



## K studiu hrubé hodnoty polyfenolových látek v pivovarství

JAROSLAV HUMMEL, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.41 : 543  
547.56

*Článek upozorňuje na propracovanou rychlometodu stanovení hrubé hodnoty polyfenolů, reagujících s ferritontem při pH blízkém 9,2. Jsou popsány získané poznatky o kvantitativních změnách polyfenolů v pivě při provozní aplikaci Tansulu a laboratorním zkoušení Polyclaru AT.*

Je známo, že kondenzované polyfenoly jsou složkou chladového zákalu a jsou také přítomny v nebiologických sedimentech pasterovaných piv [1, 2]; v nich se uvádí přítomnost anthokyanů, katechinů a metylovaných polyhydroxykyselin přecházejících z ligninů [3, 4]. Naproti tomu třísloviny a polyfenoly přecházející ze sladu a chmele do piva tvoří antioxidační komplex, oxidují se snáze, než např. proteiny a hořké látky, a tím chrání pak pivo před oxidací [5].

Neutrální a slabě alkalické roztoky polyfenolů skýtají s trojmocným železem charakteristické zbarvení značně závislé na skupině polyfenolů a pH; u řady gallové modrofialové, u katechové modrozelené. Za základ barevné reakce se pokládá vznik komplexní sloučeniny ferritontu s fenolem, přitom reakce s trojmocným železem má platnost pro široké spektrum polyfenolů. Týká se řady ortho-, meta- i para- a některých jednodušších fenolů které nepokládáme za třísloviny. Zbarvení u ortho-řady je však nejintenzivnější; reakci skýtají i četné flavonoidy. Při sledování hrubé hodnoty polyfenolů byla této citlivé reakci věnována v práci další pozornost, s cílem používat jí jako rychlometody.

Třísloviny se v pivovarství nejčastěji hodnotí stanovením podle DeClercka [6], reakcí s chloridem železitým, po úpravě mladiny nebo piva roztokem uhličitanu sodného na pH 10. Některé mladiny při úpravě na pH 10 však tvoří klky a přesnost stanovení klesá. Proto Stone a Gray [7] doporučili pro udržení koloidů v peptizovaném prostředí pracovat s přísadou roztoku arabské gumy.

Jinou metodou, doporučovanou v poslední době, je stanovení komplexu polyfenolů na základě diferenčního oxidimetrického stanovení, v podstatě podle Neubauera-Löwenthala, s modifikací adsorbovat polyfenoly na polyamid [8]. Další metody se týkají zejména stanovení polyfenolů v literatuře uváděných s názvem anthokyanogeny; po adsorpci na polyamid a zahřívání s minerálními kyselinami skýtají červenofialové zbarvení [9].

### Rychlé objektivní stanovení hrubé hodnoty polyfenolů v mladině nebo v pivě podle Hummela

Použitá činidla:

a) krystalický citronan železito-amonný, zelený, čistý SPOLANA Neratovice; roztok 2,5 g na 100 ml se po rozpuštění zfiltruje;

b) zředěný amoniak 1 : 2 obj., připravený z prodejného 25% amoniaku.

### Úprava vzorku

Studená mladina se zfiltruje běžným skládaným filtrem s přísadou asi 0,05 g křemeliny Hyflo Super Cel na 100 ml; pivo zbaví se CO<sub>2</sub> po vytemperování na 20 °C a rovněž se zfiltruje běžným skládaným filtrem.

### Vlastní provedení

Do kolorimetrické zkumavky se odměří 5 ml mladiny nebo piva a zředí stejným objemem destilované vody. Pak se přidá 0,5 ml roztoku citronanu železito-amonného a promíchá se. V dalším se přidá 0,5 ml zředěného amoniaku, promíchá se a za 5 minut změřit intenzita zbarvení. V prostředí pufru citronan-amoniak je modrohnedé zbarvení význačně stabilní při pH 9,2 a vhodné pro kolorimetrii.

