако Британци хмељ прихватили у 15. веку, док је до Северне Америке доспео два века касније. Пре хмеља, како би произведено пиво имало што дужу трајност, пивари су се, сем употребе „грута“, користили методама које нису показане као превише ефикасне, међу којима је била и производња пива са повећаним садржајем етанола. Ово је, међутим, довело до погоршања сензорских карактеристика производа, па самим тим је убрзо престало да

буде пракса. Иако је употреба хмеља у пиварству додатно компликовала и поскупљивала процес, чињеница да се његовом употребом могло произвести пиво слабије концентрације етанола, а које је било дуготрајније, довела је до тога да је и данас хмељ једна од основних сировина у индустрији пива (Anderson, 2006).

Са све већом појавом комерцијалне производње пива, чиме је значај манастира у том смислу смањен, јавила се потреба за увођењем стриктнијих закона и регулатива. Новонастали прописи наметнули су разне порезе, као и правила са смерницама производње пива, што је укључивало и тачно дефинисано време процеса ферментације (Poelmans и Swinnen, 2011). Као последица, настао је и један од најстаријих закона у историји регулације хране - „Reinheitsgebot“ (1487. година), познатији као "Немачки закон о чистоћи пива". Првобитна идеја овог закона била је забрана употребе пшенице или ражи у производњи пива, чиме су ове примарне житарице биле у већој мери доступне пекарима како би се производња хлеба несметано одвијала. Самим тим, од момента доношења закона, састојци за прављење пива су се свели на јечам, чисту воду и хмељ (Poelmans и Swinnen, 2011; Pires и Brányik, 2015). Данас, у Немачкој је на снази закон који је директан „наследник“ примарног закона о чистоћи, који прописује да се пива доњег врења производе искључиво од јечменог слада, док пива горњег врења подразумевају и друге житарице (Meussdoerffer и Zarnkow, 2009).

Током 18. и 19. века, неколико научних открића имало је кључан утицај на производњу пива. Један од њих је све веће сазнавање о саставу квасца, као и о његовој функцији, што је омогућило производњу нових врста пива, али и бољу контролу процеса ферментације (Poelmans и Swinnen, 2011). Када се говори о темељима модерне биотехнологије, рад Луја Пастера мора се истаћи. 1860. године дошао је до сазнања да квасци метаболишу шећер у етанол и угљен-диоксид. Када се говори о најзначајним помацима у технологији пива, Емил Кристијан Хансен, директор лабораторије „Carlsberg“ у Копенхагену, Данска, је 1879. године, базирајући се на Пастеровим радовима, први изоловао и увео у употребу чисту културу квасца. Сем пиварске, ово је омогућило експанзију и пекарске индустрије, а 1920. године квасац је добио свој комерцијални облик, какав и данас познајемо (Sicard и Legras, 2011; Lahue и сар., 2020).

2.2. Основне сировине у производњи пива

Пиво је освежавајуће, слабо алкохолно пиће, које важи за једно од најчешће конзумираних широм света (Cadenes и сар., 2021; Дамјановић и Варга, 2021). Данас, пивари производе пиво на врло напредном технолошком нивоу, имајући на уму важност традиције овог пића. Не залазећи у његову сложеност, може се рећи да се пиво производи из четири главна састојка: воде, јечменог слада, хмеља и квасца. Међутим, састав, као и квалитет сваке од ових сировина има огроман утицај на произведено пиво (Parker, 2012; Anderson и сар., 2019; Pieczonka и сар., 2021). Пиво садржи око 400 различитих једињења која потичу из сировина или настају током процеса производње, укључујући етанол, аминокиселине, минералне материје, витамине, угљене хидрате, полифеноле, ароматична једињења и др. (García-Moreno и сар., 2013). Са технолошке тачке гледишта, пиво одликују четири главна својства:

1. аутентичност производње коју гарантују основни састојци, природног порекла, који се користе у производњи;
2. смањен ризик од контаминације чему доприноси рН вредност пива, присуство хмеља, анаеробно окружење током ферментације, као и настали етанол;
3. нутритивна вредност - пиво садржи бројне минералне материје, антиоксиданте, али и есенцијалне аминокиселине и
4. разноврсност - широм света производи се више од 100 врста пива, од стандардних и пшеничних, до безалкохолних. Разлике се заснивају на пажљиво одабраним сировинама, као и на модификацији производног процеса (Wunderlich и Back, 2009).

2.2.1. Јечам

Од давнина, јечам је главна житарица која се користи за производњу слада и чини удео од око 90% у светској производњи пива (Parker, 2012). Јечам (*Hordeum vulgare* L.) је веома прилагодљива житарица која се узгаја у различитим климатским условима - од субарктичких до суптропских, мада најбоље успева на умереној клими. Самим тим, и његов састав варира у односу на локацију узгајања, састав земљишта и климатске услове. Историјски гледано, јечам је био важна намирница у многим деловима света, укључујући Блиски Исток, Северну Африку, Северну и Источну Европу и Азију (Palmer, 2006; Wunderlich и Back, 2009; Gupta и сар., 2010). Временом, од свих коришћених житарица у производњи пива, јечам се издвојио као најпогоднија у ове сврхе, углавном захваљујући високом садржају хидролитичких ензима. Сем тога, постоје и бројни други разлози:

1. јечам је житарица која, у процесу сладовања, лако клија, те синтетише ензиме, који су кључни за производњу квалитетног пива;
2. има погодан хемијски састав, који укључује висок садржај скроба и умерен садржај протеина;

3. поседује плевницу која представља природни материјал за филтрацију сладовине;
4. узгаја се широм света, самим тим је лако доступан пиварама и
5. није примарна житарица у људској исхрани (Meussdoerffer и Zarnkow, 2009; Li и сар., 2017; Deme и сар., 2019; Neylon и сар., 2020).

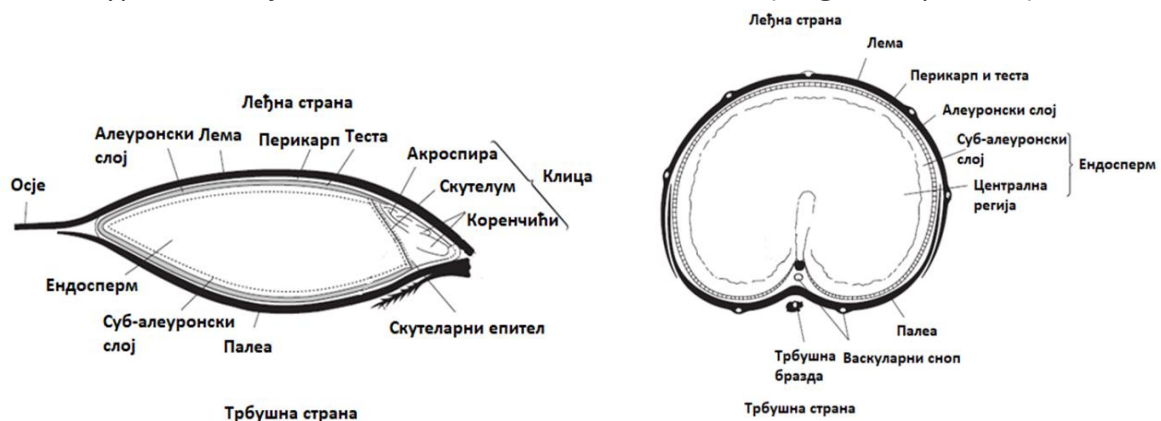
Јечам који се користи за сладовање дели се на две врсте: *Hordeum vulgare* - шестореди и *Hordeum distichon* - двореди јечам. Углавном се сматра да су зрна шесторедог јечма сувише ситна за сладовање, стога се у технологији пива чешће користи двореди јечам, који има више скроба по зрну (Palmer, 2006). У Европи су најчешће у употреби двореди јари, који се сеје током пролећа или двореди озими јечам, који се сеје током јесени, док се шестореди јечам најчешће сеје на територији Канаде и Сједињених Америчких Држава (Kreis, 2009).

2.2.1.1. Структура зрна јечма

Зрно житарица представља сложену структуру различитих анатомских делова, који се могу поделити на три основне целине:

1. клица - ембрио;
2. ендосперм - брашнасти део и
3. омотачи зрна (Jaeger и сар., 2021).

Структура зрна јечма, приказана на Слици 1, врло је сложена. Поред 60 - 80% угљених хидрата у зрну, налази се и 9 - 13% азотних једињења, 12% липида и 10 - 15% воде. Вероватно најважнији део зрна представља ендосперм, који се састоји од гранула скроба суспендованих у протеинском матриксу, јер у почетном стадијуму обезбеђује клици хранљиве материје неопходне за почетак раста нове биљке. Сем што је кључан део зрна, чини и његов највећи део (77 - 82%). Остатак зрна чине плевница 10 - 12%, алеуронски слој 4 - 5% и клица са омотачима 2 - 3% (Jaeger и сар., 2021).



Слика 1. Структура зрна јечма (Briggs и сар., 2004)

Клица, најважније живо ткиво у зрну, садржи око 30 до 35% протеина, 18% шећера- сахарозе и рафинозе, 5% минералних материја, витамине Б и Е, као и велики број ензима. Липиди у клици заузимају око 15%, док у целом зрну око 3%. Током

сладовања, тачније током процеса мочења, клица апсорбује велике количине воде и, када је влага зрна 45%, влага клице износи око 60% (Palmer, 2006; Guerrieri и Cavaletto, 2018; Jaeger и сар., 2021).

Скробни ендосперм, као највећи део зрна, представља мртво ткиво састављено од 80.000 – 90.000 ћелија у јечму, препуних скробних гранула које су окружене протеинима и танким ћелијским зидовима, који садрже око 70% β -глюкана, 20% пентозана и око 5% протеина (Guerrieri и Cavaletto, 2018).

Дакле, преовлађујући угљени хидрат у зрну јечма је скроб, у опсегу од 62 до 77%, који представља главни извор екстракта сладовине и пива (Asare и сар., 2011). У јечму, ендосперм се састоји из две врсте гранула скроба: великих (од 10 до 25 μm) и малих (од 1 до 5 μm). Велике грануле имају нижу температуру клајстеризације у односу на мале. Осим јечма, пшеница и раж такође поседују грануле скроба које се разликују по величини и по облику, што није карактеристично за остале ратарске културе (Briggs и сар., 2004; Meussdoerffer и Zarnkow, 2009; Koehler и Wieser, 2013).

Ензими, природно присутни у јечму, морају да разграде наведене материје које окружују скроб, како би постао доступан за даљи процес производње пива. Све ово се одвија током сладовања (Parker, 2012).

Као главне компоненте гранула скроба наводе се полисахариди, амилоза и амилопектин, збирно названи - скроб. Однос амилозе и амилопектина, као и других складишних једињења значајно утиче на физичко-хемијска својства скроба (Asare и сар., 2011). Међутим, како грануле не чини искључиво скроб, у њихов састав улазе и протеини, минералне материје и липиди. Унутрашњост гранула испуњава амилоза - линеарно - увијени полимер, који чини око 22 - 26% од укупне масе скроба. Овај комплекс састоји се од међусобно повезаних, углавном линеарних, ланаца D-глюкозе, састављених од 1600 - 1900 молекула. Амилопектин, који испуњава периферне делове гранула скроба, чак 75 - 80% од укупне масе скроба, слабије је растворљив у води у односу на амилозу. Он представља мешавину високо разгранатих молекула, повезаних α -(1, 4) везама, у дуги ланац састављен од око 26 јединица D-глюкозе. На сваких 15 до 20 молекула глюकोзе, налази се α -(1, 6) веза која омогућава гранање (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).

На ободу ендосперма налази се 2 - 3 реда ћелија чије збирно име је алеуронски слој. Овај слој се протеже и преко клице где формира ћелије од једног реда. Ћелије алеуронског слоја су живе, али се не умножавају и не расту током клијања зрна. Од целог, зрелог зрна, само у алеуронском слоју ћелије остају живе, док ћелије скробног ендосперма акумулирају складишне компоненте и, након тога, одумиру. Ћелијски зидови алеуронског слоја, дебљине око 3 μm , садрже углавном пентозане и β -глюкане, који се разграђују током сладовања ослобађајући на тај начин ендосперм (Briggs и сар., 2004; Palmer, 2006; Meussdoerffer и Zarnkow, 2009). Током мочења и на почетку клијања, ћелије алеуронског слоја играју кључну улогу у ослобађању ензима који служе за разградњу протеина и скробних гранула ендосперма до ферментабилних шећера и аминокиселина (Meussdoerffer и Zarnkow, 2009; Jaeger и сар., 2021).

Омотачи зрна састоје се из 7 различитих слојева, од којих су најважнији семењача (унутрашња опна), оплодњача или перикарп и плевица (спољна опна). У прилог чињеници да су омотачи од кључне важности за заштиту зрна говори и то да се зрна одбацују уколико је оштећење опни веће од оног дозвољеног спецификацијом. Сматра се да је овај дефект директно повезан и са оштећењем клице, као и са слабијим филтрационим потенцијалом плевице. Плевица је срасла са опнама зрна и током вршидбе обавија зрно јечма. Такође, врло је битна и њена заштитна улога од различитих микроорганизама који се налазе на површини зрна, а потичу са поља или из складишта, и могу угрозити квалитет зрна (Palmer, 2006). Плевица јечма тежи око 100 - 130 g/kg зрна и састоји се углавном од целулозе, хемицелулоза, лигнина и, у мањој мери, протеина (Meusdoerffer и Zarnkow, 2009).

2.2.2. Хмељ

Хмељ (*Humulus lupulus* L.) је вишегодишња биљка пузавица пореклом из југозападне Русије - подручје око Кавказа. Пре него што је успешно почео да се примењује у технологији пива, користио се у медицинске сврхе као благи седатив за ублажавање стреса (Дамјановић и Варга, 2021). Данас се производња пива не може замислити без ове биљке. У око 50 земаља широм света комерцијално се узгаја, а око 70% од светских усева налази се у две земље – у Немачкој и Сједињеним Америчким Државама (Wunderlich и Bach, 2009; Small, 2016; Machado и сар., 2019). У индустријске и медицинске сврхе примењује се искључиво *Humulus lupulus* врста хмеља. Цветови хмеља подсећају на шишарке, које се састоје од танких, зелених, листова који окружују целу шишарку, а причвршћени су за петелку. Између вретена и шишарки налазе се лупулинска зрнца, попуњена жутим, лепљивим прахом (Machado и сар., 2019).

Хмељ доприноси горчини и специфичном укусу пива, а утиче и на настајање пене, као и на њену стабилност. Сем тога, поседује и антибактеријска својства, те пружа заштиту од контаминације пива одређеним микроорганизмима - углавном грам-негативних, али и грам-позитивних бактерија (Krottenthaler, 2009; Parker, 2012; Popescu и сар., 2013).

Хемијски састав хмеља је врло сложен, а за производњу пива најважнији су женски неоплођени цветови у којима се налазе горке смоле и етарска уља, односно лупулинске жлезде из којих се излучују ове материје (Wunderlich и Back, 2009). Смоле се деле на меке и тврде, а главни састојци меких смола су горке киселине које се могу поделити на α -киселине (3 - 17%) и на β -киселине (2 - 7%), које се изомеризују током кувања сладовине са хмељом. На горчину пива највећи утицај има то у коликој мери су α -киселине изомеризацијом трансформисане у изо- α -киселине. У α -киселине се убрајају хумулон, кохумулон и адхумулон, које чине 2 - 15% од укупне масе смола и разликују се међусобно по квалитету и интензитету горчине. Како су β -киселине нерастворљиве у сладовини, тако и не утичу на горчину пива (Krottenthaler, 2009; Parker, 2012).

У процесу производње пива, хмељ се додаје у сладовину и загрева до кључања. Међутим, коришћење целе шишарке хмеља није погодно за употребу, јер се компоненте кључне за горчину, концентрисане у лупулинским жлездама, налазе у само 20% шишарке. Из тог разлога, како би имао већу употребну вредност, хмељ се прерађује у различите производе попут пелета и екстраката (Briggs и сар., 2004). Наведени производи омогућавају лакше складиштење хмеља, а како је на овај начин остварена и боља хомогенизација α -киселина, лакше је и његово тачно дозирање у сладовину. Такође, овако обрађен хмељ заштићен је од оксидације и хемијских измена компоненти, чиме се обезбеђује боља трајност производа (Krottenthaler, 2009).

2.2.3. Квасац

Способност квасца *Saccharomyces* рода да подиже тесто током печења или да ствара етанол током ферментације, човечанство користи већ неколико миленијума, иако већину тог времена, несвесно. Сојеви пивског квасца класификовани су у оквиру рода *Saccharomyces*, у који се убраја *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* и *S. paradoxus*. Све набројане врсте, осим *S. paradoxus*, комерцијално се користе у производњи етанола или у пекарској индустрији (Briggs и сар., 2004). Када говоримо искључиво о пиварској индустрији, користе се две врсте: квасци доњег врења - *S. pastorianus* и квасци горњег врења - *S. cerevisiae*, које метаболишу шећере у етанол, угљен-диоксид и друга једињења која имају одлучујући утицај на укус и арому пива. Морфолошке разлике између ове две врсте квасаца су мале. Ћелије су врло сличних облика и величина, те се углавном разликују по ферментационим способностима, искоришћењу доступних шећера, толеранцији на одређене температуре, флокулацији, као и по сензорском профилу произведеног пива. Квасци горњег врења углавном дају пива воћног и естарског профила, док пива доњег врења - „лагер“ пива, одликује чистија, једноставнија, чак и делимично сумпорна арома. Вероватно најважнија разлика између ове две врсте квасаца огледа се у ферментационом, односно температурном профилу: квасци доњег врења изводе ферментацију на температури између 7 и 15 °C, са дугим периодом одлежавања пива на ниским температурама, док квасцима горњег врења погодују више температуре - између 18 и 25 °C, праћене врло кратким периодом одлежавања (Kodama и сар., 2005; Tenge, 2009). Ове две врсте разликују се и по могућности квасца доњег врења да асимилује дисахарид мелибиозу, јер поседују активност α -D-галактозидазе, која разлаже овај шећер до галактозе и глукозе, што није одлика квасаца горњег врења. Такође, квасци доњег врења могу да усвоје и малтотриозу много брже него што то могу квасци горњег врења и имају способност истовремене асимилације галактозе и малтозе (Speers и Forbes, 2015). Док се мешане културе различитих сојева квасаца прилично често користе у производњи пива, спонтана ферментација се у индустријским размерама користи само у неколико случајева, попут производње белгијског „Ламбик“ пива. Тренутно, пива доњег врења чине више од 90% светске производње (Kodama и сар., 2005).

Како је након ферментације потребно уклонити квасац из младог пива, његова флокулациона способност намеће се као особина од великог значаја. Флокулација је реверзивилан процес у којем се ћелије квасца „лепе“ једна за другу и на тај начин формирају флокуле које се издвајају из суспензије. Квасци горњег врења формирају флокуле које се издвајају на површини, те се уклањају ручно или вакуум-усисавањем, док се квасци доњег врења таложу на дну ферментатора, што се може додатно поспешити снижавањем температуре ферментације (Briggs и сар., 2004; Tenge, 2009). Без обзира што је годинама уназад проучаван, тачан механизам флокулације и даље је непознат. Као једно од потенцијалних објашњења настајања флокула наводи се интеракција између протеина, са површине ћелијског зида, једног и угљенохидратног рецептора на другој ћелији квасца (Tenge, 2009). Такође, битно је напоменути и важност правовремене флокулације. Уколико квасац сувише рано флокулише, остаје недовољно ћелија у суспензији да редукују настали диацетил, док, са друге стране, уколико касно флокулише, омета процес филтрације, при чему долази до проблема потенцијалне мутноће пива (Briggs и сар., 2004; Tenge, 2009).

2.2.3.1. Структура ћелије квасца

Квасци су једноћелијски микроорганизми, који енергију за раст и умножавање добијају аеробним или анаеробним путем. Ћелије квасца садрже око 80% воде, поред које се у највећој мери налазе протеини, угљени хидрати, нуклеинске киселине и липиди. Морфолошки, квасци су сферног, елипсоидног или овалног облика, појављују се самостално или у паровима и ланцима, ширине ћелије између 2,5 и 4,5 μm и дужине 10,5 и 20 μm (Briggs и сар., 2004; Speers и Forbes, 2015). Структура ћелије квасца приказана је на Слици 2.

Ћелијски зид квасца, дебљине 150 - 200 nm, чини око 20% од укупне масе ћелије. Главна компонента ћелијског зида су угљени хидрати, углавном глукани (90%), док остатак чине протеини. Унутрашњи слој ћелијског зида чини хитински слој, састављен, углавном, од глукана, док се манопротеини налазе на површини ћелије (Briggs и сар., 2004; Speers и Forbes, 2015). Ћелијски зид има више функција - заштитну, даје ћелији облик, омогућава интеракцију са другим ћелијама и контролише размену материја са спољашњом средином. Како немају афинитет ка полном, квасци се умножавају пупањем, те се на површини зида може видети и место на ком је ћерка ћелија одвојена од мајке ћелије (Briggs и сар., 2004). Просечна ћелија квасца горњег врења неће пупити више од 30 пута током свог животног века, док ће квасац доњег врења пупити само 20 пута пре него што изгуби ту способност (Speers и Forbes, 2015).

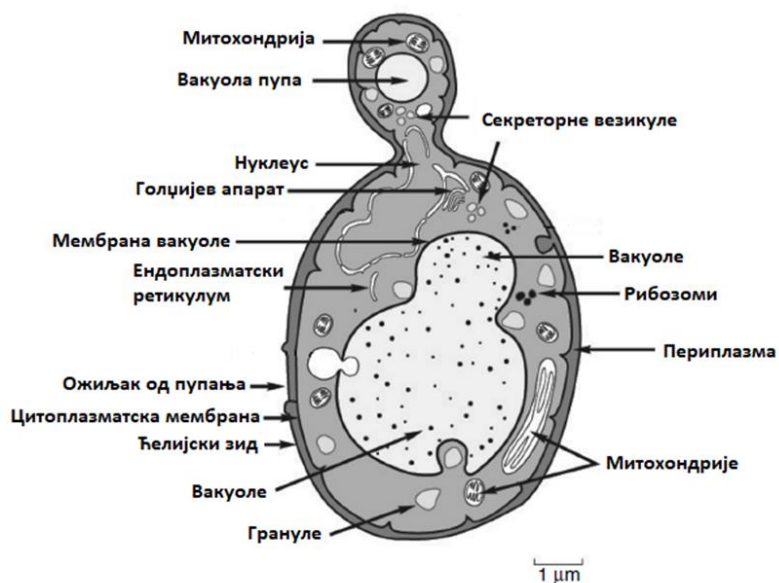
Цитоплазматска мембрана је полупропустљиви липидни слој између периплазме (простора између ћелијског зида и цитоплазматске мембране) и унутрашњости ћелије. Има неколико различитих улога, попут регулисања размене материја и обезбеђивања места везивања специфичних молекула укључених у метаболичке путеве. Из перспективе производње пива, ова мембрана игра важну улогу, јер представља део ћелије који је заслужан за регулацију и подношење стреса

узрокованог насталим етанолом током ферментације (Speers и Forbes, 2015; Пејин 2019).

Цитоплазма, део ћелије затворен цитоплазматском мембраном, представља водени колоидни раствор који садржи мноштво метаболита - протеине, липиде, ензиме и др. Такође, посебно је богата рибонуклеинском киселином (РНК). Садржи међућелијску течност познатију као цитосол, коју, у највећој мери, чине ензими укључени у анаеробну ферментацију који омогућавају ћелији да метаболише глукозу у енергију одмах након што доспе у ћелију (Tenge, 2009; Speers и Forbes, 2015).

Једро (нуклеус) носи већински део генетског материјала ћелије. Сферног је облика и пречника око 1 - 2 μm . Оно представља главну структуру која управља животним функцијама ћелије (Briggs и сар., 2004).

У цитоплазми налазе се органеле типичне за еукариотске ћелије: митохондрије - задужене за аеробно дисање; вакуоле - чувају хранљиве материје и место су где ћелија разлаже протеине; рибозоми - састоје се од РНК, различитих протеина и представљају место синтезе протеина; ендоплазматски ретикулум - врши транспорт хранљивих материја кроз ћелију и Голџијев апарат - учествује у синтези цитоплазматске мембране (Briggs и сар., 2004, Tenge, 2009).



Слика 2. Структура ћелије квасца (Russel, 2006)

2.2.4. Вода

Вода је, квалитативно, најзначајнији део пива. Пиваре су велики потрошачи воде. Процењује се да је количина употребљене воде током производње пива од 3 до 30 пута већа од количине произведеног пива. Од 6 хектолитара воде потребних за производњу 1 хектолитра пива, око 0,92 хектолитара доспева у готово пиво (Briggs и сар., 2004). Како је вода саставни део скоро сваког корака у производњи пива, њен квалитет је директно повезан са квалитетом произведеног пива. Пиваре углавном користе воду из јавних водовода или сопствених бунара, те се њена обрада може вршити у два аспекта:

1. третман сирове воде у циљу испуњења законских критеријума и
2. третман воде за пиће у циљу испуњења технолошких захтева за производњу пива (Krottenthaler и Glas, 2009).

Вода која се користи за производњу пива мора бити микробиолошки исправна, без присуства патогених микроорганизама и микроорганизама који могу угрозити квалитет готовог производа. Такође, мора бити потпуно бистра, безбојна, без талога, суспендованих честица и без мириса. Другим речима, мора испуњавати све норме квалитета воде за пиће, а истовремено, мора имати дефинисан састав минералних материја, који је прилагођен типу пива који се производи (Taylor, 2006; Пејин, 2019). Минералне материје, као и јони из воде, утичу на рН вредност комине, сладовине и пива, те је неопходно њихово подешавање како процес производње не би био угрожен (Krottenthaler и Glas, 2009).

2.3. Процес производње пива

Производња пива је сложен скуп бројних фаза, а како би се поједноставила, може се поделити на два главна дела:

- технологију слада и
- технологију пива (Briggs и сар., 2004).

2.3.1. Технологија слада

Широм света, јечмени слад је главна сировина, самим тим и главни извор скроба у производњи пива. Чак и ако се у укупку користе несладоване сировине, и даље се већина пива производи са најмање 70% јечменог слада (Kreisz, 2009). Слад диктира укус, боју и густину произведеног пива. Сем од јечма, слад се може произвести и од других житарица попут пшенице, овса, ражи и др. (Li и сар., 2017).

Процес сладовања представља клијање зрна житарица у вештачки регулисаним условима, чија је основна сврха синтеза ензима (Briggs и сар., 2004).

Дакле, пре него што се јечам употреби за производњу пива, мора проћи кроз процес сладовања, како би ензими, природно присутни у зрну, разградили или модификовали протеинско-гљукански матрикс који окружује скроб. Ово омогућава ензимима, да касније, у процесу комљења, успешно разграде скроб до шећера, које квасац може да метаболише. Шећер, који је „заробљен“ у зрну у форми скроба, је неферментабилан и као таквог квасац не може да асимилије.

Слад се производи у три главна корака:

1. мочење;
2. клијање и
3. сушење (Parker, 2012).

Квалитет који потенцијални јечам мора да задовољи, како би се користио у производњи пива, један је од најригорознијих у прехранбеној индустрији, поредећи са спецификацијама прописаним за друге житарице. Захтевани високи квалитет огледа се у неколико параметара попут потенцијала за клијање, садржаја протеина и влаге, величине зрна, евентуалне заражености штеточинама и др., а сама евалуција укључује лабораторијску и визуелну процену (Kreisz, 2009).

Складиштење и руковање јечмом мора бити извршено што опрезније, како би се избегло оштећење живих ткива – клице и алеуронског слоја, кључних за процес сладовања (Palmer, 2006).

Након жетве, јечам се доставља у сладару, где се приступа брзим аналитичким анализама одређивања садржаја влаге и протеина, док се зараженост зрна или присуство инсеката раде визуелном проценом. Уколико зрна задовољају задате критеријуме, јечам се складишти, при чему се раздваја по различитим сортама или на основу садржаја протеина. Услови складиштења су врло битни за очување квалитета јечма, те је неопходно и њих строго контролисати. Јечам који се складишти мора бити у

сувим условима, са умереном температуром. Уколико је влага зрна сувише висока, односно између 15 и 16%, мора се или досушити пре складиштења или што пре сладовати (Palmer, 2006; Kreisz, 2009).

Пре сладовања, зрна пролазе кроз процес предчишћења, који подразумева уклањање грубих нечистоћа попут камења, металних делова и др. Плевица, ситно камење, сломљена или сувише ситна зрна морају, такође, бити уклоњена, како би се обезбедио уједначен квалитет током сладовања. Пре мочења, јечам мора бити поново анализиран, како би се утврдила енергија клијања, хидросензибилност и, по могућности, урадило микросладовање. На основу добијених резултата, бира се одговарајући режим сладовања, као и моменат када је зрно спремно за сладовање. Пре почетка сладовања, јечам се сортира у три класе, на основу дебљине зрна, како би мочење, клијање и сушење било што уједначеније (Kreisz, 2009).

2.3.1.1. Мочење

Сладовање започиње процесом мочења у којем се у зрнима, помоћу мокрих и сувих пауза, повећава влага на 42 - 47% (Rani и Bhardwaj, 2021).

Процес мочења подразумева два основна задатка:

- повећање влаге и довођење зрна у физиолошко стање које ће обезбедити уједначено и равномерно клијање и
- прање зрна и уклањање потенцијалних инхибитора клијања, као и уклањање „сплава“ односно материјала који се издваја на површини воде (Kreisz, 2009).

Мочење обично траје 2 - 4 дана. Састоји се од различитих, понављајућих циклуса, који подразумевају потапање зрна у воду, након чега следи период без воде, током ког се одводи настали угљен-диоксид. Временски интервал између ова два циклуса варира у зависности од производње жељене врсте слада, као и од примењене праксе у сладари, али уобичајени циклуси су између 4 и 12 сати (Rani и Bhardwaj, 2021). Такође, потребно је обезбедити и кисеоник како би се подстакло дисање зрна. Недостатак кисеоника доводи до акумулације угљен-диоксида и других метаболита у зрну који могу успорити или инхибирати клијање. На почетку мочења кисеоник се удубава са дна мочионика, што спречава зрна да буду међусобно чврсто збијена. На овај начин, јечам добија почетну количину кисеоника, који се усваја врло брзо како од стране зрна, тако и од стране различитих микроорганизама присутних на површини зрна, али и у води (Briggs и сар., 2004). Клијање зрна започиње након постизања влаге од 30%. Уобичајене температуре воде су 12 - 18 °C, а током мочења зрно се увећава за око 1,4 пута (Kreisz, 2009). Мочењем на вишим температурама (око 20 °C) смањује се активност протеолитичких ензима у зрну, али се подстиче разградња ендосперма, што доводи до неравномерне модификације у зрну. Између 70 и 75% растворљивих протеина, који ће се касније наћи у сладовини, настало је током сладовања, а протеолиза је најнефектнија када се мочење одвија на температурама 15 - 16 °C (Briggs и сар., 2004).

Вода коришћена за мочење мора бити најмање квалитета воде за пиће. У првом циклусу мочења, вода служи и за прање зрна, извлачећи заосталу прашину, али и за екстраховање танина - непожељних материја присутних у плевици, карактеристичног горког укуса. Како би процес сладовања био исплативији, у неким сладарама вода се од првог циклуса мочења поново користи. Међутим, поновна употреба воде, без претходног третмана пречишћавања и уклањања контаминената, није препоручива, с обзиром да оваква пракса може довести до инхибирања клијања зрна услед присуства различитих непожељних материја (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).

Повећање садржаја воде у зрну последица је проласка воде кроз микропоре у плевици и накнадне дифузије. Примање воде није равномерно у целом зрну. Наиме, на почетку мочења, део око клице најбрже прима воду, те је дистрибуира до ендосперма, након чега клица почиње интензивно да дише и расте. Када је постигнут задовољавајући ниво воде, клица великим интензитетом врши метаболичке активности и покреће синтезу гибберелинске киселине, која делује као катализатор за производњу хидролитичких ензима. На крају процеса мочења, садржај воде у клици достиже вредност од чак 65-70% (Kreisz, 2009; Rani и Bhardwaj, 2021).

Како природно синтетисана гибберелинска киселина обично није довољна за настајање ензима, произвођачи слада понекад додају комерцијалну гибберелинску киселину. Практика је да се она додаје на самом крају мочења, а пре почетка клијања, како би се убрзало клијање зрна и поспешило утицај природно настале киселине у зрну. Такође, сматра се да је прави моменат додавања када се на зрнима појави први показатељ клијања - клица коренчића која је тек пробила опне зрна (Palmer, 2006; Rani и Bhardwaj, 2021).

Када је процес мочења завршен, неопходно је да јечам буде намочен до жељеног степена воде и да је на зрнима видљива промена у виду клице коренчића, како би наредна фаза - клијање била што успешнија (Rani и Bhardwaj, 2021).

2.3.1.2. Клијање

Клијање се одвија под аеробним условима и у влажној средини, на температурама од 16 - 20 °C, 3 - 6 дана, у зависности од врсте јечма, као и врсте слада која се производи. Током фазе клијања, гибберелинска киселина дифундује у алеуронски слој и поспешује синтезу хидролитичких ензима, који затим прелазе у ендосперм, где врше деполимеризацију ћелијских зидова, односно полисахарида и протеина. Цео овај процес сматра се модификацијом зрна јечма. Након разградње, производи хидролизације прелазе у регију клице, којој је, на тај начин, обезбеђена енергија, као и хранљиве материје неопходне за развој и дисање (Rani и Bhardwaj, 2021).

Вештачко клијање, које се користи у сладари, не разликује се значајно од природног, спонтаног клијања. На овај начин, омогућено је подешавање параметара клијања у сврху настајања важних ензима, али и одвијања одређених трансформација структуре ендосперма (Briggs и сар., 2004).

Клијање, као кључан процес у фази сладовања, спроводи се у циљу:

- синтезе оптималне количине хидролитичких ензима;
- хидролизовања протеина како би се формирао слободни аминокиселински азот, неопходан у процесу производње пива и
- смањења губитака компоненти зрна током процеса дисања (Rani и Bhardwaj, 2021).

Сви горе наведени циљеви постижу се контролом параметара попут дужине трајања клијања, температуре, односа кисеоника и насталог угљен-диоксида (Briggs и сар., 2004).

Током процеса клијања, сем унутрашњих модификација, јављају се и морфолошке промене – прво на коренчићу, а касније на лисној клици. Након пробијања опни зрна, клица коренчића избија на плевици, на месту где је зрно било причвршћено за клас. Упоредо са овом променом, испод плевице, дешава се и раст лисне клице. Лисна клица може да послужи као показатељ равномерности клијања, јер уколико се зрна међусобно значајно разликују по дужини ове клице, сматра се да произведени слад неће бити уједначеног квалитета. Уколико се влага зрна током клијања одржава на 42 - 48%, модификација се одвија брже, као и синтетисање ензима. Уколико се клијање води на нижим температурама (око 12 °C), поспешује се стварање ензима и растворљивог азота, док више температуре иницирају интензивније дисање зрна, па самим тим се повећавају и губици суве материје током сладовања. Крајњи производ процеса клијања је зелени слад. Пре него што скроб буде превише модификован, зелени слад прелази у завршну фазу сладовања - сушење (Kreisz, 2009; Parker, 2012).

2.3.1.3. Сушење

Како би произведени слад био стабилан производ, неопходно је извршити сушење зеленог слада и, на крају процеса, уклонити крте клице са зрна. У овом процесу одвија се контролисано сушење зрна како би се сачували настали ензими и скроб. Ова фаза сладовања омогућава производњу различитих типова слада, у зависности од подешене температуре, као и дужине трајања сушења. Са порастом температуре, повећава се и настајање ароматичних и обојених компоненти слада (Parker, 2012).

Главни циљеви сушења су:

- заустављање модификације зрна, као и раста клице;
- смањивање влаге, како би слад био погодан за касније складиштење;
- очување насталих ензима током процеса мочања и клијања и
- одабир одговарајућег температурног режима у циљу развијања боје слада, погодне за одабрану врсту пива (Kreisz, 2009).

Влага слада се, на овај начин, смањује са око 43% на 5%, зрна се стабилизују и постају погодна за дуго складиштење. Такође, на овај начин инактивирају се и микроорганизми - потенцијални контаминанти пива. Процес сушења може се поделити на две фазе - сушење и досушивање. Сушење се обавља у сушницама уз помоћ

загрејаног ваздуха, при чему је битно да ваздух буде подешен тако да максимално очува ензимски потенцијал зрна. Током ране фазе сушења, модификација зрна није у потпуности заустављена, већ се одвија до момента када је велика количина влаге уклоњена. Међутим, активности ендо- β -1,3- и ендо- β -1,4-глюканазе, β -амилазе, декстриназе и ендопротеазе у већој мери су заустављене процесом сушења у односу на активности α -амилазе и карбоксипептидазе (Palmer, 2006).

Појачана боја слада, настала сушењем, објашњава се реакцијом између шећера и аминокиселина, у циљу формирања меланоидина, што представља Мајлардову реакцију. Уколико се производи светлији слад (боје око 3 EBC јединице), прекомерна хидролиза не сме бити дозвољена, те модификација слада мора бити што пре заустављена. Процењује се да по једној тони јечма, настаје око 800 kg слада, а губицима током сладовања сматрају се сви они губици настали током појединачних корака производње што подразумева губитке на клицу, на дисање зрна, као и губитак суве материје зрна током мочања (Kreisz, 2009).

2.3.1.4. Типови слада

За сваки тип пива, постоји специфичан слад који се користи и који му даје препознатљиве сензорске карактеристике. Стандардним типовима слада сматрају се светли и тамни слад. Сем ових, користе се и специјални типови који се производе у мањим количинама у сладарама и додају се у усипак како би се модификовала боја и арома пива. Они се углавном производе од јечма, стандардним процедурама мочања и клијања, док се сушење изводи модификованим режимом, специфичним за одређени тип слада. Како су температуре сушења и досушивања значајно више у односу на светли слад, за њих је карактеристичан нижи принос екстракта, као и смањена активност ензима (Briggs и сар., 2004; Kreisz, 2009).

Најпознатији светли слад је слад плезенског типа. Карактеришу га врло светла боја и велики ензимски потенцијал, али ограничена ензимска разградња. Производи се најчешће од дворедог јечма са ниским садржајем протеина. Мочи се до степена намочености од 43%, а клијање се одвија на температурама до 17 °C. Зелени слад се суши до влаге од 8%, а досушује на 70 - 85 °C. Овакав слад даје пиву благ укус и пуноћу, добру пенивост и стабилност пене. Када је тамни слад у питању, најпознатији је минхенски тип за чију производњу користи се јечам са вишим садржајем протеина. Мочи се до степена намочености од 47 - 50%, а клијање се одвија на вишим температурама, тј. 22 - 25 °C. Сушење се врши на вишим температурама, а досушивање на 100 - 105 °C. Ензимска активност минхенског слада упола је мања у односу на типове слада који се суше на нижим температурама, али и даље је довољна за разградњу несладованих сировина, уколико су део усипка. Пива добијена од минхенског слада препознатљива су по тамној боји, пуном укусу и богатој ароми (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).

2.3.2. Несладоване сировине - сурогати

Произвођачи пива често користе различите стратегије помоћу којих ће смањити трошкове производње, а како се јечмени слад и даље користи у великим количинама, његова замена може бити део решења. Производња пива са додатком несладованих сировина значајно умањује потребу за сладом, што доприноси смањењу трошкова. У несладоване сировине - сурогате, спадају све сировине које представљају извор угљених хидрата и протеина, а који не потичу од јечменог слада. Ова дефиниција укључује несладоване сировине, сировине које су извор шећера, као и све сладоване житарице, осим јечменог слада. У најчешће коришћене сурогате убрајају се: јечам, кукуруз, пиринач, пшеница, овас, сирак, раж и тритикале, заједно са псеудо-житарицама - касавом, тефом и шећерним сирупима. Удео несладованих сировина у усипку може се повећавати све док се добија пиво жељених особина и не долази до потешкоћа приликом укомљавања, бистрења сладовине и ферментације. Уобичајена количина у усипку варира између 10 - 50% и највише зависи од прописаних важећих законских регулатива у одређеној земљи. У Европи се у усипак најчешће додају кукуруз и јечам, у Азији пиринач, сирак и просо у Африци, а у Сједињеним Америчким Државама - кукуруз. Избор сурогата у великој мери диктира географска локација пиваре, самим тим локалне сировине, доступне у већим количинама, подразумевају и смањење трошкова производње пива. Такође, у регијама света где узгајање јечма наилази на потешкоће, као решење намеће се употреба других, доступних житарица, карактеристичних за одређено поднебље (Lalor и Goode, 2009; Bogdan и Kordialik-Vogacka, 2017; Cadenas и сар., 2021; Dabija и сар., 2021; Brožová и сар., 2022).

2.3.2.1. Предности употребе сурогата

У корист несладованих житарица иде податак да се приликом потпуне замене јечменог слада несладованим јечмом, уштеди 0,5 - 1,0 €/hl произведеног пива (Kok и сар, 2019). Такође, земље попут Јапана и Кеније имају порезе који су директно повезани са уделом слада коришћеног у производњи пива, те ће са мањим уделом слада и порези бити нижи, што резултира прихватљивијом ценом пива на тржишту (Steiner и сар., 2012). Поред оправдане употребе са економског аспекта, несладоване сировине користе се и због позитивног утицаја на пиво, јер чак и при малим уделима утичу на колоидну стабилност, стабилност пене, као и на стабилност укуса пива (Yorke и сар., 2021). На овај начин отвара се могућност креирања нових врста пива или модификације постојећих (Salanță и сар., 2020). Такође, забрињавајућа чињеница, која иде у прилог већој употреби несладованих сировина, је и приметно смањење приноса јечма широм света, као последица екстремних временских услова. Просечни губици приноса крећу се између 3 и 17%, у зависности од временских непогода и фазе раста у којој се налази јечам погођен овим неприликама. Смањење глобалног приноса јечма је, наравно, повезано и са пиварским сектором, јер недостатак јечма мора се надоместити на друге начине, који могу довести до значајног повећања тржишне цене пива. Процењено је да, уколико овај тренд пада производње јечма буде настављен,

потенцијалне цене пива могу порастати за 193% до 2099. године (Xie и сар., 2018; Dabiја и сар., 2021). Наравно, ове климатске промене нису новијег датума. Од почетка 21. века Европа је претрпела низ екстремних летњих суша, те су се климатски утицаји, у последњих пет деценија, на производњу различитих ратарских култура утростручили (Solaraju-Murali и сар., 2019; Bento и сар., 2022). Како се на простору Европе углавном узгајају житарице погодне за умерену климу, на чији принос негативно утичу повишене температуре, узнемирујућа је процена да се са повећањем сваког степена, смањује продуктивност биљке за 5 - 6% (Jacott и Boden, 2020).

2.3.2.2. Недостаци употребе сурогата

Сладовање представља значајан финансијски део производње пива, а када се изостави, сем економског бенефита, као предности наводе се: уштеда енергије, смањен угљенични отисак и утрошак воде. Са друге стране, одсуство процеса сладовања подразумева и одсуство процеса мочења током којег се уклања заостала прашина са површине зрна и микроорганизми, који прете да угрозе квалитет житарица (Steiner и сар., 2012). Међутим, као најбитнији недостатак може се навести чињеница да несладоване сировине углавном поседују смањену активност цитолитичких, протеолитичких и амилитичких ензима у поређењу са јечменим сладом. Ово је и очекивано, с обзиром да овакве житарице нису прошле кроз процес модификације зрна током сладовања. Према томе, што је већи удео сурогата у усипку, то је теже постизање задовољавајуће концентрације екстракта у сладовини (van Donkelaar и сар., 2016; Cadenas и сар., 2021). Из тог разлога, несладоване житарице потребно је разградити или помоћу ензимског комплекса јечменог слада, са којим се мешају у усипку, или путем додавања комерцијалних ензима. Као додатни проблем, чије решење поново изискује додаток ензима, наводи се присуство велике количине полисахарида у несладованим житарицама, који се повезује са потешкоћама при филтрацији или појавом мутноће пива. Из свега наведеног, може се закључити да је данас комерцијална производња пива незамислива без употребе комерцијалних ензима (Dornez и сар., 2009; Gomaа, 2018; Ozatay, 2020; Cadenas и сар., 2021; Rosa и Lannes, 2022). Осим недостатка ензимске активности, до проблема у производњи пива може доћи и услед нехомогености одабраних несладованих сировина, која, такође, последично доводи до проблема са филтрацијом и до непожељног сензорског профила пива (Black и сар., 2021).

2.3.2.3. Најчешће коришћени сурогати

Подела житарица, које се користе као несладоване сировине, заснива се на температури клајстеризације, односно у односу на то да ли се у процесу комљења мешају директно са јечменим сладом или захтевају претходну термичку обраду (Briggs и сар., 2004). Уколико је температура клајстеризације одабраних житарица виша од оптималне температуре за активност амилазе (око 62 °C), потребно је да се засебно обраде термички, након чега се спајају са остатком комине (Cadenas и сар., 2021).

Житарице које се најчешће користе као замена дела слада су:

- Кукуруз - сировина која се у великом делу света користи као најчешћа замена јечменог слада. У поређењу са осталим житарицама, одликује га зрно великих димензија. Кукуруз садржи 90% екстракта и захтева претходну термичку обраду. У односу на остале житарице, одликује га знатно виши садржај липида (23 - 45%), који се највећим делом налази у клици и који потенцијално може да угрози сензорске карактеристике пива. Из овог разлога, неопходно је уклонити клицу. У пиварству се користи у следећим облицима: као кукурзна крупица, рафинисана кукурузна крупица, кукурузни скроб и кукурузне пахуљице (Meussdoerffer и Zarnkow, 2009).
- Пиринач - по површинама на којима се гаји и деловима света у којима се користи, једна је од најраспрострањенијих несладованих сировина у технологији пива. У деловима света где је доминатна ратарска култура, у пиварске сврхе користи се цело зрно, а уколико то није случај, употребљава се јефтинији пиринчани лом. Он настаје као споредни производ приликом љуштења и полирања пиринча за људску исхрану и чине га делови ендосперма који садрже, у највећој мери, само скроб. Садржај екстракта у пиринчу је веома висок, преко 90% и највише зависи од сорте. Због високе температуре клајстеризације (61 - 78 °C, па и преко 80 °C, у зависности од сорте), као и због малих гранула скроба, пиринач је екстремно вискозан. Уз примену пиринча, производе се пива боље колоидне стабилности и трајности, а често се описују као сува, лака и чистог укуса (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).
- Јечам се може употребити и као несладована сировина. Садржи неразграђен β-глюкан у ћелијским зидовима ендосперма и неразграђене ситне грануле скроба, услед чега је врло абразиван и теже се уситањава. Јечам није потребно претходно термички обрадити, међутим због присуства неразграђеног β-глюкана, пракса је да његов удео не прелази 50% у усипку. Уколико је ипак виши, додаток комерцијалних протеаза, α-амилаза и β-глюканаза је неопходан (Briggs и сар., 2004; Meussdoerffer и Zarnkow, 2009).
- Пшеница садржи нижи садржај скроба и виши садржај протеина у поређењу са јечмом. У производњи пива се користе, по правилу, само одређене сорте, са најнижим садржајем протеина. Највећи део скробних зрнаца клајстеризује на релативно ниској температури, која се налази у опсегу деловања α-амилазе јечменог слада. Пшеница се, због тога, може укомљавати заједно са сладом. У производњи пива, користи се као цело зрно, у облику слада, брашна или рафинисаног брашна (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).
- Овас садржи велике количине липида и протеина, а у поређењу са другим житарицама, има нижи садржај угљених хидрата. Поред овога, садржи значајне количине β-глюкана, који утиче на пораст вискозности, те доводи до потешкоћа приликом филтрације и до мутноће пива. За сладовање се користи сорта *Avena sativa*, а као несладована сировина - сорта *Avena gramineae* (Meussdoerffer и Zarnkow, 2009; Пејин, 2019).

Сировине које се користе као извор шећера или сировине које се додају у току хмељења сладовине:

Шећери - сировине у чији састав улазе искључиво угљени хидрати. Различити шећери, који се користе у производњи пива су:

- сахароза - добија се екстракцијом из шећерне репе или шећерне трске;
- инвертни шећер - добија се благом хидролизом (киселинском или ензимском) раствора сахарозе, након чега следи неутрализација, односно инактивација ензима и упаравање у вакууму до садржаја суве материје од око 83% или сушење до аморфног праха;
- глукозни сируп - назив који се често користи за декстрозу, али је и комерцијални назив за производ који се добија хидролизом скроба и садржи читав низ угљених хидрата (декстрозу, малтозу, малтотриозу, малтотетраозу и декстрине) и
- шећерне боје - додају се у циљу повећања боје пива или сладовине (Briggs и сар., 2004, Goode и Arendt, 2006).

2.3.2.4. Занатска пива

Од укупне количине произведених пива широм света, чак 85 - 90% садржи несладоване сировине. Ово је директно повезано са све већом појавом занатских пива на тржишту, која подстичу коришћење нетрадиционалних сировина. Доминантан разлог, који позитивно утиче на пиварски сектор широм света, су све присутније микро-пиваре. У Европи, током 2021. године основано је чак 9300 микро-пивара. Самим тим, на овај начин омогућена је већа слобода при експериментисању са сировинама, што доводи до испуњења захтева потрошача за пивима јединствених сензорских карактеристика, који излазе из оквира традиционалних и добро познатих типова пива (Lerro 2020; Cadenas и сар., 2021; Dabiја и сар., 2021; Brewers of Europe, 2022; Rosa и Lannes, 2022).

Међутим, експанзија занатских пивара није новијег датума, већ датира још из 70-их година прошлог века, када се десио феномен познатији као „Револуција занатског пива“ (Wojtyra, 2020). Започета је у Сједињеним Америчким Државама, након чега се, током 80-их година прошлог века, и Западна Европа придружила тренду. У Источној Европи ова револуција почела је након 2000. године (Pokrivčák и сар., 2019). Последњих деценија десио се динамичан пораст броја микро-пивара широм света, што је приметно чак и у крајевима где пиварство нема дугу традицију, попут Италије, Холандије, Уједињеног Краљевства, Канаде, Кине, Јапана, Аустралије, Данске и Бразила (Wojtyra, 2020; Materna и сар., 2022). Са друге стране, важно је истаћи да је овај тренд видљив и у земљама са дугом пиварском традицијом, као што су Немачка, Чешка и Белгија (Wojtyra, 2020). Истраживања су показала да Сједињене Америчке Државе и Европа чине 46% и 43% у производњи и дистрибуцији занатског пива широм света. Канада (4,5%), Јужна Африка (4,5%), Аустралија (3%), Јапан (1,6%) и Нови Зеланд (1%) наводе се као земље са мањим учешћем. Процењује се да Европа, за коју се сматра да

има највећи тржишни удео, како по вредности, тако и по обиму производње, има потенцијал да повећа производњу на 1.324,31 милиона литара до краја 2024. године (Baiano, 2021).

Како је данас еколошка свест међу људима све већа, на одлуке о куповини одређених производа у великој мери утиче начин производње, као и његов утицај на животну средину. Еколошка свест је све присутнија и у индустрији пива, те се показало да су потрошачи спремни да издвоје више новца за пиво чија производња је била у складу са прописаним еколошким смерницама. Према томе, занатска пива произведена од житарица отпорнијих на абиотички стрес, самим тим мање захтевних за узгајање и чија производња је одрживија, имају потенцијал задобијања пажње од стране конзумента (Blum, 2014; Wojtyra, 2020; Baillièrè и сар., 2022; Morgan и сар., 2022).

2.3.3. Технологија пива

Главни процес технологије пива је конверзија шећера у етанол и угљен-диоксид, односно ферментација. Како би се остварили предуслови за овај корак, неопходно је да се нерастворљиви састојци слада и несладованих сировина преведу у растворљив облик, пре свега у ферментабилне шећере. Управо је ово задатак производње сладовине, која представља први корак производње пива. Сладовина је водени екстракт слада и несладованих житарица добијена ензимском разградњом макромолекуларних резервних састојака зрна. Производи се у погону пиваре - у варионици и укључује неколико технолошких операција:

- уситњавање (дробљење);
- комљење;
- цеђење комине;
- кување сладовине са хмељом и
- бистрење охмељене сладовине (Leiper и Miedl, 2006).

Након наведених процеса следи хлађење охмељене сладовине и аерација, која је неопходна због активације квасца и припреме за ферментацију. Ферментацијом охмељене сладовине, ћелијама пивског квасца, добија се пиво. По завршетку главне ферментације, младо пиво се хлади, након чега почиње фаза накнадне ферментације и дозревање пива. Завршна обрада подразумева филтрацију пива, колоидну и биолошку стабилизацију, са циљем постизања бистрине финалног пива и уклањања квасца и колоида, што се најчешће постиже двоструком филтрацијом и пастеризацијом. Готово пиво се пуни у одговарајућу амбалажу под натпритиском како би се задржала захтевана концентрација угљен-диоксида и спречила оксидација пива (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).

2.3.3.1. Уситњавање слада и несладованих сировина

Уситњавање се врши из два разлога: због смањења величине зрна коришћених сировина, као и због контроле величине опсега насталих честица након дробљења (Leiper и Miedl, 2006). На овај начин повећава се реактивна површина честица којој ензими могу да приступе, те се компоненте слада лакше разграђују (Wunderlich и Back, 2009). Механичка разградња зрна слада, као и несладованих сировина, врши се дробљењем. Како је, генерално за технологију пива, али посебно за процес цеђења, састав усипка од великог значаја, врста дробилице, као и зазори између ваљака за дробљење морају бити пажљиво одабрани. Млевење треба водити тако да се омогући што бољи принос екстракта сировина, али да се уједно сачува и плевница у што већој мери, јер ће се у процесу цеђења користити као филтрациони материјал. Данас се најчешће користе дробилице за суво или за мокро дробљење, као и млинови чекићари. Пошто се током сувог млевења ендосперм и плевница сувише лако ломе, све је чешћа пракса да се сировине претходно благо кондиционирају (од 1 до 2% упијање воде) или се дробе са много већим садржајем влаге – од 15 до 20% (Krottenthaler и сар., 2009).

2.3.3.2. Комљење

Комљење је процес у коме се уситњени слад и несладоване сировине мешају са водом, температуре прилагођене деловању присутних ензима. Помоћу ових ензима компоненте сировина се преводе у ферментабилне шећере и друге нутријенте битне за квасац. Дакле, као најважнији задатак овог процеса је добијање што већег екстракта сладовине (Leiper и Miedl, 2006; Mathias и сар., 2019). Наизглед једноставан, процес комљења састоји се од низа сложених физичких, хемијских и биохемијских промена, а њихово разумевање је кључно за производњу квалитетне сладовине (Briggs и сар., 2004; Ну и сар., 2014). У зависности од састава сировина, техничке опремљености пиваре, као и типа комљења, постиже се жељени састав сладовине који је у директној вези са квалитетом произведеног пива (Krottenthaler и сар., 2009). Процес комљења се оптимизује у складу са одабраним температурним режимом и паузама на одређеним температурама, рН вредности комине, као и односом воде и усипка. Количина слада/несладованих житарица које се користе за једно комљење назива се усипак (Wunderlich и Back, 2009).

Током процеса комљења, као и током сладовања, одвијају се три главе ензимске разградње: амилолиза, протеолиза и цитолиза.

Амилолиза - како грануле скроба чине амилоза и амилопектин, њихова разградња се одвија у три корака:

1. клајстеризација;
2. ликвефакција (отечњавање) и
3. сахарификација (ошећерење).

Током првог корака - **клајстеризације**, грануле скроба адсорбују воду, повећавају своју запремину, а затим пуцају. Вискозност раствора се повећава, а овако

ослобођене молекуле скроба, амилоза боље разграђује у односу на неклајстеризован скроб. Скроб јечменог слада клајстеризује на температури од око 60 °C у присуству амилаза. Остале житарице, коришћене у технологији пива, разликују се по оптималним температурама разарања скробних гранула (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).

Вискозност клајстеризованог скроба се, под дејством α -амилазе, врло брзо смањује, услед деловања овог ензима на дуге везе остатака глукозе амилозе и амилопектина. Ова појава назива се **ликвифакцијом**. На овај начин, ослобађају се нове реактивне површине за деловање ензима и даље разлагање гранула скроба.

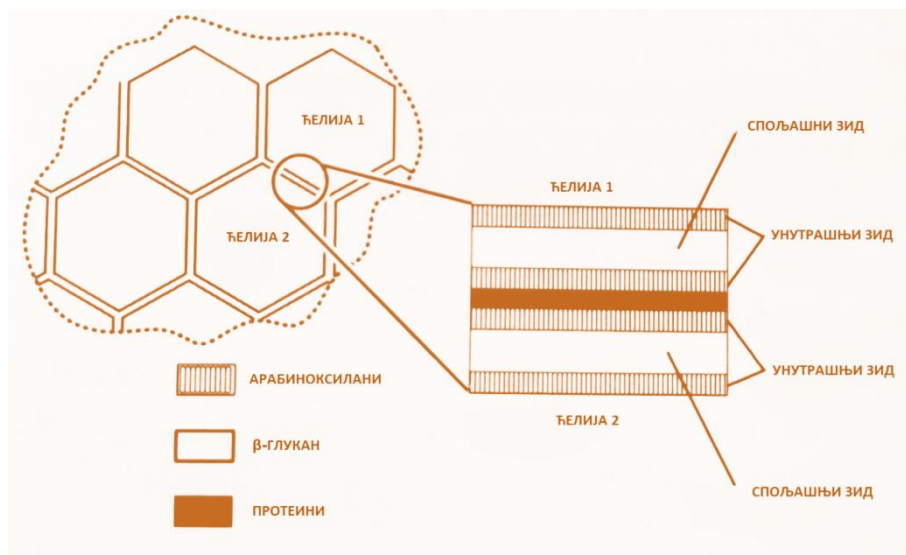
Током треће фазе – **сахарификације**, долази до потпуне разградње скроба до малтозе и декстрина под утицајем амилаза. α -амилаза разграђује ланце амилозе и амилопектина до декстрина мање молекулске масе, док β -амилаза са нередукуюћих крајева ланца одваја по молекул малтозе, али под њеним утицајем настају и други шећери попут глукозе и малтотриозе. За контролу ошећерења примењује се проба са јодом. Раствор јода са скробом и декстринима велике молекулске масе даје плаво-црну, док у присуству шећера и мањих декстрина не мења жуто - смеђу боју (Krottenthaler и сар., 2009; Wunderlich и Back, 2009; Пејин, 2019).

Протеолиза - за разлику од молекула скроба, протеини се у сладовини јављају као мешавина молекулских група различитих величина, па тако постоје високомолекуларна азотна једињења, као и аминокиселине. Ензими за протеолизу су подељени на ендо- и егзопептидазе. Ендопептидазе разграђују протеине из унутрашњости и повећавају садржај растворљивог азота, док егзопептидазе делују на крајеве протеинских ланаца и ослобађају аминокиселине. Око 90% ендопептидаза остане очувано током сладовања, односно процеса сушења, те буде активно у процесу комљења. Неки протеини се таложу већ током комљења, као последица одређене температуре и рН вредности. У поређењу са процесом сладовања, разградња протеина је током комљења много ефикаснија, а највећа деградација се дешава на 50 °C, мада се наставља и на вишим температурама. На температурама изнад 70 °C, активност протеаза се значајно смањује. Уколико се током комљења протеини недовољно разграде, умножавање квасца ће бити успорено, а самим тим ће ефикасност ферментације бити мања (Briggs и сар., 2004; Wunderlich и Back, 2009; Jaeger и сар., 2021).

Садржај протеина у зрну указује на квалитет пивског јечма. Док би у јечму који се користи у људској исхрани било пожељно да има што виши садржај протеина, у производњи пива то није случај. Идеалан садржај протеина за пивски јечам је између 10 и 12%, а превисок или пренизак садржај може негативно утицати на квалитет слада, а самим тим и на крајњи производ - пиво. Уопштено говорећи, јечам који садржи висок садржај протеина, има нижи садржај угљених хидрата, што доводи и до неповољног, нижег екстракта у сладовини, док смањен садржај протеина указује на смањену количину аминокиселина, што смањује способност квасца да успешно ферментише сладовину (Jaeger и сар., 2021).

Протеини у зрну имају различите улоге: градивни протеини - налазе се у мембранама, где контролишу њену полупропустљивост; резервни протеини - као извор аминокиселина неопходних током клијања и функционални протеини - регулишу метаболичке процесе (Guerrieri и Cavaletto, 2018).

Цитолиза - компоненте разградње ћелијског зида, приказаног на Слици 3, хемицелулозе и гумасте материје повећавају вискозност комине, при чему највећа разградња се дешава на температурама нижим од 50 °C. Као једињење са највећим утицајем на вискозност раствора, истиче се β -глюкан. Под утицајем сила смицања, током комљења, молекули β -глюкана повезују се помоћу водоничних веза, при чему настаје хеликс који има потенцијал преласка у стање гела и стварања потешкоћа током цеђења. Употреба квалитетног слада, као и смањење сила смицања могу бити решење овог проблема (Wunderlich и Back, 2009; Пејин, 2019). Са друге стране, β -глюкан може да допринесе пуноћи укуса пива (Bogdan и Kordialik-Bogacka, 2017).



Слика 3. Структура ћелијског зида скроба (Vamforth, 2006)

Како је утицај температуре на разградњу скроба велик, тако се приликом комљења увек праве паузе на оптималним температурама за деловање ензима, пре него што порасту до деструктивног нивоа. Ове паузе су на:

- 50 °C - пауза за разградњу протеина,
- 62 - 65 °C - пауза за настајање малтозе,
- 70 - 75 °C - пауза за ошећерење и
- 78 °C - температура завршетка комљења (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).

Постоје два основна типа комљења:

- инфузиони и
- декокциони поступак.

Инфузиони поступак је једноставнији и подразумева постепено повећавање температуре комине уз држање пауза на одређеним температурама. Овај поступак захтева коришћење квалитетно модификованог слада, како би ензими активно вршили разградњу компоненти зрна. У декокционом поступку повећавање температуре се врши тако што се део комине одваја и загрева до кључања, а затим се враћа у почетну комину и тако повећава температуру читаве масе. Декокција потпомаже ензиме у комини помоћу физичко-термичке разградње скроба, настале довођењем дела уварка (комине) до температуре кључања. Међутим, одвајањем дела масе, долази до механичког стреса плевике, као и до екстраховања њених једињења, што може негативно утицати на цеђење, али и на сензорске карактеристике пива (Eaton, 2006; Leiper и Miedl, 2006; Krottenthaler, 2009).

2.3.3.3. Цеђење комине

Након што је разградња скроба обављена, приступа се раздвајању течности од неразграђених делова зрна из комине. Методе и коришћени уређаји у ову сврху зависе највише од традиције пиваре (Leiper и Miedl, 2006). Неразграђене делове, односно пивски троп чине плевика, клица, и друге нерастворљиве компоненте зрна, а течни део, који се издваја након цеђења, је сладовина.

Цеђење се одвија у две фазе:

1. цеђење првенца и
2. испирање тропа (Пејин, 2019).

Током процеса цеђења, плевика се користи као природни филтер. У првој фази, сладовина се цеди из тропа (првенац), концентрације екстракта између 16 и 20%. Након ове фазе, троп се испира врелом водом, како би се екстраховало што више заосталих једињења у сладовину. Количина воде за испирање тропа зависи од тога колику концентрацију екстракта произвођачи пива желе у сладовини пре кувања са хмељом, с обзиром да вода разблажује првенац. Температура је битан фактор током цеђења, јер се са њеним повећањем смањује вискозност комине и убрзава поступак цеђења. Међутим, температуре изнад 80 °C нису препоручљиве, јер се нарушава активност α -амилазе и зауставља процес сахарификације скроба заосталог у тропу. У сврху цеђења се углавном користе два уређаја – бистреник и филтер за комину и оба дају добре резултате током раздвајања сладовине од тропа (Leiper и Miedl, 2006; Wunderlich и Back, 2009).

