

Laboratorní kontrola koloidně stabilních piv

Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, CSc., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

063.41 : 543
541.18

Úvod

Piva udrží svou průzračnost po dobu několika měsíců jen tehdy, jsou-li určité složky piva, a to především vysokomolekulární bílkoviny a polyfenoly, redukovány zvláštními opatřeními na neškodlivou míru nebo na malé, trvale rozpustné částice a současně se dbá na snížené možnosti oxidace piva.

Se zvyšujícími se znalostmi o tvorbě koloidních zákalů se stále více rozvíjí počet obchodních přípravků a zařízení pro výrobu stabilních piv. S touto skutečností souvisejí i zvýšené nároky na podíl laboratorní kontroly při výrobě koloidně stabilních piv a současně i zvýšené nároky na potřebná zařízení a kvalifikaci pracovníků provádějících laboratorní kontrolu.

Vycházíme-li z předpokladu, že při výrobě koloidně stabilních piv se zásadní kontrolní metodika v laboratořích od suroviny až po hotové pivo pečlivě dělá v rozsahu minimálně předepsaném ČSN, musíme v každém případě počítat se zvýšením nákladů vzhledem ke skutečnosti, že se kontrola rozšíří o kvalitativní přejímku stabilizačních prostředků (sledování stupně účinnosti, čistoty a skladovatelnosti preparátů), dále o kontrolu jejich aplikace v provozu a v neposlední řadě o stanovení dosaženého účinku v hotovém pivu.

Při výběru analytických metod pro kontrolu výroby koloidně stabilních piv musíme volit takové metody, které registrují alespoň změny základních složek, které se podílejí na tvorbě koloidních zákalů. Znamená to, že bychom u jednotlivých druhů piv a různých způsobů použité stabilizační metody měli vyhodnocovat změny složení bílkovin, polyfenolů a stupeň oxidace a výsledky porovnávat s dosaženou skutečnou trvanlivostí piv. Pokud pracujeme s novými prostředky a zařízením, je nutno přezkoušet i obsah kovových iontů v stabilizovaném pivu.

Stanovení dusíkatých látek

Pro hodnocení obsahu dusíkatých látek v pivu podle hrubého rozdělení na základě molekulové hmoty se nejčastěji používá metody stanovení dusíkatých frakcí podle *Lundina* [1]. Touto metodou můžeme kontrolovat účinek adsorpčních stabilizačních prostředků jako je Deglutan (bobtnavý), Bentopur (nebobtnavý), srážecí prostředek (tanin) a štěpicí účinek proteolytických enzymů (typu papainu, pepsinu atd.).

Na základě statistického materiálu z jednoho pivovaru s určitým druhem stabilizační úpravy mohla by se touto metodou definovat účinnost stabilizačního zásahu a kontrolovat důslednost provedené stabilizace. Ovšem v žádném případě nelze podle hodnot *Lundinových* frakcí předpovídat koloidní stálost piv.

Stejný význam má metoda aplikovaná *Hummelem* [2], která registruje polarograficky změny vysokomolekulární frakce bílkovin na základě rozdílné výšky katalytické vlny způsobené sulfhydrilovými skupinami bílkovin.

Účinnost enzymových proteolytických preparátů a zbytkový obsah enzymů v pivě lze stanovit tzv. hemoglobinovými nebo kaseinovými testy [3]. Jejich princip spočívá ve stanovení obsahu dusíku odštěpeného zkoušeným preparátem z hemoglobinu nebo kaseinu.

Jednou z metod používaných ke stanovení relativní i absolutní trvanlivosti piva je určení dusíku koagulovatelného varem. Pracovní postup má dnes řadu obměn [4, 5, 6]. V každém případě je metoda nejen časově náročná, ale především se zvyšují požadavky na důslednost provedení analýzy.

Na základě prací *Kolbacha* [7] např. víme, že je velmi úzký vztah mezi obsahem varem koagulovatelného dusíku a náchylností piva k tvorbě chladového zákalu. Piva s 2,0 mg/100 ml dusíku koagulovatelného varem vykazují po určité době skladování v chladu zákal. U piv s 1,5 mg/100 ml se síce po krátkém ochlazení vzhled piva nemění, ale zůstává nebezpečí, že delší dobou chlazení ztratí pivo „jiskru“.

