

Mikroorganizmi u pivarskim sirovinama tijekom slađenja

Sažetak

Mikroorganizmi su neizbježno prisutni u ječmu, sladu, sladovini, a ponekad i u gotovom pivu. Uzročnici su brojnih problema u pivarskoj industriji. Mikrobna kolonizacija ječma javlja se već u polju tijekom vegetacijskog perioda ječma. Mikroflora na ječmu i od njega dobivenog slada utječe na brojne aspekte kvalitete samog proizvodnog procesa u sladarama i pivovarama i na kvalitetu gotovog piva. Osim toga, prisutnost mikrobne kontaminacije na ječmu rezultira stvaranjem antimikrobnih spojeva, čija prisutnost ukazuje na stres tijekom vegetacijskog perioda uzgoja ječma uzrokovanog mikrobnom kontaminacijom. Ako prežive proces kuhanja sladovine ovi spojevi mogu imati negativne ili pozitivne učinke na daljnji proces proizvodnje i na gotovo pivo. Nadalje mikroorganizmi prisutni na ječmu mogu i sami proizvoditi antimikrobne spojeve protiv drugih mikroorganizama koji također mogu utjecati i na kvasac i na sam proces proizvodnje slad i piva. U ovom radu dan je osnovni pregled utjecaja mikroflora ječma na proces slada i kvalitete slada, proizvodnju sladovine i njezinu kvalitetu, proces vrenja i utjecaja na aktivnost pivarskog kvasca te na konačni proizvod, pivo.

Ključne riječi: ječam, slad, pivo, mikroflora, mikotoksini

Uvod

Mikroflora ječma je pretežno mezofilna i psihotrofna, a sastoji se od virusa, bakterija, filamentoznih plijesni, kvasaca, gljivica i protozoa. Bakterije, divlji kvasci i filamentozne plijesni čine većinu mikroflora ječma u polju, a dostižu iz okoline (tlo, zrak). Bakterije su daleko najzastupljenije, dok divlji kvasci čine oko 1%, a filamentozne plijesni oko 0,1% od ukupne mikroflora ječma (Flannigan, 1999). Mikroflora ječma uglavnom zaposjeda pljevicu, prostor neposredno ispod nje i vanjske slojeve zrna. Psihotrofne bakterije, aktinomicete i anerobne sporogene bakterije su gotovo uvijek prisutne na zrnu. Filamentozne plijesni (fungi) koji nastanjuju zrno ječma dijele se u dvije grupe: plijesni sa polja koje se razvijaju do žetve i vodenoj aktivnosti supstrata $aw=0.90$, što odgovara vlažnosti od 20 to 25%, dok su skladišne plijesni često kserofili i rastu kod $aw=0.80$ (vlažnost od 18%) ili čak pri $aw=0.68$ (vlažnost od 14%). Zaposjedanje zrna ječma od strane mikroorganizama ograničeno je vanjski sloj (pljevicu i prostor između pljevice i perikarpa) ali se zavisno od okolišnih uvjeta često događa dublje prodiranje. Zrno prvo biva kolonizirano bakterijama iz zraka, a po zasijavanju i kvascima i plijesnima. Neke faze u vegetacijskom periodu su osobito povoljne za kolonizaciju od strane mikroba, pogotovo ako su prisutni za to povoljni vremenski uvjeti (prije svega visoka vlažnost). Faza cvatanja i mliječne zriobe su najpovoljnije za razvoj mikroflora jer izlažu ovojnicu zrna u formiranju kontaminaciji, omogućujući kolonizaciju vanjskih površina od koje se kasnije formira pljevica. Sazrijevanjem zrna formira se čvrsta barijera daljnjoj kontaminaciji (osobito iz zraka). Izuzetno su važni i klimatski uvjeti pred kraj vegetacijskog perioda jer kombinacija visoke vlažnosti i visoke temperature pored negativnog učinka na pokazatelje tehnološke kakvoće dovodi i do pada mikrobiološko-toksikološke ispravnosti budući da poslije svake obilnije kiše u toj fazi dolazi do isključivanja prisutnih spora i posljedično do prodora u unutarnja tkiva zrna.