2.3.3.4. Кување сладовине са хмељом

Након што је у претходном процесу сладовина раздвојена од тропа, следи наредна фаза – кување сладовине са хмељом. Овај процес стабилизује сладовину, уклања непријатне ароме и екстрахује састојке хмеља, који ће пиву дати карактеристичне сензорске особине (Leiper и Miedl, 2006).

Неопходни кораци кувања сладовине са хмељом могу се грубо поделити у две фазе, које заједно трају између 30 и 120 минута:

1. загревање сладовине до кључања и

2. испаравање вишка воде (Пејин, 2019).

Током загревања и кључања, дешавају се различите хемијске реакције попут изомеризације једињења хмеља, развијање компоненти арома и боја, инактивација ензима, и уопште стерилизација сладовине. Заустављање активности ензима је неопходно како би се добио стабилан производ, спреман за даље фазе производње пива. Испаравање, сем уклањања вишка воде и добијања сладовине веће концентрације, служи и за уклањање непожељних компоненти ароме које потичу из хмеља попут мирцена, а нарочито диметил-сулфида (Krottenthaler, 2009; Wunderlich и Back, 2009).

Током кувања сладовине са хмељом, коагулација протеина се дешава у два корака - денатурација и коагулација протеина. Овај процес зависи од температуре кључања, његовог трајања, рН вредности и сила смицања. Идеална рН вредност за коагулацију протеина је испод 5,2, што се може остварити додатним закишељавањем сладовине (нпр. млечном киселином) (Briggs и сар., 2004; Leiper и Miedl, 2006).

2.3.3.5. Бистрење охмељене сладовине

Након кувања сладовине са хмељом, неопходно је што пре уклонити настали топли талог. Уколико се то не учини, заостале честице могу негативно утицати на метаболизам квасца, бистрину младог пива, као и на филтрацију. Количина талоба, који се састоји од остатака хмеља, протеина, полифенола, угљених хидрата, износи између 2 и 8 g/l у зависности од сировина коришћених за производњу сладовине и мора бити смањена на мање од 0,1 g/l пре хлађења. Уклањање овог талоба никада није потпуно, али се мора свести на што мању меру (Leiper и Miedl, 2006; Wunderlich и Back, 2009).

Издвајање талоба се може извести седиментацијом, центрифугирањем или филтрацијом. Избор уређаја, у највећој мери, зависи од типа хмеља који се користио током кувања сладовине. Најчешће коришћен уређај је вирлпул. Раздвајање се врши таложењем на дну, помоћу гравитационе и центрифугалне силе. Сладовина се у вирлпул уводи тангенцијално, при чему долази до кружења сладовине и до сакупљања талоба на дну уређаја (Leiper и Miedl, 2006; Пејин, 2019).

2.3.3.6. Хлађење и аерација охмељене сладовине

Охмељена сладовина мора се што брже охладити на температуру почетка ферментације. Након уклањања топлот талоба, сладовина је температуре око 95 °C и мора бити снижена на 8 - 22 °C, у зависности од почетне температуре ферментације (Wunderlich и Back, 2009). Како се сладовина хлади, тако се јавља замућење и формирање хладног талоба, који се може или и не мора уклонити. Брзо хлађење је неопходно, како се на тај начин смањује могућност настајање диметил-сулфида, додатних носилаца боје пива, као и микробиолошке контаминације. За хлађење се најчешће користи плочасти измењивач топлоте (Briggs и сар., 2004; Leiper и Miedl, 2006).

Сем задовољавајуће концентрације ћелија квасца, успешност ферментације зависи и од одговарајуће количине кисеоника доступног квасцу (Eßlinger, 2009). Да би

се сладовина потпуно припремила за процес ферментације, аерација је неопходна како би квасац могао несметано да се умножава. Аерација се може обавити са „топле“ или са „хладне“ стране измењивача топлоте. Уколико се изводи са „топле“ стране, постоји могућност оксидације полифенола, који ће допринети повећању боје пива. Из тог разлога, најчешће се врши са „хладне“ стране. Потребна количина кисеоника углавном зависи од соја квасца, али најчешћа сатурација износи 70 - 90%, што обезбеђује количину кисеоника од 4 - 14 mg/l сладовине (Leiper и Miedl, 2006).

2.3.3.7. Ферментација пива

Када је охмелена сладовина охлађена и аерисана, припремљена је за кључни корак у производњи пива - ферментацију. Разграђене компоненте јечменог слада и/или несладованих сировина метаболишу се до етанола и угљен-диоксида уз помоћ одабраног соја квасца. Осим главних производа ферментације, настају и споредни производи који дефинишу арому и укус пива (Eßlinger, 2009).

Пре почетка ферментације, неопходно је одабрати одговарајући сој квасца, након чега следи умножавање чисте културе квасца, односно изоловање погодних ћелија и њихово умножавање до броја који је неопходан за засејавање једног ферментора. Пре инокулације сладовине квасцем, сладовина је стерилна, а контаминација бактеријама или другим квасцима мора бити спречена, јер ће у супротном, ови контаминенти изазвати нежељене промене у пиву (Munroe, 2006).

Када квасац дође у контакт са сладовином, сусреће се са врло комплексном средином у коју мора брзо да се адаптира. Сладовина је сачињена од ферментабилних шећера, попут фруктозе, сахарозе, малтозе, малтотриозе, декстрина, извора азота, витамина, минералних материја и др. Предуслов за успешну ферментацију је адекватно произведена сладовина, у којој су наведени састојци присутни у довољним количинама. Сладовина има функцију средине за умножавање ћелија квасца, али и средине у којој ће квасац асимилувати доступна једињења и производити етанол и угљен-диоксид. За успешну ферментацију, током које квасац увећава 2 - 3 пута своју масу, потребно је 15 - 20 милиона ћелија квасца по милилитру сладовине (Eßlinger, 2009; Hill и Stewart, 2019). На самом почетку, квасац асимилује глукозу и фруктозу, а затим малтозу, која је главни ферментабилни шећер, након чега усваја и малтотриозу (Eßlinger, 2009). Такође, он користи и расположиви азот како би синтетисао ћелијске протеине и друга једињења. Око 10% суве материје квасца чини азот. У сладовини, главни извор азота за синтезу протеина су разне аминокиселине, пептиди, протеини, нуклеинске киселине и производи њихове разградње, који настају протеолизом протеина јечма. Квасац не усваја сва азотна једињења присутна у сладовини, већ само слободни аминокиселини азот и амонијум јоне. Слободни аминокиселини азот обухвата аминокиселине и пептиде. Концентрација слободног аминокиселини азота се смањује са 200 - 250 mg/l, што је карактеристично за охмелену сладовину, на 100 - 120 mg/l у пиву, што је оптимална концентрација која ће омогућити успешан раст ћелија, као и задовољавајућу брзину ферментације (Munroe, 2006; Hill и Stewart, 2019).

Током главне ферментације, рН вредност се смањује за једну јединицу услед настајања испарљивих и неиспарљивих органских киселина. Крајња рН вредност пива је између 4,3 - 4,6. Уколико буде нижа од 4,2, пиво ће имати кисео укус, док више вредности, након ферментације, указују на аутолизу квасца (Eßlinger, 2009).

Угљен-диоксид је од велике важности за квалитет и карактеристичну сензорику пива. У пивима доњег врења, концентрација угљен-диоксида је од 4,3 до 5,5 g/l пива, док је у пивима горњег врења од 6 - 10 g/l пива. На растворљивост утиче температура и притисак, а само 15% од укупне количине насталог угљен-диоксида остаје растворено у пиву (Пејин, 2019).

У зависности од типа пива које се производи, тј. од употребљеног соја квасца, подешава се температура главне ферментације. Ферментација пива доњег врења одвија се на температури 5 - 10 °C, а ферментација пива горњег врења на температури 15 - 25 °C (Wunderlich и Back, 2009).

Ферментација у производњи пива дели се на главну и накнадну. Међутим, данас, како се тежи убрзавању процеса ферментације, ове две фазе се често спајају. У току главне ферментације троши се највећи део ферментабилног екстракта и настају етанол и угљен-диоксид као главни производи, и виши алкохоли, органске киселине, алдехиди, кетони, сумпорна једињена, естри и многа друга једињења као споредни производи (Eßlinger, 2009). Снижавањем температуре на крају главне ферментације (0 - 2 °C), долази до бистрења, односно до таложења великог дела суспендованих ћелија. Преостале ћелије у младом пиву ће наставити ферментацију у наредној фази. У произведеном, готовом пиву није пожељно да има заосталих ферментабилних шећера, јер имају тенденцију да смање стабилност пива. Међутим, у младом пиву заостали екстракт је у распону од 6 - 10%, који ће у фази накнадне ферментације бити искоришћен од стране преосталих ћелија квасца. Такође, ова количина заосталог екстракта је довољна и за производњу угљен-диоксида током фазе сазревања (Wunderlich и Back, 2009; Пејин, 2019).

Цилиндро-конусни ферментори, у којима се изводе ферментације доњег врења, најчешћи су избор савремених пивара. У њима се могу изводити обе фазе ферментације, и главна и накнадна, у зависности од система хлађења. Облик ферментора, односно његов конусни завршетак, погодан је за успешно одвајање квасца након главне ферментације, а сакупљање угљен-диоксида, као и искоришћење хмеља је ефикасније у поређењу са другим типовима ферментора (Пејин, 2019).

Најчешћа смерница за завршетак главне ферментације је концентрација вициналних дикетона, која се прекида када је ово једињење смањено на минимум. За вициналне дикетоне се везује појава непријатног укуса пива, те је неопходно да не прелазе границу од 0,1 mg/l у готовом пиву (Briggs и сар., 2004).

2.3.3.8. Филтрација и колоидна стабилизација пива

Филтрација је поступак којим се уклањају ћелије квасца, колоидне (комплекси протеина и полифенола) и нерастворљиве материје заостале након дозревања пива.

Циљ филтрације је добијање бистрог и стабилног пива, како не би дошло до видљивих промена током његовог чувања и дистрибуције (Briggs и сар., 2004).

Задатак филтрације је уклањање:

- ћелија квасца – права филтрација и
- компоненти мутноће пива – колоидна стабилизација (Lindemann, 2009).

Филтрација се најчешће обавља помоћу наплавних филтара, при чему се као наплавно средство најчешће користи киселгур. Мутноћа пива се јавља услед присуства колоидних једињења у пиву. Два су типа мутноће:

- хладна мутноћа - настаје приликом хлађења пива до испод 0 °C и нестаје приликом поновног загревања на око 20 °C и
- трајна мутноћа - јавља се током дуготрајног чувања пива на собној температури и не може нестати загревањем чак ни на температурама вишим од 30 °C (Briggs и сар., 2004).

Колоидна стабилизација изводи се следећим поступцима:

- адсорпцијом током филтрације са киселгуром,
- адсорпцијом у посебном поступку и
- ензимским поступком (Lindemann, 2009).

Најчешће коришћена средства за стабилизацију су препарати силикагела, поливинилполипирилоидон (PVPP) и ензими. Силикагел се користи за уклањање протеина, а PVPP приликом уклањања полифенола из пива (Lindemann, 2009; Пејин, 2019).

2.3.3.9. Биолошка стабилизација

Пиво се биолошки стабилизује у циљу инактивације заосталих ћелија квасаца или других микроорганизама (бактерија, дивљих квасаца и др.) који се могу умножити у пиву и изазвати мутноћу. У те сврхе се примењује пастеризација – уништавање микроорганизама у воденим растворима путем загревања.

Два најефикаснија поступка су:

- брза пастеризација пива у протоку – обавља се пре пуњења пива у бурад, неповратне стаклене боце и пластичне боце и
- тунелска пастеризација – пастеризује се пиво оточено у повратне стаклене боце и лименке. Представља сигурнији вид биолошке стабилизације (Briggs и сар., 2004).

Биолошка трајност пива може се значајно скратити приликом контакта пива са кисеоником, чувањем пива на високим температурама и недовољним одржавањем чистоће пиваре. Због киселог карактера пива, за његову пастеризацију довољна је температура од 60 - 62 °C у трајању од 20 минута, а примена виших температура је непожељна због могућег погоршања сензорских особина пива (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2019).

2.3.3.10. Пуњење пива у амбалажу

Пуњење пива у амбалажу је фаза која захтева највише рада. Пиво се најчешће пуни у стаклене боце које могу бити повратне и неповратне, затим лименке, пластичне боце и металну бурад (Пејин, 2019). Најчешће је у употреби повратна, али на развијенијим тржиштима, као што су Европа и Сједињене Америчке Државе, преовладала неповратна боца. Линија за пуњење пива састоји се из низа уређаја, а распоред и врста уређаја који ће се користити зависи од типа амбалаже, од предвиђене брзине пуњења и типа пива које се пуни (Briggs и сар., 2004).

Приликом избора амбалаже за пуњење пива, неопходно је узети у обзир следеће факторе: отпорност на светлост, заштитна својства за спречавање губљења угљен-диоксида и спречавање уласка кисеоника, инертност материјала за пуњење пива и механичка отпорност. Успешно пуњење и паковање карактеришу четири главна аспекта:

- спречавање уласка кисеоника, јер кисеоник убрзава процес старења и смањује концентрацију антиоксиданата што смањује стабилност пива, повећава израженост горчине и изазива хладну и трајну мутноћу и промену боје пива;
- притисак на пиво се мора одржавати константним и температура одржавати на мање од 2 °С, како би се угљен-диоксид задржао у раствореном облику, јер би у супротном могло доћи до проблема при чувању пива;
- притисак пуњења зависи од равнотежног притиска угљен-диоксида, а подешавање одговарајућег притиска спречава излаз пива из боце и
- заједнички фактор битан за све пунионице је чистоћа и сви делови постројења, чак и они који не долазе у контакт са пивом морају се редовно и темељно прати (Пејин, 2019).

2.4. Тритикале

Организација за храну и пољопривреду (FAO - од енгл. Food and Agriculture Organization) дефинисала је 17 житарица од којих 11 има значај у производњи пива: пшеница, јечам, кукуруз, раж, овас, просо, сирак, хељда, киноа, фолио и тритикале. Као критеријум релевантности житарица наводи се квалитет произведеног пива, као и прихватање од стране потрошача. Наведене житарице испуниле су очекивања, те се широм света употребљавају као сурогати у пиварској индустрији (Meussdoerffer и Zarnkow, 2009).

Настојање да се обогати и прошири асортиман ратарских култура, које представљају основу људске исхране, довело је до стварања нових житарица синергијом науке и људског рада (Rakha и сар., 2013).

Једна од таквих биљака је тритикале. Тритикале је хибридна житарица, настала укрштањем пшенице и ражи. Ова јединствена житарица, у потпуности је развијана људском вољом, и као таква, прва је у свету (McGoverin и сар., 2011; Rakha и сар., 2013). Произведена је са циљем имплементирања најбољих особина од оба родитеља. Из тог разлога, одликује се високим приносом и добрим квалитетом зрна, попут пшенице и толерантности на неповољне услове током узгајања, попут ражи. Поред тога, има уједначену величину зрна и боље нутритивне карактеристике у односу на раж. Даје много веће приносе и биомасу у поређењу са осталим ратарским културама, али и већу отпорност на разне болести и штеточине, чиме се смањује неопходност употребе хемијских заштитних средстава током узгајања (Mergoum и сар., 2004; Agil и Hosseinian, 2014; Munoz-Insa и сар., 2016).

Током последњих деценија, тритикале је постао култура која се узгаја у комерцијалне сврхе на најразличитијим поднебљима широм света. Стални тренд раста људске популације захтева и константан пораст производње хране, посебно житарица које представљају главни извор хранљивих материја људи и животиња. Међутим, све ово мора се извести уз очување животне средине и природних ресурса. Према томе, пожељно је да повећање производње проистекне из побољшаног приноса усева, а не из ширења глобалне обрадиве површине. Тритикале је житарица која представља атрактивно решење овог проблема, јер не захтева значајну примену хемијских агенаса, а успева и на маргиналним земљиштима, уз принос који може да парира другим ратарским културама (Рећа, 2004).

Подаци на FAOSTAT за 2021. годину показују да је тритикале узгајан у 45 земаља на површини од 3,8 милиона хектара, са укупном производњом у износу од 14,8 милиона тона. Као највећи произвођачи наводе се Пољска, Немачка, Француска, Белорусија и Шпанија. Ван Европе, Кина је велики произвођач тритикалеа. Током 2021. године у Србији је под засадом тритикалеа било 24.746 хектара са укупно произведених 125.784 тона. У периоду од 5 година (2016 - 2021. године) приметно је повећање производње ове житарице на територији Србије, што је приказано на Слици 4 (FAOSTAT, 2021).



Слика 4. Производња тритикалеа у Србији у периоду од 2016-2021. године (FAOSTAT, 2021)

Примену тритикалеа одређује његов хемијски састав, па је тако од самог почетка препознат као житарица са великим потенцијалом у производњи сточне хране. Сем тога, користи се у производњи биоетанола и, у мањој мери, у прехранбеној индустрији (Fraš и сар., 2016).

Пекарски производи од тритикалеа били су доступни током 80-их година прошлог века у Канади и у Сједињеним Америчким Државама. Иако је потражња била велика, производња тритикалеа, као и доступност пекарских производа, временом се смањила услед појачаних мера Владе ове две земље ка већој промоцији пшенице у ове сврхе. Генерално, за ограничену употребу тритикалеа у пекарској индустрији заслужна је висока активности α -амилазе, као и слаба реолошка својстава добијеног теста услед ниског садржаја глутена. Глутен тритикалеа је лошијег квалитета у поређењу са пшеницом, тешко се пере и мање је флексибилан. Због тога се, данас, у пекарској индустрији користи искључиво као додатак пшеничном брашну (McGovern и сар., 2011; Rakha и сар., 2013; Fraš и сар., 2016). Услед присуства R генома из ражи, тритикале је меке текстуре. Из тог разлога, највећу примену нашао је у исхрани стоке - свиња, живине и преживара. Као сточна храна користи се у разним облицима: као зрно, силажа, сено и слама (McGovern и сар., 2011). Међутим, проблем који се јавља у производњи сточне хране је висок садржај дијететских влакана што резултира антинутритивним ефектима. Дијете богате влакнима, посебно полисахаридима који се екстрахују у води, повећавају вискозитет у гастроинтестиналном тракту моногастричних животиња, те долази до успоравања варења и апсорпције хранљивих материја (Jonnal и сар., 2010; McGovern и сар., 2011; Rakha и сар., 2013).

Неподобност тритикалеа за коришћење у пекарској индустрији, нарочито за производњу хлеба, била је примећена током самих почетака развоја ове житарице. Стога су били уложени знатни напори ка побољшању, односно ка модификацији „проблематичних“ компоненти зрна. Међутим, временом је прихваћено да се у пекарској индустрији не може користити самостално (Munoz-Insa и сар., 2016). Са друге стране, карактеристике тритикалеа које нису погодиле ову индустрију, биле су свесрдно прихваћене у индустрији пива. Након многобројних истраживања доказано је

да тритикале испуњава захтеве прописане за сурогате у производњи сладовине и пива (Glatthar и сар., 2005).

2.4.1. Историја настанка тритикалеа

Тритикале (*× Triticosecale sp. Wittmack*) је прва вештачки створена житарица, настала укрштањем генома пшенице (*Triticum spp. Linnaeus 1753*) са геномом ражи (*Secale cereale Linnaeus 1753*). Овај амфиплоид је продукт спајања генома тетраплоидне пшенице са геномом AABB, односно хексаплоидне пшенице генома AABBDD са геномом ражи RR. Временом су настали стабилни хексаплоиди и октаплоиди (McGoverin и сар., 2011).

По дефиницији, примарни тритикале настао је међугенетичком хибридизацијом, праћеном удвостручењем хромозома између пшенице и ражи. Већина савремених сорти тритикалеа потомци су примарних врста које укључују дурум пшеницу (*Triticum durum*, $2n=4k=28=AABB$) или обичну пшеницу (*Triticum aestivum* L., $2n=42$ хромозома= $AABBDD$) и диплоидну раж (*Secale cereale* L., $2n=2k=14$ хромозома= RR) као полинатора, односно донора RR генома. На овај начин добијени су различити хибриди попут хексаплоида ($2n=6k=42$ хромозома= $AABBRR$) и октаплоида ($2n=8k=56$ хромозома= $AABBDDRR$). Примарни хибрид био је октаплоидни тритикале и био је први који је опсежно проучаван. Међутим, упркос великим истраживачким напорима током прве половине 20. века, ипак нису били остварени задовољавајући резултати, јер је биљка била дугог вегетационог периода, са танким стаблима, малом плодношћу и ситним зрнима. Из тог разлога, од раних 50-их година прошлог века, селекционерски и истраживачки напори били су усмерени ка развоју и побољшању хексаплоидног тритикалеа, амфиплоида насталог између тетраплоидне пшенице и диплоидне ражи. Овај хибрид је показао бољи квалитет семена, већу отпорност на полегање и толерантност на неповољне услове спољашње средине, као и већи принос од родитељских врста. Сходно томе, већина сорти тритикалеа које се данас узгајају широм света су хексаплоидне врсте (Salmon и сар., 2004; Zarnkow и сар., 2009; Гламочлија и сар., 2017).

Оно што историју тритикалеа чини јединственом, у поређењу са другим житарицама, је то што се његова еволуција догађала током више од 100 година, а најдраматичније прекретнице биле су у највећој мери вођене вољом људи. Са вештачким укрштањем пшенице и ражи започето је 1875. године када је шкотски ботаничар Stephen Wilson пријавио Ботаничком друштву у Единбургу, да је успешно извршио оплодњу пшенице поленом ражи, што је инспирисало многе друге научнике да буду део ове интересантне тематике. Добијени хибрид био је стерилан, јер је производио потпуно нефункционална полена зрна, а клас је био обрастао ситним длацицама. Тадашња скромна сазнања из генетике нису давала одговор који би омогућио добијање плодног потомства овог хибрида (Salmon и сар., 2004).

Не знајући за експерименте научника Wilsona, Carman је 1883. године контролисано укрстио, у то време веома популарну Армстронгову пшеницу и неидентификовану сорту ражи, што је резултирало са 10 зрна. Од 10 зрна, 9 је проклијало, а 8 је дало плодну биљку која је била слична пшеници, док је само једно зрно испољило одређене особине ражи. Carman је покушао да пласира на тржиште потомство ових биљака, погрешно промовисаних као хибрид пшенице и ражи. Међутим, ове сорте никада нису биле узгајане у значајнијој мери. У првом објављеном раду 1884. године, где је описао настали хибрид између пшенице и ражи, Carman је закључио: „Ако је настали хибрид ипак мање вредности од пшенице или ражи, неће допринети ничему, осим невероватној чињеници да је могуће укрштање две различите врсте житарица“ (Amthar и сар., 2004; Salmon и сар., 2004).

Пут развоја тритикалеа није био лак, узимајући у обзир разне препреке које су отежавале напредак, а ојачавале скептицизам. Заиста је била потребна снажна воља неколицине људи како би се превазишло оно што су многи научници у то време сматрали непремостивим и да се истраје упркос разочаравајућим резултатима првих насталих хибрида (Salmon и сар., 2004).

Велики напредак у технологији укрштања остварен је када је немачки селекционер Wilhelm Rimpau 1888. године, након серије укрштања, створио јединствена и прва вијабилна семена тритикалеа. Од укупно 15 семена, 3 су била потпуно стерилна, док је преосталих 12 показало клијавост. За разлику од потомака хибрида научника Carmana, новонастали били су уједначени, по спољашњем изгледу, и веома слични пшеници. Као најважније - представљали су основу за развој свих наредних генерација. У време када је Rimpau објавио резултате свог рада, вероватно није схватао значај достигнућа, односно да је успешно произвео први стабилан амфиплоид пшенице и ражи и створио нову биљку. Тек 45 година касније, након урађених цитолошких испитивања, потврђен је амфидиплоидни статус овог укрштања, те је установљено да су соматске ћелије имале у просеку 56 хромозома, што је било и очекивано од насталог октоплоидног амфиплоида између хексаплоидне пшенице и диплоидне ражи (Salmon и сар., 2004; Oettler, 2005).

Иако је историја развоја тритикалеа углавном била вођена људском вољом, природа је ипак помогла и убрзала еволуцију, те инспирисала научнике за даљи рад. Први природни хибриди пшенице и ражи откривени су у Пољопривредној експерименталној станици у Саратову, на југоистоку Русије. Научник Meister је 1921. године приметио стварање хибрида на пољима различитих сорти пшенице између којих је била засејана раж. Настали хибриди имали су длачице на класу, што је било последица доминантног гена за маљавост који се налази на хромозому 5R код ражи. Сви настали хибриди, колико год били интересантни за науку, били су стерилни (Oettler, 2005).

Сређином 30-их година прошлог века научник Müntzing је у Шведској започео укрштање примарних октоплоидних тритикалеа са пшеницом у циљу побољшања агрономских особина октоплоидног тритикалеа. Иако су потомци оваквих укрштања

били супериорнији у односу на своје родитеље, и даље су били инфериорнији по питању приноса у односу на пшеницу. Настали хибриди били су смежураног зрна, делимично стерилни и склони полегању. Узимајући у обзир добијене резултате, будућност тритикалеа није била светла. Тек када је крајем 30-их година прошлог века откривена метода која је укључивала хемијски колхицин, тритикалеу је враћена популарност (Salmon и сар., 2004). Након третирања хромозомских парова зрна колхицином - алкалоидом зељасте биљке мразовац, дошло је до вештачког удвостручавања хромозома, што је повећало плодност биљке (Meussdoerffer и Zarnkow, 2009). Међутим, иако су се многи октоплоидни хибриди могли лако произвести без ослањања на вештачко удвостручавање хромозома, употреба колхицина била је кориснија за развој хексаплоидног тритикалеа у којем је препознат потенцијал за комерцијално узгајање (Salmon и сар., 2004).

На доприносима даљем развоју тритикалеа највише је задужен Међународни центар за унапређење производње кукуруза и пшенице (CIMMYT - од енгл. International Maize and Wheat Improvement Centre - Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo), основан у Мексику 1966. године. Како је на тлу Европе рад на развоју тритикалеа заустављен због Првог светског рата, истраживања су пресељена у Централну Америку (Amthar и сар., 2004; Гламочлија и сар., 2017). Главни циљ организације CIMMYT био је осавремењивање производње, али и побољшање нутритивних карактеристика хране у земљама у развоју (Oettler, 2005). 1968. године тритикале *Amarillo* био је прва одобрена сорта у Мексику и у Мађарској, а 20 година касније ова сорта је почела да се гаји и у Немачкој (Zarnkow и сар., 2009).

Између 1975. и 2000. године, јари тритикале развијен у CIMMYT, био је глобално дистрибуиран, што је резултирало са 146 различитих сорти распрострањених у 23 земље на 5 континената. Поред тога, подстакнуте успешним резултатима узгајања јарог тритикалеа, неке земље започеле су напоре у развијању сопствених сорти, чију су основу чиниле CIMMYT сорте. Локални развој тритикалеа највише је маха узео на тлу Аустралије, Бразила, Португалије и Индије (Amthar и сар., 2004).

Услед великог броја различитих укрштања пшенице и ражи, од самог почетка постојала је конфузија у номенклатури и званичном имену насталог амфидиплоида. Научник Wittmack је предложио да назив хибрида буде састављен од две родитељске врсте, па је тако новонастала житарица добила назив *Triticosecale rimpaui*, с обзиром да је настала укрштањем пшенице *Triticum aestivum* и ражи *Secale cereale*. 1971. године научник Baum је инсистирао да назив хибрида буде у складу са међународним кодексом ботаничке номенклатуре. Стога је предложен нови назив *Triticosecale Wittmack*, који се и данас користи широм света (Oettler, 2005).

Интересантна је чињеница да је у прошлости било покушаја укрштања пшенице и ражи где је раж била доминантан донор, за разлику од тритикалеа. Овај хибрид је носио назив *Secalotricum*, али није дао задовољавајуће резултате. Одликовала га је висока стерилност, услед спорог формирања поленових зрнаца, те је потпуно изгубио на значају (Zarnkow и сар., 2009).

Данас, тритикале који се најчешће узгаја је секундарни амфиплоид тврде пшенице, донора А и В генома, који омогућавају висок степен приноса и адаптације на неповољне услове средине, и ражи, донора R генома, захваљујући којем се гаји широм света и добро подноси кисела земљишта, хладноћу и сушу. Након више од 5 деценија узгајања, може се са сигурношћу потврдити да је тритикале биљка која даје висок принос као пшеница и биолошку чврстину као раж (Гламочлија и сар., 2017).

2.4.2. Услови узгајања тритикалеа

Тритикале најбоље успева у областима у којима се успешно узгајају и његове родитељске врсте. Поднебље, односно доминантни климатски услови у одређеној области, диктирају одабир најпогодније сорте. Тренутно постоје три основне врсте тритикалеа:

1. јаре - пролећне врсте које не захтевају индукцију процеса цветања после хладног зимског периода како би прешле из вегетативне у репродуктивну фазу;
2. средње или факултативне врсте који захтевају одређени хладни период, али могу прећи у репродуктивну фазу и без хладног третмана и
3. озиме врсте које захтевају дуг, хладан зимски период како би, након клијања, прешле у репродуктивну фазу (Salmon и сар., 2004).

Данас, гајење јарог тритикалеа све више добија на значају. Зрно јарог тритикалеа карактерише већи принос у односу на озими (Wojtkowiak и сар., 2015). Јари тритикале може се узгајати на већини поднебља која омогућавају довољно дугу фазу раста биљке и обезбеђују адекватну влагу, било путем падавина или наводњавањем. Такође, јаре врсте успевају и у областима где зимски услови нису сувише оштри. Као последица тога, узгајање јарог тритикалеа је најпогодније у Северној Америци, Руској Федерацији, северној Кини, медитеранској области, али и у појединим деловима Африке. Повољне области за узгајање озимог тритикалеа се у великој мери преклапају са јарим тритикалеом. Раст и развој озимог тритикалеа захтева дуг период ниских температура (од 4 до 8 недеља), нижих од 9 °С, али изнад тачке смрзавања. Поднебља која испуњавају наведене услове су северна Европа, источни део Северне Америке, делови Руске Федерације и Кине, где се тритикале сеје и у јесен и оставља му се довољно простора за каљење, односно адаптацију за зимски период. Сем тога, потребно је и довољно падавина, како би се формирао снежни покривач чија је улога одржавање влаге током раста биљке (Salmon и сар., 2004). На успешност узгајања житарица утичу бројни фактори спољашње средине. Један од њих је квалитет земљишта. Истраживања су показала да је за усев тритикалеа погоднија песковита иловача од муљевито-песковитих подручја. Квалитет земљишта, као и временски услови више утичу на озиме сорте тритикалеа него на јаре (McGovern и сар., 2011).

Иако су клима и географска ширина пресудни фактори за одабир сорте тритикалеа која ће се сејати, не треба занемарити ни фотопериод. Током ране фазе

раста, јари тритикале који се узгаја на северној хемисфери је осетљив на дневну светлост. Искузује потребу за више од 12 сати светлости како би дошло до формирања генеративних органа биљке. На сличан начин, озими тритикале, сем периода јаровизације, односно вегетације, такође захтева дуге дане (Salmon и сар., 2004, Гламочлија и сар., 2017).

Тритикале показује добре резултате у областима са појачаним кишним условима, поготово у вегетативном периоду развоја биљке. Иако има особине сличне пшеници, истраживања су показала да се много боље адаптира у условима повећаног стреса. Многе сорте тритикалеа показују толеранцију на кисело земљиште и земљиште са вишом концентрацијом алуминијума или других метала, што је одлика и његове родитељске врсте - ражи. Доказано је да успева на земљишту са високом концентрацијом мангана, што је карактеристика одређених области Аустралије. У поднебљима где преовлађује абиотички стрес, попут суше, екстремних варијација температура, рН земљишта, салинитета, присуства токсичних елемената, тритикале се показао као супериорнија житарица у поређењу са другим ратарским културама. Веома битна карактеристика тритикалеа је коренов систем. Како је коренов систем веома развијен може ефикасније да продре до хранљивих материја у земљиштима са мање повољним хемијским и физичким особинама (Salmon и сар., 2004).

2.4.3. Карактеристике зрна тритикалеа

2.4.3.1. Физичке карактеристике

Тритикале, приказан на Слици 5, по величини, облику и боји више подсећа на пшеницу него на раж. Међутим, зрно је углавном веће, односно дуже од зрна пшенице. Нема плевицу, а током процеса мочања брзо упија воду, чак 4 пута брже у поређењу са јечмом. Током развоја ове житарице, мењао се и њен изглед. Прва зрна тритикалеа, развијена током касних 60-их до средине 70-их година прошлог века, имала су наборани изглед. Међутим, овај недостатак је временом исправљен, јер су узгајивачи инсистирали на пунијим зрнима, односно зрнима богатијим скробом. Савремене, побољшане сорте тритикалеа имају изглед попуњенијих зрна са благо смежураном структуром. Основна боја зрна је углавном црвена, мада су све више у употреби сорте беле или ћилибарне боје (Briggs, 2004; Рећа, 2004; Ambriz-Vidal и сар., 2019).



Слика 5. Зрно тритикалеа

2.4.3.2. Хемијске карактеристике

Тритикале има неколико предности у односу на друге житарице: бољи квалитет протеина у погледу аминокиселинског састава, већи садржај растворљивих дијететских влакана и минералних материја, као и пријатан, благ укус ражи (Munoz-Insa и сар., 2016). Хемијски састав тритикалеа је сличнији пшеници него ражи. Ово је последица односа генома након укрштања: два од пшенице (А и В геноми) и један од ражи (R геном) (McGovern и сар., 2011).

Угљени хидрати, као главне компоненте тритикалеа, чине преко 70% зрна (Zhu, 2018). Садржај протеина у тритикалеу је често већи него у пшеници и износи између 8,0 и 22,5%. Ова чињеница је последица комбинације протеинских фракција из пшенице и ражи током стварања хибрида. Међутим, како се кроз историју настојало да се произведу дебља зрна тритикалеа, односно зрна која ће бити богатија скробом, то је довело до све мањих количина протеина, приближних оним у пшеници коришћеној у пекарској индустрији (Lászytity, 1996; McGovern и сар., 2011; Munoz-Insa и сар., 2016). Тритикале је житарица високе хранљиве вредности и, у поређењу са пшеницом, има повољнији састав аминокиселина. Њеној биолошкој вредности доприноси и податак да садржи аминокиселину - лизин, која је ограничавајући фактор у другим ратарским културама (Rakha и сар., 2013). Истраживања су показала да се са смањењем количине протеина, концентрација лизина у зрну не смањује. Напротив, била је још већа (McGovern и сар., 2011; Munoz-Insa и сар., 2016). Неколико студија о тритикалеу, у којима је праћен аминокиселински састав, указало је на значајан утицај агрономских фактора попут количине падавина, температуре, коришћених хербицида, густине сетве и ђубрења на количину аминокиселина у зрну (Rakha и сар., 2013; Jaśkiewicz и Szczepanek, 2018). Тритикале садржи више албумина и глобулина, али мање складишних протеина у поређењу са пшеницом. Око 50% од укупних складишних протеина састоји се од глијадина и секалина, који су у основи мономерни протеини са дисулфидним везама (Bandara и сар., 2011).

Садржај липида у зрну тритикалеа износи од 1,2 до 1,6%, што је слично зрну пшенице, међутим минералне материје и елементи у траговима су већи и од пшенице и од ражи, нарочито када су у питању Са, Си, Фе, Р, На, Мп и Zn. Витамински састав је

сличан родитељским врстама. Полифеноли, као природни антиоксиданти са низом биолошких активности, обогаћују зрно и отварају могућност за употребу тритикалеа у формулацији нових, здравијих прехранбених производа. Укупан полифенолни садржај зрна тритикалеа је од 1,3 до 1,6 mg еквивалената галне киселине (ГАЕ)/g тритикалеа, што је приближно пшеници (1,5 mg ГАЕ/g) (Zarnkow и сар., 2009; Zhu, 2018).

Дијететска влакна тритикалеа углавном подразумевају арабиноксилане, затим фруктан, целулозу и β -глюкан (Zhu, 2018). Садржај дијететских влакана сличан је зрну пшенице, али са већом количином растворљиве фракције, посебно пентозана, који је доминантан нескробни полисахарид, који се екстрахује у води и повећава вискозност раствора (Rakha и сар., 2013; Randhawa и сар., 2015; Fraš и сар., 2016).

2.4.4. Тритикале у технологији пива

Тритикале је житарица врло погодна за употребу у производњи пива, како у сладованом, тако и у несладованом облику. Бројне особине зрна могу да оправдају њено коришћење, а као најважније истичу се висока активност амилолитичких и протеолитичких ензима, чак и у несладованом облику (Briggs, 2004; Munoz-Insa и сар., 2016).

У поређењу са јечменим сладом, слад тритикалеа показује веће губитке суве материје током сладовања. Највећи губици, али и највећа ензимска активност амилаза и протеаза, се постиже када је влага зрна 42% током мочења, а клијање траје 4 - 6 дана уз додаток гиберелинске киселине. Одређене сорте тритикалеа показују високу активност α -амилазе чак и у одсуству визуелне потврде клијања зрна (Рећа, 2004; Munoz-Insa и сар., 2016). Произведене сладовине тритикалеа имају веће концентрације екстракта, већу дијастатску снагу и већу активност α - и β -амилаза у поређењу са јечменим сладом. Екстракти могу бити веома високи, чак 88 - 90%. Захваљујући нижим температурама клајстеризације (59 - 65 °C), приближним јечменом сладу, у производњи сладовине тритикале може да се меша са јечменим сладом без претходне термичке обраде (Briggs, 2004; Meussdoerffer и Zarnkow, 2009; Munoz-Insa и сар., 2016). Сладовине произведене од тритикалеа имају висок садржај азотних једињења и тамнију боју, уз потенцијал за настајање мутноће, која је директна последица високе протеолитичке активности. Такође, одликује га већа вискозност од сладовина произведених од јечменог слада (Рећа, 2004; Грујић и сар., 2010; Munoz-Insa и сар., 2016).

Осим у облику слада, тритикале у технологији пива може да се користи и као несладована сировина. Како је главна карактеристика несладованих житарица смањена ензимска активност и да овако произведене сладовине имају нижу концентрацију растворљивог азота, било је разумно то очекивати и од тритикалеа. Међутим, он је показао, чак и у несладованом облику, високу амилолитичку и протеолитичку активност. Као додатна потврда његове супериорности у односу на друге житарице је и дијастатска снага, која указује на ензимску активност, односно на

њену способност да разграђује скроб. Истраживања су показала да је овај параметар изузетно висок и у несладованом тритикалеу. Поред тога, неке сорте доприносе знатним количинама слободног аминок азота у сладовини уз садржај пентозана сличан сладовинама произведеним од других житарица (Goode и Arendt., 2006; Meussdoerffer и Zarnkow, 2009).

Поред амилολизе и протеолизе, разградња полисахарида током комљења сматра се још једним битним фактором у производњи сладовине. У том смислу, пентозани се издвајају као једна од најбитнијих компоненти тритикалеа. Генерално, пентозани и β -гљукани су препознати као елементи који доприносе повећању вискозности сладовине, смањењу брзине филтрације и, сходно томе, мутноћи пива. Међутим, количина β -гљукана у сладовини је занемарљива с обзиром на иницијално низак садржај у зрну (од 0,5 до 1,0%). Насупрот томе, присутни пентозани показују тенденцију повећања вискозности сладовине и могу утицати на брзину филтрације пива. Везана ферулна киселина, чији је садржај око 0,2% у зрну тритикалеа, као фенолни антиоксидант има способност везивања овог полисахарида. Пентозани показују склоност ка умрежавању преко грана ферулне киселине, те у комбинацији са присутним протеинима узрокују повећану вискозност сладовине и пива. Процењено је да је укупна количина пентозана у тритикалеу око 7,6%, док је у ражи виша и износи 12,2%, а у пшеници 6,6% (Glatthar и сар., 2005; Zarnkow и сар., 2009).

У истраживањима Glatthar и сарадника (2004), у којима су вршене анализе сладовина произведених од различитих сурогата, у поређењу са кукурузом и пиринчем, тритикале је показао боље особине. Сладовине произведене од тритикалеа имале су сличан састав угљених хидрата као и стандардне сладовине, а садржај растворљивог азота био је у распону сладовина произведених од 100% јечменог слада. Штавише, показано је да се употребом тритикалеа може користити 10 - 15% већи удео несладованих житарица у усипку, како би се остварио садржај слободног аминок азота сличан сладовинама јечменог слада (Glatthar и сар., 2004).

У поређењу са пивима произведеним од јечма, пива од тритикалеа су углавном тамније боје и више рН вредности. Садрже више азотних једињења, али и мању концентрацију етанола, јер је ферментабилност углавном нижа. Такође, 6 од 10 испитиваних пива имала су задовољавајућу бистрину, док је укус био прихватљив у свим тестираним пивима (Рења, 2004; Ambriz-Vidal, и сар., 2019).

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Материјал

3.1.1. Хемикалије и прибор

Током процеса комљења коришћен је комерцијални ензим – Shearzyme 500L, произвођача Novozymes, Данска. Наведени ензим је ендоксилаза добијена од плесни *Aspergillus aculeatus*. За одређивање α - и β -амилаза коришћен је комерцијални ензимски кит *Malt-amylase*, а за одређивање β -глюкана коришћен је комерцијални ензимски кит *Mixed-linkage β -glucan*, произвођача Megazyme, Ирска. Реагенси за детерминацију аминокиселина, као и аминокиселински стандарди набављени су од Agilent Technologies, Inc., Калифорнија, Сједињене Америчке Државе. Ацетонитрил и метанол, који су били коришћени за квантитативно одређивање аминокиселина, били су HPLC чистоће и набављени су од произвођача Sigma-Aldrich Chemicals, Немачка. Највећи број специфичних хемикалија коришћених у стандардним анализама сладовине и пива набављен је од произвођача Sigma-Aldrich Chemicals, Немачка. За филтрацију комине током производње сладовине коришћен је филтер папир 651/120 (Macherey-Nagel, Немачка). За филтрацију узорка припремљених за HPLC анализу, коришћени су шприц филтери од 0,45 μm (Chromafil Xtra PTFE-45/13, Macherey-Nagel, Немачка).

3.1.2. Сировине

3.1.2.1. Јечмени слад

Светли слад пizenског типа, произведен у сладари „Maltinex Souflett“, Бачка Паланка, коришћен је у овој докторској дисертацији.

3.1.2.2. Тритикале

У докторској дисертацији коришћене су две озиме сорте тритикалеа - НС Паун и Одисеј, признате у Србији и Европској Унији. Сорте су узгајане на огледним пољима у Римским Шанчевима и део су сортимента Института за Ратарство и повртарство у Новом Саду.

3.1.2.3. Хмељ

За производњу охмељених сладовина коришћен је хмељ сорте Херкулес, пелете тип 90, произвођача HVG e.G., Немачка.

3.1.2.4. Квасац

За извођење ферментација коришћена је чиста производна култура квасца *Saccharomyces pastorianus*, која је сторнирана као музејска култура и чува се на предмету Микробиологија, Технолошког факултета у Новом Саду.

3.2. Методе

Сви технолошки параметри квалитета тритикалеа, јечменог слада, сладовине, охмелене сладовине, као и произведеног младог пива одређивани су стандардним европским методама по Analytica EBC (2008) и МЕВАК (2011).

3.2.1. Анализа нативног тритикалеа

Анализа нативног тритикалеа обухватала је:

- механичке анализе - сортирање, маса 1000 зрна, хектолитарска маса и просечна стакластост;
- физиолошке анализе - енергија клијања и хидросензибилност и
- хемијске анализе - садржај влаге, садржај протеина, дијастатска снага, садржај α - и β -амилазе, садржај β -глюкана, као и садржај пентозана.

3.2.2. Микросладовање

У циљу производње слада тритикалеа, коришћен је класичан поступак микросладовања (Табела 1) који се користи у технолошким испитивањима оцене квалитета јечма, тј. стандардно микросладовање (Schuster и сар, 1999).

Табела 1. Шема микросладовања

1. дан	6h мочења у води на 15°C, 18h без воде у мочионику на 15°C
2. дан	4h мочења у води на 15°C, 20h без воде у мочионику на 15°C
3. дан	2h мочења у води на 15°C, 22h без воде у мочионику на 15°C
4. дан	клијање на 15°C, превртање
5. дан	клијање на 15°C, превртање
6. дан	клијање на 15°C, превртање
7. дан	клијање на 15°C, превртање, пребацивање у сушару, сушење по задатом програму
8. дан	сушење завршено, отклицавање слада, мерење и паковање у полиетиленске врећице

Сладовано је по 1 килограм узорка. Вода која се користила за мочење била је вода из новосадског водовода, тј. вода квалитета за пиће. Цео поступак трајао је 8 дана. Микросладовање свих узорака рађено је на Технолошком факултету у Новом Саду у микросладари „Seeger“, Немачка која се састоји из:

- уређаја за мочење,

- уређаја за клијање и
- уређаја за сушење.

Мочење је обављено у уређају за мочење у ком је смештен рам. На рам се стављају посуде са перфорираним дном у које је стављен узорак. Температура у мочионику се аутоматски одржава константном услед циркулације воде помоћу рециркулационе пумпе. Током мочења свакодневно је мерена маса узорка у циљу одређивања и израчунавања степена намочености. Намочени тритикале је по завршетку мочења пребачен у уређај за клијање.

Клијање узорака намоченог тритикалеа вршено је у уређају за клијање. У уређају за клијање смештен је рам на који се стављају посуде са перфорираним дном. Унутар клијалишта, испод посуда са перфорираним дном налази се комора под притиском у којој је филтер са Рашиговим прстеновима, којима се влажи и хлади ваздух. Кондиционирани ваздух из коморе може да струји само кроз слојеве узорка у посудама. Одржавање температуре у уређају за клијање врши се аутоматски циркулацијом охлађене воде, која се добија у посебном агрегату за хлађење. У току клијања, тритикале је превртан и мерен свакодневно. На основу масе узорка, током клијања, одређивани су губици на дисање и на клицу. По завршетку клијања, добијени зелени слад пребачен је на сушење.

Сушење зеленог слада изведено је у уређају за сушење струјом загрејаног ваздуха следећим програмом: 12h на 40 °C; 3,5h на 60 °C и 4,5h на 85 °C. Уређај за сушење ради потпуно аутоматски по принципу једноетажне сушаре. Након сушења, узорци су охлађени струјом хладног ваздуха, а затим је вршено мерење масе. Отклицавање је рађено ручно и на крају је измерена маса отклицаоног слада.

Током микросладовања тритикалеа праћени су степен намочености, садржај влаге зеленог слада, укупни губици - губици дисањем и губици на клицу, као и садржај α - и β -амилазе, β -гљукана и садржај пентозана.

3.2.3. Анализа слада

Анализа произведеног слада тритикалеа, као и јечменог слада, обухватала је:

- механичке анализе - маса 1000 зрна, хектолитарска маса и просечна стакластост, и
- хемијске анализе - садржај влаге, садржај протеина, екстракт фино млевеног слада, време ошећерења, брзина филтрације, бистрина сладовине, боја сладовине, рН вредност, садржај растворљивог азота, вискозност, екстракт грубо млевеног слада, разлика екстракта фино и грубо млевеног слада, Kolbach-ов број, релативни екстракт на 45 °C, дијастатска снага слада, садржај полифенола, аминокиселински састав, садржај α - и β -амилазе, β -гљукана и пентозана.

3.2.4. Анализа хмеља

Анализа хмеља обухватала је садржај влаге, садржај укупних смола и садржај α -киселина. Наведени параметри одређивани су методама по Analytica EBC (2008).

3.2.5. Анализа охмељене сладовине

Анализа произведене охмељене сладовине обухватала је садржај екстракта, боју, рН вредност, вискозност, садржај растворљивог азота, садржај слободног аминок азота, горчину, садржај полифенола и аминокиселински састав.

3.2.6. Анализа младог пива

Анализа произведеног младог пива обухватала је следеће параметре: садржај етанола, садржај правог и привидног екстракта, прави и привидни степен ферментабилности, рН, боја, горчина, садржај растворљивог азота, садржај слободног аминок азота, садржај полифенола, вициналне дикетоне, аминокиселински састав, као и сензорске особине (укус, мирис и горчина).

3.2.7. Припрема инокулума за ферментацију

Чиста култура квасца активирана је пресејавањем на „нову сладну подлогу“. Суспензијом физиолошки активне културе (минимално 5×10^6 ћелија/ml), у физиолошком раствору засејаване су подлоге за гајење инокулума - 24 сата на собној температури уз мешање од 300 о/min. Подлога за гајење инокулума била је сладовина, односно инокулум је умножаван на сладовини у којој ће се вршити процес ферментације.

3.2.8. Припрема сладовине за ферментацију и ферментација

Сладовине су произведене по конгресној и модификованој методи, при чему је произведено око 2000 ml сладовине, од чега је 200 ml остављено за анализу, а 200 ml стерилисано за умножавање инокулума за ферментацију. Остатак је охмељен, уз додатак уситњеног хмеља, и загреван до кључања. Сладовина је држана 1 сат на температури кључања, након чега је уследило хлађење на температуру од 4 °С. Следећег дана узет је узорак за анализу охмељене сладовине, док је остатак одливен у стерилне ерленмајере и аерисан. Под стерилним условима, у стерилан ЕВС цилиндар, унешен је инокулум, а затим и охмељена, аерисана сладовина. Након затварања ферментора, садржај је хомогенизован. Ферментација је извођена на 10 °С у трајању од 7 дана. Узорци за испитивање узимани су под стерилним условима, преко славине на средини ферментора. Квасац је одвајан центрифугирањем на 3000 о/min, 20 минута. Процес ферментације праћен је трећег, петог и седмог дана.

3.2.9. Одређивање активности α - и β -амилазе

Активност α -амилазе одређивана је по Ceralpha[®] процедури, која, као супстрат, користи олигосахарид р-нитрофенил малтохептаозид у присуству термостабилне α -глукозидазе. Захваљујући присуству „блокирајуће групе“ на нередукуюћем крају р-нитрофенил малтохептаозиде, α -глукозидаза нема дејство на супстрат. При хидролизи олигосахарида помоћу α -амилазе, присутна α -глукозидаза омогућава брзу хидролизу р-нитрофенил малтосахарида до глукозе и слободног р-нитрофенола.

За одређивање активности β -амилазе користила се Betamyl-3[®] процедура, са супстратом р-нитрофенил- β -D-малтотриозидом (PNP β -G3), као и термостабилном β -глукозидазом. При хидролизи PNP β -G3 до малтозе и р-нитрофенил- β -D-глукозе помоћу β -амилазе, р-нитрофенил- β -D-глукоза је хидролизована до D-глукозе и слободног р-нитрофенола помоћу присутне β -глукозидазе.

Екстракција ензима: епрувета, у коју је додато 0,5 g +/- 0,01 g самлевоног тритикалеа и 5 ml Betamyl-3[®] пуфера А, остављена је на собној температури око 1 сат, у циљу екстракције ензима. Након сат времена, смеша је центрифугирана 10 минута на минималној брзини од 2000 о/min. Затим, 0,2 ml филтрата додато је у 4 ml Betamyl-3[®] пуфера В, што је чинило екстракт А, који је даље коришћен за одређивање активности α - и β -амилазе.

Одређивање активности α -амилазе: како би се одредила активност α -амилазе, потребно је додатно разблажити екстракт тритикалеа додавањем 0,2 ml екстракта А у 3 ml разблаженог Ceralpha[®] пуфера А. На овај начин је добијен екстракт Б, који се дели у аликвоте од 0,2 ml које је потребно инкубирати на 40 °C 5 минута. Такође, Ceralpha[®] раствор супстрата је загреван на 40 °C 5 минута. Потом, у сваку епрувету са разблаженим екстрактом додато је 0,2 ml Ceralpha[®] раствора супстрата, кратко промешано и инкубирано тачно 10 минута на 40 °C. Након завршеног периода инкубације, додато је 3 ml реагенса за заустављање реакције и прочитана је апсорбанца на 400 nm, уз дестиловану воду као слепу пробу.

Одређивање активности β -амилазе: у епрувете је подељен екстракт тритикалеа - екстракт А, у аликвотима од 0,2 ml и инкубиран на 40 °C 5 минута. Инкубиран је Betamyl-3[®] супстрат под истим условима. Након тога је у сваку епрувету са екстрактом А додато 0,2 ml Betamyl-3[®] супстрата, смеша је кратко мешана и инкубирана на 40 °C 10 минута. Након завршеног периода инкубације, додато је 3 ml реагенса за заустављање реакције и апсорбанцу узорка је прочитана на 400 nm, при чему је као слепа проба коришћена дестилована вода.

3.2.10. Одређивање садржаја β -глюкана

За одређивање садржаја β -глюкана примењена је метода специфична за [(1-3) (1-4)]- β -D-глюкане. Принцип одређивања састојао се из растварања узорка у

пуферском раствору од 6,5 рН и инкубирања са пречишћеним ензимом лихеназом, након чега је уследила филтрирација. Аликвот филтрата је затим хидролизован помоћу пречишћене β -глюкозидазе, у циљу добијање D-глюкозе, која је одређивана помоћу глюкоза-оксидаза/пероксидаза реагенса.

Одређивање садржаја β -глюкана у нативном тритикалеу: самлевени тритикале (80-120 mg) је, у стакленим киветама, помешан са 0,2 ml етанола (50% v/v). Затим је у кивете додато 4 ml пуфера натријум-фосфата 20 mM, уз мешање садржаја. Кивете су стављене у водено купатило са кључалом водом на 1 минут, затим су промешане и поново инкубиране 2 минута на 100 °C. Када је смеша охлађена на 50 °C, додаје се ензим лихеназа, који делује у току 1 сата, уз повремено мешање. Након истека ових сат времена, додато је 5 ml пуфера натријум-ацетата (200 mM), те је уследило центрифугирање 10 минута на 1000 o/min. Аликвоти (0,1 ml) су подељени у три кивете, где је у две кивете додато β -глюкозидаза, док је у трећу (слепа проба реакције) додато 0,1 ml 50 mM ацетатног пуфера. Све кивете инкубиране су 10 минута на 50 °C. Затим је додато 3 ml GOPOD реагенса у сваку кивету уз инкубирање од 20 минута на 50 °C. Уз сваку пробу, било је потребно направити и глюкозни стандард од 0,1 ml натријум-ацетат пуфера, 0,1 ml D-глюкозног раствора и 3 ml GOPOD реагенса, као и слепу пробу, која је подразумевала 0,1 ml дестиловане воде, 0,1 ml натријум-ацетат пуфера и 3 ml GOPOD реагенса. Апсорбанце реакција и глюкозног стандарда очитане су на 550 nm у односу на слепу пробу.

Одређивање садржаја β -глюкана у сладу тритикалеа: у 1 g самлевоног слада додато је 5 ml етанола (50% v/v), након чега је смеша инкубирана 5 минута у воденом купатилу са кључалом водом. Садржај је промешан, додато је још 5 ml етанола, након чега је уследило центрифугирање од 10 минута на 1000 o/min. Настали супернатант је уклоњен. Преостали садржај у кивети је разблажен са 10 ml етанола, центрифугиран уз поновно одбацивање супернатанта. Преостали садржај је растворен у 5 ml пуфера натријум-фосфат (20 mM). Кивете су инкубиране 2 минута на 100 °C у воденом купатилу, промешане и враћене у водено купатило на додатних 3 минута. Након што су кивете охлађене на 40 °C, додато је 0,2 ml лихеназе и садржај је остављен на овој температури сат времена. Након истека 1 h, ниво у свакој кивети је подешен помоћу дестиловане воде до 30 ml, након чега је уследило центрифугирање на 1000 o/min 10 минута. Аликвоти филтрата су пренети у 3 епрувете, где је у једну додато 0,1 ml 50 mM пуфера натријум-ацетата (слепа проба реакције), док је у друге две додато 0,1 ml β -глюкозидазе. Овакав садржај епрувета је инкубиран на 40 °C 15 минута. Затим је додато 3 ml GOPOD реагенса у сваку кивету и остављено на 20 минута на 40 °C. Апсорбанце реакције и глюкозног стандарда су мерене на 510 nm у односу на слепу пробу.

3.2.11. Одређивање садржаја пентозана

У балон за дестилацију одмерен је 1 g самлевоног зрна тритикалеа, у који је додато 100 ml 12% хлороводоничне киселине и неколико стаклених перли, како би се обезбедило равномерно кључање. Балон је прикључен на кондензатор. У сепарациони левак је додато 300 ml 12% хлороводоничне киселине, који је био спојен са ерленмајером за прихватање дестилата, постављеног у ледено купатило, како би се спречио губитак фурфурала. Загревање је регулисано тако да се на сваких 15 минута предестилише 50 ml, све до коначне запремине од 300 ml. Током дестилације је, из сепарационог левка, додавана хлороводонична киселина како би се одржала његова почетна запремина од 100 ml. Настали дестилат је затим пренесен у ерленмајер запремине 1 l, у који је додато 50 ml дестиловане воде и 250 g леда направљеног од дестиловане воде. Након што је постигнута температура од 0 °C, додато је 20 ml 0,2N бромат/бромид раствора. Након 5 минута, додато је 10 ml 10% раствора калијум јодида. Садржај ерленмајера је затим титрисан са 0,1N натријум тиосулфата користећи скроб као индикатор (Paradkar и сар., 2002).

3.2.12. Одређивање садржаја аминокиселина

Квантитативна анализа аминокиселина у узорцима вршена је течном хроматографијом високе резолуције (HPLC – од енгл. High Performance Liquid Chromatography). HPLC анализе рађене су на Agilent Technologies 1260 HPLC систему који се састоји од квартернер пумпе, четвороканалног микровакуум дегазера, термостата на колони, аутосамплера са термостатом, фотодиодним (DAD - од енгл. Photodiode array detector) и флуоресцентним детектором (FLD - од енгл. Fluorescence detector). За контролу система и за анализу података коришћен је софтвер ChemStation software (Agilent). Услови хроматографије били су у складу са упутствима Agilent Technologies.

Аутоматска претколонална дериватизација са ортофталдиалдехид реагенсом (OPA - од енгл. o-phthalaldehyde) и 9-флуоренилметил хлороформатом (FМОС - од енгл. 9-Fluorenylmethyl chloroformate) изведена је на собној температури, према програмима ињектора наведеним у Henderson и сарадници (2000). Након дериватизације, количина од 0,5 µL сваког узорка је убризгана на Intertsil ODS-4 колону (3 µm, 4,6 mm x100 mm, GL Sciences Inc. Japan) на температури од 40 °C. Мобилна фаза А: 10 mM Na₂HPO₄, и 10 mM Na₂B₄O₇ pH 8,2, док је мобилна фаза Б: ацетонитрил/метанол/вода (45:45:10, v/v/v). Брзина протока је била 1,5 ml min⁻¹ са програмом градијента који је почео са 2% Б током 0,35 минута након чега је уследио корак од 13,4 минута који је подигао елуент Б на 57%. Затим је елуент Б повећан на 100% у року од 0,1 минута и држан још 2,2 минута. Састав мобилне фазе је ресетован на почетне услове у року од 2,2 минута, а колона је уравнотежена 2 минута пре следећег узорка. Примарне аминокиселине су детектоване праћењем УВ апсорбанције на 338 nm, са референцом на λ = 390 nm, ширином појаса = 1 nm, прорезом од 4 nm и ширином врха од > 0,1 мин, и

апсорбанцијом на 262 nm референца на $\lambda = 324$ nm, пропусни опсег = 16 nm, прорез од 4 nm и ширина врха од >0,1 мин. Детекција флуоресценције је изведена са ексцитацијом 340 nm, емисијом 450 nm и филтером 390 nm. На основу добијених калибрационих дијаграма стандардних раствора аминокиселина, израчунате су концентрације идентификованих једињења, а резултати су изражени у mg/l узорка.

3.2.13. Статистичка обрада добијених резултата

За обраду и анализу података, у оквиру ове докторске дисертације, коришћене су основне статистичке методе, као и методе вештачке интелигенције. За моделовање и оптимизацију процеса производње сладовине коришћене су вештачке неуронске мреже (ANN – од енгл. Artificial Neural Networks) и генетски алгоритам (GA – од енгл. Genetic Algorithm). За статистичку анализу података коришћена је метода планирања експеримента, у оквиру које је посматрана метода одзивне површине (RSM – од енгл. Response Surface Methodology).

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

4.1. Анализа нативног тритикалеа и слада тритикалеа – фаза 1

Прва фаза истраживања обухватала је анализу нативног тритикалеа, микросладовање и анализу произведеног слада тритикалеа обе испитиване сорте, као и јечменог слада. Сви експерименти изведени су у три понављања, а резултати су изражени као аритметичка средина \pm стандардна девијација.



4.1.1. Анализа нативног тритикалеа

У оквиру докторске дисертације испитиване су две сорте нативног тритикалеа, чији су резултати анализе приказани у Табели 2.

Табела 2. Механичка анализа нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Параметар	НС Паун	Одисеј
Сортирање	Класа I (%)	93,16 \pm 0,10
	Класа II (%)	5,24 \pm 0,05
	Класа III (%)	1,6 \pm 0,02
Маса хиљаду зрна (g s.m.*)	37,10 \pm 0,20	36,80 \pm 0,15
Хектолитарска маса (kg)	72,3 \pm 0,12	76,0 \pm 0,10
Просечна стаклост (%)	7,29 \pm 0,12	26,00 \pm 0,10

* g s.m. – грама суве материје

Сортирање зрна - најважнија механичка карактеристика зрна јечма, којом се утврђује садржај појединих класа (Лескошек - Чукаловић, 2002). Уједначеност зрна одређује се на основу дебљине зрна. Ово је од великог значаја, јер ће у току мочења зрна сличнијих димензија једнако или приближно једнако примати влагу и уједначеније ће клијати (Пејин, 2016). Сита у уређају за сортирање су са отворима следећих димензија: 2,8 mm, 2,5 mm и 2,2 mm, те се зрна деле на:

- класу I – зрна која остају на горњем сити, тј. на отворима од 2,8 и 2,5 mm, односно раздвајају се на Ia (зрна дебљине преко 2,8 mm) и Ib класу (зрна дебљине 2,5 – 2,8 mm);
- класу II – зрна која су се задржала на сити са отворима од 2,2 mm и
- класу III – зрна мање дебљине од 2,2 mm, која се не користе у производњи пива, већ се класификују као сточни јечам.

Сматра се да је за производњу квалитетне сладовине пожељно да прву класу чини најмање 90% зрна у узорку (Лескошек - Чукаловић, 2002). На основу резултата приказаних у табели 2, запажа се да оба узорка тритикалеа задовољавају прописани критеријум, односно да имају удео I класе изнад 90%. Сорте Одисеј је имала мањи удео I класе ($91,11 \pm 0,10\%$) у односу на сорту НС Паун ($93,16 \pm 0,10\%$).

Маса 1000 зрна поуздан је показатељ квалитета јечма и у корелацији је са сортирањем и са садржајем екстракта у јечму. Што је вредност овог параметра већа, већи је и садржај скроба, а тиме и садржај екстракта (Пејин, 2016). Маса 1000 зрна јечма треба да буде у границама од 37 до 40 g суве материје (МЕВАК, 2011). Обе испитиване сорте су биле у оквиру прописаних граница, и то НС Паун - $37,10 \pm 0,20$ g суве материје и Одисеј - $36,80 \pm 0,15$ g суве материје.

