

## PRIMENA KLASIČNIH I INSTRUMENTALNIH METODA ANALIZE U KONTROLI KVALITETA PIVA

Miloš B. Rajković<sup>1\*</sup>, Ivana D. Sredović Ignjatović<sup>1</sup>, Ljubiša M. Ignjatović<sup>2</sup>,  
Viktor A. Nedović<sup>1</sup> i Slobodan M. Prijčić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet,  
Nemanjina 6, 11080 Beograd - Zemun, Srbija

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju,  
Studentski trg 12-16, 11000 Beograd, Srbija

**Rezime:** U cilju kontrole kvaliteta piva i sirovina za proizvodnju piva u Beogradskoj industriji piva (BIP) analizirana je voda (gradska, tehnološka i demineralizovana). Merenja pH vrednosti ukazala su na povećanu vrednost pH u uzorku tehnološke vode, ali to nije imalo uticaja na ukomljavanje slada pošto su ispitivani uzorci sladovine, kao i uzorci mladog piva i gotovog proizvoda imali vrednost pH u očekivanom opsegu. Obradom gradske vode dobio se uzorak tehnološke vode sa povećanom karbonatnom tvrdoćom, koja je prouzrokovana povećanim sadržajem natrijum-hidrogenkarbonata. Analizom titracionog alkaliteta, titracionog aciditeta, i moći puferovanja, utvrđeno je da se alkalitet smanjuje što je u saglasnosti i sa određivanjem pH vrednosti uzoraka sladovine i piva (mladog i gotovog proizvoda). Analiza sadržaja anjona i katjona u ispitivanim uzorcima vode, pokazala je da je koncentracija ispitivanih anjona ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  i  $\text{PO}_4^{3-}$ ) i katjona ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) u granicama propisanim Pravilnikom o higijenskoj ispravnosti vode za piće, a time i sa Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za pivo. Sadržaj anjona u uzorcima sladovine i piva (mladog i gotovog proizvoda) određen je metodom jonske hromatografije. Sadržaj sulfat- i nitrat-jona je bio u preporučenim granicama. Koncentracija hlorid-jona je bila iznad  $150 \text{ mg/dm}^3$ , što može imati uticaja na senzorne karakteristike piva, dok je promena sadržaja fosfat-jona bila nezatna.

**Ključne reči:** pivo, jonska hromatografija, potenciometrija, senzorne karakteristike piva.

### Uvod

Pivo je blago alkoholni napitak koji se proizvodi procesom alkoholnog vrenja iz slada, hmelja, vode i pivskog kvasca (Leskošek-Čukalović, 2002; Kunze, 1998).

---

\* Autor za kontakt: e-mail: rajmi@agrif.bg.ac.rs

Pod pojmom piva danas se podrazumeva veliki broj proizvoda koji se po svojim senzornim svojstvima često jako razlikuju (dostupno na: <http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/senzorne-karakteristike-piva>). Svi oni se proizvode od tipičnih pivarskih sirovina. Zavisno od vrste primenjenog kvasca koji se koristi za fermentaciju piva se mogu podeliti na: piva „donjeg vrenja” i „gornjeg vrenja”, lager piva, odnosno „Ale” i „Alt” piva (Kišgeci, 2001; Hornsey, 2004; Kišgeci, 2007; Eßlinger, 2009; Narziss et al., 1988). Godišnja potrošnja piva u najvećem broju zemalja sveta meri se desetinama litara po glavi stanovnika, a u nekim zemljama i regionima tradicionalno vezanim za ovaj proizvod iznosi i do 200 litara. Razlog velike potrošnje leži u činjenici da pivo poseduje niz blagotvornih svojstava: osvežava, nadoknađuje organizmu potrebnu vodu i minerale, ali sadrži i čitav niz sastojaka koji doprinose poboljšanju opšteg stanja organizma (Proestos and Kolaitis, 2006). Pivo poseduje niz fizioloških i terapijskih svojstava i ako se unosi u umerenoj količini povoljno deluje na organizam. Proizvodnja piva je jedna od najstarijih biotehnologija. Od jednostavne recepture u tehnologiji proizvodnje piva došlo se do savremene tehnologije u kojoj su primenjena najnovija znanja i iskustva biohemijskog, hemijskog, genetskog i procesnog inženjerstva. Godišnja proizvodnja piva u svetu danas iznosi oko 1.250.000.000 hl i praktično nema zemlje u kojoj se pivo ne proizvodi. Proizvodnja piva na našem području je relativno mlada. Najstarija postojeća pivara kod nas je izgrađena u Pančevu 1722. godine, a ubrzo zatim u Zrenjaninu 1745. godine, u Apatinu 1756. godine i tako redom. Najveća pivara u našoj zemlji je u Apatinu. U našoj zemlji postoje i fabrike slada kao što je „Fabrika slada” u Čačku sa kapacitetom od 75.000 tona ječma godišnje.

Cilj ovog rada je primena klasičnih i instrumentalnih metoda u kontroli kvaliteta piva i sirovina za proizvodnju piva, radi određivanja hemijskih i fizičko-hemijskih parametara kvaliteta piva i sirovina za proizvodnju piva. U ovom radu ispitivani su alkalitet, aciditet i tvrdoća vode, titracioni alkalitet, titracioni aciditet i moć puferovanja, sladovine i piva. Ispitan je i sadržaj neorganskih anjona i katjona u sirovinama za proizvodnju piva metodom jonske hromatografije (IC). Od sirovina za proizvodnju analizirana je voda, a promena navedenih parametara kvaliteta ispitivana je analizom uzoraka sladovine, ohmeljene sladovine, mladog piva i gotovog proizvoda. U radu je ispitivan uzorak kukuruznog griza („surogat”) koji se koristi kao zamena za određeni procenat ječmenog slada.

### **Materijal i metode**

U ovom radu su analizirani uzorci gradske, tehnološke i demineralizovane („demi”) vode, kao i uzorci sladovine i piva sa ispitivane proizvodne linije Beogradske industrije piva (BIP), Beograd tokom 2013. godine. Broj i opis uzoraka dat je u tabeli 1.

Tabela 1. Opis uzoraka koji su analizirani u radu.  
*Table 1. Description of samples analyzed in the paper.*

Broj uzorka	Opis uzorka
uzorak 1.	Gradska voda
uzorak 2.	Tehnološka voda
uzorak 3.	Demineralizovana voda
uzorak 4.	Kongresna sladovina koja se dobija ukomljavanjem slada
uzorak 5.	Ohmeljena sladovina (separacija 285): dodatkom hmelja u toku kuvanja dolazi do ekstrakcije rastvorljivih sastojaka i njihove termičke transformacije. Ekstrahuju se gorke komponente ( $\alpha$ -kiseline) i termički transformišu u jedinjenja karakteristične gorčine (izo- $\alpha$ -kiseline), hmeljna ulja, aromatične komponente i tanini
uzorak 6.	Ohmeljena sladovina (separacija 286): ekvivalent prethodnom uzorku
uzorak 7.	Surogat, kukuruzni griz: koristi se jer se u većini delova sveta deo slada zamenjuje jeftinijim sirovinama „surogatima”. To mogu biti različite nesladovane žitarice i proizvodi dobijeni njihovom preradom, ali i šećer i šećerni sirupi, skrobni sirupi, kojima se relativno lako povećava količina dobijenog ekstrakta, a samim tim i kapacitet proizvodnje
uzorak 8.	Mlado pivo (separacija 285): po završetku glavnog vrenja, kada prevri najveći deo fermentabilnog ekstrakta, dobija se mlado pivo koje se dalje hladi do temperature ispod 10°C, nakon čega počinje naknadno vrenje i odležavanje. Ovaj uzorak je dobijen od separacije 285
uzorak 9.	Mlado pivo (separacija 286): ekvivalent prethodnom uzorku, ali dobijen od separacije 286
uzorak 10.	Pivo: pasterizovan gotov proizvod
uzorak 11.	Pivo: nepasterizovan gotov proizvod

\*Separacije broj 285 i 286 predstavljaju redni broj kuvanja sladovine (vodi se evidencija u toku godine – 2013). Uzorci sladovine i piva su, pre merenja pH i potencimetrijskih titracija, degazirani ultrazvučno i mešanjem na magnetnoj mešalici.

Analitičke metode i granica detekcije za sve ispitivane parametre prikazane su u tabeli 2, a detaljniji prikaz upotrebljene aparature i metoda ispod tabele 2 (Rajković i Sredović, 2009; Rajković, 2007; Harris, 2003; Mermert et al., 1998; Rajković et al., 2000; Savić i Savić, 1990; Skoog et al., 1991).

Merenje pH vrednosti: Aparatura za merenje pH vrednosti sastojala se od pH-metra (*Eutech*, Holandija), kombinovane pH elektrode i magnetne mešalice. Standardni puferski rastvori bili su: pH = 10,00, pH = 7,00, pH = 4,00.

Određivanje alkaliteta vode kiselo-baznom titracijom uz indikator: Pre titracije uzoraka vode, rastvor HCl se standardizuje prema postupku standardizacije (Rajković i Sredović, 2009). U erlenmajer je otpipetirano 100 cm<sup>3</sup> uzorka, dodato 2–3 kapi indikatora *metiloranža*. Titracija je vršena rastvorom hlorovodonične kiseline do promene boje indikatora.

Potenciometrijsko određivanje alkaliteta i aciditeta piva i sirovina za proizvodnju piva: Aparatura za potenciometrijsku titraciju sastojala se od pH-metra (*Eutech*, Holandija) i magnetne mešalice. Pipetom se odmeri 25 cm<sup>3</sup> uzorka i prebaci u čašu od 50 cm<sup>3</sup>. Čaša se postavi na magnetnu mešalicu, ubaci magnetno jezgro i mešalica uključi. U ispitivani rastvor se zaroni kombinovana staklena elektroda, prethodno povezana sa pH-metrom. Uključivanjem pH-metra izmeri se početna pH vrednost i uzorak titriše standardnim rastvorom HCl ili NaOH, dodavanjem iz birete određenih inkrementa titranta.

Tabela 2. Analitičke metode primenjene u radu i njihova granica detekcije.

