

Nová stabilizační metoda se zřetelem na zkrácení doby ležení piva

GABRIELA BASAŘOVÁ, Výzkumný ústav pивovarský a sladařský, Praha

663.461.2

V dříve publikovaném přehledu výsledků laboratorních a poloprovozních zkoušek zvyšování koloidní stability piva adsorpční úpravou mladiny [1] byl pozorován příznivý účinek této úpravy, která současně dávala předpoklad pro reprodukovatelnost v provozním měřítku. Vedle sledování koloidní stálosti piv při úpravě mladiny křemičitými gely před zakvašením, bylo nutné zároveň prokázat vliv technologické úpravy na základní komplex látek, které mají vliv na chuť a vůni piva. Pro možnost bližšího ověření významu stabilizační úpravy již při spílání mladiny byly aplikovány některé novější fyzikálně chemické metody.

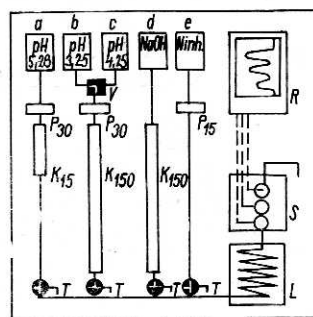
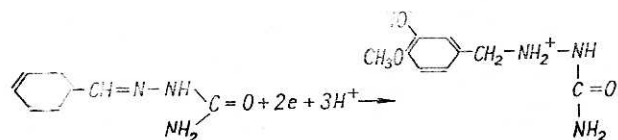
Přehled použitých analytických metod

Pro registraci kvalitativních změn aminokyselin se použilo dříve popsané papírové chromatografie za tepla [l.c.1]. Skvrny aminokyselin získané u provozních vzorků se porovnávaly s RF hodnotami standardů. Výsledky kvalitativní analýzy se současně porovnávaly s korespondujícími kvantitativními analýzami aminokyselin na ionexových sloupcích automatizované kolony prototypového výrobku ČSAV [2] — schéma přístroje je na obr. 1.

Automatické kvantitativní stanovení aminokyselin se provádělo elučním způsobem na sulfonovaném

katexu aminex. Z výsledků Lorenzových křivek bazických a neutrálních aminokyselin získaných na grafu automatického zapisovače se z velikosti plochy určil kvantitativní obsah aminokyselin. Aminokyseliny se kvalitativně hodnotily porovnáním polohy Lorenzových křivek s polohou křivek roztoku obsahujícího 17 standardních aminokyselin. Z polarografických metod se pro registraci stabilizačního účinku použilo polarografické stanovení polypeptidů [3].

Pro stanovení karbonylových látek byla v této práci vypracována aplikace polarografické metody pro použití v pivovarství podle metodiky pro stanovení karbonylů tuků [4]. Výsledky se přepočítaly na acetaldehyd vzhledem ke skutečnosti, že acetaldehyd tvoří základ karbonylových látek v pívu. Princip metody spočívá v redukci kondenzačního produktu, tzn. látky s C=O skupinou a látky obsahující aminoskupinu. Jsou to látky typu Schiffovy báze, oximů, hydrazonů nebo semikarbazonů. Zvláště semikarbazony [5, 6] odvozené od aldehydů mají vysokou stabilitu. Pro redukci semikarbazidu na kapkové elektrodě uvádí Woggon [l.c./6] toto schéma:



Obr. 1. Schéma analyzátoru aminokyselin

a až c — citrátové ústoje;
d — NaOH k regeneraci;
e — roztok ninhydrinu; v —
ventily pro výměnu ústoje;
P 15, 30 — čerpadla; L —
vodní lázeň; S — selenové
fotony; R — registrační
přístroj; T — trojcestné ko-
houuty

V této práci se používalo polarografu PL 55, citlivosti 1/20 a 2,2 V.