Podle *Weyha* [8] piva rozesílaná po Evropě obsahují mnohem méně než 1,0 mg varem koagulovatelného dusíku na 100 ml piva. Tato piva po 2 až 3 měsících chlazení na teplotu vhodnou k pití nemají ani náznak zákalu. Ještě nižší hodnoty, a to méně než 0,5 mg/100 ml varem koagulovatelného dusíku mají vykazovat piva vyráběná pro export do tropů. U piv s extrémně dlouhou trvanlivostí zjistil *Weyh* ještě méně než 0,1 mg varem koagulovatelného dusíku.

Metodu stanovení varem koagulovatelného dusíku lze také používat k orientačnímu určení optimální dávky adsorpčního stabilizačního prostředku jako je Deglutan, Bentopur atd. Hraniční dávka je ta, kdy se ještě přídavkem adsorpčního prostředku dosáhne snížení obsahu varem koagulovatelného dusíku. Například pro Deglutan stanovil *Weyh*, že

nelze očekávat další zlepšení bílkovinné trvanlivosti zvyšováním dávky nad 200 g/hl piva.

Metoda stanovení varem koagulovatelného dusíku je ještě vhodná pro hodnocení stabilizačního efektu taninu, ale nedoporučuje se pro hodnocení stabilizace silikagelovými nebo polyamidovými prášky.

Zkouška bílkovinné stability přidáním Esbachova činidla a nasyceného roztoku síranu amonného

K přezkoušení efektu čerení při stabilizaci bobtnajícími bentonity se používá Esbachova činidla (6,25 g kyseliny pikrové se rozpustí ve vařící destilované vodě a po ochlazení se přidá 12,5 ml ledové kyseliny octové). Při stabilizaci silikagelovými preparáty se používá nasyceného roztoku síranu amonného. Oba roztoky po přidání do piva způsobují srážením určitých dusíkatých sloučenin zákal, jehož intenzita je závislá na stupni vyčerení pív od potenciálních vysokomolekulárních látek zákalu. Intenzita zákalu vyvolaného jmenovanými činidly představuje nepřímou míru pro chemicko-fyzikální stabilitu piva. Na základě této metodiky lze zjistit množství potřebného adsorpčního prostředku k stabilizaci a efekt stabilizace při určité dávce prostředku. Vyvolaný zákal lze měřit nefelometrem a orientačně lze použít i subjektivního posouzení proti vhodnému pozadí.

V řadě pivovarů pro běžnou kontrolu přímo v provozu používají velmi jednoduchou aplikaci „Esbachových“ nebo „síranových testů“. Určí se v ml spotřeba Esbachova činidla nebo nasyceného roztoku síranu amonného do vytvoření opalescence v 10 ml piva zbarveného CO₂.

Kontrola se provádí v ležáckém sklepu a tím se vlastně určí první výběr podle potřebných garančních záruk. Zpravidla hraniční hodnoty testů si určí každý pivovar ze statistických výsledků Esbachových a síranových testů v porovnání s průměrem dosahované skutečné trvanlivosti.

Na závěr kapitoly o základních metodách stanovení bílkovinných frakcí potenciálních složek zákalů je třeba připomenout, že u každé stabilizační metody je nezbytná důkladná kontrola pěnivosti piva, stálosti pívni pěny a vazby kysličníku uhličitého. Metodik pro stanovení pěnivosti piva a kysličníku uhličitého je velké množství. Základní z nich jsme přezkoušeli ve výzkumné laboratoři v Plzni a publikovali v Kvasném průmyslu [9].

Stanovení polyfenolových látek

Čeridla na bázi umělých hmot, jako jsou polyamidy nebo polyvinylpyrolidon, reagují hlavně s antokyanogeny obsaženými v pivu a adsorbují jen v malé míře potenciální bílkovinné látky zákalu. Stabilizační účinek činidel na bázi umělých hmot se může zjistit na základě snížení obsahu tříslovin a specificky podle změn obsahu antokyanogenů.

Podle Hartla [10] se dosáhne znatelného zlepšení bílkovinné stability odstraněním asi 20 % antokyanogenů obsažených v pivu. K zajištění stability jednoho roku musí se podle Kipphana [11] odstranit 80 % antokyanogenů. Podle Schilda [12] při 75 %

snížení obsahu antokyanogenů by mělo mít pivo podle předpovědi koloidní stálosti trvanlivost 330 dnů. Opět však musíme konstatovat, že na základě analýzy obsahu antokyanogenů získáme jen podmíněné závěry o trvanlivosti pív. To souvisí se skutečností, že koloidní stabilita piva je produktem většího počtu faktorů. Vedle polyfenolových látek se uplatní bílkoviny a obsah kyslíku. Podle Schilda [12] až po 80 % odstranění antokyanogenů stabilizačním zásahem neovlivňuje rozpuštěný kyslík předčasnou tvorbu koloidů. Naše zkoušky s úpravou obsahu polyfenolů českých pív tato zjištění nepotvrdily [13].

