

9

září 1969

ročník 15

# Kvasný průmysl

ODBORNÝ ČASOPIS PRO PRACOVNÍKY V KVASNÝCH PRŮMYSLECH

## Tvorba těkavých sirných sloučenin v souvislosti s obsahem mědi v mladíně\*)

JIŘÍ ŠROGL, JANA VACKOVÁ, IVO HLAVÁČEK, Západočeské pivovary, n. p., Plzeň

548.22  
543.56  
663.444

Otázka vlivu sirných sloučenin na výrobu piva byla sledována již delší čas. Prvním důvodem bylo zjištění *Sterna* [1] z roku 1899, že za nedostatku síry v kvasném médiu probíhá kvašení neúplně. Později bylo pozorováno, že z kvasícího piva uniká sirovodík a těkavé merkaptany, které i ve stopových množstvích mají značný vliv na chuť a vůni hotového výrobku. Vlivem sirných sloučenin na výrobu piva se zabývalo zvláště po druhé světové válce mnoho badatelů. Jsou to např. *Barton-Wright* [2], *Sandegren* [3], *Knorr* [4], *Kuroiwa* [5], *Brenner* [6], *LeCorvaisier* [7], *Kühl* [8], *Ikeya* [9] a jiní. Souhrnnou zprávu o různých sloučeninách síry v pivě předložili na kongresu EBC ve Vídni 1961 *Maschlein*, *Ramos-Jeunehomme* a *Devreux* [10]. Autoři uvádějí, že sirné sloučeniny jsou původci většiny chuťových defektů piva, jako např. letinkové příchuti, pasterační příchuti, příchuti mladého piva atd.

Na našem pracovišti jsme orientačně zkoušeli přímý vliv sirovodíku na chuť a vůni piva. Do mladého piva v láhvi s patentním uzávěrem jsme zavedli malé množství sirovodíku tak, že byl z roztoku cítit.

Uzavřené láhve jsme nechali dokvašovat 14 dnů při 5 až 7 °C v chladničce. Po uplynutí této doby jsme pivo smyslově posoudili. Zjistili jsme znatelnou chuťovou odlišnost od piva kontrolního, dokvašovaného stejným způsobem. Je zajímavé, že pivo nebylo cítit sirovodíkem; mělo běžnou „nečistou“ chuť.

Za pozornost stojí zvláště sloučeniny piva obsahující volnou sulfhydrylovou skupinu. Ty se totiž považují za důležitý faktor nepříznivě ovlivňující nejen chuť a vůni, ale i stabilitu piva proti bílkovinným zákalům. Volné sulfhydrylové skupiny bílkovin jsou značně reaktivní a schopné oxidace, při níž se jednotlivé molekuly vzájemně spojují disulfidickými vazbami. Molekuly se tím zvětšují, jejich rozpustnost klesá a konečně, vlivem chladových, oxidačních či jiných změn, se mohou vyloučit ve formě zákalu. Uvedený mechanismus je jedním z nejjednodušších způsobů zvětšování molekul bílkovin a na jeho závažnost upozorňovali např. *Knorr* [4], *Sandegren* [3] a jiní. Z tohoto hlediska se jeví jako velmi opodstatněné hodnotit stabilizaci piva Brdičkovou polarografickou reakcí podle *Hummela* [11]. V tomto případě jde v podstatě o katalytickou reakci volných sulfhydrylových skupin, které se jinak

\*) Předneseno na XI. pivovarsko-sladařském semináři v Prazdroji dne 28. 11. 1968.



zjišťují dosti obtížně potencimetrickou titrací. Údaje polarografického stanovení sulfhydrirových aktivních látek dávají patrně lepší obraz stability piva než např. obsah celkového dusíku. Dobré zkušenosti s hodnocením stabilizace piva polarografickou Brdiczkovou reakcí uvádí též *Moštek* a spol. [12].

Podle *Brennera* a spol. [13] kolísá celkový obsah sulfhydrirových sloučenin mladiny v rozmezí asi 0,2 až 1,1  $\mu\text{g/l}$ . Během hlavního kvašení toto množství mírně vzrůstá, takže v hotovém pivu dosahuje 0,4 až 2,9  $\mu\text{g/l}$ . Autoři vysvětlují vzrůst obsahu sulfhydrirových sloučenin během výroby redukcí disulfidických vazeb mladiny, kterých je tam podle *Brennera*, *Owadesa* a *Shapira* [14] přítomno průměrně asi 20  $\mu\text{g/l}$ . Celkový obsah sulfhydrirových sloučenin piva činí asi 2 % celkové organicky vázané síry. Těkavé sulfhydrirové sloučeniny jsou přítomny v pivě v množství 0,01 až 0,02  $\mu\text{g/l}$ .

