

Filtrace jako stabilizační metoda

GABRIELA BĀSAŘOVĀ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.444.4
663.461

V zásadě je dnes již známo, že tzv. chladový zákal piva má stejné složení jako zákal permanentní. Základ tvoří protein-taninový komplex, katalyzovaný kovovými ionty a menší podíl uhlohydrátů [1].

Doposud však nebyla objasněna struktura komplexů a přesný postup, jak se mění rozpustný chladový zákal ve formu nerozpustnou [2]. Podle fyzikálně chemického chování, které sledoval Curtis [3], se dá předpokládat, že v chladovém zákalu jsou molekulární vazby tvořeny vodíkovými můstky. Časem se tvoří kovalentní vazby, které způsobují tvorbu trvalého zákalu.

Při stabilizačních metodách, kdy se z piva odstraňuje podíl vysokomolekulárních bílkovin a nebo se bílkoviny enzymaticky štěpí na nízemolekulární frakce, vede často tento zásah k snížení trvanlivosti pěny nebo i plnosti chuti.

Třísloviny jako celková skupina jsou velmi aktivní složkou zákalu, speciálně pak skupina polyfenolů, která velmi snadno reaguje s kyslíkem za vzniku sloučenin škodlivých pro pivo. Vedle jejich polymerace mohou vznikat různě intenzivně červené až červenohnědé látky, které pozměňují barvu piva a mají nepříznivý vliv na chuť. Zdá se tedy stabilizační úprava piva, zaměřená na odstraňování tzv. tanoidů (tzn. antokyanogenů, polyfenolů a metylovaných polyfenolů) účelná nejen z hlediska koloidní stability.

Mac Farlane [4, 5] vypracoval způsob adsorpce tanoidů umělými hmotami, které dával do piva jako nerozpustné prášky. Nejdříve se používal ny-

lon 66, později perlon. Oba tyto polyamidy mají vlastnosti podobné pravým bílkovinám, což se zdá nejvýhodnější pro účelné odstraňování tříslovin. Proto také se objevily v literatuře zprávy, ve kterých se k stabilizaci piva doporučují tzv. pravé bílkoviny, jako keratin, kasein nebo i vizina (např. s obchodním názvem Magi Flocc).

V poslední době řada pivovarských odborníků uvádí jako účinný stabilizační prostředek *Polyclar AT* čili polyvinylpyrolidon.

Práškovité stabilizační prostředky výše jmenovaných druhů jsou drahé a při jejich regeneraci se musí počítat se značnou ztrátou odplavením.

Firma *Enzinger Union* vyvinula filtrační desky s naneseným aktivním materiálem. Desky se vyrábějí buď s perlonem, který na rozdíl od nylonu 66 je účinnější anebo s polyvinylpyrolidonom (*Polyclarem AT* — tzv. desky *Stabil-S*). Polyvinylpyrolidon v porovnání s polyamidy má čtyřnásobnou účinnost, neadsorbuje hořké látky, a protože je indiferentní vůči louhu, dá se mnohokrát regenerovat. Reakce tanoidů s polyvinylpyrolidonom je tak vysoká, že při filtraci *Stabil-S* deskami je možné volit průtok 4—8 hl/m².

Experimentální část

Pokusně jsme ve spolupráci se střediskem v Braníku sledovali vliv filtrace piva *Stabil-S* deskami na změny ve složení zákalotvorných látek a odolnost takto upraveného piva k tvorbě koloidních zákalů.

Jedna partie piva byla rozdělena na 3 podíly a provedeny tyto úpravy:

- Vzorek 1 — pivo při dokvašování stabilizováno 4 g/hl taninem a 4 g/hl crystalasou, filtrace při stáčení deskami filtračními KK7 — výroba NDR;
- Vzorek 2 — pivo při dokvašování stabilizováno 4 g/hl taninem a 4 g/hl crystalasou, filtrace při stáčení deskami Enzinger — Stabil-S;
- Vzorek 3 — pivo upraveno 4 g/hl taninem, filtrováno deskami KK 7;
- Vzorek 4 — pivo upraveno 4 g/hl taninem, filtrováno deskami Stabil-S;
- Vzorek 5 — pivo srovnávací, filtrováno deskami KK 7;
- Vzorek 6 — pivo srovnávací, filtrováno deskami Stabil-S.