*Table 2. Analytical methods used in the paper and their detection limit.*

Pokazatelj	Merna jedinica	Analitička metoda	Granica detekcije	MDK vrednost
pH vrednost	-	potenciometrijski, ISE kombinovana pH-elektroda	-	6,50–8,00
Određivanje alkaliteta vode		volumetrija: kiselo-bazna titracija uz indikator metiloranž	-	-
Potenciometrijsko određivanje alkaliteta i aciditeta piva i sirovina za proizvodnju piva		potenciometrija	-	-
Određivanje sadržaja Ca i Mg u vodi kompleksometrijskom titracijom		volumetrija: kompleksometrijska titracija uz indikator eriohrom crno T	-	-
Određivanje tvrdoće vode klasičnom titracijom		volumetrija: kompleksometrijska titracija uz indikator eriohrom crno T	-	-
Određivanje katjona i anjona				
jonska hromatografija (IC), u mg/dm <sup>3</sup>				
Nitrati, kao NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>			0,01	0,05
Amonijum-jona, kao NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>			-	0,50
Sulfat-jon, kao SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>			0,01	10–250
Hlorid-jon, kao Cl <sup>-</sup>			0,01	150
Fosfat-jon, kao PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>			0,01	-
Određivanje metala				
jonska hromatografija (IC), u mg/dm <sup>3</sup>				
Kalijum, kao K				
Natrijum, kao Na				
Gvožđe, kao Fe				
Bakar, kao Cu				
Cink, kao Zn				
Elektroprovodljivost	μS/cm pri 20°C	konduktometrijski	-	<1.000 μS/cm

Određivanje provodljivosti: Sva merenja su rađena na *ToA CM, CM-40S conductivity meter (ToA electronics ltd.)* sa elektrodom od Pt za laboratorijsku multivarijantnu analizu. Uređaj je najpre kalibrisan pomoću standardnih rastvora za kalibraciju (provodljivosti: 814 μS/cm i 1.413 μS/cm). Određivanje sadržaja Ca i

Mg u vodi kompleksometrijskom titracijom: Pipetom se prenesu dve probe uzorka vode od po  $10,00 \text{ cm}^3$  u dva erlenmajera od  $250 \text{ cm}^3$ . Prvoj probi se pomoću menzure doda  $5 \text{ cm}^3$  rastvora natrijum-hidroksida koncentracije  $2 \text{ mol/dm}^3$  i oko  $0,2 \text{ g}$  mureksida (na vrh kašičice), razblaži sa oko  $50 \text{ cm}^3$  destilovane vode i titriše rastvorom kompleksona III (K-III) do promene crvenoljubičaste boje indikatora u plavoljubičastu. U drugu probu se doda destilovane vode do oko  $100 \text{ cm}^3$ ,  $2 \text{ cm}^3$  amonijačnog pufera i oko  $0,2 \text{ g}$  indikatora eriohrom crnog T. Svetlo-crveno obojen rastvor titriše se rastvorom K-III do prelaza u jasno plavu boju. Određivanje tvrdoće vode klasičnom titracijom: U erlenmajer prenese se otpipetiranih  $100 \text{ cm}^3$  uzorka vode, doda se 10 kapi amonijačnog pufera, doda se na vrh kašičice indikator eriohrom crno T i titriše rastvorom K-III do promene boje indikatora iz crvenoljubičaste do plavoljubičaste. Kompleksometrijski kalcijum određen je tako što se otpipetira  $100 \text{ cm}^3$  uzorka, doda  $5 \text{ cm}^3$  rastvora NaOH (kako bi se istaložio magnezijum) i oko  $0,2 \text{ g}$  mureksida (na vrh kašičice), i titriše rastvorom K-III do promene boje indikatora. Određivanje katjona i anjona jonskom hromatografijom (IC) (Fotić i Laušević, 1990; Fritz and Gjerde, 2000; Viehwager, 2007; Weiss, 2004; Cerjan-Stefanović, 1992; Nadkarni and Pond, 1983): Instrument korišćen u ovom radu je *Metrohm, 761 Compact IC*. Separaciona kolona za razdvajanje anjona je *Metrosep A supp 1- 250* (6.1005.300). Pretkolona korišćena u radu je *IC Anion Precolumn SUPERSEP* (6.1009.010). Kao mobilna faza za razdvajanje anjona na ovoj koloni korišćen je rastvor natrijum-karbonata koncentracije  $3 \text{ mmol/dm}^3$ . Protok mobilne faze je bio  $1 \text{ cm}^3/\text{min}$ , vreme analize 20 minuta, a injektirana zapremina  $20 \text{ }\mu\text{L}$ . Separaciona kolona za razdvajanje katjona je *Metrosep C2-150*. Mobilna faza za razdvajanje katjona je bila smeša vinske kiseline, koncentracije  $4 \text{ mmol/dm}^3$  i dipikolinske kiseline, koncentracije  $0,75 \text{ mmol/dm}^3$ . Protok mobilne faze je bio  $1 \text{ cm}^3/\text{min}$ , vreme analize 20 minuta, a injektirana zapremina  $20 \text{ }\mu\text{L}$ . Da bi se precizno odredila koncentracija anjona i katjona u rastvoru, konstruisana je kalibraciona kriva, koja prikazuje koncentracije standardnih rastvora anjona, odnosno katjona u odnosu na njihove odgovarajuće površine, a površine se izračunavaju prema hromatografu načinjenom prema njihovim specifičnim provodljivostima (u  $\mu\text{S/cm}$ ). U cilju uklanjanja rastvorenih gasova i razaranja koloidnih čestica, uzorci sladovine i piva su za analizu jonskom hromatografijom pripremani na sledeći način. Uzorak, određene zapremine je najpre tretiran ultrazvukom, dva puta po deset minuta, a potom degaziran dva puta po pet minuta. Nakon degazacije, uzorci za analizu anjona su razblaženi destilovanom vodom deset puta i tako razblaženi analizirani jonskom hromatografijom. Za analizu katjona, pri razblaživanju u uzorke je dodato  $50 \text{ }\mu\text{L}$   $\text{HNO}_3$ , koncentracije  $1 \text{ mol/dm}^3$ . Potom su tako pripremljeni uzorci za analizu katjona i anjona, filtrirani kroz kvantitativnu filter hartiju (Filtrak 390). Uzorci i standardi su pre puštanja na hromatograf filtrirani kroz membranski špric filter od  $0,45 \text{ mikrona}$ .

## Rezultati i diskusija

### Određivanje pH, alkaliteta, tvrdoće i provodljivosti vode

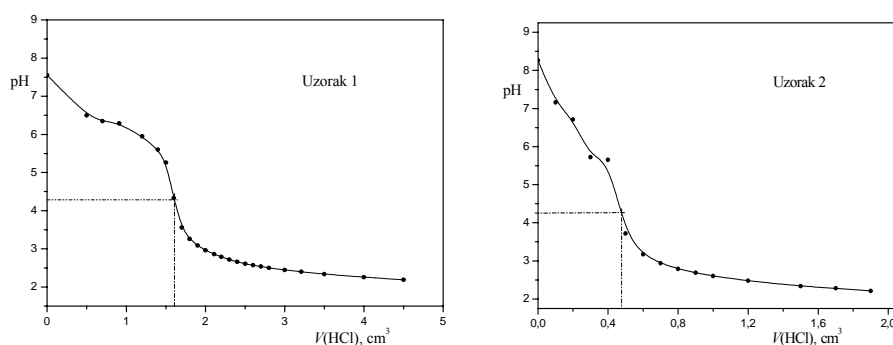
U proizvodnji piva voda ima dvostruku ulogu. Sa jedne strane je izuzetno važna sirovina, a sa druge se koristi kao procesna (za čišćenje, ispiranje, pasterizaciju, proizvodnju vodene pare). Od njenog hemijskog sastava direktno zavise senzorne karakteristike piva (Službeni list SCG, 2004). Parametri kvaliteta vode kao sirovine za proizvodnju piva su vrednost pH, alkalitet, tvrdoća i sadržaj jona, pre svih, alkalnih i zemnoalkalnih metala (Dalmacija, 2000). Alkalitet vode čine hidroksidi, karbonati i bikarbonati (hidrogenkarbonati) alkalnih i zemnoalkalnih metala, uglavnom natrijuma, kalcijuma i magnezijuma. Alkalitet vode ispitivan je potenciometrijskom titracijom (Mermet et al., 1998; Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, 1990; Loconto, 2001; Rouessac and Rouessac, 2007). Rezultati ispitivanja pH vrednosti alkaliteta gradske vode i tehnološke vode potenciometrijskom titracijom prikazani su u tabeli 3.

Tabela 3. Određivanje pH vrednosti i alkaliteta vode.

Table 3. Determination of pH values and alkalinity of water.

Uzorak	pH (na 20°C)	alkalitet
		$m(\text{HCO}_3^-)$ , mg/dm <sup>3</sup>
1	7,55	373
2	8,26	136
3	7,07 (u 0,01 mol/dm <sup>3</sup> KCl)	-

Dobijeni rezultati obrađeni su softverom za matematičku obradu podataka *Origin 6.1*. Dobijene titracione krive prikazane su na slici 1. Utrošak kiseline u završnoj tački titracije očitao je sa titracione krive za pH vrednost 4,27 (tačka prelaza *metiloranža*).



Slika 1. Potenciometrijske titracione krive za uzorke vode.

Figure 1. Potentiometric titration curves for water samples.

Tehnološka voda za proizvodnju piva dobija se odgovarajućim tretmanom gradske vode. Analizom rezultata prikazanih u tabeli 3 uočava se smanjenje alkaliteta gradske vode za oko tri puta u pripremljenoj tehnološkoj vodi. Za potpuno razumevanje uticaja kvaliteta vode na proces proizvodnje piva, potrebno je analizirati i rezultate određivanja tvrdoće vode.

Tvrdoća vode najvećim delom potiče od rastvorenih soli kalcijuma i magnezijuma. Ove soli mogu biti u obliku hidrogenkarbonata i sasvim malih količina karbonata [karbonatna (prolazna) tvrdoća vode (KT)] ili u obliku sulfata i hlorida [nekarbonatna (stalna) tvrdoća vode (NT ili ST)] (Rajković i Sredović, 2009; Rajković, 2007; Rajković et al., 2000).

Zbir karbonatne i nekarbonatne tvrdoće vode čini ukupnu tvrdoću vode (UT):

$$UT = KT + NT$$

Tvrdoća vode izražava se kao masa  $\text{CaCO}_3$  (u mg) koja se nalazi u jediničnoj zapremini vode ( $1\text{dm}^3$ ), dok se, prema starim jedinicama, izražava i u nemačkim stepenima ( $1^\circ\text{dH}$ ) i francuskim stepenima ( $1^\circ\text{dF}$ ).

Sadržaj CaO u ispitivanim vodama izračunat je prema sledećoj jednačini:

$$m(\text{CaO}) = c(\text{K-III}) \cdot V_s(\text{K-III}) \cdot M(\text{CaO}) \cdot q \text{ (u mg/dm}^3\text{)}$$

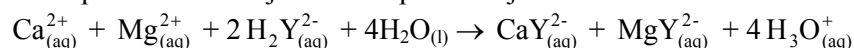
a ukupna tvrdoća vode je preračunata deljenjem izračunate mase CaO sa 10.

Karbonatna ili prolazna tvrdoća (KT) određuje se titracijom sa HCl (ili  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) kiselinom, uz *metiloranž* kao indikator, a masa CaO je izračunata na sledeći način:

$$m(\text{CaO}) = \frac{1}{2} c(\text{HCl}) \cdot V_s(\text{HCl}) \cdot M(\text{CaO}) \cdot q \text{ (u mg/dm}^3\text{)}$$

Karbonatna tvrdoća vode preračunata je deljenjem izračunate mase CaO sa 10.