¹ prof. dr. sc. Vinko Krstanović, izv. prof. dr. sc. Kristina Habschied, Tanja Mađerević-Pavetić, mag. ing., univ. spec. techn. aliment., Snježana Keleković, dipl.ing., Ana Domaćinović, dipl.ing., izv. prof. dr. sc. Krešimir Mastanjević, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, F. Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska
Autor za korespondenciju: kmastanj@ptfos.hr

Vrsta i opseg kolonizacije zrna varira u zavisnosti od klimatskog područja, agrotehničkih mjera pri uzgoju, genetičke otpornosti pojedine sorte, pri čemu je utjecaj klimatskih uvjeta tijekom vegetacijskog perioda od najveće važnosti (Etchevers i sur., 1977). Brojnost i vrste mikroflora zrna značajno utječu na tehnološku kakvoću ječma odnosno slada jer mogu narušiti vrijednosti brojnih pokazatelja kakvoće (prinos ekstrakta, sposobnost zrna za uspješnu razgradnju tijekom slađenja, aktivnost α -amilaze, ukupnu dijestatsku snagu, boju slada i sladovine, neujadnačeno i loše vrenje, sklonost piva ka pretjeranom pjenjenju, okus i dr.) (Noots i sur., 1999). Plijesni su gotovo uvijek prisutne na zrnu i najznačajniji su narušitelj kakvoće ječma (Briggs, 1978). Rodovi koji se najčešće pronalaze na ječmu su: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium* (Slika 1. prikazuje spore plijesni *Fusarium graminearum*), *Aspergillus* i *Penicillium*. Povećana količina padalina tijekom vegetacijskog perioda, osobito pred njegov kraj gotovo uvijek dramatično povisuje mikrobno opterećenje zrna i značajno snižava njegovu kakvoću. Sastav mikrobne populacije zrna izrazito zavisi od klimatskih uvjeta osobito od tzv. klimatskog stresa (kod nas poznatog kao prisilno sazrijevanje tj. kombinacija visoke vlažnosti i visokih temperatura pred kraj vegetacijskog perioda) (Ackerman, 1998). Većina plijesni sintetizira i luči hidrolitičke enzime u vanjske slojeve zrna (endo-ksilanaze, β -glukanaze, proteinaze i dr. koji im omogućuju razgradnju sastojaka endosperma u niskomolekulske spojeve (najčešće šećere) koje mogu asimilirati i time održavati metabolizam (Kanauchi i Bamforth, 2002). Pretežita vrsta bakterija na ječmu je *Erwinia herbicola* (*Pantoea agglomerans*) i *Xanthomonas campestris* (Flannigan, 1999). Osim njih, često se nalaze i druge bakterijske vrste koji se pojavljuju na suhom uskladištenom ječmu: *Alcaligenes* sp., *Arthrobacter globiformis*, *Clavibacter iranicum*, *Lactobacillus* spp. i *Pseudomonas fluorescens* (Petters i sur., 1988). Mnoge bakterije mliječne kiseline smatraju se "beer spoilage" ili štetnim organizmima u procesu slađenja i vrenja. Međutim, utvrđeno je da je razina mliječne kiseline ječma na suhom uskladištenom ječmu relativno niska, a prevladavaju Gram-negativne koliformne bakterije. Aktinomicete podrijetlom iz tla su zastupljene uglavnom kao *Streptomyces* spp. (*Streptomyces griseus* i *Streptomyces albus*) (Hil i Lacey, 1983). Najčešći kvasci kontaminanti su *Candida catenulata*, *C. vini*, *Debaryomyces hansenii*, *Hansenula polymorpha*, *Kloeckera apiculata*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus* i *Trichosporon beigelii* (Petters i sur., 1988). Osim antimikrobnih spojeva koje proizvodi neke od bakterija, mnogi od ovih mikroorganizama također izlučuju enzime, toksine, hormone i organske kiseline koji mogu utjecati na tehnološku kakvoću zrna slada i gotovog piva (Noots i sur., 1999).