Výsledky základních analýz jsou v tabulce 1.

Z úbytku tříslovin, stanovených podle *De Clercka* a antokyanogenů *Mac Farlana*, byl patrný značný adsorpční účinek na tanoidy u všech vzorků filtrovaných deskami Stabil-S. Metoda stanovení tříslovin podle *De Clercka* je orientační a ani stanovení úbytku antokyanogenů není směrodatné pro posouzení předpovědi koloidní stálosti, protože na tvorbě zákalů se podílejí i další flavonoidy, jak již bylo dříve uvedeno. Protože však doposud není výstižnější analytická metoda pro předpověď koloidní stálosti, srovnávali jsme za účelem získání přesnějších podkladů procentní úbytek antokyanogenů s tzv. šokovacími testy, jak to prováděli *Kipphan* a *Birbaum* [1].

Tabulka 1

| | Vzorek 1 4 g/hl tanin 4 g/hl crystalasa filtrace desky KK 7 | Vzorek 2 4 g/hl tanin 4 g/hl crystalasa filtrace desky Stabil S | Vzorek 3 4 g/hl tanin filtrace desky KK 7 | Vzorek 4 4 g/hl tanin filtrace desky Stabil S | Vzorek 5 srovnávací filtrace desky KK 7 | Vzorek 6 srovnávací filtrace desky Stabil S |
|--|---|---|--|--|--|--|
| původní stupňovitost % hm. | 11,47 | 11,47 | 11,47 | 11,51 | 11,69 | 11,69 |
| třísloviny mg/1000 g | 229,97 | 90,02 | 212,36 | 79,57 | 215,67 | 108,69 |
| antokyanogeny mg/1000 g | 47,08 | 26,15 | 52,31 | 10,46 | 57,59 | 32,46 |
| antokyanogeny, % úbytku v porovnání k vzorku 5 | 18,25 | 54,59 | 9,17 | 81,84 | — | 43,64 |
| šokovací test podle Schilda | $T_1 - T_{2,44}$ | T_{34} | T_1 | $T_{20} - T_{28}$ | T_1 | $T_{16} - T_{25}$ |
| předpovídaná koloid- ní stálost ve dnech | 22—56 | 748 | 22 | 440—556 | 22 | 345—550 |
| celkový dusík mg/100 g | 51,41 | 50,59 | 53,55 | 52,07 | 59,12 | 57,32 |

Šokování vzorků jsme prováděli dle *Schilda* [6]. Metoda spočívá v opakovaném 24hodinovém zahřívání vzorků v sušárně při 60 °C a následovném 24hodinovém chlazení v tajícím ledu. Tím se docílí, že rychleji proběhnou reakce tzv. stárnutí piva. Vyvolaný chladový zákal se měří v EBC jednotkách formazinového zákalu. Jako výsledek se používá počet period zahřívání do vytvoření zákalu 2 EBC jednotek; násobený faktorem 22 pak udává počet dnů předpovídané koloidní stálosti.

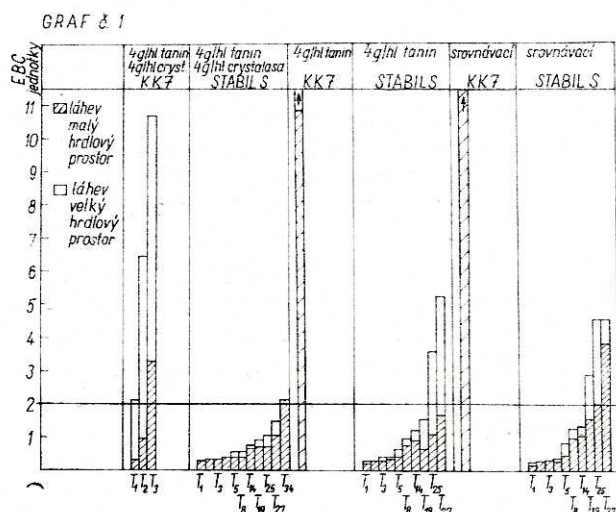
Podle *Schilda* [7] při 75% úbytku antokyanogenů by měl šokovací test T_{15} odpovídat 330 dnům koloidní stálosti.