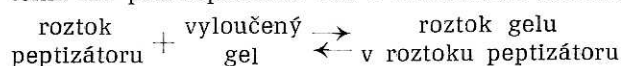
### Kalibrace

Kalibrační křivka se získá z roztoků taninu za užití stejných výsledných objemů s použitými reagenciemi jako při vlastním provedení. Vztah extinkce ke koncentracím taninu je prakticky v lineární závislosti. Výsledky se vyjadřují v mg taninu na litr mladiny nebo piva.

### Vliv Tansulu

Tento úsek se týká studia kvantitativní stránky hrubé hodnoty polyfenolů a nebiologické stability piva. Původní stabilizační prostředek fy Wahl-Henius, označovaný jako Tansul, obsahuje tanin a siřičitany [5, 10]. Dávkuje se 6 až 9 g na 1 hl hotové mladiny před chmelovarem. Předpoklady pro jeho aplikaci jsou zejména v tom, že polyfenoly lze převádět v rozptýlenější formu některými chemickými reakcemi, z nichž významné je zavádění skupin -SO<sub>3</sub>H do molekuly polyfenolů. Sulfitace za horka v prostředí polyfenolů a polyfenol-proteinů dovoluje rozpouštění polyfenolů větší měrou, takže po ochlazení zůstává více polyfenolů v roztoku. V oblasti pH 5 až 6 proces probíhá celkem hladce. Předpokládá se, že malá množství kyseliny siřičité kvalitu výrobku nepoškodí, protože je v sulfitovaných polyfenolech vázána ve dvou různých formách, jednak organicky, jednak anorganicky jako sulfid a bisulfid. Kromě toho přísada třísloviny vede k jemnější koloidní disperzi a současně i k účinnějšímu srážení proteinů [11] za přítomnosti solí.

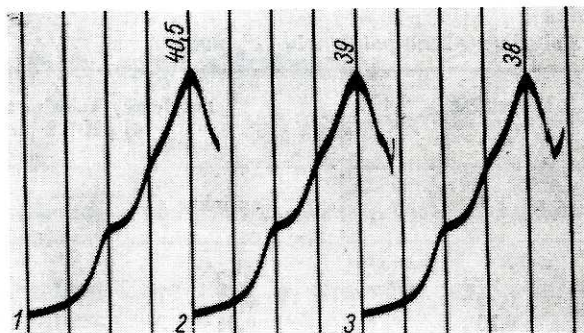
Na zvýšení obsahu polyfenolů a snížení obsahu proteinů má pravděpodobně vliv i rovnovážná reakce:



Byla provedena pokusná várka s aplikací Tansulu ve varně a várka srovnávací s aplikací taninu ve sklepě. Dávkování Tansulu a taninu bylo voleno tak, aby množství taninu v Tansulu bylo váhově ekvivalentní s taninem dávkovaným ve sklepě. Surovinová skladba, technologické podmínky hlavního kvašení, doba dokvašování a podmínky při stáčení byly prakticky stejné. Aby pokusné pivo vykázalo, proti předpokládanému zvýšení polyfenolů, redukováný obsah vysokomolekulárních proteinů, bylo po hlavním kvašení upraveno proteolytickým enzymem a v konečné fázi nízkou dávkou Stabiquicku při filtraci [12]. Výsledky těchto zkoušek potvrdily všechny předpoklady. V tabulce 1 jsou uvedeny rozbor piva A upraveného pouze taninem ve sklepě a piva B z úpravy Tansulem a za užití dalších korekcí jak výše uvedeno. Pivo B mělo při redukováném obsahu vysokomolekulárních proteinů, zvýšený obsah polyfenolů, zvýšenou redukční kapacitu a podstatně vyšší nebiologickou stabilitu než pivo A. Důležitým poznatkem tudíž bylo, že úpravou tříslo-bílkovinného komplexu byl získán výrobek s výhodnější redukční kapacitou i bez použití reduktoru endiolového typu.