V posledních letech byl blíže osvětlen význam antokyanogenů v tvorbě chladového a stálého zákalu a současně se vypracovala řada analytických metod, které registrují jejich změny. Metoda navržená Harrisem [14] a upravená Pollockem [15] se zakládá na adsorpci antokyanogenů nylonovou pastou, která se varem ve směsi butanolu a kyseliny chlorovodíkové rozpustí v červeně zbarvenou kapalinu. Intenzita zabarvení se proměřuje kolorimetricky. Novější výzkumy však ukázaly, že stopy železa nebo mědi přítomné v pivu při použití této metody dávají lepší výsledky. U nás se používá aplikace Harrisovy metody vypracované na VŠCHT, kde místo zahraničního výrobku „Nylon“ 66 se používá československý preparát „Silona“.

Mac Farlane [16] vypracoval metodu s použitím činidla AT-n-pyrolidonu, který kompletně adsorbuje antokyanogeny a měří se pak rozdíl po spektrofotometrickém vyhodnocení při 550 nm.

Chapon [17] osvětlil tzv. „taninovou sílu“ v pivu, která registruje citlivost tanoidů k tvorbě komplexů s bílkovinami. Tříslovinná síla se stanoví cinchonin-sulfátem. Chapon zjistil, že při výrobě piva vlivem zvýšeného redoxního potenciálu a adsorpčního účinku kvasnic klesá. Základní vzestup nastává vlivem oxidačních reakcí ve stočeném pivu a první maximum registruje tvorbu chladového zákalu. Vlivem dalšího stupně oxidace a polymerace tanoidů se zvyšuje tříslovinná síla, která zaznamenává tvorbu trvalého zákalu. Metoda doposud není dokonale propracována a nezavedla se proto v běžné praxi. Zdá se však, že její vhodná aplikace může být dobrým vodítkem pro předpověď koloidních změn piva.

Stanovení obsahu kyslíku v pivě a v hrdlovém prostoru lahvi

Pro všechny stabilizační úpravy bez rozdílu platí, že kyslík v každém případě snižuje efekt účinku a z hlediska ekonomické relace stabilizačního účinku je omezení obsahu vzduchu v pivě nezbytné.

Podle Kipphana [11] je nejnižší hraniční hodnota, která pivu škodí, obsah 3,6 ml vzduchu na litr piva. Tato hodnota při značné poruchovosti stáček linek a malé péči věnované metodám přepěňování piva výrobcí stáčekého zařízení je u konzumních pív těžko dosažitelná.

Chceme-li vyrobit piva s bílkovinnou a chuťovou stabilitou, je kontrola kyslíku v pivě nezbytná. Při

tom je nutno rozlišovat obsah kyslíku, který si přináší pivo z ležáckého sklepa a mezi obsahem kyslíku, který se do piva dostane při stáčení.

Pro stanovení obsahu vzduchu v hrdlovém prostoru lahví a rozpuštěného kyslíku v pivě se používají metody kolorimetrické, volumetrické a manometrické.

Se stanovením obsahu rozpuštěného kyslíku v pivě jsou značné potíže vzhledem k vysokému obsahu kyslíčnicku uhličitého. Kolorimetrická metoda vypracovaná např. *Rotschildem* a *Stonem* [18] je méně vhodná. Modifikace doporučená laboratořemi fy *Enzinger* [19] je založena na reakci kyslíku s redukovanou formou indikátoru indigokarmínu (indigodisulfonát sodný). Používá se speciálně upravených injekčních stříkaček pro odběr vzorků i přípravu redukovaného indikátoru. V komparátoru se kolorimetrickým srovnáním vizuálně posuzuje spotřebovaný podíl redukované formy indikátoru na oxidovanou formu.

Některé zahraniční pivovary pracují se speciálními ampulemi se zredukovaným indikátorem. Tyto ampule se vloží do láhve s pivem a potřepem láhve se ampule rozbije a pivo se obarví. Intenzita zabarvení je přímo úměrná obsahu rozpuštěného kyslíku [20].

Dobré výsledky stanovení rozdílu obsahu kyslíku v pivě a v hrdlovém prostoru dává metoda podle *Pauknera* [21].