Pracovní postup

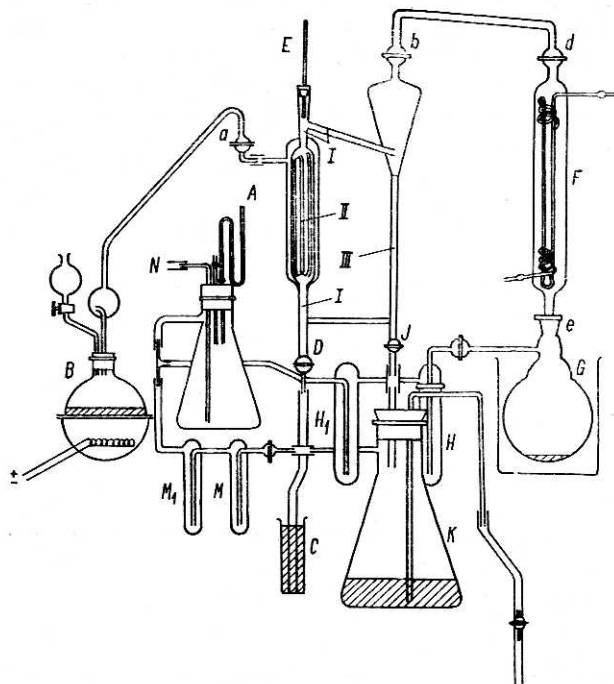
Do Kalouskovy nádoby se pipetovalo po 1 ml vzorku filtrovaného piva zbaveného CO₂ nebo mladiny, 9 ml ústoje pH 4,5 a 1 kapka 0,5 % dextranu k potlačení kyslíkového maxima. Ústoj byl připraven z 0,25 M octanu sodného za přídavku 0,1 M se-

mikarbazidu. Nádobka se před stanovením probublávala inertním plynem. Nutno polarografovat takové koncentrace látek, aby se pohybovaly v rozmezí 10^{-3} M až 10^{-4} M hodnot. Obsah karbonylových látek se stanovoval touto metodou u vakuových destilátů vzorků sladů, mladů a pív. Metoda byla přezkoušena i pro přímé stanovení obsahu karbonylových látek ze vzorků mladů a pív. V tomto případě se vzorek piva zfiltruje skládaným filtrem. Při vlastní analýze se použije 2,5 M octan sodný s přísadkou 1 M roztoku semikarbazidu. Polarografuje se směs 10 ml ústoje a 90 ml piva zbaveného CO_2 . Vakuové destiláty, jak pro stanovení karbonylů polarografickou metodou, tak i pro plynovou chromatografii byly připravovány na aparatuře sestavené na principu aparatury pro izolaci aromatických látek podle *Weurmann a Honkanena* [7, 8] (obr. 2). Destilační aparatura byla upravena pro kontinuální destilaci 10 l vzorku při vakuu 43 až 45 mm Hg bez přerušování s plynulým přívodem vzorku a oddělováním destilačního zbytku. Destiláty jímány do ledu (G) a suchého ledu s acetone (H, H_1 , M, M_1).

Pro provedení analýzy na plynovém chromatografu se takto získané destiláty extrahovaly směsí N-pentanu s éterem v poměru 2 : 1. Plynová chromatografie se prováděla orientačně na přístrojích Chrom I a II. Zakotvená fáze 10% polyetylenglykol — pracovní teplota 80 °C — detektor plamenný ionizátor — nosný plyn dusík. Výsledky analýz vzorků se porovnávaly s polohou chromatografických křivek 13 standardů získaných za stejných podmínek.

Experimentální část

V provozním měřítku byla dvourmutovým způsobem připravena řada pokusných várek a várek po-



Obr. 2. Malá laboratorní kontinuální vakuová destilace
B — vyvíječ vodní páry; C — zásobník vzorku; G, H, H_1 , M, M_1 — jímání frakce; K — destilační zbytek; D — nastavení kontinuálního přívodu vzorku; J — nastavení kontinuálního odpadu vzorku

rovnávacích, u kterých se postupně sledoval vliv složení sypání základních surovin, vliv vyšší teploty hlavního kvašení, vliv filtrace za přísadku srážecího a adsorpčního stabilizačního prostředku a dále vliv promývání mladého piva kysličníkem uhličitým, jednak na zkrácení technologického postupu kvašení a na zvýšení koloidní stability piva.