Důležitou roli v tvorbě koloidních zákalů však hraje kyslík, a to tím více, čím větší je obsah antokyanogenů v pivě. Podle *Schilda* [1] až při 80% odstranění antokyanogenů nemá obsah kyslíku v pivě vliv na předčasnou tvorbu koloidních zákalů. Naše výsledky toto zjištění jednoznačně nepotvrdily (viz hodnoty v tabulce 1).

V podmínkách stáčení našich pokusných várek byl obsah vzduchu v hrdlovém prostoru kolísavý a tím také se dala očekávat rozdílnost v oxidačních změnách v jednotlivých lahvích.

Jak je patrné z grafu 1, piva filtrovaná deskami Stabil-S při rozdílném obsahu vzduchu v hrdlovém prostoru vykazovala minimální rozdíl v postupně se zvyšujícím zákalu při šokování, a to u vzorků s předcházející stabilizační úpravou bílkovin či bez ní, a to do testu T_{14} , dále potom se začíná již projevovat oxidační vliv vzduchu, zvláště u vzorku 6 bez předcházející stabilizační úpravy bílkovin, kde celkové snížení obsahu antokyanogenů bylo pouze 43,64 %.

U vzorků s vysokým obsahem vzduchu v hrdlovém prostoru hodnota T_{16} odpovídá přibližně 350 dnům předpovídané koloidní stálosti, zatímco vzorky s nízkým obsahem vzduchu měly maximální hodnotu T_{25} , která odpovídá 550 dnům (viz graf 1). Z grafu 1 dále vyplývá, že u piva upraveného ta-



ninem s 81,84% úbytkem antokyanogenů a deskami Stabil-S se vliv kyslíku projevil po devatenáctém šoku. Vzorky provzdušené měly test T 20 (odpovídá 440 dnům), vzorky s nízkým obsahem vzduchu T 28 (odpovídá 556 dnům koloidní stálosti).

Vzorky pív, upravené plnou stabilizací, zaznamenaly jen velmi nepatrný vzestup v hodnotách chladového zákalu s přibývajícím počtem period zahřívání a přesto, že úbytek antokyanogenů byl jen 54,59 %, vliv rozdílného obsahu vzduchu až do 25. šoku byl minimální, jak je rovněž patrné z grafu 1. Znamená to, že u vzorku 2 se dá počítat s koloidní stabilitou s hranicí kolem 500–800 dnů.

Dále výsledky potvrzují, že již při cca 40% snížení obsahu antokyanogenů a zamezení vlivu kyslíku lze dosáhnout vysoké koloidní stability pív. Samozřejmě bude nutné potvrdit tyto výsledky na několika typech našich československých pív a podrobně vyhodnotit především organoleptické vlastnosti pív filtrovaných deskami Stabil-S.

Všechny 3 vzorky pív (1–3–5) filtrované normálními filtračními deskami KK 7 měly nízkou koloidní stabilitu a projevíly se silné rozdíly vlivem různého stupně provzdušení.

Vzorek 1 — pivo upravené 4 g/hl taninem a 4 g/hl crystalasou, filtrované deskami KK 7, zaznamenalo v porovnání k srovnávacímu vzorku 5 pouze úbytek 18,25 % antokyanogenů. Stabilizační úprava, zaměřená na snížení obsahu bílkovin, nezabránila tvorbě chladového zákalu při šokování a test 1 u tohoto vzorku byl velmi nízký, a to u lahví s malým obsahem vzduchu v hrdlovém prostoru T_{2-3} a u lahví s velkým obsahem vzduchu byl zákal 2 jednotky EBC naměřen po prvním šoku.

Pivo — vzorek 3 — upravené pouze 4 g/hl taninem a filtrované normálními deskami KK 7, mělo prakticky minimální koloidní stabilitu, jak je patrné z grafu 1. Tato diskutovaná série provozních zkoušek potvrdila naše dřívější zjištění, že jednorázová stabilita srážením taninem dává málo efektivní výsledky v koloidní stálosti českých pív.