Nejnovější metody stanovení obsahu rozpuštěného kyslíku jsou založeny na měření proudu vyvolaného kyslíkem na speciálních elektrodách s membránami [22]. V ČSSR takový přístroj vyvinuly dílny ČSAV pod názvem oxitest. Tento přístroj se používá ve VÚPS.

Stanovení redukční schopnosti piva

Důležitou úlohu v ochraně piva proti oxidaci mají tzv. reduktory, které jsou přirozenými regulátory oxidačních změn v pivu. Aby se zabránilo jejich rychlé oxidaci, přidávají se do piva rychle redukující látky, jako kyselina askorbová nebo pyrosiřičitany.

Redukční síla piva se dá posoudit např. testem ITT, který vyjadřuje dobu potřebnou k 80% obarvení 2,6-dichlorfenolindofenolu [23]. Čím je tato doba delší, tím má pivo méně redukujících látek a je náchylnější k oxidaci. V poslední době se publikovala řada modifikací této metody [24, 25].

Předpověď koloidní stálosti tzv. šokováním

Všechny uváděné metody velmi nepřesně určují, po jaké době se zákal vyloučí. Proto většina pivovarů, které vyrábějí piva s dlouhodobou koloidní stálostí, mají speciální vzorkovny, kde se z každé stočené partie uskladní stanovený počet vzorků a uloží při 20 °C. Sleduje se v pravidelných časových intervalech změna vzhledu piva. Protože však skutečná trvanlivost piva, které prodělá nepříznivé podmínky transportu a uskladnění, než se dostane

k zákazníkovi, je nižší než u piva uloženého v kldu při 20 °C, doporučuje se ochladit zkoušené pivo 1krát měsíčně po dobu 24 hodin na 0 °C. Tím se zjistí nejnižší doba trvanlivosti.

Dále se používají tzv. „třepací metody“ [26], kdy např. jako neomezeně trvanlivé se označuje pivo, které po čtyřech týdnech se na třepáče nezakalí.

V posledních letech se mnohem více uplatnily pokusné metody, založené na urychleném „staření“ piva — střídáním vyšších teplot nebo pohybu na třepáče a ochlazením piva na 0 °C po určitou dobu.

Poprvé o těchto metodách hovořil v roce 1953 *de Clerck*, avšak podle *Weyha* [8] je pravděpodobně myšlenka šokovacích testů starší.

Od té doby se vypracovalo již mnoho variant šokovacích metod a v poslední době se velmi podrobně zhodnocením těchto metod zabýval *Weyh* [8].

Z řady šokovacích zkoušek se nejčastěji používá modifikací podle *Schilda* [12], *Raibleho* [27], *Schimpfa* [28] a *Ferdinandusa* [29].

Ve všech případech se pivo vystavuje střídavě vyšším teplotám (40 až 80 °C a ochlazuje v tajícím ledu, aby proběhly rychleji reakce stárnutí. Vyvolaný chladový zákal lze měřit v EBC jednotkách formazinového zákalu. *Raible* [27] a *Schild* [12] na základě porovnání výsledků šokovacích zkoušek se skutečnými hodnotami dosažené koloidní stálosti určili faktory, které po vynásobení počtem dnů, kdy pivo bylo při vyšší teplotě do vytvoření zákalu, udávají předpověď koloidní stálosti.

Raible doporučuje teplotu 40 °C a stanoví jako základ pro výpočet předpovídané koloidní stálosti počet period zahřívání do vytvoření zákalu 5 jednotek EBC.

Schild používá 60 °C a pro výpočet počet period zahřívání do vytvoření zákalu 2 EBC jednotky.

Analytická komise EBC [30] navrhla pro sjednocení metodiky šokovacích testů tuto aplikaci: 5 až 6 lahví se uloží do sušárny při 40 °C (pro piva normální), při 60 °C (pro piva stabilizovaná) a při této teplotě se piva ponechají 7 dní a dále 24 hodin při 0 °C. Vzniklý zákal se měří v EBC jednotkách. Čím je hodnota zákalu nižší, tím je pivo stabilnější.

Z uvedeného vyplývá, že je zapotřebí minimálně 5 až 7 dnů k předpovědi koloidní stálosti. V porovnání s běžnou kontrolou trvanlivosti deponováním vzorků při 20 °C je to určitý přínos. V praxi by však sládek potřeboval znát výsledek maximálně do 48 hodin po stočení. Proto jsme vypracovali ve VÚPS zkrácenou aplikaci šokovací metody, jejíž popis byl uveřejněn v Kvasném průmyslu, 15, 1969 č. 10—11, s. 222.