Kompleksometrijskom titracijom uz eriohrom crno T dobija se zajednički utrošak K-III za oba jona. Reakcija titracije  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ -jona kojom se određuje njihova ukupna koncentracija može se prikazati jednačinom:



Sadržaj kalcijuma i magnezijuma u smeši izračunava se na sledeći način. Sadržaj jona magnezijuma se određuje iz razlike zapremina K-III utrošenog za titraciju uz eriohrom crno T ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ ) i K-III utrošenog za titraciju samo  $\text{Ca}^{2+}$ -jona, uz *mureksid* kao indikator:

$$m(\text{Ca}) = c(\text{K-III}) \cdot V_m(\text{K-III}) \cdot M(\text{Ca}) \cdot q$$

gde je  $V_m(\text{K-III})$  zapremina kompleksona III utrošena za titraciju uz *mureksid*.

$$m(\text{Mg}) = [V_{\text{ect}}(\text{K-III}) - V_m(\text{K-III})] c(\text{K-III}) \cdot M(\text{Mg}) \cdot q$$

gde je  $V_{\text{erio}}(\text{K-III})$  zapremina kompleksona III utrošena za titraciju uz eriohrom crno T.

Rezultati određivanja ukupne i karbonatne tvrdoće vode prikazani su u tabeli 4.

Analiza rezultata prikazanih u tabeli 4 ukazuje da uzorak gradske vode ima neznatno nižu karbonatnu tvrdoću u odnosu na ukupnu tvrdoću, što znači da

hidrogenkarbonati u gradskoj vodi potiču uglavnom od kalcijuma i magnezijuma. Tehnološkim tretmanom gradske vode smanjuju se i ukupna i karbonatna tvrdoća, ali je karbonatna tvrdoća veća od ukupne. Ovakvi rezultati ukazuju da dolazi do povećanja sadržaja  $\text{NaHCO}_3$  tokom obrade gradske vode, što sa aspekta proizvodnje piva ima negativan efekat. Naime, u proizvodnji piva kvalitet vode se definiše i preko veličine koja se naziva „preostali alkalitet”, koji je pokazatelj kojim se obuhvata delovanje jona koji smanjuju ili povećavaju kiselost vode, odnosno komine u procesu proizvodnje sladovine. U suštini, „preostali alkalitet” odgovara koncentraciji  $\text{NaHCO}_3$  u tehnološkoj vodi. Na povećanje sadržaja  $\text{NaHCO}_3$  u tehnološkoj vodi ukazuje i vrednost pH (tabela 3). Naime, tehnološka voda ima veću vrednost pH u odnosu na gradsku, a što je posledica povećanja sadržaja  $\text{NaHCO}_3$ , čiji vodeni rastvor reaguje bazno.

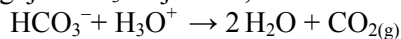
Tabela 4. Određivanje tvrdoće vode i sadržaja Ca i Mg kompleksometrijskom titracijom.  
*Table 4. Determination of water hardness and the content of Ca and Mg by complexometric titration.*

Uzorak	Tvrdoća vode (mg $\text{CaCO}_3$ u 1 $\text{dm}^3$ )		Sadržaj Ca i Mg u smeši (mg/ $\text{dm}^3$ )	
	UT	KT	Ca	Mg
1	258,93	250	81,4	13,4
2	80,36	82,68	25,44	4,12

Uopšteno posmatrano, delovanje jona iz vode u proizvodnji piva vezuje se za niz hemijskih reakcija jona iz vode u reakcijama sa rastvorenim sastojcima slada, uticaj na aktivnost enzima, uticaj vode na tehnološki značajne karakteristike hmelja, promene jona iz vode sa promenom temperature, i međusobne reakcije među nekim jonima.

Hidrogenkarbonati kalcijuma i magnezijuma reaguju sa fosfatima iz slada i utiču tako što smanjuju njihovu rastvorljivost. Neposredno nakon ukomljavanja, pored jona iz vode u rastvor brže ili sporije prelaze mineralni sastojci slada, a pri tome dolazi do izrazitog povećanja koncentracije pojedinih jona u komini, koji dalje podležu uticaju povećanja ili smanjenja koncentracije sladovine ili promene njene temperature.

Smanjenje kiselosti komine ili sladovine izazivaju samo  $\text{HCO}_3^-$ -joni jer, prilikom zagrevanja, reaguju sa  $\text{H}_3\text{O}^+$ -jonima, uz oslobađanje  $\text{CO}_2$ :



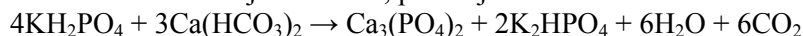
Reakcije smanjivanja kiselosti se najbolje objašnjavaju na osnovu reakcija između hidrogenkarbonata i fosfata iz sladovine. Količine hemijski aktivnih jona u vodi za komljenje pod normalnim uslovima su znatno manje od količine mineralnih sastojaka koji se unose u kominu sa usipkom slada. Usled toga, prilikom komljenja dobija se komina, sladovina, čija je pH vrednost uvek u kiseloj



oblasti. Kalcijum-hidrogenkarbonat sa kiselim, primarnim fosfatima iz slada, stupa u sledeću reakciju:



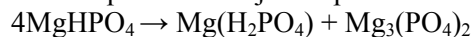
Kod malih ili srednjih sadržaja hidrogenkarbonat-jona, reakcija teče praktično kvantitativno do sekundarnih fosfata. Ako u vodi ima mnogo kalcijum-hidrogenkarbonata, iz primarnih fosfata ne nastaju samo sekundarni fosfati, nego se javljaju i male količine kalcijum-fosfata, prema jednačini:



Pri tome, i već nastali sekundarni fosfati komine prelaze u tercijarne. Pošto su nerastvorni, talože se. Veće ili manje količine primarnih kiselih fosfata prelaze u alkalni  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . Magnezijum-hidrogenkarbonat sa fosfatima reaguju prema sledećoj reakciji:



Sekundarni magnezijum fosfat je alkalni, ali je rastvorljiv pa zajedno sa alkalnim sekundarnim kalijum-fosfatom izaziva smanjivanje kiselosti komine. Prema tome, magnezijum-hidrogenkarbonat izaziva jače smanjenje kiselosti, nego kalcijum-hidrogenkarbonat. Sekundarni magnezijum-fosfat je nestabilan prilikom ključanja i tom prilikom se raspada na tercijarni i primarni fosfat.



Kiseli primarni magnezijum fosfat izaziva povećanje kiselosti vruće sladovine. Prilikom hlađenja, reakcija teče suprotno.

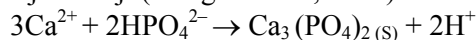
Natrijum-hidrogenkarbonat u još većoj meri izaziva smanjenje kiselosti. Razlog tome je činjenica da njegovim reakcijama sa pomenutim fosfatima iz sladovine nastaju samo rastvorljivi proizvodi reakcije, koji ostaju u sladovini.



Prema svemu navedenom, zaključuje se da kalcijum-hidrogenkarbonat izaziva najmanje, magnezijum-hidrogenkarbonat srednje, a natrijum-hidrogenkarbonat najveće smanjenje kiselosti. Na osnovu analize alkaliteta i tvrdoće vode (tabele 3 i 4), uočava se povećanje karbonatne tvrdoće u odnosu na ukupnu tvrdoću vode, što znači da se tokom tehnološkog tretmana povećava sadržaj  $\text{Na}^+$ -jona, koji ima najveći negativan uticaj na smanjenje kiselosti komine i sladovine.

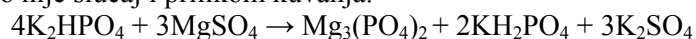
Reakcije povećanja kiselosti odvijaju se pod uticajem jona  $\text{Ca}^{2+}$ - i  $\text{Mg}^{2+}$ -jona, a objašnjava se na osnovu reakcija sulfata (ili hlorida) ovih elemenata sa sekundarnim alkalnim fosfatima.

Povećanje kiselosti komine i sladovine je posledica reakcije  $\text{Ca}^{2+}$ - i  $\text{Mg}^{2+}$ -jona iz vode sa hidrogenfosfatima estrahovanim iz slada, što utiče na smanjenje aktivnosti enzima slada, iskorišćenje ekstrakta, kvalitet dobijene sladovine, a sve se odigrava prema sledećoj reakciji (Douglas et al., 2002):

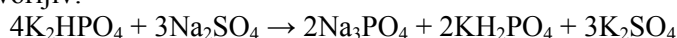


Efekat  $\text{Mg}^{2+}$ - jona je znatno manji.

Pošto nastaje nerastvoran tercijarni fosfat, komina ili sladovina postaje kiselija. Sa magnezijum-fosfatom odvijaju se slične reakcije, ali je tercijarni magnezijum-fosfat nerastvorljiv samo na vruće, tako da je acidogeno delovanje primarnog fosfata jednim delom kompenzovano. Fosfati magnezijuma na uobičajenim temperaturama komljenja ometaju i taloženje tercijarnog kalcijum-fosfata, ali to nije slučaj i prilikom kuvanja.



Natrijum-sulfat praktično uopšte ne izaziva povećanje kiselosti, pošto u njegovom prisustvu nastaje natrijum-fosfat, koji ne samo što je jako alkalni, nego je i jako rastvorljiv:



U tabeli 5 prikazani su rezultati merenja provodljivosti i data je temperatura na kojoj je provodljivost merena.

Prema Pravilniku o higijenskoj ispravnosti vode za piće, provodljivost treba da bude manja od 1.000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Službeni list SRJ, 1998; Službeni list SRJ 1999). Ovaj zahtev ispunjavaju i uzorak gradske (uzorak 1) i tehnološke vode (uzorak 2). Uzorak 3 je demineralizovana voda, koja se dobija odgovarajućim tretmanom tehnološke vode. Najniža provodljivost u ovom uzorku je usled najmanjeg sadržaja mineralnih materija u demineralizovanoj vodi.

Tabela 5. Određivanje provodljivosti u uzorcima vode.  
*Table 5. Determination of conductivity in water samples.*

Uzorak	t, °C	$\kappa$ , $\mu\text{S}/\text{cm}$
1	23,3	424
2	23,5	171
3	19,9	30,0
MDK	< 1.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pri 20°C	

Određivanje pH vrednosti i provodljivosti u uzorcima sladovine, surogata od kukuruznog griza i piva

pH vrednost sladovine i piva znatno utiče na stabilnost procesa proizvodnje i tehnološko-senzorne karakteristike piva (Casaregola et al., 2001; Heyse, 1989; Leskošek-Čukalović, 2000). Podešavanjem pH vrednosti direktno se utiče na tehnološki postupak proizvodnje piva i kontrolu kvaliteta, kako sirovina tako i gotovog proizvoda, u smislu povećanja stabilnosti sladovine i piva, stvaranja povoljnih uslova za sve biohemijske procese koji se odigravaju u toku proizvodnje, a na kojima se insistira u cilju dobijanja što kvalitetnijeg gotovog proizvoda. Vrednost pH je od najvećeg značaja, jer većina reakcija koje se odvijaju tokom proizvodnje slada i piva direktno zavise od pH vrednosti. Uticaj pH vrednosti u toku procesa kuvanja i vrenja malo je poznat.

Rezultati određivanja pH vrednosti i provodljivosti u uzorcima sladovine, kukuruznog griza i piva prikazani su u tabeli 6.