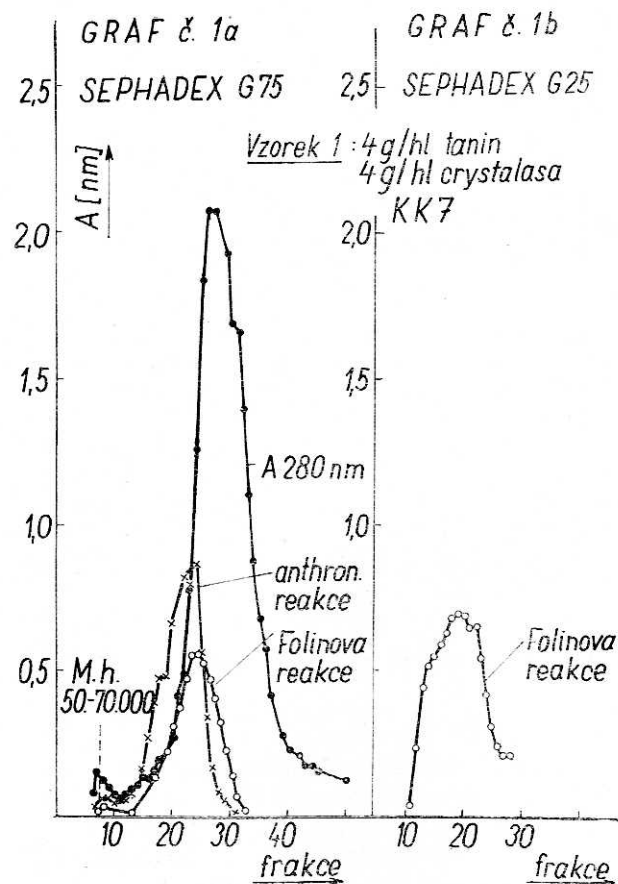
Jak jsme předpokládali, nejnížší odolnost vůči chladu při šokovacích testech vykázal vzorek 5, tj. srovnávací pivo filtrované deskami KK 7.