Хектолитарска маса даје податак о маси зрна која се могу распоредити у запремину од 100 литара. Такође, даје увид у садржај екстракта и протеина (Лескошек-Чукаловић, 2002). Прописано је да квалитетан јечам има хектолитарску масу у опсегу од 68 - 75 kg (МЕВАК, 2011). Сорте Одисеј имала је већу хектолитарску масу од прописане вредности, али и од сорте НС Паун и износила је $76,0 \pm 0,10$ kg. Овај параметар је код сорте НС Паун био у прописаним границама ($72,3 \pm 0,12$ kg).

Просечна стакластост јечма одређује се на попречном пресеку зрна. Генерално, зрна могу бити брашнаста, стакласта и полустакласта. Стакластост може бити пролазна - „доброћудна” и трајна - „штетна”. “Доброћудна” стакластост не утиче негативно на квалитет јечма, јер је углавном последица временских услова, на пример сувог, топлог времена током сазревања и жетве јечма. Трајно стакласта зрна најчешће имају повишен садржај протеина и слабије се разграђују током сладовања (Пејин, 2016). У добром пивском јечму садржај брашнаних зрна треба да буде најмање 80%, што указује на повећано присуство скроба, а самим тим и на смањен садржај протеина. Уколико је стакласти пресек доминантан, он указује на повећан садржај протеина (Лескошек - Чукаловић, 2002). Сорте НС Паун имала је просечну стакластост у оквиру прописаних вредности ($7,29 \pm 0,12\%$), док је овај параметар код сорте Одисеј био повишен и износио је $26,00 \pm 0,10\%$.

У Табели 3 приказани су резултати физиолошких анализа испитиваних сорти тритикалеа.

Табела 3. Физиолошка анализа нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Параметар	НС Паун	Одисеј
Енергија клијања, након 3 дана (%)	98±0,05	98±0,02
Хидросензибилност, након 3 дана (%)	0	1±0,02

У сладарама великих капацитета, неопходно је извршити анализу енергије клијања, хидросензибилности, као и микросладовања, како би се проценио потенцијал који јечам поседује за производњу квалитетног слада (Kreisz, 2009).

Енергија клијања представља проценат зрна која су способна да клијају у тренутку испитивања под одређеним условима температуре и влажности. Како би зрно било спремно за сладовање, енергија клијања након 3 дана мора бити минимум 95% (Kreisz, 2009). Резултати приказани у табели 3 показују да оба испитивана узорка тритикалеа испуњавају задати критеријум.

Хидросензибилност зависи од технолошке зрелости јечма и представља осетљивост зрна на присуство воде на његовој површини током клијања. Код квалитетног јечма, мора бити мања од 10%. Сматра се да јечам није довољно зрео за сладовање уколико је хидросензибилност већа од 25% (Лескошек - Чукаловић, 2002; МЕВАК, 2011). Обе испитиване сорте тритикалеа су након 3 дана имала ниску хидросензибилност, одакле се закључује да су биле физиолошки зреле.

У Табели 4 приказани су резултати хемијске анализе испитиваних сорти тритикалеа.

Табела 4. Хемијска анализа нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Параметар	НС Паун	Одисеј
Садржај влаге (%)	10,07±0,05	9,51±0,05
Садржај протеина (% s.m.*)	11,69±0,20	12,88±0,12
Дијастатска снага (°WK)	593±0,55	547±0,92
Активност α-амилазе (U/g)	6,31±0,95	12,62±0,69
Активност β-амилазе (U/g)	27,82±1,53	22,44±1,01
Садржај β-глюкана (%)	0,81±0,61	0,82±0,22
Садржај пентозана (%)	2,22±0,51	2,11±0,32

* % s.m. - % суве материје

Садржај влаге јечма најчешће износи између 12 и 20% (Пејин, 2016). По МЕВАК-у (2011), садржај влаге је прихватљив када је мањи од 14%, али се препоручује да буде мањи од 12%. Испитивани узорци тритикалеа имали су релативно низак садржај влаге, односно сорта Одисеј је имала нижи садржај влаге (9,51±0,05%) у односу на сорту НС Паун (10,07±0,05%).

Садржај протеина непосредно говори и о садржају скроба, односно екстракта зрна јечма, зато се сматра једним од најважнијих показатеља квалитета јечма. Најчешће је у границама између 9 и 12,5%. Висок садржај протеина је непожељан, јер се од таквог јечма често добија слад ниског садржаја екстракта (Лескошек - Чукаловић, 2002). По МЕВАК-у (2011), пожељан садржај протеина у зрну јечма је између 10 и 11%. У раду Munoz-Insa и сарадника (2016) може се наћи податак да је садржај протеина у

тритикалеу у широком распону од 8 до 22,5%. Према резултатима приказаним у табели 4, садржај протеина био је виши у сорти Одисеј ($12,88 \pm 0,12\%$), док је у узорку сорте НС Паун био $11,69 \pm 0,20\%$. Из приложеног се да закључити да су обе испитиване сорте имале већи садржај протеина од прописаних вредности по МЕВАК-у (2011) за јечам. Ово је у складу са истраживањем које су извршили Arrodu и Vanu (2017), у којем је садржај протеина у испитivanoј сорти тритикалеа био, такође, већи од прописаних критеријума и износио је $12,5 \pm 0,09\%$. Слична подударност нађена је и у истраживању Ambriz - Vidal и сарадника (2019), у ком су испитиване четири различите сорте тритикалеа, чији је садржај протеина био од $11,97 \pm 1,30$ до $13,25 \pm 0,99\%$.

Дијастатска снага - ова анализа се најчешће користи у процени ензимске активности слада. Сходно томе, у доступној литератури веома су оскудни подаци о дијастатској снази несладованих житарица. Међутим, како се у многобројним научним радовима наилази на податак да тритикале поседује значајну ензимску активност чак и у несладованом облику, тако је у оквиру ове докторске дисертације анализирана дијастатска снага несладованог тритикалеа. Стандардне вредности дијастатске снаге, која се изражава у степенима Windisch-Kolbach ($^{\circ}\text{WK}$), за светли слад су $240\text{-}260^{\circ}\text{WK}$, а за тамни $150\text{-}170^{\circ}\text{WK}$ (Пејин, 2016). Оба испитивана узорка тритикалеа имала су изузетно високу дијастатску снагу (НС Паун $593 \pm 0,55^{\circ}\text{WK}$ и Одисеј $547 \pm 0,92^{\circ}\text{WK}$), што указује на више него двоструко већу ензимску активност нативног тритикалеа у односу на јечмени слад, који је најчешће у распону од 100 до 250°WK (Palmer, 2006). У истраживању Cela и сарадника (2020), у ком је вршена анализа нативног јечма, нађен је податак да је дијастатска снага била у распону од 200 до 416°WK . У резултатима добијеним у оквиру ове докторске дисертације, обе испитиване сорте тритикалеа имале су вредности које превазилазе наведени опсег.

Активност α - и β -амилазе - у прегледу литературе запажене су драстичне варијације распона активности α - и β -амилазе, што може бити последица различитих генотипова одређених житарица, утицаја спољашње средине током њиховог узгајања, али и различитих метода за одређивање активности ензима. У складу са тим, активности два наведена ензима су у широком распону, од 50 до 1500 U/g (Georg-Kraemer и сар., 2001). Разградња амилозе и амилопектина скроба обавља се деловањем α - и β -амилазе. β -амилаза се у зрну налази у слободном и у везаном облику и може се активирати протеолитским ензимима или помоћу средстава која садрже тиолне групе. Највећи садржај је у алеуронском слоју, док према унутрашњости ендосперма опада. β -амилаза је мање термостабилна у односу на α -амилазу. α -амилаза није присутна у целом зрну, већ је највећи део садржан у ендосперму. Овај ензим се интензивно синтетише до 50°C , након чега се синтеза успорава и зауставља. До делимичне инактивације долази на температурама око 80°C . Сушење зеленог слада на почетно ниским температурама доводи до највеће активности α -амилазе у сладу (Briggs и сар., 2004). Испитивани нативни тритикале сорте НС Паун имао је већу активност β -амилазе ($12,62 \pm 0,69 \text{ U/g}$), док је активност α -амилазе била већа у узорку сорте Одисеј ($27,82 \pm 1,53 \text{ U/g}$).

Садржај β-глюкана - у зрну тритикалеа, пентозани су доминантни нескробни полисахариди, док је β-глюкан присутан у мањим количинама. Међутим, како су молекули β-глюкана веома дуги са израженом способношћу међусобног повезивања путем водоничних мостова, имају значајан утицај на вискозност раствора. Малтоза, производ разградње скроба, делује инхибиторно на поменуто повезивање водоничним везама, али настали етанол током ферментације потпомаже формирању β-глюканског гела (Vamforth, 2006; Rakha и сар. 2013). Ендо-β-глюканазе разграђују унутрашње везе у ланцима нерастворљивог β-глюкана, чиме се на крају добијају глюкански декстрини, услед чега вискозност раствора нагло опада. Ови ензими се, у највећој мери, деактивирају током процеса сушења, док одржавање температуре клијања на 13 - 15 °C делује повољно на синтезу овог ензима. Као један од важнијих задатака сладовања истиче се смањење садржаја β-глюкана у сладу (Briggs и сар., 2004; Пејин, 2016).

Када је одређивање β-глюкана у питању, јавља се проблем слабе униформности метода, самим тим и велике варијације добијених резултата. Слично као и код одређивања активности α- и β-амилаза, и на садржај β-глюкана утиче одабир сорте житарице, као и услови узгајања, јер током сушних временских периода настаје више β-глюкана у зрну. Од многобројних метода анализа, две се истичу као најпогодније:

- повезивање макромолекула β-глюкана са флуорохромом *Calcofluora*, при чему настаје комплекс који појачава флуоресценцију, која се мери. Проблем се јавља уколико је молекуларна маса β-глюкана мања од 10.000, јер у том случају не долази до стварања комплекса и
- хидролиза β-глюкана помоћу β-глюканазе и мерење настале глукозе (Vamforth, 2006), што је била одабрана метода у овој докторској дисертацији.

При анализи испитиваних сорти тритикалеа, добијени су врло слични резултати садржаја β-глюкана у нативном зрну: сорта НС Паун - $0,81 \pm 0,61\%$ и сорта Одисеј - $0,82 \pm 0,22\%$. Добијени резултати су у складу са истраживањем Rakha и сарадника (2012), у ком је садржај β-глюкана у нативном зрну тритикалеа, узгајаног на две различите локације, био од 0,6 до 0,7%.

Садржај пентозана - истраживања су показала да је садржај укупних и растворљивих пентозана у тритикалеу сличан или благо већи од садржаја у пшеници, али и знатно нижи од садржаја у ражи. У истраживању Рећа (2004) садржај пентозана у тритикалеу био је 7,6%, док је у пшеници и ражи био 6,6 и 12,20%. Код Rakha и сарадника (2012) може се наћи податак да је садржај пентозана у испитиваном тритикалеу био у распону од 5,9 до 7,5%. У оквиру ове докторске дисертације, анализа садржаја пентозана обе испитиване сорте тритикалеа показала је нижи садржај ове компоненте ћелијских зидова у односу на податке из доступне литературе. Нативни тритикале сорте НС Паун имао је незнатно виши садржај пентозана ($2,22 \pm 0,51\%$) у односу на сорту Одисеј ($2,11 \pm 0,32\%$).

4.1.2. Микросладовање

Обе испитиване сорте тритикалеа су сладоване, при чему је сваки дан вршено узорковање у циљу процене квалитета процеса производње слада. Резултати микросладовања сорти тритикалеа НС Паун и Одисеј приказани су у Табели 5.

Табела 5. Микросладовање тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

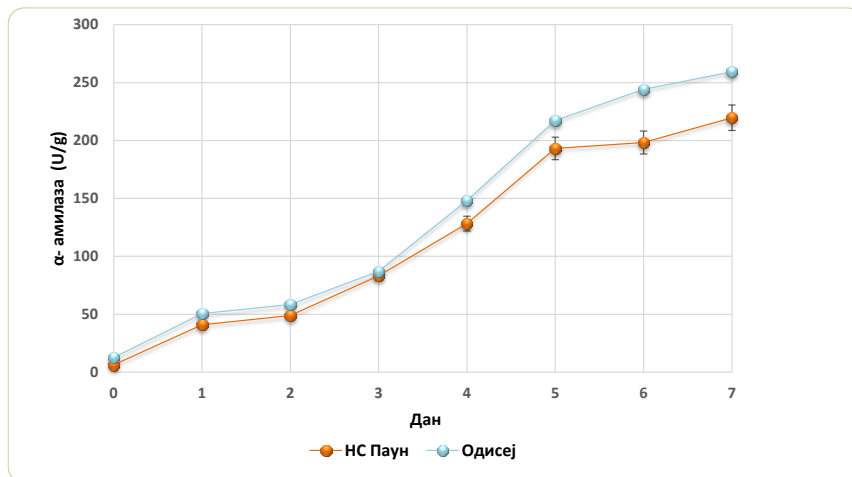
Параметар	НС Паун	Одисеј
Влага зрна након 24 h мочења (%)	35,33±0,24	33,86±0,40
Влага зрна након 48 h мочења (%)	43,45±0,53	40,72±0,11
Влага зрна након 72 h мочења (%)	49,16±0,98	46,06±0,44
Влага зеленог слада (%)	49,84±0,12	45,24±0,22
Влага слада (%)	5,14±0,05	4,87±0,05
Укупни губици (% s.m.)*	12,88±0,30	9,86±0,32
✓ Губици на дисање (% s.m)	7,97±0,30	5,57±0,12
✓ Губици на клицу (% s.m)	4,91±0,12	4,29±0,20

* % s.m - % суве материје

Процес сладовања, који започиње мочеем, води се док зрна не постигну 42 - 46% влаге. Ово омогућава покретање метаболизма, односно почетак клијања, током којег ензими разграђују ћелијски зид и одређену количину протеина у скробном ендосперму (Vamforth, 2006). Тачније, зрна започињу клијање када је садржај влаге изнад 30%. Зато је пожељно да након првог дана мочеења, зрна имају већи садржај влаге од наведених 30% (Müller и сар., 2015), што је током сладовања обе сорте тритикалеа постигнуто, па је тако влага у тритикалеу сорте НС Паун била 35,33±0,24%, док је у зрнима сорте Одисеј била 33,86±0,40%. Анализом обе сорте тритикалеа, сваког дана сладовања, закључено је да је мочеење било равномерно, уз добро примање влаге, што је веома битан фактор у производњи хомогеног слада. Физички показатељи промена зрна током процеса клијања су омекшало зрно, почетак пробијања коренчића и раст лисне клице испод плевице (Vamforth, 2006), што је уочено и у овој докторској дисертацији. Пре сушења, влага зеленог слада треба да буде 45 - 45,5%, што је и остварено приликом сладовања сорте Одисеј. У току процеса сладовања неизбежни су губици суве материје житарице, при чему прихватљиви губици на дисање износе између 4 - 8% суве материје (Пејин, 2016). Губици оба испитивана узорака тритикалеа била су у прописаном распону, при чему је сорта НС Паун имала губитке на горњој граници (7,97±0,30%). Губици на клицу најчешће износе између 3 и 5% суве материје (Пејин, 2016). Из резултата приказаних у табели 5, примећује се да су обе сорте тритикалеа задовољиле задати критеријум. Влага светлог слада по МЕВАК-у (2011) треба да буде између 3 и 5%. Садржај влаге произведеног слада сорте Одисеј био је у границама прописаног критеријума, док је влага слада сорте НС Паун била већа и износила је 5,14±0,05%.

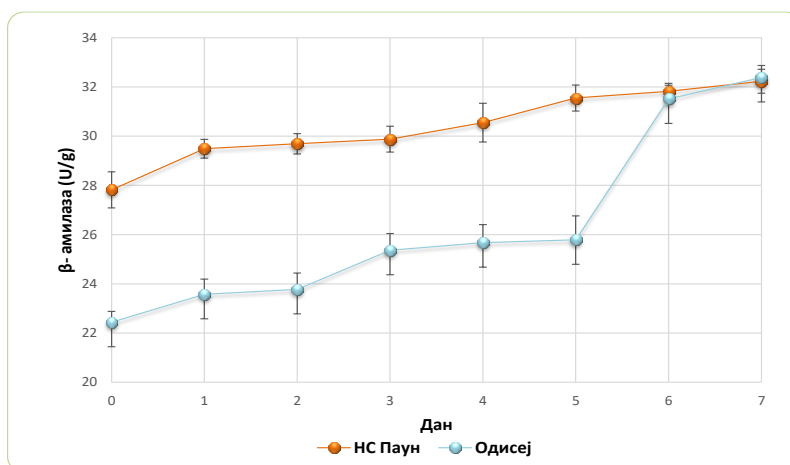
Активност α - и β -амилазе током микросладовања

На Сликама 6 и 7 приказана је активност α - и β -амилазе обе испитиване сорте тритикалеа током процеса микросладовања. Узорковање је вршено сваки дан, у циљу праћења тренда активности ензима.



Слика 6. Активност α -амилазе током микросладовања тритикалеа сорте НС Паун и Одисеј

Активност α -амилазе, која у највећој мери настаје током процеса сладовања, анализирана је током микросладовања. Из графичког приказа (слика 6) може се закључити да је током мочења (1. - 3. дана), активност овог ензима била ниска, односно између 1. и 2. дана мочења скоро непромењена, али уз тренд благог повећавања, што је у складу са истраживањем Müller и сарадника (2015). Сличан тренд раста примећен је у обе испитиване сорте тритикалеа. Значајно повећање активности се примећује током процеса клијања, где је 6. дана сладовања, односно последњег дана клијања, активност α -амилазе за сорту Одисеј била $244,16 \pm 1,02$ U/g и $198,28 \pm 1,91$ U/g за сорту НС Паун.



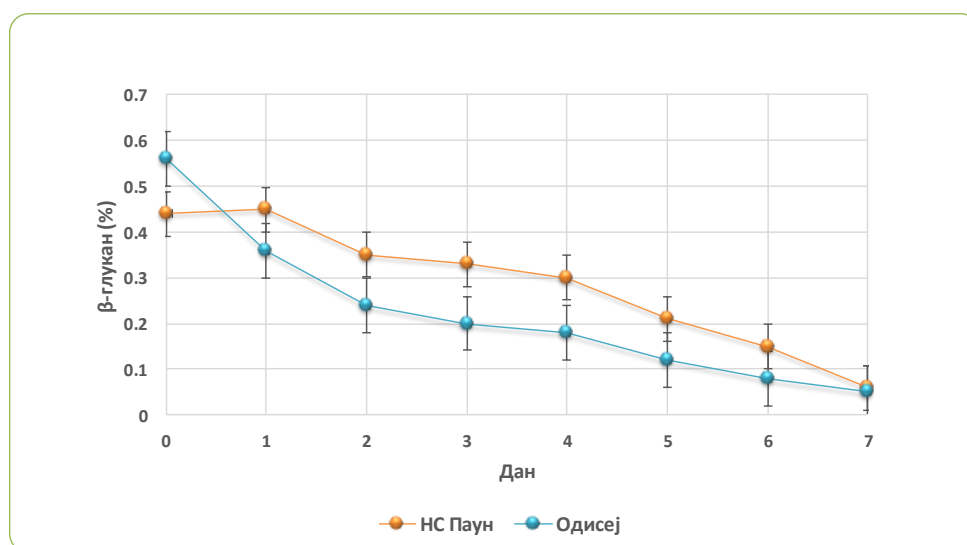
Слика 7. Активност β -амилазе током микросладовања тритикалеа сорте НС Паун и Одисеј

Активност ензима β -амилазе, који је, за разлику од α -амилазе, већ присутан у нативном зрну, али се током процеса сладовања додатно активира, анализирана је током микросладовања. Са графичког приказа (слика 7) видљив је различит тренд активности овог ензима у испитиваним сортама тритикалеа. Наиме, повећање активности у сорти НС Паун било је постепено током целог процеса сладовања, док је код сорте Одисеј видљив значајан пораст између 5. и 6. дана сладовања, односно у фази клијања. Ово се може објаснити појачаном протеолитичком активношћу и ослобађањем β -амилазе у зрну тритикалеа (Bayazitova и сар., 2021). На крају сушења, у сладу, приметна је врло слична активност β -амилазе код обе сорте.

У међусобном поређењу оба амилолитичка ензима, закључује се да се активност α - и β -амилазе код испитиваних сорти тритикалеа повећавала током микросладовања. Сорта НС Паун имала је нижу почетну активност α -амилазе, али већи тренд пораста активности током процеса сладовања. Повећање активности α -амилазе сорте НС Паун била је од почетних $6,31 \pm 0,95$ до $219,66 \pm 1,87$ U/g у сладу, док је сорта Одисеј имала већу почетну активност, али и већу активност у произведеном сладу (од $12,62 \pm 0,23$ до $259,42 \pm 1,25$ U/g). Код обе сорте највећи пораст активности α -амилазе забележен је у фази клијања. Активност β -амилазе се, такође, повећала током сладовања, али у мањој мери. Сорта НС Паун, имала је већу почетну активност β -амилазе у односу на сорту Одисеј. Током сладовања активност се повећала за 1,16 пута и у сладу износила $32,23 \pm 0,49$ U/g. Активност β -амилазе за сорту Одисеј била је повећана за 1,44 пута и у сладу износила $32,39 \pm 0,48$ U/g.

Садржај β -глюкана током микросладовања

Током процеса микросладовања праћен је садржај β -глюкана, приказан на Слици 8. Узорковање је вршено сваки дан, у циљу праћења тренда садржаја β -глюкана.



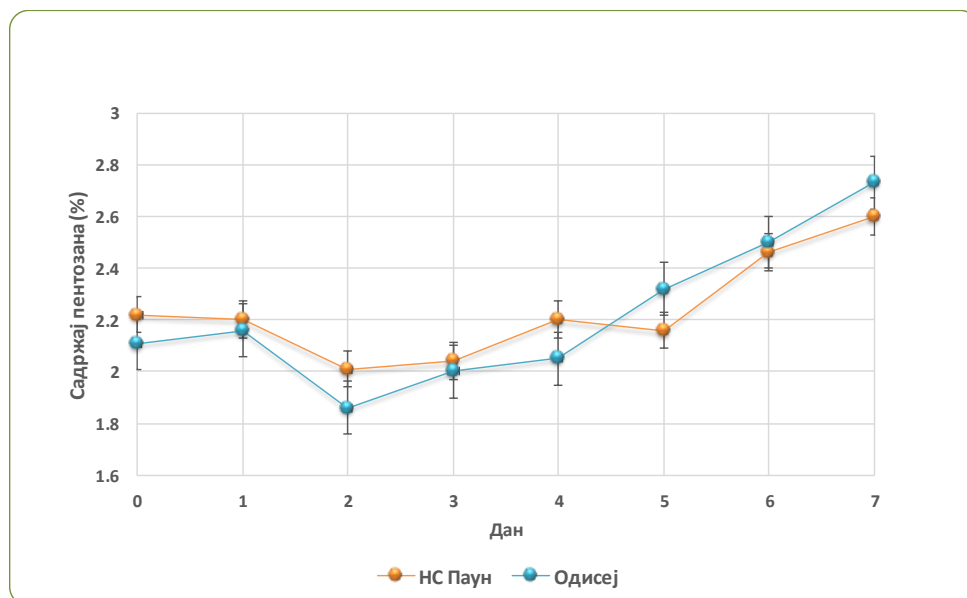
Слика 8. Садржај β -глюкана током микросладовања тритикалеа сорте НС Паун и Одисеј

Као што се може запазити са слике 8, у испитиваним сортама тритикалеа садржај β -глюкана се, током сладовања, значајно смањило, што указује на високу активност β -глюканазе. Обе сорте тритикалеа имале су сличан почетни и крајњи садржај β -глюкана. Код сорте НС Паун се, током сладовања, садржаја β -глюкана смањило са $0,43 \pm 0,06\%$ на $0,03 \pm 0,01\%$, док се код сорте Одисеј смањило са $0,57 \pm 0,02\%$ на $0,04 \pm 0,02\%$.

Хидролиза β -глюкана започиње већ током прве фазе сладовања - мочења и прве промене се примећују у виду згњеченог слоја између спољашњих омотача зрна и ендосперма (Turner и сар., 2019). У нативном зрну јечма, β -глюканаза присутна је у веома малој количини, те је неопходно сладовати зрна како би се овај ензим активирао. По Vamforth (2006), β -глюканаза се активира тек у процесу клијања, што није био случај у испитиваним сортама тритикалеа у оквиру ове докторске дисертације. Као што се може приметити са слике 8, динамика процеса разградње најприметнија је током првог и другог дана сладовања у узорку сорте Одисеј. До краја процеса сладовања тренд смањења садржаја β -глюкана био је мање интензиван.

Садржај пентозана током микросладовања

Током процеса микросладовања праћен је садржај пентозана, приказан на Слици 9. Узорковање је вршено сваки дан, у циљу праћења тренда садржаја пентозана.



Слика 9. Садржај пентозана током микросладовања тритикалеа сорте НС Паун и Одисеј

Током сладовања, односно током процеса клијања, разградња пентозана је делимична. Као потенцијално објашњење намеће се чињеница да ензими, који разграђују пентозане, примарно разграђују алеуронски слој, те су ограничени дужином процеса сладовања, јер до ћелијског зида ендосперма ови ензими дођу касно (Vamforth, 2006).

Обе испитиване сорте тритикалеа показале су сличан тренд садржаја пентозана током микросладовања. Након другог дана мочења приметан је пораст садржаја пентозана, да би се ово повећање интензивирало током фазе клијања. У истраживању Krahl и сарадника (2009) запажен је сличан тренд, односно почетак процеса клијања представља и почетак пораста садржаја пентозана у зрну тритикалеа. Повећање садржаја пентозана у узорку сорте НС Паун, током сладовања, било је 30,6% и у сладу је износило $2,62 \pm 0,03\%$, док је за сорти Одисеј повећање било 18,5% и у сладу је износило $2,77 \pm 0,04\%$.

4.1.3. Анализа слада тритикалеа

У оквиру докторске дисертације испитиване су две сорте слада тритикалеа, произведене у процесу микросладовања, чији су резултати механичке анализе приказани у Табели 6. Такође, анализиран је и јечмени слад, који ће се даље користити у оквиру докторске дисертације и са којим су поређене испитиване сорте тритикалеа.

Табела 6. Механичка анализа слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј у поређењу са јечменим сладом

Параметар	Јечмени слад	НС Паун	Одисеј
Маса хиљаду зрна (g s.m.*)	$36,44 \pm 0,12$	$33,40 \pm 0,20$	$31,36 \pm 0,21$
Хектолитарска маса (kg)	$56,02 \pm 0,02$	$55,0 \pm 0,10$	$51,3 \pm 0,10$
Просечна стакластост (%)	0	$0,54 \pm 0,64$	$1,34 \pm 0,44$
Садржај протеина	$10,12 \pm 0,88$	$11,01 \pm 0,55$	$12,02 \pm 0,60$

* g s.m. – грама суве материје

Прописан критеријум за масу 1000 зрна јечменог слада је 25 - 35 g суве материје. Што је маса 1000 зрна мања, слад је боље разграђен (Пејин, 2016). Добијени резултати показују да је испитивани слад тритикалеа показао вредност у оквиру прописаног критеријума, где је нижу масу 1000 зрна имала сорта Одисеј ($31,36 \pm 0,21$ g) у односу на сорту НС Паун ($33,40 \pm 0,20$ g). Обе сорте имале су ниже вредности од јечменог слада.

Хектолитарска маса јечменог слада износи од 48 до 60 kg (МЕВАК, 2011). Добро разграђен и пажљиво осушен слад не би требало да има хектолитарску масу већу од 55 kg. Вредности хектолитарске масе се повећавају када слад има повећан садржај влаге или ако је оштро полиран (Пејин, 2016). Хектолитарска маса може служити и за процену потребног простора за транспорт и складиштење зрна (МЕВАК, 2011). Из резултата приказаних у табели 6 примећује се да су обе сорте тритикалеа задовољиле задати критеријум, уз напомену да је сорта НС Паун имала вредност овог параметра на горњој граници ($55,0 \pm 0,10$ kg). Јечмени слад је показао повишену вредност овог параметра - $56,02 \pm 0,02$ kg.

Просечна стакластост јечменог слада може се користити као критеријум разграђености слада. Што је вредност стакластости нижа, тим је јача разграђеност слада. Уобичајене вредности просечне стакластости добро разграђеног слада износе

до 2%, односно брашњава зрна треба да буду заступљена више од 95% (МЕВАК, 2011). Обе испитиване сорте тритикалеа су имале стакластост нижу од 2%, што указује на уједначеност разградње ендосперма, као и на адекватне услове сушења. Јечмени слад имао је 100% брашњава зрна у пресеку.

Садржај протеина у јечменом сладу је око 0,5% нижи у односу на полазни јечам. Сматра се да је садржај протеина код квалитетног слада испод 10,8% (Пејин, 2016). Из табеле 6 примећује се да је садржај протеина у јечменом сладу био испод прописане границе, док је код испитиваног слада тритикалеа обе сорте био повишен, али ипак нижи од садржаја протеина у нативном зрну (табела 4).

У оквиру докторске дисертације вршена је хемијска анализа произведеног слада тритикалеа, поређеног са јечменим сладом, чији су резултати приказани у Табели 7.

Табела 7. Хемијска анализа слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј у поређењу са јечменим сладом

Параметар	Јечмени слад	НС Паун	Одисеј
Екстракт fino млевеног слада (% s.m.*)	79,35±0,05	88,03±0,10	84,00±0,10
✓ Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10
✓ Брзина филтрације (минута)	13	34	58
✓ Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Слабо опална
✓ Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,5±0,22	8,4±0,95	9,9±0,35
✓ рН сладовине	5,83±0,02	5,79±0,05	5,76±0,05
✓ Растворљиви азот (% s.m.*)	0,66±0,20	1,12±0,30	1,21±0,34
✓ Вискозност (mPa·s, 8.6%е)	1,585±0,15	1,616±0,20	1,995±0,20
Екстракт грубо млевеног слада (% s.m.*)	78,77±0,10	87,08±0,05	83,63±0,02
Разлика екстракта (% s.m.*)	0,58±0,0	0,95±0,0	0,37±0,0
Kolbach-ов број (%)	40,68±0,55	61,54±0,45	63,35±0,12
Релативни екстракт на 45 °C (%)	34,81±1,02	59,59±0,88	59,00±0,70
Дијастатска снага (°WK)	588±0,12	810±0,15	682±0,10
Садржај полифенола (mg/l)	180,20±0,15	205,02±0,01	191,18±0,10

* % s.m - % суве материје

Екстракт fino млевеног слада један је од основних економских критеријума квалитета слада. Све што под дејством комплекса ензима слада, под прецизно дефинисаним условима, прелази у раствор назива се екстракт (Пејин, 2016). Садржај екстракта fino млевеног светлог слада треба да буде најмање 79% суве материје. Метода одређивања екстракта назива се „конгресна метода“ (МЕВАК, 2011). Сматра се да је слад бољег квалитета уколико је садржај екстракта виши (Лескошек - Чукаловић, 2002). Осим овога, садржај екстракта зависи и од сорте јечма, услова током сазревања, производне области и поступка сладовања (Briggs и сар., 2004). На основу добијених резултата, може се закључити да су испитивани узорци слада тритикалеа задовољили задати критеријум и имали знатно више вредности у односу на прописани критеријум: сорта НС Паун - 88,03±0,10% и сорта Одисеј - 84,00±0,10%. Јечмени слад је, такође, показао вредност овог параметра вишу од граничне вредности (79,35±0,05%).

Време ошећерења један је од параметара квалитета сладовине који се одређује упоредо са одређивањем екстракта финог млевеног слада. Време ошећерења даје увид у активност амилолитичких ензима слада, односно у разграђеност ендосперма, тј. доступност скроба присутним ензимима (Лескошек - Чукаловић, 2002). За светли слад износи до 15 минута (МЕБАК, 2011). Оба испитивана слада тритикалеа, као и јечмени слад показали су одговарајуће време ошећерења, које је било мање од 10 минута, што указује на добру амилолитичку разградњу.

Брзина филтрације указује на евентуалне потешкоће које се могу јавити током цеђења комине у варионици. Уколико се филтрација заврши за мање од једног сата, означава се као „нормална“, а уколико износи дуже од сат времена означава се као „спора“. Спора филтрација указује на лошу цитолитичку разградњу (Пејин, 2016). Брзина филтрације свих испитиваних сладовина произведених из узорак тритикалеа и јечменог слада била је мања од 60 минута. Најдуже време филтрације имала је сладовина сорте Одисеј (58 минута).

Бистрина конгресне сладовине зависи од сорте јечма, поступка сладовања итд. (Briggs и сар., 2004). Сладовине произведене од испитиваног слада тритикалеа сорте НС Паун, као и јечменог слада, биле су бистре, што је знак добре разграђености слада и одговарајућег поступка сушења. Сладовина произведена од слада сорте Одисеј била је слабо опална, што указује на повећану протеолитичку активност (Рећа, 2004; Munoz-Insa и сар., 2016).

Боја сладовине одређује се у ЕВС јединицама, а по МЕБАК-у (2011) за светли слад треба да износи највише 4,0 ЕВС јединице. Из резултата приказаних у табели 7 примећује се да је само сладовина произведена из јечменог слада задовољила прописани критеријум, док су сладовине произведене из обе сорте тритикалеа имале знатно већу вредност овог параметра, односно сорта НС Паун - $8,4 \pm 0,95$ ЕВС јединица и сорта Одисеј - $9,9 \pm 0,35$ ЕВС јединица. С обзиром да тритикале показује већу протеолитичку активност у односу на јечмени слад (Munoz-Insa и сар., 2016), а која доприноси повећању боје, за очекивати је да ће сладовине произведене од тритикалеа имати повећану вредност овог параметра.

рН вредност сладовине варира од 5,6 до 6,0 рН јединица (МЕБАК, 2011). Код врло добро разграђеног слада, рН сладовине је нижа, јер ће такви услови бити повољнији за деловање ензима (Лескошек - Чукаловић, 2002). Оба испитивана узорка слада тритикалеа, као и јечменог слада имала су рН вредност сладовина у оквиру прописаних вредности.

Растворљиви азот обухвата једињења са азотом која прелазе у конгресну сладовину у току комљења под тачно дефинисаним условима. Одређује се упаравањем сладовине и одређивањем садржаја азота методом по Kjeldahl-у. Садржај растворљивог азота најчешће износи 0,55 и 0,75% суве материје (Лескошек - Чукаловић, 2002). Из табеле 7 примећује се да је само јечмени слад одговарао задатом опсегу, док су вредности овог параметра у сладовинама произведеним од тритикалеа

биле знатно више, што је, опет, потврда већ раније споменуте појачане протеолитичке активности тритикалеа у односу на друге житарице (Ређа, 2004). Већа вредност овог параметра је остварена у узорку слада тритикалеа Одисеј ($1,21 \pm 0,34\%$) у односу на сорту НС Паун ($1,12 \pm 0,30\%$).

Вискозност конгресне сладовине варира у границама од 1,45 до 1,60 mPa·s и указује на активност цитолитичких ензима, нарочито β -глюканазе (МЕВАК, 2011). Сматра се да ће слад проузроковати мање проблема током филтрације уколико је вредност овог параметра у прописаним границама (Лескошек - Чукаловић, 2002). Обе испитиване сладовине тритикалеа имале су вредности веће од прописаног критеријума, што је иначе карактеристика сладовина произведених од тритикалеа (Ређа, 2004; Munoz-Insa и сар., 2016). Сорта Одисеј имала је већу вредност овог параметра у односу на сорту НС Паун и износила је $1,995 \pm 0,20$ mPa·s. С обзиром да је анализа β -глюкана током микросладовања (поглавље 4.1.2.) показала тренд опадања, као и врло ниске вредности у произведеном сладу, може се закључити да повећаној вискозности сладовина доприносе пентозани присутни у зрну тритикалеа. Испитивани јечмени слад имао је вискозност у оквиру задатог критеријума ($1,585 \pm 0,15$ mPa·s).

Разлика екстракта фино и грубо млевеног слада се, такође, користи као критеријум за оцену цитолитичке разграђености слада. Код добро разграђеног слада разлика фино и грубо млевеног слада је мала, јер степен уситњавања има мањи утицај на екстраховање компоненти зрна у водени раствор. Према Briggs и сарадницима (2004) вредност разлике екстракта фино и грубо млевеног светлог слада треба да буде нижа од 2%. Оба испитивана узорка слада тритикалеа задовољавају задати критеријум, што указује на чињеницу да је мочење обављено до одговарајућег степена намочености и да је клијање довољно дуго трајало. Такође, и разлика екстракта јечменог слада била је у прописаној граници.

Kolbach-ов број показатељ је протеолитичке разграђености слада и представља процентуални удео растворљивог азота (који је прешао у сладовину под условима дефинисаним конгресном методом) у укупном азоту слада. Сматра се да је слад боље разграђен уколико је вредност овог параметра већа (Лескошек - Чукаловић, 2002). Према МЕВАК-у (2011), вредност Kolbach-овог броја, за светли слад, треба да буде између 35 и 45%. Испитивани узорак јечменог слада одговара овом критеријуму ($40,68 \pm 0,55\%$), док су вредности Kolbach-овог броја обе испитиване сорте тритикалеа биле значајно веће, односно износиле су $61,54 \pm 0,45\%$ (сорта НС Паун) и $63,35 \pm 0,12\%$ (сорта Одисеј), што је, такође, потврда повећане протеолитичке разградње.

Релативни екстракт на 45 °C указује на активност протеолитичких и других ензима (осим α -амилазе), где је стандардна вредност 36%. Мада, када се у производњи сладовине користе несладоване житарице, тежи се и вишим вредностима - од 38 до 40%. Испитивани узорак јечменог слада показао је нижу вредност овог параметра, која је износила $34,81 \pm 1,02\%$. Обе сорте тритикалеа имале су повишену и веома сличну вредност: сорта НС Паун - $59,59 \pm 0,88\%$ и Одисеј - $59,00 \pm 0,70\%$.

Дијастатска снага слада - хидролиза скроба до ферментабилних шећера, које квасац може да асимилује и метаболише у етанол, вероватно је најважнији процес у производњи пива. Сходно томе, екстракт сладовине и степен ферментабилности тог екстракта, осликавају квалитет слада. Као процена степена ферментабилности често се користи дијастатска снага слада. Уопштено говорећи, дијастатска снага подразумева процену ензимског потенцијала слада, који укључује следеће ензиме: β -амилазу, α -амилазу и граничну декстриназу. Активност ензима дијастатске снаге своди се на следеће: α -амилаза отцепљује α -1,4 везе са крајева молекула скроба, у циљу настајања олигосахарида и декстрина. Затим, β -амилаза отцепљује β -1,4 везе са нередукјујућих крајева амилозе, амилопектина и декстрина при чему се одваја молекул малтозе. Гранична декстриназа хидролизује α -1,6 везе, које не могу да разграде ни α - ни β -амилаза, како би уклонила места гранања у амилопектину. α -глукозидаза примарно отцепљује α -1,4 везе са нередукјујућег краја молекула у циљу настајања глукозе. Сви наведени ензими раде у синергији како би произведена сладовина садржала задовољавајућу количину ферментабилних шећера, од којих, углавном, највећу количину чини малтоза (65,4%), малтотриоза (17,6%), хексоза (глукоза и фуктоза - 11,2%) и сахароза (5,1%) (Evans и сар., 2005). Дакле, анализом дијастатске снаге одређује се ензимска активност слада, углавном β -амилазе, али и α -амилазе, као и његова способност да разграђује скроб у току комљења. Дијастатска снага се одређује на основу мерења количине малтозе која се добија разградњом скроба уз помоћ екстракта слада под тачно дефинисаним условима. Као што је напоменуто у поглављу 4.1.1., стандардне вредности за светли слад су 240-260°WK, а за тамни 150-170°WK (Пејин, 2016). У МЕВАК (2011) може се наћи податак да у сладу вредност овог параметра варира између 220-600°WK. Испитивани слад тритикалеа, као и јечмени слад показали су вредности знатно веће од прописаног критеријума, па је тако највећа вредност запажена у сладу сорте НС Паун - 810±0,15°WK, док је у сорти Одисеј била 682±0,10°WK.

Садржај полифенола - полифеноли слада се делимично или потпуно растварају током комљења, углавном, оксидативним реакцијама у којима је катализатор пероксидаза. На садржај полифенола значајно утиче температура сушења зеленог слада током процеса сладовања, али и доступност кисеоника током комљења, као и одабрани температурни режим комљења. Током комљења на повишеним температурама, екстрахује се више полифенола у сладовину (Briggs и сар., 2004). Обе испитиване сорте тритикалеа имале су већи садржај полифенола у односу на сладовину произведену из јечменог слада, при чему је сорта НС Паун имала већи садржај (205,02±0,01mg/l) у односу на сорту Одисеј (191,18±0,10mg/l).

4.2. Анализа произведених сладовина – фаза 2

Друга фаза истраживања обухватала је анализе сладовина произведених од нативног тритикалеа, као и слада тритикалеа обе испитиване сорте у различитим уделитема у успику. Такође, праћени су утицаји додатка комерцијалног ензима, као и модификованог режима комљења на испитиване параметре квалитета произведених сладовина. Сви експерименти изведени су у три понављања, а резултати су изражени као аритметичка средина \pm стандардна девијација.



Све сладовине су поређене са сладовином произведеном из јечменог слада, чији се резултати анализе налазе у Табели 8.

Табела 8. Резултати анализе сладовине произведене из јечменог слада

Параметар	Јечмени слад
Екстракт сладовине (g/100g)	8,57 \pm 0,01
Време ошећерења (минута)	<10
Брзина филтрације (минута)	13
Бистрина сладовине	Бистра
Боја сладовине (EBC јединица)	3,5 \pm 0,22
pH сладовине	5,83 \pm 0,02
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,66 \pm 0,20
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	147,97 \pm 0,02
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,585 \pm 0,15
Садржај полифенола (mg/l)	180,20 \pm 0,15

4.2.1. Анализа сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа – фаза 2.1

У оквиру докторске дисертације произведене су сладовине од нативног тритикалеа, као и од слада тритикалеа у различитим уделима у усипку - 10, 30, 50 и 70%, у циљу процене квалитета тритикалеа као потенцијалне замене јечменог слада у производњи пива. Наведени удели одабрани су на основу рада Glatthar и сарадника (2004), где је највећи удео тритикалеа у усипку, у производњи сладовине, био 70%.

У фази 2.1, сладовине су произведене конгресном методом - стандардним поступком комљења (МЕВАК, 2011), при чему се процентуални удео тритикалеа у усипку израчунавао на основу масе, а остатак је чинио јечмени слад.

4.2.1.1. Сладовине произведене од нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

У табели 9 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 9. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,49±0,02	8,43±0,01	8,40±0,01	8,29±0,01	8,47±0,02	8,41±0,02	8,37±0,01	8,26±0,01
Време ошећерења (минута)	<10	10-15	15-20	15-20	<10	10-15	15-20	>60
Брзина филтрације (минута)	15	19	32	52	35	40	45	>60
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Слабо опална	Бистра	Слабо опална	Слабо опална	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,5±0,15	4,1±0,12	3,9±0,10	5,0±0,14	4,0±0,15	4,0±0,10	4,2±0,10	4,3±0,10
рН сладовине	5,80±0,09	5,89±0,10	5,96±0,10	5,98±0,12	5,81±0,05	5,88±0,05	5,96±0,10	6,04±0,10
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,73±0,18	0,72±0,15	0,66±0,25	0,61±0,10	0,73±0,10	0,68±0,15	0,66±0,15	0,60±0,20
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	129,41±0,02	89,79±0,01	80,75±0,01	64,11±0,02	120,76±0,02	79,09±0,01	75,67±0,05	56,02±0,03
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,627±0,10	1,665±0,10	1,756±0,12	1,764±0,05	1,640±0,10	1,740±0,10	1,899±0,10	2,215±0,10
Садржај полифенола (mg/l)	171,12±0,05	163,33±0,10	154,20±0,10	133,88±0,02	175,22±0,10	170,18±0,10	161,23±0,20	123,74±0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине смањивао се са порастом удела нативног тритикалеа обе испитиване сорте у усипку. Највећи екстракт одређен је у сладовини произведеној из

10% тритикалеа сорте Одисеј ($8,49 \pm 0,02$ g/100g). Сви испитивани удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј имали су нижи екстракт сладовине у односу на јечмени слад ($8,57 \pm 0,01$ g/100g). Такође, у поређењу са резултатима садржаја екстракта нативног тритикалеа сорте НС Паун, закључује се да је нативни тритикале сорте Одисеј у уделима од 30 - 70% имао нижу вредност екстракта.

Време ошећерења се, са повећањем удела тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, продужавало. До 30% удела у усипку, у обе испитиване сорте, било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима. Најдуже време ошећерења одређено је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 50%, док се сладовина, произведена од 70% нативног тритикалеа сорте Одисеј, током комљења није ошећерила, што указује на ниску активност амилолитичких ензима.

Брзина филтрације била је прихватљива у свим испитиваним уделима нативног тритикалеа сорте НС Паун, односно филтрација је трајала краће од 60 минута, те се означава као „нормална“. У уделима нативног тритикалеа сорте Одисеј од 10% до 50%, филтрација је била краћа од 60 минута, те се означава као „нормална“. Филтрација узорка сладовине са уделом тритикалеа од 70% сорте Одисеј трајала је дуже од 60 минута, те се означава као „спора“, што указује на недовољну цитолитичку разградњу. Такође, приметно је и постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа обе сорте у усипку.

Бистрина сладовине - сладовина произведена од јечменог слада, као и сладовине са уделима тритикалеа од 10% до 50% у усипку сорте НС Паун и 10% удела тритикалеа сорте Одисеј, биле су бистре, што указује на добру разграђеност коришћених сировина. Сладовина произведена од 70% тритикалеа сорте НС Паун, као и сладовине испитиваних удела од 50 и 70% сорте Одисеј, биле су слабо опалне или мутне, што указује на слабију разграђеност коришћених сировина, али и на повећан садржај протеина, што потврђују резултати приказани у табели 6.

Боја сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа сорте НС Паун повећавала и износила од почетних $3,5 \pm 0,15$ ЕВС јединице у уделу од 10% до $5,0 \pm 0,14$ ЕВС јединица у уделу од 70%. Како је по МЕВАК-у (2011) боја светлог слада до 4,0 ЕВС јединице, сладовина произведена из удела од 70% тритикалеа сорте НС Паун погодна је за производњу тамног пива. Боја сладовина сорте Одисеј била је константна код испитиваних удела 10 и 30%. Наведене сладовине су погодне за производњу светлих пива, јер задовољавају критеријум по МЕВАК-у (2011). У односу на сладовину јечменог слада, сви испитивани узорци нативног тритикалеа сорте Одисеј имали су већу боју сладовине.

рН вредност сладовине била је у константном порасту са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку. Највиша вредност остварена је у уделу од 70% тритикалеа сорте Одисеј ($6,04 \pm 0,10$), што је благо повишено у односу на прописани стандард по МЕВАК-у (2011), где су стандардне вредности од 5,6 до 6 рН

јединица. Одлика квалитетне сладовине је нижа рН вредност, јер су услови ниже рН вредности погоднији за деловање ензима (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Растворљиви азот - са повећањем удела тритикалеа обе сорте у усипку, концентрација растворљивог азота у сладовини се смањивала. Све испитиване сладовине, обе сорте, укључујући и сладовину од јечменог слада, задовољиле су стандардне вредности прописане за сладовине произведене од светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002). Најнижи садржај растворљивог азота, одређен је у сладовини произведеној из удела од 70% тритикалеа сорте Одисеј (0,60±0,20% суве материје).

Садржај слободног аминок азота – сматра се за један од најзначајнијих параметара, који може да предвиди одрживост процеса ферментације, раст квасца, као и саму ефикасност ферментације. Проблем настаје када најчешће коришћени сурогати, који обично смањују садржај слободног аминок азота у сладовини, негативно утичу на метаболизам ћелије квасца (Puligundla и сар., 2020; Black и сар., 2021). Међутим, постоји неколико примера одступања од овог правила, јер поједине несладоване сировине, међу којима је и тритикалеа, могу да обезбеде знатне количине слободног аминок азота које неће ограничити раст и развој квасца, нити успорити његов метаболизам (Кок и сар., 2019; Cadenas и сар., 2021). Према Davies (2006), потребан садржај слободног аминок азота не би требао да буде испод 140 mg/l, како би се осигурала успешна ферментација. Пиварска аналитика - МЕВАК (2011), прописује нешто шири опсег овог параметра, те је пожељни садржај слободног аминок азота у сладовини између 110 и 180 mg/l.

Из резултата датих у табели 9 примећује се да су само сладовине произведене из удела тритикалеа од 10%, у обе испитиване сорте, имале садржај слободног аминок азота виши од 110 mg/l. Све испитиване сладовине тритикалеа, обе сорте, имале су нижи садржај овог параметра у односу на сладовину произведену од јечменог слада (147,97±0,02 mg/l). Такође, приметано је и опадање садржаја слободног аминок азота са повећањем удела тритикалеа у усипку. Слично је запажено и у истраживањима Agu (2002) и Yorke и сарадника (2021), где се са повећањем удела несладованих сировина у усипку, попут јечма, кукуруза, пшенице, пиринча и сирка, смањивао садржај слободног аминок азота. У поређењу са резултатима сладовина нативног тритикалеа сорте НС Паун, примећује се да је сорта Одисеј имала нижи садржај слободног аминок азота у свим испитиваним уделима.

Вискозност сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку повећавала, што је у складу са истраживањем Glatthar и сарадника (2004), у ком се, такође, са повећањем удела озимог, нативног тритикалеа у усипку, повећавала вредност овог параметра. Највећа вискозност сорте НС Паун одређена је у сладовини са уделом тритикалеа од 70% (1,764±0,05 mPas). Све анализиране сладовине имале су вредност овог параметра већу од сладовине произведене из јечменог слада, али и већу од прописане границе по МЕВАК-у (2011) - 1,45 до 1,60 mPa·s. Највећа вискозност одређена је код сладовине са уделом

тритикалеа од 70% сорте Одисеј ($2,215 \pm 0,10$ mPa·s). Анализом сладовина произведених из 50 и 70% удела нативног тритикалеа у усипку, Glatthar и сарадници (2004) добили су ниже вредности (50% - $1,92$ mPa·s и 70% - $1,89$ mPa·s), у поређењу са сладовинама произведеним из сорте Одисеј.

Садржај полифенола смањивао се са повећањем тритикалеа у усипку. Слично запажање нађено је и у истраживању Kunz и сарадници (2011), где се као несладована сировина у усипку користио јечам. Највећи садржај полифенола имала је сладовина сорте Одисеј, удела 10% - $175,22 \pm 0,10$ mg/l, који је, ипак, био мањи од оног у контролном узорку – сладовини произведеној из јечменог слада.

4.2.1.2. Сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

У Табели 10 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 10. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	$8,75 \pm 0,02$	$8,76 \pm 0,03$	$8,79 \pm 0,02$	$8,89 \pm 0,02$	$8,67 \pm 0,02$	$8,69 \pm 0,05$	$8,71 \pm 0,01$	$8,78 \pm 0,02$
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	32	41	55	57	42	50	58	>60
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Слабо опална	Мутна	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	$3,5 \pm 0,10$	$4,1 \pm 0,12$	$4,6 \pm 0,15$	$4,6 \pm 0,10$	$4,0 \pm 0,15$	$4,55 \pm 0,10$	$5,4 \pm 0,10$	$6,0 \pm 0,10$
рН сладовине	$6,03 \pm 0,10$	$6,07 \pm 0,12$	$6,10 \pm 0,15$	$6,15 \pm 0,05$	$6,03 \pm 0,05$	$6,11 \pm 0,05$	$6,14 \pm 0,05$	$6,16 \pm 0,10$
Растворљиви азот (% s.m.*)	$0,62 \pm 0,20$	$0,78 \pm 0,15$	$0,78 \pm 0,12$	$0,92 \pm 0,12$	$0,65 \pm 0,10$	$0,75 \pm 0,15$	$0,80 \pm 0,15$	$1,01 \pm 0,15$
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	$130,96 \pm 0,01$	$138,79 \pm 0,01$	$147,98 \pm 0,02$	$156,11 \pm 0,02$	$125,81 \pm 0,02$	$127,29 \pm 0,05$	$130,49 \pm 0,02$	$142,91 \pm 0,01$
Вискозност (mPas, 8.6%e)	$1,532 \pm 0,05$	$1,589 \pm 0,10$	$1,607 \pm 0,12$	$1,754 \pm 0,10$	$1,564 \pm 0,15$	$1,646 \pm 0,05$	$1,677 \pm 0,12$	$1,832 \pm 0,10$
Садржај полифенола (mg/l)	$175,88 \pm 0,05$	$177,37 \pm 0,15$	$186,22 \pm 0,10$	$192,80 \pm 0,01$	$173,56 \pm 0,10$	$179,15 \pm 0,10$	$181,33 \pm 0,10$	$188,41 \pm 0,10$

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа обе испитиване сорте тритикалеа у усипку. Најнижи садржај екстракта, сорте НС Паун, имала је сладовина произведена из 10% удела у усипку - $8,75 \pm 0,02$ g/100g, док је у сорти Одисеј најнижа вредност одређена у сладовини са истим уделом и износила је

8,67±0,02 g/100g. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 70% удела тритикалеа сорте НС Паун (8,89±0,02 g/100g). Чак и најнижи садржај екстракта сладовине произведене из слада тритикалеа, био је већи од садржаја екстракта у сладовини произведеној из јечменог слада (8,57±0,01 g/100g). Садржаји екстракта свих испитиваних сладовина произведених од слада сорте Одисеј били су нижи у поређењу са истим уделима слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку.

Време ошећерења, за разлику од сладовина произведених од обе сорте нативног тритикалеа (табела 9), није се повећавало са повећањем удела слада тритикалеа. Износило је 10 минута у свим анализираним сладовинама, што је знак добре разграђености ендосперма (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима слада тритикалеа сорте НС Паун, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. У уделима слада тритикалеа сорте Одисеј, од 10, 30 и 50%, такође је трајала краће од 60 минута, док је филтрација узорка сладовине са уделом тритикалеа од 70%, трајала дужи од 60 минута, те се означава као „спора“. Сладовине које се филтрирају дужи од 60 минута потенцијално стварају потешкоће у варионици приликом цеђења комине и указују на недовољну цитолитичку разградњу (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Бистрина сладовине - сладовине произведене из испитиваних удела 10 – 50% тритикалеа сорте НС Паун и 10% сорте Одисеј биле су бистре, што указује на добру разграђеност слада наведених сладовина.

Боја сладовине се са повећањем удела слада тритикалеа, обе сорте, повећавала. Због повећане боје, сладовине произведене из сорте НС Паун удела 50 и 70%, као и свих удела сорте Одисеј, биле би погодне за производњу тамних пива. У односу на сладовину произведену од јечменог слада (3,5±0,10 ЕВС јединице), боја свих анализираних сладовина сорте Одисеј била је повишена.

рН сладовине се повећавала са порастом удела слада обе сорте тритикалеа. Највиша вредност је остварена у уделу од 70% слада сорте Одисеј (6,16±0,10). Као и у сладовинама произведеним из слада сорте НС Паун, тако су и сладовине произведене из слада сорте Одисеј имале више вредности овог параметра од прописаних по МЕВАК-у (2011) – до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот се повећавао са повећавањем удела слада тритикалеа обе сорте тритикалеа у усипку. Само је удео слада тритикалеа од 10% сорте НС Паун, као и 10 и 30% слада сорте Одисеј, имао садржај растворљивог азота који је одговарао прописаном критеријуму (од 0,55 до 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002). Сладовине произведене од обе сорте слада тритикалеа у уделу од 10% имале су нижи садржај растворљивог азота у односу на сладовину произведену из јечменог слада (0,66±0,20% суве материје).

Садржај слободног аминок азота - из резултата табеле 10 примећује се пораст садржаја слободног аминок азота са повећањем удела тритикалеа обе сорте у усипку. Сладовине произведене из свих испитиваних удела имале су садржај слободног аминок азота у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) – од 110 до 180 mg/l. Удели сорте НС

Паун од 50 и 70% у усипку имали су већи садржај овог параметра у односу на сладовину произведену из јечменог слада. Такође, испунили су и услов да сладовина мора да садржи најмање 140 mg/l слободног аминок азота како би се осигурала успешна ферментација (Davies, 2006). У поређењу са резултатима нативног тритикалеа обе сорте (табела 9), приметан је значајно већи садржај слободног аминок азота, што се и подразумева, с обзиром да су зрна слада тритикалеа разграђена, самим тим су подложнија деловању ензима. Удео од 50% слада тритикалеа сорте НС Паун имао је сличан садржај као сладовина произведена из јечменог слада ($147,97 \pm 0,02$ mg/l), што је у корелацији са резултатима добијеним у истраживању Cioch-Skopieczny (2019). Добијени резултати садржаја слободног аминок азота сорте Одисеј били су нижи од резултата сладовине произведене из јечменог слада. Само је удео од 70% испунио услов да сладовина мора да има најмање 140 mg/l слободног аминок азота како би се осигурала успешна ферментација.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте у усипку, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са највећим уделом тритикалеа сорте Одисеј - 70% ($1,832 \pm 0,10$ mPa·s).

Садржај полифенола - за разлику од сладовина произведених од нативног тритикалеа, у случају примене слада у усипку, примећен је пораст садржаја полифенола са повећањем удела тритикалеа. Највећи садржај имала је сладовина сорте НС Паун, 70% удела - $192,80 \pm 0,01$ mg/l.

4.2.2. Анализа сладовина произведених од нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима – фаза 2.2

Када се у производњи пива користи слад лошијег квалитета или се употребљавају велике количине несладованих сировина у усипку, додавање комерцијалних ензима је неопходност. Како је повећана вискозност сладовине чест случај када се користе несладоване сировине, што се неретко налази и као податак у литератури везаној за употребу тритикалеа у производњи пива (поглавље 2.3.2.), било је за очекивати да ће то бити случај и у овој докторској дисертацији. У резултатима анализа нативног тритикалеа (табела 9), примећује се да су сладовине обе сорте, у свим испитиваним уделима, имале повећану вискозност, која је превазилазила прописану границу по МЕВАК-у (2011). Такође, сладовине произведене из слада обе сорте тритикалеа су само делимично задовољиле прописани критеријум, односно вискозност је била прихватљива само у уделима слада тритикалеа од 10 и 30% у сорти НС Паун и 10% у сорти Одисеј. Из тог разлога, у оквиру докторске дисертације коришћен је комерцијални ензим Shearzyme 500L, у циљу смањења вискозности произведених сладовина.

На самом почетку експеримената додато је 50μl ензима по чаши за комљење, према препоруци произвођача. Међутим, наведена концентрација ензима значајно је

смањила вискозност сладовина, која је, на овај начин, била нижа чак и од прописаних вредности по МЕВАК-у (2011), што је приказано у табелама 11 и 14. Из тог разлога, у даљим експериментима оптимизирана је количина ензима, односно била је смањена како би се постигла адекватна вискозност сладовина, али и како би се смањили укупни трошкови производње сладовина. Осим 50 μ l, урађени су експерименти са додатком 10 μ l ензима, да би коначна количина била 5 μ l. Наведене количине ензима додате су на почетку процеса комљења. У овој фази, сладовине су произведене из различитих удела нативног, као и слада тритикалеа - 10%, 30%, 50% и 70%. Укомљавање је вршено по Конгресној методи.

4.2.2.1. Сладовине произведене из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима

У Табели 11 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 11. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,38 \pm 0,01	8,32 \pm 0,02	8,32 \pm 0,03	8,14 \pm 0,02	8,33 \pm 0,05	8,24 \pm 0,05	8,23 \pm 0,01	8,22 \pm 0,01
Време ошећерења (минута)	<10	10-15	20-25	>60	<10	10-15	20-25	>60
Брзина филтрације (минута)	12	14	17	18	13	13	17	22
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,20 \pm 0,10	2,4 \pm 0,10	2,1 \pm 0,10	2,0 \pm 0,10	3,7 \pm 0,10	3,5 \pm 0,12	2,0 \pm 0,10	2,0 \pm 0,15
рН сладовине	5,68 \pm 0,10	5,80 \pm 0,10	5,82 \pm 0,12	5,97 \pm 0,15	5,68 \pm 0,10	5,82 \pm 0,05	5,82 \pm 0,05	6,04 \pm 0,10
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,69 \pm 0,18	0,70 \pm 0,16	0,65 \pm 0,15	0,70 \pm 0,18	0,71 \pm 0,12	0,66 \pm 0,20	0,66 \pm 0,20	0,54 \pm 0,12
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	148,15 \pm 0,01	107,11 \pm 0,05	93,09 \pm 0,01	77,24 \pm 0,05	139,98 \pm 0,01	104,63 \pm 0,01	77,96 \pm 0,01	74,63 \pm 0,01
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,385 \pm 0,10	1,399 \pm 0,10	1,460 \pm 0,12	1,491 \pm 0,15	1,387 \pm 0,12	1,399 \pm 0,15	1,460 \pm 0,10	1,494 \pm 0,10
Садржај полифенола (mg/l)	183,10 \pm 0,01	171,89 \pm 0,10	171,07 \pm 0,05	152,12 \pm 0,05	180,44 \pm 0,10	179,30 \pm 0,20	170,19 \pm 0,10	143,06 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине се смањивао са порастом удела нативног тритикалеа, обе сорте, у усипку. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 70% тритикалеа сорте НС Паун ($8,38 \pm 0,01$ g/100g). Сви испитивани узорци имали су нижи садржај екстракта у односу на сладовину произведену из јечменог слада ($8,57 \pm 0,01$ g/100g).

Било је очекивано да ће комерцијални ензим, сем разградње ћелијских зидова и смањења вискозности сладовине, утицати и на појачану разградњу скроба, самим тим и на већи екстракт. Међутим, примећено је смањење садржаја екстракта сладовине, у свим уделима, након примене комерцијалног ензима, у поређењу са сладовинама без додатка ензима. Као објашњење намеће се чињеница да несладоване житарице, како нису започеле процес разградње током сладовања, ослањају се на ензиме који су се природно развили у биљци током раста и развоја. Ови ензими остају „заробљени“ у структури зрна, до момента комљења, где се применом погодних температура, активирају. Такође, примећено је да су сладовине третиране ензимом имале већи садржај слободног аминокиселинског азота у односу на сладовине без додатка ензима. Интензивна протеолиза, односно продукти те разградње, могу имати инхибиторан ефекат на амилолитичке ензиме, те слабију разградњу скроба, што може објаснити смањење садржаја екстракта у анализираним сладовинама.

Време ошећерења се са повећањем удела тритикалеа, обе сорте, продужавало. До удела од 30% у усипку било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима. Исто је запажено и у сладовинама нативног тритикалеа обе сорте без додатка ензима (табела 9). Сладовина удела 70% нативног тритикалеа, обе сорте, није се ошећерила током процеса комљења.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима нативног тритикалеа, обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута, што је задовољавајуће и при филтрацији комине произведене из јечменог слада. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку, које је, ипак, знатно ниже у поређењу са нативним тритикалеом без додатка ензима (табела 9). Како се може видети из табеле 9, сладовина удела 70% нативног тритикалеа сорте Одисеј имала је време филтрације дужи од 60 минута. У случају додатка ензима у количини од 50 μ l, брзина филтрације је износила 22 минута за исти удео тритикалеа у усипку.

Бистрина сладовине - испитиване сладовине произведене из обе испитиване сорте тритикалеа, биле су бистре, што указује на добру разграђеност коришћених сировина. Такође, у поређењу са сладовинама без додатка ензима, где је само сладовина произведена из удела од 10% нативног тритикалеа сорте Одисеј била бистра (табела 9), приметан је утицај додатка 50 μ l ензима на бистрину произведених сладовина.