K nejvýznamnějším sloučeninám uvedeného typu patří cystein, glutathion, merkaptany, sirovodík a proteiny s volnými sulfhydrirovými skupinami. Zvláštní pozornost je třeba věnovat těkavým sírným sloučeninám. Patří sem hlavně těkavé merkaptany a sirovodík.

Množství těkavých merkaptanů v hotovém pivu kolísá v rozmezí 0 až 50  $\mu\text{g}$  síry/l. Podle *Brennera* a spol. [13] je jejich množství v mladině průměrně 15 až 25  $\mu\text{g}$  síry/l. Při kvašení opět pozorovali autoři pokles na 5 až 10  $\mu\text{g}$  síry/l, při ležení opět mírný vzestup.

Zajímavé je sledování změn obsahu sirovodíku. *Brenner*, *Owades* a *Golyzniak* [15] se zabývali tímto problémem a zjistili, že množství sirovodíku kolísá dosti značně. Závisí na způsobu rmutování, varu, použitých surovinách a v neposlední řadě i na kmenu použitých kvasnic. V mladině je možno nalézt pouze stopová množství sirovodíku. Během kvašení toto množství stoupá do maxima a před koncem kvašení opět klesá. *Kleber* a spol. [16] uvádějí, že sirovodík v kvasícím pivě stoupá do čtvrtého dne, kdy má maximum.

Údaje pro množství sirovodíku v hotovém pivu nejsou v odborné literatuře jednotné. Podle *Brennera* a spol. [15] bývá v pivu 12 až 25  $\mu\text{g}$   $\text{H}_2\text{S/l}$ . *Brenner* a spol. [15] uvádějí, že přítomnost sirovodíku v množství 5  $\mu\text{g/l}$  je již rozeznatelná v chuti, i když pro typickou sírnou příchutí uvádějí hranici 100  $\mu\text{g}$   $\text{H}_2\text{S/l}$ .

Při kvašení piva v pivovaru Prazdroj jsme sledovali změny obsahu sirovodíku. Zjistili jsme podstatně jiný průběh, než uvádí *Kleber* a spol. [16]. První 4 dny kvašení zůstává obsah sirovodíku prakticky nulový. Od 5. dne začíná jeho množství prudce vzrůstat, až na dosti vysoké hodnoty, tj. až na 180  $\mu\text{g/l}$ . Před sudováním však toto množství velmi strmě klesá k nule.

Popsaný průběh změn obsahu sirovodíku je dosti nezvyklý a odlišný nejen od údajů odborné literatury, ale i od změn obsahu sirovodíku, které je možno pozorovat v jiných našich pivovarech. Zkoumali jsme též změny obsahu sirovodíku v pivovaru Gambrinus, kde se pivo vyrábí způsobem obvyklým ve většině našich pivovarů. Množství sirovodíku, který se vyvíjí při hlavním kvašení, zde nevykazuje tak

prudké změny a zvláště ke konci kvašení neubývá tak rychle jako u piva Prazdroj. Tento fakt je dosti pozoruhodný a je třeba jej podrobněji prozkoumat.

Zamyslíme-li se nad způsobem výroby mladiny v pivovaru Prazdroj, pozorujeme některé odlišnosti od jiných pivovarů. Pivo se zde vaří klasickým třírmutovým způsobem, na jednoduchých varních soupravách s přímým otopem. Při varu rmutů i mladiny se v pánvi míchá míchadlem, na němž jsou připevněny měděné vlečné řetězy, které při míchání stále odírají měděné dno. Vaří se zde tři rmuty, ve srovnání s jinými našimi pivovary na značně velké ploše, protože v jiných pivovarech je rmutová pánev vždy podstatně menší než mladinová. Oděr měděného dna měděnými řetězy, který nastává za značně vysoké teploty, dává předpoklad značnému rozpouštění mědi v rmutech i mladině. To potvrzuje i skutečnost, že se měděné řetězy dosti rychle opotřebovávají a v mladině bývá zjištěno v průměru více než 1 mg Cu/l. Množství však kolísá ve značně širokých mezích. Abychom zjistili, jaký je vliv způsobu otopu varních pánví na rozpouštění mědi, vyrobili jsme laboratorní mladinu na modelovém zařízení, obsahu asi 5 l. Pánev jsme zahřívali jednak přímým plamenem plynového kahanu, jednak nepřímě na glycerínové lázni. Při přímém otopu jsme míchali míchadlem, na němž byly připevněny měděné kroužky. Výsledek odpovídal předpokladům. V mladině zahřívané nepřímě bylo 2,8 mg Cu/l, kdežto u přímo zahřívané mladiny bylo zjištěno 4,5 mg Cu/l, tedy téměř dvojnásobek.

Při našich pokusech jsme zjistili, že obsah mědi značnou měrou ovlivňuje vývin sirovodíku během hlavního kvašení.