V zásadě orientační pokusné série várek s různým složením sypání reprodukovatelně ukázaly, že 20 % náhrada českého sladu sacharózou při značném snížení vysokomolekulárních dusíkatých látek nebylo dosaženo zvýšené koloidní stability. Piva tohoto složení ztrácejí již typické vlastnosti českých pív, jsou hluboce prokvašena a mají nízkou barvu [0,45 a, 0,50 ml 0,1 N J]. Snížené hodnoty redukující mohutnosti (ITT pív 500 s) odpovídají předpokládám pro vysoce surogovaná piva, rovněž jako nízký obsah dusíku (44,2 mg/100 ml).

Vzhledem k příznivým hodnotám organoleptických výsledků, bilancí dusíkatých látek a hodnot redukující mohutnosti se ke zkouškám výše uvedených technologických úprav použilo várek s celkovou 35 % náhradou sladu světlého sladom karapils, sacharózou a rýží.

Popis pokusných várek

Mladina označená ABC byla upravena:

1. Filtrací křemelinou — označení A
2. Do ochlazené mladiny dávkováno 7 g/hl taninu a po dvou hodinách působení mladina filtrována křemelinou — označení B.
3. Mladina filtrována křemelinou, do které byl přimíchán křemičitý gel v dávce 150 g/hl — označení C.

Hlavní kvašení probíhalo při zvýšených teplotách s maximální teplotou 10 °C, doba kvašení 6 dnů. Při sudování se pivo promývalo kysličníkem uhličitým. Do ležáckých tanků v počátku dokvašování při přečerpávání z horních tanků do dolních se dávkovalo pro zvýšení stabilizačního účinku enzymatický preparát a čerstvé kvasnice. Doba dokvašování 45 dnů. Analytické výsledky základních rozborů mladiny, mladého a hotového piva uvádí tabulka 1.

Diskuse

Použití křemičitých gelů ke stabilizaci piva adsorpčním způsobem vyžaduje při závěrečné filtraci piva dávkovat reduktory [9] až do 10 g/hl k zabránění nežádoucích oxidačních reakcí. Vysoké dávky reduktů mají nepříznivý vliv na chuťové vlastnosti pív. V neposlední míře tento zásah znamená zvýšení finančních nákladů na výrobu piva.

V této práci byla navržena nová stabilizační metoda úpravou mladiny:

- a) za použití srážecího prostředku taninu;
- b) adsorpčního stabilizačního prostředku na bázi křemičitého gelu.

Výsledky stabilizační úpravy se porovnávaly s úpravou mladiny běžnou filtrací křemelinou. Vliv dávkování srážecího prostředku do ochlazené mladiny před filtrací se přezkoušel, aby se zjistily podmínky účinnosti stabilizace v této fázi. Dřívější práce se zabývaly úpravou taninem ve varnách nebo při dokvašování.

Tabulka 1

Označení vzorku	ABC	A	A ₁	A ₂	A ₄	B	B ₁	B ₂	B ₄	C	C ₁	C ₂	C ₄
Hmot. % extraktu	11,95	11,95	4,39	2,39	2,85	11,95	4,40	3,28	3,14	11,95	4,33	3,27	3,14
Red. cukry mg/100 g extraktu	70,30	71,09	19,02	—	10,25	70,17	18,86	—	10,90	70,26	18,30	—	10,95
Celkový dusík mg/100 ml	82,60	81,10	56,70	57,40	56,70	79,00	56,35	57,40	56,05	74,75	56,20	55,35	56,05
Frakce A podle Lundina mg/100 ml	19,67	15,72	8,97	11,78	8,83	12,34	8,75	10,06	8,91	7,49	8,88	7,78	6,46
Aminodusík mg/ml	0,385	0,339	0,190	0,193	0,260	0,369	0,165	0,196	0,260	0,376	0,171	0,200	0,258
Formolový dusík mg/ml	0,492	0,464	0,455	—	0,314	0,455	0,385	—	0,332	0,417	0,428	—	0,336
Vyšší alkoholy mg/l	—	—	203	269	170	—	239	241	148	—	182	284	162
Karbonylové látky mg/l	3,457	2,497	12,170	4,415	5,228	2,156	12,579	10,270	5,035	2,599	14,979	8,998	5,712