Боја сладовине - са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, боја се смањивала, те се од почетних $3,20 \pm 0,10$ EBC јединице за удео од 10% сорте НС Паун смањила на $2,0 \pm 0,10$ EBC јединица за удео од 70%. Код сорте Одисеј, смањила се са $3,7 \pm 0,10$ EBC јединица у уделу од 10% тритикалеа до $2,0 \pm 0,15$ EBC јединица за удео нативног тритикалеа од 70%.

рН сладовине се повећавала са порастом удела испитиваног тритикалеа, али је при свим уделима сорте НС Паун била у границама прописаним по МЕВАК-у (2011). рН вредност сладовина сорте Одисеј је до удела од 50% у усипку била у прописаним границама – до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - све испитиване сладовине произведене од нативног тритикалеа сорте НС Паун биле су у прописаним границама, тј. задовољиле су стандардне вредности прописане за сладовину произведену од светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје). Садржај растворљивог азота у испитиваним узорцима сладовина сорте НС Паун кретао се у распону од $0,65 \pm 0,18$ до $0,70 \pm 0,18\%$. Садржај растворљивог азота се, у произведеним сладовинама, смањивао са повећањем удела нативног тритикалеа сорте Одисеј, и у уделима од 10 до 50% задовољио је стандардне вредности (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота - само је сладовина произведена из 10% удела сорте НС Паун имала виши садржај овог параметра у односу на сладовину произведену из јечменог слада ($147,97 \pm 0,02$ mg/l) и износила је $148,15 \pm 0,01$ mg/l. Такође, приметно је смањење садржаја слободног аминок азота са повећањем удела тритикалеа, обе сорте, у усипку. Како је према Davies (2006), потребан садржај слободног аминок азота изнад 140 mg/l, само је сладовина произведена од нативног тритикалеа сорте НС Паун у уделу од 10% испунила наведени критеријум.

Вискозност сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% ($1,494 \pm 0,10$ mPa·s). Почетно одабрана концентрација комерцијалног ензима знатно је смањила вискозност произведених сладовина, те су испитиване сладовине удела 10 и 30%, обе испитиване сорте, оствариле вредности испод прописаних граница по МЕВАК-у (2011), односно биле су ниже од 1,45 mPa·s. У поређењу са сладовином произведеном од нативног тритикалеа сорте НС Паун без додатка ензима у уделу од 70% (табела 9), вискозност се смањила за 15,48%, што је, може се претпоставити, услед додатка комерцијалног ензима у количини од 50μl. Све произведене сладовине са додатком 50μl ензима имале су вискозност мању у поређењу са сладовинама произведеним без додатка ензима (табела 9).

Садржај полифенола - приметан је утицај додатка ензима на већи садржај полифенола у испитиваним сладовинама, што се потенцијално може повезати са активношћу ксиланаза. Ферулинска киселина је главна фенолна киселина у житарицама, која је углавном везана за полимере арабиноксилана (Szwajgier и сар., 2005). Одабрани ензим у оквиру ове докторске дисертације, ксиланаза, подстиче

ефикасније ослобађање ферулинске киселине у сладовину, те, на тај начин, повећава целокупан садржај полифенола испитиваних узорака. У поређењу са сортом Одисеј, сладовине произведене из сорте НС Паун имале су већи садржај испитиваног параметра у свим уделима.

У Табели 12 приказани су резултати анализа сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 12. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 10 μ л Shearzyme 500L				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 10 μ л Shearzyme 500L			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,39 \pm 0,02	8,31 \pm 0,02	8,27 \pm 0,01	8,21 \pm 0,01	8,43 \pm 0,01	8,31 \pm 0,01	8,25 \pm 0,01	8,22 \pm 0,02
Време ошећерења (минута)	<10	10-15	25-30	>60	<10	10-15	25-30	>60
Брзина филтрације (минута)	13	16	18	19	17	19	23	43
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,7 \pm 0,15	3,5 \pm 0,10	3,1 \pm 0,12	2,1 \pm 0,10	4,1 \pm 0,10	4,0 \pm 0,15	3,5 \pm 0,12	2,0 \pm 0,10
рН сладовине	5,67 \pm 0,05	5,84 \pm 0,05	5,92 \pm 0,10	6,00 \pm 0,10	5,67 \pm 0,05	5,83 \pm 0,02	5,93 \pm 0,05	6,00 \pm 0,05
Растворљиви азот (% s.m. *)	0,74 \pm 0,10	0,68 \pm 0,18	0,63 \pm 0,10	0,60 \pm 0,10	0,80 \pm 0,15	0,71 \pm 0,15	0,62 \pm 0,20	0,57 \pm 0,18
Слободни аминок азот (mg/l)	141,88 \pm 0,10	99,91 \pm 0,10	85,77 \pm 0,05	70,82 \pm 0,05	130,02 \pm 0,10	100,41 \pm 0,10	76,84 \pm 0,01	67,34 \pm 0,01
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,404 \pm 0,10	1,506 \pm 0,10	1,567 \pm 0,12	1,585 \pm 0,15	1,402 \pm 0,12	1,506 \pm 0,10	1,567 \pm 0,10	1,586 \pm 0,05
Садржај полифенола (mg/l)	180,12 \pm 0,01	168,80 \pm 0,10	161,11 \pm 0,05	158,22 \pm 0,01	172,40 \pm 0,10	170,40 \pm 0,10	162,20 \pm 0,10	155,16 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине - као и у претходно анализираним сладовинама (табеле 9 - 11), екстракт сладовине се смањивао са порастом удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку. Најнижи екстракт имала је сладовина произведена из 70% нативног тритикалеа сорте НС Паун (8,21 \pm 0,01 g/100g) који је, у поређењу са нативним тритикалеом сорте НС Паун 70% удела са додатком 50 μ л ензима (табела 11), ипак био виши. Произведене сладовине сорте Одисеј у уделима од 10 до 50% имале су већи

садржај екстракта са додатком 10 μ л ензима у поређењу са сладовинама произведеним са додатком 50 μ л ензима (табела 11).

Време ошећерења се са повећањем удела тритикалеа, обе испитиване сорте, продужавало. До удела од 30% било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011). У поређењу са нативним тритикалеом сорте НС Паун са применом 50 μ л ензима (табела 11), могу се приметити врло слични резултати времена ошећерења, па се тако узорак сладовине произведене из 70% удела тритикалеа са додатком 10 μ л ензима, као што је био случај са додатком 50 μ л ензима, није ошећерио до краја процеса комљења.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима нативног тритикалеа обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Приметно је постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела нативног тритикалеа у успику. У поређењу са резултатима нативног тритикалеа са додатком 50 μ л ензима (табела 11), приметно је благо повећање трајања филтрације са додатком смањеном количином ензима.

Бистрина сладовине - све испитиване сладовине тритикалеа, обе сорте, биле су бистре, што указује на добру разграђеност коришћених сировина. У поређењу са сладовинама нативног тритикалеа сорте НС Паун без додатка ензима (табела 9), приметно је побољшање бистрине у узорку са 70% удела тритикалеа у успику, које је без додатка ензима било слабо опално. У поређењу са сладовинама без додатка ензима сорте Одисеј, где је само сладовина произведена из удела од 10% нативног тритикалеа сорте Одисеј била бистра (табела 9), приметан је утицај додатка 10 μ л ензима на бистрину. Поредети са сладовинама са додатком 50 μ л ензима, где су такође све сладовине биле бистре, закључује се да је количина 10 μ л ензима довољна како би се постигла задовољавајућа бистрина сладовина.

Боја сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе сорте, смањивала, од почетних $3,7 \pm 0,15$ ЕВС јединица за удео од 10% до $2,1 \pm 0,10$ ЕВС јединице за удео од 70% код сорте НС Паун и од $4,1 \pm 0,10$ до $2,0 \pm 0,10$ ЕВС јединице за удео нативног тритикалеа од 70% код сорте Одисеј. Сладовине са додатком 50 μ л ензима (табела 11) имале су мању боју сладовина у поређењу са сладовинама са 10 μ л додатог ензима.

рН сладовина се повећавала са порастом удела нативног тритикалеа, обе сорте, у успику и била је у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) у свим испитиваним сладовинама (до 6,0 рН јединица).

Растворљиви азот - при повећању удела тритикалеа сорте НС Паун у успику, концентрација растворљивог азота у сладовини се смањивала и задовољила је стандардне вредности прописане за сладовину произведену од светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002). Сорте Одисеј је, у уделима од 30 до 70%, задовољила стандардне вредности.

Садржај слободног аминок азота - све испитиване сладовине имале су нижи садржај овог параметра у односу на сладовину произведену из јечменог слада

(147,97±0,02 mg/l). Као и са додатком од 50µl, у случају третирања сладовина са 10µl ензима, приметно је смањење садржаја слободног аминокиселиног азота са повећањем удела тритикалеа, обе сорте, у усипку.

Вискозност сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе сорте, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% (1,586±0,05 mPa·s). Сладовине са додатком 50µl ензима (табела 11) имале су мању вискозност у поређењу са сладовинама са додатком 10µl ензима. Сладовине са уделом нативног тритикалеа од 10%, обе сорте, имале су вискозност мању од прописане границе по МЕВАК-у (2011), док су сладовине осталих удела задовољиле прописани критеријум вискозности - до 1,6 mPa·s.

Садржај полифенола био је мањи у односу на сладовине са додатком ензима од 50µl. У поређењу са сортом Одисеј, сладовине произведене из сорте НС Паун имале су већи садржај испитиваног параметра.

У Табели 13 приказани су резултати анализа сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5µl комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 13. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5µl комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5µl Shearzyme 500L				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5µl Shearzyme 500L			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,46±0,02	8,37±0,02	8,30±0,01	8,22±0,01	8,45±0,02	8,35±0,05	8,26±0,05	8,23±0,03
Време ошећерења (минута)	10-15	15-20	25-30	>60	10-15	15-20	25-30	>60
Брзина филтрације (минута)	15	17	20	25	22	22	36	47
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Слабо опална	Слабо опална	Слабо опална	Слабо опална
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,5±0,10	3,1±0,15	3,0±0,12	2,0±0,10	4,3±0,10	4,5±0,15	3,5±0,14	2,5±0,10
рН сладовине	5,69±0,10	5,81±0,05	5,86±0,10	5,99±0,10	5,68±0,05	5,89±0,05	5,87±0,05	5,98±0,10
Растворљиви азот (% s.m. *)	0,88±0,12	0,72±0,20	0,68±0,15	0,68±0,20	0,75±0,15	0,62±0,12	0,62±0,20	0,55±0,20
Слободни аминокиселиног азот (mg/l)	136,36±0,05	96,19±0,10	80,45±0,10	67,24±0,02	124,54±0,10	93,34±0,05	73,99±0,10	64,25±0,10
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,580±0,10	1,577±0,10	1,593±0,05	1,612±0,10	1,540±0,10	1,560±0,10	1,600±0,10	1,627±0,05
Садржај полифенола (mg/l)	178,82±0,01	164,12±0,10	161,71±0,05	150,15±0,10	171,39±0,10	169,25±0,10	161,40±0,10	150,26±0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5μl комерцијалног ензима Shearzyme 500L утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине смањивао се са порастом удела нативног тритикалеа, обе сорте, у усипку. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте НС Паун (8,46±0,02 g/100g). Садржај екстракта свих испитиваних сладовина тритикалеа био је мањи у односу на сладовину произведену из јечменог слада. У поређењу са сладовинама нативног тритикалеа са додацима ензима од 50 и 10μl (табеле 11 и 12), сладовине са додатим ензимом од 5μl имале су већи садржај екстракта.

Време ошећерења се са повећањем удела тритикалеа обе сорте, продужавало. У уделу од 10% нативног тритикалеа обе сорте, било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) и указује на добру активност амилолитичких ензима, док је у осталим испитиваним сладовинама време ошећерења било дуже од 15 минута.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима нативног тритикалеа, обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку. У поређењу са сладовинама нативног тритикалеа са додацима ензима од 50 и 10μl (табеле 11 и 12), сладовине са додатим ензимом од 5μl имале су дуже време филтрације. Сладовине произведене од нативног тритикалеа сорте НС Паун без додатка ензима (табела 9) у уделима од 50 и 70% имале су знатно дуже време филтрације (32 и 52 минута) у односу на сладовине сорте НС Паун са додатком од 5μl ензима (20 и 25 минута).

Бистрина сладовине - сви испитивани удели произведених сладовина тритикалеа сорте НС Паун били су бистри, што указује на добру разграђеност коришћене несладоване сировине, док су све испитиване сладовине тритикалеа сорте Одисеј биле слабо опалне. Поредећи са произведеним сладовинама са додатком ензима од 50 и 10μl (табеле 11 и 12), где су све сладовине биле бистре, закључује се да количина додатог ензима од 5μl није била довољна како би се постигла одговарајућа бистрина у сладовини тритикалеа сорте Одисеј.

Боја сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте, смањивала, од почетних 3,5±0,10 ЕВС јединица за удео од 10% до 2,0±0,10 ЕВС јединица за удео од 70% код сорте НС Паун и од 4,3±0,10 до 2,5±0,10 ЕВС јединице за удео нативног тритикалеа од 70% код сорте Одисеј.

рН сладовине се повећавала са порастом удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку и била је у прописаним границама по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - са повећањем удела тритикалеа обе сорте у усипку, концентрација растворљивог азота у сладовини се смањивала. Сладовине произведене из удела тритикалеа сорте НС Паун од 30% до 70% задовољавају стандардне вредности

прописане за сладовину произведену од светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје), док је сладовина произведена из 10% нативног тритикалеа сорте НС Паун имала већу концентрацију растворљивог азота од прописаног критеријума (0,88% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002). Сорта Одисеј је у уделима од 10 до 70% задовољила стандардне вредности.

Садржај слободног аминок азота - све испитиване сладовине имале су нижи садржај овог параметра у односу на сладовину произведену из јечменог слада ($147,97 \pm 0,02$ mg/l). Као и у претходно анализираним сладовинама третираних ензимом, приметно је смањење садржаја слободног аминок азота са повећањем удела тритикалеа, обе сорте, у усипку. У поређењу са додатком ензима од 50 и 10 μ l, сладовине са додатком 5 μ l ензима имале су нижи садржај слободног аминок азота.

Вискозност сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, повећавала. Највећа вискозност је одређена у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% ($1,627 \pm 0,05$ mPa·s). Сладовине произведене из 10 - 50% удела у усипку, обе испитиване сорте, имале су вискозност која је била у прописаним границама по МЕВАК-у (2011), односно од 1,45 до 1,60 mPa·s. Све произведене сладовине са додатком 5 μ l ензима имале су вискозност мању у поређењу са сладовинама произведеним без додатка ензима (табела 9).

Садржај полифенола био је мањи у односу на сладовине са додатком ензима од 50 и 10 μ l. У поређењу са сортом Одисеј, сладовине произведене из сорте НС Паун, удела 10 и 50% тритикалеа у усипку, имале су већи садржај испитиваног параметра.

4.2.2.2. Сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток комерцијалног ензима

У Табели 14 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 14. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,45 \pm 0,01	8,59 \pm 0,01	8,73 \pm 0,02	8,80 \pm 0,01	8,40 \pm 0,02	8,52 \pm 0,02	8,61 \pm 0,05	8,71 \pm 0,03
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	12	14	15	17	10	11	13	14
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	2,98 \pm 0,15	3,52 \pm 0,10	4,0 \pm 0,10	4,51 \pm 0,10	3,2 \pm 0,12	3,5 \pm 0,10	4,7 \pm 0,10	5,0 \pm 0,10
рН сладовине	6,01 \pm 0,05	6,02 \pm 0,10	6,02 \pm 0,10	6,04 \pm 0,12	6,04 \pm 0,12	6,05 \pm 0,14	6,07 \pm 0,10	6,09 \pm 0,10
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,76 \pm 0,25	0,80 \pm 0,10	1,06 \pm 0,30	1,11 \pm 0,20	0,76 \pm 0,12	0,83 \pm 0,10	1,08 \pm 0,12	1,16 \pm 0,12
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	157,43 \pm 0,01	158,15 \pm 0,05	188,09 \pm 0,05	191,36 \pm 0,01	143,37 \pm 0,05	151,29 \pm 0,05	174,7 \pm 0,05	186,34 \pm 0,01
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,433 \pm 0,12	1,478 \pm 0,10	1,544 \pm 0,15	1,581 \pm 0,12	1,441 \pm 0,12	1,490 \pm 0,10	1,548 \pm 0,10	1,570 \pm 0,10
Садржај полифенола (mg/l)	191,80 \pm 0,05	197,30 \pm 0,05	198,88 \pm 0,10	202,15 \pm 0,01	183,12 \pm 0,10	189,55 \pm 0,10	193,23 \pm 0,15	198,40 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте, у усипку. Најнижи екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте Одисеј (8,40 \pm 0,02 g/100g), а највиши у сладовини 70% удела тритикалеа сорте НС Паун - 8,80 \pm 0,01 g/100g. Сладовине сорте НС Паун, у уделима од 30 до 70% у усипку, имале су већи садржај екстракта у поређењу са екстрактом јечменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g), док је код сорте Одисеј то био случај само у сладовинама удела 50 и 70%. Произведене сладовине, са додатком 50 μ l ензима, у свим испитиваним уделима имале су нижи садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним из слада обе сорте, без додатка ензима (табела 10).

Време ошећерења се са повећањем удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку, није мењало, већ је константно било мање од 10 минута, што је био случај и у сладовинама произведеним из слада обе сорте без додатка ензима (табела 10).

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима слада тритикалеа обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа у усипку. Време филтрације било је знатно краће са додатком 50 μ l ензима у односу на сладовине у које није додат комерцијални ензим (табела 10).

Бистрина сладовине - све испитиване сладовине слада тритикалеа, биле су бистре, до удела од 50%. Поредићи са произведеним сладовинама без додатка ензима (табела 10), примећује се подударност, за сорту НС Паун, када је овај параметар квалитета у питању. Такође, у сладовинама сорте Одисеј у уделима од 30 и 50%, приметно је побољшање бистрине са додатком ензима, односно сладовине, које су биле слабо опалне или мутне, са додатком ензима, биле су бистре.

Боја сладовине се са повећањем удела тритикалеа, обе сорте, повећавала, и то од $2,98 \pm 0,15$ до $4,51 \pm 0,10$ ЕВС јединице у сладовинама сорте НС Паун и од $3,2 \pm 0,12$ до $5,0 \pm 0,10$ ЕВС јединице за удео слада тритикалеа од 70% код сорте Одисеј.

рН сладовине се повећавала са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку, те је у свим испитиваним уделима била већа од прописаних граница по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - концентрација растворљивог азота у произведеним сладовинама повећавала се са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте. Све вредности овог параметра биле су више од прописане границе по Лескошек - Чукаловић (2002) (0,55- 0,75% суве материје).

Садржај слободног аминок азота - сладовина са 70% удела сорте НС Паун имала је највећи садржај овог параметра у односу на остале произведене сладовине тритикалеа ($191,36 \pm 0,01$ mg/l). Додатак 50 μ l комерцијалног ензима повећао је садржај слободног аминок азота у сладовини за око 23% у поређењу са сладовином истог удела, произведене из слада тритикалеа сорте НС Паун без додатка ензима. Критеријум према Davies (2006), који прописује минималан садржај слободног аминок азота од 140mg/l, све произведене сладовине слада тритикалеа сорте НС Паун са додатком ензима, су задовољиле. У поређењу са сладовином произведеном из слада тритикалеа сорте Одисеј без додатка ензима, конгресном методом, где је, у 70% удела садржај слободног аминок азота био $142,91 \pm 0,01$ mg/l, може се закључити да је додатак комерцијалног ензима допринео већем садржају испитиваног параметра.

Вискозност, као и у свим претходно анализираним сладовинама, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, повећавала се. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте НС Паун од 70% ($1,581 \pm 0,12$ mPa·s). Сладовине обе сорте, произведене из 30 - 70% удела у усипку имале су вискозност која је била у прописаним границама по МЕВАК-у (2011), односно од 1,45 до 1,60 mPa·s. Све произведене сладовине са додатком 50 μ l ензима имале су мању вискозност у поређењу са сладовинама произведеним без додатка ензима слада обе сорте тритикалеа (табела 10). Додатак 50 μ l ензима у уделу тритикалеа сорте Одисеј од 70% смањило је вискозност сладовине за 14,30% у односу на исти удео слада тритикалеа без додатка ензима (табела 11).

Садржај полифенола био је већи у односу на сладовине произведене из слада тритикалеа, обе испитиване сорте, без додатка ензима. Са повећањем удела тритикалеа у усипку, повећавао се и садржај полифенола.

У Табели 15 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 15. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 10 μ l Shearzyme 500L				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 10 μ l Shearzyme 500L			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,49 \pm 0,01	8,61 \pm 0,02	8,74 \pm 0,01	8,81 \pm 0,02	8,41 \pm 0,02	8,56 \pm 0,02	8,68 \pm 0,02	8,74 \pm 0,01
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	13	14	16	19	16	23	38	50
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Слабо опална	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,2 \pm 0,15	4,4 \pm 0,18	5,0 \pm 0,16	5,5 \pm 0,15	3,2 \pm 0,10	4,0 \pm 0,18	5,0 \pm 0,15	6,2 \pm 0,15
рН сладовине	6,03 \pm 0,10	6,06 \pm 0,05	6,06 \pm 0,12	6,07 \pm 0,10	6,05 \pm 0,12	6,05 \pm 0,05	6,08 \pm 0,05	6,10 \pm 0,10
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,75 \pm 0,15	0,82 \pm 0,20	1,03 \pm 0,22	1,15 \pm 0,10	0,75 \pm 0,15	0,82 \pm 0,10	1,03 \pm 0,20	1,13 \pm 0,18
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	142,21 \pm 0,05	152,88 \pm 0,05	186,9 \pm 0,05	189,02 \pm 0,05	140,5 \pm 0,05	150,09 \pm 0,05	161,13 \pm 0,05	184,45 \pm 0,05
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,463 \pm 0,05	1,489 \pm 0,10	1,549 \pm 0,10	1,582 \pm 0,12	1,498 \pm 0,10	1,579 \pm 0,10	1,611 \pm 0,10	1,684 \pm 0,10
Садржај полифенола (mg/l)	185,15 \pm 0,05	188,30 \pm 0,05	190,47 \pm 0,10	191,15 \pm 0,01	180,22 \pm 0,10	184,36 \pm 0,10	185,13 \pm 0,10	186,10 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку. Најнижи екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте Одисеј (8,41 \pm 0,02 g/100g), а највиши у сладовини удела тритикалеа од 70%, сорте НС Паун - 8,81 \pm 0,02 g/100g. Сладовине сорте НС Паун, у уделитема од 30 до 70% у усипку, имале су већи садржај екстракта у поређењу са екстрактом јечменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g), док је исти случај био и у сорти Одисеј, али у мањем опсегу удела, односно од 50 до 70%. Произведене сладовине, са додатком 10 μ l ензима, у свим испитиваним уделитема имале су виши садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним од слада обе сорте са додатком 50 μ l ензима (табела 14).

Време ошећерења се са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, није мењало, већ је било мање од 10 минута, што је био случај и у

сладовинама произведеним од слада обе сорте без додатка ензима (табела 10), као и у сладовинама са додатком 50 μ л ензима (табела 14).

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима свих анализираних сладовина, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Као и у претходно анализираним сладовинама, примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа у успику. Запажено је и знатно краће време филтрације са додатком 10 μ л ензима у односу на сладовине у које није додат комерцијални ензим (табела 10), али и благо продужење у поређењу са сладовинама са 50 μ л додатог ензима (табела 14).

Бистрина сладовине - испитиване сладовине слада тритикалеа сорте НС Паун, биле су бистре, до удела од 50%. Поредићи са произведеним сладовинама без додатка ензима (табела 10), примећује се подударност за сорту НС Паун када је овај параметар квалитета у питању. Такође, у сладовинама сорте Одисеј приметно је побољшање бистрине са додатком ензима, у уделу од 30%.

Боја сладовине се са повећањем удела тритикалеа, обе сорте, повећавала, и то од 3,2 \pm 0,15 до 5,5 \pm 1,15 ЕВС јединице за удео слада тритикалеа од 70% сорте НС Паун и од 3,2 \pm 0,10 до 6,2 \pm 0,15 ЕВС јединице код сорте Одисеј.

рН сладовине повећавала се са порастом удела слада тритикалеа обе сорте у успику, те је у свим испитиваним уделима била већа од прописаних граница по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - концентрација растворљивог азота у произведеним сладовинама повећавала се са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте. Све добијене вредности овог параметра, сем у уделу тритикалеа од 10%, биле су више од прописане границе по Лескошек - Чукаловић (2002) (0,55 - 0,75% суве материје).

Садржај слободног аминок азота - приметан је пораст садржаја слободног аминок азота са повећањем удела тритикалеа, обе сорте, у успику, који је ипак био нижи од сладовина третираних додатком ензима од 50 μ л. Сладовине сорте НС Паун су, у свим испитиваним уделима, имале већи садржај овог параметра у поређењу са сортом Одисеј.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела слада тритикалеа, обе сорте у успику, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% (1,684 \pm 0,10 mPa·s). Све произведене сладовине сорте НС Паун, имале су вискозност која је била у прописаним границама по МЕВАК-у (2011), односно од 1,45 до 1,60 mPa·s, док су код сорте Одисеј прописани критеријум задовољиле сладовине удела 10 и 30%. Такође, произведене сладовине са додатком 10 μ л ензима имале су мању вискозност у поређењу са сладовинама произведеним без додатка ензима обе сорте, али већу у поређењу са сладовинама са додатком 50 μ л ензима.

Садржај полифенола био је мањи у односу на сладовине третиране са 50 μ л ензима. Виши садржај одређен је код сорте НС Паун, у свим уделима, у односу на сорту Одисеј.

У Табели 16 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 16. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5 μ л Shearzyme 500L				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5 μ л Shearzyme 500L			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,54 \pm 0,02	8,65 \pm 0,01	8,74 \pm 0,01	8,82 \pm 0,01	8,46 \pm 0,01	8,59 \pm 0,02	8,69 \pm 0,02	8,77 \pm 0,01
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	14	14	17	20	18	31	52	>60
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Слабо опална	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,2 \pm 0,15	4,7 \pm 0,18	5,0 \pm 0,15	5,7 \pm 0,12	3,8 \pm 0,15	4,4 \pm 0,12	5,2 \pm 0,10	6,0 \pm 0,14
рН сладовине	6,03 \pm 0,10	6,06 \pm 0,08	6,06 \pm 0,08	6,07 \pm 0,10	6,09 \pm 0,08	6,09 \pm 0,12	6,09 \pm 0,15	6,10 \pm 0,12
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,75 \pm 0,30	0,82 \pm 0,20	1,03 \pm 0,22	1,15 \pm 0,25	0,75 \pm 0,15	0,78 \pm 0,10	0,98 \pm 0,10	1,09 \pm 0,10
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	146,98 \pm 0,01	150,3 \pm 0,05	186,33 \pm 0,02	187,96 \pm 0,05	139,76 \pm 0,01	148,33 \pm 0,05	152,6 \pm 0,05	183,58 \pm 0,05
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,468 \pm 0,12	1,519 \pm 0,10	1,567 \pm 0,10	1,590 \pm 0,10	1,501 \pm 0,12	1,629 \pm 0,15	1,660 \pm 0,05	1,782 \pm 0,10
Садржај полифенола (mg/l)	180,69 \pm 0,05	183,10 \pm 0,05	188,12 \pm 0,05	188,15 \pm 0,01	174,12 \pm 0,10	176,16 \pm 0,01	180,15 \pm 0,10	181,30 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку. Најнижи екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте Одисеј (8,46 \pm 0,01 g/100g), а највиши у сладовини удела тритикалеа од 70% - 8,82 \pm 0,01 g/100g сорте НС Паун. Сладовине обе сорте, у уделима од 30 до 70% у усипку, имале су већи садржај екстракта у поређењу са екстрактом јечменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g). Произведене сладовине, са додатком 5 μ л ензима, у свим испитиваним уделима имале су виши садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним из слада сорте НС Паун са додатком 50 и 10 μ л ензима (табеле 14 и 15).

Време ошећерења се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, није мењало, већ је било мање од 10 минута, што је био случај и у сладовинама произведеним од слада без додатка ензима (табела 10), као и са сладовинама произведеним од слада са додатком 50 и 10 μ л ензима (табеле 14 и 15).

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима слада тритикалеа сорте НС Паун, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута, док је код сорте Одисеј прихватљиво време филтрације било у уделима од 10 до 50%. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа у успику. Запажено је било знатно краће време филтрације са додатком ензима од 5 μ l у односу на сладовине у које није додат комерцијални ензим (табела 10), али и благо продужење у поређењу са сладовинама са 50 и 10 μ l додатог ензима (табеле 14 и 15) у свим испитиваним сладовинама са изузетком сорте Одисеј - 70%.

Бистрина сладовине - испитиване сладовине тритикалеа сорте НС Паун удела 10 - 50%, као и сладовине тритикалеа удела 10 и 30% сорте Одисеј, биле су бистре. Приметна је подударност када је овај параметар у питању, односно сладовине са додатком од 10 μ l и 5 μ l имале су исту бистрину.

Боја сладовине се, са повећањем удела тритикалеа обе сорте, повећавала, и то од 3,2 \pm 0,15 до 5,7 \pm 0,12 ЕВС јединица за удео слада тритикалеа из 70% сорте НС Паун и од 3,8 \pm 0,15 до 6,0 \pm 0,14 ЕВС јединица код сорте Одисеј.

рН сладовине повећавала се са порастом удела слада тритикалеа обе сорте у успику, те је у свим испитиваним уделима била већа од прописаних граница по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - концентрација растворљивог азота у произведеним сладовинама повећавала се са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте. Све добијене вредности овог параметра, сем у уделу слада тритикалеа обе испитиване сорте, од 10%, биле су више од прописане границе по Лескошек - Чукаловић (2002) (0,55 - 0,75% суве материје).

Садржај слободног аминок азота – највећи садржај имала је сладовина сорте НС Паун, удела 70% у успику - 187,96 \pm 0,05 mg/l. Као и у претходно анализираним сладовинама, и у случају додатка ензима од 5 μ l, са повећањем удела тритикалеа у успику, повећавао се и садржај слободног аминок азота. Ипак, био је нижи у поређењу са сладовинама са додатком ензима од 50 и 10 μ l.

Вискозност сладовине, са повећањем удела слада тритикалеа, обе сорте у успику, повећавала се. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% (1,782 \pm 0,10 mPa·s). Све произведене сладовине сорте НС Паун имале су вискозност која је била у прописаним границама по МЕВАК-у (2011), односно од 1,45 до 1,60 mPa·s, док је код сорте Одисеј само сладовина удела 10% одговарала наведеном критеријуму. Такође, произведене сладовине са додатком 5 μ l ензима имале су мању вискозност у поређењу са сладовинама произведеним без додатка ензима обе сорте (табела 10), али већу у поређењу са сладовинама са додатком 50 и 10 μ l ензима (табеле 14 и 15).

Садржај полифенола био је мањи у односу на сладовине третиране са 50 и 10 μ l ензима, што је био случај и у сладовинама произведеним из нативног тритикалеа. У односу на сладовине без додатка ензима, виши садржај полифенола одређен је код сорте НС Паун, у уделима од 10 – 50% и 10% код сорте Одисеј.

4.2.3. Анализа сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз примену модификованог режима комљења – фаза 2.3

Сем употребе комерцијалних ензима, у циљу спречавања или умањивања потенцијалних потешкоћа у производњи сладовине, режим комљења се, такође, може изменити, односно прилагодити несладованим житарицама. Пошто модерна пракса производње пива подразумева коришћење знатних количина несладованих житарица, примена конгресне методе комљења могла би се довести у питање (Demeester и сар., 2023). Стога је у оквиру докторске дисертације, сем конгресне методе, вршена процена применљивости и модификоване - инфузионе методе комљења. Ова метода била је примењена у раду Glatthar и сарадника (2002), у ком је испитиван нативни тритикале, као и слад тритикалеа. Карактеристична је по томе што су температурне паузе погодне за разградњу пентозана, за које се сматра да су узрочници повећане вискозности сладовине. Сходно томе, на овај начин може се смањити вискозност произведених сладовина.

Температурне паузе током комљења биле су следеће:

- укомљавање на 50 °C 40 минута;
- подизање температуре на 63 °C, пауза од 45 минута;
- подизање температуре на 70 °C, пауза од 30 минута и завршетак комљења на 76 °C - 10 минута.

4.2.3.1. Сладовине произведене из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

У Табели 17 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 17. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку – модификовани режим				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,41±0,02	8,37±0,02	8,29±0,01	8,21±0,01	8,44±0,02	8,38±0,01	8,30±0,02	8,23±0,02
Време ошећерења (минута)	<10	<10	10-15	15-20	<10	10-15	15-20	>60
Брзина филтрације (минута)	13	16	30	46	32	38	40	>60
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Слабо опална	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,8±0,15	4,4±0,20	4,5±0,15	5,2±0,10	4,1±0,10	4,5±0,12	4,2±0,10	4,7±0,10
рН сладовине	5,82±0,10	5,89±0,05	5,92±0,05	5,95±0,10	5,80±0,10	5,89±0,05	5,96±0,05	5,98±0,10
Растворљиви азот (% s.m. *)	0,78±0,20	0,70±0,15	0,61±0,20	0,60±0,10	0,76±0,20	0,70±0,25	0,69±0,20	0,65±0,20
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	134,66± 0,01	121,58± 0,01	93,45± 0,01	71,29± 0,02	132,68± 0,02	110,88± 0,01	87,51± 0,01	63,76± 0,02
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,598± 0,10	1,611± 0,12	1,641± 0,10	1,649± 0,10	1,608± 0,12	1,719± 0,10	1,839± 0,10	2,060± 0,05
Садржај полифенола (mg/l)	175,22± 0,05	168,03± 0,15	160,20± 0,10	143,95± 0,01	177,12± 0,10	170,18± 0,10	165,03± 0,20	140,70± 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине смањивао се са порастом удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа (8,44±0,02 g/100g) сорте Одисеј. Удели нативног тритикалеа обе сорте, од 10 до 70% у усипку, имали су нижи екстракт сладовине у односу на јечмени слад (8,57±0,01 g/100g). У поређењу са сладовинама нативног тритикалеа сорте НС Паун произведених конгресном методом (табела 9), може се закључити да су уз примену модификованог режима произведене сладовине нижег садржаја екстракта.

Време ошећерења се, са повећањем удела тритикалеа обе сорте, продужавало. До 50% удела у усипку код сорте НС Паун и до 30% удела у усипку код сорте Одисеј, било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима.

Брзина филтрације била је прихватљива у свим испитиваним уделима нативног тритикалеа сорте НС Паун, односно филтрација је трајала краће од 60 минута, те се означава као „нормална“. Код сорте Одисеј, филтрација је била прихватљива у уделима од 10 до 50%. Приметно је постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа обе сорте у усипку, па је тако најдуже време, код сорте НС Паун, било

у сладовини удела од 70% тритикалеа у усипку (46 минута), што је ипак краће у односу на сладовину произведену конгресном методом (табела 9). Узорак са 70% удела у усипку сорте Одисеј, имао је време филтрације дуже од 60 минута. У поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом, приметно је краће време филтрације применом модификованог режима комљења у уделима тритикалеа сорте Одисеј од 10 до 50%.

Бистрина сладовине - сладовина произведена из јечменог слада, као и сладовине са уделима тритикалеа од 10% до 50% - сорта НС Паун и из 10 до 30% - сорта Одисеј, биле су бистре, што указује на добру разграђеност коришћених сировина.

Боја сладовине се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе сорте, повећавала и износила од почетних $3,8 \pm 0,15$ ЕВС јединица у уделу од 10% до $5,2 \pm 0,10$ ЕВС јединица у уделу од 70% Сорте НС Паун. Сладовине тритикалеа сорте Одисеј имале су боју од $4,1 \pm 0,10$ ЕВС јединице у уделу од 10% до $4,7 \pm 0,10$ ЕВС јединице у уделу од 70% тритикалеа. Боја сладовина произведених модификованом методом била је већа у свим уделима у поређењу са сладовинама произведених конгресном методом (табела 9).

рН сладовине повећавала се са порастом удела нативног тритикалеа обе испитиване сорте у усипку, али била је у границама прописаним по МЕВАК-у (2011), где је прописана рН вредност од 5,6 до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - са повећањем удела тритикалеа у усипку обе испитиване сорте, садржај растворљивог азота се смањивао. Испитиване сладовине обе сорте, удела од 30 до 70%, задовољиле су стандардне вредности прописане за сладовине произведене из светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002). У поређењу са сладовинама произведених конгресном методом (табела 9), примена модификоване методе произвела је сладовине са вишим садржајем растворљивог азота, што може бити последица температурних пауза које су погодовале протеолитичкој разградњи.

Садржај слободног аминок азота - приметно је опадање садржаја слободног аминок азота са повећањем удела тритикалеа, обе сорте у усипку. Сладовине обе сорте, произведене из удела од 10 и 30%, имале су садржај слободног аминок азота у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) - од 110 до 180 mg/l. Ипак, добијени резултати били су нижи од резултата сладовине произведене из јечменог слада. У поређењу са резултатима сладовина нативног тритикалеа обе сорте, произведених конгресном методом (табела 9), приметан је већи садржај слободног аминок азота применом модификованог режима комљења.

Вискозност сладовине, са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте у усипку, повећавала се. Највећа вискозност одређена је у сладовини сорте Одисеј са уделом тритикалеа од 70% ($2,060 \pm 0,05$ mPas). Све анализиране сладовине, осим сладовине удела од 10%, произведене од тритикалеа сорте НС Паун, имале су вредност овог параметра већу од прописане границе по МЕВАК-у (2011) - већу од 1,6 mPa. У свим испитиваним уделима тритикалеа обе сорте у усипку, вискозност је била нижа када је

био примењен модификовани режим комљења у односу на сладовине произведене конгресном методом (табела 9). Применом модификованог режима, вискозност сладовине удела 70% сорте Одисеј, смањила се за око 7%, у поређењу са конгресном методом производње сладовине (табела 9).

Садржај полифенола био је већи са применом модификованог режима, у односу на сладовине произведене конгресном методом, с обзиром да су примењене више температуре током комљења. Највећи садржај имала је сладовина произведена из сорте Одисеј, удела од 10% - $177,12 \pm 0,10$ mg/l.

4.2.3.2. Сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

У табели 18 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 18. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку – модификовани режим				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,69±0,02	8,72±0,03	8,75±0,02	8,79±0,02	8,65±0,02	8,67±0,03	8,70±0,02	8,73±0,02
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	26	40	51	55	40	41	55	>60
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Мутна	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,3±0,10	4,2±0,20	4,5±0,12	4,5±0,12	4,4±0,15	4,5±0,18	5,6±0,10	6,2±0,12
рН сладовине	6,05±0,10	6,07±0,10	6,07±0,10	6,12±0,05	6,05±0,02	6,10±0,05	6,14±0,10	6,18±0,05
Растворљиви азот (% s.m. *)	0,65±0,20	0,82±0,25	0,80±0,22	0,95±,14	0,66±0,20	0,77±0,22	0,85±0,20	1,1±0,15
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	141,28± 0,01	150,30± 0,01	152,03± 0,02	159,18± 0,02	138,31± 0,01	140,34± 0,01	142,06± 0,02	149,19± 0,02
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,519± 0,03	1,569± 0,05	1,595± 0,10	1,713± 0,10	1,543± 0,05	1,601± 0,10	1,669± 0,10	1,789± 0,10
Садржај полифенола (mg/l)	180,18± 0,05	187,17± 0,10	188,32± 0,10	195,63± 0,01	177,16± 0,10	185,77± 0,10	185,93± 0,10	192,11± 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку, при чему је највиши садржај екстракта имала сладовина произведена из 70% удела тритикалеа у усипку ($8,79 \pm 0,02$ g/100g) сорте НС Паун. Највиши екстракт

одређен је, такође, у сладовини произведеној из 70% удела тритикалеа сорте НС Паун и износио је $8,79 \pm 0,02$ g/100g. Чак и најнижи садржај екстракта сладовине произведене из слада тритикалеа обе сорте, био је већи од садржаја екстракта у сладовини произведеној из јечменог слада ($8,57 \pm 0,01$ g/100g). У поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом (табела 10), може се закључити да су сладовине произведене модификованом методом имале мањи садржај екстракта.

Време ошећерења није се повећавало са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте у усипку. Износило је 10 минута у свим испитиваним сладовинама, што је знак добре разграђености ендосперма (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Брзина филтрације била је прихватљива у свим испитиваним уделима нативног тритикалеа сорте НС Паун, односно филтрација је трајала краће од 60 минута, те се означава као „нормална“. Код сорте Одисеј, филтрација је била прихватљива у уделима од 10 до 50%. Приметно је постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа обе сорте у усипку. У поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом (табела 10), приметно је краће време филтрације применом модификованог режима комљења у свим испитиваним уделима обе сорте тритикалеа.

Бистрина сладовине - као и помоћу конгресне методе (табела 10), сладовине произведене из тритикалеа сорте НС Паун модификованом методом комљења, биле су бистре до удела од 50%, што указује на добру разграђеност слада тритикалеа. Сладовине произведене из удела од 10 и 30% тритикалеа сорте Одисеј, биле су, такође, бистре.

Боја сладовине се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, повећавала, од почетних $3,3 \pm 0,10$ ЕВС јединица за удео од 10% до $4,5 \pm 0,12$ ЕВС јединица у уделу слада тритикалеа од 70% код сорте НС Паун. Код сорте Одисеј, повећавала се од почетних $4,4 \pm 0,15$ ЕВС јединица за удео од 10% до $6,2 \pm 0,12$ ЕВС јединица у уделу слада тритикалеа од 70%.

рН сладовине повећавала се са порастом удела слада тритикалеа обе сорте у усипку и имала више вредности у односу на прописани стандард по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица у свим испитиваним сладовинама.

Растворљиви азот повећавао се са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте у усипку. Само је удео тритикалеа од 10%, обе сорте, имао садржај растворљивог азота који је одговарао прописаном критеријуму ($0,65 \pm 0,80\%$ суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота - приметан је пораст садржаја слободног аминок азота са повећањем удела тритикалеа у усипку у обе сорте. Сладовине, произведене из свих испитиваних удела, имале су садржај слободног аминок азота у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) - од 110 до 180 mg/l. Удели од 30 - 70%, сорте НС Паун и 70% сорте Одисеј, имали су већи садржај овог параметра у односу на сладовину произведену из јечменог слада. Код сорте НС Паун, сви испитивани удели испунили су услов да сладовина мора да има најмање 140 mg/l слободног аминок азота како би се осигурала успешна ферментација, док је код сорте Одисеј наведено постигнуто у

уделима 30 - 70% (Davies, 2006). У поређењу са резултатима слада тритикалеа обе сорте, произведених конгресном методом (табела 10), приметан је већи садржај слободног аминокиселинског азота приликом примене модификованог режима комљења, што се може довести у везу са измењеним температурним режимом који је погодовао протеолитичкој разградњи.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте у успику, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са највећим уделом тритикалеа сорте Одисеј - 70% ($1,789 \pm 0,10$ mPa·s). Све анализирание сладовине сорте НС Паун, сем удела тритикалеа у успику од 70%, имале су вредност овог параметра у оквиру прописане границе по МЕВАК-у (2011) - до 1,6 mPa·s. Код сорте Одисеј, само је сладовина удела 10% задовољила прописани критеријум. У свим испитиваним уделима тритикалеа обе сорте, вискозност је била нижа када је био примењен модификовани режим комљења у односу на сладовине произведене конгресном методом (табела 10).

Садржај полифенола био је већи са применом модификованог режима комљења у поређењу са конгресном методом. Са повећањем удела слада тритикалеа у успику, повећавао се и садржај полифенола. Већи садржај одређен је код сорте НС Паун.

4.2.4. Анализа сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења – фаза 2.4

Поред примене модификованог режима комљења и анализе произведених сладовина, у оквиру ове докторске дисертације извршене су и анализе сладовина произведених измењеним температурним режимом комљења уз додатак комерцијалног ензима Shearzyme 500L, у циљу смањења вискозности произведених сладовина. Одабране количине ензима, од 50, 10 и 5 μ l, додате су на почетку процеса комљења. Сладовине су произведене из различитих удела нативног, као и слада тритикалеа - 10%, 30%, 50% и 70%.

4.2.4.1. Сладовине произведене из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

У Табели 19 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L приликом примене модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 19. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,36 \pm 0,01	8,22 \pm 0,02	8,12 \pm 0,03	8,11 \pm 0,02	8,32 \pm 0,05	8,22 \pm 0,05	8,21 \pm 0,01	8,20 \pm 0,01
Време ошећерења (минута)	<10	10-15	25-30	>60	<10	10-15	20-25	>60
Брзина филтрације (минута)	11	11	16	20	11	12	15	16
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,0 \pm 0,10	2,2 \pm 0,15	2,0 \pm 0,10	1,95 \pm 0,05	3,5 \pm 0,10	3,2 \pm 0,10	2,0 \pm 0,12	1,9 \pm 0,10
рН сладовине	5,62 \pm 0,05	5,71 \pm 0,10	5,82 \pm 0,10	5,90 \pm 0,10	5,70 \pm 0,10	5,85 \pm 0,10	5,82 \pm 0,05	6,0 \pm 0,05
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,70 \pm 0,20	0,71 \pm 0,25	0,62 \pm 0,15	0,60 \pm 0,18	0,75 \pm 0,22	0,68 \pm 0,20	0,67 \pm 0,20	0,57 \pm 0,15
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	151,80 \pm 0,01	120,33 \pm 0,05	92,67 \pm 0,01	79,51 \pm 0,05	144,32 \pm 0,05	115,79 \pm 0,05	90,13 \pm 0,01	76,41 \pm 0,05
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,320 \pm 0,05	1,369 \pm 0,05	1,401 \pm 0,10	1,431 \pm 0,05	1,340 \pm 0,10	1,379 \pm 0,12	1,401 \pm 0,12	1,445 \pm 0,10
Садржај полифенола (mg/l)	176,18 \pm 0,05	170,33 \pm 0,05	167,22 \pm 0,15	151,95 \pm 0,01	179,52 \pm 0,10	171,28 \pm 0,10	166,13 \pm 0,20	146,0 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине смањивао се са порастом удела нативног тритикалеа обе сорте у усипку. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте НС Паун (8,36 \pm 0,01 g/100g). Сви испитивани узорци, обе сорте, имали су нижи садржај екстракта у односу на сладовину произведену из јечменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g). Такође, сви испитивани узорци сладовина произведених модификованим режимом комљења имали су нижи садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом, при истој додатој количини ензима - 50 μ l (табела 11). Из табеле 17, у којој су приказани резултати сладовина произведених модификованом методом без додатка комерцијалног ензима, приметан је већи садржај екстракта у односу на сладовине са додатком 50 μ l ензима произведених модификованим режимом код обе сорте (табела 19).

Време ошећерења се, са повећањем удела тритикалеа обе сорте, продужавало. До удела од 30% било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима. Сладовина удела 70% нативног тритикалеа, обе сорте, није се ошећерила током процеса комљења.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима нативног тритикалеа обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа у усипку, које је, ипак, знатно ниже у поређењу са нативним тритикалеом обе сорте без додатка ензима уз примену модификованог режима комљења (табела 17).

Бистрина сладовине - све испитиване сладовине произведене из тритикалеа обе сорте, биле су бистре. Чак су и сладовине удела тритикалеа од 70% сорте НС Паун, као и удела 50 и 70% сорте Одисеј, биле бистре, што није био случај када је био примењен само модификовани режим без додатка ензима, где су сладовине биле слабо опалне и мутне (табела 17).

Боја сладовине - са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте, боја се смањивала, те се од почетних $3,0 \pm 0,10$ ЕВС јединица за удео од 10% смањила на $1,95 \pm 0,05$ ЕВС јединица за удео од 70% код сорте НС Паун. Смањење код сорте Одисеј је било од почетних $3,5 \pm 0,10$ ЕВС јединица за удео од 10% до $1,9 \pm 0,10$ ЕВС јединица за удео од 70%.

рН сладовине повећавала се са порастом удела нативног тритикалеа обе сорте у усипку, али је при свим испитиваним уделима била у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) - до $6,0$ рН јединица.

Растворљиви азот - све испитиване сладовине произведене од нативног тритикалеа обе сорте биле су у прописаним границама, тј. задовољиле су стандардне вредности прописане за сладовину произведену из светлог слада ($0,55 - 0,75\%$ суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота – само је сладовина произведена из 10% удела нативног тритикалеа сорте НС Паун, са додатком $50 \mu\text{l}$ ензима, имала виши садржај слободног аминок азота у односу на сладовину произведену из јечменог слада ($147,97 \pm 0,02 \text{ mg/l}$) и износила је $151,80 \pm 0,01 \text{ mg/l}$. Запажено је смањење садржаја са повећањем удела тритикалеа у усипку у свим испитиваним уделима. Такође, приметан је утицај додатка $50 \mu\text{l}$ ензима уз примену модификованог режима, како је у сладовини произведеној модификованим режимом комљења, без додатка ензима, у уделу из 10% нативног тритикалеа сорте НС Паун, садржај слободног аминок азота био нижи за око 11%. Ово смањење код сорте Одисеј било је око 8%.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте у усипку, повећавала. Највећа вискозност је одређена у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% ($1,445 \pm 0,10 \text{ mPa}\cdot\text{s}$). Почетно одабрана концентрација комерцијалног ензима знатно је смањила вискозност произведених сладовина, те су све испитиване сладовине оствариле вредности испод прописаних граница по МЕВАК-у (2011), односно биле су ниже од $1,45 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. У поређењу са сладовинама произведених модификованим режимом од нативног тритикалеа обе сорте, без додатка ензима, (табела 17), вискозност се смањила за око 13% у уделу од 70% сорте НС Паун, што је последица додатка комерцијалног ензима. Ово смањење је код сорте Одисеј, удела 70%, било око 30%.

Садржај полифенола био је већи са додатком ензима од 50 μ l у односу на сладовине произведене модификованим режимом без додатка ензима. Са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку, опадао је и садржај полифенола. Већи је одређен код сорте НС Паун, у поређењу са сортом Одисеј.

У Табели 20 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 20. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 10 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 10 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 10 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,37 \pm 0,02	8,30 \pm 0,02	8,27 \pm 0,01	8,12 \pm 0,01	8,40 \pm 0,01	8,29 \pm 0,01	8,22 \pm 0,01	8,21 \pm 0,02
Време ошећерења (минута)	<10	10-15	25-30	>60	<10	10-15	25-30	>60
Брзина филтрације (минута)	12	15	18	20	15	18	20	40
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,6 \pm 0,15	3,5 \pm 0,10	3,0 \pm 0,15	2,2 \pm 0,12	4,0 \pm 0,10	4,0 \pm 0,15	3,6 \pm 0,15	2,2 \pm 0,10
рН сладовине	5,67 \pm 0,12	5,74 \pm 0,12	5,82 \pm 0,10	5,98 \pm 0,10	5,69 \pm 0,12	5,88 \pm 0,10	5,90 \pm 0,10	6,00 \pm 0,10
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,78 \pm 0,22	0,70 \pm 0,15	0,64 \pm 0,15	0,62 \pm 0,12	0,82 \pm 0,12	0,75 \pm 0,12	0,69 \pm 0,12	0,59 \pm 0,20
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	147,15 \pm 0,10	111,87 \pm 0,05	90,35 \pm 0,05	72,29 \pm 0,01	138,29 \pm 0,05	111,17 \pm 0,01	88,16 \pm 0,01	68,96 \pm 0,01
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,410 \pm 0,12	1,455 \pm 0,15	1,483 \pm 0,10	1,490 \pm 0,15	1,416 \pm 0,12	1,489 \pm 0,15	1,505 \pm 0,10	1,521 \pm 0,10
Садржај полифенола (mg/l)	175,88 \pm 0,05	165,78 \pm 0,10	164,12 \pm 0,15	150,05 \pm 0,01	172,32 \pm 0,10	170,45 \pm 0,05	164,25 \pm 0,20	141,05 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз додатак 10 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине смањивао се са порастом удела нативног тритикалеа обе сорте у усипку. Највиши екстракт је одређен у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте Одисеј (8,40 \pm 0,01 g/100g). Сви испитивани узорци, обе сорте, имали су нижи садржај екстракта у односу на сладовину произведену из јечменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g). Сви испитивани узорци сладовина произведених од обе сорте

модификованим режимом комљења, имали су нижи садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом, при истој количини ензима - 10 μ l (табела 12). Такође, из табеле 17, у којој су приказани резултати сладовина произведених модификованом методом без додатка комерцијаног ензима, приметан је већи садржај екстракта у односу на сладовине са додатком 10 μ l ензима са применом модификованог режима комљења (табела 20).

Време ошећерења се, са повећањем удела тритикалеа обе сорте, продужавало. До удела од 30% било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима. Сладовина удела 70% нативног тритикалеа, обе сорте, није се ошећерила током процеса комљења, што је био случај и са додатком 50 μ l ензима.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима нативног тритикалеа обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа у успику, које је, ипак, знатно ниже у поређењу са нативним тритикалеом обе сорте без додатка ензима уз примену модификованог режима комљења (табела 17). Такође, приметно је продужење времена филтрације сладовина обе сорте са додатком 10 μ l ензима у поређењу са додатком 50 μ l ензима у комину (табела 19).

Бистрина сладовине - све испитиване сладовине произведене из тритикалеа обе сорте, биле су бистре Чак су, уз додаток 10 μ l ензима, као и што је био случај са додатком од 50 μ l (табела 19), сладовине удела тритикалеа сорте Одисеј, од 50 и 70%, биле бистре, што није био случај када је био примењен само модификовани режим без додатка ензима, где су сладовине биле слабо опалне и мутне (табела 17).

Боја сладовине - са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте, боја се смањивала, те се од почетних 3,6 \pm 0,15 EBC јединица за удео од 10% смањила на 2,2 \pm 0,12 EBC јединица за удео од 70%. Смањење код сорте Одисеј било је од почетних 4,0 \pm 0,10 EBC јединица за удео од 10% до 2,2 \pm 0,10 EBC јединица за удео од 70%.

рН сладовине повећавала се са порастом удела нативног тритикалеа обе сорте у успику, али је при свим испитиваним уделима била у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - испитиване сладовине произведене од нативног тритикалеа обе сорте, удела 30 - 70%, биле су у прописаним границама, тј. задовољиле су стандардне вредности прописане за сладовину произведену из светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота - све испитиване сладовине имале су нижи садржај слободног аминок азота од сладовине произведене из јечменог слада (147,97 \pm 0,02 mg/l). Сорта НС Паун имала је више вредности испитиваног параметра у односу на сорту Одисеј, али ипак мање у односу на сладовине третиране са 50 μ l ензима.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте у успику, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа

сорте Одисеј од 70% ($1,521 \pm 0,10$ mPa·s). Испитиване сладовине обе сорте, у уделима од 30 до 70%, оствариле су вредности у оквиру прописаних граница по МЕВАК-у (2011), односно биле су више од $1,45$ mPa·s. У поређењу са сладовинама произведеним модификованим режимом од нативног тритикалеа обе сорте са додатком ензима од $50 \mu\text{l}$ (табела 19), приметна је већа вискозност у случају додатка $10 \mu\text{l}$ комерцијалног ензима.

Садржај полифенола био је снижен у односу на сладовине са додатком ензима од $50 \mu\text{l}$. Код сорте НС Паун одређен је већи садржај полифенола у уделима од 10 и 70% тритикалеа у усипку.

У Табели 21 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак $5 \mu\text{l}$ комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 21. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак $5 \mu\text{l}$ комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + $5 \mu\text{l}$ Shearzyme 500L – модификовани режим				Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + $5 \mu\text{l}$ Shearzyme 500L – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	$8,38 \pm 0,02$	$8,31 \pm 0,02$	$8,28 \pm 0,01$	$8,28 \pm 0,01$	$8,42 \pm 0,02$	$8,31 \pm 0,05$	$8,21 \pm 0,05$	$8,20 \pm 0,03$
Време ошећерења (минута)	10-15	15-20	25-30	>60	10-15	15-20	25-30	>60
Брзина филтрације (минута)	14	16	20	24	20	20	33	46
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Бистра	Слабо опална	Слабо опална	Слабо опална
Боја сладовине (ЕВС јединица)	$3,8 \pm 0,10$	$3,6 \pm 0,10$	$3,0 \pm 0,10$	$2,5 \pm 0,15$	$4,2 \pm 0,10$	$4,0 \pm 0,10$	$3,1 \pm 0,10$	$2,7 \pm 0,12$
рН сладовине	$5,70 \pm 0,05$	$5,81 \pm 0,10$	$5,87 \pm 0,05$	$6,0 \pm 0,10$	$5,73 \pm 0,05$	$5,85 \pm 0,12$	$5,89 \pm 0,05$	$6,02 \pm 0,10$
Растворљиви азот (% s.m. *)	$0,90 \pm 0,25$	$0,82 \pm 0,25$	$0,70 \pm 0,25$	$0,69 \pm 0,12$	$0,79 \pm 0,20$	$0,62 \pm 0,20$	$0,62 \pm 0,20$	$0,58 \pm 0,15$
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	$140,06 \pm 0,05$	$110,09 \pm 0,01$	$87,93 \pm 0,05$	$69,71 \pm 0,05$	$135,12 \pm 0,01$	$108,81 \pm 0,01$	$81,60 \pm 0,05$	$67,06 \pm 0,05$
Вискозност (mPas, 8.6%e)	$1,420 \pm 0,10$	$1,497 \pm 0,10$	$1,510 \pm 0,10$	$1,526 \pm 0,12$	$1,530 \pm 0,12$	$1,546 \pm 0,10$	$1,580 \pm 0,10$	$1,617 \pm 0,05$
Садржај полифенола (mg/l)	$172,18 \pm 0,05$	$164,23 \pm 0,10$	$161,05 \pm 0,15$	$148,13 \pm 0,01$	$168,20 \pm 0,10$	$165,05 \pm 0,05$	$160,22 \pm 0,20$	$140,18 \pm 0,10$

* % s.m - % суве материје

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз додатак $5 \mu\text{l}$ комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине смањивао се са порастом удела нативног тритикалеа обе сорте у усипку. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте Одисеј ($8,42 \pm 0,02$ g/100g). Сви испитивани узорци, обе сорте, имали су нижи садржај екстракта у односу на сладовину произведену из јечменог слада ($8,57 \pm 0,01$ g/100g). У поређењу са сладовинама нативног тритикалеа, обе сорте, са додацима 10 и 50 μ l ензима (табеле 19 и 20), сладовине са додатком 5 μ l ензима имале су већи садржај екстракта.

Време ошећерења се, са повећањем удела тритикалеа обе сорте, продужавало. У уделу од 10% било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима. Сладовина удела 70% нативног тритикалеа, обе сорте, није се ошећерила током процеса комљења, што је био случај и са применом 50 и 10 μ l ензима.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима нативног тритикалеа обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа у успику, које је, ипак, знатно ниже у поређењу са нативним тритикалеом обе сорте без додатка ензима уз примену модификованог режима комљења (табела 17). У поређењу са сладовинама нативног тритикалеа са додацима ензима од 10 и 50 μ l применом модификованог режима (табеле 19 и 20), сладовине са додатком 5 μ l ензима имале су дуже време филтрације.

Бистрина сладовине - сви испитивани удели произведених сладовина тритикалеа сорте НС Паун и 10% удела сорте Одисеј, били су бистри, што указује на добру разграђеност наведених несладованих сировина.

Боја сладовине - са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте, боја се смањивала, те се од почетних $3,8 \pm 0,10$ ЕВС јединица за удео од 10% до $2,5 \pm 0,15$ ЕВС јединица за удео од 70% сорте НС Паун. Смањење код сорте Одисеј је било од почетних $4,2 \pm 0,10$ ЕВС јединица за удео од 10% до $2,7 \pm 0,12$ ЕВС јединица за удео од 70%.

рН сладовине повећавала се са порастом удела нативног тритикалеа обе сорте у усипку, али је при свим испитиваним уделима, са изузетком 70% сорте Одисеј, била у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - са повећањем удела тритикалеа обе сорте у усипку, садржај растворљивог азота у сладовини се смањивао. Сладовине произведене из удела тритикалеа сорте НС Паун од 50% и 70% задовољавају стандардне вредности прописане за сладовину произведену од светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје), док су сладовине произведене од 10 и 30% нативног тритикалеа сорте НС Паун имале већу концентрацију од прописаног критеријума. Сладовине произведене из удела тритикалеа сорте Одисеј од 30% до 70% задовољавају стандардне вредности, док је сладовина произведена из 10% нативног тритикалеа сорте Одисеј имала вишу концентрацију растворљивог азота од прописаног критеријума ($0,79 \pm 0,80\%$) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота – највећи садржај имала је сладовина удела 10% сорте НС Паун, који је износио $140,06 \pm 0,05$ mg/l, којије, ипак, био нижи од контролног узорка - сладовине произведене из 100% јечменог слада. Сорте НС Паун имала је више вредности испитиваног параметра у односу на сорту Одисеј, али ипак мање у односу на сладовине третиране са 50 и 10 μ l ензима.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела нативног тритикалеа обе сорте у успику, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% ($1,617 \pm 0,05$ mPa·s). Сладовине произведене у уделима од 30 - 70% - сорте НС Паун и 10 - 50% - сорте Одисеј, биле су у оквиру прописаног критеријума по МЕВАК-у (2011) - до 1,6 mPa·s.

Садржај полифенола био је нижи у односу на сладовине са додатком ензима од 50 и 10 μ l. У уделу од 50 и 70% тритикалеа сорте НС Паун, већи садржај је остварен у односу на сладовине без додатка ензима. У поређењу са конгресним режимом комљења, модификовани режим допринео је већем садржају полифенола у свим испитиваним уделима, обе сорте тритикалеа.

4.2.4.2. Сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

У Табели 22 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 22. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 50 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,42 \pm 0,02	8,55 \pm 0,01	8,62 \pm 0,02	8,73 \pm 0,01	8,38 \pm 0,02	8,50 \pm 0,02	8,53 \pm 0,05	8,66 \pm 0,03
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	10	11	12	15	9	10	11	14
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	2,95 \pm 0,10	3,7 \pm 0,10	4,0 \pm 0,005	4,6 \pm 0,15	3,15 \pm 0,10	3,6 \pm 0,10	4,9 \pm 0,15	5,2 \pm 0,10
рН сладовине	6,01 \pm 0,10	6,03 \pm 0,05	6,02 \pm 0,10	6,05 \pm 0,12	6,04 \pm 0,05	6,04 \pm 0,10	6,07 \pm 0,12	6,08 \pm 0,12
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,79 \pm 0,25	0,82 \pm 0,20	1,09 \pm 0,40	1,15 \pm 0,30	0,77 \pm 0,25	0,85 \pm 0,20	1,10 \pm 0,22	1,18 \pm 0,25
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	162,39 \pm 0,01	169,7 \pm 0,05	192,22 \pm 0,05	198,61 \pm 0,01	155,14 \pm 0,05	162,19 \pm 0,05	185,51 \pm 0,01	192,12 \pm 0,01
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,415 \pm 0,12	1,440 \pm 0,05	1,461 \pm 0,15	1,501 \pm 0,12	1,422 \pm 0,12	1,483 \pm 0,10	1,511 \pm 0,10	1,562 \pm 0,15
Садржај полифенола (mg/l)	185,22 \pm 0,05	189,15 \pm 0,10	192,30 \pm 0,10	198,13 \pm 0,10	180,26 \pm 0,12	188,37 \pm 0,10	192,90 \pm 0,10	195,15 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз додатак 50 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 70% тритикалеа сорте НС Паун (8,73 \pm 0,01 g/100g). Испитивани узорци удела 10 и 30% слада тритикалеа сорте НС Паун и 10 - 50% сорте Одисеј, имали су нижи садржај екстракта у односу на сладовину произведену из јечменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g). Сви испитивани узорци сладовина произведених модификованим режимом комљења уз додатак 50 μ l ензима имали су нижи садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом, при истој додатој количини ензима - 50 μ l (табела 14). Такође, из табеле 18, у којој су приказани резултати сладовина произведених модификованом методом без додатка комерцијалног ензима, приметан је већи садржај екстракта у односу на сладовине са додатком 50 μ l ензима уз примену истог режима комљења.