Optimalna vrednost pH sladovine je između 5,4 i 5,8, dok je u uzorku ispitivane sladovine (uzorak 4) pH bila 5,90. Svako smanjenje kiselosti sladovine (povećanje pH vrednosti) ima sledeća negativna dejstva: opadanje aktivnosti enzima, smanjenje iskorišćenja ekstrakta, promenu karakteristika sladovine, promenu profila gorčine i usporavanje vrenja. U uzorcima ohmeljene sladovine (uzorci 5 i 6) pH vrednost je iznosila 5,20. Svako povećanje kiselosti sladovine (smanjenje pH vrednosti) ima sledeća pozitivna dejstva: povećan ukupan rastvorni azot i slobodan amino-azot, povećan ekstrakt sladovine, povećana brzina ceđenja sladovine, smanjena ekstrakcija tanina i gorkih sastojaka hmelja, povećana fermentabilnost.

U uzorcima mladog piva, pH vrednost se u odnosu na sladovinu smanjuje za oko jednu pH jedinicu. U ispitivanim uzorcima 8 i 9, pH vrednost je iznosila 4,47. Kiselost mladog piva se povećava u odnosu na sladovinu tokom tehnološkog postupka kako bi se obezbedili optimalni uslovi za dejstvo različitih enzima. Nakon odležavanja i pasterizacije, pH vrednost finalnog proizvoda je iznosila 4,32 za pasterizovani uzorak, odnosno 4,37 za nepasterizovani uzorak, što je u oblasti očekivanih vrednosti.

Tabela 6. Određivanje vrednosti pH i provodljivosti u uzorcima sladovine, kukuruznog surogata i piva.

*Table 6. Determination of pH values and conductivity in samples of wort, corn substitutes and beer.*

Uzorak	t, °C	pH	$\kappa$ , $\mu\text{S/cm}$
4	23,4	5,90	1175
5	23,2	5,20	1498
6	23,0	5,20	1488
7	22,8	5,93	762
8	23,6	4,47	1460
9	23,6	4,47	1480
10	24,7	4,32	1381
11	25,3	4,37	1448

Uzorak 4 je kongresna sladovina i provodljivost ovog uzorka je uslovljena prisustvom jonskih supstanci koje potiču iz ječma, čijim klijanjem nastaje slad i vode kojom se potom taj slad tretira. Uzorci pet i šest predstavljaju ohmeljenu sladovinu, koja se dobija dodatkom hmelja u sladovinu (uzorak 4) tokom kuvanja. U odnosu na prekursor, uzorak četiri, uočava se povećanje provodljivosti u uzorcima 5 i 6. Veća provodljivost u uzorcima ohmeljene sladovine je uslovljena

rastvaranjem mineralnih materija iz hmelja. Uzorci 8 i 9 su mlado pivo, koje se dobija nakon fermentacije ohmeljene sladovine. Pošto mineralne materije tokom fermentacije imaju ulogu u pokretanju i održavanju metabolizma kvasca, uočava se neznatno smanjenje provodljivosti u uzorcima mladog piva, u odnosu na ohmeljenu sladovinu (uzorci 5 i 6). Tokom odležavanja mladog piva, dolazi do izdvajanja taloga, nakon čega se dobija finalni proizvod, pivo. Uzorci pasterizovanog piva (uzorak 10) i nepasterizovanog piva (uzorak 11) imaju provodljivost nižu u odnosu na uzorke mladog piva, što je posledica izdvajanja mineralnih materija u obliku slabo rastvornih jedinjenja.

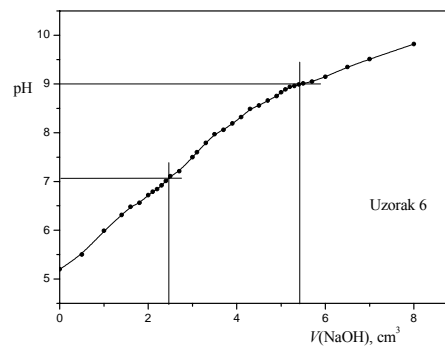
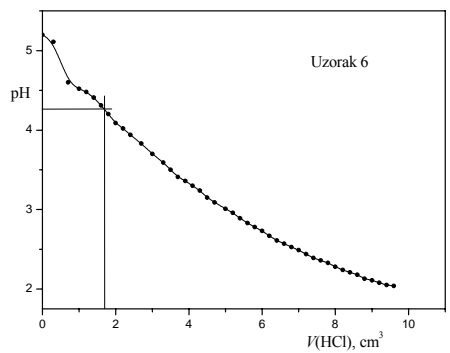
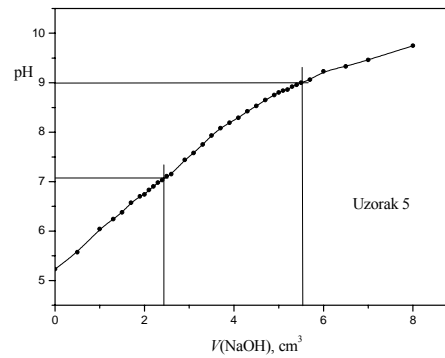
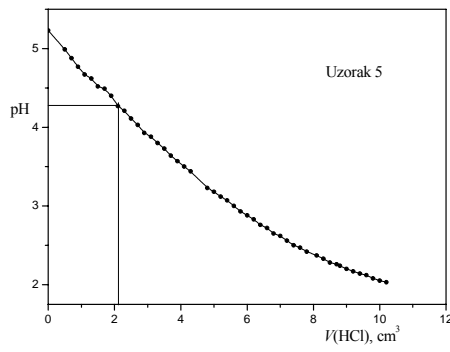
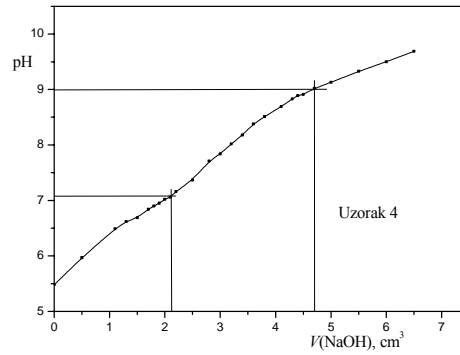
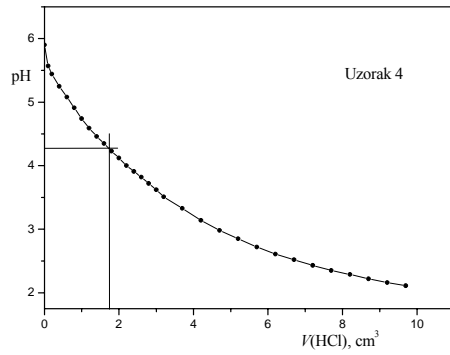
Uzorak 7 predstavlja kukuruzni griz, koji predstavlja surogat u proizvodnji sladovine. U odnosu na sladovinu od ječmenog slada ima znatno manju provodljivost, što ukazuje na manji sadržaj jonskih supstanci u kukuruznom grizu. Osnovna uloga dodatka kukuruznog griza je zamena dela ječmenog slada radi ekonomičnosti proizvodnje. Dakle, kukuruzni griz se u postupku proizvodnje koristi kako bi se obezbedio određeni procenat ekstrakta, a uz manja ekonomska ulaganja.

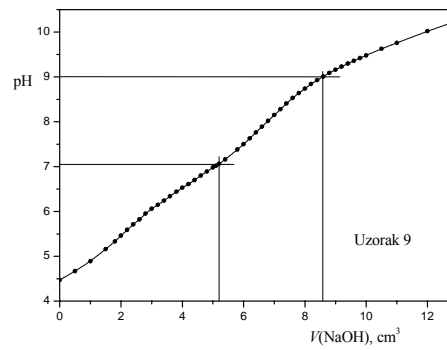
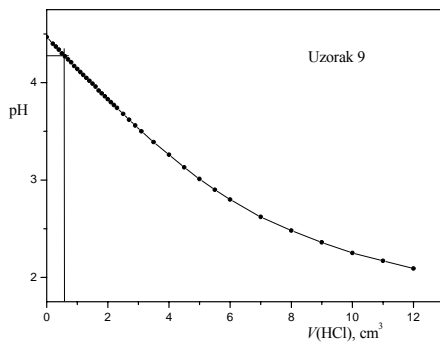
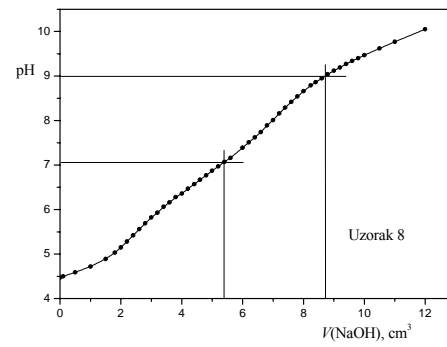
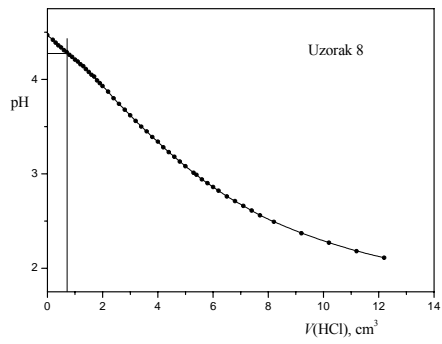
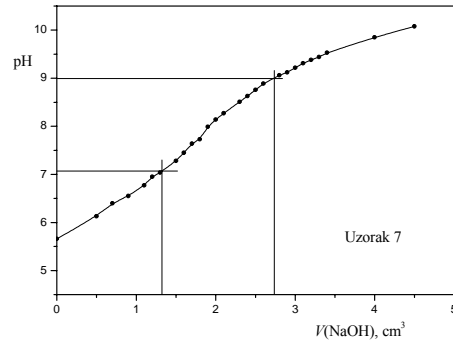
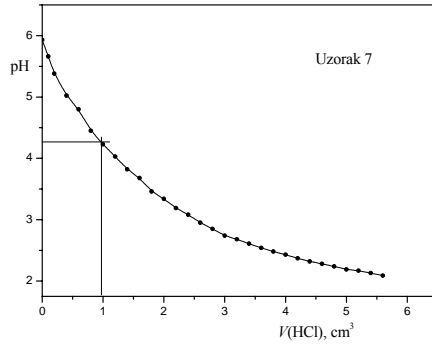
Određivanje alkaliteta, aciditeta i moći puferovanja u uzorcima sladovine, surogata od kukuruznog griza i piva

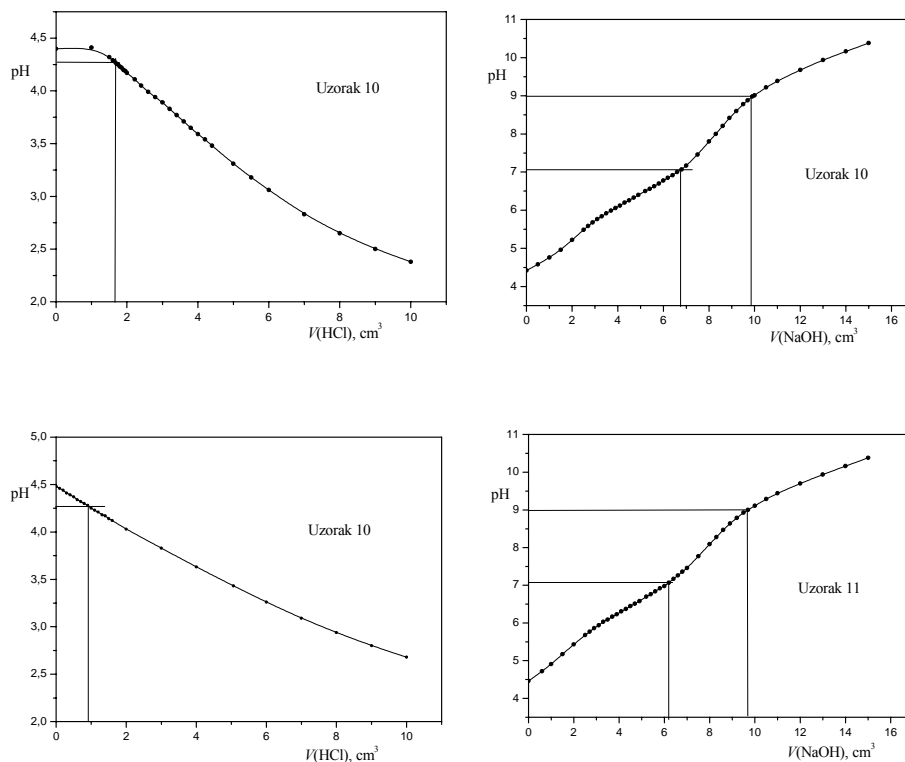
Jedan od osnovnih parametara kvaliteta sladovine i piva su vrednost pH, titracioni aciditet, titracioni alkalitet i moć puferovanja (Leskošek-Čukalović, 2002).