V této souvislosti je třeba si všimnout práce *Jansena* [17], který obdobnou zkušenost získal při analytickém stanovení sirovodíku. Ověřoval Brennerovu metodu, která je velmi citlivá a používá se i v naší laboratoři. Spočívá v promývání vzorků piva dusíkem zbaveným kyslíku, plyny z piva se potom uvádějí do roztoku octanu zinečnatého. Vzniklý sírník zinečnatý se nechá reagovat s *p*-aminodimetylanilinem a  $\text{FeCl}_3$ . Intenzita vzniklé metylénové modři se měří kolorimetricky. *Jansen* zjistil, že nalezené hodnoty silně závisí na tom, v jakém množství jsou přítomny sloučeniny mědi. Při svých pokusech postupoval tak, že do analyzovaných vzorků přidával kyselinu etyléndiamintetraoctovou, kterou převedl měď do velmi stabilního komplexu. Obsah sirovodíku ve vzorku prudce poklesl. Autor z toho vyvodil závěr, že měď se váže na sírné sloučeniny a ze vzniklého komplexu se potom odštěpuje sirovodík. Je pravděpodobné, že se to děje za účasti enzymového systému. Z *Jansenových* poznatků plyne závěr, že existuje dosud nevysvětlitelná souvislost mědi s metabolismem sírných sloučenin.

Samo stanovení mědi v pivě a mladině je poměrně obtížné vzhledem k tomu, že měď tvoří velmi silné komplexy, se značným množstvím látek a dokonce i se sacharidy. Její obsah v mladině však není zřejmě jediným faktorem způsobujícím rozdíly ve vývinu sirovodíku mezi pivem z pivovaru Prazdroj a pivem z jiných pivovarů. Důležitou úlohu patrně má i používaný třírmutový způsob přípravy mladiny



ny, při němž je štěpení bílkovin poněkud jiné než u způsobu dvourmutového.

Dalším faktorem je složení surovin. Kodaira a spol. [18] pozorovali zajímavý vztah mezi intenzitou vývinu sirovodíku z kvasného média, obsahem kyseliny pantothenové a obsahem methioninu v prostředí. Zjistili, že se přidavkem kyseliny pantothenové k médiu snižuje obsah sirovodíku. Obdobný účinek má také zvýšení množství methioninu. Žádný sirovodík se netvoří, je-li v kvasném médiu nedostatek kyseliny pantothenové a jako jediný zdroj síry je obsažen methionin. Autoři zkoumali metabolismus tvorby sirovodíku pomocí radioaktivního izotopu síry. Došli k závěru, že intenzita tvorby sirovodíku závisí na aktivitě desulfohydrázy cysteinu. Na podporu této hypotézy uvádějí, že methionin inhibuje desulfohydrázu cysteinu a obdobný účinek má i kyselina pantothenová. Obě tyto skutečnosti jsou ve shodě s pozorovaným úbytkem tvorby sirovodíku po přidavku obou látek do kvasného média. Wainwright [19] je naproti tomu přívržencem teorie vysvětlující vznik sirovodíku u kvasinek deficitních na kyselinu pantothenovou redukcí sulfátu a sulfitu. Teoreticky to zdůvodňuje tím, že NADP, který se při metabolismu redukuje, se při nedostatku kyseliny pantothenové reoxiduje na úkor redukce sulfátů. Žádná z uvedených teorií není však dosud jednoznačně potvrzena, obě jsou pouze náznakem možných způsobů. Je třeba ještě připomenout názory na vznik sirovodíku z elementární síry, který byl zcela přesvědčivě zjištěn. Jako redukční činidlo zde působí redukovaný glutathion, který při tom přechází v oxidovanou formu.

Uvedený nástin některých aspektů otázky sirných sloučenin nevystihuje ani zdaleka všechny problémy týkající se metabolismu síry. Velmi zajímavá je např. otázka způsobu utilizace jednotlivých zdrojů síry apod. Některé sirné sloučeniny mají pro metabolismus kvasinek klíčový význam. Jsou to v první řadě thiamin, biotin, kyselina pantothenová. Thia-

min, který je pro člověka velmi důležitým vitamínem, je u kvasínek ve formě thiamin pyrofosfátu koenzymem karboxylázy, důležitého enzymu alkoholového kvašení. Veškerá pantothenová kyselina je v kvasinkách vázána ve formě tzv. pantetheinu v koenzymu A. Pantethein má volnou sulfhydrylovou skupinu a je důležitým donorem vodíku pro redukční metabolické pochody. Přitom přechází vázaný pantethein na pantethin. Pantethin obsahuje disulfidickou vazbu a je schopen se opět redukovat na pantethein tím, že přijme dva atomy vodíku. Donorem vodíku může být např.  $\text{NADH}_2$ . To však není jediná funkce koenzymu A. Další funkcí v metabolismu je jeho působení jako acylačního činidla (nejčastěji acetylacního!).