Време ошећерења се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, није мењало. У свим испитиваним уделима било је краће од 15 минута, што задовољава

критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима оба испитивана слада тритикалеа, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела тритикалеа у успику, које је, ипак, знатно мање у поређењу са сладом тритикалеа обе сорте, без додатка ензима уз примену модификованог режима комљења (табела 18).

Бистрина сладовине - све испитиване сладовине произведене из слада тритикалеа обе сорте, биле су бистре у уделима од 10 до 50%. Ово је био случај и у сладовинама произведених модификованим режимом без додатка ензима (табеле 18), али и када је била примењена конгресна метода уз додаток исте количине ензима - 50 μ l (табела 14).

Боја сладовине - са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, боја се повећавала, те се од почетних 2,95 \pm 0,10 EBC јединица за удео од 10% повећала до 4,6 \pm 0,15 EBC јединица за удео од 70% - сорте НС Паун. Повећање код сорте Одисеј било је од почетних 3,15 \pm 0,10 EBC јединица за удео од 10% до 5,2 \pm 0,10 EBC јединица за удео од 70%.

рН сладовине повећавала се са порастом удела слада тритикалеа обе сорте у успику и при свим испитиваним уделима била је већа од граница прописаних по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - све испитиване сладовине произведене од слада тритикалеа обе сорте, имале су садржај растворљивог азота већи од прописаних граница, тј. нису задовољиле стандардне вредности прописане за сладовину произведену из светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота - запажа се да су све произведене сладовине слада тритикалеа сорте НС Паун са додатком комерцијалног ензима и уз примену модификованог режима комљења имале већи садржај слободног аминок азота у односу на сладовину произведену из јечменог слада (147,97 \pm 0,02 mg/l). Сладовина са уделом од 70% сорте НС Паун имала је највећи садржај овог параметра у односу на све остале произведене сладовине тритикалеа слада (198,61 \pm 0,01 mg/l). У поређењу са конгресном методом, са додатком исте количине ензима - 50 μ l, удела тритикалеа од 70%, приметна је блага предност, како је садржај слободног аминок азота, у том случају, износио 191,36 \pm 0,01mg/l. Додатак 50 μ l комерцијалног ензима је повећао садржај слободног аминок азота у сладовини за око 25% у поређењу са сладовином истог удела у успику, произведене из слада тритикалеа сорте НС Паун без додатка ензима уз примену модификованог режима комљења. Код сорте Одисеј, ово повећање износило је 29%.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте у успику, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј од 70% (1,562 \pm 0,15 mPa·s). Почетно одабрана концентрација комерцијалног ензима знатно је смањила вискозност произведених сладовина, те су

испитиване сладовине удела 10 и 30% сорте НС Паун и удела 10% сорте Одисеј, оствариле вредности испод прописаних граница по МЕВАК-у (2011), односно биле су ниже од 1,45 mPa·s. У поређењу са сладовинама произведеним из слада тритикалеа сорте НС Паун без додатка ензима модификованим режимом (табела 18), вискозност се смањила за 12% у уделу од 70%, што је последица додатка комерцијалног ензима. При истом уделу у сорти Одисеј, смањење вискозности било је за 13%.

Садржај полифенола био је већи у односу на сладовине произведене модификованим режимом без додатка ензима. Као и у претходно анализираним сладовинама, произведеним из слада тритикалеа, и у овом случају се са повећањем удела тритикалеа у усипку повећавао и садржај полифенола.

У Табели 23 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток 10μl комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 23. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток 10μl комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 10μl Shearzyme 500L – модификовани режим				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 10μl Shearzyme 500L – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,48±0,01	8,51±0,02	8,61±0,01	8,74±0,02	8,40±0,02	8,55±0,02	8,60±0,02	8,70±0,01
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	12	14	15	18	15	20	32	47
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Слабо опална	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,4±0,15	4,6±0,10	5,5±0,10	5,7±0,10	3,3±0,15	4,1±0,10	5,0±0,10	6,3±0,10
рН сладовине	6,02±0,05	6,04±0,10	6,05±0,12	6,07±0,05	6,04±0,10	6,05±0,10	6,08±0,10	6,09±0,10
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,77±0,15	0,82±0,22	1,08±0,20	1,19±0,20	0,76±0,14	0,83±0,10	1,10±0,22	1,15±0,15
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	154,18±0,01	159,92±0,01	190,16±0,05	192,71±0,01	150,10±0,05	155,17±0,01	181,13±0,05	188,89±0,05
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,435±0,10	1,466±0,12	1,472±0,15	1,528±0,10	1,461±0,12	1,524±0,10	1,604±0,10	1,679±0,10
Садржај полифенола (mg/l)	181,12±0,05	184,55±0,10	188,33±0,10	190,53±0,10	180,25±0,10	181,07±0,10	182,92±0,10	185,55±0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз додаток 10μl комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку. Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 70% тритикалеа сорте НС Паун ($8,74 \pm 0,02$ g/100g). Испитивани узорци удела 10 и 30% слада тритикалеа обе сорте, имали су нижи садржај екстракта у односу на сладовину произведену из јечменог слада ($8,57 \pm 0,01$ g/100g). Сви испитивани узорци сладовина произведених модификованим режимом комљења уз додатак ензима од 10 μ l имали су нижи садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом, при истој додатој количини ензима - 10 μ l (табела 15). Такође, из табеле 18, у којој су приказани резултати сладовина произведених модификованом методом, без додатка комерцијалног ензима, приметан је већи садржај екстракта у односу на сладовине са додатком 10 μ l ензима уз примену модификованог режима комљења (табела 23).

Време ошећерења се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, није мењало. У свим испитиваним уделима било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима слада обе сорте, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење трајања филтрације са повећавањем удела слада тритикалеа обе сорте у усипку, које је било, ипак, знатно ниже у поређењу са сладом тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј без додатка ензима уз примену модификованог режима комљења (табела 18). Из табеле 15, где су приказани резултати сладовина произведених конгресном методом са додатком 10 μ l ензима, примећује се смањење брзине филтрације у случају додатка 10 μ l ензима и примене модификованог режима комљења, у обе испитиване сорте.

Бистрина сладовине - испитиване сладовине произведене из слада тритикалеа сорте НС Паун удела 10 - 50%, као и удела 10 и 30% - сорте Одисеј, биле су бистре. Ово је био случај и у сладовинама произведеним конгресном методом, уз додатак исте количине ензима - 10 μ l (табела 15).

Боја сладовине - са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, боја се повећавала, те се од почетних $3,4 \pm 0,15$ EBC јединица за удео од 10% повећала до $5,7 \pm 0,10$ EBC јединица за удео од 70% сорте НС Паун. Повећање код сорте Одисеј било је од почетних $3,3 \pm 0,15$ EBC јединица за удео од 10% до $6,3 \pm 0,10$ EBC јединица за удео од 70%.

pH сладовине повећавала се са порастом удела слада тритикалеа обе сорте у усипку и при свим испитиваним уделима била је већа од граница прописаних по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 pH јединица.

Растворљиви азот - све испитиване сладовине произведене из слада тритикалеа обе сорте, имале су садржај растворљивог азота већи од прописаних граница, тј. нису задовољиле стандардне вредности прописане за сладовину произведену од светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота - највећи садржај имала је сорта НС Паун, удела од 70% тритикалеа у усипку, што је био случај и у претходно анализираним сладовинама произведеним из слада тритикалеа. Са повећањем удела слада тритикалеа у усипку, повећавао се и садржај слободног аминок азота. Такође, приметан је мањи садржај овог параметра у свим анализираним сладовинама, у односу на додатак ензима од 50 μ l.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте у усипку, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом тритикалеа сорте Одисеј са 70% (1,679 \pm 0,10 mPa·s). Испитиване сладовине удела од 30 до 70% сорте НС Паун, као и 10 и 30% сорте Одисеј, оствариле су вредности у границама прописаним по МЕВАК-у (2011) (1,45 - 1,6 mPa·s). У поређењу са сладовинама произведеним модификованим режимом из слада тритикалеа обе сорте са додатком 50 μ l ензима, (табела 22), у случају примене истог режима комљења са мањом количином ензима - 10 μ l, била је остварена већа вискозност. Такође, применом модификованог режима и додатка 10 μ l ензима, била је остварена мања вискозност у односу на конгресни режим комљења слада обе испитиване сорте тритикалеа (табела 15).

Садржај полифенола био је нижи у односу на сладовине са додатим ензимом од 50 μ l, што је био случај и са сладовинама произведеним конгресним режимом комљења.

У Табели 24 приказани су резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења, поређених са сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 24. Резултати анализе сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L применом модификованог режима комљења

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5 μ л Shearzyme 500L – модификовани режим				Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5 μ л Shearzyme 500L – модификовани режим			
	10%	30%	50%	70%	10%	30%	50%	70%
Екстракт сладовине (g/100g)	8,52 \pm 0,02	8,57 \pm 0,01	8,62 \pm 0,01	8,77 \pm 0,01	8,41 \pm 0,01	8,50 \pm 0,02	8,67 \pm 0,02	8,71 \pm 0,01
Време ошећерења (минута)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Брзина филтрације (минута)	13	13	16	19	16	30	47	>60
Бистрина сладовине	Бистра	Бистра	Бистра	Мутна	Бистра	Бистра	Мутна	Мутна
Боја сладовине (ЕВС јединица)	3,3 \pm 0,10	4,8 \pm 0,15	5,2 \pm 0,20	5,8 \pm 0,14	4,0 \pm 0,10	4,4 \pm 0,15	5,2 \pm 0,10	6,2 \pm 0,10
рН сладовине	6,01 \pm 0,05	6,06 \pm 0,10	6,06 \pm 0,10	6,09 \pm 0,05	6,08 \pm 0,10	6,09 \pm 0,10	6,07 \pm 0,10	6,09 \pm 0,12
Растворљиви азот (% s.m.*)	0,80 \pm 0,20	0,84 \pm 0,12	1,07 \pm 0,22	1,16 \pm 0,24	0,82 \pm 0,25	0,88 \pm 0,20	0,99 \pm 0,20	1,16 \pm 0,20
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	150,30 \pm 0,05	151,62 \pm 0,05	186,05 \pm 0,05	188,18 \pm 0,05	148,51 \pm 0,05	152,02 \pm 0,05	180,21 \pm 0,05	184,42 \pm 0,05
Вискозност (mPas, 8.6%e)	1,438 \pm 0,12	1,482 \pm 0,10	1,520 \pm 0,10	1,562 \pm 0,10	1,481 \pm 0,12	1,548 \pm 0,15	1,643 \pm 0,10	1,720 \pm 0,15
Садржај полифенола (mg/l)	177,15 \pm 0,05	180,15 \pm 0,10	187,03 \pm 0,10	188,55 \pm 0,10	172,15 \pm 0,10	177,27 \pm 0,20	180,02 \pm 0,10	182,36 \pm 0,10

* % s.m - % суве материје

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз додатак 5 μ л комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених сладовина на следећи начин:

Екстракт сладовине повећавао се са порастом удела слада тритикалеа, обе сорте у усипку. Највећи екстракт одређен је у сладовини произведеној из 10% тритикалеа сорте НС Паун (8,77 \pm 0,01 g/100g). Анализирани узорци сладовина удела 10% сорте НС Паун, као и удела 10 и 30% сорте Одисеј, имали су нижи садржај екстракта у односу на сладовину произведену из јечменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g). Сви испитивани узорци сладовина произведених модификованим режимом комљења уз додатак 5 μ л ензима имали су нижи садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом, при истој додатој количини ензима - 5 μ л (табела 16). Такође, из табеле 18, у којој су приказани резултати сладовина произведених модификованом методом без додатка комерцијалног ензима, приметан је већи садржај екстракта у односу на сладовине са додатком 5 μ л ензима уз примену истог режима комљења (табела 24).

Време ошећерења се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, није мењало. У свим испитиваним уделима било је краће од 15 минута, што задовољава критеријум по МЕВАК-у (2011) за светли слад (до 15 минута) и указује на добру активност амилолитичких ензима.

Брзина филтрације била је прихватљива при свим испитиваним уделима слада тритикалеа сорте НС Паун и у уделима 10 - 50% слада сорте Одисеј, тј. филтрација је трајала краће од 60 минута. Примећује се постепено продужење брзине филтрације са повећавањем удела тритикалеа обе сорте у усипку, које је, ипак, знатно ниже у поређењу са сладовинама без додатка ензима уз примену модификованог режима комљења (табела 18). Из табеле 16, где су приказани резултати сладовина произведених конгресном методом са додатком 5 μ l ензима, примећује се благо смањење брзине филтрације у случају додатка 5 μ l ензима уз примену модификованог режима комљења у обе испитиване сорте.

Бистрина сладовине - испитиване сладовине произведене из слада тритикалеа сорте НС Паун удела 10 - 50%, као и удела 10 и 30% - сорте Одисеј, биле су бистре. Ово је био случај и у сладовинама када је била примењена конгресна метода уз додаток исте количине ензима - 5 μ l (табела 16).

Боја сладовине - са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте, боја се повећавала, те се од почетних 3,3 \pm 0,10 EBC јединица за удео од 10% повећала до 5,8 \pm 0,14 EBC јединица за удео од 70% сорте НС Паун. Повећање код сорте Одисеј било је од почетних 4,0 \pm 1,10 EBC јединица за удео од 10% до 6,2 \pm 0,10 EBC јединица за удео од 70%.

рН сладовине повећавала се са порастом удела слада тритикалеа обе сорте у усипку и при свим испитиваним уделима била је већа од граница прописаних по МЕВАК-у (2011) - до 6,0 рН јединица.

Растворљиви азот - све испитиване сладовине произведене од слада тритикалеа обе сорте, имале су садржај растворљивог азота већи од прописаних граница, тј. нису задовољиле стандардне вредности прописане за сладовину произведену од светлог слада (0,55 - 0,75% суве материје) (Лескошек - Чукаловић, 2002).

Садржај слободног аминок азота - највећи садржај имала је сорта НС Паун, удела од 70% тритикалеа у усипку, што је био случај и у претходно анализираним сладовинама произведеним из слада тритикалеа (188,18 \pm 0,05 mg/l). Такође, приметан је мањи садржај овог параметра у свим анализираним сладовинама, у односу на додаток ензима од 50 и 10 μ l.

Вискозност сладовине се, са повећањем удела слада тритикалеа обе сорте у усипку, повећавала. Највећа вискозност одређена је у сладовини са уделом слада тритикалеа сорте Одисеј од 70% (1,720 \pm 0,15 mPa·s). Испитиване сладовине удела од 30 до 70% слада сорте НС Паун и 10 и 30% слада сорте Одисеј, оствариле су вредности у границама прописаних по МЕВАК-у (2011) (1,45 - 1,6 mPa·s). У поређењу са сладовинама произведеним из слада тритикалеа обе сорте модификованим режимом са додацима 50 и 10 μ l ензима (табеле 22 и 23), већа вискозност била је остварена у случају примене 5 μ l ензима.

Садржај полифенола био је нижи у односу на сладовине са додатком 50 и 10 μ l ензима. Као и у претходно анализираним сладовинама произведеним из слада тритикалеа, и у овом случају се са повећањем тритикалеа у усипку, повећавао и

садржај полифенола. У поређењу са сладовинама произведеним модификованим режимом, без додатка ензима, нижи садржај полифенола запажен је у случају додатка 5µl ензима.

4.2.5. Примена методе одзивне површине

У докторској дисертацији коришћена је метода планирања експеримента, у оквиру које је посматрана метода одзивне површине, помоћу које је праћен утицај улазних на излазне параметре. Као независне променљиве одређене су сорта/форма (1- нативни тритикале сорта НС Паун; 2 - нативни тритикале сорта Одисеј; 3 - слад тритикалеа сорта НС Паун; 4 - слад тритикалеа сорта Одисеј) и удео тритикалеа у усипку. Зависне променљиве биле су: екстракт сладовине, вискозност и садржај слободног аминок азота.

Добијене зависности приказане су у Табели 25, а добијени графички прикази се налазе у Прилогу (слике 38 - 40).

Табела 25. Утицај зависних у односу на независне променљиве

Ознака	Променљиве		Једначине
	Зависне	Независне	
RSM1	Екстракт сладовине	Удео и сорта	Екстракт сладовине (g/100g) = $8.3937+0.1284*x-0.0063*y-0.0137*x*x+0.0019*x*y+1.0469E-5*y*y$
RSM2	Вискозност	Удео и сорта	Вискозност (mPa·s) = $1.5124+0.1164*x+0.0006*y-0.0286*x*x-0.0001*x*y+5.7031E-5*y*y$
RSM3	Слободни аминок азот	Удео и сорта	Слободни аминок азот (mg/l) = $137.8348+1.6936*x-2.358*y-0.9319*x*x+0.5303*x*y+0.0088*y*y$

4.3. Анализа произведених охмељених сладовина – фаза 3

Трећа фаза истраживања обухватала је анализе охмељених сладовина произведених из сладовина нативног тритикалеа, као и слада тритикалеа обе испитиване сорте. Како су у претходној фази истраживања урађени експерименти са уделима нативног и слада тритикалеа од 10, 30, 50 и 70% у усипку, без или са додатком ензима у три различите запремине - 50, 10 и 5 µl, у фази производње охмељених сладовина, одабрани су удели тритикалеа и количине ензима који су дали најбоље резултате у производњи сладовина. Одабране сладовине куване су са хмељом и инокулисане квасцем, како би се извршила ферментација и произвело младо пиво. Као најважнији параметри квалитета сладовина, истичу се:

- садржај екстракта
- вискозност и
- садржај слободног аминок азота.

Сходно томе, били су кључни при одабиру удела нативног и слада тритикалеа, као и количине додатог ензима. На основу анализа сладовина, закључено је да је

додатак 50 и 10 μ l ензима знатно смањио вискозност сладовина, чак испод прописаног критеријума од 1,45 mPa·s (МЕВАК, 2011). Такође, већа количина ензима (50 и 10 μ l) у сладовини утицала је на смањење садржаја екстракта. Из тог разлога, одабрана количина комерцијалног ензима била је 5 μ l. Сладовина произведена из удела од 70% нативног тритикалеа, као и слада тритикалеа је, углавном, имала већу вискозност од прописане по МЕВАК-у (2011) (1,45 - 1,6 mPa·s). Осим тога, сладовине наведеног удела тритикалеа имале су низак садржај екстракта. Како у пиварским аналитикама не постоји тачно дефинисан опсег садржаја екстракта сладовине, тако су у овој докторској дисертацији за хмељење одабране сладовине чија је вредност била што приближнија оној која је одређена у сладовини произведеној из јечеменог слада (8,57 \pm 0,01 g/100g) или је била већа. Садржај слободног аминокисељног азота значајан је параметар од ког зависи успешност ферментације. Из тог разлога, предност је дата сладовинама које су имале већу вредност овог параметра, односно не мању од 110mg/l (МЕВАК, 2011). Као додатни параметар, који је утицао на одабир сладовина за даљи процес производње пива, је време ошећерења. Сматра се да су узорци, који се нису ошећерили током комљења, неподобни за даљи процес производње пива. Произведене сладовине од 70% нативног, као и слада тритикалеа, биле су мутне, што је, такође, одлика која може негативно утицати на даљи процес производње пива, те су ове сладовине искључене из даљих анализа. Из наведених разлога, одабрани удели нативног и слада тритикалеа, за даљу производњу охмелене сладовине и пива, били су 10, 30 и 50%.

Током кувања сладовине са хмељом, тежи се да количина додатог хмеља одговара типу пива који се производи, па је тако у овој докторској дисертацији количина хмеља била прерачуната на основу садржаја α -киселина, на запремину сладовине која се кувала са хмељом, како би се постигла горчина која одговара пилзенском типу пива - од 28 до 40 BU („Bitterness units“ - јединице горчине) (Пејин, 2019).

Производња охмелених сладовина подељена је у 4 фазе. Праћени су утицаји додатка комерцијалног ензима, примене конгресне методе, као и модификованог режима комљења на испитиване параметре квалитета произведених охмелених сладовина. Сви експерименти изведени су у три понављања, а резултати су изражени као аритметичка средина \pm стандардна девијација.



Квалитет свих охмељених сладовина поређен је са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада, чији се резултати анализе приказани у Табели 26.

Табела 26. Резултати анализе охмељене сладовине произведене из јечменог слада

Параметар	Јечмени слад
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,468±0,01
Боја сладовине (ЕВС јединица)	9,0±0,07
рН сладовине	5,81±0,02
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,460±0,05
Растворљиви азот (mg/l)	648±0,15
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	189,02±0,05
Горчина (јединице горчине - BU)	42,01±0,12
Садржај полифенола (mg/l)	162,17±0,05

Резултати анализе хмеља, коришћеног у оквиру ове докторске дисертације, приказани су у Табели 27.

Табела 27. Резултати анализе хмеља

Параметар	Хмељ
Садржај влаге (%)	8,47±0,01
Укупне смоле (%)	9,01±0,02
α-киселине (%)	5,81±0,02

4.3.1. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа – фаза 3.1

У оквиру докторске дисертације произведене су охмељене сладовине из нативног тритикалеа, као и из слада тритикалеа у различитим уделима у укупној - 10, 30 и 50%, у циљу процене квалитета тритикалеа као потенцијалне замене јечменог слада у производњи охмељене сладовине, односно пива.

У фази 3.1, сладовине, које су произведене конгресном методом - стандардним поступком комљења (МЕВАК, 2011), куване су са хмељом, те је вршена њихова анализа.

4.3.1.1. Охмељене сладовине произведене из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

У Табели 28 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 28. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку			Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,467±0,00	8,401±0,01	8,343±0,01	8,466±0,01	8,392±0,02	8,312±0,00
Боја сладовине (ЕВС јединица)	8,02±0,03	8,07±0,06	8,51±0,04	9,04±0,04	11,05±0,05	12,02±0,03
рН сладовине	5,71±0,01	5,81±0,02	5,90±0,01	5,88±0,01	5,92±0,01	5,95±0,00
Вискозност (мПа·с, 8.6%е)	1,503±0,08	1,588±0,09	1,621±0,05	1,512±0,05	1,588±0,08	1,625±0,08
Растворљиви азот (mg/l)	714±0,22	648±0,30	637±0,32	751±0,21	688±0,12	607±0,18
Слободни аминокиселини азот (mg/l)	170,38±0,05	159,52±0,05	155,20±0,05	181,37±0,05	164,67±0,05	160,10±0,05
Горчина (јединице горчине - ВU)	40,27±0,25	41,27±0,25	45,40±0,36	40,04±0,05	41,98±0,08	44,07±0,06
Садржај полифенола (mg/l)	155,18±0,10	141,66±0,05	138,87±0,05	150,22±0,10	137,88±0,05	129,17±0,05

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа обе испитиване сорте у усипку. Већи садржај екстракта одређен је у сорти НС Паун. Ниједна испитивана охмељена сладовина, произведена од нативног тритикалеа, није имала виши садржај екстракта од охмељене сладовине произведене из јечменог слада (8,468±0,01 g/100g).

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Током хмељења, боја се повећава услед настајања меланоидина и танина који оксидишу, што утиче на повећање боје (Пејин, 2019). Највећа боја одређена је у уделу нативног тритикалеа од 50% сорте Одисеј и износила је 12,02±0,03 ЕВС јединица. Све одређене боје сорте НС

Паун биле су мање у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада ($9,0 \pm 0,07$ ЕВС јединица).

рН вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку, али била мања у поређењу са резултатима сладовина, што је потврђено у истраживањима Mishra и Speers (2020) и Pinto и сарадника (2023).

Вискозност - у свим испитиваним охмељеним сладовинама, вискозност је била већа у поређењу са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада ($1,460 \pm 0,05$ mPa·s). Сорта Одисеј остварила је веће вредности овог параметра у свим уделима у односу на сорту НС Паун. Такође, поредећи са анализама сладовина произведеним из нативног тритикалеа обе сорте (табела 9), приметна је мања вискозност сладовина након хмељења.

Растворљиви азот - приметно је смањење овог параметра са повећањем садржаја нативног тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај растворљивог азота имала је сладовина са 10% нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку, који је износио $751 \pm 0,21$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - произведене охмељене сладовине нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, имале су мањи садржај слободног аминок азота у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада ($189,05 \pm 0,02$ mg/l). Са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота се смањивао.

Горчина се постепено повећавала са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку. Већа горчина остварена је у охмељеним сладовинама сорте НС Паун.

Садржај полифенола - присутни полифеноли, током кувања са хмељом, реагују са протеинима, формирајући комплексе који се таложе након завршетка хмељења (Gresser, 2009). Из тог разлога, садржај полифенола у охмељеној сладовини мањи је од оног у сладовини. Садржај полифенола у охмељеним сладовинама произведеним из нативног тритикалеа, смањивао се са повећањем удела тритикалеа у усипку. Сви добијени резултати испитиваног параметра били су мањи од садржаја полифенола у контролном узорку - охмељеној сладовини произведеној из јечменог слада ($162,17 \pm 0,05$ mg/l).

4.3.1.2. Охмељене сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

У Табели 29 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 29. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку			Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,566±0,00	8,619±0,01	8,781±0,01	8,544±0,01	8,612±0,00	8,698±0,01
Боја сладовине (ЕВС јединица)	10,05±0,05	13,98±0,02	15,98±0,03	10,98±0,03	15,54±0,05	17,41±0,09
рН сладовине	5,80±0,01	5,87±0,02	5,92±0,02	5,84±0,01	5,87±0,01	5,94±0,02
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,501±0,02	1,508±0,03	1,543±0,05	1,509±0,05	1,518±0,05	1,603±0,08
Растворљиви азот (mg/l)	662±0,20	712±0,20	788±0,10	655±0,12	722±0,12	754±0,10
Слободни аминокиселини азот (mg/l)	175,13±0,02	177,47±0,05	185,53±0,01	162,24±0,02	169,84±0,05	177,50±0,02
Горчина (јединице горчине - BU)	40,01±0,03	42,02±0,03	46,19±0,01	40,47±0,03	41,52±0,02	47,03±0,03
Садржај полифенола (mg/l)	149,07±0,05	150,12±0,05	169,15±0,10	141,27±0,05	146,22±0,05	158,02±0,10

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина се, за разлику од охмељених сладовина произведених од нативног тритикалеа, повећавао са повећањем удела слада тритикалеа обе испитиване сорте, у усипку. Већи садржај екстракта био је одређен у сорти НС Паун, у свим испитиваним уделима, у поређењу са сортом Одисеј. Све испитиване охмељене сладовине произведене од слада тритикалеа, имале су већи садржај екстракта од охмељене сладовине произведене из јечменог слада (8,468±0,01 g/100g). Највећи садржај екстракта одређен је у охмељеној сладовини са уделом 50% тритикалеа сорте НС Паун који је износио 8,781±0,01 g/100g.

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећа боја одређена је у охмељеној сладовини произведеној из 50% удела слада тритикалеа сорте Одисеј и износила је 17,41±0,09 ЕВС јединица. Све одређене боје охмељених сладовина сорте НС Паун, имале су ниже вредности у односу на охмељене сладовине произведене из сорте Одисеј. Све испитиване охмељене сладовине слада тритикалеа имале су већу боју у поређењу са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

рН вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Вискозност - у свим испитиваним охмељеним сладовинама, вискозност је била већа у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (1,460±0,05 mPa·s). Сорте слада тритикалеа Одисеј остварила је веће вредности овог параметра у

свим уделима у односу на сорту НС Паун. Највећа вискозност одређена је у охмељеној сладовини 50% удела слада тритикалеа сорте Одисеј ($1,603 \pm 0,08$ mPa·s).

Растворљиви азот - приметно је повећање овог параметра са повећањем садржаја слада тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај растворљивог азота имала је сладовина са 50% удела сорте НС Паун, који је износио $788 \pm 0,10$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - са повећањем удела слада тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота се повећавао. Највећи је запажен код охмељене сладовине сорте НС Паун, удела 50% - $185,53 \pm 0,01$ mg/l, што је, ипак, мањи садржај од оног из контролног узорка – 100% јечменог слада.

Горчина се постепено повећавала, са повећањем удела слада тритикалеа у усипку.

Садржај полифенола - са повећањем удела тритикалеа у усипку, садржај полифенола се, такође, повећавао. Највећи је одређен у охмељеној сладовини сорте НС Паун, удела од 50% - $169,15 \pm 0,10$ mg/l, који је био већи и од оног одређеног у контролном узорку - $162,17 \pm 0,05$ mg/l.

4.3.2. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима – фаза 3.2

У фази 3.2 произведене су охмељене сладовине од нативног тритикалеа, као и од слада тритикалеа у различитим уделима у усипку - 10, 30 и 50% са додатком комерцијалног ензима од 5 μ l. Сладовине су произведене конгресном методом - стандардним поступком комљења (МЕВАК, 2011).

4.3.2.1. Охмељене сладовине произведене из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима

У Табели 30 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 30. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L			Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,389 \pm 0,00	8,304 \pm 0,01	8,290 \pm 0,01	8,349 \pm 0,01	8,262 \pm 0,02	8,232 \pm 0,00
Боја сладовине (ЕВС јединица)	5,08 \pm 0,03	6,02 \pm 0,03	8,48 \pm 0,02	5,03 \pm 0,03	8,03 \pm 0,03	9,02 \pm 0,03
pH сладовине	5,63 \pm 0,01	5,75 \pm 0,01	5,78 \pm 0,01	5,76 \pm 0,01	5,80 \pm 0,01	5,87 \pm 0,02
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,411 \pm 0,05	1,420 \pm 0,02	1,427 \pm 0,06	1,440 \pm 0,09	1,462 \pm 0,07	1,488 \pm 0,07
Растворљиви азот (mg/l)	756 \pm 0,20	711 \pm 0,22	662 \pm 0,11	766 \pm 0,15	710 \pm 0,16	652 \pm 0,15
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	156,10 \pm 0,02	150,07 \pm 0,05	145,16 \pm 0,015	178,54 \pm 0,02	168,32 \pm 0,05	149,54 \pm 0,05
Горчина (јединице горчине - BU)	37,53 \pm 0,50	40,08 \pm 0,03	41,13 \pm 0,12	37,07 \pm 0,06	39,13 \pm 0,12	40,02 \pm 0,03
Садржај полифенола (mg/l)	157,06 \pm 0,10	142,16 \pm 0,05	141,07 \pm 0,10	153,12 \pm 0,10	140,80 \pm 0,05	130,15 \pm 0,05

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак ензима утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа обе испитиване сорте у усипку, што је био случај и у охмељеним сладовинама без додатка ензима. Већи садржај екстракта био је одређен у сорти НС Паун, у свим уделима. Ниједна испитивана охмељена сладовина, произведена од нативног тритикалеа обе сорте, није имала виши садржај екстракта од охмељене сладовине произведене из јечменог слада (8,468 \pm 0,01 g/100g).

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећа боја одређена је у уделу нативног тритикалеа од 50% сорте Одисеј и износила је 9,02 \pm 0,03 ЕВС јединица. Све одређене боје охмељених сладовина сорте НС Паун, имале су ниже вредности у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (9,0 \pm 0,07 ЕВС јединица).

pH вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Вискозност - у свим испитиваним охмељеним сладовинама сорте НС Паун, вискозност је била мања у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (1,460 \pm 0,05 mPa·s). Сорте нативног тритикалеа Одисеј остварила је веће вредности овог параметра у свим уделима у односу на сорту НС Паун. Поредећи са

охмељеним сладовинама произведеним без додатка ензима, приметан је утицај ензима на смањење вискозности у свим испитиваним уделима нативног тритикалеа обе испитиване сорте тритикалеа.

Растворљиви азот - приметно је смањење овог параметра са повећањем садржаја нативног тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај растворљивог азота имала је сладовина са 10% нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку, који је износио $766 \pm 0,15$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - запажено је да су охмељене сладовине са додатком ензима имале веће вредности слободног аминок азота у односу на сладовине које су произведене без додатка комерцијалног ензима. Највећи садржај имала је охмељена сладовина сорте Одисеј, удела од 10% - $178,54 \pm 0,02$ mg/l.

Горчина се постепено повећавала, са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку. Већа горчина добијена је у сладовинама сорте НС Паун. Ниједна испитивана охмељена сладовина није имала горчину већу од охмељене сладовине произведене из јечменог слада.

Садржај полифенола – охмељене сладовине са додатком комерцијалног ензима имале су садржај полифенола већи у односу на охмељене сладовине које нису третиране ензимом, што је у корелацији са резултатима испитиваних сладовина. Највећа вредност остварена је у узорку удела 10%, сорте НС Паун - $157,06 \pm 0,10$.

4.3.2.2. Охмељене сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток комерцијалног ензима

У Табели 31 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток 5μl комерцијалног ензима Shearzyme 500L, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 31. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L			Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,521 \pm 0,01	8,605 \pm 0,00	8,723 \pm 0,00	8,441 \pm 0,02	8,587 \pm 0,01	8,661 \pm 0,01
Боја сладовине (ЕВС јединица)	6,99 \pm 0,01	9,97 \pm 0,03	10,99 \pm 0,03	7,02 \pm 0,03	10,02 \pm 0,05	11,98 \pm 0,03
pH сладовине	5,69 \pm 0,01	5,90 \pm 0,02	5,98 \pm 0,01	5,77 \pm 0,01	5,91 \pm 0,01	5,93 \pm 0,01
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,422 \pm 0,10	1,460 \pm 0,05	1,502 \pm 0,06	1,420 \pm 0,02	1,452 \pm 0,05	1,476 \pm 0,05
Растворљиви азот (mg/l)	725 \pm 0,10	792 \pm 0,15	833 \pm 0,11	765 \pm 0,10	792 \pm 0,11	825 \pm 0,15
Слободни аминокиселини азот (mg/l)	183,78 \pm 0,01	188,90 \pm 0,01	190,18 \pm 0,01	180,05 \pm 0,01	185,31 \pm 0,01	188,85 \pm 0,01
Горчина (јединице горчине - BU)	36,98 \pm 0,03	40,51 \pm 0,01	44,30 \pm 0,03	38,63 \pm 0,03	40,53 \pm 0,03	44,50 \pm 0,03
Садржај полифенола (mg/l)	155,15 \pm 0,05	160,12 \pm 0,05	170,01 \pm 0,10	144,18 \pm 0,05	147,02 \pm 0,05	150,11 \pm 0,10

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак ензима утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина повећавао се са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку. Већи садржај екстракта био је одређен у сорти НС Паун, у свим уделима. Све испитиване охмељене сладовине, осим сладовине удела 10% слада сорте Одисеј, имале су већи садржај екстракта од охмељене сладовине произведене из јечменог слада (8,468 \pm 0,01 g/100g). Највећи садржај екстракта одређен је у охмељеној сладовини удела 50% у усипку, сорте НС Паун, који је износио 8,723 \pm 0,00 g/100g.

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећа боја одређена је у уделу слада тритикалеа од 50% сорте Одисеј и износила је 11,98 \pm 0,03 ЕВС јединица. Све одређене боје сорте НС Паун имале су ниже вредности у односу на охмељене сладовине произведене из сорте Одисеј. Испитиване охмељене сладовине слада тритикалеа обе сорте, у уделима од 30 и 50%, имале су већу боју у поређењу са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

pH вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Вискозност - у испитиваним охмељеним сладовинама, удела 10 и 30% слада тритикалеа обе сорте, вискозност је била иста или мања у односу на охмељену

сладовину произведену из јечменог слада ($1,460 \pm 0,05$ mPa·s). Највећа вискозност одређена је у уделу од 50% слада тритикалеа сорте НС Паун ($1,502 \pm 0,06$ mPa·s).

Растворљиви азот - приметно је повећање овог параметра са повећањем садржаја слада тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај растворљивог азота имала је сладовина са 50% слада тритикалеа сорте НС Паун, који је износио $833 \pm 0,11$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - само је охмељена сладовина слада сорте НС Паун, удела од 50% са додатком ензима, имала вредност овог параметра већу од охмељене сладовине произведене из јечменог слада и износила је $190,18 \pm 0,01$ mg/l. Приметно је да су охмељене сладовине, са додатком ензима, имале већи садржај слободног аминок азота у односу на сладовине које нису третиране ензимом.

Горчина се постепено повећавала, са повећањем удела слада тритикалеа у усипку.

Садржај полифенола – као што је био случај и у сладовинама третираним ензимом, и у охмељеним сладовинама са додатком ензима остварен је већи садржај полифенола. Највећи садржај имао је узорак сорте НС Паун, удела од 50% - $170,01 \pm 0,10$, који је био већи од оног оствареног у контролном узорку - $162,17 \pm 0,05$ mg/l.

4.3.3. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз примену модификованог режима комљења – фаза 3.3

У фази 3.3, произведене су охмељене сладовине од нативног тритикалеа, као и од слада тритикалеа у различитим уделима у усипку - 10, 30 и 50% уз примену модификованог режима комљења.

4.3.4.1. Охмељене сладовине произведене из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

У Табели 32 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 32. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку – модификовани режим			Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку – модификовани режим		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,442±0,01	8,361±0,01	8,289±0,01	8,357±0,02	8,353±0,02	8,288±0,00
Боја сладовине (ЕВС јединица)	7,45±0,05	8,05±0,05	8,60±0,17	6,03±0,03	9,10±0,10	10,05±0,06
рН сладовине	5,66±0,01	5,71±0,01	5,76±0,01	5,81±0,01	5,86±0,01	5,89±0,01
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,445±0,09	1,505±0,09	1,588±0,03	1,480±0,05	1,520±0,09	1,599±0,05
Растворљиви азот (mg/l)	734±0,20	658±0,10	617±0,30	771±0,25	690±0,10	615±0,18
Слободни аминокислотни азот (mg/l)	183,23±0,01	166,55±0,01	156,24±0,01	166,60±0,01	160,22±0,01	150,55±0,01
Горчина (јединице горчине - BU)	42,13±0,32	43,30±0,26	44,10±0,10	42,10±0,10	43,83±0,29	45,73±0,25
Садржај полифенола (mg/l)	156,01±0,10	145,06±0,05	138,17±0,05	152,15±0,10	140,15±0,05	136,19±0,05

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз примену модификованог режима, утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку. Већи садржај екстракта био је одређен у сорти НС Паун, у свим испитиваним уделима, у поређењу са сортом Одисеј. Ниједна испитивана охмељена сладовина, произведена из нативног тритикалеа обе сорте, није имала виши садржај екстракта од охмељене сладовине произведене из јечменог слада (8,468±0,01 g/100g). У поређењу са резултатима добијеним у испитивању охмељених сладовина произведених конгресном методом, приметан је нижи садржај екстракта применом модификоване методе комљења.

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећа боја одређена је у уделу нативног тритикалеа од 50% сорте Одисеј и износила је 10,05±0,06 ЕВС јединица. Све одређене боје охмељене сладовине сорте НС Паун имале су ниже вредности у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (9,0±0,07 ЕВС јединица).

рН вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Вискозност - у свим испитиваним охмељеним сладовинама, осим сладовине удела 10% сорте НС Паун, вискозност је била већа у односу на охмељену сладовину

произведену из јечменог слада ($1,460 \pm 0,05$ mPa·s). Сорта нативног тритикалеа Одисеј остварила је веће вредности овог параметра, у свим уделима, у односу на сорту НС Паун. У поређењу са резултатима одређеним у испитивању охмељених сладовина произведеним конгресном методом, приметна је нижа вискозност када је био примењен модификовани режим комљења.

Растворљиви азот - приметно је смањење овог параметра са повећањем садржаја нативног тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај растворљивог азота имала је сладовина са 10% нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку, који је износио $771 \pm 0,25$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - запажено је да су све произведене охмељене сладовине нативног тритикалеа, обе испитиване сорте, уз примену модификованог режима комљења, имале мањи садржај слободног аминок азота у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада ($189,05 \pm 0,02$ mg/l). Са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота се смањивао. Највећи је остварен у охмељеној сладовини сорте НС Паун, удела од 10% - $183,23 \pm 0,01$ mg/l. У поређењу са охмељеним сладовинама произведеним применом конгресне методе, примећен је виши садржај слободног аминок азота у свим уделима сорте НС Паун.

Горчина се постепено повећавала, са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку.

Садржај полифенола смањивао се са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећи је одређен у уделу од 10% сорте НС Паун - $156,01 \pm 0,10$ mg/l. У поређењу са охмељеним сладовинама произведеним конгресном методом, у случају примене модификованог режима комљења, остварен је већи садржај полифенола са изузетком узорка сорте НС Паун, удела од 50% тритикалеа у усипку.

4.3.4.2. Охмељене сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

У Табели 33 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 33. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

Параметар	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку – модификовани режим			Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку – модификовани режим		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,538±0,02	8,596±0,01	8,722±0,01	8,502±0,02	8,553±0,02	8,688±0,00
Боја сладовине (ЕВС јединица)	8,03±0,03	10,33±0,14	12,35±0,41	9,55±0,05	10,79±0,09	14,40±0,17
рН сладовине	5,71±0,01	5,82±0,01	5,89±0,01	5,74±0,01	5,80±0,01	5,85±0,02
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,470±0,08	1,491±0,10	1,502±0,05	1,503±0,05	1,510±0,05	1,574±0,05
Растворљиви азот (mg/l)	719±0,22	780±0,35	792±0,12	705±0,20	788±0,15	795±0,10
Слободни аминокиселини азот (mg/l)	183,06±0,01	185,22±0,02	189,34±0,01	165,13±0,02	169,88±0,01	179,83±0,05
Горчина (јединице горчине - BU)	41,48±0,03	42,85±0,04	44,98±0,03	41,96±0,04	43,49±0,04	46,07±0,06
Садржај полифенола (mg/l)	152,15±0,05	153,78±0,05	166,18±0,10	147,69±0,05	149,22±0,05	154,22±0,05

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј, уз примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина се, за разлику од охмељених сладовина произведених од нативног тритикалеа, повећавао са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку. Већи садржај екстракта био је одређен у сорти НС Паун, у свим испитиваним уделима, у поређењу са сортом Одисеј. Све испитиване охмељене сладовине произведене из слада тритикалеа обе сорте, имале су већи садржај екстракта у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (8,468±0,01 g/100g). Највећи садржај екстракта одређен је у охмељеној сладовини удела 50% тритикалеа сорте НС Паун који је износио 8,722±0,01 g/100g.

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећа боја одређена је у охмељеној сладовини произведеној из 50% слада тритикалеа сорте Одисеј и износила је 14,40±0,17 ЕВС јединица. Све одређене боје сорте НС Паун имале су ниже вредности у односу на охмељене сладовине произведене из сорте Одисеј.

рН вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Вискозност - у свим испитиваним охмељеним сладовинама, вискозност је била већа у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (1,460±0,05 mPa·s). Сладовина произведена из слада сорте Одисеј остварила је веће вредности

овог параметра у свим уделима у односу на сорту НС Паун. Највећа вискозност одређена је у уделу од 50% слада тритикалеа сорте Одисеј ($1,574 \pm 0,05$ mPa·s).

Растворљиви азот - приметно је повећање овог параметра са повећањем садржаја слада тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај растворљивог азота имала је сладовина са 50% слада тритикалеа сорте Одисеј, који је износио $795 \pm 0,10$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - са повећањем удела слада тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота се повећавао. Највећи је остварен у охмељеној сладовини произведеној од сорте НС Паун, 50% удела - $189,34 \pm 0,01$ mg/l. У поређењу са охмељеним сладовинама произведених конгресном методом, већи садржај испитиваног параметра остварен је применом модификованог режима.

Горчина се постепено повећавала, са повећањем удела слада тритикалеа у усипку.

Садржај полифенола – запажен је тренд повећања овог параметра са повећањем удела тритикалеа у усипку. У поређењу са охмељеним сладовинама произведених конгресном методом из слада тритикалеа обе сорте, приметно је повећање садржаја полифенола у уделима од 10 и 30%. Највећи садржај остварен је у уделу од 50% слада тритикалеа, сорте НС Паун - $166,18 \pm 0,10$ mg/l.

4.3.4. Анализа охмељених сладовина произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења – фаза 3.4

Поред примене модификованог режима комљења и анализе произведених охмељених сладовина, у оквиру докторске дисертације извршене су и анализе сладовина произведених измењеним температурним режимом комљења уз додатак комерцијалног ензима. Сладовине су произведене из различитих удела нативног, као и слада тритикалеа - 10%, 30% и 50% уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима.

8.3.5.1. Охмељене сладовине произведене из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

У табели 34 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 34. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења

Параметар	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим			Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L – модификовани режим		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,302 \pm 0,01	8,281 \pm 0,00	8,265 \pm 0,00	8,303 \pm 0,02	8,221 \pm 0,01	8,196 \pm 0,01
Боја сладовине (ЕВС јединица)	4,57 \pm 0,06	5,53 \pm 0,03	6,59 \pm 0,08	4,52 \pm 0,03	6,05 \pm 0,05	7,37 \pm 0,15
рН сладовине	5,62 \pm 0,02	5,70 \pm 0,02	5,74 \pm 0,02	5,66 \pm 0,01	5,72 \pm 0,01	5,79 \pm 0,02
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,418 \pm 0,10	1,482 \pm 0,05	1,545 \pm 0,05	1,425 \pm 0,02	1,499 \pm 0,05	1,553 \pm 0,04
Растворљиви азот (mg/l)	757 \pm 0,10	688 \pm 0,15	632 \pm 0,12	791 \pm 0,10	702 \pm 0,10	630 \pm 0,12
Слободни аминок азот (mg/l)	187,55 \pm 0,02	170,18 \pm 0,02	168,77 \pm 0,02	180,20 \pm 0,02	171,50 \pm 0,02	156,27 \pm 0,02
Горчина (јединице горчине - BU)	38,30 \pm 0,26	40,10 \pm 0,10	41,83 \pm 0,29	39,08 \pm 0,03	42,45 \pm 0,05	43,16 \pm 0,05
Садржај полифенола (mg/l)	158,09 \pm 0,10	146,26 \pm 0,05	140,68 \pm 0,10	155,18 \pm 0,10	140,75 \pm 0,05	139,20 \pm 0,05

Различити удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак ензима и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа обе испитиване сорте у усипку, што је био случај и у охмељеним сладовинама са примењеним модификованим режимом комљења без додатка ензима. У поређењу са охмељеним сладовинама произведеним са додатком ензима и конгресним режимом комљења, већи садржај екстракта је запажен у сладовинама произведеним модификованим режимом уз додатак ензима. Ниједна испитивана охмељена сладовина, произведена од нативног тритикалеа обе сорте, није имала виши садржај екстракта од охмељене сладовине произведене из јечменог слада (8,468 \pm 0,01 g/100g).

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећа боја одређена је у уделу нативног тритикалеа од 50% сорте Одисеј и износила је 7,37 \pm 0,15 ЕВС јединица. Све испитиване охмељене сладовине обе сорте тритикалеа, имале су мање вредности боје у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (9,0 \pm 0,07 ЕВС јединица).

рН вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Вискозност - у обе испитиване сорте тритикалеа у уделу од 10%, вискозност је била мања у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада ($1,460 \pm 0,05$ mPa·s). Сорта нативног тритикалеа Одисеј имала је веће вредности овог параметра у свим уделима у односу на сорту НС Паун. Поредећи са охмељеним сладовинама произведеним без додатка ензима модификованим режимом комљења, приметан је утицај ензима на смањење вискозности у свим испитиваним уделима нативног тритикалеа обе испитиване сорте.

Растворљиви азот - приметно је смањење овог параметра са повећањем садржаја нативног тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај растворљивог азота имала је сладовина са 10% нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку, који је износио $791 \pm 0,10$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - модификовану методу комљења одликује већи садржај слободног аминок азота у свим испитиваним уделима, у односу на сладовину произведену конгресном методом. Највећи садржај одређен је у охмељеној сладовини сорте НС Паун, удела 10% - $187,55 \pm 0,02$ mg/l.

Горчина се постепено повећавала, са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку.

Садржај полифенола – у поређењу са охмељеним сладовинама произведеним модификованим режимом комљења без додатка ензима, запажа се већи садржај полифенола у случају третирања сладовина ензимом.

8.3.5.2. Охмељене сладовине произведене из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

У Табели 35 приказани су резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додаток 5μl комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења, поређених са охмељеном сладовином произведеном из јечменог слада.

Табела 35. Резултати анализе охмељених сладовина произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5μl комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења

Параметар						
	10%	30%	50%	10%	30%	50%
Екстракт охмељене сладовине (g/100g)	8,521±0,01	8,545±0,00	8,608±0,00	8,412±0,02	8,495±0,01	8,640±0,01
Боја сладовине (ЕВС јединица)	6,53±0,03	9,02±0,03	10,02±0,03	6,47±0,03	8,82±0,03	10,03±0,02
рН сладовине	5,65±0,01	5,70±0,02	5,78±0,01	5,70±0,02	5,79±0,02	5,79±0,01
Вискозност (mPa·s, 8.6%e)	1,455±0,05	1,470±0,07	1,500±0,15	1,480±0,02	1,491±0,05	1,523±0,04
Растворљиви азот (mg/l)	726±0,10	777±0,10	801±0,12	715±0,12	795±0,11	810±0,10
Слободни аминокиселини азот (mg/l)	188,62±0,05	195,72±0,05	199,51±0,05	185,19±0,05	191,49±0,05	196,14±0,05
Горчина (јединице горчине - BU)	37,70±0,17	39,57±0,08	44,12±0,03	40,05±0,02	42,17±0,03	45,07±0,03
Садржај полифенола (mg/l)	155,45±0,05	158,12±0,05	169,18±0,10	150,09±0,05	152,72±0,05	157,69±0,05

Различити удели слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак ензима и примену модификованог режима комљења, утицали су на испитиване параметре произведених охмељених сладовина на следећи начин:

Екстракт охмељених сладовина повећавао се са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте, у усипку. Већи садржај екстракта одређен је у сорти НС Паун, у испитиваним уделима од 10 и 30%, у поређењу са сортом Одисеј. Све испитиване охмељене сладовине, сем тритикалеа сорте Одисеј, удела од 10%, имале су већи садржај екстракта од охмељене сладовине произведене из јечменог слада (8,468±0,01 g/100g). Највећи садржај екстракта одређен је у охмељеној сладовини произведеној из 50% удела тритикалеа сорте Одисеј који је износио 8,640±0,01 g/100g.

Боја охмељених сладовина - у охмељеним сладовинама обе испитиване сорте, боја се повећавала са повећањем удела тритикалеа у усипку. Највећа боја одређена је у уделу слада тритикалеа од 50% сорте Одисеј и износила је 10,03±0,02 ЕВС јединица.

рН вредност свих испитиваних охмељених сладовина се повећавала са повећањем удела слада тритикалеа у усипку.

Вискозност - у свим испитиваним охмељеним сладовинама, осим удела 10% сорте НС Паун, вискозност је била већа у односу на охмељену сладовину произведену из јечменог слада (1,460±0,05 mPa·s). Сорте слада тритикалеа Одисеј имала је већу вискозност у свим уделима, у односу на сорту НС Паун. Највећа вискозност одређена је у уделу од 50% слада тритикалеа сорте Одисеј (1,523±0,04 mPa·s)

Растворљиви азот - приметно је повећање овог параметра са повећањем садржаја слада тритикалеа у усипку обе испитиване сорте. Највиши садржај

растворљивог азота имала је сладовина са 50% слада тритикалеа сорте Одисеј, који је износио $810 \pm 0,10$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - у односу на сладовину произведену конгресном методом, применом модификоване методе комљења остварене су веће вредности садржаја слободног аминок азота. Охмељена сладовина сорте НС Паун, удела 50% имала је највећи садржај који је износио $199,51 \pm 0,05$ mg/l.

Горчина се постепено повећавала, са повећањем удела слада тритикалеа у ушипку.

Садржај полифенола – све анализирани охмељени сладовине имале су већи садржај полифенола, у случају додатка ензима. Највећи садржај остварен је у охмељеној сладовини удела од 50%, сорте НС Паун - $169,18 \pm 0,10$ mg/l, који је био већи и од оног у контролном узорку – охмељеној сладовини јечменог слада ($162,17 \pm 0,05$ mg/l)

4.4. Анализа произведених младих пива – фаза 4

Четврта фаза истраживања обухватала је производњу младог пива у лабораторијским условима, из нативног тритикалеа, као и слада тритикалеа обе испитиване сорте, у различитим уделима у ушипку са или без додатка комерцијалног ензима.

Као подлога за производњу инокулума, коришћена је одабрана сладовина, за сваку ферментацију понаособ. Број ћелија квасца у инокулуму био је 1×10^8 ћелија/ml, како би након додатка инокулума у сладовину, у ферментору број ћелија квасца био 1×10^7 ћелија/ml.

Током ферментације, младо пиво пролази кроз различите фазе, које се визуелно запажају. У првој фази, површина младог пива је прекривена танким, белим слојем пене, што је знак да је процес ферментације отпочео. Затим, фина пена од мехурића постаје чвршћа и почињу да се појављују смеђе честице. У следећој фази, ферментација улази у најинтензивнији део - пена је све већа, браон честице се све више накупљају на њој, како настали угљен-диоксид „носи“ ћелије квасца на површину. На крају ферментације, настала пена се полако урушава, а по ободу ферментора остаје смеђи слој, који означава завршетак овог процеса (Eßlinger, 2009; Meier-Dörnberg и сар., 2017). У ферментацијама, у оквиру докторске дисертације, између трећег и петог дана запажено је таложење ћелија квасца на дну ферментора, а током седмог дана, и смеђи слој по ободу ферментора.

Експерименти су били подељени у четири целине, током којих су праћени утицаји додатка комерцијалног ензима, као и примене конгресног и модификованог режима комљења на испитиване параметре квалитета произведеног младог пива. Узорковање је вршено трећи, пети и седми дан ферментације. Сви експерименти су изведени у три понављања, а резултати су изражени као аритметичка средина \pm стандардна девијација.



Резултати анализе младог пива произведеног из јечменог слада, са којим су поређене све ферментације сладовина нативног и слада тритикалеа, приказани су у Табели 36.

Табела 36. Резултати анализе младог пива произведеног из јечменог слада

Параметар	Јечмени слад		
	3. дан	5. дан	7. дан
Етанол (% v/v)	1,05±0,01	1,52±0,02	3,03±0,02
Прави екстракт (% m/m)	7,12±0,15	5,05±0,05	4,18±0,05
Привидни екстракт (% m/m)	6,59±0,02	4,31±0,05	3,77±0,02
Права ферментабилност (%)	22,50±0,02	37,35±0,02	58,67±0,02
Привидна ферментабилност (%)	28,27±0,03	46,53±0,03	62,73±0,03
pH вредност	5,27±0,01	5,05±0,00	4,88±0,01
Боја (ЕВС јединица)	6,0±0,12	5,0±0,10	4,2±0,10
Горчина (јединице горчине - BU)	40±0,12	35±0,12	31±0,18
Растворљиви азот (mg/l)	602±0,10	595±0,10	561±0,10
Слободни аминок азот (mg/l)	133,2±0,10	105,5±0,05	98,5±0,05
Полифеноли (mg/l)	158,02±0,11	155,5±0,10	155,2±0,05
Вицинални дикетони (mg/l)	0,10±0,10	0,10±0,11	0,13±0,02
Сензорске особине			
Укус	Чист, пун		
Мирис	Чист		
Горчина	Нормална		

4.4.1. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа – фаза 4.1

У фази 4.1, произведена су млада пива од нативног тритикалеа, као и од слада тритикалеа, конгресном методом, у различитим уделима у ушипку - 10, 30 и 50%, у циљу

процене квалитета тритикалеа као потенцијалне замене јечменог слада у производњи пива.

4.4.1.1. Млада пива произведена из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

У Табели 37 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј.

Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, услед ферментативне разградње шећера, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се, са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, смањивао. Највећи садржај етанола одређен је у младом пиву произведеном из 10% удела нативног тритикалеа сорте НС Паун, који је износио $2,8 \pm 0,01\%$ v/v, што је у складу са резултатима испитиваних охмелених сладовина, из којих је приметан највећи садржај екстракта управо у уделу од 10% нативног тритикалеа сорте НС Паун. Из садржаја **правог и привидног екстракта**, који се током ферментације смањују, израчунате су вредности **праве и привидне ферментабилности**. Остварена ферментабилност била је слична у свим ферментацијама тј. од $45,82 \pm 0,01$ до $56,63 \pm 0,01\%$ и није била већа од оне одређене у младом пиву произведеном из јечменог слада ($58,67 \pm 0,02\%$).

рН вредност свих испитиваних младих пива смањивала се током ферментације. Такође, приметан је и сличан тренд смањења. рН вредност се нарочито брзо смањује на почетку ферментације и за време логаритамске фазе раста квасца и то услед настајања испарљивих и неиспарљивих органских киселина, потрошње фосфата од стране квасца, утрошка амонијумових јона и утрошка јона калијума, као и отпуштања јона водоника у пиво (Пејин, 2019). Ниже рН вредности, мање од 4,2, морају се избегавати јер нарушавају укус пива. Повећање рН вредности пива је непожељно и може указивати на аутолизу квасца (Eßlinger, 2009). У младим пивима, произведеним из нативног тритикалеа обе испитиване сорте, рН вредност није била мања од 4,2, већ је износила од $4,67 \pm 0,02$ до $5,16 \pm 0,01$.

Боја - у првим данима ферментације боја пива постаје светлија за 2 - 3 ЕВС јединице. На наведену појаву утиче смањење рН вредности пива уз апсорбовање обојених материја на површину квасца, које се уклањају, заједно са ћелијама, флокулацијом (Eßlinger, 2009). У свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. У ферментацијама нативног тритикалеа сорте НС Паун, боја се смањила за око 1,0 ЕВС јединицу, док је код сорте Одисеј смањење боје било интензивније, односно око 4,0 ЕВС јединице у уделу од 50% тритикалеа у усипку.

Горчина - као резултат смањења рН вредности током ферментације, велики број колоидно растворених горких супстанци и полифенола достиже своју изоелектричну тачку, те се таложу. Остатак неизомеризованих α -киселина и поједини изохумулони, путем мехурића насталог угљен-диоксида, преносе се на површину пене или се адсорбују на ћелијама квасца. Током ферментације, губитак горких материја износи од 25 до 40% (Eßlinger, 2009). У испитиваним узорцима, приметно је смањење горчине од 4,9 до 9,1 јединица. У младим пивима одређена је горчина од $27,97 \pm 0,08$ (10% удела

тритикалеа сорте Одисеј у усипку) до $32,04 \pm 0,04$ јединица горчине (50% удела тритикалеа сорте НС Паун у усипку).

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмеленим сладовинама, што указује на чињеницу да је квасац утрошио азот у свом метаболизму. Пивски квасац користи аминокиселине и ниже пептиде из сладовине за синтезу протеина у својим ћелијама (Пејин, 2019). Најнижи садржај растворљивог азота одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 50% нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку ($462 \pm 0,20$ mg/l).

Садржај слободног аминок азота - примећује се да се са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота смањивао. Сматра се да је прихватљив садржај слободног аминок азота у пиву 100 - 120 mg/l (МЕВАК, 2011), што произведена млада пива нативног тритикалеа нису задовољила.

Садржај полифенола - употреба несладованих сировина доприноси разблажењу садржаја растворљивог азота и полифенолних танина у сладовини, омогућавајући, на тај начин, коришћење јечменог слада са повећаним садржајем азота (Briggs и сар., 2004). Полифеноли утичу на филтрабилност и стабилност пене пива реакцијом са протеинима, угљеним хидратима, меланоидинима и горким материјама хмеља. Око 70 - 90% полифенола присутних у пиву потиче из слада, док остатак потиче из хмеља (Gresser, 2009). У произведеним младим пивима, садржај полифенола се смањивао са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку у обе испитиване сорте. Највећи садржај одређен је у младом пиву сорте НС Паун, удела 10% - $105,01 \pm 0,02$ mg/l.

Вицинални дикетони – садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,14 \pm 0,01$ mg/l до $0,23 \pm 0,02$ mg/l. За вициналне дикетоне везана је појава непријатног укуса пива, те се сматра непожељним уколико су већи од 0,1 mg/l у пиву доњег врења (Briggs и сар., 2004). Како је у овој докторској дисертацији вршена ферментација у циљу производње младог пива, које није накнадно ферментисано и није одлежало, чиме би се вицинални дикетони редуковали (Krogerus и Gibson, 2013), сматра се да у овом случају напоменути критеријум од 0,1 mg/l не може бити примењен.

Табела 37. Резултати анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Дан	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у уsipкy									Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у уsipкy								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,89± 0,01	1,77± 0,00	2,80± 0,01	1,43± 0,00	2,19± 0,00	2,71± 0,01	1,16± 0,01	1,42± 0,00	2,59± 0,00	0,92± 0,02	1,96± 0,02	2,76±0, 01	0,94± 0,01	1,52± 0,02	2,61± 0,01	0,76± 0,01	1,43± 0,00	2,59± 0,00
Прави екстракт (% m/m)	6,12± 0,01	5,45± 0,00	4,68± 0,00	6,27± 0,00	4,91± 0,00	4,72± 0,03	6,53± 0,01	5,55± 0,03	4,99± 0,01	6,88± 0,01	5,86± 0,02	4,24±0, 02	6,94± 0,01	5,52± 0,03	4,05± 0,03	7,05± 0,01	5,13± 0,02	4,14± 0,02
Привидни екстракт (% m/m)	5,89± 0,01	5,31± 0,01	3,84± 0,01	5,73± 0,00	4,17± 0,02	3,91± 0,02	6,30± 0,01	4,59± 0,02	4,02± 0,00	5,70± 0,01	5,01± 0,02	4,00±0, 02	5,88± 0,02	4,67± 0,02	3,85± 0,01	6,10± 0,01	4,52± 0,01	3,88± 0,01
Права ферментабилност (%)	22,76± 0,00	29,07± 0,01	45,82± 0,01	26,83± 0,01	41,08± 0,02	48,86± 0,02	17,54± 0,00	34,35± 0,02	47,89± 0,01	17,81± 0,01	37,26± 0,01	49,61±0, 02	20,43± 0,02	44,41± 0,02	54,87± 0,02	20,82± 0,01	30,39±0, 01	56,63± 0,01
Привидна ферментабилност (%)	25,64± 0,02	33,83± 0,01	55,55± 0,00	30,90± 0,00	49,96± 0,01	57,41± 0,02	20,44± 0,02	43,14± 0,02	57,94± 0,01	24,80± 0,01	43,97± 0,01	57,10±0, 02	28,57± 0,02	48,39± 0,02	59,87± 0,01	27,80± 0,03	38,31± 0,01	60,03± 0,03
рН вредност	4,94± 0,01	4,76± 0,01	4,67± 0,02	4,99± 0,01	4,88± 0,01	4,72± 0,02	5,03± 0,02	4,93± 0,01	4,82± 0,03	5,03± 0,01	4,85± 0,01	4,72±0, 03	5,12± 0,01	5,0± 0,01	4,82± 0,03	5,16± 0,01	4,95± 0,02	4,85± 0,01
Боја (ЕВС јединица)	6.03± 0,03	5,49± 0,01	5,02± 0,02	6,23± 0,03	5,72± 0,03	5,18± 0,02	6,52± 0,03	6,01± 0,02	5,50± 0,00	5,52± 0,03	5,22± 0,03	4,05±0, 05	7,03± 0,03	6,24± 0,05	5,82± 0,03	12,40± 0,10	10,13± 0,12	8,37± 0,12
Горчина (јединице горчине - ВU)	34,97± 0,15	34,07± 0,06	30,07± 0,06	38,37± 0,32	35,00± 0,10	31,03± 0,06	38,70± 0,44	33,02± 0,03	32,04± 0,04	37,02± 0,03	30,0± 0,02	27,97± 0,08	38,55± 0,05	33,60± 0,53	30,42± 0,10	39,82± 0,05	34,15± 0,13	31,04±0, 04
Растворљиви азот (mg/l)	568± 0,10	566± 0,15	556± 0,15	535± 0,15	529± 0,15	528± 0,10	488± 0,10	480± 0,05	462± 0,20	577± 0,10	570± 0,15	550± 0,15	544± 0,10	540± 0,10	535± 0,10	500± 0,05	491± 0,10	482± 0,22
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	108,22± 0,02	101,01± 0,01	99,93± 0,02	103,93± 0,01	101,88± 0,02	97,37± 0,02	95,99± 0,01	92,90± 0,02	78,43± 0,05	108,12± 0,02	103,22± 0,02	97,40± 0,02	95,02± 0,02	94,33± 0,05	91,05± 0,02	88,14± 0,02	80,13± 0,05	72,33± 0,02
Садржај полифенола (mg/l)	115,05± 0,02	113,08± 0,05	105,01± 0,02	102,11± 0,02	100,88± 0,05	85,15± 0,01	95,25± 0,02	93,11± 0,01	80,91± ±0,01	88,01± 0,02	80,77± 0,01	77,78± 0,05	101,55± 0,02	93,71± 0,01	80,02± 0,05	88,71± 0,01	85,46± 0,02	70,48± 0,01

Вицинални дикетони (mg/l)	0,18± 0,01	0,17± 0,02	0,14± 0,01	0,17± 0,01	0,17± 0,01	0,16± 0,02	0,25± 0,01	0,25± 0,01	0,22± 0,01	0,20± 0,05	0,20± 0,01	0,16± 0,02	0,22± 0,05	0,20± 0,01	0,18± 0,01	0,28± 0,01	0,26± 0,01	0,23± 0,02
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун		Чист, пун			Чист, мање пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, мање пун			
Мирис	Чист		Чист			Чист			Чист			Чист			Чист			
Горчина	Нормална		Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			

4.4.1.2. Млада пива произведена из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

У Табели 38 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј.

Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, повећавао. Највећи садржај етанола одређен је у младом пиву произведеном из 50% удела слада тритикалеа сорте НС Паун, који је износио $3,06 \pm 0,01\%$ v/v, што је у складу са резултатима испитиваних охмељених сладовина, из којих је приметан највећи садржај екстракта управо у уделу од 50% слада тритикалеа сорте НС Паун. Добијени садржај етанола већи је од оног одређеног у младом пиву произведеном из јечменог слада ($3,03 \pm 0,02\%$). Остварена ферментабилност била је слична у свим ферментацијама тј. од $51,80 \pm 0,01$ до $58,77 \pm 0,02\%$. Вредност највеће ферментабилности врло је блиска младом пиву произведеном из јечменог слада ($58,67 \pm 0,02\%$).

рН вредност свих испитиваних младих пива, произведених из слада тритикалеа обе сорте, смањивала се током ферментације. Такође, приметан је и сличан тренд смањења рН вредности. У младим пивима произведеним из слада тритикалеа обе испитиване сорте, рН вредност није била мања од 4,2, већ се кретала од $4,52 \pm 0,01$ до $4,82 \pm 0,01$.

Боја - у свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. Са повећањем удела слада тритикалеа, и боја младог пива се повећавала. Највећа боја охмељене сладовине запажена је код сорте Одисеј, при уделу од 50% - $9,80 \pm 0,26$ ЕВС јединице.

Горчина - у испитиваним младим пивима, приметно је смањење горчине током ферментација. Највеће смањење горчине одређено је у младом пиву произведеном из сорте Одисеј, при уделу од 50% у усипку, које је износило 9,6 јединица горчине.

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмељеним сладовинама. Најнижи садржај растворљивог азота одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 10% слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку ($558 \pm 0,12$ mg/l), чија је вредност веома блиска садржају растворљивог азота одређеног у младом пиву из јечменог слада - $561 \pm 0,11$ mg/l.

Садржај слободног аминок азота - младо пиво произведено из сладовине из слада сорте НС Паун удела од 50%, имало је вредност овог параметра већу од младог пива произведеног из јечменог слада ($98,5 \pm 0,10$ mg/l). Такође, наведено младо пиво је и задовољило критеријум по МЕБАК-у (2011), где је прихватљив садржај слободног аминок азота у пиву 100 - 120 mg/l.

Садржај полифенола повећавао се са повећањем удела слада тритикалеа у усипку. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сорте НС Паун, при уделу од 50% - $161,22 \pm 0,05$ mg/l, што је нижи садржај од оног одређеног у младом пиву произведеном из јечменог слада - $177 \pm 0,05$ mg/l.

Вицинални дикетони – садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,13 \pm 0,01$ mg/l до $0,21 \pm 0,02$ mg/l и повећавао се са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Табела 38. Резултати анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј

Дан	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у уsipкy									Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у уsipкy								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,97± 0,02	1,61± 0,01	2,85± 0,01	0,91± 0,01	1,51± 0,01	2,86± 0,03	0,95± 0,01	1,93± 0,00	3,06± 0,01	0,91± 0,01	1,52± 0,00	2,76± 0,01	0,95± 0,01	1,61± 0,00	2,85± 0,00	0,89± 0,01	1,59± 0,01	2,93± 0,01
Прави екстракт (% m/m)	6,83± 0,03	5,63± 0,01	4,27± 0,02	6,76± 0,01	5,59± 0,01	4,18± 0,02	6,61± 0,01	5,51± 0,00	4,12± 0,02	7,06± 0,00	6,52± 0,00	4,76± 0,00	7,02± 0,01	6,41± 0,01	4,51± 0,01	6,96± 0,01	5,89± 0,01	4,42± 0,03
Привидни екстракт (% m/m)	6,09± 0,01	5,10± 0,01	3,68± 0,03	6,21± 0,02	4,50± 0,02	3,51± 0,02	6,12± 0,01	4,22± 0,01	3,60± 0,01	6,02± 0,02	5,04± 0,02	3,72± 0,03	6,31± 0,03	4,66± 0,01	3,56± 0,01	6,0± 0,00	4,38± 0,01	3,44± 0,02
Права ферментабилност (%)	21,88± 0,03	38,25± 0,05	51,80± 0,01	22,07± 0,00	35,11± 0,01	53,30± 0,02	22,44± 0,02	42,60± 0,01	57,07± 0,01	21,56± 0,01	36,15± 0,01	53,96± 0,01	20,77± 0,02	37,11± 0,05	54,30± 0,03	22,32± 0,03	43,63± 0,02	58,77± 0,02
Привидна ферментабилност (%)	28,03± 0,01	45,55± 0,02	57,54± 0,02	29,14± 0,03	43,02± 0,03	59,55± 0,03	28,09± 0,01	49,82± 0,01	64,55± 0,01	27,43± 0,01	42,64± 0,01	59,99± 0,01	29,65± 0,02	42,54± 0,02	60,89± 0,01	29,39± 0,03	49,82± 0,03	64,72± 0,03
рН вредност	5,07± 0,01	4,81± 0,02	4,53± 0,02	5,11± 0,02	4,66± 0,01	4,52± 0,01	5,13± 0,01	4,71± 0,01	4,57± 0,01	5,03± 0,01	4,76± 0,01	4,56± 0,01	5,00± 0,00	4,98± 0,00	4,82± 0,01	4,82± 0,01	4,70± 0,01	4,64± 0,01
Боја (ЕВС јединица)	7,53± 0,03	6,02± 0,03	4,53± 0,03	8,61± 0,03	5,48± 0,02	5,01± 0,03	9,05± 0,03	6,22± 0,03	5,49± 0,03	8,53± 0,03	6,03± 0,03	5,01± 0,01	8,97± 0,03	8,52± 0,03	6,03± 0,02	14,10± 0,10	12,0± 0,05	9,80± 0,26
Горчина (јединице горчине - ВU)	34,43± 0,40	29,77± 0,25	27,07± 0,12	36,23± 0,25	32,03± 0,03	28,40± 0,36	36,10± 0,10	32,0± 0,05	28,13± 0,12	35,33± 0,29	31,97± 0,03	27,18± 0,18	37,23± 0,20	32,92± 0,08	28,50± 0,05	37,17± 0,15	34,33± 0,29	27,60± 0,40
Растворљиви азот (mg/l)	588± 0,05	580± 0,02	560± 0,05	660± 0,05	651± 0,02	633± 0,15	690± 0,05	651± 0,01	640± 0,18	592± 0,01	588± 0,05	558± 0,12	660± 0,01	651± 0,05	612± 0,15	671± 0,02	642± 0,05	630± 0,10
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	102,30± 0,01	100,41± 0,01	80,33± 0,02	115,49± 0,02	112,99± 0,05	93,23± 0,01	122,63± 0,05	115,03± 0,02	105,17± 0,02	90,23± 0,05	88,69± 0,02	78,33± 0,05	100,45± 0,01	90,30± 0,02	86,33± 0,02	115,45± 0,01	110,98± 0,02	96,37± 0,02
Садржај полифенола (mg/l)	151,14± 0,01	150,05± 0,01	140,05± 0,01	158,14± 0,02	150,99± 0,01	147,30± 0,03	181,23± 0,02	177,47± 0,01	161,22± 0,05	150,05± 0,01	148,12± 0,02	131,16± 0,01	170,14± 0,01	160,55± 0,05	155,11± 0,03	177,55± 0,01	170,96± 0,05	158,11± 0,02

Вицинални дикетони (mg/l)	0,15± 0,02	0,15± 0,01	0,13± 0,01	0,19± 0,02	0,18± 0,01	0,14± 0,02	0,30± 0,01	0,29± 0,01	0,18± 0,05	0,25± 0,01	0,22± 0,01	0,16± 0,03	0,31± 0,05	0,25± 0,01	0,20± 0,04	0,29± 0,05	0,25± 0,01	0,21± 0,02
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун		Чист, пун		Чист, пун		Чист, пун		Чист, пун		Чист, пун		Чист, мање пун					
Мирис	Чист		Чист		Чист		Чист		Чист		Чист		Чист					
Горчина	Нормална		Нормална		Нормална		Нормална		Нормална		Нормална		Нормална					

4.4.2. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима – фаза 4.2

У фази 4.2 произведена су млада пива од нативног тритикалеа, као и од слада тритикалеа у различитим уделима у усипку - 10, 30 и 50% са додатком 5 μ л комерцијалног ензима. Сладовине су произведене конгресном методом комљења.

4.4.2.1. Млада пива произведена из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима

У Табели 39 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима.

Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, смањивао. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из 10% удела нативног тритикалеа сорте НС Паун, и износио је $2,76\pm 0,01\%$ v/v, што је у складу са резултатима испитиваних охмељених сладовина, из којих је приметан највећи садржај екстракта управо при 10% удела нативног тритикалеа сорте НС Паун - $8,389\pm 0,00$ g/100g. Остварена ферментабилност била је слична у свим ферментацијама. Такође, слична ферментабилност је примећена и у младим пивима произведеним од нативног тритикалеа без додатка ензима.

рН вредност свих испитиваних младих пива смањивала се током ферментације. Такође, приметан је и сличан тренд смањења рН вредности. У младим пивима произведеним из обе сорте нативног тритикалеа, рН вредност је износила од $4,61\pm 0,02$ до $4,86\pm 0,01$.

Боја - у свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. У ферментацијама сладовина произведених из нативног тритикалеа сорте НС Паун, боја се смањила за 0,5 - 1,0 ЕВС јединицу, док је код сорте Одисеј ово смањење веће, односно 2,6 ЕВС јединице у ферментацији сладовине са уделом тритикалеа од 50% у усипку.

Горчина - у испитиваним младим пивима, приметно је смањење горчине од 2,6 до 7,0 јединица горчине. У младим пивима одређена је горчина од $29,36\pm 0,57$ (10% удела тритикалеа сорте НС Паун у усипку) до $30,83\pm 0,03$ јединица горчине (50% удела тритикалеа сорте Одисеј у усипку).

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмељеним сладовинама. Најнижи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 50% нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку ($501\pm 0,08$ mg/l). У поређењу са младим пивима произведеним из нативног тритикалеа без додатка ензима, остварене су веће вредности, што је био случај и у сладовинама, као и у охмељеним сладовинама произведеним из нативног тритикалеа (табеле 9 и 13).

Садржај слободног аминок азота - произведена млада пива из сладовине нативног тритикалеа обе испитиване сорте са додатком ензима, у уделима од 10 и 30%, имала су већи садржај слободног аминок азота у поређењу са младим пивом произведеним из сладовине из јечменог слада ($98,5 \pm 0,10$ mg/l). Највећи садржај испитиваног параметра одређен је у младом пиву произведеном из сорте Одисеј удела 10% у усипку, са додатком ензима – $115,17 \pm 0,02$ mg/l.

Садржај полифенола смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку за обе испитиване сорте. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 10% удела сорте НС Паун - $145,15 \pm 0,01$ mg/l, што је опет нижа вредност од оне одређене у младом пиву произведеном из јечменог слада - $177 \pm 0,05$ mg/l.

Вицинални дикетони – садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,14 \pm 0,01$ mg/l до $0,21 \pm 0,01$ mg/l.

Табела 39. Резултати анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима

Дан	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L									Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5 μ l Shearzyme 500L								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,95 \pm 0,00	1,91 \pm 0,01	2,76 \pm 0,01	0,76 \pm 0,01	1,63 \pm 0,00	2,71 \pm 0,01	0,73 \pm 0,01	1,41 \pm 0,01	2,54 \pm 0,01	0,87 \pm 0,02	1,11 \pm 0,01	2,70 \pm 0,01	0,86 \pm 0,01	2,05 \pm 0,01	2,65 \pm 0,02	0,70 \pm 0,02	1,71 \pm 0,02	2,52 \pm 0,02
Прави екстракт (% m/m)	6,87 \pm 0,00	5,44 \pm 0,00	4,02 \pm 0,03	7,08 \pm 0,03	5,91 \pm 0,01	4,46 \pm 0,01	7,14 \pm 0,01	6,06 \pm 0,01	5,43 \pm 0,01	6,46 \pm 0,02	5,63 \pm 0,02	4,22 \pm 0,03	6,54 \pm 0,02	5,02 \pm 0,01	4,31 \pm 0,02	6,67 \pm 0,02	5,11 \pm 0,01	4,98 \pm 0,01
Привидни екстракт (% m/m)	6,70 \pm 0,00	4,81 \pm 0,01	2,94 \pm 0,01	6,88 \pm 0,05	5,32 \pm 0,05	3,48 \pm 0,02	6,66 \pm 0,02	5,55 \pm 0,00	4,92 \pm 0,01	6,22 \pm 0,01	4,91 \pm 0,02	3,04 \pm 0,03	6,09 \pm 0,05	4,42 \pm 0,01	3,35 \pm 0,01	6,21 \pm 0,01	5,02 \pm 0,02	3,42 \pm 0,02
Права ферментабилност (%)	17,18 \pm 0,02	35,44 \pm 0,02	53,58 \pm 0,02	13,16 \pm 0,03	30,04 \pm 0,05	47,14 \pm 0,01	14,54 \pm 0,01	25,39 \pm 0,01	42,05 \pm 0,02	17,39 \pm 0,05	33,87 \pm 0,01	57,63 \pm 0,01	21,41 \pm 0,01	36,71 \pm 0,02	57,76 \pm 0,02	20,22 \pm 0,05	39,96 \pm 0,03	59,39 \pm 0,01
Привидна ферментабилност (%)	21,54 \pm 0,05	42,92 \pm 0,01	65,90 \pm 0,02	15,38 \pm 0,02	37,13 \pm 0,02	58,64 \pm 0,02	17,15 \pm 0,01	29,79 \pm 0,01	48,63 \pm 0,01	24,19 \pm 0,01	41,18 \pm 0,000	65,72 \pm 0,01	30,44 \pm 0,02	45,37 \pm 0,01	65,06 \pm 0,01	28,51 \pm 0,05	48,39 \pm 0,00	65,90 \pm 0,02
рН вредност	4,94 \pm 0,01	4,93 \pm 0,01	4,78 \pm 0,01	4,85 \pm 0,01	4,76 \pm 0,01	4,69 \pm 0,02	5,0 \pm 0,02	4,82 \pm 0,01	4,77 \pm 0,01	4,89 \pm 0,02	4,67 \pm 0,02	4,61 \pm 0,02	5,12 \pm 0,02	5,04 \pm 0,02	4,73 \pm 0,01	5,06 \pm 0,01	4,91 \pm 0,01	4,86 \pm 0,01
Боја (ЕВС јединица)	4,52 \pm 0,03	4,02 \pm 0,03	3,52 \pm 0,03	5,14 \pm 0,02	5,03 \pm 0,05	4,74 \pm 0,03	5,54 \pm 0,03	5,11 \pm 0,01	4,91 \pm 0,01	4,07 \pm 0,06	3,74 \pm 0,05	3,13 \pm 0,03	5,02 \pm 0,03	4,73 \pm 0,03	4,51 \pm 0,02	9,17 \pm 0,15	8,23 \pm 0,25	6,57 \pm 0,06
Горчина (јединице горчине - ВU)	32,03 \pm 0,03	31,03 \pm 0,05	29,36 \pm 0,57	34,03 \pm 0,03	32,02 \pm 0,03	29,98 \pm 0,03	36,02 \pm 0,03	34,05 \pm 0,05	30,05 \pm 0,05	36,53 \pm 0,03	32,08 \pm 0,03	29,57 \pm 0,06	37,52 \pm 0,03	34,13 \pm 0,12	29,98 \pm 0,03	38,53 \pm 0,03	34,97 \pm 0,03	30,83 \pm 0,03
Растворљиви азот (mg/l)	645 \pm 0,05	640 \pm 0,10	634 \pm 0,13	636 \pm 0,15	635 \pm 0,10	627 \pm 0,15	584 \pm 0,10	570 \pm 0,10	564 \pm 0,14	634 \pm 0,10	620 \pm 0,12	601 \pm 0,10	584 \pm 0,10	561 \pm 0,12	552 \pm 0,12	524 \pm 0,15	504 \pm 0,10	501 \pm 0,08
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	121,08 \pm 0,02	111,55 \pm 0,05	108,88 \pm 0,05	117,44 \pm 0,05	110,74 \pm 0,01	105,06 \pm 0,05	103,10 \pm 0,01	99,88 \pm 0,05	85,23 \pm 0,02	138,79 \pm 0,05	130,14 \pm 0,05	115,17 \pm 0,02	112,11 \pm 0,01	108,04 \pm 0,05	101,94 \pm 0,03	101,76 \pm 0,02	93,11 \pm 0,05	86,17 \pm 0,03

Садржај полифенола (mg/l)	160,44± 0,02	151,14± 0,01	145,15± 0,01	140,74± 0,02	136,15± 0,01	136,12± 0,02	102,65± 0,01	88,13± 0,01	74,20± 0,01	140,15± 0,01	138,16± 0,02	122,02± 0,05	115,17± 0,01	100,96± 0,02	90,05± 0,05	99,36± 0,05	90,75± 0,05	82,0± 0,01
Вицинални дикетони (mg/l)	0,20± 0,05	0,18± 0,01	0,14± 0,01	0,35± 0,02	0,30± 0,01	0,18± 0,01	0,30± 0,01	0,22± 0,02	0,21± 0,01	0,19± 0,01	0,17± 0,01	0,16± 0,03	0,32± 0,01	0,25± 0,01	0,18± 0,03	0,30± 0,02	0,21± 0,01	0,19± 0,02
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун		Чист, пун		Чист, мање пун			Чист, пун		Чист, мање пун			Чист, мање пун					
Мирис	Чист		Чист		Чист			Чист		Чист			Чист					
Горчина	Нормална		Нормална		Нормална			Нормална		Нормална			Нормална					

4.4.2.2. Млада пива произведена из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима

У Табели 40 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима.

Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, повећавао. Највећи садржај етанола одређен је у младом пиву произведеном из 50% удела слада тритикалеа сорте НС Паун, који је износио $2,96 \pm 0,02\%$ v/v, што је у складу са резултатима испитиваних охмељених сладовина, из којих је приметан највећи садржај екстракта управо при уделу од 50% слада тритикалеа сорте НС Паун. Добијени садржај етанола је мањи од оног одређеног у младом пиву произведеном из јечменог слада ($3,03 \pm 0,02\%$). Остварена ферментабилност била је слична у свим ферментацијама Такође, слична ферментабилност је примећена и у младим пивима произведеним од слада тритикалеа без додатка ензима.

рН вредност свих испитиваних младих пива, произведених из слада тритикалеа, смањивала се током ферментације. У младим пивима произведеним из слада тритикалеа, рН вредност није била мања од 4,2, већ је била у распону од $4,51 \pm 0,03$ до $4,72 \pm 0,01$. Веће рН вредности имала су млада пива произведена из сладовине сорте Одисеј у односу на сорту НС Паун.

Боја - у свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. Са повећањем удела слада тритикалеа, и боја младог пива се повећавала. Највећа боја запажена је код сорте Одисеј, удела од 50% - $5,52 \pm 0,02$ EBC јединице, што је био случај и у младом пиву произведеном из слада сорте Одисеј без додатка ензима, у истом уделу.

Горчина - у испитиваним младим пивима, приметно је смањење горчине током ферментација. Највећа горчина одређена је у младом пиву произведеном из сладовине са 50% удела сорте НС Паун - $29,23 \pm 0,23$ јединица горчине.

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмељеним сладовинама. Најнижи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 10% слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку ($660 \pm 0,11$ mg/l), који је свакако већи од оног добијеног у младом пиву без додатка комерцијалног ензима ($558 \pm 0,12$ mg/l).

Садржај слободног аминок азота - највећа вредност одређена је у младом пиву произведеном из 50% удела сорте НС Паун, са додатком ензима и износила је $111,95 \pm 0,05$ mg/l, што је у складу са резултатима садржаја слободног аминок азота у охмељеним сладовинама, где је највећу вредност имала управо охмељена сладовина из које је произведено наведено младо пиво. Са повећањем удела слада тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота се повећавао у свим анализираним младим пивима.

Садржај полифенола повећавао се са повећањем удела слада тритикалеа у усипку. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сладовине удела 50% сорте НС Паун - $169,20 \pm 0,02$ mg/l, што је био случај и у младом пиву произведеном из сладовине без додатка ензима.

Вицинални дикетони – садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,12 \pm 0,01$ mg/l до $0,20 \pm 0,01$ mg/l и повећавао се са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Табела 40. Резултати анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима

Дан	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку + 5μl Shearzyme 500L									Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку + 5μl Shearzyme 500L								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,87± 0,01	1,55± 0,01	2,86± 0,01	1,02± 0,02	1,61± 0,02	2,92± 0,03	0,83± 0,01	1,76± 0,01	2,96± 0,02	0,73± 0,01	1,41± 0,00	2,72± 0,01	0,82± 0,01	1,42± 0,03	2,71± 0,02	0,82± 0,00	1,62± 0,01	2,85± 0,00
Прави екстракт (% m/m)	6,61± 0,02	6,01± 0,01	4,11± 0,01	6,52± 0,01	5,83± 0,00	4,70± 0,01	6,46± 0,03	5,33± 0,02	4,66± 0,01	6,82± 0,01	6,06± 0,03	4,28± 0,00	6,69± 0,01	6,03± 0,05	4,16± 0,01	6,78± 0,01	5,1± 0,01	4,15± 0,00
Привидни екстракт (% m/m)	6,57± 0,02	5,41± 0,02	4,06± 0,01	6,46± 0,02	5,15± 0,03	3,81± 0,01	6,40± 0,02	5,02± 0,01	4,01± 0,01	6,70± 0,03	5,61± 0,01	3,96± 0,05	6,60± 0,03	5,12± 0,01	3,91± 0,01	6,36± 0,05	4,92± 0,01	4,02± 0,01
Права ферментабилност (%)	19,90± 0,03	29,18± 0,01	50,96± 0,02	20,88± 0,01	30,41± 0,05	51,03± 0,01	19,34± 0,02	36,03± 0,05	52,90± 0,02	16,86± 0,01	29,85± 0,05	48,95± 0,02	18,28± 0,02	29,41± 0,05	51,11± 0,01	19,34± 0,01	35,30± 0,01	52,40± 0,02
Привидна ферментабилност (%)	22,84± 0,00	34,80± 0,02	55,33± 0,02	24,98± 0,02	36,60± 0,01	57,02± 0,05	24,20± 0,02	43,60± 0,02	56,77± 0,01	20,84± 0,02	34,80± 0,02	57,53± 0,02	23,14± 0,03	35,60± 0,03	57,52± 0,01	24,12± 0,01	43,59± 0,01	56,32± 0,05
рН вредност	5,05± 0,01	4,72± 0,01	4,60± 0,01	5,03± 0,02	4,77± 0,02	4,51± 0,02	5,02± 0,03	4,62± 0,03	4,51± 0,03	4,94± 0,01	4,76± 0,01	4,65± 0,01	5,04± 0,01	4,90± 0,02	4,72± 0,01	5,11± 0,01	4,95± 0,01	4,69± 0,01
Боја (ЕВС јединица)	7,07± 0,01	5,02± 0,02	3,45± 0,03	7,52± 0,06	5,27± 0,05	4,03± 0,03	7,52± 0,03	6,02± 0,03	5,03± 0,03	5,53± 0,03	4,02± 0,03	3,43± 0,03	7,08± 0,02	6,53± 0,03	5,01± 0,02	7,43± 0,01	6,05± 0,05	5,52± 0,02
Горчина (јединице горчине - ВU)	33,23± 0,25	30,05± 0,05	26,07± 0,06	33,33± 0,06	31,08± 0,10	28,83± 0,29	35,10± 0,10	31,93± 0,12	29,23± 0,23	34,33± 0,29	29,97± 0,03	26,17± 0,15	34,95± 0,05	30,97± 0,40	28,37± 0,32	35,77± 0,06	31,95± 0,05	28,67± 0,29
Растворљиви азот (mg/l)	677± 0,05	670± 0,10	667± 0,10	721± 0,02	707± 0,10	690± 0,12	721± 0,05	715± 0,10	713± 0,10	681± 0,05	677± 0,10	660± 0,11	699± 0,10	695± 0,05	688± 0,15	715± 0,10	710± 0,05	702± 0,06
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	101,14± 0,05	97,55± 0,02	87,17± 0,05	104,98± 0,01	101,63± 0,05	95,33± 0,01	123,57± 0,02	120,36± 0,05	111,95± 0,05	105,74± 0,05	101,17± 0,02	82,23± 0,05	130,12± 0,05	111,13± 0,05	98,43± 0,01	110,47± 0,01	108,13± 0,05	104,17± 0,05

Садржај полифенола (mg/l)	136,14± 0,05	119,70± 0,01	112,10± 0,01	119,74± 0,05	117,63± 0,01	115,0± 0,05	188,36± 0,01	182,31± 0,02	169,20± 0,02	112,12± 0,05	104,13± 0,01	79,05± 0,05	160,74± 0,01	155,13± 0,05	143,55± 0,01	180,10± 0,02	171,55± 0,01	162,12± 0,01
Вицинални дикетони (mg/l)	0,21± 0,01	0,20± 0,01	0,12± 0,01	0,30± 0,02	0,25± 0,01	0,16± 0,01	0,32± 0,05	0,21± 0,01	0,17± 0,01	0,20± 0,05	0,18± 0,01	0,15± 0,03	0,35± 0,01	0,30± 0,02	0,19± 0,03	0,31± 0,02	0,28± 0,01	0,20± 0,01
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун		Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, мање пун			
Мирис	Чист		Чист			Чист			Чист			Чист			Чист			
Горчина	Нормална		Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			

4.4.3. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз примену модификованог режима комљења – фаза 4.3

У фази 4.3 произведена су млада пива из нативног тритикалеа, као и из слада тритикалеа у различитим уделима у усипку - 10, 30 и 50%. За производњу младих пива коришћена је сладовина произведена модификованим режимом комљења.

4.4.3.1. Млада пива произведена из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

У Табели 41 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења.

Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, смањивао. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из 10% удела нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку, који је износио $2,72 \pm 0,02\%$ v/v, што је у складу са резултатима испитиваних охмељених сладовина, из којих је запажен највећи садржај екстракта управо при уделу од 10% нативног тритикалеа сорте НС Паун - $8,389 \pm 0,00$ g/100g. Остварена ферментабилност била је слична у свим ферментацијама. Такође, слична ферментабилност је примећена и у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа уз примену конгресне методе комљења.

рН вредност свих испитиваних младих пива смањивала се током ферментације, при чему је приметан сличан тренд опадања. У младим пивима, произведеним из нативног тритикалеа обе испитиване сорте, рН вредност је износила од $4,61 \pm 0,01$ до $4,79 \pm 0,01$.

Боја - у свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. Највећа боја одређена је у младом пиву произведеном из сладовине са 50% удела сорте НС Паун у усипку - $5,02 \pm 0,03$ ЕВС јединице.

Горчина - у испитиваним младим пивима, приметно је смањење горчине током појединачних ферментација. Највећа горчина одређена је у младом пиву произведеном из 50% удела сорте НС Паун - $33,17 \pm 0,29$ јединица горчине.

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмељеним сладовинама. Најнижи садржај растворљивог азота одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 50% удела нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку ($472 \pm 0,12$ mg/l).

Садржај слободног аминок азота - примећује се да се са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота смањивао. Млада пива произведена из сладовине удела 10 и 30% нативног тритикалеа сорте НС Паун и 10%

сорте Одисеј, имала су већи садржај слободног аминок азота у поређењу са младим пивом произведеним из јечменог слада ($98,5 \pm 0,10$ mg/l).

Садржај полифенола смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку у обе испитиване сорте. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 10% удела сорте НС Паун - $112,02 \pm 0,02$ mg/l. Како се током комљења на повишеним температурама екстрахује више полифенола у сладовину, у младим пивима произведеним уз примену модификованог режима комљења, у ком су примењене веће температуре у односу на конгресну методу, приметан је већи садржај полифенола.

Вицинални дикетони – садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,17 \pm 0,03$ mg/l до $0,25 \pm 0,01$ mg/l.

Табела 41. Резултати анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

Дан	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку – модификовани режим									Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку – модификовани режим								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,76± 0,01	1,54± 0,01	2,72±0, 02	0,76± 0,01	1,51± 0,01	2,67± 0,02	0,79± 0,01	1,32± 0,00	2,55± 0,01	0,87± 0,01	1,75± 0,01	2,63± 0,01	0,82± 0,02	1,66± 0,01	2,52± 0,01	0,77± 0,01	1,64± 0,01	2,42± 0,02
Прави екстракт (% m/m)	6,43± 0,04	5,22± 0,04	4,99± 0,01	6,45± 0,01	5,42± 0,01	5,18± 0,02	6,65± 0,01	5,36± 0,01	5,22± 0,01	6,56± 0,01	5,21± 0,01	4,58± 0,01	6,61± 0,02	5,36± 0,01	4,29± 0,01	6,72± 0,01	5,40± 0,03	4,43± 0,01
Привидни екстракт (% m/m)	5,79± 0,01	5,10± 0,01	3,51± 0,01	5,36± 0,00	4,05± 0,02	3,41± 0,02	6,00± 0,01	4,21± 0,02	4,01± 0,00	5,61± 0,01	5,00± 0,02	4,21± 0,02	5,51± 0,02	4,22± 0,02	3,66± 0,01	6,02± 0,01	4,02± 0,01	3,62± 0,01
Права ферментабилност (%)	21,66± 0,00	26,09± 0,01	43,22± 0,01	26,23± 0,01	42,01± 0,01	46,80± 0,02	15,55± 0,00	33,35± 0,01	43,80± 0,01	17,01± 0,01	38,16± 0,01	43,63± 0,05	18,44± 0,02	41,41± 0,02	52,80± 0,02	18,12± 0,01	32,19± 0,02	51,63± 0,01
Привидна ферментабилност (%)	22,66± 0,02	31,88± 0,01	52,52± 0,00	28,91± 0,00	46,66± 0,02	53,44± 0,02	21,40± 0,02	40,19± 0,02	51,84± 0,02	22,60± 0,01	41,90± 0,01	55,12± 0,05	22,18± 0,02	49,19± 0,02	56,17± 0,01	22,10± 0,01	39,30± 0,01	61,05± 0,03
рН вредност	4,88± 0,01	4,70± 0,01	4,61± 0,01	4,92± 0,02	4,87± 0,01	4,72± 0,01	4,98± 0,01	4,86± 0,01	4,79± 0,01	4,95± 0,01	4,90± 0,02	4,70± 0,02	5,01± 0,01	4,96± 0,01	4,72± 0,01	5,02± 0,01	4,96± 0,01	4,75± 0,01
Боја (ЕВС јединица)	5,77± 0,06	5,07± 0,06	4,65± 0,05	6,08± 0,08	5,43± 0,06	4,83± 0,03	6,52± 0,03	5,75± 0,02	5,02± 0,03	5,02± 0,03	4,86± 0,02	3,78± 0,03	5,06± 0,01	5,00± 0,01	4,14± 0,02	6,02± 0,03	5,52± 0,02	4,27± 0,01
Горчина (јединице горчине - ВU)	36,03± 0,03	35,48± 0,08	31,13± 0,12	37,57± 0,40	36,30± 0,36	31,98± 0,10	39,42± 0,36	36,04± 0,04	33,17± 0,29	38,59± 0,08	34,65± 0,22	30,18± 0,03	39,23± 0,03	36,21± 0,04	31,52± 0,03	40,07± 0,02	37,53± 0,03	32,07± 0,06
Растворљиви азот (mg/l)	601± 0,10	588± 0,05	577± 0,12	560± 0,05	551± 0,10	533± 0,10	501± 0,10	492± 0,10	472± 0,12	588± 0,02	570± 0,10	561± 0,15	553± 0,10	540± 0,05	539± 0,15	530± 0,10	498± 0,05	490± 0,12
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	129,18± 0,03	120,01± 0,02	114,97± 0,01	135,74± 0,03	131,12± 0,03	105,98± 0,03	105,05± 0,05	100,66± 0,03	88,17± 0,02	123,36± 0,05	112,03± 0,03	110,23± 0,03	114,41± 0,03	102,99± 0,01	98,17± 0,03	105,08± 0,03	101,33± 0,02	82,70± 0,03

Садржај полифенола (mg/l)	125,18± 0,01	120,74± 0,02	112,02± 0,02	109,88± 0,01	101,55± 0,05	90,15± 0,01	95,36± 0,01	90,17± 0,01	86,92 ±0,05	98,45± 0,01	90,36± 0,01	85,28± 0,02	94,15± 0,01	89,15± 0,05	84,02± 0,05	91,42± 0,01	80,78± 0,01	77,08± 0,05
Вицинални дикетони (mg/l)	0,36± 0,01	0,19± 0,05	0,18± 0,01	0,35± 0,01	0,32± 0,01	0,19± 0,01	0,31± 0,05	0,30± 0,01	0,22± 0,01	0,29± 0,01	0,25± 0,02	0,17± 0,03	0,28± 0,01	0,22± 0,01	0,19± 0,03	0,30± 0,02	0,25± 0,01	0,25± 0,01
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун		Чист, пун		Чист, мање пун			Чист, пун		Чист, мање пун			Чист, мање пун					
Мирис	Чист		Чист		Чист			Чист		Чист			Чист					
Горчина	Нормална		Нормална		Нормална			Нормална		Нормална			Нормална					

4.4.3.2. Млада пива произведена из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

У Табели 42 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења.

Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, повећавао. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из 50% удела слада тритикалеа сорте НС Паун, који је износио $2,95 \pm 0,02\%$ v/v, што је у складу са резултатима испитиваних охмелених сладовина, из којих је приметан највећи садржај екстракта управо при 50% удела слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку. Највиши садржај етанола ипак је мањи од оног одређеног у младом пиву произведеном из јечменог слада ($3,03 \pm 0,02\%$). Остварена ферментабилност била је слична у свим ферментацијама тј. износила је око 50% са изузетком младог пива произведеног из 10% удела у усипку сорте Одисеј ($46,96 \pm 0,02\%$).

рН вредност свих испитиваних младих пива, произведених из слада тритикалеа, смањивала се током ферментације. Такође, приметан је и сличан тренд смањења. У младим пивима произведеним из слада тритикалеа обе испитиване сорте, рН вредност није била мања од 4,2, већ се кретала од $4,48 \pm 0,02$ до $4,63 \pm 0,02$.

Боја - у свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. Са повећањем удела слада тритикалеа у усипку и боја младог пива се повећавала. Највећа боја запажена је у младом пиву произведеном из 50% удела сорте Одисеј - $9,27 \pm 0,21$ ЕВС јединице, што је био случај и када је била примењена конгресна метода.

Горчина - у испитиваним младим пивима, приметно је смањење горчине током ферментација. Највеће смањење горчине током ферментације одређено је у младом пиву произведеном из сладовине 30% удела сорте НС Паун, које је износило 9,1 јединица горчине.

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмеленим сладовинама. Најнижи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 10% слада тритикалеа сорте Одисеј у усипку ($577 \pm 0,12$ mg/l).

Садржај слободног аминок азота – по МЕВАК-у (2011), прихватљив садржај слободног аминок азота у пиву је 100 - 120 mg/l, што су млада пива произведена из сладовине са уделом 50% тритикалеа у усипку, обе сорте, и задовољила. Такође, наведени узорци имали су вредности овог параметра већу од младог пива произведеног из јечменог слада ($98,5 \pm 0,10$ mg/l).

Садржај полифенола повећавао се са повећањем удела слада тритикалеа у усипку. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сладовине од 50% удела сорте НС Паун - $168,02 \pm 0,01$ mg/l. У младим пивима произведеним уз примену

модификованог режима комљења, у ком су примењене веће температуре у односу на конгресну методу, приметан је виши садржај полифенола.

Вицинални дикетони - садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,14 \pm 0,01$ mg/l до $0,21 \pm 0,01$ mg/l и повећавао се са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Табела 42. Резултати анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз примену модификованог режима комљења

Дан	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у успику – модификовани режим									Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у успику – модификовани режим								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,97± 0,01	1,55± 0,01	2,81± 0,01	0,90± 0,01	1,64± 0,01	2,86± 0,02	0,89± 0,01	1,74± 0,02	2,95± 0,02	0,88± 0,02	1,52± 0,01	2,69± 0,02	0,88± 0,01	1,56± 0,02	2,77± 0,02	0,92± 0,01	1,77± 0,02	2,88± 0,02
Прави екстракт (% m/m)	6,69± 0,01	5,74± 0,01	4,27± 0,02	6,56± 0,01	5,63± 0,01	4,17± 0,02	6,52± 0,01	5,47± 0,01	4,15± 0,01	7,02± 0,02	6,03± 0,02	4,75± 0,01	6,87± 0,01	5,90± 0,02	4,31± 0,02	6,53± 0,03	5,44± 0,01	4,15± 0,04
Привидни екстракт (% m/m)	6,50± 0,01	5,21± 0,01	4,01± 0,01	6,40± 0,02	5,13± 0,00	3,85± 0,05	6,31± 0,02	5,12± 0,02	4,06± 0,01	6,22± 0,02	5,88± 0,03	3,92± 0,05	6,60± 0,03	5,74± 0,00	3,90± 0,01	6,22± 0,05	5,12± 0,01	4,00± 0,01
Права ферментабилност (%)	17,92± 0,03	25,11± 0,01	50,90± 0,02	15,18± 0,02	31,41± 0,05	50,05± 0,01	16,30± 0,01	31,03± 0,05	50,10± 0,02	17,80± 0,01	24,81± 0,03	46,96± 0,02	17,38± 0,02	28,47± 0,05	50,18± 0,02	17,30± 0,01	37,33± 0,01	50,12± 0,02
Привидна ферментабилност (%)	20,12± 0,00	33,15± 0,03	54,13± 0,02	26,99± 0,02	35,10± 0,01	58,04± 0,03	22,21± 0,02	43,66± 0,02	52,37± 0,01	22,88± 0,03	31,82± 0,02	55,51± 0,02	25,11± 0,05	32,40± 0,03	53,55± 0,01	25,72± 0,05	40,02± 0,01	53,30± 0,05
рН вредност	5,01± 0,01	4,68± 0,01	4,48± 0,02	5,10± 0,05	4,77± 0,02	4,53± 0,02	5,21± 0,02	4,82± 0,01	4,61± 0,02	4,90± 0,02	4,72± 0,02	4,59± 0,01	4,92± 0,03	4,77± 0,03	4,63± 0,02	5,04± 0,02	4,68± 0,02	4,54± 0,01
Боја (ЕВС јединица)	7,01± 0,02	5,42± 0,02	4,07± 0,02	8,05± 0,05	6,07± 0,02	4,53± 0,02	8,68± 0,03	7,03± 0,03	5,21± 0,05	8,05± 0,05	5,48± 0,03	4,16± 0,02	8,77± 0,12	5,35± 0,05	5,00± 0,02	12,05± 0,05	11,02± 0,03	9,27± 0,21
Горчина (јединице горчине - ВU)	32,67± 0,21	27,50± 0,44	25,18± 0,28	35,43± 0,45	30,01± 0,10	26,37± 0,35	35,47± 0,45	29,93± 0,18	28,43± 0,40	31,37± 0,47	30,03± 0,13	25,20± 0,26	33,17± 0,15	31,02± 0,14	27,40± 0,36	34,07± 0,12	29,80± 0,36	27,23± 0,25
Растворљиви азот (mg/l)	591± 0,03	590± 0,01	581± 0,03	681± 0,03	660± 0,05	655± 0,10	699± 0,03	695± 0,05	671± 0,10	588± 0,03	581± 0,05	577± 0,12	665± 0,03	660± 0,02	644± 0,10	669± 0,03	662± 0,02	658± 0,05
Слободни аминокиселине азот (mg/l)	99,12± 0,02	95,14± 0,02	89,03± 0,03	104,33± 0,03	95,66± 0,01	93,20± 0,03	135,11± 0,03	130,25± 0,05	114,93± 0,03	105,55± 0,03	101,22± 0,05	82,70± 0,03	109,33± 0,03	102,58± 0,02	98,17± 0,03	141,23± 0,03	123,85± 0,02	110,23± 0,03

Садржај полифенола (mg/l)	161,01± 0,02	159,71± 0,01	151,01± 0,01	188,21± 0,01	160,23± 0,01	153,33± 0,03	193,31± 0,01	185,12± 0,01	168,02± 0,01	162,45± 0,01	160,32± 0,05	143,46± 0,01	159,98± 0,01	155,36± 0,01	152,01± 0,02	184,14± 0,01	162,01± 0,05	160,05± 0,02
Вицинални дикетони (mg/l)	0,22± 0,01	0,20± 0,05	0,14± 0,01	0,26± 0,01	0,20± 0,01	0,16± 0,01	0,30± 0,02	0,21± 0,01	0,19± 0,02	0,24± 0,01	0,20± 0,01	0,16± 0,02	0,28± 0,01	0,20± 0,01	0,19± 0,02	0,34± 0,02	0,30± 0,01	0,21± 0,01
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун		
Мирис	Чист			Чист			Чист			Чист			Чист			Чист		
Горчина	Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			Нормална		

4.4.4. Анализа младих пива произведених из нативног тритикалеа и слада тритикалеа уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења – фаза 4.4

Поред примене модификованог режима комљења и анализе произведених младих пива, у оквиру докторске дисертације извршене су и анализе младог пива произведеног модификованим режимом комљења уз додатак комерцијалног ензима Shearzyme 500L.

4.4.4.1. Млада пива произведена из нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

У Табели 43 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења. Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се, у младим пивима, са повећањем удела нативног тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, смањивао. Највећи садржај етанола одређен је у младом пиву произведеном из 10% удела нативног тритикалеа сорте НС Паун у усипку, који је износио 2,67 \pm 0,02 % v/v, што је најнижи садржај етанола у поређењу са младим пивима произведеним из нативног тритикалеа, у фазама 4.1 – 4.3. Остварена ферментабилност у ферментацијама била је у распону од 40,20 \pm 0,02 до 50,40 \pm 0,02%.

рН вредност свих испитиваних младих пива смањивала се током ферментације. Такође, приметан је и сличан тренд смањења рН вредности. У младим пивима произведеним од нативног тритикалеа обе испитиване сорте, рН вредност је била у распону од 4,58 \pm 0,02 до 4,86 \pm 0,01.

Боја - у свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. Највећа боја запажена је код младог пива произведеног из 50% удела сорте Одисеј и износила је 4,32 \pm 0,02 ЕВС јединице. У поређењу са младим пивима произведеним конгресном методом уз додатак ензима или применом искључиво модификованог режима, приметна је мања боја када се примени комбинација додатка ензима уз модификовани режим комљења.

Горчина - у испитиваним младим пивима, приметно је смањење горчине од 3,2 до 9,0 јединица горчине. У младим пивима одређена је горчина од 29,51 \pm 0,08 (удео 10% сорте Одисеј у усипку) до 32,47 \pm 0,03 јединица горчине (удео 50% сорте НС Паун у усипку).

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмељеним сладовинама. Најнижи садржај растворљивог азота одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 50% нативног тритикалеа сорте Одисеј у усипку (531 \pm 0,05 mg/l).

Садржај слободног аминок азота - са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку, садржај слободног аминок азота се смањивао у свим анализираним младим

пивима. Веће вредности слободног аминокиселиног азота остварене су у младим пивима произведеним применом модификованог режима комљења у односу на конгресни режим.

Садржај полифенола смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа у усипку у обе испитиване сорте. Највећи садржај је одређен у младом пиву произведеном из сладовине 10% удела сорте НС Паун - $140,45 \pm 0,05$ mg/l.

Вицинални дикетони – садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,17 \pm 0,01$ mg/l до $0,25 \pm 0,01$ mg/l. Као и у свим претходно анализираним младим пивима (фаза 4.1 – 4.3), највећи садржај вициналних дикетона одређен је у младом пиву сорте Одисеј, удела 50% у усипку.

Табела 43. Резултати анализе анализе младих пива произведених из различитих удела нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

Дан	Удео нативног тритикалеа сорте НС Паун у успику + 5 μ l Shearzyme 500L - модификовани режим									Удео нативног тритикалеа сорте Одисеј у успику + 5 μ l Shearzyme 500L - модификовани режим								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,66 \pm 0,02	1,43 \pm 0,01	2,67 \pm 0,02	0,66 \pm 0,02	1,40 \pm 0,02	2,61 \pm 0,01	0,68 \pm 0,02	1,41 \pm 0,01	2,56 \pm 0,01	0,76 \pm 0,01	1,16 \pm 0,01	2,55 \pm 0,01	0,81 \pm 0,02	1,36 \pm 0,01	2,52 \pm 0,01	0,74 \pm 0,01	1,44 \pm 0,02	2,40 \pm 0,01
Прави екстракт (% m/m)	6,46 \pm 0,02	5,51 \pm 0,02	5,36 \pm 0,01	6,55 \pm 0,01	5,46 \pm 0,01	5,22 \pm 0,01	6,77 \pm 0,01	5,42 \pm 0,02	5,24 \pm 0,01	6,68 \pm 0,01	5,37 \pm 0,02	4,27 \pm 0,02	6,10 \pm 0,01	5,51 \pm 0,01	4,41 \pm 0,03	6,84 \pm 0,03	5,61 \pm 0,03	4,51 \pm 0,03
Привидни екстракт (% m/m)	5,21 \pm 0,01	5,020 \pm 0,01	3,50 \pm 0,02	5,16 \pm 0,00	4,00 \pm 0,01	3,55 \pm 0,02	6,02 \pm 0,01	4,11 \pm 0,02	4,01 \pm 0,05	5,40 \pm 0,01	4,80 \pm 0,02	4,20 \pm 0,03	5,33 \pm 0,02	4,20 \pm 0,02	3,41 \pm 0,01	6,00 \pm 0,03	3,97 \pm 0,01	3,12 \pm 0,01
Права ферментабилност (%)	20,49 \pm 0,00	23,49 \pm 0,01	40,20 \pm 0,02	25,20 \pm 0,01	40,05 \pm 0,01	46,20 \pm 0,03	14,35 \pm 0,00	34,45 \pm 0,02	42,10 \pm 0,01	17,85 \pm 0,01	34,26 \pm 0,01	40,65 \pm 0,00	17,41 \pm 0,02	40,52 \pm 0,02	50,40 \pm 0,02	17,42 \pm 0,05	30,29 \pm 0,02	48,60 \pm 0,01
Привидна ферментабилност (%)	22,16 \pm 0,02	30,84 \pm 0,03	51,32 \pm 0,00	26,11 \pm 0,00	43,46 \pm 0,05	52,40 \pm 0,02	20,60 \pm 0,05	42,69 \pm 0,02	49,88 \pm 0,02	23,10 \pm 0,01	42,99 \pm 0,01	53,22 \pm 0,03	23,28 \pm 0,02	47,12 \pm 0,02	57,14 \pm 0,03	23,12 \pm 0,01	39,44 \pm 0,02	55,25 \pm 0,03
рН вредност	4,97 \pm 0,01	4,87 \pm 0,02	4,69 \pm 0,02	5,02 \pm 0,02	4,93 \pm 0,01	4,81 \pm 0,02	5,01 \pm 0,02	4,93 \pm 0,01	4,86 \pm 0,01	4,87 \pm 0,01	4,62 \pm 0,01	4,58 \pm 0,02	4,88 \pm 0,01	4,68 \pm 0,02	4,61 \pm 0,01	4,92 \pm 0,02	4,71 \pm 0,01	4,67 \pm 0,01
Боја (ЕВС јединица)	4,47 \pm 0,02	4,03 \pm 0,03	3,26 \pm 0,02	4,83 \pm 0,03	4,25 \pm 0,06	3,33 \pm 0,03	5,01 \pm 0,01	4,51 \pm 0, 02	4,30 \pm 0, 03	4,53 \pm 0,03	4,22 \pm 0,03	3,43 \pm 0,06	4,89 \pm 0,01	4,53 \pm 0,03	4,07 \pm 0,06	5,64 \pm 0,03	4,63 \pm 0,06	4,32 \pm 0,02
Горчина (јединице горчине - ВU)	34,07 \pm 0,06	32,03 \pm 0,03	30,02 \pm 0,03	35,33 \pm 0,19	33,62 \pm 0,03	32,07 \pm 0,03	35,80 \pm 0,05	34,02 \pm 0,03	32,47 \pm 0,03	37,45 \pm 0,05	33,92 \pm 0,05	29,51 \pm 0,08	38,41 \pm 0,05	35,56 \pm 0,05	29,82 \pm 0,07	39,51 \pm 0,01	37,05 \pm 0,05	31,04 \pm 0,06
Растворљиви азот (mg/l)	660 \pm 0,10	655 \pm 0,05	652 \pm 0,15	661 \pm 0,10	647 \pm 0,05	620 \pm 0,10	600 \pm 0,10	595 \pm 0,05	578 \pm 0,10	641 \pm 0,01	633 \pm 0,01	622 \pm 0,15	600 \pm 0,05	590 \pm 0,01	588 \pm 0,15	557 \pm 0,05	550 \pm 0,02	531 \pm 0,05
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	133,25 \pm 0,05	130,48 \pm 0,05	119,02 \pm 0,01	128,25 \pm 0,01	120,14 \pm 0,02	112,99 \pm 0,05	105,44 \pm 0,05	100,25 \pm 0,05	91,07 \pm 0,01	135,25 \pm 0,02	130,41 \pm 0,05	117,83 \pm 0,05	115,85 \pm 0,01	110,88 \pm 0,05	106,33 \pm 0,02	105,33 \pm 0,05	101,45 \pm 0,02	89,91 \pm 0,05

Садржај полифенола (mg/l)	152,25± 0,05	150,36± 0,01	140,45± 0,05	141,85± 0,01	133,65± 0,05	131,15± 0,02	104,44± 0,05	80,09± 0,01	76,11± 0,02	132,52± 0,05	123,96± 0,01	120,13± 0,05	99,45± 0,05	95,33± 0,05	85,03± 0,05	108,41± 0,05	92,36± 0,05	80,08± 0,02
Вицинални дикетони (mg/l)	0,25± 0,02	0,20± 0,01	0,17± 0,01	0,25± 0,01	0,21± 0,01	0,17± 0,01	0,29± 0,05	0,25± 0,01	0,21± 0,02	0,36± 0,05	0,23± 0,01	0,16± 0,02	0,25± 0,01	0,20± 0,01	0,18± 0,02	0,35± 0,02	0,26± 0,02	0,25± 0,01
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун		Чист, пун			Чист, мање пун			Чист, пун			Чист, мање пун			Чист, мање пун			
Мирис	Чист		Чист			Чист			Чист			Чист			Чист			
Горчина	Нормална		Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			

4.4.4.2. Млада пива произведена из слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

У Табели 44 приказани су резултати анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак 5 μ l комерцијалног ензима Shearzyme 500L и примену модификованог режима комљења. Током појединачних ферментација, садржај **етанола** се повећавао, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Садржај етанола се са повећањем удела слада тритикалеа, обе испитиване сорте у усипку, повећавао. Највећи садржај етанола одређен је у младом пиву произведеном из 50% удела слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку, који је износио 2,91 \pm 0,01% v/v, што је био случај и у претходно анализираним младим пивима произведеним од слада тритикалеа сорте НС Паун. Добијени садржај етанола мањи је од оног одређеног у младом пиву произведеном из јечменог слада (3,03 \pm 0,02%). Остварена ферментабилност била је слична у свим ферментацијама. Највећа је одређена у младом пиву произведеном из сладовине удела 50% у усипку сорте НС Паун - 50,81 \pm 0,03%. Вредност највеће ферментабилности је, ипак, мања од оне одређене у младом пиву произведеном из јечменог слада (58,67 \pm 0,02%).

рН вредност свих испитиваних младих пива, произведених из слада тритикалеа, смањивала се током ферментације. Такође, приметан је и сличан тренд смањења рН вредности. У младим пивима произведеним из слада тритикалеа обе испитиване сорте, рН вредност је износила од 4,33 \pm 0,03 до 4,55 \pm 0,01.

Боја - у свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. Са повећањем удела слада тритикалеа, и боја младог пива се повећавала. Највећа боја одређена је код сорте НС Паун, при уделу од 50% тритикалеа у усипку - 4,72 \pm 0,02 ЕВС јединице.

Горчина - у испитиваним младим пивима, приметно је смањење горчине током ферментација. Највећа горчина одређена је у младом пиву произведеном из сорте НС Паун при уделу од 10% тритикалеа у усипку - 30,32 \pm 0,51 јединица горчине.

Садржај растворљивог азота је, у свим анализираним младим пивима, био нижи у односу на садржај овог параметра у охмеленим сладовинама. Највиши садржај растворљивог азота одређен је у младом пиву произведеном из сладовине са 50% слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку (729 \pm 0,10 mg/l), што је знатно већа вредност од оне одређене у младом пиву произведеном из јечменог слада - 561 \pm 0,11 mg/l.

Садржај слободног аминок азота - приметно је да су млада пива, са додатком ензима, имала веће вредности слободног аминок азота у односу на млада пива које су произведена без додатка комерцијалног ензима, што је такође компатибилно са резултатима охмелених сладовина. Веће вредности слободног аминок азота остварене су у младим пивима произведеним применом модификованог режима комљења у односу на конгресни режим.

Садржај полифенола се повећавао са повећањем удела слада тритикалеа у усипку. Највећи садржај одређен је у младом пиву произведеном из сорте НС Паун при

уделу од 50% - $161,33 \pm 0,02$ mg/l, што је био случај и у младом пиву произведеном без додатка ензима, истог удела у усипку.

Вицинални дикетони – садржај вициналних дикетона у младом пиву износио је од $0,14 \pm 0,01$ mg/l до $0,21 \pm 0,01$ mg/l и повећавао се са повећањем удела тритикалеа у усипку.

Табела 44. Резултати анализе анализе младих пива произведених из различитих удела слада тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј уз додатак комерцијалног ензима и примену модификованог режима комљења

Дан	Удео слада тритикалеа сорте НС Паун у успику + 5 μ l Shearzyme 500L - модификовани режим									Удео слада тритикалеа сорте Одисеј у успику + 5 μ l Shearzyme 500L - модификовани режим								
	10%			30%			50%			10%			30%			50%		
	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.	3.	5.	7.
Етанол (% v/v)	0,86 \pm 0,02	1,46 \pm 0,02	2,77 \pm 0,01	0,92 \pm 0,02	1,48 \pm 0,01	2,79 \pm 0,02	0,97 \pm 0,02	1,66 \pm 0,01	2,91 \pm 0,01	0,75 \pm 0,02	1,87 \pm 0,02	2,62 \pm 0,02	0,81 \pm 0,03	1,63 \pm 0,02	2,67 \pm 0,02	0,84 \pm 0,01	1,80 \pm 0,01	2,80 \pm 0,02
Прави екстракт (% m/m)	6,72 \pm 0,01	5,40 \pm 0,03	4,25 \pm 0,03	6,59 \pm 0,03	5,21 \pm 0,03	4,16 \pm 0,03	6,41 \pm 0,02	5,13 \pm 0,01	4,05 \pm 0,01	7,10 \pm 0,02	6,04 \pm 0,02	4,76 \pm 0,03	7,0 \pm 0,01	5,86 \pm 0,02	4,51 \pm 0,01	6,54 \pm 0,02	5,33 \pm 0,01	4,31 \pm 0,02
Привидни екстракт (% m/m)	6,17 \pm 0,02	5,12 \pm 0,03	4,02 \pm 0,01	6,40 \pm 0,01	5,05 \pm 0,03	3,66 \pm 0,01	6,21 \pm 0,00	5,00 \pm 0,01	3,71 \pm 0,02	6,61 \pm 0,03	5,41 \pm 0,01	3,98 \pm 0,03	6,55 \pm 0,03	5,02 \pm 0,01	3,71 \pm 0,01	6,36 \pm 0,05	4,73 \pm 0,02	4,01 \pm 0,01
Права ферментабилност (%)	17,91 \pm 0,03	25,12 \pm 0,03	45,06 \pm 0,02	22,80 \pm 0,01	31,44 \pm 0,05	50,00 \pm 0,01	16,31 \pm 0,03	34,13 \pm 0,05	50,81 \pm 0,03	15,26 \pm 0,01	26,65 \pm 0,02	44,55 \pm 0,02	17,18 \pm 0,02	26,51 \pm 0,01	50,51 \pm 0,01	17,04 \pm 0,01	32,31 \pm 0,01	50,10 \pm 0,05
Привидна ферментабилност (%)	21,24 \pm 0,00	30,81 \pm 0,02	52,53 \pm 0,01	25,48 \pm 0,02	38,10 \pm 0,05	56,62 \pm 0,05	23,22 \pm 0,01	43,62 \pm 0,02	55,74 \pm 0,05	22,80 \pm 0,02	31,88 \pm 0,02	54,55 \pm 0,01	22,44 \pm 0,03	33,50 \pm 0,00	57,02 \pm 0,01	23,02 \pm 0,02	41,09 \pm 0,01	55,12 \pm 0,03
рН вредност	4,83 \pm 0,01	4,52 \pm 0,03	4,41 \pm 0,02	4,86 \pm 0,02	4,57 \pm 0,01	4,42 \pm 0,02	4,91 \pm 0,01	4,64 \pm 0,01	4,42 \pm 0,02	4,79 \pm 0,01	4,60 \pm 0,01	4,55 \pm 0,01	4,87 \pm 0,01	4,68 \pm 0,02	4,55 \pm 0,01	4,90 \pm 0,01	4,73 \pm 0,02	4,33 \pm 0,03
Боја (ЕВС јединица)	6,52 \pm 0,03	5,18 \pm 0,03	3,84 \pm 0,03	7,07 \pm 0,02	5,52 \pm 0,02	4,18 \pm 0,02	7,79 \pm 0,02	6,09 \pm 0,05	4,72 \pm 0,02	5,03 \pm 0,01	4,81 \pm 0,03	3,21 \pm 0,03	6,03 \pm 0,05	5,40 \pm 0,02	4,02 \pm 0,02	7,64 \pm 0,02	5,88 \pm 0,04	4,33 \pm 0,03
Горчина (јединице горчине - ВU)	36,27 \pm 0,25	31,56 \pm 0,16	30,32 \pm 0,51	35,30 \pm 0,26	33,07 \pm 0,13	28,07 \pm 0,20	33,50 \pm 0,46	26,33 \pm 0,31	25,0 \pm 0,15	29,50 \pm 0,46	28,33 \pm 0,29	24,28 \pm 0,24	32,23 \pm 0,25	30,09 \pm 0,10	27,87 \pm 0,12	33,10 \pm 0,17	30,28 \pm 0,45	28,03 \pm 0,90
Растворљиви азот (mg/l)	719 \pm 0,05	701 \pm 0,05	691 \pm 0,10	725 \pm 0,05	701 \pm 0,05	699 \pm 0,12	755 \pm 0,05	736 \pm 0,05	729 \pm 0,15	723 \pm 0,05	719 \pm 0,05	690 \pm 0,11	725 \pm 0,05	707 \pm 0,02	705 \pm 0,12	733 \pm 0,05	730 \pm 0,10	719 \pm 0,05
Слободни аминокиселински азот (mg/l)	114,70 \pm 0,01	90,33 \pm 0,01	88,33 \pm 0,02	115,36 \pm 0,01	103,85 \pm 0,01	102,08 \pm 0,05	139,36 \pm 0,01	123,45 \pm 0,01	119,17 \pm 0,05	102,58 \pm 0,01	93,54 \pm 0,01	89,67 \pm 0,01	130,25 \pm 0,02	114,70 \pm 0,01	105,27 \pm 0,01	124,65 \pm 0,05	120,58 \pm 0,01	114,90 \pm 0,01

Садржај полифенола (mg/l)	139,33± 0,01	119,15± 0,01	101,10± 0,03	130,13± 0,01	121,52± 0,01	105,40± 0,05	188,23± 0,01	180,63± 0,01	161,33± 0,02	104,44± 0,01	88,64± 0,01	71,02± 0,05	139,15± 0,01	130,11± 0,01	120,05± 0,05	148,23± 0,01	140,98± 0,01	139,13± 0,01
Вицинални дикетони (mg/l)	0,21± 0,01	0,20± 0,02	0,14± 0,01	0,28± 0,01	0,21± 0,01	0,17± 0,01	0,36± 0,05	0,30± 0,01	0,20± 0,03	0,24± 0,01	0,21± 0,01	0,16± 0,02	0,30± 0,05	0,29± 0,01	0,20± 0,01	0,36± 0,05	0,34± 0,01	0,21± 0,01
Сензорске особине																		
Укус	Чист, пун		Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, пун			Чист, мање пун			
Мирис	Чист		Чист			Чист			Чист			Чист			Чист			
Горчина	Нормална		Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			Нормална			

4.5. Аминокиселине у производњи пива

Азотна једињења, како играју кључну улогу у одређивању квалитета и стабилности готовог производа, сматрају се веома важним у технологији пива. Ова једињења, која чине 3 - 5% од укупне количине екстракта сладовине, обухватају аминокиселине, пептиде, протеине, нуклеинске киселине и производе настале њиховом разградњом. Сложени профил азотних једињења у пиву зависи од различитих фактора, а најважнији је процес комљења. Сем њега, утицај има и одабрана сорта житарице, као и услови током узгајања биљке. Количина азотних једињења, као и доступан кисеоник су кључни фактори раста и развоја квасца. Међутим, квасац не асимилије сва присутна азотна једињења, већ само амонијум јоне и слободни аминокот, који обухвата аминокиселине, као и ниже пептиде. Значај аминокиселина у процесу сладовања јечма, комљења, као и ферментације пива је неупитан. Аминокиселине, као градивне компоненте протеина, утичу на активност протеолитичких ензима житарица у току комљења, као и на квасце укључене у процес ферментације, те доприносе коначним сензорском профилу пива (Fontana и Buiatti, 2009; Stewart и сар., 2013; Ferreira и Guido, 2018). Сладовина садржи 19 од укупно 20 есенцијалних аминокиселина (Hill и Stewart, 2019). Асимилација аминокиселина углавном следи специфичан редослед, при чему квасац усваја различите аминокиселине у различитим циклусима ферментације (Stewart и сар., 2013). На основу тога, аминокиселине су категорисане у четири групе, приказане у Табели 45.