Slika 1. Spore vrste *Fusarium graminearum* (izolirano iz inficiranog ječma, vlastita arhiva)

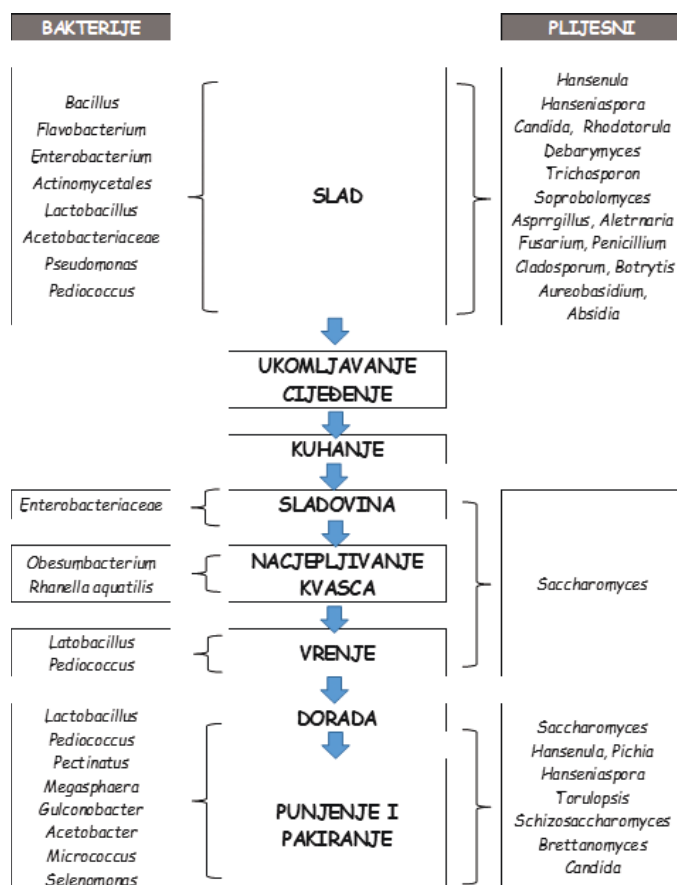
Figure 1. *Fusarium graminearum* spores (isolated from infected barley, author's archive)