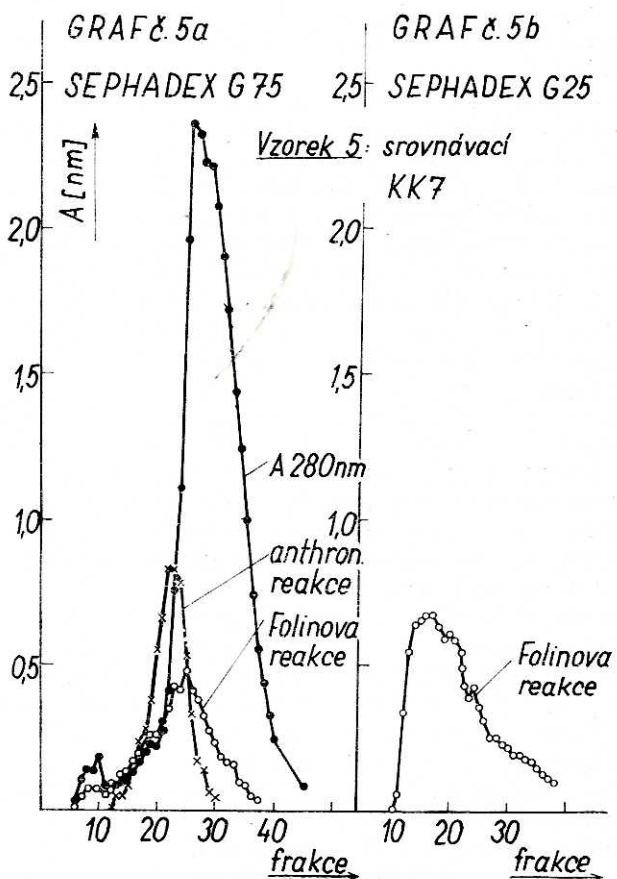
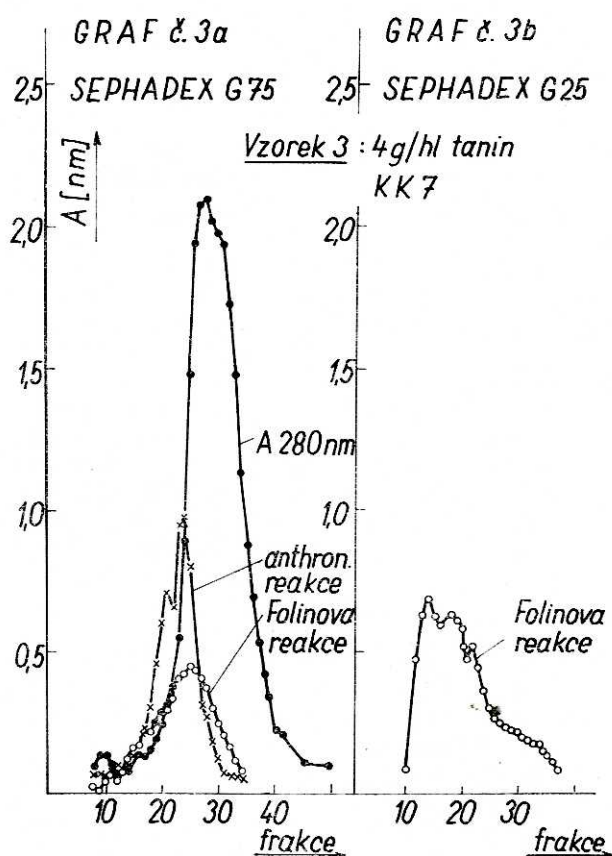
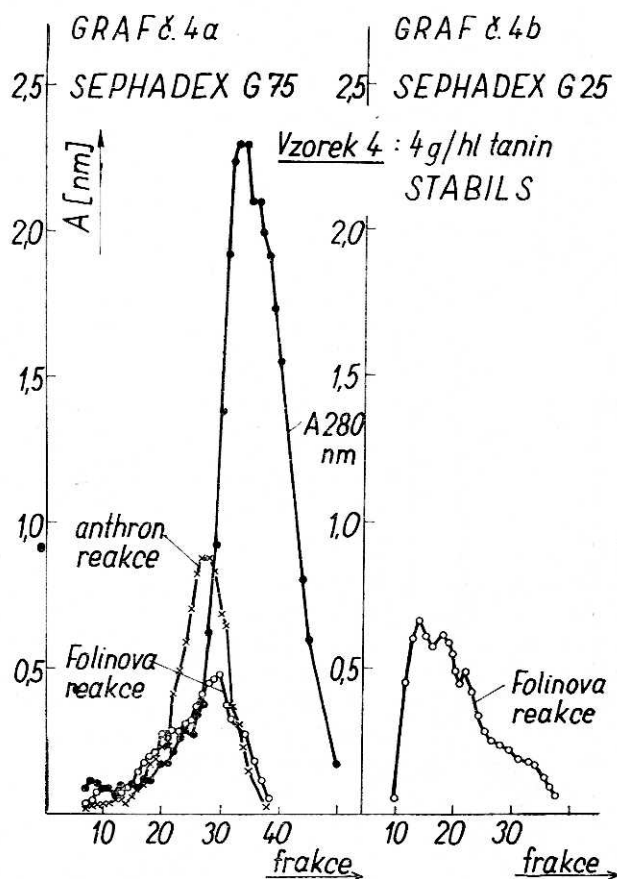
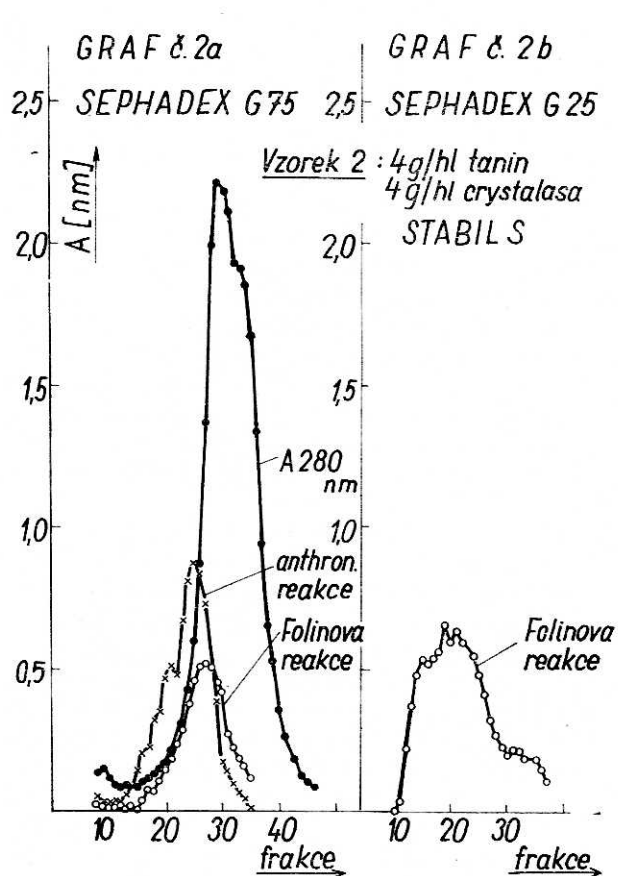
Filtrace pív deskami Stabil-S, vedle zvýšení ko-