Табела 45. Подела аминокиселина присутних у сладовини по степену асимилације (Jones и Pierce, 1964)

Група „А“	Група „В“	Група „С“	Група „D“
Брза асимилација	Средња асимилација	Спора асимилација	Занемарљива асимилација
Глутаминска киселина	Валин	Глицин	Пролин
Аспарагинска киселина	Метионин	Фенилаланин	
Аспарагин	Леуцин	Тирозин	
Глутамин	Изолеуцин	Триптофан	
Серин	Хистидин	Аланин	
Треонин			
Лизин			
Аргинин			

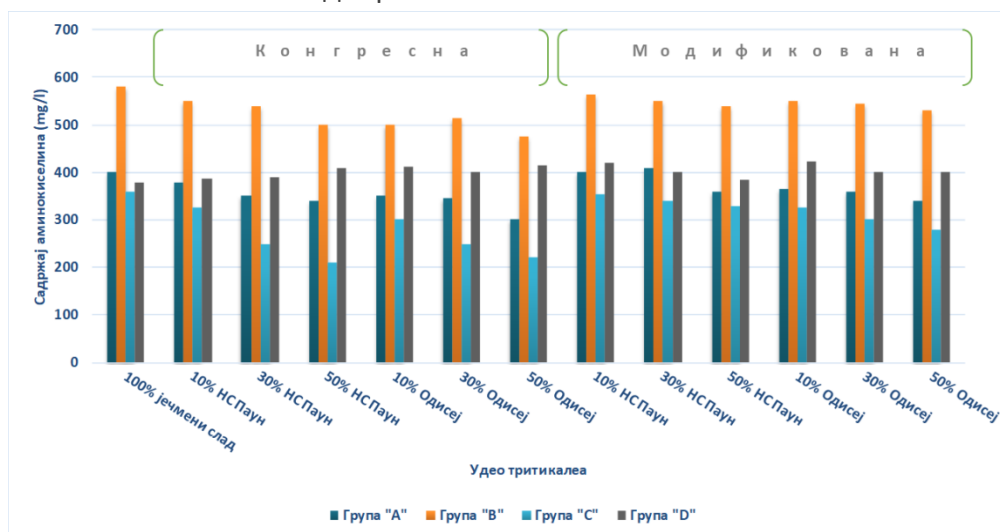
Аминокиселине групе „А“ брзо се асимилију, по правилу, у првом делу ферментације (у првих 20 сати). Аминокиселине групе „В“ спорије се метаболишу, а аминокиселине групе „С“ асимилију се тек након потпуног искоришћења аминокиселина групе „А“. Док се пролин (група „D“) рангира као најзаступљенија аминокиселина у сладовини, његова асимилација током ферментације углавном је

незнатна. На редослед асимилације не утиче концентрација одређених аминокиселина у сладовини, већ, претпоставља се, специфичност аминокиселинских пермеаза, које омогућавају селективни транспорт аминокиселина у ћелију (Perpète, 2005; Fontana и Vuiatti, 2009; He и сар., 2014). Концентрација аминокиселина: изолеуцин, валин, фенилаланин, глицин, аланин, тирозин, лизин, хистидин, аргинин и леуцин, сматра се веома битном, јер представља битан део комплексног система који регулише биосинтезу једињења која доприносе укусу пива, формираних од стране квасца (Ferreira и Guido, 2018). Аминокиселине које се нису утрошиле током ферментације, односно које остају у пиву, могу негативно утицати на стабилност производа, услед подстицања настанка мутноће (Fontana и Vuiatti, 2009).

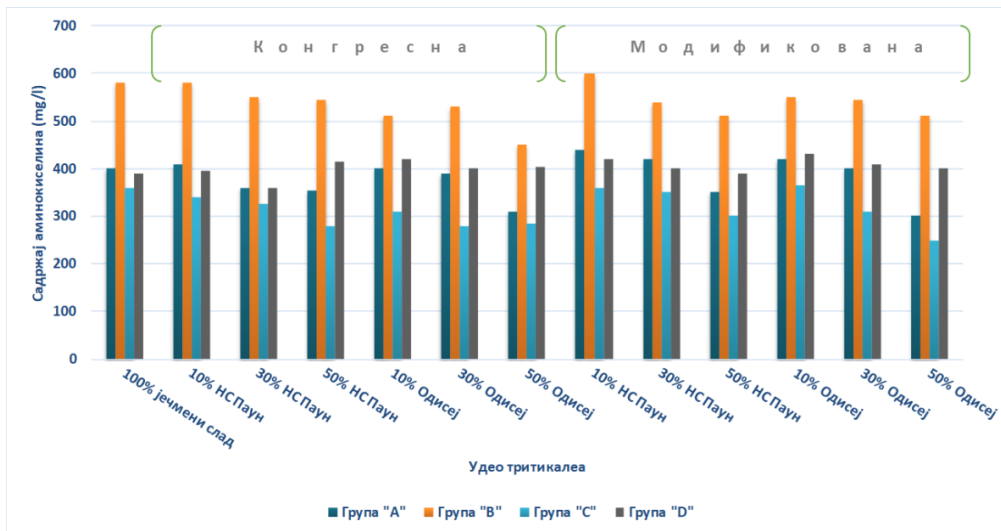
4.5.1. Аминокиселински састав сладовине

Како су након анализа произведених сладовина одабрани удели и количина ензима који су дали најбоље резултате, у даљој производњи пива, односно у производњи охмељене сладовине, коришћени су удели од 10 - 50% сладованог и несладованог тритикалеа у усипку, без и са додатком 5µl комерцијалног ензима у усипку. Сходно томе, садржај аминокиселина је одређиван само у одабраним сладовинама, са горе наведеним параметрима.

На Сликама 10 - 13 приказани су садржаји аминокиселина у произведеним сладовинама из нативног и слада тритикалеа.

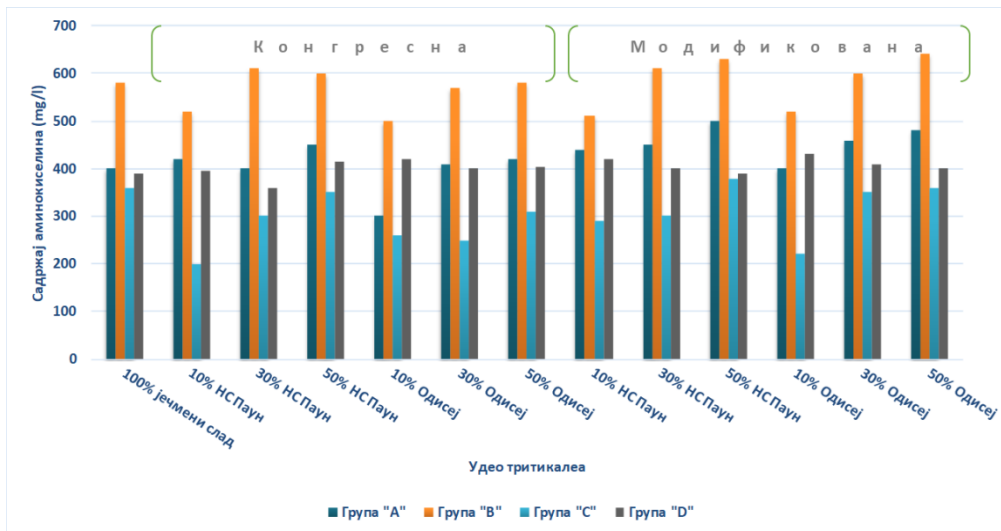


Слика 10. Садржај аминокиселина у сладовинама произведеним из нативног тритикалеа обе испитиване сорте без додатка комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења

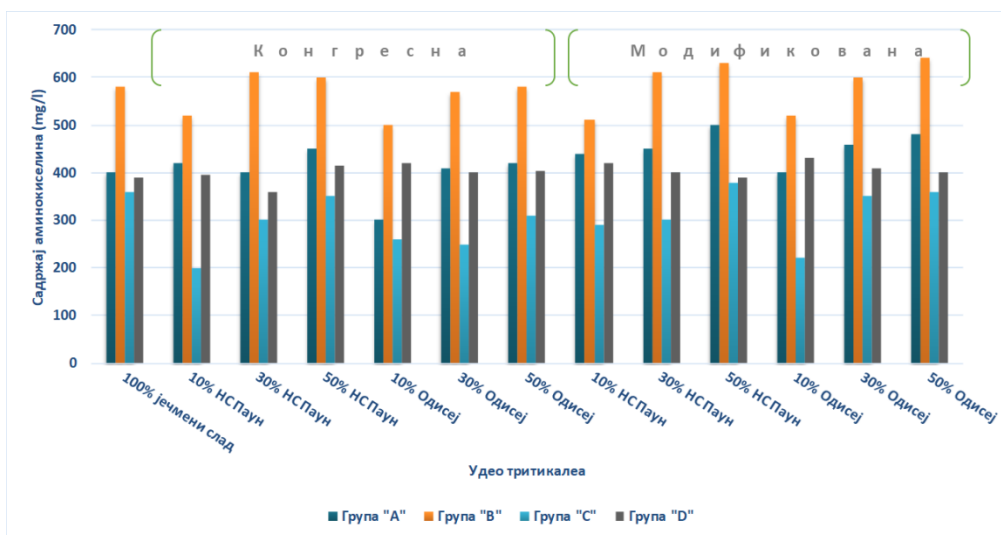


Слика 11. Садржај аминокиселина у сладовинама произведеним из нативног тритикалеа обе испитиване сорте са додатком комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења

Са графичких приказа (слике 10 и 11), приметан је значајно већи удео групе „В“ у односу на групе „А“ „С“ и „Д“, што је био случај и у истраживању Glatthar и сарадника (2004). Применом модификованог режима комљења, добијен је већи садржај аминокиселина у свим испитиваним уделима, у поређењу са конгресном методом. Сви испитивани удели нативног тритикалеа имали су мањи садржај аминокиселина у односу на сладовину произведену из јечменог слада, што је у складу са истраживањем Glatthar и сарадника (2004). Осим тога, са повећањем нативног тритикалеа у усипку, приметно је смањење садржаја аминокиселина, што је потврдио и Munroe (2006), у чијем истраживању је наведено да уколико се у производњи пива користе значајни удели несладованих сировина, а самим тим мање јечменог слада, садржај аминокиселина је дефицитаран.



Слика 12. Садржај аминокиселина у сладовинама произведеним из слада тритикалеа обе испитиване сорте без додатка комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења

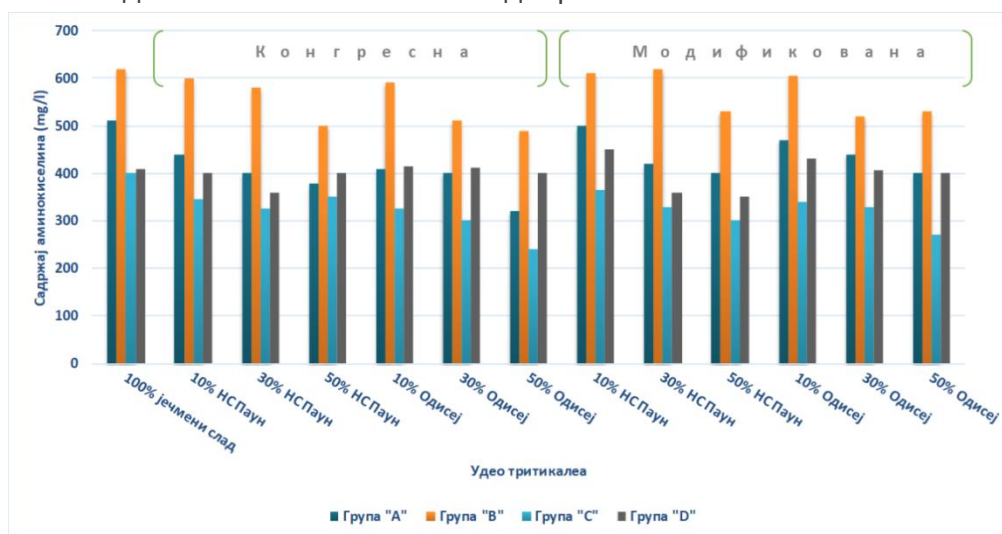


Слика 13. Садржај аминокиселина у сладовинама произведеним из слада тритикалеа обе испитиване сорте са додатком комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења

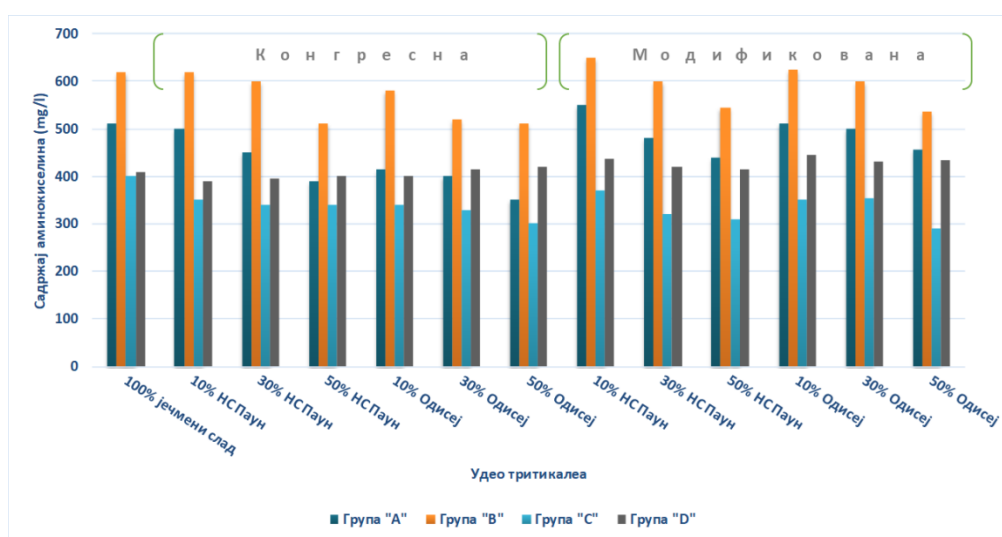
Са графичких приказа (слике 12 и 13), приметан је виши садржај аминокиселина у свим испитиваним уделима слада тритикалеа, у поређењу са нативним тритикалеом. За разлику од сладовина произведених из нативног тритикалеа, сладовине произведене од слада тритикалеа, са повећањем удела у усипку, и садржај аминокиселина је био повећан, што је у складу са резултатима садржаја слободног аминокиселина у испитиваним сладовинама. Модификовани режим комљења је, као и у случају сладовина произведених из нативног тритикалеа, допринео већем садржају аминокиселина, у поређењу са конгресном методом. Сладовине са 50% удела слада тритикалеа обе испитиване сорте, имале су виши садржај „В“ групе у поређењу са сладовином контролног узорка – јечменог слада.

4.5.2. Аминокиселински састав охмелјене сладовине

На Сликама 14 - 17 приказани су садржаји аминокиселина у произведеним охмелјеним сладовинама из нативног и слада тритикалеа.



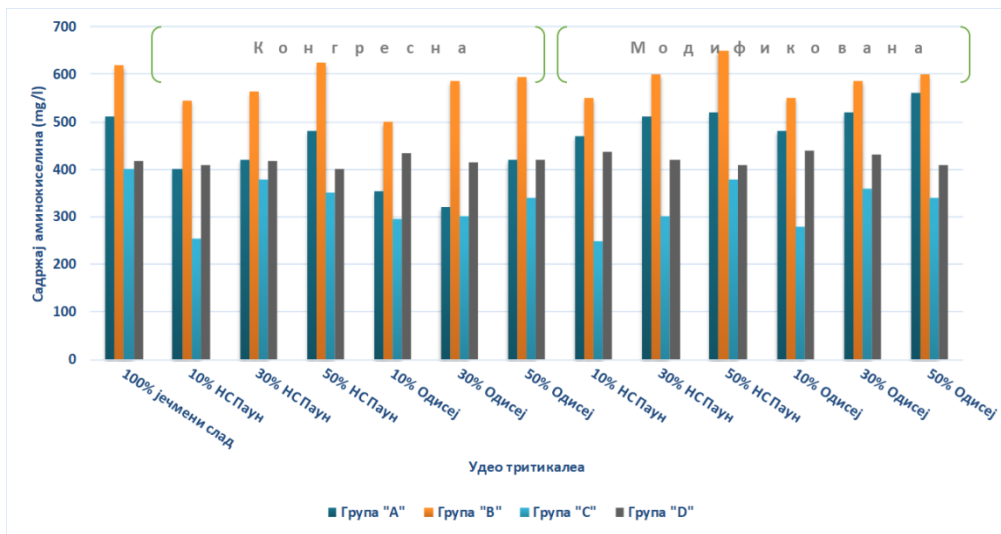
Слика 14. Садржај аминокиселина у охмелјеним сладовинама произведеним из нативног тритикалеа обе испитиване сорте без додатка комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења



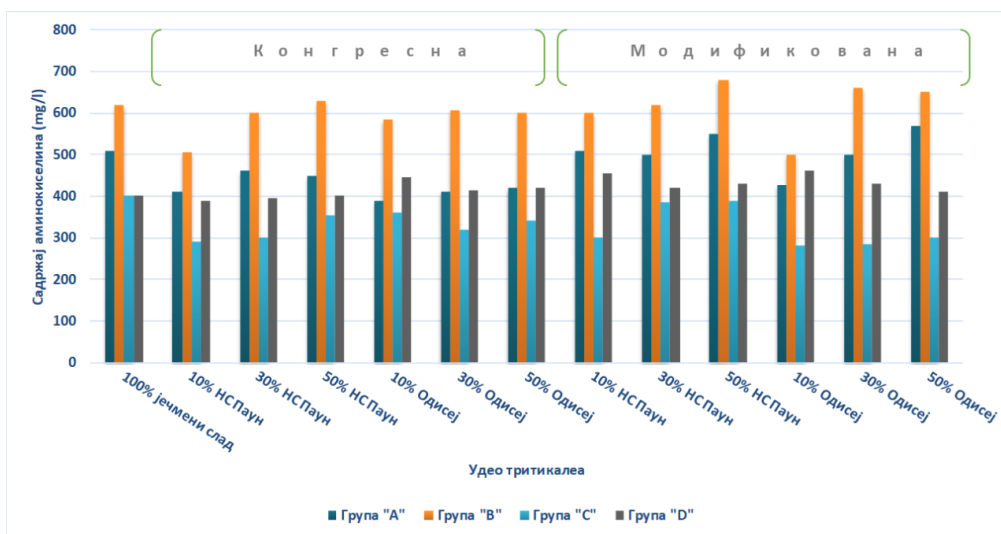
Слика 15. Садржај аминокиселина у охмелјеним сладовинама произведеним из нативног тритикалеа обе испитиване сорте са додатком комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења

У поређењу са сладовинама, садржај аминокиселина у охмелјеним сладовинама био је већи, што се може објаснити већом концентрацијом екстракта сладовине, услед испаравања воде током кувања сладовине са хмелом, али и таложења и стварања комплекса полифенола са протеинима већих молекулских маса, који не угрожавају аминокиселине. Приметно је да је додаток ензима утицао на повећан садржај аминокиселина у свим испитиваним уделима, у односу на охмелјене

сладовине без додатка комерцијалног ензима. Модификована метода комљења је допринела већој екстракцији азотних једињења, па је тако и у случају охмелених сладовина, садржај аминокиселина био већи у поређењу са конгресном методом.



Слика 16. Садржај аминокиселина у охмеленим сладовинама произведеним из слада тритикалеа обе испитиване сорте без додатка комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења



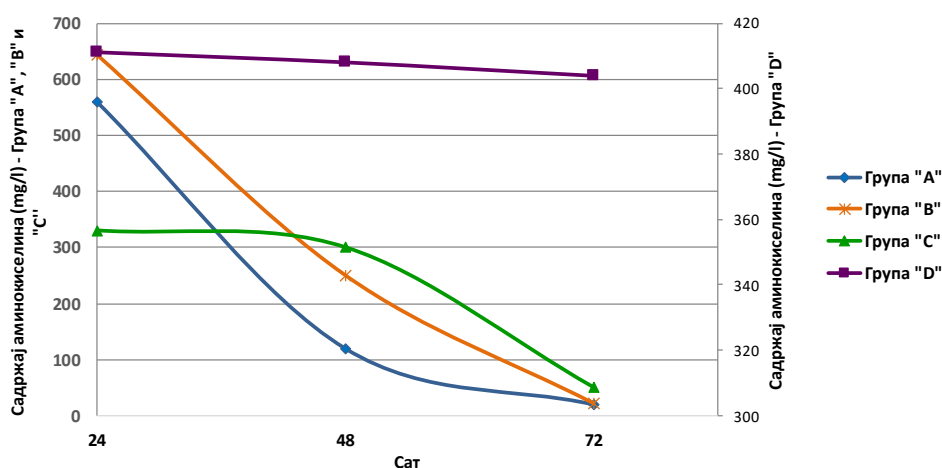
Слика 17. Садржај аминокиселина у охмеленим сладовинама произведеним из слада тритикалеа обе испитиване сорте са додатком комерцијалног ензима уз примену конгресног и модификованог режима комљења

Као и у случају сладовина, и у охмеленим сладовинама, са повећањем удела слада тритикалеа обе испитиване сорте, дошло је до повећања садржаја аминокиселина свих испитиваних група. Охмелене сладовине произведене са 50% удела сорте НС Паун, оба испитивана режима комљења, имале су већи садржај „В“ групе у поређењу са контролном охмеленом сладовином.

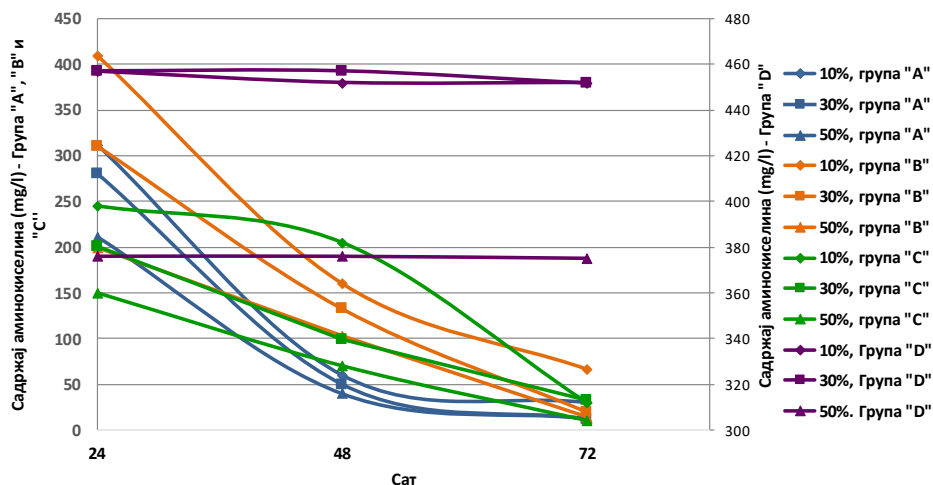
4.5.3. Аминокиселински састав пива

Раст квасца може се поделити на следеће фазе: „лаг“ фаза, фаза убрзаног раста и стационарна фаза. „Лаж“ фаза, односно фаза адаптације, обухвата временски период од 12–24 часова између инокулације сладовине и појаве ферментативне активности. Током ове фазе квасац се прилагођава новом окружењу богатом хранљивим материјама. Након адаптационе фазе, долази до кратког преласка у фазу експоненцијалног раста, где је брзина умножавања ћелија максимална. Са падом концентрације шећера, квасац прелази у стационарну фазу, коју одликује равнотежа између новонасталих и одумрлих ћелија квасца (Shopska и сар., 2019).

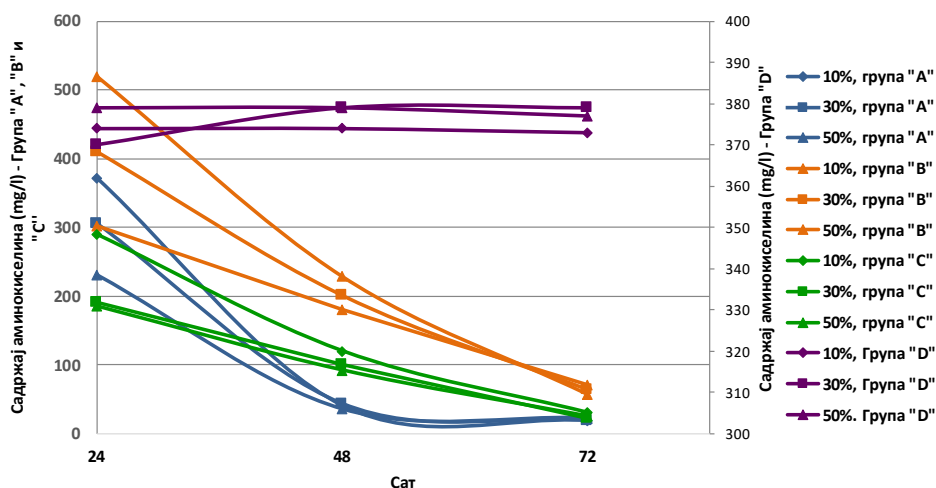
Како се успорава или престаје размножавање квасца, тако се, у каснијим фазама ферментације, и унос аминокиселина успорава. На почетку ферментације, аргинин, аспарагинска киселина, аспарагин, глутаминска киселина, глутамин, лизин, серин и треонин брзо се апсорбују. Квасац остале аминокиселине усваја спорије. У строго анаеробним условима, као што су они који су карактеристични у каснијим фазама ферментације пива, пролин не мења значајно своју концентрацију, док се преко 95% осталих аминокиселина асимилује. Уопштено говорећи, квасци доњег врења, попут овог коришћеног у овом истраживању, асимилују аминокиселине спорије у односу на квасце горњег врења (Ferreira и Guido, 2018). Аминокиселински састав, као и тренд асимилације аминокиселина од стране квасца, током ферментације, приказан је на Сликама 18 – 34.



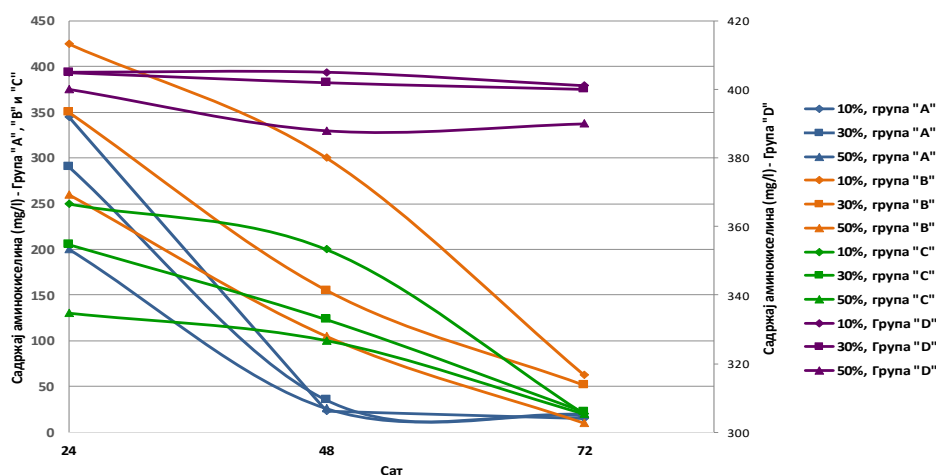
Слика 18. Садржај аминокиселина у младом пиву произведеном из јечменог слада, без додатка ензима, конгресном методом



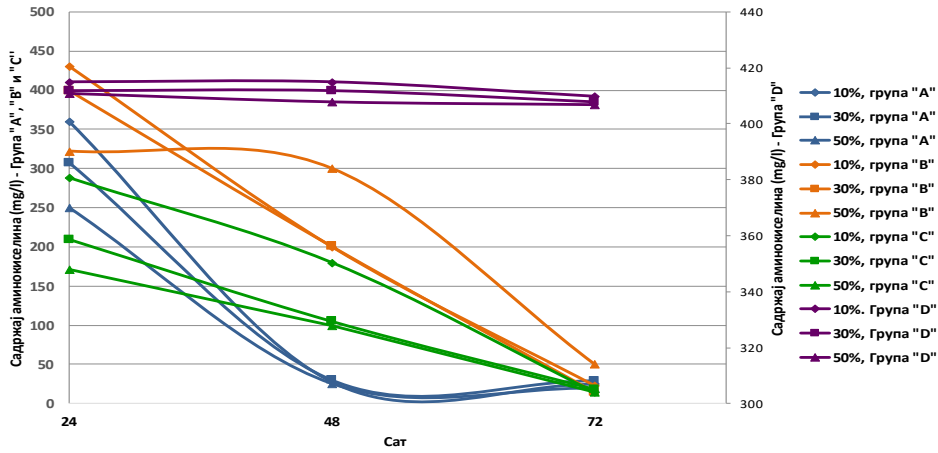
Слика 19. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте НС Паун, без додатка ензима, конгресном методом



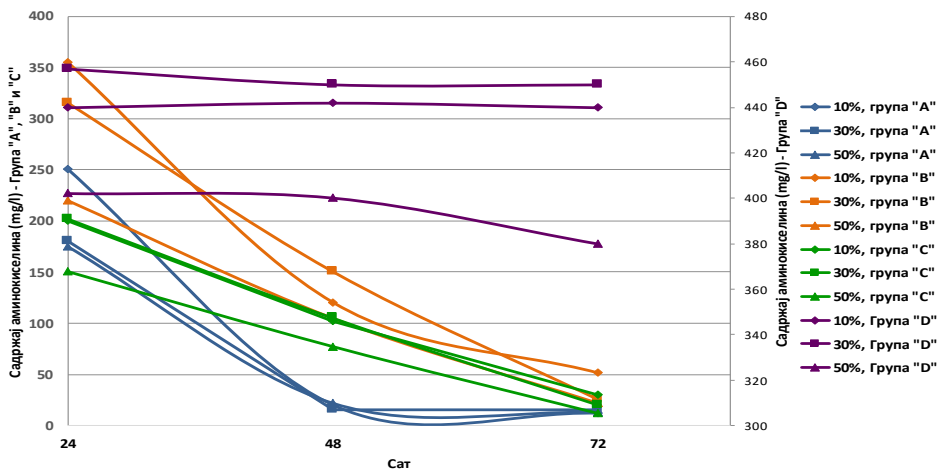
Слика 20. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте НС Паун, са додатком комерцијалног ензима, конгресном методом



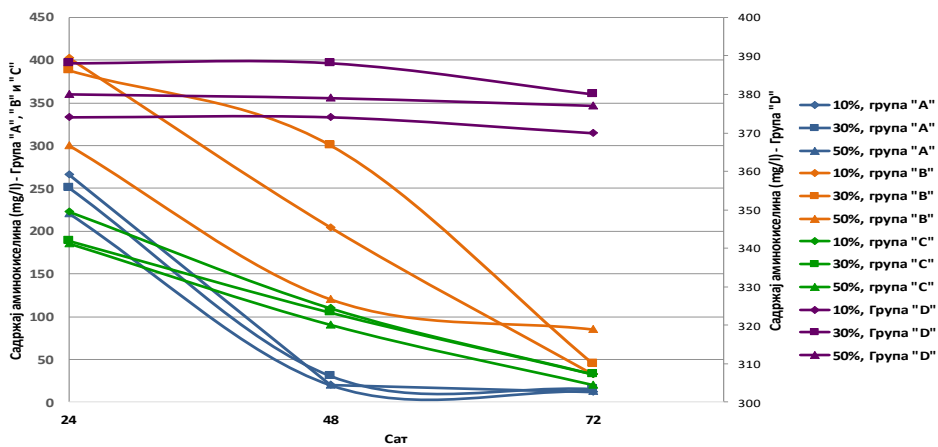
Слика 21. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте Одисеј, без додатка ензима, конгресном методом



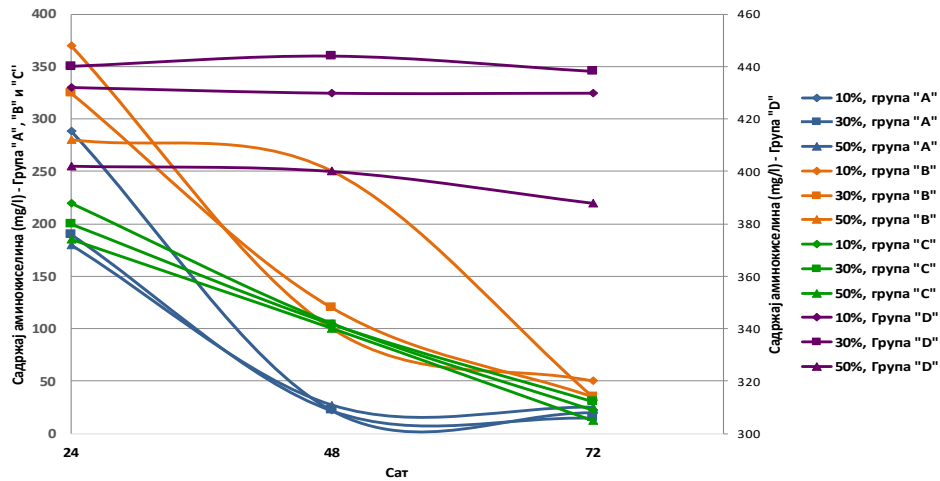
Слика 22. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте Одисеј, са додатком комерцијалног ензима, конгресном методом



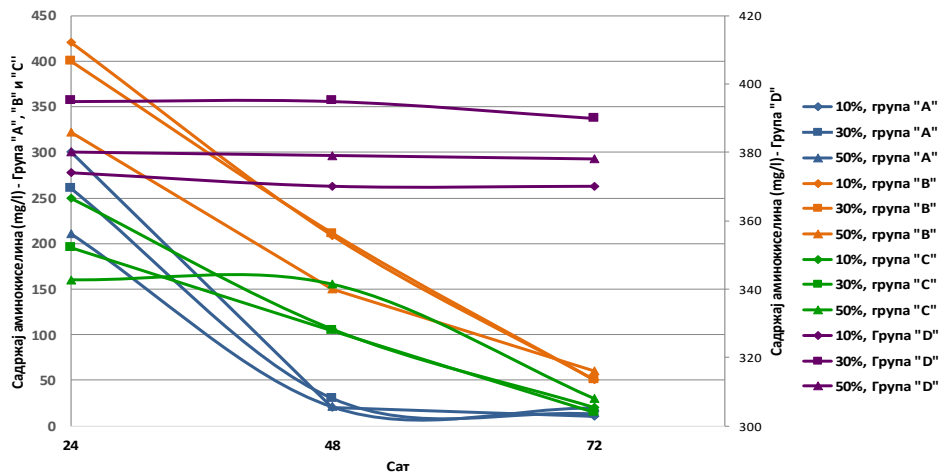
Слика 23. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте НС Паун, без додатка ензима, модификованом методом



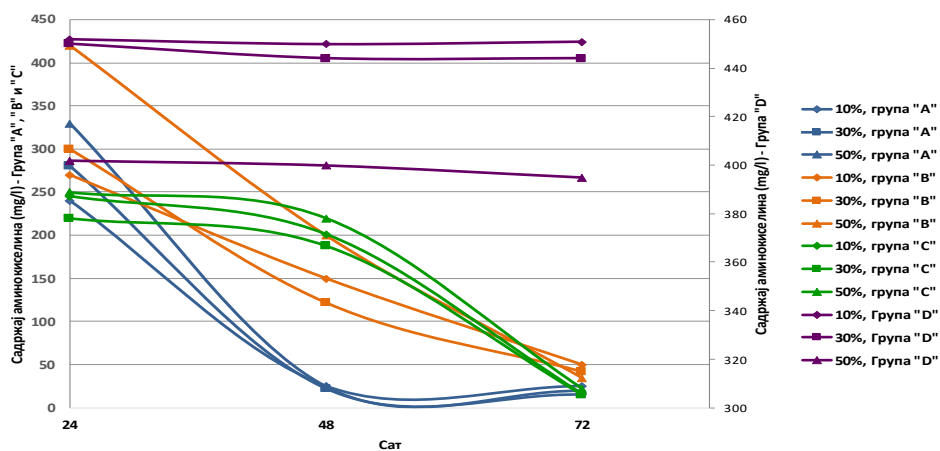
Слика 24. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте НС Паун, са додатком комерцијалног ензима, модификованом методом



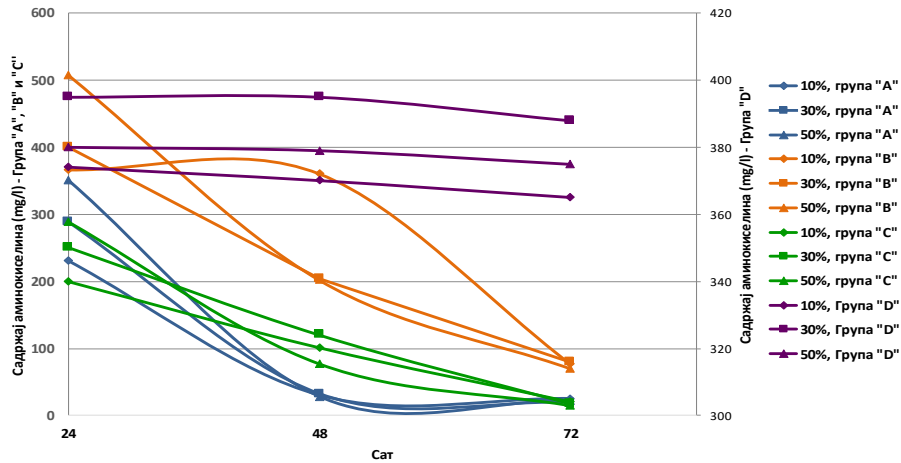
Слика 25. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте Одисеј, без додатка ензима, модификованом методом



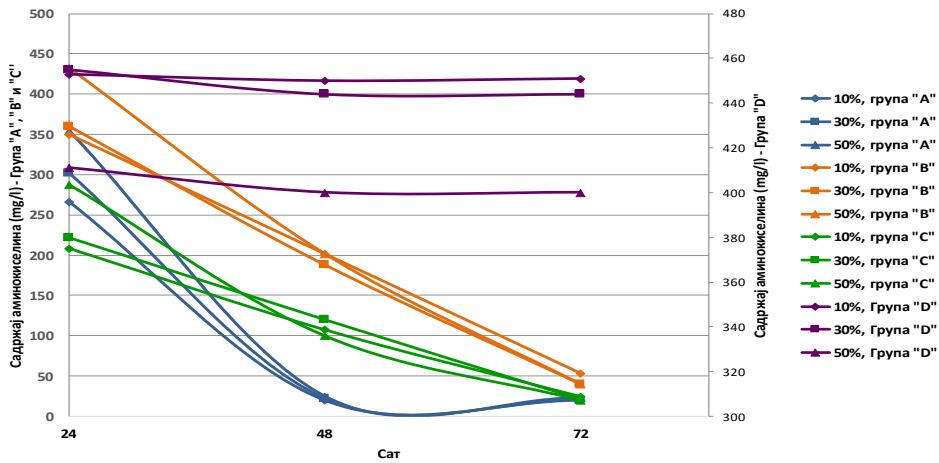
Слика 26. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из нативног тритикалеа сорте Одисеј, са додатком комерцијалног ензима, модификованом методом



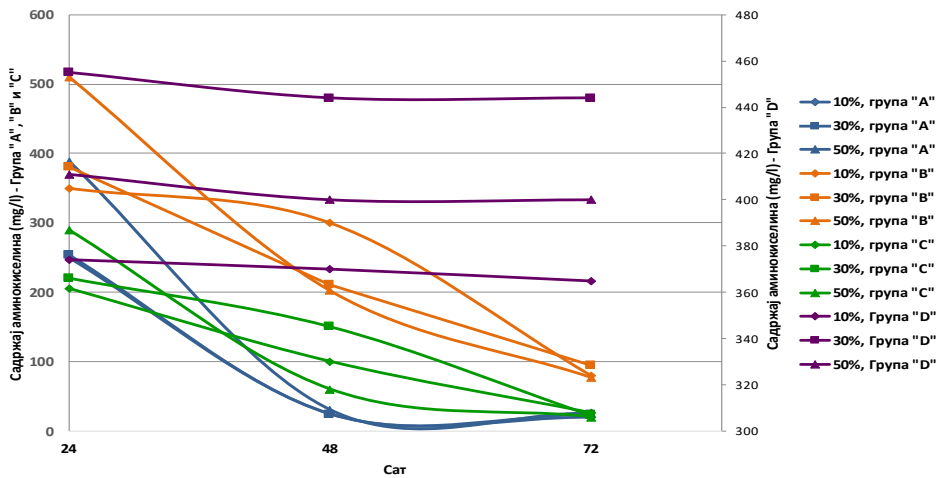
Слика 27. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте НС Паун, без додатка ензима, конгресном методом



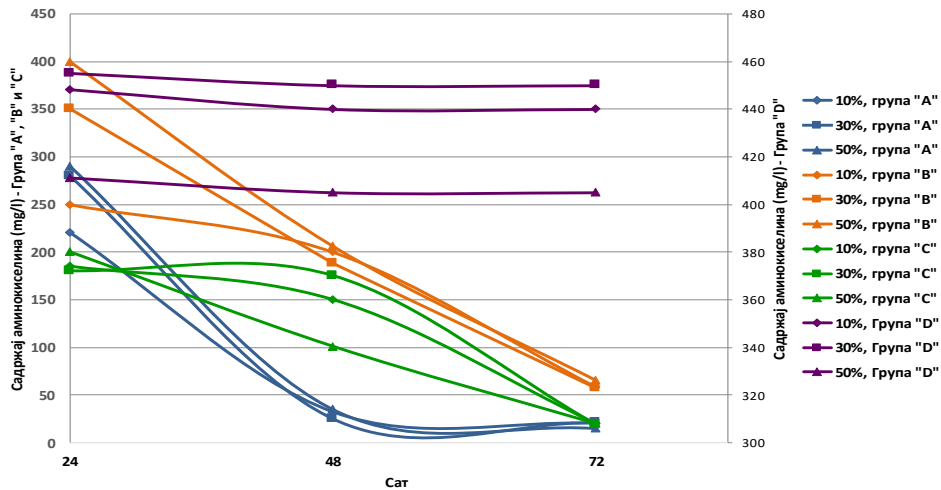
Слика 28. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте НС Паун, са додатком комерцијалног ензима, конгресном методом



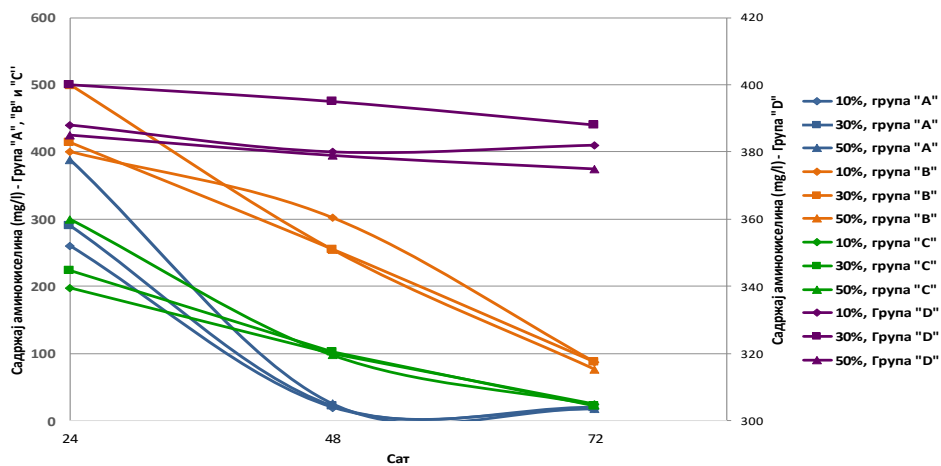
Слика 29. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте Одисеј, без додатка ензима, конгресном методом



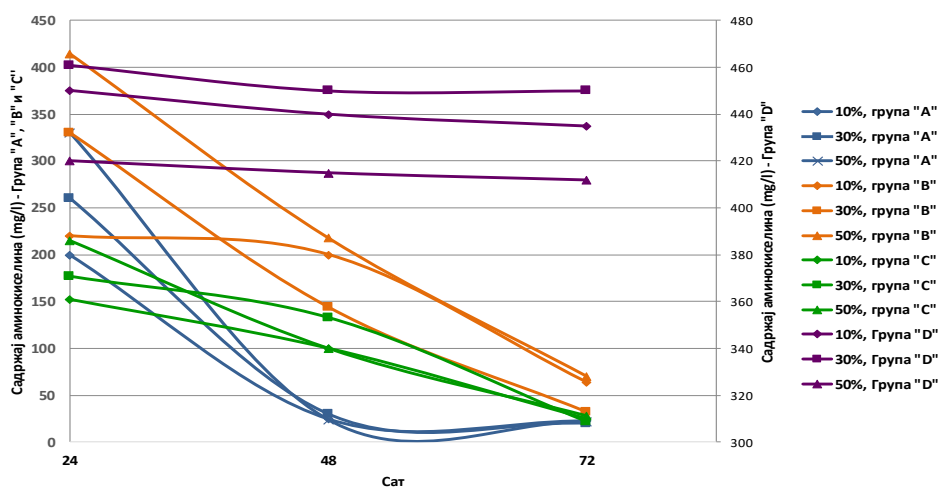
Слика 30. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте Одисеј, са додатком комерцијалног ензима, конгресном методом



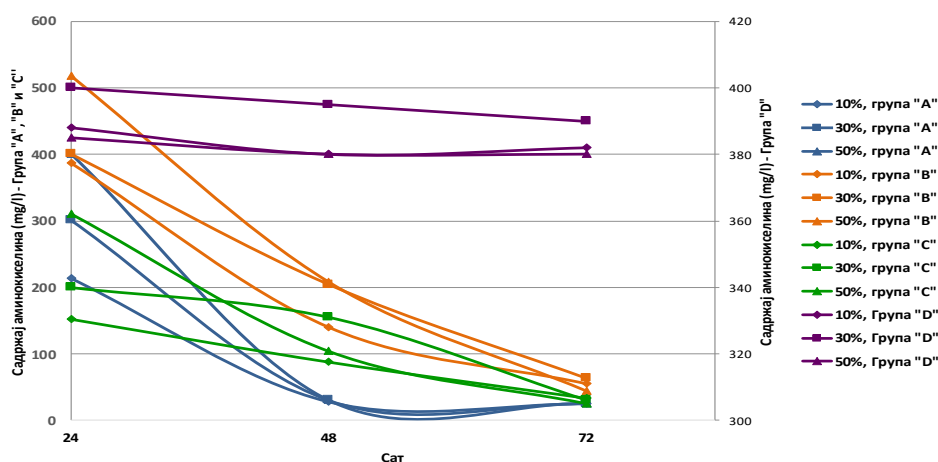
Слика 31. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте НС Паун, без додатка ензима, модификованом методом



Слика 32. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте НС Паун, са додатком комерцијалног ензима, модификованом методом



Слика 33. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте Одисеј, без додатка ензима, модификованом методом



Слика 34. Садржај аминокиселина у младим пивима произведеним из слада тритикалеа сорте Одисеј, са додатком комерцијалног ензима, модификованом методом

У свим испитиваним ферментацијама, потпуна асимилација аминокиселина догодила се у року од 72 сата, са изузетком групе „D“. Са слика 18 - 34 приметно је смањење садржаја аминокиселина испитиваних група „А“, „В“ и „С“ током ферментације, односно њихова асимилација. Сви испитивани узорци су након 24 сата ферментације имали нижи садржај аминокиселина у односу на охмељене сладовине. Највећи тренд опадања имала је група „А“, до 48-ог сата. У литератури се углавном наводи да се аминокиселине „А“ групе асимилију током „лаг“ фазе, односно током првих 24 сата ферментације, што није био случај у овој докторској дисертацији. У поређењу са јечменим сладом – контролним узорком, ферментације сладовина произведених из тритикалеа имале су нижи садржај групе „А“ у свим испитиваним уделима. У радовима Perpète (2005) и Fontana и Buiatti (2009) утврђено је да се група „С“ асимилије тек након исцрпљења групе „А“, што се може приметити са графичких приказа свих испитиваних ферментација. Садржај аминокиселина група „В“ и „С“ се тек након 72 сата трајања ферментације смањило. У свим испитиваним ферментацијама, садржај пролина је остао углавном непромењен, чиме су потврђени резултати других истраживања (Perpète и сар., 2005; Lei и сар., 2013; Jiang и сар., 2023). Асимилација пролина захтева присуство митохондријалне оксидазе, стога анаеробно окружење током ферментације инхибира функцију овог ензима, што доводи до тога да пролин остаје углавном непромењен. Из тог разлога, пролин је обично присутан у пиву у концентрацији од 200 до 300 mg/l (Hill и Stewart, 2019; Koller и Perkins, 2022). Током ферментација примећена је незнатна потрошња пролина између 48-ог и 72-ог сата ферментације, што сугерише да квасци ипак усвајају мање преферирани извор азота када су други извори, који се могу асимиловати, већ утрошени. Такође, није примећена веза између удела тритикалеа у укупној и садржаја пролина у испитиваним сладовинама одабраним за ферментацију.

4.6. Примена вештачких неуронских мрежа и генетског алгоритма у моделовању и оптимизацији производње сладовине

У прошлости, истраживања везана за технологију хране, углавном су била спроведена користећи конвенционалније приступе. Међутим, како су данас развој и усвајање нових технологија драматично убрзани, ова промена утиче на скоро све области живота, укључујући и прехранбену индустрију (Min и сар., 2019).

Развој нових стратегија, попут моделовања и оптимизације процеса, у индустрији увек је добро прихваћен, с обзиром да такав приступ може гарантовати економски исплативију производњу. У те сврхе, могу се користити вештачке неуронске мреже (ANN – од енгл. Artificial Neural Network). Последњих година, примена ANN-а постала је користан алат за повећање тачности, као и за скраћење времена и смањење трошкова у аналитичким методама. Стога, моделовање процеса помоћу ANN-а има потенцијал у решавању проблема, заобилазећи традиционалне приступе (Gonzalez Viejo и сар., 2019; Takahashi и сар., 2019)

Процес производње пива, као биотехнолошки процес, може се илустровати емпиријским математичким моделима, због интеракција различитих променљивих, као и сложених биохемијских реакција, које захтевају ефикасну методологију моделовања процеса. ANN се одликује нелинеарним аспектом, стога може детектовати сложене нелинеарне корелације између зависних и независних променљивих параметара одређеног процеса (Gonzalez Viejo и сар., 2019; Takahashi и сар., 2019).

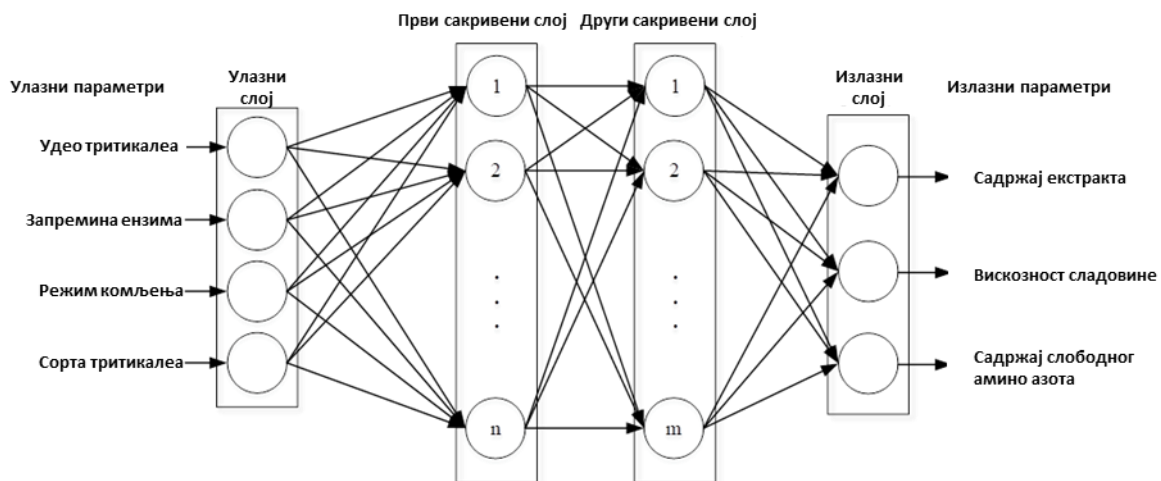
Предност употребе неуронских мрежа лежи у чињеници да и без исцрпног знања о специфичном процесу, мрежа може научити како да предвиди понашање система из претходних искустава. Да би избор ANN топологије био тачнији, што зависи од различитих карактеристика попут броја скривених слојева, броја неурона унутар слојева и веза међу неуронима, коришћење еволуционих алгоритама може бити драгоцен предност. Као такав, генетски алгоритам (GA - од енгл. Genetic Algorithm) може се применити у оптимизацијама биопроцеса на основу модела добијеног у ANN-у (Mane и Rao, 2017; Gonzalez Viejo и сар., 2019; Takahashi и сар., 2019). GA опонаша процес природне селекције, где се нова генерација јединици добија укрштањем јединки из претходне генерације. Применом циљне функције, свака јединка се оцењује на основу критеријума прилагођености окружењу (Imandi и сар., 2023).

До сада, у технологији пива, наведене технике вештачке интелигенције биле су примењене у процесима ферментације (Becker и сар., 2002), за процену квалитета пива помоћу електронског „носа“ (Ghasemi-Varnamkhasti и сар., 2011), процену садржаја сирћетне киселине на крају ферментације (Zhang и сар., 2012) и за класификацију пива (Dębska и Guzowska-Świder, 2011). Поред тога, ANN и GA су такође примењивани и у оптимизацији даљег коришћења споредних производа технологије пива попут пивског тропа (Imandi и сар., 2023) и отпадних вода (Hassen и сар., 2019).

У дисертацији, у циљу моделовања и оптимизације производње сладовине обе испитиване сорте тритикалеа, у нативном и сладованом облику, применом два различита режима комљења, без и са додатком ензима, примењени су ANN и GA.

4.6.1. Моделовање процеса производње сладовине применом ANN-а

Архитектура неуронских мрежа састоји се од међусобно повезаних неурона, организованих у слојеве, што подразумева улазни слој, један или више скривених слојева и излазни слој. Трослојна ANN са сигмоидалном активационом функцијом у скривеном слоју и линеарном активационом функцијом у излазном слоју, коришћена је за потребе моделовања производње сладовине. Мрежни улази су пажљиво дизајнирани као четири индикатора са највећим утицајем на перформансе предвиђања квалитета сладовине – удео тритикалеа у усипку, запремина комерцијалног ензима, индекс режима комљења (1- Конгресна метода и 2 – модификована метода) и индекс сорте/форме тритикалеа (1 - нативни тритикале сорте НС Паун; 2 – нативни тритикалеа сорте Одисеј; 3 – слад тритикалеа сорте НС Паун и 4 – слад тритикалеа сорте Одисеј). Највећа запремина комерцијалног ензима је била скалирана на 100% (50 μ l), па је тако запремина од 10 μ l била 20%, а запремина од 5 μ l – 10%. Као мрежни излази одабрани су параметри квалитета сладовине – садржај екстракта, вискозност сладовине и садржај слободног аминок азота (FAN - од енгл. Free Amino Nitrogen). Број неурона у првом скривеном слоју означен је као “n”, а број неурона у другом скривеном слоју означен је као “m”. Архитектура ANN модела је приказана на Слици 35.



Слика 35. Архитектура ANN модела

4.6.2. Оптимизација модела производње сладовине

Генетски алгоритам (GA) је предложен као делотворан алат за оптимизацију улазних променљивих у процесу производње сладовине. Након што се ANN модел формира и валидира, он се сматра циљном функцијом за GA оптимизацију. Интеграција GA са ANN моделом процеса комљења, омогућава оптимизацију улазних променљивих на основу њиховог утицаја на квалитет сладовине, нудећи побољшану контролу и ефикасност производње сладовине.

Како би се тачније изразила важност излазних променљивих, у оптимизацију су уведене казне, које додатно скалирају излаз циљне функције. На овај начин, обезбеђено је уравнотеженије разматрање примарног циља, као и утицаја излазних променљивих добијеног модела. Применом оваквог приступа, оптимизација процеса може да детектује замршене односе између улазних, излазних променљивих и казни.

Како у пиварским аналитикама не постоји тачно дефинисан опсег садржаја екстракта у сладовини, за оптимизацију процеса је као циљ постављен опсег од 8,57% (садржај екстракта у контролном узорку сладовине произведене из јечменог слада) до 8,89% (највиши садржај екстракта добијен у сладовини произведеној из 70% удела слада тритикалеа сорте НС Паун без додатка ензима). Одабрана вредност је била 8,65% (w_e^*) (насумично одабрана вредност из резултата садржаја екстракта сладовине, у складу са горе поменутиим критеријумом). Сходно томе, казнена функција за садржај екстракта у сладовини (P_1) је била:

$$P_1 = \begin{cases} w_e > 8,89 & 10 \\ 8,57 \leq w_e \leq 8,89 & 1 \\ w_e < 8,57 & 10 \end{cases}$$

Пожељан опсег вискозности сладовине је у распону од 1,5 – 1,6 m·Pas (МЕВАК, 2011). Одабрана вредност је била 1,580 m·Pas (w_v^*) (вискозност сладовине произведене из јечменог слада). Сходно томе, казнена функција за вискозност сладовине (P_2) је била:

$$P_2 = \begin{cases} w_v > 1,5 & 10 \\ 1,5 \leq w_v \leq 1,6 & 1 \\ w_v < 1,6 & 10 \end{cases}$$

Пожељан опсег садржаја FAN је у распону од 110 mg/l до 180 mg/l (МЕВАК, 2011). Одабрана вредност је била 147,99 mg/l (w_{FAN}^*) (вредност FAN-а сладовине произведене из јечменог слада). Сходно томе, казнена функција за садржај FAN (P_3) је била:

$$P_3 = \begin{cases} w_{FAN} > 110 & 10 \\ 110 \leq w_{FAN} \leq 180 & 1 \\ w_{FAN} < 180 & 10 \end{cases}$$

4.6.3. Коришћени подаци у моделовању и оптимизацији процеса производње сладовине

Укупан број података, коришћених за развој и валидацију модела, као и за оптимизацију, био је 384. Статистички параметри свих улазних и излазних променљивих приказани су у Табели 46.

Табела 46. Статистички подаци коришћених података за моделовање и оптимизацију производње сладовине

Параметар	Min.*	Max.**	Mean****	Std. Dev.****
Удео тритикалеа (%)	10	70	40	22,39
Запремина ензима (%)	0	100	32,5	39,66
Индекс режима комљења	1	2	1,5	0,5
Индекс сорте/форме тритикалеа	1	4	2,5	1,12
Садржај екстракта (%)	8,12	8,89	8,47	0,2
Вискозност (mPa·s)	1,320	2,220	1,56	0,13
Садржај FAN (mg/l)	56,0	198,62	130,48	39,32

Min.* - минимална вредност; Max.** - максимална вредност; Mean*** - Аритметичка средина; Std. Dev.**** - Стандардна девијација

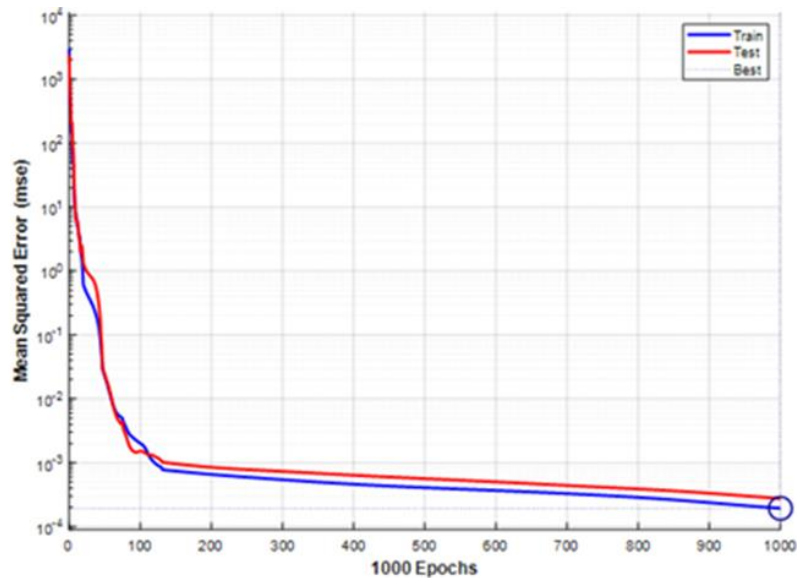
Скуп података подељен је на одговарајуће подскупове за обуку, валидацију и тестирање. Подскуп за обуку коришћен је за обуку модела, на основу кога су научени односи између улазних и излазних променљивих. Подскуп за валидацију коришћен је за фино подешавање модела и процену њихове способности генерализације. Подскуп за тестирање је служио као независан скуп евалуације за објективно мерење перформанси обучених модела и метода оптимизације. Пажљива подела скупа података на подскупове за обуку (340 узорака), валидацију (36 узорака) и тестирање (8 узорака) допринела је поузданости и тачности предложених модела и метода оптимизације.

4.6.4. Резултати обучавања ANN модела

У овој студији, три различите функције обуке - Levenberg–Marquardt, Бајесов алгоритам и алгоритам скалираног коњугованог градијента, коришћене су за оптимизацију ANN модела коришћењем свеобухватног и добро структурираног скупа података.

231 различита вредност неурона у оба скривена слоја („n“ и „m“) је тестирана. У експериментима, број неурона се кретао у корацима од 5 - од 10 до 60 неурона у првом скривеном слоју и од 0 до 30 у другом слоју (0 представља изостављање другог слоја). Обука је поновљена десет пута за сваку комбинацију параметара (3 функције тренинга и 231 различит број неурона у скривеним слојевима), што је дало 6.930 (3 × 231 × 10) третмана за ANN. У овим експериментима утврђена је најбоља функција за обуку, као и најприкладнији број неурона у скривеним слојевима.