Slabe kiseline i njihove soli, primarni i sekundarni fosfati, belančevine i jedinjenja dobijena njihovim razlaganjem koja se nalaze u sladovini i pivu, predstavljaju puferne sisteme koji se opiru promeni pH vrednosti. Zavisno od vrsta i količina ovih pufernih supstanci, sladovina ili pivo mogu biti dobri ili slabi puferni sistemi. Moć puferovanja određuje se kao titracioni aciditet ili kao titracioni alkalitet. Svi uzorci sladovina i piva su, u cilju određivanja navedenih parametara, titrisani rastvorima HCl i NaOH, do vrednosti pH 4,27 (pri titraciji sa HCl), odnosno do pH 7,07 i 9,00 (pri titraciji sa NaOH). Titracija je urađena potenciometrijskom metodom, a dobijene titracione krive su prikazane na slici 2.

Utrošak kiseline i baze u završnoj tački titracije očitani su sa titracione krive za pH vrednost 4,27 (u slučaju titracije kiselinom) i pH vrednost 7,07 i 9,00 (u slučaju titracije bazom). Titracioni aciditet, titracioni alkalitet i moć puferovanja predstavljaju  $\text{cm}^3$  utrošenog titracionog sredstva (HCl ili NaOH), koncentracije 0,1  $\text{mol/dm}^3$  za titraciju 100  $\text{cm}^3$  uzorka. *Titracioni aciditet* se određuje u dva stepena: I stepen do pH 7,07 i II stepen do pH 9,00. Potrebno je naglasiti da se za izračunavanje drugog stepena kiselosti uzima razlika zapremine utrošenog rastvora NaOH od pH 7,07 do pH 9,00. *Titracioni alkalitet* je zapremina (u  $\text{cm}^3$ ) HCl koncentracije 0,1  $\text{mol/dm}^3$ . *Moć puferovanja* predstavlja zbir I stepena kiselosti i titracionog alkaliteta.







Slika 2. Potenciometrijske krive titracije uzoraka sladovine, surogata od kukuruznog griza i piva.

*Figure 2. Potentiometric titration curves for samples of wort, surrogates of corn grits and beer.*

Utrošak kiseline i baze u završnoj tački titracije očitao je sa titracione krive za pH vrednost 4,27 (u slučaju titracije kiselinom) i pH vrednost 7,07 i 9,00 (u slučaju titracije bazom). Rezultati određivanja titracionog alkaliteta, titracionog aciditeta i moći puferovanja su prikazani u tabeli 7.

Određivanje navedenih parametara kvaliteta je izuzetno važno iz razloga što su upravo oni glavni pokazatelj stabilnosti sladovine i piva. Tokom proizvodnje piva, najveći alkalitet, a time i najvišu vrednost pH ima sladovina (tabela 6). Već je objašnjen značaj kontrole pH vrednosti tokom procesa proizvodnje piva. Na osnovu rezultata prikazanih u tabelama 6 i 7 uočava se slična promena pH vrednosti i alkaliteta. Naime, od sladovine, preko ohmeljene sladovine i mladog

piva, odnosno finalnog proizvoda, smanjuje se pH vrednost, a time i alkalitet ispitivanih uzoraka.

Tabela 7. Određivanje alkaliteta, aciditeta i moći puferovanja sladovine, surogata od kukuruznog griza i piva, cm<sup>3</sup>/100 cm<sup>3</sup> uzorka.

*Table 7. Determination of alkalinity, acidity and buffering power of wort, surrogates of corn grits and beer, cm<sup>3</sup>/100 cm<sup>3</sup> sample.*

Uzorak	Alkalitet	Aciditet, I stepen	Aciditet, II stepen	Moć puferovanja
4	8,08	9,28	11,32	17,36
5	8,12	10,64	13,60	18,76
6	6,48	10,84	12,92	17,32
7	3,72	5,80	6,24	9,52
8	2,68	23,60	14,60	26,28
9	2,28	22,88	14,72	25,16
10	1,76	26,96	12,44	28,72
11	2,00	24,72	13,96	26,73

Prvi stepen aciditeta se povećava tokom procesa proizvodnje, što je opet u skladu sa promenom pH vrednosti u analiziranim uzorcima. Drugi stepen aciditeta se u odnosu na sladovinu (uzorak 4) povećava u uzorcima ohmeljene sladovine (uzorci 5 i 6), kao i u uzorcima mladog piva (uzorci 8 i 9). Odležavanjem i naknadnim tretiranjem mladog piva dobija se finalni proizvod, u kome se neznatno smanjuje drugi stepen aciditeta.

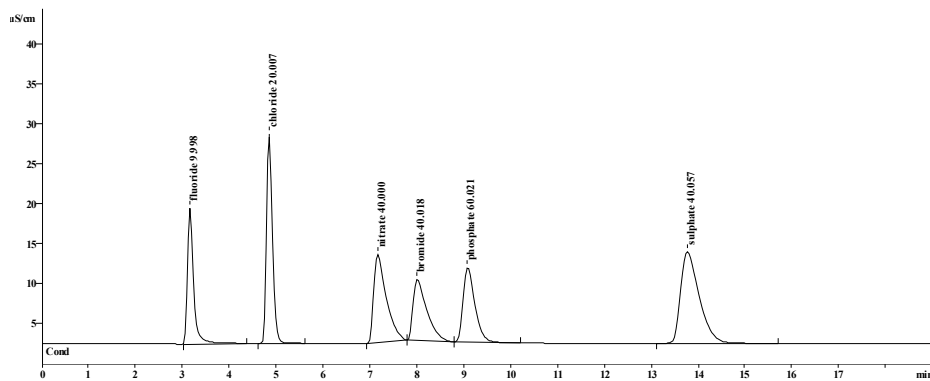
Moć puferovanja, praktično gledano, predstavlja potencijal, sposobnost sladovine, odnosno piva da se opire promeni pH vrednosti. Sve to je od ogromnog značaja za tehnološki postupak proizvodnje piva, jer je kontrolisanje pH vrednosti od esencijalnog značaja za odvijanje najvažnijih biohemijskih procesa u toku proizvodnje, stabilnost proizvoda, iskorišćenje u proizvodnji i, indirektno, potrebne (željene) senzorne karakteristike gotovog proizvoda – piva. Sadržaj supstanci sa puferkim dejstvom se, tokom procesa proizvodnje piva, povećava od sladovine i ohmeljene sladovine (uzorci 4, 5 i 6) ka mladom pivu (uzorci 8 i 9). Najveću moć puferovanja pokazuju uzorci finalnog proizvoda (uzorci 10 i 11).

#### Određivanje anjona u uzorcima piva i sirovinama za proizvodnju metodom jonske hromatografije (IC)

Neorganski anjoni, u ispitivanim uzorcima piva i sirovina za proizvodnju piva su određivani tehnikom jonske hromatografije (Viehwager, 2007; Fritz, 2000; Hautman and Munch, 1999; Loconto, 2001). Na slikama 3 i 4 prikazani su jonski hromatogrami dva standardna rastvora neorganskih anjona, od ukupno pet koji su korišćeni za kalibraciju.

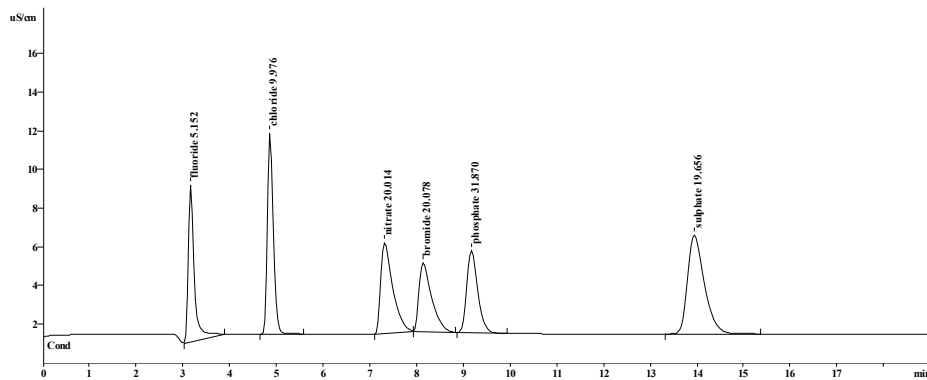


Na osnovu snimanja hromatograma standardnih rastvora, dobijene su kalibracione krive, koje predstavljaju zavisnost koncentracije ( $c$ ) ispitivanih jona ( $\text{mg}/\text{dm}^3$ ) od površine pika ( $A$ ). Na osnovu kalibracionih krivih i hromatograma ispitivanih uzoraka određena je koncentracija neorganskih anjona u uzorcima piva i sirovina za proizvodnju piva.



Slika 3. Hromatogram kalibracionog rastvora 1.

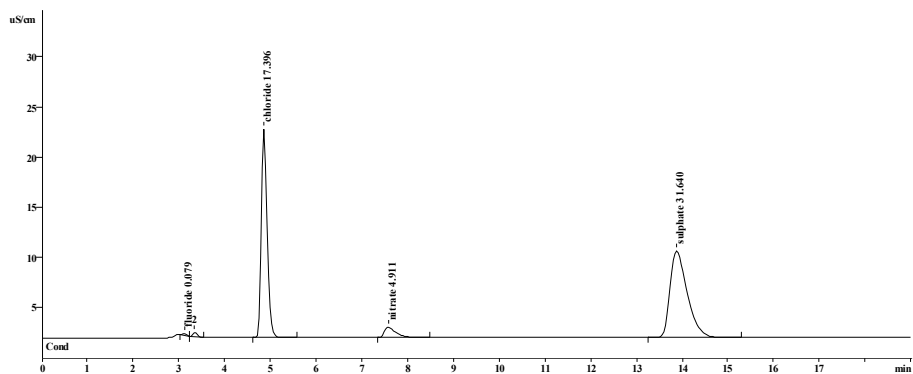
Figure 3. The chromatogram of the calibration solution 1.