Utjecaj na proces slađenja i kvalitetu slada

Razvoj mikroorganizama događa se tijekom vegetacijskog perioda u polju i perioda skladištenja ječma, kao i tijekom skladištenja gotovog slada. Procesni uvjeti prilikom slađenja značajno utječu na intenzitet razvoja ukupne mikrobne populacije, te posebno za svaku pojedinu prisutnu populaciju. (temperatura, vlaga i protok zraka). Prve dvije faze procesa (namakanje i klijanje) su vrlo pogodne za uglavnom cjelokupnu prisutnu mikrofloru, dok je faza sušenja i osobito dosušivanja pri visokim temperaturama izrazito nepovoljna (o ovoj fazi mnogi mikroorganizmi sporuliraju i/ili sintetiziraju toksine). Populacija nekih mikroorganizama, uključivo mnoge plijesni (poglavito *Fusariume*) značajno se povećavaju tijekom močenja i klijanja. Tijekom sušenja njihov broj dramatično opada uz nestanak pojedinih vrsta. Ukupno mikrobno opterećenje slada usporidivo je s onim u ječmu ali je sastav različit (Petters i sur., 1988). Unatoč činjenici da se mnoge bakterije ispiru tijekom močenja ječma, ukupno bakterijsko opterećenje poraste 1:600 tijekom slađenja. Zbog toga se navodi da prihvatljivo bakterijsko opterećenje slada treba biti što manje, maksimalno do 20 puta veće, najbolje je ako je oko polovice od početnog opterećenja ječma. Opterećenja slada plijesnima kvantitativno nije tako jednostavno izraziti kao kod bakterija, ali se može očekivati sličan omjer ječam : slad. Kod bakterijske populacije najveći je porast *Pseudomonas* vrsta, uz značajan porast i broja mliječnih bakterija. Ovaj porast je daleko najveći tijekom faze močenja i polako opada pred kraj faze klijanja, a tijekom sušenja se ukupno bakterijsko opterećenje zrna reducira za 98% od početne vrijednosti. Neke bakterije (naručito laktobacili i pediookoki (koji spadaju u tzv. "beer spoilage organisms") preživljavaju proces sušenja i pojavljuju se u mikroflori sladovina/komina tijekom ukomljavaanja. Međutim iako su prisutne u ranim fazama, broj bakterija postupno opada prema kraju procesa ukomljavaanja. Istraživanja su potvrdila da iako da su određene plijesni otpornije na povišenje temperature tijekom sušenja (npr. vrste *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Penicillium*) i nastavljaju rasti na gotovom sladu, dok ostale, iako se čak i brže razmnožavaju tijekom rane faze sušenja (npr. vrste *Rhizopus* i *Mucor*) teže podnose režim sušenja, te se njihov broj dramatično reducira. Vlažnost gotovog slada je ključni parametar koji određuje njegovo mikrobno opterećenje. Vlažnost iznad 4-6% (w/w) dopušta neznatnu promjenu mikrobnog opterećenja, čak tijekom godinu dana uskladištenja. Vlažnost od 14% (w/w) dovodi do progresivnog rasta populacije plijesni poput *Aspergillus*, a vlaga iznad 20% (w/w) osigurava uvjete za predominantan razvoj plijesni poput *Penicillium* vrsta. Optimalna temperatura za rast plijesni je 25-35 °C. Udjel CO₂ od 10% (v/v) i više, značajno smanjuje fungalno opterećenje zrna. Ječam sa visokim mikrobnim opterećenjem obično ima produženu postžetvenu pospanost ili dormantnost, manju klijavost, i veće gubitke pri slađenju. Endosperm u sladu ima tendenciju prema pretjeranoj razgradnji uslijed djelovanja mikrobni hidrolaza (osobito fungalnih), pri čemu je najčešće povišena aktivnost α -amilaza i proteaza (Pekkarinen, 2003). Mikrobna kontaminacija zrna često za posljedicu ima neugodan miris i netipičnu boju slada (npr. relevantna crvena zrna koja su posljedica kontaminacije zrna *Fusarium* vrstama), te često imaju visoku koncentraciju mikotoksina. Ovo je ustanovljeno u pokusima u kojima je *Fusariumom* umjetno inficirano prethodno dezinficirano zrno. Ustanovljene su slične promjene tijekom slađenja koje se primjećuju prilikom zagađenja zrna na polju (Van Nierop i sur., 2004). Početni broj i vrsta mikrobne populacije zrna je određujuća za njezin utjecaj na kakvoću gotovog slada, odnosno za veličinu pogoršanja iste. Smatra se da su neke su vrste predodređene za narušavanje zdravstvene i tehnološke kakvoće slada. Međutim, i postupak slađenja ima značajan utjecaj. Samo tehnološko postrojenje sladare utječe na sposobnost proliferacije mikrobne populacije i veličinu narušavanja kakvoće gotovog slada (osobito učinkovitost kontrole koncentracije CO₂). Ovo je ustanovljeno kada su provedeni pokusi sa slađenjem šarže ječma istog mikrobnog opterećenje, pri čemu je slad dobiven u jednoj sladari bio lošije kvalitete nego u drugoj. Dakle jedno postrojenje je stvaralo puno bolje uvjete za porast mikrobne populacije od drugog. Smatra se da koncentracija ugljičnog dioksida veća od 10% (v/v) značajno reducira rast plijesni (Van Nierop, 2004). Slika 2. prikazuje najčešće kontaminante koji se mogu naći tijekom procesa proizvodnje slada i piva.