ABC, A, B, C — mladiny; A₁, B₁, C₁ — sudované pivo; A₂, B₂, C₂ — 18. den dokvašování; A₄, B₄, C₄ — stočené pivo

Tabulka 2

Označení vzorku	ABC	A	A ₄	B	B ₄	C	C ₄
Celkové hořké látky mg/100 ml	146,1	135,4	102,7	134,15	94,0	138,15	90,7
Volné hořké látky mg/100 ml	—	—	66,7	—	75,7	—	72,2
Index hořkosti	—	—	1,857	—	4,64	—	3,90
Třísloviny mg/l	206,0	203,0	186,0	248,0	198,0	206,0	214,0
ITT-80	s	57,5	60	117	0	99	0
ITT 35 dnů po stočení	s	—	182	—	40	—	0
ITT 75 dnů po stočení	s	—	505	—	335	—	25

x — pivo při stáčení upraveno 2 g/hl kys. askorbové; ABC, A, B, C — mladiny; A₄, B₄, C₄ — stočené pivo pasterované

Výhody nově navrhované metody stabilizační úpravy studené mladiny křemičitým gelem lze charakterizovat takto:

Dosáhlo se snížení obsahu vysokomolekulárních bílkovin, avšak současně nová metoda umožňuje vyrovnat redox-systém piva vlastním prostředím při hlavním kvašení, a tím odpadá nutnost upravovat hotové pivo vysokými dávkami reduktonů. Vzhledem k časovému odstupu mezi stabilizační úpravou mladiny a hotovým pivem je možno při sudování nebo při dokvašování kontrolovat adsorpční nebo srážecí účinek a enzymatickým stabilizátorem (např. při zpracování sladů s vysokým obsahem N látek) doplnit účinek adsorpčního prostředku enzymatickým štěpením.

Vliv diskutovaných úprav mladiny se projevil snížením obsahu celkového dusíku, a to při pouhé filtraci křemelinou o 1,9 %, použitím taninu o 4,3 % a křemičitého gelu o 9,5 % (tabulka 1). Při kvašení a dokvašování se celkový obsah dusíkatých látek vyrovnal s tím rozdílem, že v hotovém pivu zůstal nejnižší obsah vysokomolekulární frakce bílkovin A podle Lundina, upravené křemičitým gelem (Stabifix).

Stabilizační úprava mladiny neměla vliv na redukující mohutnost, naopak redukující mohutnost těchto várek se při dokvašování poněkud zvýšila.

Hotové pivo z várek upravených křemičitým gelem zůstalo čiré v průměru 8 měsíců, po úpravě taninem 6 měsíců. Běžně vyráběná konzumní piva ve zkušebním závodu vykazují v pasterovaném stavu 1 až 2měsíční koloidní stabilitu. Piva z pokusných várek, upravená křemičitým gelem, byla za 15 měsíců po stočení čirá s nepatrným sedimentem, piva upravená taninem za 15 měsíců po stočení mírně opalizovala.