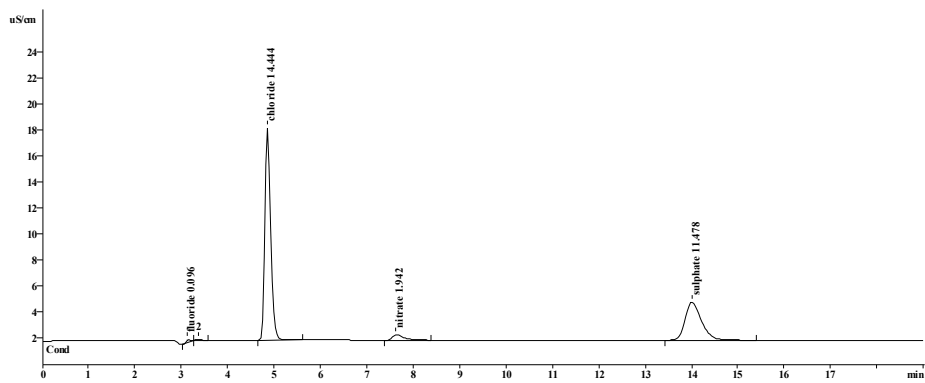
Slika 4. Hromatogram kalibracionog rastvora 2.

Figure 4. The chromatogram of the calibration solution 2.

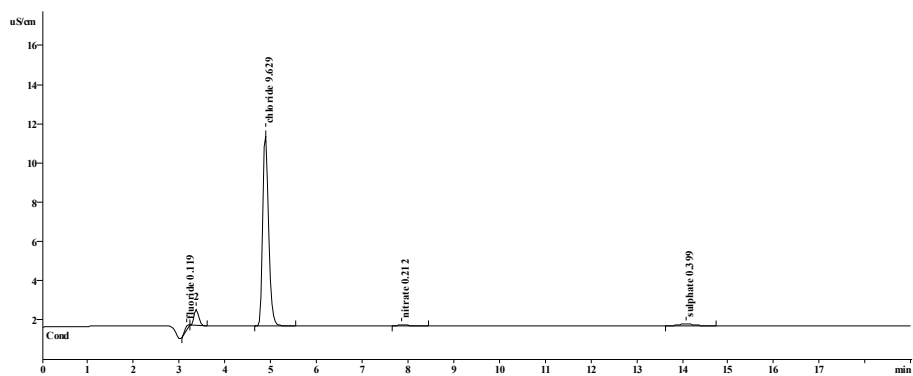
Hromatogrami uzoraka vode, kongresne sladovine, ohmeljene sladovine, mladog piva, kao i pasterizovanog i nepasterizovanog finalnog proizvoda – piva prikazani su na slikama 5–15.



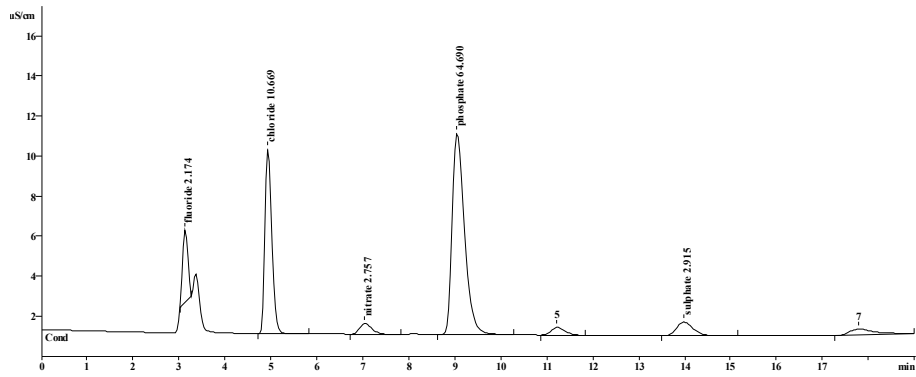
Slika 5. Hromatogram uzorka 1 (gradska voda).  
Figure 5. The chromatogram of the sample 1 (city water).



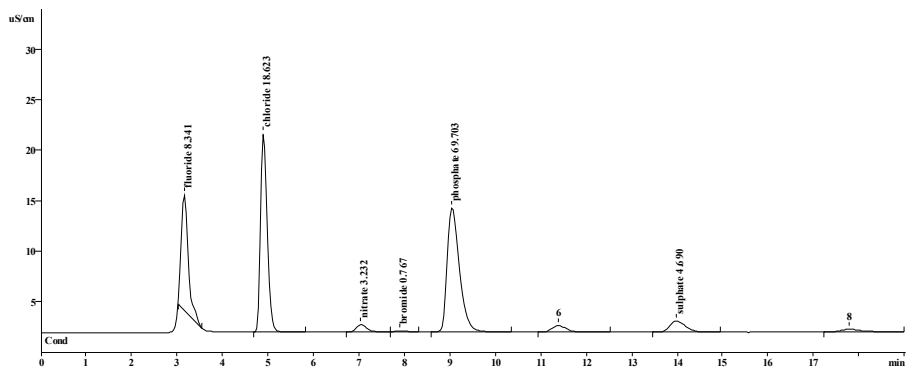
Slika 6. Hromatogram uzorka 2 (tehnološka voda).  
Figure 6. The chromatogram of the sample 2 (technological water).



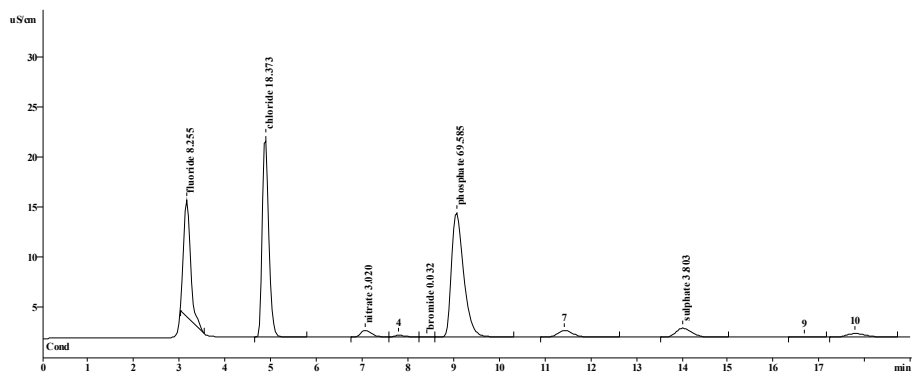
Slika 7. Hromatogram uzorka 3 (demineralizovana voda).  
Figure 7. The chromatogram of the sample 3 (demineralized water).



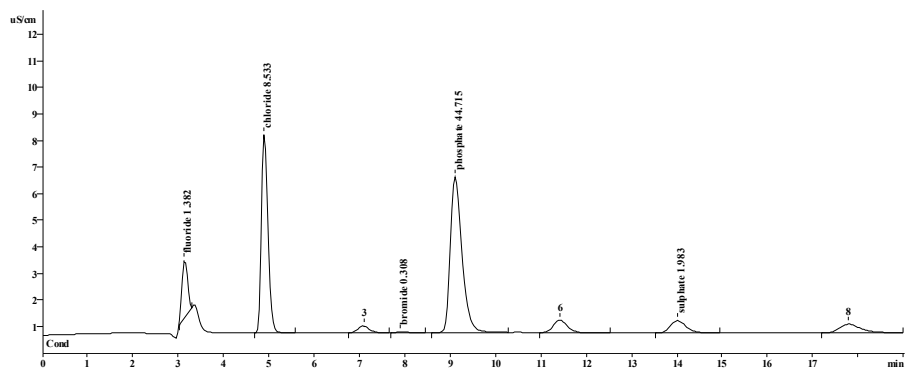
Slika 8. Hromatogram uzorka 4 (kongresna sladovina).  
 Figure 8. The chromatogram of the sample 4 (congress wort).



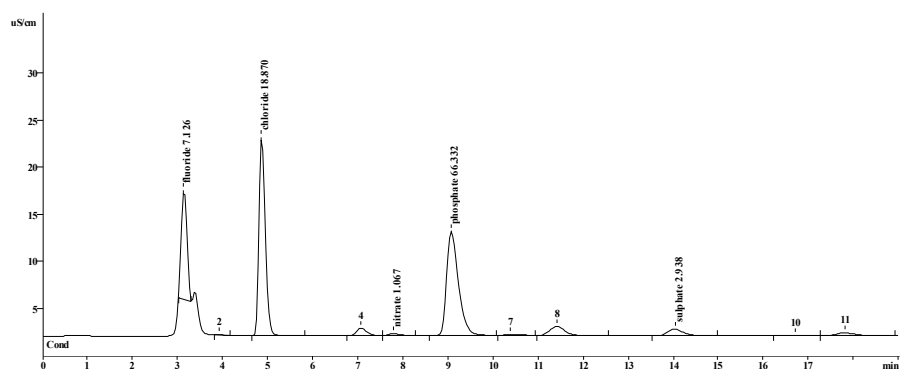
Slika 9. Hromatogram uzorka 5 (ohmeljena sladovina, separacija 285).  
 Figure 9. The chromatogram of the sample 5 (the hopped wort, separation 285).



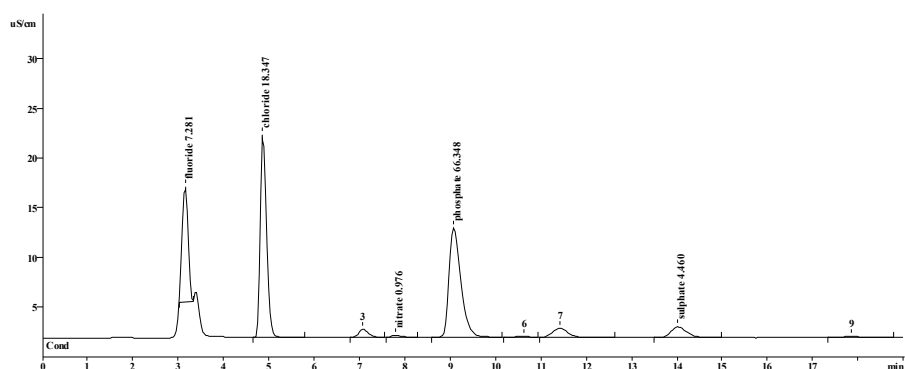
Slika 10. Hromatogram uzorka 6 (ohmeljena sladovina, separacija 286).  
 Figure 10. The chromatogram of the sample 6 (the hopped wort, separation 286).