Utjecaj na proces ukomljavanja i kvalitetu sladovine

Kvaliteta slada izravno utječe na proces proizvodnje i na sastav i kvalitetu sladovine. Loša kvaliteta slada smanjuje učinkovitost varenja (kuhaone), otežano cijedenje i izdvajanje hladnog taloga iz sladovine, posljedično probleme sa filtrabilnošću piva, bistroćom, bojom itd. Iako ovi problemi mogu biti uzrokovani i drugim čimbenicima, metabolizmi prisutne mikroflore (osobito u uvjetima visokog mikrobnog opterećenja) mogu značajno promijeniti kemijski profil gotovog slada, a time i sladovine. Visoka boja sladovine i udjel topljivih proteina često su povezani sa djelovanjem mikroorganizama, uključivo nekontroliran porast koncentracije dušičnih spojeva iz slada u sladovinu (Bol i sur., 1985). Smanjenje koncentracije β -glukana, povišen ekstrakt (koncentracija šećera), ukupni topljivi dušik i α -amino dušik (FAN) mogu biti uzrokovani predukom razgradnjom endosperma uslijed previsoke mikrobne aktivnosti (mikrobni enzimi) tijekom slađenja, što se ispoljava tijekom ukomljavanja tj. proizvodnje. Smanjenje β -glukana rezultira nižom viskoznošću sladovine, što je u negativnoj korelaciji s kvalitetom pjene piva (Evans i sur., 1999).



Slika 2. Pregled najzastupljenijih mikroorganizama u pojedinim fazama tehnološkog procesa proizvodnje slada i piva

Figure 2. Overview of the most common microorganisms in each stage of malt and beer production

Utjecaj na vrenje

Greške u vrenju sladovine uzrokovane lošom njegovom lošom kvalitetom povezanom s prisutnom mikroflorom (tzv. "anomalous fermentations") uključuju: 1) sporiju brzinu fermentaciju uslijed sporijeg rasta kvasca i/ili otežanog djelovanja u sladovini (sporo previranje) 2) preuranjena flokulacija kvasca (taloženje ili podizanje nakupina kvasca, zavisno o tipu vrenja) pri čemu se kvasac izdvaja iz sladovine prije završetka fermentacije. Preuranjena flokulacija (PYF) je čest problem pivarske industrije i dosta istraživana tema, a nastaje kada kvasac tijekom fermentacije prijevremeno flokulira u prisutnosti visokih koncentracija šećera. Do ovog fenomena dolazi kada međusobno djeluju α -mananski ostaci manoproteina s lektin-proteinima sa površine stijenke kvasca (često glikoproteinima) između susjednih stanica, tvoreći velike agregate, nakupine ili flokove. Ostaci manana su uvijek prisutni na površini stanica kvasca (Stratford i Carter, 1993), dok se lektin-proteini koji specifično vežu šećere sintetiziraju usljed metabolizma tijekom vrenja i nalaze se na površini kvasca (Stratford i Carter, 1993). Kad su šećeri prisutni, do flokulacije ne dolazi, vjerojatno zato što šećeri vežu na proteine poput lektinoprotina i sprečavaju početak aglomeracije stanica. Kad se šećeri potroše tijekom fermentacije, odnosno njihova koncentracija padne ispod kritične dolazi do flokulacije. PYF rezultira niskom prevrelošću sladovine (nisko iskorištenje ekstrakta), visokim udjelom zaostalog ekstrakta i smanjenim prirastom kvašćeve biomase po završetku vrenja, što sve utječe na kvalitetu piva (Inagaki i sur., 1994). Prema nekim autorima PYF može biti uzrokovan nedostatkom hranjivih tvari jer se ne mogu transportirati u stanicu zbog prisutnosti inhibitora (PYF faktori). Ovi spojevi ometaju unos šećera u stanicu preko membrane (Grenier i sur., 1993), čime se mehanizam flokulacije prerano aktivira. Otkriveno je da ovi faktori potječu iz ječma, točnije iz pljevice koja pretežito sadržava arabinoksilane (hemiceluloza ili pentosani) i celulozu (90% težine) (Hrmova i sur., 1997). Smatra se da su visokomolekulski polisaharidi bogati arabinozom i ksilozom, kisele prirode i sadrže određeni udjel tvari sa dušikom, što se pokazalo bitnim za aktiviranje prerane flokulacije. Neki smatraju da ovi peptidi koje proizvodi ječam kao odgovor na mikrobnu kolonizaciju ima antimikrobna svojstva. Van Nierop i sur. (2004) smatraju da su PYF faktori složeni neproteini koji sadrži polisaharid potječu iz kontaminacije ječma plijesnima i sintetiziraju se tijekom slađenja. Oni su u pokusu u kojem je prije močenja razgrađena pljevice slada sa ekstracelularnim fungalnim enzimima za razgradnju arabinoksilana došlo do sinteze PYF faktora. Daljnjom enzimskom razgradnjom arabinoksilana rezultiralo je raspadom PYF faktora. Pretpostavlja se da arabinoksilanski fragmenti imaju PYF aktivnost samo ako su dovoljno veliki da omogućuju umrežavanje stanica kvasca i nastanak agregata. Temeljem od toga, čini se vjerojatnim da ne postoji niti jedan PYF faktor, već određeni raspon veličina i molekulskih masa koje imaju sličan, ne nužno identičan sastav.