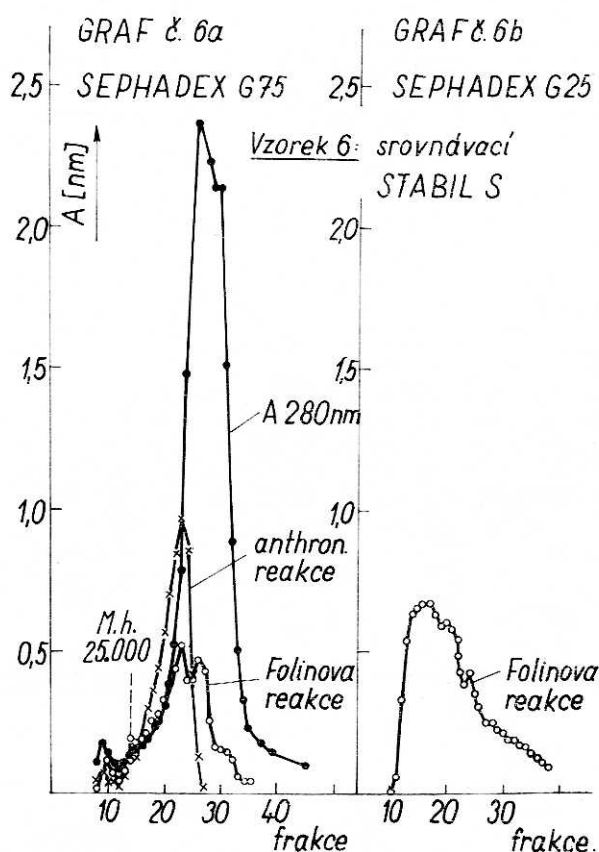
loidní stálosti, měla i kladný vliv na barvu a její neměnnost po dobu několika měsíců. Vzorky všech tří druhů pív (1–3–5), filtrované deskami KK 7, měly během 3 měsíců tmavou červenohnědou barvu, na druhé straně piva upravené deskami Stabil-S zůstala světlá s typickou zlatožlutou barvou.

Rovněž chuťově byla piva značně rozdílná. Krátce po stočení byla degustujícími dávána přednost pivu bez jakékoliv stabilizační úpravy (vzorek 5), ale po 3, 5 měsících byla všechna tři piva filtrovaná deskami KK 7 nepitelná. Znamená to, že již v době 3 měsíců po stočení vlivem vysokého obsahu vzduchu v lahvích došlo k oxidačním změnám flavonoidů a tyto barevné látky silně ovlivnily nejen vzhled piva, ale i jeho vůni a chuť. Oxidační produkty flavonoidů překrývají zásadní charakteristickou chmelovou hořkost a vůni piva a do popředí vystupuje tzv. oxidační příchut' připomínající nekvašenou mladinu.

Všechny 3 vzorky pív, filtrované deskami Stabil-S 3,5 měsíce po stočení, byly degustujícími hodnoceny sice jako méně příjemné v dojmu po napití, ale doposud chuťově zásadně nepozměněné. Nejvyššími body se hodnotilo pivo srovnávací, filtrované deskami Stabil-S (vzorek 6). Nejméně bodů mělo pivo upravené 4 g/hl taninem a 4 g/hl crystalasou, filtrované deskami Stabil-S, u kterého se zřetelně projevila několikanásobná stabilizace snížením tzv. plnosti chuti vlivem úbytku bílkovin a polypeptidů. Na následujících grafech (1a, 1b až 6a, 6b) jsou výsledky dělení lyofilizovaných vzorků všech šesti pív na dvou typech Sephadexu, a to G 75 a G 25.