Navrhovaným způsobem úpravy technologie koloidně stabilního piva se dosáhlo zkrácení doby hlavního kvašení z 12 na 6 dní. Vezmeme-li jako hlavní kritérium určení zralosti piva úbytek zdanlivého extraktu při dokvašování [10] je z tabulky 3 patrné, že zkvasitelných látek ubývá prvních 18 dnů. Mezi 18. a 34. dnem jsou změny minimální a od 34. dne již není skoro rozdílů ve srovnání s hodnotami nalezenými v hotovém pivu. Při aplikaci uvedeného technologického postupu na běžná 12% konzumní piva plzeňského typu lze počítat se zkrácením dokvašování k hranici 18 až 30 dnů. Ve zkušebním provozu znamená např. 50% zkrácení hlavního kvašení a 27 až 50 % zkrácení dokvašování úsporu kvasného prostoru 1,7 hl/100 hl ve spílce a 6 až 11 hl/100 hl piva v ležáckém sklepu. Při analytickém hodnocení piv se zjistily jisté difference v obsahu celkových a volných hořkých látek, které lze vysvětlit tvorbou komplexů s bílkovinami. U várek, které zaznamenaly patrné snížení obsahu N látek (B, C) byly určeny vyšší indexy hořkosti (tabulka 2). U těchto várek patrně zůstává v roztoku více volných hořkých látek, které nemají bílkovinné partnery, a to se projevuje i v posouzení hořkosti hotových piv a do určité míry potvrzuje oprávněnost snížení dávky chmele u těchto piv.

V bilanci aminokyselin při hlavním kvašení nastal vlivem asimilačních pochodů pokles barevné intenzity skvrn aminokyselin. U sudovaných piv bylo zjištěno zvýšení intenzit skvrn, což je v soulase s prací Veselova [11], který přisuzuje pokles aminokyselin při hlavním kvašení zvýšené výměně dusíkatých látek a jistý vzestup v závěru hlavního kvašení přičítá vlivu nashromážděných kvasnic v mladém pivu. Na tyto změny v bilanci aminokyselin má značný vliv teplota kvašení. V naší práci

Tabulka 3

	A	Snížení	B	Snížení	C	Snížení
Zdánlivý extrakt % hmot.	4,39	—	4,40	—	4,33	—
Sudované pivo						
18. den dokvašování	2,96	1,43	3,28	1,12	3,27	1,06
34. den dokvašování	2,88	0,08	3,18	0,00	3,20	0,07
Hotové pivo	2,85	0,03	3,14	0,04	3,14	0,06

Tabulka 4

Aminokyselina	A ₁	B ₁	C ₁	A ₄	B ₄	C ₄	12- PEX	Poznámka
Histidin	2,40	2,40	2,85	2,15	2,55	0,90	3,15	hodnoty
Cystin	—	—	—	—	—	—	—	—
Fenylalanin	4,25	4,55	4,40	3,60	3,30	3,10	4,20	uvedeny
Serin	stopy	0,40	0,45	0,47	stopy	stopy	0,96	—
Isoleucin	1,17	1,25	1,25	1,35	1,15	1,15	2,80	v mg %
Leucin	0,73	0,83	0,90	0,65	0,60	0,55	1,35	—
Tyrosin	5,93	5,85	6,50	4,52	4,70	4,15	4,25	—
Valin	4,42	4,55	5,20	3,85	2,85	1,90	1,85	—
Threonin	stopy	0,30	0,40	0,12	stopy	stopy	stopy	—
Alanin	6,85	7,10	7,85	6,30	5,85	6,30	7,50	—
Arginin	3,17	3,55	3,90	2,60	2,50	1,90	4,85	—
Asparagová	stopy	stopy	stopy	stopy	stopy	stopy	stopy	—
Glutamová	0,83	0,75	0,85	0,55	stopy	stopy	2,20	—
Glycin	2,76	2,15	2,70	2,10	1,90	2,00	2,15	—
Lysin	—	—	—	—	—	—	—	—
Prolin	39,70	40,0	45,0	37,4	35,90	36,60	34,25	—
Methionin	—	—	—	—	—	—	—	—

jsme rovněž u poloprovozních pokusů s max. teplotou 13 °C [l.c.1] v porovnání s provozními pokusy s max. teplotou kvašení 10 °C zjišťovaly podstatně vyšší úbytek aminokyselin. V počátku dokvašování vlivem obnovených kvasných procesů čerstvě dávkovanými kvasnicemi klesal obsah aminokyselin asi do 18 dnů po sudování. Pak se obsahy aminokyselin skoro již neměnily. Pokud se zjistilo určité zvýšení mezi 18. a 34. dnem dokvašování, lze je připisovat účinku enzymatického stabilizačního prostředku.