Utjecaj na kvalitetu piva

Mikrobiološki kontaminiran ječam i posljedično slad utječu na mnogobrojne aspekte kvalitete piva gotovo isključivo negativno. Kvaliteta piva se definira njegovim fizikalno-kemijskim i senzorskim karakteristikama. Fizikalne karakteristike su boja, bistroće, izgled, čvrstoće i trajnosti pjene, dok je okus piva senzorska karakteristika. Prihvatljive vrijednosti ovih pokazatelja kakvoće su različite za različite tipove piva ali moraju biti očuvane tijekom deklariranog minimalnog roka trajnosti piva. Pri tome pivo ne smije sadržavati zdravstveno štetne sastojke poput mikotoksina poput npr. deoksinivalenola porijeklom iz plijesni prisutnih na ječmu i sladu (Flannigan i sur., 1985). Ovi toksini su sekundarni metaboliti koji nastaju u, za mikroorganizam producens stresnim okolnostima (npr. faza sušenja tijekom procesa slađenja) ili nedostatka nužnih nutrijenata za metabolizam. Brojni mikotoksini mogu preživjeti proces slađenja i vrenja, te završiti u gotovom pivu uzrokujući npr. nepovoljnu boju piva ili sklonost ka pretjeranom

ljenjenju (tzv. "gushing") (Wolf-Hall i Schwarz, 2002). Njihova koncentracija u ječmu, sladu ili pivu nije u korelaciji sa brojem prisutnih mikroorganizama njihovih proizvođača već konkretni okolišni uvjeti imaju značajan utjecaj na njihovu sintezu.

Mikotoksini su općenito heterociklički spojevi (nisu ni proteinske i ugljikohidratna prirode) (Scott, 1984). Pojedini slučajevi narušavanje okusa piva povezuju se sa korištenjem mikrobnog kontaminiranih ječma odnosno slada. Dovoljno visoko mikrobno opterećenje također može uzrokovati zamucenje gotovog piva ("beer haze"). Sklonost piva ka prekomjernom pjenjenju predominantno iako ne isključivo, je vezano uz kontaminaciju ječma plijesnima *Fusarium* do kojeg dolazi uslijed nekontroliranog i prekomjernog oslobađanja CO₂ pri otvaranju boce. Smatra se da za nastanak ovog procesa treba čvrsta hidrofobna čestica poput fungalnih polipeptida koji adsorbiraju čestice plina zadržavajući ih u tekućoj fazi (Gardner, 1973). Ovi peptidi su uzročnici fenomena prekomjernog pjenjenja piva (Amaha i sur., 1973). Hippeli i Elstner (2002) smatraju da je spojevi koje su izolirali Kitabatake i Amaha (1974) u stvari ti fungalni hidrofobini (16.5 kDa hidrofobinski peptidi sa osam disulfidnih veza). Ovi spojevi koje proizvode navedene plijesni imaju veliku površinsku napetost (Wessels i sur., 1991). Da bi do prekomjernog pjenjenja došlo potrebna interakcija ovih plijesni sa ječmom kao supstratom. Axcell i sur. (2003) smatraju da gushing može biti induciran antimikrobnim peptidima sintetiziranim u ječmu kao odgovor na mikrobnu kontaminaciju. Nadalje, Hippeli i Elstner (2002) smatraju da su spoj uzročnik gushinga koji je izolirao Kitabatake (1978) i spoj kojeg je izolirao Weidender (1992) isti i da spadaju u grupu nespecifičnih lipoproteina stanične stjenke (ns-LTP). Ječam također sadrži takve proteine, ponajviše LTP1 u aleuronskom sloju endosperma.