Tvary křivek dávají přehled o změnách základních vysokomolekulárních látek při použití různých stabilizačních úprav.

Kolony naplněné dextranovým gelem Sephadex, s různou křížovou vazbou, působí jako molekulární síta. Jak jsme referovali v roce 1967 na X. semináři [8], dává tato metoda možnost rozdělit látky podle velikosti molekulárních hmot a lze pak např. sledovat, jak která stabilizační metoda změni složení vysokomolekulárních látek v pivu.

V dřívější naší práci [8] jsme prokázali, že typická piva plzeňská, vyrobená bez surogace při dělení vzorků na koloně Sephadexu G 25, dávají na grafech reakce s Folinovým činidlem tři ostrá maxima s postupně se snižující tendencí (grafy 3b až 6b).

Stabilizaci piva taninem se tvar této křivky prakticky nezmění (graf 3b), protože tanin je nespecifický srážecí prostředek, který reaguje s celou škálou N sloučenin a adsorbuje z piva i další látky.

Vlivem stabilizace taninem a enzymatickým preparátem (graf 1b) se změni tvar typické křivky. Vedle celkového snížení dusíkatých látek se sníží hlavně podíl vysokomolekulárních látek, které jsou v prvním píku Folinovy reakce.

Protože jsme nezaznamenali rozdíl u stejně stabilizovaných piv, ale filtrovaných jednak deskami KK 7 (vzorek 1—3—5) a jednak deskami Stabil-S (vzorek 2—4—6), usuzujeme, že vlivem snížení tříslovin adsorpcí na deskách Stabil-S podíl adsorbovaných dusíkatých látek registrovaných Folinovým činidlem je minimální.

Dále jsme i při těchto sériích pokusů potvrdili dřívější výsledky našich výzkumů [9], že část vysokomolekulárních látek s molekulovými hmotami nad 50 000 (viz grafy dělení na Sephadexu G 75) prochází celým výrobním procesem a není z piva odstraňována ani stabilizačním zásahem, ať již adsorpcí tříslovin nebo bílkovin. Jedná se o komplex látek, kde podíl dusíkatých sloučenin registrovaných Folinovým činidlem je velmi nízký. Dále je z grafů patrné, že kombinovanou stabilizační úpravou taninem a crystalasou (graf 1a, 2a) se z piva oddělují látky s molekulovou hmotou 10 000 až 30 000. Účinnost enzymatického prostředku je tím větší (a to převážně na středněmolekulární polypeptidy), čím více vysokomolekulárních látek v rozsahu 10 000—30 000 je z piva odstraněno srážením taninem.

Závěr

Na světovém trhu je řada stabilizačních prostředků pro zvyšování koloidní stability piv, a to jak s účinkem adsorpčním, tak i enzymatickým. Ovšem dnes je již zcela jasné, že nejsou-li dodržovány základní technologické zásady při výrobě, které zajišťují tzv. prvotní stabilitu piv, nemá následně provedená stabilizace požadovaný účinek a ekonomická bilance stabilizační metody je pak negativní.

Vedle intenzivního varu mladiny, chladného, dostatečně dlouhého dokvašování je základním stabilizačním zásahem klasického výrobního procesu, filtrace hotového piva, při které se mechanicky oddělují během dokvašování vyloučené sráženiny tříslovinobílkovinných komplexů. Domníváme se, že další zvýšení koloidní stability piv tím, že se filtrace provede se stabilizačním účinkem, který působí adsorpcí doposud rozpustných komplexů tříslovin a bílkovin, je nejpřirozenějším stabilizačním zásahem při klasickém způsobu výroby piva.

Způsob stabilizace piva deskami Stabil-S a adsorpčním účinkem na tříslovinu, se nám projevil již v prvních pokusných zkouškách jako účinnější, nežli dříve zkoušená filtrace se *Stabifixem* a *Stabiquickem* [10] pro stabilizaci typických piv s bohatým podílem vysokomolekulárních látek a náchylností k tvorbě chladného zákalu, která právě touto stabilizací se podstatně snížila.