V tabulce 4 a obr. 3 a 4 jsou výsledky kvantitativní analýzy aminokyselin pokusných várek A, B, C. Vlivem filtrace mladiny byl registrován pokles obsahu karbonylových látek (tabulka 1).

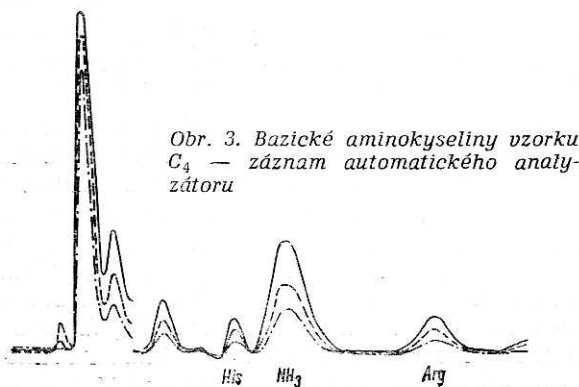
Zvýšenou hodnotu v nefiltrované mladině můžeme připisovat intenzivnější tvorbě acetaldehydu při varu, ať již degradací alaninu nebo dalších amino-

kyselin na konci proteinové prodlevy [12], na niž má vliv přítomnost karamelového sladu karapils.

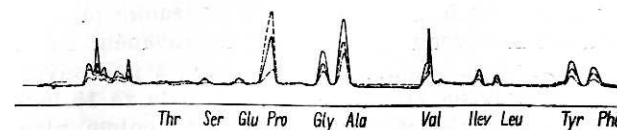
Max. tvorba karbonylových látek byla v souladu s literárními odkazy [l.c.12] zaznamenána při hlavním kvašení zvláště u várek s úpravou mladiny křemičitým gelem. U těchto várek vlivem úpravy filtrace mladiny proběhly největší oxidační změny, které podminily i zvýšenou tvorbu acetaldehydu. Vlivem promývání CO₂ a přečerpávání piva na počátku dokvašování bylo zaznamenáno celkové snížení karbonylových látek. Pasterace je zvýšila, zvláště u várek upravených pouze filtrací křemelinou. Celkově největší obsah karbonylových látek byl zjištěn v pivu upraveném Stabifixem (C), které podle hodnocení degustátorů se i částečně chuťově lišilo od porovnávacích várek, i když tyto změny byly hodnoceny příznivě.

Obsah vyšších alkoholů se měnil při hlavním kvašení v přímé závislosti na intenzitě kvašení (tabulka 1). Hotová piva pokusných várek se obsahem vyšších alkoholů v zásadě nelišila.

Plynovou chromatografií byly již zaznamenány rozdíly v kvalitativním i kvantitativním zastoupení základních těkavých látek. Změny nejvyšší vlny, příslušející alkoholu s 5 uhlíky, kolísaly u všech



Obr. 3. Bazické aminokyseliny vzorku C₄ — záznam automatického analyzátoru



Obr. 4. Neutrální aminokyseliny vzorku C₄ — záznam automatického analyzátoru

druhů pokusných várek v souladu se změnami hodnot vyšších alkoholů stanovených kolorimetricky. V mladínách byly zaznamenány vlny odpovídající etanolu a etylacetátu. Etanol v nezakvašené mladině pravděpodobně vzniká z acetaldehydu redukční mohutností mladiny [13].

V hotovém pívu byly zjištěny plynovou chromatografií: aceton — neurčená látka s eluční dobou 9 mm/min, odpovídající pravděpodobně acetaldehydu; etylacetát, etanol, n-propanol, izobutanol, amylacetát a alkoholy s řetězcem o 5 uhlících. Látka s eluční dobou 8 mm/min, která byla zjištěna u porovnávací várky a várky upravené taninem se neobjevila u žádného vzorku várek upravených křemičitým gelem. Změny obsahu karbonylových látek a změny v kvalitativním zastoupení těkavých látek u várek s úpravou mladiny a stabilizačním prostředkem Stabifix jsou pravděpodobně odpovědné za celkový rozdíl organoleptických výsledků chuťových zkoušek, které byly degustátory hodnoceny ve prospěch výrobků.