Zaključak

U ovom radu dan je pregled istraživanja koja se bave tom tematikom s naglaskom na mikroorganizme koji kontaminiraju sirovine za proizvodnju slada i piva, te kontaminiraju cijeli proces proizvodnje slada i piva. Od svih kontaminanta plijesan *Fusarium graminearum* je najčešća vrsta koja pravi ozbiljne probleme u industriji slada i piva.

Literatura

- Ackermann, A. (1998) Mycoflora of South African Barley and Malt. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 56(4), 169-176. doi.org/ 10.1094/ASBCJ-56-0169
- Amaha, M., Kitabatake, K., Nakagawa, A., Yoshida, J., and Harada, T. (1973) Gushing inducers produced by some mould strains. *Proceedings of the Congress of the European Brewery Convention*, 14, 381-398.
- Axcell, B. C. (2003) Impact of wort composition on flocculation.. U: K. A. Smart, ur. *Brewing Yeast Fermentation Performance 2nd edn.*, Oxford: Blackwell Science. doi.org/10.1002/9780470696040.ch11
- Bol, J., Klopper, W. J., Vermeire, H. A., Motshagen, M. E. (1985) Relation between the microflora of barley and malt quality. *proceedings of the Congress of the European Brewery Convention*, 20, 643-650.
- Briggs, D. E., Hough, J. S., Stevens, R., Young, T. W. (1981) Barley and the biochemistry of malting grain. U: D. E. Briggs, J. S. Hough, ur. *Malting and Brewing Science, Malt and Sweet Wort.*, London: Chapman and Hall.
- Evans, D. E., Nischwitz, R., Stewart, D. C., Cole, N., MacLeod, L. C. (1999) The influence of malt foam-positive proteins and non-starch polysaccharides on beer foam quality. *EBC Monograph. 27-EBCSymposium"BeerFoamQuality"*, 27,114-128.
- Flannigan, B. (1999) The microflora of barley and malt. U: F.G. Priest, I. Campbell, ur. *Brewing Microbiology*. Boston Springer. doi.org/10.1007/978-1-4684-0038-0_4
- Gardner, R. J. The mechanism of gushing-A review. *J. Inst. Brew.* 79:275-283, 1973.
- Gardner, R.J. (1973) The mechanism of gushing—a review. *Journal of the Institute of Brewing*, 79, 275-283. doi.org/10.1002/j.2050-0416.1973.tb03540.x
- Grenier, J., Potvin, C., Asselin, A. (1993) Barley pathogenesis-related proteins with fungal cell wall lytic activity inhibit the growth of yeasts. *Plant Physiology*, 103(4), 1277-1283.
- Hill, R. A., Lacey, J. (1983) The microflora of ripening barley grain and the effects of pre-harvest fungicide application. *Annals of Applied Biology*, 102, 455-465.
- HILL, R.A. and LACEY, J. (1983), The microflora of ripening barley grain and the effects of pre harvest fungicide application. *Annals of Applied Biology*, 102: 455-465. doi.org/10.1111/j.1744-7348.1983.tb02717.x
- Hippeli, S., Elstner, E. F. (2002) Are hydrophobins and/or non-specific lipid transfer proteins responsible for gushing