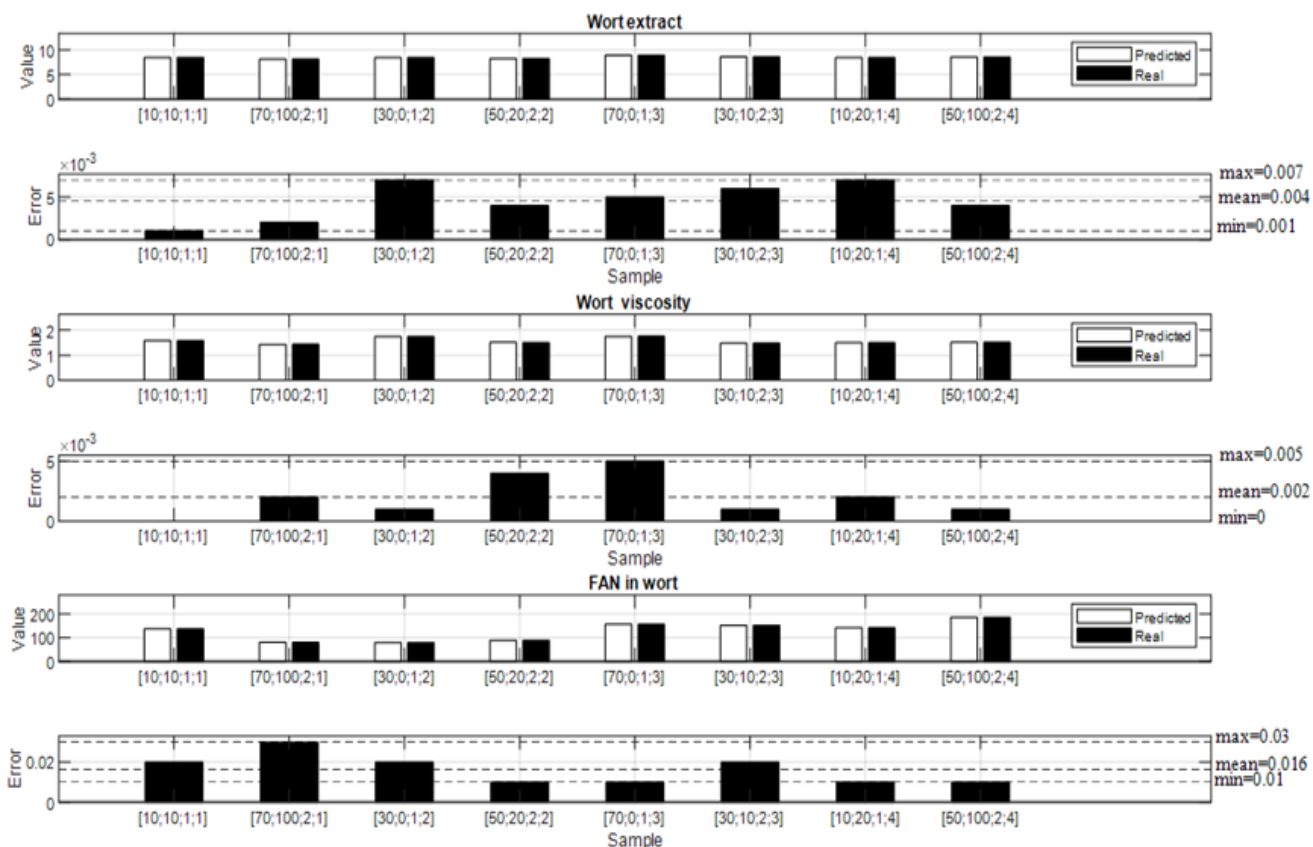
Најбоље перформансе су добијене за модел ANN са 30 неурона у првом и 10 неурона у другом скривеном слоју, који је обучен имплементацијом Бајесовог алгоритма. Обука је завршена после 1000 епоха. Средња квадратна грешка (MSE – од енгл. Mean Squared Error) на целом скупу података за обуку у последњој епохи била је 0,00019366. Перформансе обуке мреже приказане су на Слици 36.



Слика 36. Перформансе обуке за добијање најбољег ANN модела

4.6.5. Резултати тестирања ANN модела

У циљу процене перформанси и поузданости обученог ANN модела, фаза тестирања је била спроведена коришћењем резултата добијених од 8 узорака. Ови узорци пажљиво су одабрани да обухвате широки распон комбинација улазних променљивих у процесу производње сладовине. Током фазе тестирања, вредности улазних променљивих за 8 узорака је доведено на улаз обученог ANN модела, а предвиђене излазне променљиве су упоређене са њиховим одговарајућим, стварним вредностима у оквиру узорака. Перформансе модела су процењене израчунавањем различитих метрика, као што су средња апсолутна грешка (MAE - од енгл. Mean Absolute Error), минимална и максимална вредност. Добијени резултати су приказани на Слици 37.



Слика 37. Резултати обуке предложеног ANN модела

Резултати добијени у фази тестирања указали су на висок степен тачности и прецизности у предвиђањима обученог ANN модела за свих 8 узорака. Израчунате грешке су показале веома мала одступања између предвиђених и стварних вредности, наглашавајући способност модела да ефикасно детектује сложене односе унутар процеса комљења и установи тачне процене жељених параметара квалитета сладовине. Све ово указује на потенцијал примене обученог ANN модела на практичне сценарије у производњи сладовине.

4.6.6. Резултати оптимизације процеса производње сладовине применом GA

У циљу оптимизације процеса производње сладовине, величина популације је постављена из скупа вредности у распону од 40 до 80 са кораком од 5. Иста популација потенцијалних комбинација (хромозома) је одржавана у свакој генерацији. Коришћена стопа укрштања била је 0,8, где је 80% хромозома у свакој генерацији бити подвргнуто укрштању, како би се створили хромозоми потомства, док је преосталих 20% било директно пренето на следећу генерацију без укрштања (механизам елитизма). Одабрана стопа мутације била је 0,1, омогућавајући да 10% хромозома буде подвргнуто мутацији, уносећи мале насумичне промене у њиховим генетским информацијама. Као механизам селекције коришћена је турнирска селекција, при чему

је биран насумичан подскуп хромозома, а хромозом са највећом мером прилагођења (одређен функцијом циља) био је изабран за репродукцију као родитељ. Одређивањем ових параметара, процес оптимизације вођен је са величином популације у распону од 40 до 80 хромозома, подвргнутих максимално 400 генерација еволуције, коришћењем укрштања и мутације за стварање новог потомства, и одабиром родитеља кроз турнирску селекцију. Завршетак процеса био је одређен унапред дефинисаним критеријумима. Током процеса оптимизације, способност хромозома је континуирано процењивана на основу функције циља са казнама. Ова функција циља била је усмерена на потрагу за оптималним комбинацијама улазних променљивих које задовољавају дефинисана ограничења, као и жељени квалитет сладовине.

Оптимизација је поновљена пет пута за сваку комбинацију параметара (8 различитих вредности популације), што је дало 40 (8 × 5) покушаја оптимизације. Најбоља вредност функције циља и улазни параметри који је минимизирају, одређени су у овим експериментима. Најбоље перформансе су добијене за величину популације од 50. После 70 генерација процеса оптимизације, најбоља добијена вредност функције циља била је 0,023. Ово је указало на значајно побољшање функције циља у поређењу са почетном популацијом.

На основу оптимизације GA, утврђено је да су оптимизоване улазне променљиве биле 23% (удео тритикалеа), 9% (запремина ензима), 1 (режим комљења – Конгресна метода) и 3 (сорта/форма тритикалеа – слад сорте HC Паун). Добијени резултати, који одговарају овим оптимизованим улазним променљивим, били су 8,65% за садржај екстракта сладовине, 1,52 mPa·s за вискозност сладовине и 148,32 mg/l за садржај FAN у сладовини. Добијена вредност функције циља од 0,023 и одговарајуће улазно-излазне вредности указивале су на успешно проналажење оптимизованог модела за процес комљења у производњи сладовине.

4.6.7. Потврда резултата моделовања и оптимизације процеса производње сладовине

Након добијања резултата оптимизације за улазне променљиве (удео слада тритикалеа 23% - сорта HC Паун; концентрација ензима 9%; Конгресна метода), спроведена је експериментална потврда на реалном лабораторијском процесу производње сладовине, како би се потврдила ефикасност оптимизованих улазних променљивих. На основу улазних променљивих, добијени излазни параметри су били: 8,65% за садржај екстракта сладовине, 1,52 mPa·s за вискозност сладовине и 148,32 mg/l за садржај FAN у сладовини.

Резултати добијени у реалном лабораторијском процесу комљења, били су: 8,63% за садржај екстракта сладовине, 1,51 mPa·s за вискозност сладовине и 148,88 mg/l за садржај FAN у сладовини.

Из приказаних резултата, може се закључити да су остварене приближно исте вредности оптимизацијом помоћу GA и у стварном процесу комљења, што потврђује

ефикасност примене ANN и GA у предвиђању и постизању жељеног квалитета сладовине.

5. ЗАКЉУЧЦИ

Из истраживања спроведених у оквиру ове докторске дисертације, проистекли су следећи закључци:

- У првој фази истраживања, анализе нативног тритикалеа, поступак микросладовања, као и анализа произведеног слада тритикалеа показале су да је удео I класе обе сорте тритикалеа био задовољавајући, тј. изнад 90%, при чему је сорта НС Паун имала већу вредност I класе ($93,16 \pm 0,10\%$). Просечна стакластост била је већа код сорте Одисеј ($26,00 \pm 0,10\%$) у односу на сорту НС Паун ($7,29 \pm 0,12\%$). Хектолитарска маса била је задовољавајућа код сорте НС Паун ($72,3 \pm 0,12$ kg). Обе испитиване сорте тритикалеа имале су задовољавајућу енергију клијања, као и хидросензибилност. Испитивани узорци нативног тритикалеа имали су виши садржај протеина од прописаних вредности за јечам, односно сорта Одисеј - $12,88 \pm 0,12\%$ и сорта НС Паун - $11,69 \pm 0,20\%$. Ипак, добијени резултати били су у складу са подацима нађеним у другим истраживањима о нативном тритикалеу. Оба испитивана узорка тритикалеа имала су изузетно високу дијастатску снагу (НС Паун $593 \pm 0,55^{\circ}\text{WK}$ и Одисеј $547 \pm 0,92^{\circ}\text{WK}$), што указује на више него двоструко већу ензимску активност нативног тритикалеа у односу на јечмени слад. Испитивани нативни тритикале сорте НС Паун имао је већу активност β -амилазе ($12,62 \pm 0,69$ U/g), док је активност α -амилазе била већа код сорте Одисеј ($27,82 \pm 1,53$ U/g). При анализи испитиваних сорти тритикалеа, добијени су врло слични резултати садржаја β -гљукана у нативном зрну: сорта НС Паун - $0,81 \pm 0,61\%$ и сорта Одисеј - $0,82 \pm 0,22\%$. Нативни тритикале сорте НС Паун имао је незнатно виши садржај пентозана ($2,22 \pm 0,51\%$) у односу на сорту Одисеј ($2,11 \pm 0,32\%$). Анализом микросладовања закључено је да је мочеење било равномерно, уз добро примање влаге. Укупни губици током микросладовања били су у прописаном распону. Запажено је да су се активности α - и β -амилазе, обе испитиване сорте тритикалеа, повећавале током микросладовања. Највећи пораст активности α -амилазе забележен је у фази клијања. Активност β -амилазе се, такође, повећала током сладовања, али у мањој мери. У испитиваним сортама тритикалеа садржај β -гљукана се током сладовања, значајно смањило, што указује на високу активност β -гљуканазе. Повећање садржаја пентозана у узорку сорте НС Паун, током сладовања, било је $30,6\%$ и у сладу је износило $2,62 \pm 0,03\%$, док је за сорту Одисеј повећање било $18,5\%$ и у сладу је износило $2,77 \pm 0,04\%$. Хектолитарска маса, као и просечна стакластост обе сорте слада тритикалеа, била је у прописаним границама за јечмени слад. Садржај протеина је, код испитиваног слада тритикалеа обе сорте, био повишен, али ипак нижи од оног одређеног у нативном зрну.

- Екстракт фино млевеног слада, произведених сладовина, показао је да су испитивани узорци слада тритикалеа задовољили прописани критеријум, односно имали знатно више вредности и од јечменог слада: сорта НС Паун - $88,03 \pm 0,10\%$ и сорта Одисеј - $84,00 \pm 0,10\%$. Оба испитивана слада тритикалеа показала су одговарајуће време ошећерења, као и брзину филтрације. Растворљиви азот био је знатно виши од прописаног критеријума, што је потврда појачане протеолитичке активности тритикалеа. Сладовине произведене из обе сорте слада тритикалеа имале су повећану вискозност. Сорта Одисеј имала је већу вискозност у односу на сорту НС Паун и износила је $1,995 \pm 0,20 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. С обзиром да су у анализи β -глюкана током микросладовања остварене врло ниске вредности, може се закључити да повећаној вискозности сладовина доприносе пентозани присутни у зрну тритикалеа. Разлика екстракта фино и грубо млевеног слада обе испитиване сорте тритикалеа била је у прописаном опсегу за јечмени слад, што указује на добру цитолитичку разградњу. Вредности Kolbach-овог броја биле су значајно веће од прописаног критеријума за јечмени слад, односно износиле су $61,54 \pm 0,45\%$ (сорта НС Паун) и $63,35 \pm 0,12\%$ (сорта Одисеј), што је, такође, потврда повећане протеолитичке разградње. Као и у анализи дијастатске снаге нативног тритикалеа, наведени параметар био је значајно виши и у сладу обе испитиване сорте тритикалеа (у односу на прописани критеријум за јечмени слад) односно сорта НС Паун - $810 \pm 0,15^\circ\text{WK}$ и сорта Одисеј - $682 \pm 0,10^\circ\text{WK}$.
- У другој фази истраживања, која је обухватала анализе произведених сладовина, примећено је да су применом конгресне методе, сви испитивани удели нативног тритикалеа сорти НС Паун и Одисеј имали нижи екстракт сладовине у односу на јечмени слад ($8,57 \pm 0,01 \text{ g}/100\text{g}$). Са повећањем удела тритикалеа у усипку, смањивао се садржај екстракта. Све анализиране сладовине имале су вискозност већу од прописане. Већа вискозност одређена је код сладовина произведених из сорте Одисеј. Са повећањем удела тритикалеа у усипку, повећавала се и вискозност сладовина. Садржај слободног аминокиселинског азота био је задовољавајући само у уделима од 10% нативног тритикалеа у усипку, обе испитиване сорте.
- Како би се смањила вискозност, на самом почетку експеримената додато је $50 \mu\text{l}$ ензима по чаши за комљење, према препоруци произвођача. Међутим, наведена концентрација ензима значајно је смањила вискозност сладовина, која је, на овај начин, била нижа чак и од прописаних вредности за јечмени слад. Из тог разлога, у даљим експериментима оптимизирана је количина ензима, те је коначна била $5 \mu\text{l}$.
- У сладовинама произведеним из нативног тритикалеа обе сорте, са додатком ензима, примећено је смањење садржаја екстракта сладовине, у поређењу са сладовином без додатка ензима. Односно, приликом примене веће количине ензима, било је приметно веће смањење садржаја екстракта. Такође, сладовине

произведене с додатком ензима имале су већи садржај слободног аминокиселиног азота у односу на сладовине произведене без додатка ензима. Интензивна протеолитичка разградња, односно производи те разградње, могу имати инхибиторан ефекат на амилолитичке ензиме, те услед тога може доћи до слабије разградње скроба, чиме се објашњава смањење садржаја екстракта у сладовинама с додатком ензима. Са додатком 5µl ензима, сладовине произведене из 10 - 50% удела у усипку, обе испитиване сорте, имале су вискозност која је била у прописаним границама.

- Примењена модификована метода комљења, чији температурни режим погодује већој разградњи пентозана, односно смањењу вискозности, утицала је негативно на садржај екстракта сладовина произведених из нативног тритикалеа обе сорте. У поређењу са сладовинама произведеним конгресном методом, сладовине произведене применом модификоване методе имале су сладовине са већим садржајем растворљивог азота, услед температурних пауза које су погодувале протеолитичкој разградњи. У свим испитиваним уделима нативног тритикалеа обе сорте, вискозност је била мања у случају примене модификованог режима комљења, у односу на сладовине произведене конгресном методом. Садржај слободног аминокиселиног азота био је задовољавајући само у уделима од 10 и 30% нативног тритикалеа у усипку, обе испитиване сорте, без или са додатком ензима.
- Највиши екстракт одређен је у сладовини произведеној из 70% удела тритикалеа слада сорте НС Паун ($8,89 \pm 0,02$ g/100g), применом конгресне методе. У свим уделима, виши садржај екстракта одређен је у сорти НС Паун, у односу на сорту Одисеј. Чак и најнижи садржај екстракта сладовине произведене из слада тритикалеа, био је већи од садржаја екстракта у сладовини произведеној из јечменог слада ($8,57 \pm 0,01$ g/100g). Са повећањем удела тритикалеа у усипку, повећавао се садржај екстракта. Као што је био случај код нативног тритикалеа, у свим испитиваним уделима сладовина произведених из слада тритикалеа са додатком ензима, одређен је нижи садржај екстракта у поређењу са сладовинама без додатка ензима. Вискозност сладовина произведених из слада обе сорте тритикалеа била је прихватљива само у уделима од 10 и 30% код сорте НС Паун и 10% код сорте Одисеј. Сладовине произведене из сорте Одисеј имале су већу вискозност од сладовина произведених из сорте НС Паун. Додатак 5µl ензима, утицао је позитивно на вискозност код сорте НС Паун, у свим испитиваним уделима, док је код сорте Одисеј само сладовина удела 10% одговарала прописаном критеријуму. Садржај слободног аминокиселиног азота био је задовољавајући у свим испитиваним уделима слада тритикалеа у усипку, обе испитиване сорте.
- Као што је то био случај у сладовинама произведеним из нативног тритикалеа, сладовине произведене из слада тритикалеа, модификованом методом, имале су мањи садржај екстракта у поређењу са сладовинама произведеним

конгресном методом, али и већи садржај слободног аминокиселиног азота. Такође, у свим испитиваним уделима слада тритикалеа обе сорте, вискозност је била нижа у случају примене модификованог режима комљења у односу на сладовине произведене конгресном методом. Садржај полифенола био је већи са применом модификованог режима комљења у поређењу са конгресном методом, као и применом веће количине ензима. Са повећањем удела слада тритикалеа у усипку, повећавао се и садржај полифенола. Сладовине са додатком 5µl ензима уз примену модификованог режима комљења имале су мањи садржај екстракта у односу на сладовине без додатка ензима, применом истог режима. Испитиване сладовине удела од 30 до 70% слада сорте НС Паун и 10 и 30% слада сорте Одисеј додатком ензима од 5µl оствариле су вредности у прописаним границама.

- Трећа фаза истраживања обухватала је анализе охмелених сладовина, где су одабрани удели тритикалеа били 10, 30 и 50%, са додатком од 5µl ензима. Екстракт охмелених сладовина смањивао се са повећањем удела нативног тритикалеа обе испитиване сорте у усипку, како без, тако и са додатком ензима. Већи садржај екстракта одређен је у сорти НС Паун, као што је то био случај и у анализи сладовина. У поређењу са резултатима добијеним у испитивању охмелених сладовина произведених конгресном методом, приметан је нижи садржај екстракта применом модификоване методе комљења. Такође, остварена је мања вискозност сладовина након процеса хмељења. Као што је то био случај и у сладовинама, сорта Одисеј остварила је веће вредности овог параметра, у свим уделима, у односу на сорту НС Паун. Примењен модификовани режим комљења допринео је мањој вискозности охмелених сладовина у поређењу са конгресном методом. Садржај полифенола у охмеленој сладовини мањи је од оног у сладовини, услед таложења са протеинима, и смањивао се са повећањем удела тритикалеа у усипку.
- Све испитиване охмелене сладовине произведене из слада тритикалеа обе сорте, имале су већи садржај екстракта у односу на охмелену сладовину произведену из јечменог слада. Додатак ензима, смањио је садржај екстракта у свим испитиваним уделима слада тритикалеа у усипку. У свим испитиваним охмеленим сладовинама, вискозност је била већа у односу на охмелену сладовину произведену из јечменог слада. Сорта слада тритикалеа Одисеј имала је веће вредности овог параметра у свим уделима у односу на сорту НС Паун. Са повећањем удела тритикалеа у усипку, садржај полифенола се, такође, повећавао. Највећи је одређен у охмеленој сладовини сорте НС Паун, удела од 50% - $169,15 \pm 0,10$ mg/l, који је био већи и од оног одређеног у јечменом сладу - $162,17 \pm 0,05$ mg/l. Додатак ензима утицао је на повећање садржаја полифенола.
- Четврта фаза истраживања обухватала је анализу произведеног младог пива у лабораторијским условима, где је запажено да се током појединачних ферментација садржај етанола повећавао, услед ферментативне разградње

шећера, док се садржај правог и привидног екстракта смањивао. Највећи садржај етанола у младом пиву произведеном из нативног тритикалеа, одређен је у уделу тритикалеа од 10%, сорте НС Паун, применом конгресне методе комљења ($2,80 \pm 0,01\%$ v/v). Када је у питању слад тритикалеа, највећи садржај етанола одређен је у младом пиву произведеном из 50% удела тритикалеа сорте НС Паун ($3,06 \pm 0,01\%$ v/v), што је у корелацији са резултатима испитиваних охмељених сладовина, из којих је приметан највећи садржај екстракта управо у уделима од 10% нативног и 50% слада тритикалеа сорте НС Паун у усипку. У свим испитиваним ферментацијама младог пива, боја се смањивала. У поређењу са младим пивима произведеним конгресном методом уз додатак ензима или применом искључиво модификованог режима, приметна је мања боја уз примену комбинације додатка ензима и модификованог режима комљења. Са повећањем удела слада тритикалеа у усипку, садржај слободног аминокиселиног азота се повећавао, док се код младих пива произведених из нативног тритикалеа, смањивао. Сва произведена млада пива из нативног тритикалеа, конгресном методом комљења, нису имала задовољавајући садржај слободног аминокиселиног азота, али је уз примену ензима, као и модификованог режима комљења, овај параметар био задовољавајући у уделима од 10 и 30% у усипку. Код младих пива произведених из слада тритикалеа конгресном методом, додатак ензима допринео је задовољавајућој вредности овог параметра у уделу од 50%, као и у уделима од 30 и 50% тритикалеа у усипку, код обе испитиване сорте, уз примену модификованог режима комбинованог са додатком ензима.

- Садржај полифенола повећавао се са повећањем удела слада тритикалеа у усипку. Како се током комљења на повишеним температурама екстрахује више полифенола у сладовину, у младим пивима произведеним уз примену модификованог режима комљења, у ком су примењене веће температуре у односу на конгресну методу, приметан је и већи садржај полифенола.
- Анализом садржаја аминокиселина, примећен је значајно већи удео групе „В“ у односу на групе „А“ „С“ и „D“, како у сладовини произведеној из нативног, тако и у сладовини произведеној из слада тритикалеа. Применом модификованог режима комљења, добијен је већи садржај аминокиселина у свим испитиваним уделима, у поређењу са конгресном методом. Са повећањем нативног тритикалеа у усипку, приметно је смањење садржаја аминокиселина. Већи садржај аминокиселина нађен је у сладовинама произведеним из слада тритикалеа у поређењу са нативним тритикалеом. У поређењу са сладовинама, садржај аминокиселина у охмељеним сладовинама био је већи, што се може објаснити већом концентрацијом екстракта сладовине, услед испаравања воде током кувања сладовине са хмељом, али и таложења и стварања комплекса полифенола са протеинима већих молекулских маса, чије издвајање не утиче на садржај аминокиселина. У свим испитиваним ферментацијама, потпуна асимилација аминокиселина догодила се у року од 72 сата, са изузетком групе

„D“. Сви испитивани узорци су након 24 сата ферментације имали нижи садржај аминокиселина у односу на охмељене сладовине. Највећи тренд смањења имала је група „А“, до 48-ог сата. Садржај аминокиселина група „В“ и „С“ се тек након 72 сата трајања ферментације смањило. У свим испитиваним ферментацијама, садржај пролина је остао, углавном, непромењен. Није примећена веза између удела тритикалеа у усипку и садржаја пролина у испитиваним сладовинама одабраним за ферментацију.

- На основу оптимизације применом генетског алгоритма, утврђено је да су оптимизоване улазне променљиве биле 23% (удео тритикалеа), 9% (запремина ензима), 1 (режим комљења – конгресна метода) и 3 (сорта/форма тритикалеа – слад сорте НС Паун). Добијени резултати, који одговарају овим оптимизованим улазним променљивим, били су 8,65% за садржај екстракта сладовине, 1,52 mPa·s за вискозност сладовине и 148,32 mg/l за садржај слободног аминокиселиног азота у сладовини. Добијена вредност функције циља од 0,023 и одговарајуће улазно-излазне вредности указивале су на успешно проналажење оптимизованог модела за процес комљења у производњи сладовине. Након добијања резултата оптимизације за улазне променљиве, спроведена је експериментална потврда на реалном лабораторијском процесу производње сладовине. Добијени резултати били су: 8,63% за садржај екстракта сладовине, 1,51 mPa·s за вискозност сладовине и 148,88 mg/l за садржај слободног аминокиселиног азота у сладовини, те је закључено да су остварене приближно исте вредности оптимизацијом помоћу генетског алгоритма и у стварном процесу комљења, што потврђује ефикасност примене вештачких неуронских мрежа и генетског алгоритма у предвиђању и постизању жељеног квалитета сладовине.

6. ЛИТЕРАТУРА

- Agil, R., Hosseinian, F. (2014). Determination of water-extractable polysaccharides in triticale bran. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.02.004>
- Agu, R. C. (2002). A comparison of maize, sorghum and barley as brewing adjuncts. *Journal of the Institute of Brewing*, 108(1), 19–22. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2002.tb00115.x>
- Ambriz-Vidal, T. N., Mariezcurrena-Berasain, M. D., Heredia-Olea, E., Pinzon Martinez, D. L., Gutierrez-Ibañez, A. T. (2019). Potential of Triticale (X Triticosecale Wittmack) Malts for Beer Wort Production. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 77(4), 282–286. <https://doi.org/10.1080/03610470.2019.1670030>
- Ammar, K., Mergoum, M., Rajaram, S. (2004). The history and evolution of triticale. In *Triticale Improvement and Production*; Editor, Mergoum, M., Gómez-Macpherson, H., Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome: pp. 1–10.
- Anderson, H. E., Santos, I. C., Hildenbrand, Z. L., Schug, K. A. (2019). A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control. *Anal. Chim. Acta*, 1085, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.061>
- Anderson, R. (2006). History of Industrial Brewing. In *Handbook of Brewing*; Editor, Priest, F., Stewart, G., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL: pp. 1-38.
- Aprodu, I., Banu, I. (2017). Milling, functional and thermo-mechanical properties of wheat, rye, triticale, barley and oat. *Journal of Cereal Science*, 77, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.07.009>
- Asare, E. K., Jaiswal, S., Maley, J., Båga, M., Sammynaiken, R., Rossnagel, B. G., Chibbar, R. N. (2011). Barley grain constituents, starch composition, and structure affect starch in vitro enzymatic hydrolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4743–4754. <https://doi.org/10.1021/jf200054e>
- Baiano, A. (2021). Craft beer: An overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1829–1856. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12693>
- Baillière, J., Laureys, D., Vermeir, P., van Opstaele, F., de Rouck, G., de Cooman, L., Vanderputten, D., de Clippeleer, J. (2022). 10 unmalted alternative cereals and pseudocereals: A comparative analysis of their characteristics relevant to the brewing process. *Journal of Cereal Science*, 106, 103482. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103482>
- Bamforth, C. *Scientific Principles of Malting and Brewing*; American Society of Brewing Chemists, Cornell University, New York, 2006.
- Bandara, N., Chen, L., Wu, J. (2011). Protein extraction from triticale distillers grains. *Cereal Chemistry*, 88(6), 553–559. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-11-0026>
- Bayazitova, M., Kekibaeva, A., Baigaziyeva, G., Askarbekov, E., Zhamalova, D. (2021). Analysis of the accumulation of amylolytic enzymes in triticale grain during malting process. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 1, 42–50. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2021.224322>

- Becker, T., Enders, T., Delgado, A. (2002). Dynamic neural networks as a tool for the online optimization of industrial fermentation. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 24, 347–354. <https://doi.org/10.1007/s004490100242>
- Behre, K. E. (1999). The history of beer additives in Europe — a review. *Vegetation History and Archaeobotany*, 8(1/2), 35–48. <http://www.jstor.org/stable/23417641>
- Bento, V. A., Russo, A., Dutra, E., Ribeiro, A. F. S., Gouveia, C. M., Trigo, R. M. (2022). Persistence versus dynamical seasonal forecasts of cereal crop yields. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11228-2>
- Black, K., Tziboula-Clarke, A., White, P. J., Iannetta, P. P. M., Walker, G. (2021). Optimised processing of faba bean (*Vicia faba* L.) kernels as a brewing adjunct. *Journal of the Institute of Brewing*, 127(1), 13–20. <https://doi.org/10.1002/jib.632>
- Blum, A. (2014). The abiotic stress response and adaptation of triticale-A review. *Cereal Research Communications*, 42(3), 359–375. <https://doi.org/10.1556/CRC.42.2014.3.1>
- Bogdan, P., Kordialik-Bogacka, E. (2017). Alternatives to malt in brewing. *Trends in Food Science and Technology*, 65, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.001>
- Brewers of Europe (2022). *European Beer Trends, Statistics Report 2022*. Retrieved from <https://brewersofeurope.org/uploads/mycmsfiles/documents/publications/2022/european-beer-trends-2022.pdf>. (pristupljeno dana: 30.06.2023. godine)
- Briggs, D., Boulton, C., Brookes, P., Stevens, R., *Brewing : Science and Practice*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, 2004.
- Brožová, M., Matoulková, D., Mikyška, A., Kyselová, L. (2022). Barley malt substitutes – their role today and in near future. Part 1 – Sugar adjuncts and barley, corn and rice as cereal adjuncts. *Kvasny prumysl*, 68(2), 602–618. <https://doi.org/10.18832/kp2021.68.602>
- Buiatti, S. (2009). Beer Composition: An Overview. In *Beer in Health and Disease Prevention*; Editor, Preedy, V., Elsevier Inc.: pp. 213-225.
- Cadenas, R., Caballero, I., Nimubona, D., Blanco, C. A. (2021). Brewing with starchy adjuncts: Its influence on the sensory and nutritional properties of beer. *Foods*, 10(8), 1726. <https://doi.org/10.3390/foods10081726>
- Cela, N., Condelli, N., Caruso, M. C., Perretti, G., di Cairano, M., Tolve, R., Galgano, F. (2020). Gluten-free brewing: Issues and perspectives. *Fermentation*, 6(2), 53. <https://doi.org/10.3390/fermentation6020053>
- Cioch-Skoneczny, M., Zdaniewicz, M., Pater, A., Skoneczny, S. (2019). Impact of triticale malt application on physiochemical composition and profile of volatile compounds in beer. *European Food Research and Technology*, 245(7), 1431–1437. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03284-2>
- Dabija, A., Ciocan, M. E., Chetrariu, A., Codină, G. G. (2021). Maize and sorghum as raw materials for brewing, a review. *Applied Sciences*, 11,(7), 3139. <https://doi.org/10.3390/app11073139>
- Damjanović, K., Varga, I. (2021). World beer production and hops use. *Research Journal of Agricultural Science*, 53(3), 78-84.
- Davies, M. (2006). Malt and malt products. In *Brewing: New Technologies*; Editor, Bamforth, C. W., Elsevier Inc.: pp. 68-100.

- Dębska, B., Guzowska-Świder, B. (2011). Application of artificial neural network in food classification. *Anal. Chim. Acta*, 705, 283-291. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.06.033>
- Deme, G., Tessema Asfaw, B., Gari, M. T. (2019). Evaluation of Malting Potential of Different Barley Varieties. *Journal of Water Pollution & Purification Research*. 6(3), 24–35.
- Demeester, A., Laureys, D., Baillière, J., Huys, J., Vermeir, P., de Leyn, I., Vanderputten, D., de Clippeleer, J. (2023). Comparison of Congress Mash with Final 65 °C Mash for Wort Production with Unmalted Barley, Triticum, and Quinoa, with or without Pregelatinization and/or Enzyme Addition. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 81(1), 66–75. <https://doi.org/10.1080/03610470.2021.1989571>
- Dornez, E., Gebruers, K., Delcour, J. A., Courtin, C. M. (2009). Grain-associated xylanases: occurrence, variability, and implications for cereal processing. *Trends in Food Science and Technology*, 20(11-12), 495–510. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.004>
- Eaton, B. (2006). An Overview of Brewing. In *Handbook of Brewing*; Editor, Priest, F., Stewart, G., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL: pp. 383-446.
- Eßlinger, M. (2009). Fermentation, Maturation and Storage. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, M., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany: pp. 207-224.
- European Brewery Convention, Analytica - EBC, 3. Barley, 4. Malt, EBC Analysis Committee, Verlag Hans Carl, Getärnke-Fachverlag, Nürnberg, Germany, 2008.
- Evans, D. E., Collins, H., Eglinton, J., Wilhelmson, A. (2005). Assessing the impact of the level of diastatic power enzymes and their thermostability on the hydrolysis of starch during wort production to predict malt fermentability. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 63(4), 185–198. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-63-0185>
- Ferreira, I. M., Guido, L. F. (2018). Impact of wort amino acids on beer flavour: A review. *Fermentation*, 4(2), 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020023>
- Fontana, M., Buiatti, S. (2009). Amino Acids in Beer. In *Beer in Health and Disease Prevention*; Editor, Preedy, V., Elsevier Inc.: pp. 273-284.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). <http://www.fao.org/faostat> (pristupljeno dana: 25.12.2023. godine).
- Fraś, A., Gołębiowska, K., Gołębiowski, D., Mańkowski, D. R., Boros, D., Szecówka, P. (2016). Variability in the chemical composition of triticale grain, flour and bread. *Journal of Cereal Science*, 71, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.06.016>
- Garcia-Moreno, H., Calvo, J. R., Maldonado, M. D., 2013. High levels of melatonin generated during the brewing process. *Journal of Pineal Research*, 55(1), 26–30. <https://doi.org/10.1111/jpi.12005>
- Georg-Kraemer, J. E., Mundstock, E. C., Cavalli-Molina, S. (2001). Development expression of amylases during barley malting. *Journal of Cereal Science*, 33, 279-288. <https://doi.org/10.1006/jcra.2001.0367>
- Ghasemi-Varnamkhasi, M., Mohtasebi, S. S., Rodriguez-Mendez, M. L., Lozano, J., Razavi, H. S., Ahmadi, H. (2011). Potential application of electronic nose technology in brewery. *Trends Food Sci.*, 22, 165-174. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.12.005>

- Glamočlija, Đ. N., Đurić, N. A., Glamočlija, N. M. Triticale, poreklo, značaj i tehnologija proizvodnje i čuvanja proizvoda – monografija. Institut PKB Agroekonomik, Beograd, 2017.
- Glatthar, J., Heinisch, J. J., & Senn, T. (2002). A Study on the Suitability of Unmalted Triticale as a Brewing Adjunct. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 60(4), 181-187. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-60-0181>
- Glatthar, J., Heinisch, J. J., Senn, T. (2004). The Use of Unmalted Triticale in Brewing and Its Effect on Wort and Beer Quality. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 61(4), 182–190. <https://doi.org/10.1094/asbcj-61-0182>
- Glatthar, J., Heinisch, J. J., & Senn, T. (2005). Unmalted triticale cultivars as brewing adjuncts: Effects of enzyme activities and composition on beer wort quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(4), 647–654. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1941>
- Gomaa, A. M. (2018). Application of Enzymes in Brewing. *J Nutri Food Sci Forecast*, 1(1), 1-5.
- Gonzalez Viejo, C., Fuentes, S., Torrico, D. D., Godbole, A., Dunshea, F. R. (2019). Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. *Food Chemistry*, 293, 479–485. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.114>
- Goode, D. L., Arendt, E. K. (2006). Developments in the supply of adjunct materials for brewing. In *Brewing: New Technologies*; Editor, Bamforth, C. W., Elsevier Inc.: pp. 30-67. <https://doi.org/10.1533/9781845691738.30>
- Gresser, A. (2009). Brew water. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, H. M., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim: pp. 399-434.
- Grujić, O., Pejin, J., Denčić, S. (2010). The application of triticale variety Odyssey as the substitute for malt in wort production. *Acta periodica technologica*, 41, 7-17. <https://doi.org/10.2298/APT1041007G>
- Guerrieri, N., Cavaletto, M. (2018). Cereals proteins. In *Proteins in Food Processing*; Editor, Yada, R. Woodhead Publishing, Sawston: pp. 223-244.
- Gupta, M., Abu-Ghannam, N., Gallagher, E. (2010). Barley for brewing: Characteristic changes during malting, brewing and applications of its by-products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(3), 318–328. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00112.x>
- Hassen, E. B., Asmare, A. M. (2019). Predictive performance modeling of Habesha brewery wastewater treatment plant using artificial neural networks. *Chem. Int.* 5(1), 87-96. <https://doi.org/10.31221/osf.io/k6bvj>
- He, Y., Dong, J., Yin, H., Zhao, Y., Chen, R., Wan, X., Chen, P., Hou, X., Liu, J., Chen, L. (2014). Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer - A review. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(3), 157–163. <https://doi.org/10.1002/jib.145>
- Henderson, J., Ricker, R., Bidlingmeyer, B., Woodward, C. Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino acids. *Agilent Technologies. Technical Note 5980-1193E*, J. R. Soc. Interface 9. 2000.
- Hill, A. E., Stewart, G. G. (2019). Free amino nitrogen in brewing. *Fermentation*, 5(1), 22. <https://doi.org/10.3390/fermentation5010022>

- Hu, S., Dong, J., Fan, W., Yu, J., Yin, H., Huang, S., Liu, J., Huang, S., Zhang, X. (2014). The influence of proteolytic and cytolytic enzymes on starch degradation during mashing. *J. Inst. Brew.*, 120(4), 379–384. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.097>
- Imandi, S. B., Karanam, S. K., Nagumantri, R., Srivastava, R. K., Sarangi, P. K. (2023). Neural networks and genetic algorithm as robust optimization tools for modeling the microbial production of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) from Brewers' spent grain. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 70, 962–978. <https://doi.org/10.1002/bab.2412>
- Jacott, C. N., Boden, S. A. (2020). Feeling the heat: Developmental and molecular responses of wheat and barley to high ambient temperatures. *Journal of Experimental Botany*, 71(19), 5740–5751. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa326>
- Jaeger, A., Zannini, E., Sahin, A. W., Arendt, E. K. (2021). Barley protein properties, extraction and applications, with a focus on brewers' spent grain protein. *Foods*, 10(6), 1389. <https://doi.org/10.3390/foods10061389>
- Jaśkiewicz, B., Szczepanek, M. (2018). Amino acids content in triticale grain depending on meteorological, agrotechnical and genetic factors. *Research for Rural Development*, 2, 28–34. <https://doi.org/10.22616/rrd.24.2018.047>
- Jiang, L., Song, J., Qi, M., Cao, Y., Li, Y., Xu, M., Li, L., Zhang, D., Wang, C., Li, H. (2023). Carbon and nitrogen sources consumption by ale and lager yeast strains: a comparative study during fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(22), 6937–6947. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12778-9>
- Jones, M., Pierce, J. S. (1964). Absorption of amino acids from wort by yeasts. *Journal of the Institute of Brewing*, 70(4), 307–315. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1964.tb01996.x>
- Jonnala, R. S., Irmank, S., MacRitchie, F. (2010). Phenolics in the bran of waxy wheat and triticale lines. *Journal of Cereal Science*, 52, 509-515. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.07.013>
- Kodama, Y., Kielland-Brandt, M. C., Hansen, J. (2005). Lager brewing yeast. *Topics in Current Genetics*, 15. <https://doi.org/10.1007/b106370/Published>
- Koehler, P., Wieser, H. (2013). Chemistry of Cereal Grains. In *Handbook on Sourdough Biotechnology*; Editor, Gobbetti, M., Gänzle, M. Springer, New York: pp. 11-45. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5425-0_2
- Kok, Y. J., Ye, L., Muller, J., Ow, D. S. W., Bi, X. (2019). Brewing with malted barley or raw barley: what makes the difference in the processes? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(3), 1059–1067. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9537-9>
- Koller, H., Perkins, L. B. (2022). Brewing and the Chemical Composition of Amine-Containing Compounds in Beer: A Review. *Foods*, 11(3), 257. <https://doi.org/10.3390/foods11030257>
- Krahl, M., Müller, S., Zarnkow, M., Back, W., Becker, T. (2009). Arabinoxylan and fructan in the malting and brewing process. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 1(4), 246–255. <https://doi.org/10.1111/j.1757-837X.2009.00035.x>
- Kreisz, S. (2009). Malting. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, H. M., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim: pp. 147-164.

- Krogerus, K., Gibson, B. R. (2013). Influence of valine and other amino acids on total diacetyl and 2,3-pentanedione levels during fermentation of brewer's wort. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(15), 6919–6930. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4955-1>
- Krottenthaler, M. (2009). Hops. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, H. M., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim: pp. 85-104.
- Krottenthaler, M., Glas, K. (2009). Brew water. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, H. M., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim: pp. 105-117.
- Kunz, T., Woest, H., Lee, E., Müller, C., Methner, F. (2011). Improvement of the Oxidative Wort and Beer Stability by Increased Unmalted Barley Proportion. *Brewing Science*. 64(7), 75-82.
- Lahue, C., Madden, A. A., Dunn, R. R., Smukowski Heil, C. (2020). History and Domestication of *Saccharomyces cerevisiae* in Bread Baking. *Frontiers in Genetics*, 11, 584718. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.584718>
- Lalor, E., Goode, D. (2009). Brewing with Enzymes. In *Enzymes in Food Technology*; Editor, Whitehurst, R. J., van Oor, M.; Blackwell Publishing Ltd., Iova: pp. 163-193.
- Lászytity, R., Rye and triticale proteins. CRC Press Inc, 1996.
- Lei, H., Zheng, L., Wang, C., Zhao, H., Zhao, M. (2013). Effects of worts treated with proteases on the assimilation of free amino acids and fermentation performance of lager yeast. *International Journal of Food Microbiology*, 161(2), 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.024>
- Leiper, K., Miedl, M. (2006). Brewhouse Technology. In *Handbook of Brewing*; Editor, Priest, F., Stewart, G., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL: pp. 383-446.
- Lerro, M., Marotta, G., Nazzaro, C. (2020). Measuring consumers' preferences for craft beer attributes through Best-Worst Scaling. *Agricultural and Food Economics*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40100-019-0138-4>
- Leskošek-Čukalović, I., Tehnologija piva I Deo - Slad i nesladovane sirovine, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija, 2002.
- Li, Q., Wang, J., Liu, C. (2017). Current developments in biotechnology and bioengineering. *Food and Beverages Industry*, 305-351. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63666-9.00012-1>
- Lindemann, B. (2009). Filtration and Stabilization. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, M., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany: pp. 225-234.
- Liu, L., Li, Y., Hou, J. (2020). Making beer with malted cereals and qu starter in the Neolithic Yangshao culture, China. *Journal of Archaeological Science*, 29, 102134. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2019.102134>
- Machado, J. C., Faria, M. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2019). Hops: New Perspectives for an Old Beer Ingredient. *Natural Beverages*, 13, 267–301. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00010-9>
- Mane, S. U., Rao, M. R. N. (2017). Many-Objective Optimization: Problems and Evolutionary Algorithms-A Short Review. *Int. J. Appl. Eng. Res.*, 12, 9774–9793.

- Materna, K., Bernhäuserová, V., Hasman, J., Hána, D. (2022). How microbreweries flooded Europe: mapping a new phenomenon in the beer industry. *Journal of Maps*, 18(1), 18–25. <https://doi.org/10.1080/17445647.2021.2012536>
- Mathias, T. R. D. S., Menezes, L. M., Sérvulo, E. F. C. (2019). Effect of maize as adjunct and the mashing proteolytic step on the brewer wort composition. *Beverages*, 5(4), 65. <https://doi.org/10.3390/beverages5040065>
- Mc Goverin, C. M., Snyders, F., Muller, N., Botes, W., Fox, G., Manley, M. (2011). A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(7), 1155–1165. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4338>
- MEBAK - Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission, Band. 1, 2. Gerste, 4. Malz, 3. Auflage, Neubearbeitet und ergänzt, Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan, Germany, 2011.
- Meier-Dörner, T., Hutzler, M., Michel, M., Methner, F. J., Jacob, F. (2017). The importance of a comparative characterization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces pastorianus* strains for brewing. *Fermentation*, 3(3), 41. <https://doi.org/10.3390/fermentation3030041>
- Mergoum, M., Pfeiffer, W.H., Peña, R.J., Ammar, K., Rajaram, S. (2004). Triticale crop improvement: the CIMMYT programme. In *Triticale improvement and production*; Editor, Mergoum, M., Gómez-Macpherson, H., Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome: pp. 11–27.
- Meussdoerffer, F., Zarnkow, M. (2009). *Starchy Raw Materials*. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, M., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany: pp. 43-84.
- Min, W., Jiang, S., Liu, L., Rui, Y., Jain, R. (2019). A Survey on Food Computing. *ACM Comput. Surv.*, 52(5), 1-41. <https://doi.org/10.1145/3329168>
- Mishra, A., Speers, R. A. (2020). Wort Boil Time and Trub Effects on Fermentability. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 79(1), 46–52. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1795782>
- Morgan, D. R., Thomas Lane, E., Styles, D. (2022). Crafty Marketing: An Evaluation of Distinctive Criteria for “Craft” Beer. *Food Reviews International*, 38(5), 913–929. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1753207>
- Müller-Auffermann, K., Caldera, A., Jacob, F., Hutzler, M. (2015). Characterization of different bottom fermenting *saccharomyces pastorianus* brewing yeast strains. *BrewingScience*, 68, 46-57.
- Munoz-Insa, A., Gastl, M., Becker, T. (2016). Influence of malting on the protein composition of triticale (× *Triticosecale* Wittmack) “trigold.” *Cereal Chemistry*, 93(1), 10–19. <https://doi.org/10.1094/CHEM-12-14-0251-R>
- Munroe, J. (2006). *Fermentation*. In *Handbook of Brewing*; Editor, Priest, F., Stewart, G., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL: pp. 383-446.
- Neylon, E., Arendt, E. K., Lynch, K. M., Zannini, E., Bazzoli, P., Monin, T., Sahin, A. W. (2020). Rootlets, a Malting By-Product with Great Potential. *Fermentation*, 6(4), 117. <https://doi.org/10.3390/fermentation6040117>
- Oettler, G. (2005). The fortune of a botanical curiosity - Triticale: Past, present and future. *Journal of Agricultural Science*, 143(5), 329–346. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005290>

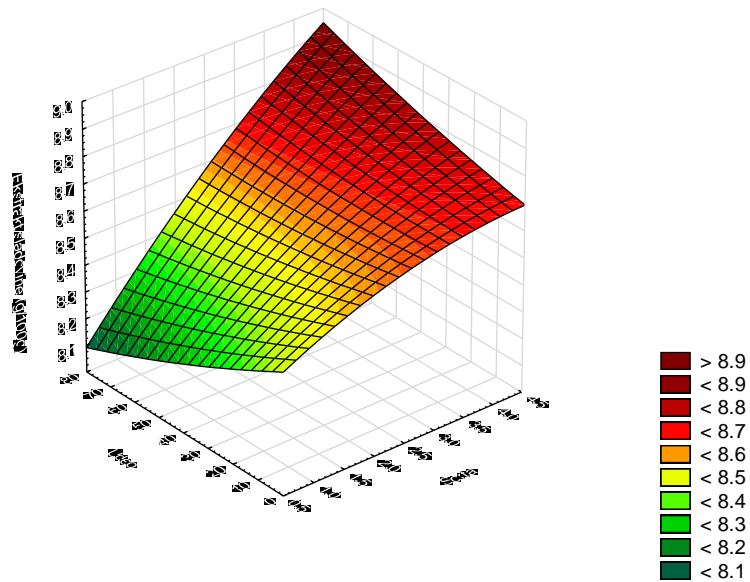
- Ozatay, S. (2020). Recent Applications of Enzymes in Food Industry. *JoCREST*, 6(6 (1)), 17–30. <https://doi.org/10.26579/jocrest.52>
- Palmer, G. (2006). Barley and Malt. In *Handbook of Brewing*; Editor, Priest, F., Stewart, G., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL: pp. 139-160.
- Paradkar, M. M., Singhal, R. S., Kulkarni, P. R. (2002). Quantification of blends of black gram and rice using pentosan as an indicator. *Food Chemistry*, 78, 47–51.
- Parker, D. K. (2012). Beer: production, sensory characteristics and sensory analysis. In *Alcoholic Beverages*; Editor, Piggott, J. Woodhead Publishing, Sawston: pp. 133–158. <https://doi.org/10.1533/9780857095176.2.133>
- Pejin, J., *Praktikum iz tehnologije slada*. Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija, 2016.
- Pejin, J., *Tehnologija piva*. Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija, 2019.
- Peña, R. (2004). Food Uses of Triticale. In *Triticale Improvement and Production*; Editor, Mergoum, M., Gómez-Macpherson, H., Food & Agriculture Organisation of the United Nations, Rome: pp. 37–48.
- Perpète, P., Santos, G., Bodart, E., Collin, S. (2005). Uptake of amino acids during beer production: The concept of a critical time value. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 63(1), 23–27. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-63-0023>
- Pieczonka, S. A., Paravicini, S., Rychlik, M., Schmitt-Kopplin, P. (2021). On the Trail of the German Purity Law: Distinguishing the Metabolic Signatures of Wheat, Corn and Rice in Beer. *Frontiers in Chemistry*, 9, 715372. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.715372>
- Pinto, M. B. C., Schmidt, F. L., Rappsilber, J., Gibson, B., Wietstock, P. C. (2023). Addition of Hop (*Humulus Lupulus* L.) Bitter Acids Yields Modification of Malt Protein Aggregate Profiles during Wort Boiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(14), 5700–5711. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00185>
- Pires, E., Brányik, T. (2015). An Overview of the Brewing Process. In *Biochemistry of Beer Fermentation*; SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology. Springer, Cham.: pp. 1-9. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15189-2_1
- Poelmans, E., Swinnen, J. (2011). A Brief Economic History of Beer. In *The Economics of Beer*; Editor, Swinnen, J., Oxford, pp. 3-28. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199693801.003.0001>
- Pokrivcak, J., Chovanova Supekova, S., Lančarič, D., Savov, R., Tóth, M., Vašina, R. (2019). Development of beer industry and craft beer expansion. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1, 63-74.
- Popescu, V., Soceanu, A., Dobrinas, S., Stanciu, G. (2013). A study of beer bitterness loss during the various stages of the Romanian beer production process. *Journal of the Institute of Brewing*, 119(3), 111–115. <https://doi.org/10.1002/jib.82>
- Puligundla, P., Smogrovicova, D., Mok, C., Obulam, V. S. R. (2020). Recent developments in high gravity beer-brewing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 64, 102399. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102399>

- Rakha, A., Åman, P., Andersson, R. (2013). Rheological characterisation of aqueous extracts of triticale grains and its relation to dietary fibre characteristics. *Journal of Cereal Science*, 57(2), 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.11.005>
- Rakha, A., Saulnier, L., Man, P., Andersson, R. (2012). Enzymatic fingerprinting of arabinoxylan and β -glucan in triticale, barley and tritordeum grains. *Carbohydrate Polymers*, 90(3), 1226–1234. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.054>
- Randhawa, H. S., Bona, L., Graf, R. J. (2015). Triticale breeding- progress and prospect. In *Triticale*; Editor, Eudes, F., Springer International Publishing Switzerland: pp. 15-32.
- Rani, H., Bhardwaj, R. D. (2021). Quality attributes for barley malt: The backbone of beer. *Journal of Food Science*, 86(8), 3322–3340. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15858>
- Rosa, R. S., & Lannes, S. (2022). Impact of the use of unmalted adjuncts on the rheological properties of beer wort. *Food Science and Technology*, 42, e101021. <https://doi.org/10.1590/fst.101021>
- Russell, I. (2006). Yeast. In *Handbook of Brewing*; Editor, Priest, F., Stewart, G., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL: pp. 281-332.
- Salanță, L. C., Coldea, T. E., Ignat, M. V., Pop, C. R., Tofană, M., Mudura, E., Borșa, A., Pasqualone, A., Zhao, H. (2020). Non-alcoholic and craft beer production and challenges. *Processes* 8(11), 1–22. <https://doi.org/10.3390/pr8111382>
- Salmon, D. F., Mergoum, M., Gómez-Macpherson, H. (2004). Triticale production and management. In *Triticale Improvement and Production*; Editor, Mergoum, M., Gómez-Macpherson, H., Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome: pp. 27–36.
- Schuster, K., Weinfurter, F., Narziss, L. *Die Technologie der Malzbereitung, Die Bierbrauerei, Band I*; Ferdinand Enke Verlag, Germany, 1999.
- Shopska, V., Denkova, R., Lyubenova, V., Kostov, G. (2019). Kinetic characteristics of alcohol fermentation in brewing: State of art and control of the fermentation process. *Fermented Beverages*, 5, 529–575. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815271-3.00013-0>
- Sicard, D., Legras, J. L. (2011). Bread, beer and wine: Yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Comptes Rendus–Biologies*, 334(3), 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.12.016>
- Small, E. (2016). Hop (*Humulus lupulus*) – a bitter crop with sweet prospects. *Biodiversity*, 17(3), 115–127. <https://doi.org/10.1080/14888386.2016.1199327>
- Solaraju-Murali, B., Caron, L. P., Gonzalez-Reviriego, N., Doblas-Reyes, F. J. (2019). Multi-year prediction of European summer drought conditions for the agricultural sector. *Environmental Research Letters*, 14(12), 124014. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab5043>
- Speers, A., Forbes, J. (2015). Yeast: An overview. In *Brewing Microbiology*; Editor, Hill, A. Woodhead Publishing, Sawston: pp. 3-9.
- Steiner, E., Auer, A., Becker, T., Gastl, M. (2012). Comparison of beer quality attributes between beers brewed with 100% barley malt and 100% barley raw material. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(4), 803–813. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4651>
- Stewart, G. G., Hill, A., Lekkas, C. (2013). Wort FAN - Its characteristics and importance during fermentation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 71(4), 179–185. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2013-0921-01>

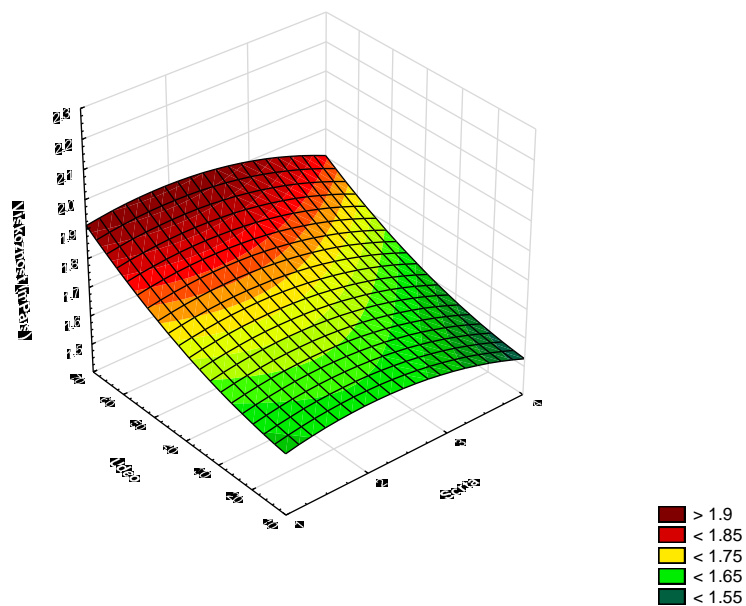
- Szwajgier, D., Pielecki, J., Targoński, Z. (2005). The release of ferulic acid and feruloylated oligosaccharides during wort and beer production. *Journal of the Institute of Brewing*, 111(4), 372–379. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2005.tb00222.x>
- Takahashi, M. B., Coelho de Oliveira, H., Fernández Núñez, E. G., Rocha, J. C. (2019). Brewing process optimization by artificial neural network and evolutionary algorithm approach. *J. Food Process Eng.*, 42(5), e13103. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13103>
- Taylor, D. (2006). Water. In *Handbook of Brewing*; Editor, Priest, F., Stewart, G., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL: pp. 91-138.
- Tenge, C. (2009). Yeast. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*; Editor, Eßlinger, H. M., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim: pp. 119-142.
- Thomas, D. W., Leeson, P. T. (2012). The brewer, the baker, and the monopoly maker. *Journal of Entrepreneurship and Public Policy*, 1(1), 84–95. <https://doi.org/10.1108/20452101211208371>
- Turner, H. M., Elmore, L., Walling, J., Lachowicz, J., Mangel, D., Fischer, A., Sherman, J. (2019). Effect of Steeping Regime on Barley Malt Quality and Its Impacts on Breeding Program Selection. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 77(4), 267–281. <https://doi.org/10.1080/03610470.2019.1629794>
- van Donkelaar, L. H. G., Mostert, J., Zisopoulos, F. K., Boom, R. M., van der Goot, A. J. (2016). The use of enzymes for beer brewing: Thermodynamic comparison on resource use. *Energy*, 115, 519–527. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.09.011>
- Wojtkowiak, K., Stępień, A., Warechowska, M., Markowska, A., Podstaw Bezpieczeństwa, K., Agroekosystemów, K. (2015). Polish journal of natural sciences effect of nitrogen fertilization method on the yield and quality of Milewo variety spring triticale grain. *Abbrev.: Pol. J. Natur. Sc.*, 30(2), 173–184.
- Wojtyra, B. (2020). How and why did craft breweries “revolutionise” the beer market? The case of Poland. *Moravian Geographical Reports*, 28(2), 81–97. <https://doi.org/10.2478/mgr-2020-0007>
- Wolf, A., Bray, G. A., Popkin, B. M. (2008). A short history of beverages and how our body treats them. *Obesity Reviews*, 9(2), 151–164. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00389.x>
- Wunderlich, S., Back, W. (2009). Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. In *Beer in Health and Disease Prevention*; Editor, Preedy, V., Elsevier Inc.: pp. 3-16.
- Xie, W., Xiong, W., Pan, J., Ali, T., Cui, Q., Guan, D., Meng, J., Mueller, N. D., Lin, E., Davis, S. J. (2018). Decreases in global beer supply due to extreme drought and heat. *Nature Plants*, 4(11), 964–973. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0263-1>
- Yorke, J., Cook, D., Ford, R. (2021). Brewing with unmalted cereal adjuncts: Sensory and analytical impacts on beer quality. *Beverages*, 7(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/beverages7010004>
- Zarnkow, M., Schultze, B., Burberg, F., Back, W., Arendt, E. K., Kreis, S., Krahl, M., Gastl, M., (2009). Triticale malt (xTriticosecale Wittmack) a raw material for brewing - Using response surface methodology to optimise malting conditions, *BrewingScience* 62(5), 54-66.
- Zhang, Y., Jia, S., Zhang, W. (2012). Predicting acetic acid content in the final beer using neural networks and support vector machine. *J. Inst. Brew.*, 118, 361–367. <https://doi.org/10.1002/jib.50>

Zhu, F. (2018). Triticale: Nutritional composition and food uses. *Food Chemistry*, 241,468–479.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.009>

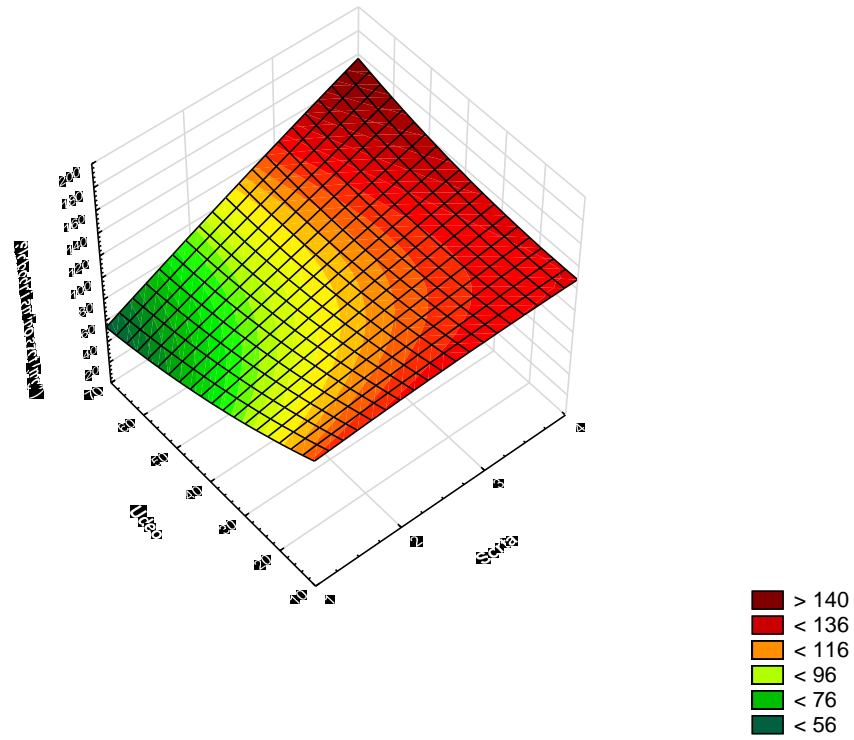
7. ПРИЛОЗИ



Слика 38. Зависност екстракта сладовине у односу на сорту и удео тритикалеа - RSM1



Слика 39. Зависност вискозности сладовине у односу на сорту и удео тритикалеа - RSM2



Слика 40. Зависност слободног аминок азота у односу на сорту и удео тритикалеа – RSM3

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања

Утицај примене тритикалеа на технолошке параметре квалитета пива

Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање

Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад

Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање

Истраживања обухваћена овом докторском дисертацијом финансирана су од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, у оквиру националног програма 451-03-47/2023-01/ 200134

1. Опис података

1.1 Врста студије

Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају
Докторска дисертација

1.2 Врсте података

- а) квантитативни
- б) квалитативни

1.3. Начин прикупљања података

- а) анкете, упитници, тестови
- б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи
- в) генотипови: навести врсту _____
- г) административни подаци: навести врсту _____
- д) узорци ткива: навести врсту _____
- ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____
- е) текст: навести врсту: научна литература
- ж) мапа, навести врсту _____
- з) остало: експерименталне методе анализа

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

- а) Excel фајл, датотека.xls _____
- б) SPSS фајл, датотека _____
- в) PDF фајл, датотека _____
- г) Tekst фајл, датотека.doc _____
- д) JPG фајл, датотека.jpeg .tiff _____
- ђ) Остало, датотека: статистички софтвер Statistica 10.0

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

- а) број варијабли: велики број

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.): велики број

1.3.3. Поновљена мерења

- а) да
б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) временски размак између поновљених мерења је између неколико минута и неколико дана
б) варијабле које се више пута мере односе се на све експерименталне анализе
в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

- а) да
б) не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

- а) експеримент, навести тип: физичко - хемијска анализа
б) корелационо истраживање, навести тип:
в) анализа текста, навести тип: тумачење добијених резултата, извођење закључака и поређење са литературним подацима
д) остало, навести шта _____

2.1.2 *Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).*

- HPLC sistem *Agilent Technologies 1260 HPLC*
- Спектрофотометар *Dynamica HALO RB-10*
- Обрада података статистички софтвер *Statistica 10.0.*

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

- а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да **Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да **Не**
в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података је контролисан извођењем вишеструких мерења и применом статистичких алата за евалуацију њиховог квалитета.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса података је извршена упоређивањем добијених података са литературним подацима.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у Националном репозиторијуму дисертација у Србији и у репозиторијуму Информационог система научне делатности Универзитета у Новом Саду

3.1.2. URL адреса *https://nardus.mpn.gov.rs,*
http://www.uns.ac.rs/index.php/univerzitet/javnostrada-2/javni-uid-doktorske

3.1.3. DOI

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

а) Да

б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. *Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.*

Образложење _____

3.2. Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум _____

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд. _____

3.3. Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? _____

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
 - б) Подаци су анонимизирани
 - в) Остало, навести шта
-

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

- а) јавно доступни
- б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области
- в) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе: _____

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима: _____

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство – некомерцијално – без прераде

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података
Милана Прибић, milana.pribic@uns.ac.rs

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима
Милана Прибић, milana.pribic@uns.ac.rs

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима
Милана Прибић, milana.pribic@uns.ac.rs