#### Vliv Polyclaru AT

Adsorpčního prostředku Polyclar AT (výrobek firmy General Aniline and Film Corp., New York) se použilo při sledování kvantitativních změn hrubé hodnoty polyfenolů metodou podle DeClercka a podle Hummela. Po základní úpravě piva v dáv-



Obr. 1. Vliv Polyclaru AT na proteiny Brdičkovy reakce ve 12° pivě

Křivky: 1 — bez úpravy; 2 — 1,0 g Polyclaru/l; 3 — 10 g Polyclaru/l; polarografováno od 0,8 V, citlivost 1:70

kách uvedených v tabulce 2 se sledovaly polyfenoly ve filtrátech. Výsledky stanovení tříslovin podle DeClercka byly pochopitelně vyšší, protože DeClerck přepočítává výsledek za použití faktoru 2,4 na chmelovou tříslovinu, kdežto druhá metoda vyjadřuje polyfenoly v ekvivalentech taninu.

Z dalších měření vyplynulo, že použitím Polyclaru AT se nejen sníží obsah polyfenolů reagujících s  $Fe^{+++}$ , nýbrž současně i obsah anthokyanogenů. Pro praxi je zajímavé, že dávkou 15 g Polyclaru na hektolitr, se sníží hrubá hodnota polyfenolů jen asi o 8 mg na litr. Naproti tomu vykazují dvanáctistupňová piva různé provenience hrubou hodnotu polyfenolů v poměrně širokém rozsahu 40 až 90 mg na litr. Je známo, že na obsah polyfenolových látek v pivech má největší vliv volba a složení surovinové skladby i postup ve varně. Umělého zásahu adsorpčním prostředkem, upravujícím obsah

Tabulka 1  
Rozbory pív

Číslo a druh analýz		Druh piva		
		A	B	
1	Polyfenoly kolorimetricky při pH 9,2	mg/l	54,5	89,0
2	Třísloviny podle DeClercka	mg/l	134	208
3	Anthokyanogeny	extinkce	0,26	0,33
4	Redukční kapacita vzhledem k srovnávacímu pivu	%	100	266
5	Celkový dusík	mg/100 g	54,38	58,06
6	Lundinovy podíly dusíku: A	mg/100 g	9,8	6,1
7	B	mg/100 g	9,2	10,2
8	C	mg/100 g	35,3	41,5
9	Lundinovy podíly v % celkového dusíku: A	%	18,0	10,6
10	B	%	17,0	17,9
11	C	%	65,0	71,5
12	Bílkoviny podle Brdičky	mg cystinu/100 ml	7,5	6,0
13	Síranový test	ml/10 ml	3,5	2,8
14	Trvanlivost za střídavých teplot, zákal chladem vznikl v týdnech		7	12
15	Degustace při použití 75bodového systému		69,03	68,54
16	Zdánlivý extrakt	%	2,02	2,89
17	Skutečný extrakt	%	3,90	4,65
18	Alkohol	%	4,25	3,87
19	Koncentrace (pův. mlad.)	%	12,13	12,15
20	Zdánlivé prokvašení	%	83,3	76,2
21	Skutečné prokvašení	%	67,8	61,7
22	Barva	ml 0,1 N J/100 ml	0,50—0,55	0,60—0,65
23	Celková titrační acidita	ml N NaOH/100 ml	2,90	2,40
24	pH		4,38	4,68

Tabulka 2

Vliv Polyclaru AT na polyfenoly 12° piva

Polyclar AT	Polyfenoly kolorimetricky při pH 9,2		Třísloviny (DeClerck)	Anthokyanogeny (Harris, Ricketts)
	g/l	extinkce	mg/l	extinkce
—	0,52	68,0	169	0,31
0,10	0,47	63,0	155	0,29
0,15	0,45	59,5	149	0,27
0,25	0,37	51,8	126	0,25
0,50	0,35	45,8	114	0,21
1,0	0,29	38,7	98	0,18
5,0	0,15	20,4	51	0,07
10,0	0,08	11,0	29	0,05
20,0	0,03	4,8	14	0,03

tříslovin, může se použít jen při šetrném dávkování (u Polyclaru obvykle ne více než 15 g/hl), a to pro jeho vliv na chuťové vlastnosti výrobku. U piva s nízkým obsahem polyfenolů 40 až 50 mg/l se často konstatuje také „neutrální“ chuť, typická např. pro piva americká.