Naznačené metabolické pochody ovšem nevyčerpávají všechny otázky metabolismu síry, který je patrně značně složitý a ve všech případech ne dosud dokonale objasněný. Význam sirných sloučenin pro výrobu piva je však značný a domníváme se, že u nás ne zcela doceněný.

## Literatura

- [1] Stern: J. Inst. Brew. **5**, 1899: 399. Cit. dle [20]
- [2] Barton - Wright, E. L.: EBC - Proc. 1949: 19. Cit. dle [8]
- [3] Sandegren, E.: EBC - Proc. 1949: 78. Cit. dle [8]
- [4] Knorr, F.: Brauwiss. **17**, 1931: 212
- [5] Kuroiwa, Y., - Hashimoto, N.: Brew. Digest XXVIII, č. 6, 1963: 50
- [6] Brenner, M. W. - Owades, J. L.: ASBC - Proc 1933: 56. Cit. dle [20]
- [7] Le Corvaisier: Brasserie **16**, č. 172, 1931: 18
- [8] Kühl E. D.: Über Schwefelverbindungen des Bieres, Berlin 1938
- [9] Ikeya T.: Brauwiss. **18**, 1935: 359
- [10] Maschelein, Ch. A. - Ramos - Jeunehomme C., Devreux, EBC - Proc. 1931: 231
- [11] Hummel J.: Kvasný průmysl **7**, 1931: 151
- [12] Moštěk J.: Osobní sdělení
- [13] Brenner M. W.: Owades L., Zientara F., Laufer S.: Amer. Brew. **92**, č. 6, 1959: 35
- [14] Brenner, M. W. - Owades, J. L. - Shapiro, G. I.: ASBC - Proc. 1959
- [15] Brenner, M. W. - Owades J. L. - Golyzniak, R.: ASBC - Proc. 1953: 83
- [16] Kleber, W. - Lampel, I.: EBC - Proc. 1957: 377
- [17] Jansen, H. E.: J. Inst. Brew. **73**, 1937: 79
- [18] Kodaira, R. R. - Ito, J. - Nemura, T.: Nippon Nogeikagaku Kaishi **32**, 1959: 49
- [19] Wainwright J.: J. Gen. Mikrobiol. **28**, č. 4, 1932: 1
- [20] Max G. A.: Wall. Lab. Commun XXVIII, **49** č. 95. [1935].

# ЗАВИСИМОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ ЛЕТУЧИХ СЕРНИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ ОТ СОДЕРЖАНИЯ МЕДИ В СУСЛЕ

В статье приводится в сокращенной форме содержание доклада, зачитанного автором на семинаре по солодильно-пивоваренному производству, состоявшемся в Пильзене в 1968 г. Доклад был посвящен особенностям процессов брожения на пивоваренном заводе ПРАЗДРОЙ. Они отличаются от процессов на других заводах интенсивностью образования сероводорода. Оборудование варочного цеха и технология варки влияют на содержание меди в сусле, что в свою очередь является вероятно одним из факторов определяющих ход выделения сероводорода в период сбраживания пива ПРАЗДРОЙ.

# EFFECTS OF COPPER PERCENTAGE IN WORT UPON THE FORMATION OF VOLATILE SULPHURIC COM- POUNDS

The article is essentially an abstract from the paper presented by the author at the seminar of brewing and malting industries held at Plzeň in 1968. It deals with specific features of fermenting processes in the cellars of Prazdroj brewery which differ from conditions in other (Czechoslovak) breweries, as far as the development of hydrogen sulphide is concerned. Owing to the present brewing technology and properties of equipment installed in the brewhouse the percentage of copper in sweet wort is apparently affected, which in its turn is reflected in hydrogen sulphide formation during the fermentation period.

# DIE BILDUNG DER FLÜCHTIGEN SCHWEFEL VERBINDUNGEN IM ZUSAMMENHANG MIT DEM KUPFERGEHALT DER WÜRZE

Der Artikel enthält einen der Vorträge auf dem Brauerei- und Mälzereiseminar in Pilsen 1938. Es werden die Unterschiede in der Schwefelwasserstoffbildung während der Gärung in der Pilsener Urquellbrauerei im Vergleich mit anderen tschechoslowakischen Brauereien behandelt. Der Einfluss des technologischen Vorgangs und der Sudhauseinrichtungen der Brauerei Urquell spiegelt sich in dem unterschiedlichen Kupfergehalt in den Würzen ab. Diese charakteristischen Umstände führen wahrscheinlich zu den Änderungen des Schwefelwasserstoffgehaltes während der Gärung des Urquell-Bieres.