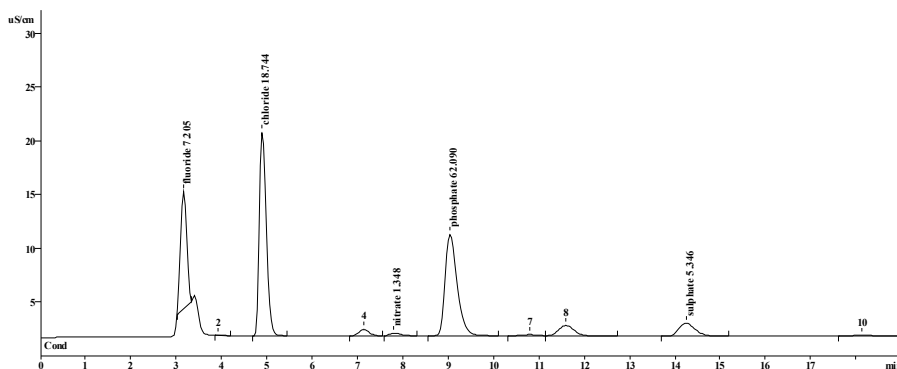
Slika 11. Hromatogram uzorka 7 (surogat od kukuruznog griza).  
 Figure 11. The chromatogram of the sample 7 (a surrogate of corn grits).



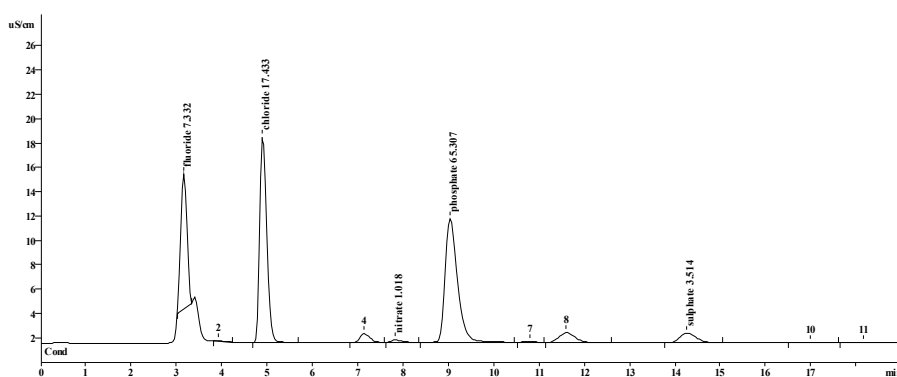
Slika 12. Hromatogram uzorka 8 (mlado pivo, separacija 285).  
 Figure 12. The chromatogram of the sample 8 (young beer, separation 285).



Slika 13. Hromatogram uzorka 9 (mlado pivo, separacija 286).  
 Figure 13. The chromatogram of the sample 9 (young beer, separation 286).



Slika 14. Hromatogram uzorka 10 (pivo, pasterizovano).  
 Figure 14. The chromatogram of the sample 10 (beer, pasteurized).



Slika 15. Hromatogram uzorka 11 (pivo, nepasterizovano).  
 Figure 15. The chromatogram of the sample 11 (beer, unpasteurized).

Rezultati određivanja neorganskih anjona u ispitivanim uzorcima sumirani su u tabeli 8. Prema Pravilniku o higijenskoj ispravnosti vode za piće (Službeni list SRJ, 1998; Službeni list SRJ, 1999), sadržaj neorganskih anjona u svim ispitivanim uzorcima vode je manji od maksimalno dozvoljenog (uzorci 1–3).

U procesu proizvodnje piva prisustvo  $\text{SO}_4^{2-}$ -jona pivu daje suvlji i više gorak ukus, a takođe može delovati i kao prekursor obrazovanja  $\text{SO}_2$  i  $\text{H}_2\text{S}$ . Smatra se da koncentracija sulfata treba da bude između 10 i 250  $\text{mg}/\text{dm}^3$  (Službeni list SCG, 2004). Sulfati kalcijuma i magnezijuma izazivaju povećanje kiselosti; indirektno utiču, preko pH vrednosti, na većinu razgradnih procesa u toku kumljenja. Iako se sulfati unose u kominu i sa sladom, odnosno hmeljom, koncentracija sulfata u vodi za ukumljavanje odlučujuća je s obzirom na njihovu koncentraciju u sladovini, odnosno pivu. Čak ni povećane koncentracije sulfata ne izazivaju pojačano

razvijanje  $\text{SO}_2$  u pivu, ali one mogu biti uzrok pojave dobijanja piva suvljeg ukusa sa intenzivnijom gorčinom. U obliku  $\text{MgSO}_4$  mogu biti uzrok pojave hladnog, grubog ukusa piva. U ispitivanim uzorcima sladovine (uzorak 4), mladog piva (uzorci 8 i 9) i finalnog proizvoda (uzorci 10 i 11) sadržaj sulfat-jona bio je ispod  $50 \text{ mg/dm}^3$  (tabela 8).

Tabela 8. Sadržaj neorganskih anjona u ispitivanim uzorcima, u  $\text{mg/dm}^3$ .  
 Table 8. Contents of inorganic anions in the analyzed samples in  $\text{mg/dm}^3$ .

Uzorak	$\text{Cl}^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{PO}_4^{3-}$
1	17,4	4,91	31,6	<0,02
2	14,4	1,94	11,5	<0,02
3	9,63	0,21	0,40	<0,02
4	107	27,6	29,2	647
5	186	32,3	46,9	697
6	184	30,2	38,0	696
7	85,3	< 0,02	19,8	447
8	189	10,7	29,4	663
9	183	9,76	44,6	663
10	187	13,5	53,5	621
11	174	10,2	35,1	653
MDK vrednost	<150 $\text{mg/dm}^3$	50 $\mu\text{g/dm}^3$	10–250 $\text{mg/dm}^3$	-

U procesu proizvodnje piva  $\text{Cl}^-$ -joni imaju višestruku ulogu. Prisustvo  $\text{Cl}^-$ -jona kao soli natrijuma, kalijuma ili kalcijuma utiče na senzorna svojstva piva, daju pivu punoću ukusa ukoliko je njihov sadržaj ispod  $150 \text{ mg/dm}^3$ . Hlorid-joni u većim koncentracijama inhibiraju flokulaciju kvasca i fermentaciju, a imaju toksično dejstvo na kvasac ukoliko je sadržaj veći od  $300 \text{ mg/dm}^3$ . Hlorid-joni u sladovini uglavnom potiču iz vode upotrebljene za kvašenje slada, u koju se uglavnom dodaje kalcijum-hlorid u cilju regulisanja pH vrednosti tehnološke vode, ali i alkaliteta vode. Hlorid-joni deluju stimulatивно na aktivnost  $\alpha$ -amilaze (koja učestvuje u razgradnji skroba, jer je od esencijalne važnosti razgraditi skrob u potpunosti), a njihov uticaj na aktivnosti peptidaza još nije potpuno rasvetljen: u obliku  $\text{CaCl}_2$ , izazivaju dobijanje piva punijeg, mekšeg ukusa,  $\text{MgCl}_2$  ne deluje negativno, kao sulfat, dok  $\text{NaCl}$  izaziva dobijanje piva sa povećanom punoćom ukusa. Međutim, u koncentracijama preko  $400 \text{ mg/dm}^3$  izazivaju dobijanje piva slankastog ukusa. U obliku hlorida kalcijuma i magnezijuma utiču na pH vrednost komine, sladovine i piva. Maksimalna preporučena koncentracija hlorid-jona je  $150 \text{ mg/dm}^3$ . U odnosu na ovu preporuku, jedino uzorak sladovine (uzorak 4) ima sadržaj  $\text{Cl}^-$ -jona manji od  $150 \text{ mg/dm}^3$ , dok se u ostalim ispitivanim uzorcima (uzorci 5–11) sadržaj  $\text{Cl}^-$ -jona kreće između  $170$  i  $190 \text{ mg/dm}^3$ .

Nitrati i nitriti pripadaju neželjenim i štetnim anjonima u vodi za proizvodnju piva i njihovo prisustvo treba izbegavati (Rajković, 2003; Knežević, 1995). Nitrati su krajnji proizvod oksidacije, odnosno mineralizacije organskih supstanci koje sadrže azot. Njihovo prisustvo u vodi znak je starog zagađenja vode organskim supstancama. Mogu biti i neorganskog porekla. Međutim, bez obzira na poreklo, nitrati su štetni za organizam ukoliko ih u vodi za piće ima u većoj koncentraciji od dozvoljene. Granična vrednost za nitrata (kao  $\text{NO}_3^-$ ) u vodi za piće je  $50 \mu\text{g}/\text{dm}^3$  ( $0,05 \text{ mg}/\text{dm}^3$ ). Ukoliko je koncentracija nitrata u vodi za piće veća od navedene vrednosti, postaje glavni put unošenja nitrata u organizam, koji se u organizam najčešće unose hranom, a naročito povrćem. Nitrati se u organizmu redukuju u nitrite koji su uzrok nastanka *methemoglobinemije*. Nitriti nastaju oksidacijom amonijaka, ali i redukcijom nitrata, i uvek su znak svežeg fekalnog zagađenja vode. Redukcija nitrata u nitrite nastaje pri visokoj pH vrednosti vode i pod uticajem bakterija. Nitriti učestvuju u oksidaciji *hemoglobina* u *methemoglobin* koji nije u stanju da transportuje kiseonik dalje od tkiva (Rajković et al., 2014). Nitrati se javljaju u sladu i hmelju. Važno je da ukupan sadržaj nitrata u pivu nije veći od  $50 \text{ mg}/\text{dm}^3$ . Nitriti su toksični za kvasac, inhibirajući rast i izazivajući promenu boje. Nitrati ukazuju na pojave prisustva organskih onečišćenja u poslednjem stepenu oksidacije, ili na prisustvo ostataka mineralnih đubriva. Kod koncentracija  $\text{NO}_3^-$  između  $50$  i  $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$  zapaža se sve izrazitije delovanje nitrata vezano za inhibiciju rasta kvasca i vrenja, pri čemu značajnu ulogu igra i ukupni sadržaj soli u vodi. Tako, kod ukupnog sadržaja soli u vodi od  $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$ , već  $20 \text{ mg}/\text{dm}^3$  nitrat-jona može izazvati poteškoće, dok kod ukupnog sadržaja soli od  $1.000 \text{ mg}/\text{dm}^3$  i u prisustvu  $50 \text{ mg}/\text{dm}^3$  nitrat-jona vrenje teče neometano. Veće koncentracije nitrat-jona (preko  $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$ ) mogu prouzrokovati pojavu neprijatnog ukusa piva. U uzorku sladovine (uzorak 4) i uzorcima ohmeljene sladovine (uzorci 5 i 6) koncentracije nitrat-jona su oko  $30 \text{ mg}/\text{dm}^3$ . Tokom daljeg tehnološkog postupka sadržaj nitrat-jona opada i u uzorcima mladog piva i finalnog proizvoda (uzorci 8, 9, 10 i 11) je manji od  $15 \text{ mg}/\text{dm}^3$ .