Závěr

V provozním měřítku byl potvrzen kladný vliv stabilizace piva úpravou mladiny křemičitými gely před zakvašením [13], zvláště při výrobě pív se zkráceným hlavním kvašením a dokvašováním. Je

podán stručný popis technologického postupu. Běžná konzumní piva vyráběná v pokusném závodě ze stejných surovin jako piva s úpravou křemičitými gely vykazují v průměru o 8 měsíců nižší koloidní stabilitu. Pro zvýšení redukčního potenciálu se kladně uplatnila částečná náhrada sladu českého sladem karapils.

V práci aplikovaná metoda polarografického stanovení karbonylových látek dává reprodukovatelné výsledky v průběhu celé výroby piva. Dokumentace základních těkavých látek a obsahu aminokyselin potvrdila, že filtrace mladiny vyvolává sice určité kvantitativní změny, které se však neprojevují nepříznivě při organoleptickém hodnocení pív.

Literatura

- [1] Basařová, G.: „Kvasný průmysl“, **12**, 1966: 245—250.
- [2] Spachman, D. H. - Stein, W. H. - Moore, S.: „Anal. Chem.“, **30**, 1958: 1190.
- [3] Hummel, J.: „Kvasný průmysl“, **7**, 1961: 145.
- [4] Kolektiv pracovníků — závěrečná zpráva ÚVÚPP č. 0147 (1962).
- [5] Souchay, P. - Graizon, M.: „Chem. Anal.“, **36**, 1954: 85.
- [6] Woggon, H.: „Ernährungsforschung“, **6**, 1961: 331.
- [7] Weurmann, C.: „J. of Food Science“, **26**, 1961: 670—672.
- [8] Honkanen, E. - Karvonen, P.: „Acta Chemica Scandinavica“, **17**, 1963: 1362.
- [9] Raible, K.: „Monatschrift für Brauerei“, **14**, 1961: 80—84.
- [10] Wellhoener, H. J.: „Brauwelt“, **104**, 1964: 985—991.
- [11] Veselov, J. a kol.: „Spirtovaja prom.“, **29**, č. 5, 1933: 13—16.
- [12] Bavisotto, V. S. - Roch, L. A.: Proc., A. M.: „Amer. Soc. Brew. Chem.“, 1960: 101—102.
- [13] Patent ČSSR č. 118596.

Lektoroval Dr. J. Hummel.

Došlo do redakce 26. 6. 1967.

НОВЫЙ МЕТОД СТАБИЛИЗАЦИИ, СОКРАЩАЮЩИЙ ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ВЫДЕРЖИВАНИЯ ПИВА

В статье описывается технология производства распивочного пива повышенной не биологической устойчивости, характеризованная сокращением длительности как основного брожения, так и дображивания, соответствующим выбором исходного сырья, адсорбционной фильтрацией сусла и применением протеолитического стабилизатора.

NEUE STABILISIERUNGSMETHODE FÜR VERKÜRZTE GÄRUNGSDAUER

Konsumbiere mit verkürzter Dauer der Haupt- und Nachgärung und erhöhter nichtbiologischer Stabilität können bei Anwendung spezieller Rohstoffstruktur, Adsorptionsfiltration der Würze, eventuell noch in Kombination mit der Wirkung von proteolytischen Stabilisatoren hergestellt werden.

NEW STABILIZATION METHOD REDUCING THE LAGERING PERIOD

The article deals with the brewing technology permitting to brew standard quality beer with high non-biological stability requiring shorter fermentation and after fermentation periods. The method requires an appropriate selection of raw materials, adsorption filtration of wort and application of proteolytic stabilizers.