V nejbližším období chceme, ve spolupráci s pracovníkem střediska v Braníku, panem Faktorem, podrobněji zhodnotit možnosti několikanásobné regenerace desek a porovnat ekonomii stabilizace deskami Stabil-S se stabilizačními metodami, které jsme v našem ústavu již provozně ověřili v předcházejícím období.

Souhrn

V provozním měřítku se zkoušela stabilizace piva filtrací deskami Stabil-S s aktivní složkou pro adsorpci tříslovin. Piva upravená plnou stabilizací (taninem, crystalasou a deskami Stabil-S) byla velmi odolná k tvorbě zákalů, při šokovací zkoušce docílené hodnoty T 27—34 odpovídající 550—600 dnům předpovídané koloidní stálosti. V článku jsou uvedeny výsledky analýz dělení vzorků na kolonách Sephadexu G 25 a G 50.

Literatura

- [1] KIPPHAN, H. - BIRBAUM, R.: Monatschrift für Brauerei 17, 1964: 251—255.
[2] WOOF, J. B. - PIERCE, J. S.: J. Inst. Brew. 74, 1938: 262—271.
[3] CURTIS, N. S.: Brewers Guardian 12, 1937: 47—50.
[4] Mc FARLANE, W. D. - WYE, E. - GRABT, H. C.: EBC Proceedings Baden - Baden 1955: 298—318; vydal: Elsevier publishing Company London, 1955.
[5] Mc FARLANE, W. D. - SWORD, P. T. - BLINOFF, G.: EBC Proceedings Brusel 1963: 174—181; vydal: Elsevier publishing Company London, 1964.
[6] ANALYTICA EBC - Second Edition 1953: 213, vydal: Elsevier publishing Company London, 1953.
[7] SCHILD, QEYH, ZÜRCKER: Brauwissenschaft 1934: 288—294.
[8] BASAŘOVÁ, G.: Kvasný průmysl, 13, 1937: 282—283.
[9] BASAŘOVÁ, G.: Sborník z II. mezinár. kongresu kvasného průmyslu, Lipsko, 1938 (v tisku).
[10] RAIBLE, K.: Tagesztg. f. B., 7, 1931: 639.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИЛЬТРАЦИИ В КАЧЕСТВЕ МЕТОДА СТАБИЛИЗАЦИИ

Возможность стабилизации пива посредством его фильтрации через плиты СТАБИЛ-С проверялась в эксплуатационном масштабе. Адсорбция дубильных веществ осуществлялась с помощью активных добавок к материалу плит. Стабилизированное пиво, т. е. обработанное таннином, крастазой и профильтрованное через плиты СТАБИЛ-С отличалось значительною устойчивостью на помутнение и при испытаниях было классифицировано баллом Т 27—34, что отвечает 550—600 дням коллоидной стабильности. В статье приводятся результаты анализа проб на коллонах СЕПАДЕКС Г 25 и Г 50.

BEER STABILIZATION BY FILTRATION

Experiments have been carried out on the production scale with the stabilization of beer by filtering it through the STABIL-S plates containing active components adsorbing tanning substances. Stabilized beer processed with tannin and crastalaze and filtered through the STABIL-S plates was very stable and its properties in this respect were classified with T 27—34 mark corresponding to colloidal stability lasting 550—600 days. The article deals also with the results of separation analyses on the SEPHADEX G 25 and G 50 columns.

FILTRATION ALS STABILISIERUNGSMETHODE

Im Betriebsausmass wurde die Bierstabilisierung durch Filtration über Stabil-S-Platten mit aktivem Bestandteil zur Gerbstoffadsorption erprobt. Die Biere mit kompletter Stabilisierung (Tanin, Crastallase und Stabil-S-Platten) waren sehr beständig gegen Trübungen; die bei der Schockprobe erzielten Werte T 27—34 entsprechen 550—600 Tagen der Voraussage kolloidaler Stabilität. In dem Artikel werden auch die Analysenergebnisse der Probenteilung auf den Sephadex-Kolonnen G 25 und G 50 angeführt.