Fosfati potiču uglavnom od fosfata prisutnih u sladu. Imaju glavnu ulogu u sistemima puferovanja u procesima komljenja i fermentacije. Organski vezani fosfati pod dejstvom fosfataza prelaze u rastvor. Radi se o esencijalnim bioticima potrebnim kvascu u toku fermentacije. Nastaje fosforna kiselina i primarni fosfati usled čega raste kiselost i puferni kapacitet sladovine. Usled stvaranja primarnih fosfata, sadržaj fosfata (tabela 8) se povećava u uzorcima ohmeljene sladovine (uzorci 5 i 6) u odnosu na uzorak sladovine. Odigravanjem reakcija koje su prikazane i objašnjene, sadržaj fosfata u uzorcima mladog piva (uzorci 8 i 9) i gotovog proizvoda (uzorci 10 i 11) smanjuje se i u gotovom proizvodu je oko  $630 \text{ mg}/\text{dm}^3$ .

Analizom hromatograma prikazanih na slikama 8–15 uočavaju se neidentifikovani pikovi. Naime, za uzorke 4, 5 i 6, uzorke sladovine i ohmeljene

sladovine jedan pik odgovara supstanci koja eluira posle  $\text{PO}_4^{3-}$ -jona, a drugi odgovara supstanci koja eluira posle sulfat-jona. Broj neidentifikovanih pikova se povećava, i u uzorcima 8, 9, 10 i 11 (uzorcima mladog piva i finalnog proizvoda) iznosi četiri. Supstance kojima odgovaraju neidentifikovani pikovi mogu, između ostalog biti i anjoni organskih kiselina koje su prisutne u sladovini, odnosno pivu (Prijić, 2013).

### Zaključak

U cilju kontrole kvaliteta piva i sirovina za proizvodnju piva Beogradske industrije piva (BIP) analizirana je voda (gradska, tehnološka i demineralizovana). Merenja pH vrednosti ukazala su na povećanu vrednost pH u uzorku tehnološke vode, ali to nije imalo uticaja na ukomljavanje slada pošto su ispitivani uzorci sladovine, kao i uzorci mladog piva i gotovog proizvoda imali vrednost pH u očekivanom opsegu.

Obradom gradske vode dobio se uzorak tehnološke vode sa povećanom karbonatnom tvrdoćom, koja je prouzrokovana povećanim sadržajem natrijum-hidrogenkarbonata. Analizom titracionog alkaliteta, titracionog aciditeta, i moći puferovanja, utvrđeno je da se alkalitet smanjuje što je u saglasnosti i sa određivanjem pH vrednosti uzoraka sladovine i piva (mladog i gotovog proizvoda).

Analiza sadržaja anjona i katjona u ispitivanim uzorcima vode, pokazala je da je koncentracija ispitivanih anjona ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  i  $\text{PO}_4^{3-}$ ) i katjona ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) u granicama propisanim Pravilnikom o higijenskoj ispravnosti vode za piće, a time i Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za pivo.

Sadržaj anjona u uzorcima sladovine i piva (mladog i gotovog proizvoda) određen je metodom jonske hromatografije. Sadržaj sulfat- i nitrat-jona je bio u preporučenim granicama. Koncentracija hlorid-jona je bila iznad  $150 \text{ mg/dm}^3$ , što može uticati na senzorne karakteristike piva. Promena sadržaja fosfat-jona je bila neznatna, mada se očekivala znatnija promena koncentracije ovih jona, imajući u vidu metabolizam kvasca.

### Zahvalnica

Ovaj rad je rađen u okviru projekata broj III 43009 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.



## Literatura

- Available from: <http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/senzorne-karakteristike-piva>.
- Casaregola, S., Nguyen, Huu-Vang, Lapathitis, G., Kotyk, A., Gaillardin, C. (2001): Analysis of the constitution of the beer yeast genome by PCR, sequencing and subtelomeric sequence hybridization. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51:1607-1618.
- Cerjan-Stefanović, Š. (1992): Principi i primjena ionske kromatografije. *Kemijska industrija*, 41(6):227.
- Dalmacija, B. (2000): Kontrola kvaliteta voda u okviru upravljanja kvalitetom, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
- Douglas, D.R., Saari-Nordhaus, R., Despres, P., Anderson, J.M.Jr. (2002): New suppressor technology improves trace level anion analysis with carbonate-hydrogencarbonate mobile phases. *Journal of Chromatography A*, 956:47-51.
- Eßlinger, H.M. (2009): *Handbook of Brewing*. Wiley-VCH.
- Fotić, Lj., Laušević, M. (1990): Instrumentalne metode hemijske analize. *Praktikum za vežbe*, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd.
- Fritz, J.S., Gjerde, D.T. (2000): *Ion Chromatography*. 3<sup>rd</sup> ed., Wiley-VCH, New York.
- Harris, D.C. (2003): *Quantitative Chemical Analysis*. 6<sup>th</sup> ed., W.H. Freeman & Co., New York.
- Hautman, D.P., Munch, D.J. (1999): Method 300.1: Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography. US Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
- Heyse, K.D. (1989): *Handbuch der Breuere-Praxis*. Getranke-Fachverlag, Nürnberg.
- Hornsey, I. (2004): *A history of Beer and Brewing*, 1<sup>st</sup> ed., Royal Society of Chemistry, Amazon.
- Kišgeci, J. (2007): *Svet piva i piva sveta*. Aurora, Novi Sad.
- Kišgeci, J. (2001): *Istorijat hmeljarstva i pivarstva*. Galerija nauke i tehnike SANU i Muzej nauke i tehnike, Beograd.
- Knežević, T. (1995): Hemijske kontaminirajuće materije u vodi za piće i procena uticaja na zdravlje ljudi. Seminar „Kvalitet vode za piće: Nove preporuke Svetske zdravstvene organizacije Evropske unije”, Savez hemičara i tehnologa Jugoslavije, Beograd, 16.novembar 1995, Izvodi predavanja, s. 30-40.
- Kunze, W. (1998): *Tehnologija pivarstva i sladarstva*. Jugoslovensko udruženje pivara, Beograd.
- Leskošek-Čukalović, I. (2000): Fiziološki status piva u svakodnevnoj ishrani. *Acta Periodica Technologica* 31:39-52
- Leskošek-Čukalović, I. (2002): *Tehnologija piva I deo*, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Loconto, P.R. (2001): *Trace Environmental Quantitative Analysis*. Marcel Dekker, New York.
- Mermet, J.M., Otto, M., Widner, H.M. (1998): *Analytical Chemistry*. Wiley, New York.
- Nadkarni, R.A., Pond, D.M. (1983): Applications of ion chromatography for determination of selected elements in coal and oil shale. *Analytica Chimica Acta*, 146:261-266.
- Narziss, L., Weinfurter, F., Schuster, K. (1988): *Tehnologija proizvodnje sladovine* (prevod: S.Gačeša, O.Grujić). Poslovna zajednica industrije piva i slada Jugoslavije, Beograd.
- Proestos, C., Kolaitis, M. (2006): Antioxidant capacity of hops. In: Preedy V.R. (Eds), *Beer in health and disease prevention*, Academic press, London UK.
- Prijčić, S. (2013): *Primena klasičnih i instrumentalnih metoda analize za kontrolu kvaliteta piva i sirovina u proizvodnji* (diplomski rad). Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Rajaković, Lj.V., Perić-Grujić, A.A., Vasiljević, T.M., Čičkarić, D.Z. (2000): *Analitička hemija*. Kvantitativna hemijska analiza - praktikum sa teorijskim osnovama. Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd.
- Rajković, M.B. (2007): *Uvod u Analitičku hemiju – klasične osnove*. Pergament, Beograd.
- Rajković, M.B. (2003): Neke neorganske supstance koje se mogu naći u vodi za piće i posledice po zdravlje ljudi. *Hemijska industrija* (Beograd), 57(1):24-34.

- Rajković, M.B., Sredović, I.D. (2009): Praktikum iz analitičke hemije. Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Rajković, M.B., Antić, M., Milojković, S., Marjanović, T. (2014): Ispitivanje sadržaja nitrita, nitrata i amonijaka u vodi za piće. XIX savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, 07.-08. mart 2014. god., Sekcija za tehnologiju, Zbornik radova, 19(21):511-515.
- Rouessac, F., Rouessac, A. (2007): Chemical Analysis, Modern Instrumentation, Methods and Techniques. 2<sup>nd</sup> ed., Wiley, West Sussex.
- Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu (1990): Voda za piće, Standardne metode za ispitivanje higijenske ispravnosti. Privredni pregled, Beograd.
- Savić, J., Savić, M. (1990): Osnovi analitičke hemije. Svjetlost, Sarajevo.
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J. (1991): Fundamentals of Analytical Chemistry. Saunders College, Publishing.
- Službeni list SRJ (1998): Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće. broj 42/1998.
- Službeni list SRJ (1999): Pravilnik o izmenama i dopunama Pravilnika o higijenskoj ispravnosti vode za piće. br.44/1999.
- Službeni list SCG (2004): Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za pivo. broj 36/2004; Službeni list SFRJ (1991): Pravilnik o kvalitetu piva. broj 94/1991.
- Viehwaeger, K.H. (Ed.) (2007): Practical Ion Chromatography. 2<sup>nd</sup> ed., Metrohm Ltd., Heriau, Switzerland.
- Weiss, J. (2004): Ion Chromatography. Weinheim-New York-Basel-Cambridge-Tokyo: VCH.

Primljeno: 11. juna 2015.

Odobreno: 10. jula 2015.

## AN APPLICATION OF CLASSICAL AND INSTRUMENTAL METHODS OF ANALYSIS IN QUALITY CONTROL OF BEER

Miloš B. Rajković<sup>1\*</sup>, Ivana D. Sredović Ignjatović<sup>1</sup>, Ljubiša M. Ignjatović<sup>2</sup>,  
Viktor A. Nedović<sup>1</sup> and Slobodan M. Prijčić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture,  
Nemanjina 6, 11080 Belgrade - Zemun, Serbia

<sup>2</sup>University of Belgrade, Faculty of Physical Chemistry,  
Studentski trg 12-16, 11000 Belgrade, Serbia

## A b s t r a c t

In order to control the quality of beer and raw materials for production of beer in Belgrade Beer Industry (BIP), water is analyzed (city, technological and demineralized water). Measurements of pH values indicated the increased pH values in the sample of technological water, which had no impact on wort hopping, since the tested samples of wort, young beer and final product had a pH value within the expected range. After processing city water, a sample of technological water was found with increased carbonate hardness, which is caused by the increased content of sodium hydrogen carbonate. Analysing the titration alkalinity, titration acidity and buffering power, it was found that the alkalinity was decreasing which is in accordance with the determination of pH values of wort and beer samples (young beer and final product). Analyzing the content of anions and cations in the examined water samples, it has been shown that the concentration of these examined anions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{PO}_4^{3-}$ ) and cations ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) are within the limits prescribed by the Regulations on hygienic safety of drinking water, and thus by the Regulations of quality and other requirements for beer. The contents of anions in wort and beer samples (young beer and final product) were determined by ion chromatography method. The contents of sulphate and nitrate ions were within the recommended limits. The concentration of chloride ions was above  $150 \text{ mg/dm}^3$ , which may have an impact on the sensory properties of beer, while changes in the content of phosphate ions were insignificant.

**Key words:** beer, ion chromatography, potentiometry, sensory properties of beer.

Received: June 11, 2015

Accepted: July 10, 2015

---

\*Corresponding author: e-mail: rajmi@agrif.bg.ac.rs