Vzhledem k tomu, že se v literatuře přisuzuje Polyclaru také adsorpční účinek na proteiny piva [2], bylo ověřováno, zda nastávají i zřetelné kvantitativní změny v Brdičkově bílkovinné reakci. Z obr. 1 je patrné, že obsah proteinů se snižuje jen ve zcela nepatrné míře.

Pokud jde o vztah hrubé hodnoty polyfenolů k nebiologické stabilitě piva, ukazuje případ s ap-

likací Tansulu, že zejména důležité je uchovávat stabilitu komplexu tanin-protein; i piva s vysokým obsahem polyfenolů mohou být význačně stabilní.

## Literatura

- [1] Harris, J., Ricketts, R. W.: „J. Inst. Brew.“, **65**, 1959: 252.
- [2] Wye, E., McFarlane, W. D.: Proc. EBC, Copenhagen 1957, 299.
- [3] Harris, G.: „J. Inst. Brew.“, **71**, 1965: 292.
- [4] Curtis, N. S.: „J. Inst. Brew.“, **66**, 1960: 226.
- [5] Loncin, M.: Proc. EBC, Scheveningen 1947, 159.
- [6] DeClerck, J. a spoluprac.: „Bull. Assoc. Anc. Etud. Louvain“, **43**, 1947: 68.
- [7] Stone, I., Gray, P. P.: „Wallerstein Lab. Comm.“, **11**, 1948: 301.
- [8] Moštek, J.: Analyt. metody z kvasné chemie, SNTL, Praha 1958.
- [9] Harris, G., Ricketts, R. W.: „J. Inst. Brew.“, **65**, 1959: 331.
- [10] Hartong, B. D.: „Brauwelt“, **100**, 1960: 389.
- [11] Lüers, H.: Die Proteine im Werdegang des Bieres, 1949.
- [12] Raible, K., Kloos, G.: „Monatschr. f. Br.“, **19**, 1966: 110.

Došlo do redakce 25. 8. 1968

#### СКОРОСТНЫЕ МЕТОДЫ ОРИЕНТИРОВОЧНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВЫХ ВЕЩЕСТВ В ПИВЕ

Автор описывает новый, проверенный скоростной метод ориентировочного определения, приблизительного содержания полифенолов, реагирующих на феррион при pH примерно 9,2. Приведены данные о количественных изменениях содержания полифенолов в пиве после его обработки в производственном масштабе препаратом Тансул, а также при обработке в лабораторном масштабе препаратом Поликлад АТ.

#### ZUM STUDIUM DES GESAMTWERTES DER POLYPHENOLSTOFFE IM BIER

Der Autor macht auf die ausgearbeitete Schnellmethode der Bestimmung der Polyphenole Gesamtwertes aufmerksam, die mit Ferrion bei pH nah 9,2 reagieren. Es werden die erzielten Erkenntnisse über die quantitativen Veränderungen der Polyphenole im Bier bei der betrieblichen Tansul-Applikation und bei Laboratoriumsversuchen mit Polyclar AT beschrieben.

#### APPROXIMATE DETERMINATION OF POLYPHENOL COMPOUNDS IN BEER

The author describes a new, accelerated method which has been developed for an approximate determination of polyphenols present in beer and reacting to ferrion at pH roughly 9,2. Effect of treatment with two preparations, viz TANSUL applied on a production scale and POLYCLAR AT applied in laboratory, upon the polyphenol content are discussed in detail.