- of beer? New hypothesis on the chemical nature of gushing inducing factors. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57,1-8. doi.org/10.1515/znc-2002-1-201
- Hrmova, M., Banik, M., Harvey, A. J., Garrett, T. P. J., Varghese, J. N., Hoj, P. B., Fincher, G. B. (1997) Polysaccharide hydrolases in germinated barley and their role in the depolymerisation of plant and fungal cell walls. *International Journal of Biological Macromolecules*, 21, 67-7. doi.org/10.1016/s0141-8130(97)00043-3.
- Inagaki, H., Yamazumi, K., Uehara, H., and Mochzuki, K. Determination of fermentation behaviour-malt evaluation based on the original small scale fermentation test. In: Symposium on Malting Technology. Monogr. XXIII Eur. Brew. Conv. Symp. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany. Pp. 110-136, 1994.
- Inagaki, H., Yamazumi, K., Uehara, H., Mochzuki K. (1994) Determination of fermentation behaviour-malt evaluation system based on the original small scale fermentation test. U: *European brewery convention monograph 23, Malting Technology*, , Nürnberg: Fachverlag Hans Carl.
- Kanauchi, M., Bamforth, C. W. (2002) Growth of *Trichoderma viride* on crude cell wall preparations from barley. *Journal of Agricultural and Food Chemist*, 49(2), 883-887 doi.org/ 10.1021/jf001001d.
- Kitabatake, K. (1978) A wort component responsible for gushing in beer. *Bulletin of Brewing Science(Tokyo)*, 24, 21-32.
- Kitabatake, K., Amaha, M. (1974) Production of gushing factor by *Nigrospora* sp. in liquid culture media. *Bulletin of Brewing Science(Tokyo)*, 20, 1-8.
- Noots, I., Delcour, J. A., Michiels, C. W. (1999) From field barley to malt: Detection and specification of microbial activity for quality aspects. *Critical Reviews in Microbiology*, 25(2), 121-53. doi.org/10.1080/10408419991299257.
- Pekkarinen, A. (2003) The serine proteinases of *Fusarium* grown on cereal proteins and in barley grain and their inhibition by barley proteins. Disertacija. Helsinki: University of Helsinki.
- Petters, H., Flannigan, B. and Austin, B. (1988) Quantitative and qualitative studies of the microflora of barley malt production. *Journal of Applied Bacteriology*, 65, 279-297. doi.org/10.1111/j.1365-2672.1988.tb01895.x
- Scott, P. M. (1984) Effects of food processing on mycotoxins. *Journal of Food Protection*, 47, 489-499. doi.org/10.4315/0362-028X-47.6.489
- Stratford, M., Carter, A. T. (1993) Yeast flocculation: Lectin synthesis and activation. *Yeast*, 9, 371-378. doi.org/10.1002/yea.320090407
- Van Nierop, S. N. E., Cameron-Clarke, A., Axcell, B. C. (2004) Enzymatic generation of factors from malt responsible for premature yeast flocculation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 62, 108-116. doi.org/10.1094/ASBCJ-62-0108
- Weidender, A. (1992) *Untersuchungen zum malzverursachten Wildwerden (Gushing) des bieres*. Disertacija München: Technischen Universität München.
- Wessels, J. G. H., de Vries, O. M. H., Asgeisdottir, S. A., Schuren, F. H. I. (1991) Hydrophobin genes involved in formation of aerial hyphae and fruit bodies in *Schizophyllum*. *The Plant Cell*, 3, 793-799. doi.org/10.1105/tpc.3.8.793

Prispjelo/Received: 16.11.2022.

Prihvaćeno/Accepted: 23.11.2022.

Professional paper

The impact of microorganisms on barley and malt quality

Abstract

Microorganisms are inevitably present in barley, malt, wort, and sometimes in finished beer. They are the cause of numerous problems in the brewing industry. Microbial colonization of barley occurs already in the field during the vegetation transition of barley. The microflora on barley and the malt obtained from it affects numerous aspects of the quality of the production process in malthouses and breweries and on the quality of the finished beer. In addition, the presence of microbial contamination on barley results in the formation of antimicrobial compounds, the presence of which indicates stress during the vegetative period of barley cultivation caused by microbial contamination. If they survive the wort brewing process, these compounds can have negative or positive effects on the further production process and on the finished beer. Furthermore, the microorganisms present on barley can themselves produce antimicrobial compounds against other microorganisms that can also affect the yeast and the malt and beer production process itself. This paper provides a basic overview of the influence of barley microflora on the malting process and malt quality, wort production and its quality, the fermentation process and its influence on the activity of brewer's yeast and on the final product, beer.

Keywords: barley, malt, beer, microflora, mycotoxins