Závěr

Z uvedené rekapitulace vyplývá, že určitou objektivní předpověď koloidní stálosti lze stanovit šokovacími metodami. K tomu je však zapotřebí vybavit kontrolní laboratoře sušárnou s regulací teplot a chladícím boxem nebo lázní s teplotou vody 0 °C. Dále je zapotřebí přístroj pro měření

zákalu. Vhodný je např. pro přímé měření v láhvi dánský výrobek fy Radiometr tzv. „Haze meter“. Ovšem pro celkové posouzení kvality stabilizovaného piva je nutno dělat i analýzy základních skupin látek podílejících se na tvorbě zákalu a hodnotit stupně oxidace.

Souhrn

V článku je podán přehled základních metod stanovení obsahu bílkovin, polyfenolů a stupně oxidace pro sledování účinku stabilizační úpravy piva. Dále se hodnotí metody šokovacích testů pro předpověď koloidní stálosti piva.

Literatura

- [1] Analytica EBC — Second Edition 1963: Vydal: Elsevier publishing Company London.
- [2] HUMMEL, J.: Kvasný průmysl, **5**, 1963: 106—109.
- [3] KLEBER, W. - FRANKE, G.: Brauwelt, **100**, 1960: 374.
- [4] WINDISCH, W. - KOLBACH, P. - VOGL, C.: Wochenschr. f. Brauerei, **46**, 1929: 403.
- [5] KOLBACH, P. - WILHARM, G.: Wochenschr. f. Brauerei, **51**, 1934: 54.
- [6] HAGER, H.: Brauwelt, **103**, 1963: 1253.
- [7] KOLBACH, P.: Die Brauerei - Wiss. Beilage **10**, 1957: 51.
- [8] WEYH, H.: Der Brauereitechniker, **21**, 1969: 74.
- [9] HERLÍKOVÁ, G. - VACKOVÁ, J.: Kvasný průmysl, **9**, 1962: 243.
- [10] HARTL, A.: Brauwelt, **107**, 1967: 701.
- [11] KIPPHAN, H. - BIRBAUM, R.: Mschr. Brauerei, **17**, 1964: 251.
- [12] SCHILD, E. - WEYH, H. - ZÜRCHER, CH.: Brauwissenschaft, **17**, 1964: 289.
- [13] BASAŘOVÁ, G.: Kvasný průmysl, **15**, 1969: 56.
- [14] HARRIS, G. - RICKETS, R. W.: J. Inst. Brew., **65**, 1959: 4.
- [15] POLLOCK - POLL - REYNOLDS: J. Inst. Brew., **66**, 1960: 5.
- [16] McFARLANE, W. D. - BAYNE, P. D.: Proc. EBC, Wien 1961: 278. Vydal: Elsevier publishing Company 1962.
- [17] CHAPON, L. - CHEMARDIN M. - CHOLLOT, B.: Proc. EBC Stockholm 1965: 372. Vydal Elsevier publishing Co.
- [18] ROTSCCHILD, M. - STONE, J.: J. Inst. Brew., **45**, 1938: 425.
- [19] KIPPHAN, H. - KARAKAS, C.: Brauwelt, **109**, 1969: 938.
- [21] ENDERS, C. - KLEBER, W. - PAUKNER, E.: Brauwissenschaft, **9**, 1956: 2.
- [22] HORT NOSEL: Brauwelt, **109**, 1969: 978.
- [23] PAWLOWSKI - SCHILD: Die brautechnischen Untersuchungsmethoden 8. Auflage 1961: 325, Verlag Hans Carl, Nürnberg.
- [24] KLOPPER, W, J.: Brauwissenschaft, **9**, 1956: 70.
- [25] De CLERCK, J. - Van CAUWENBERGE: Bull. assoc. auciens étud. brass. Louvain **32**, 1956: 1.
- [26] FRANKE, G.: Brauwelt, **100**, 1960: 772.
- [27] RAIBLE, K.: Mitt. d. Versuchst. f. d. Gärungsgewerbe, Wien 1962: 32.
- [28] SCHIMPF - RUNKEL: Monatsschrift f. Brauerei **15**, 1962: 54—58.
- [29] FERDINANDUS, A.: Monatsschrift f. Brauerei **17**, 1964: 229.
- [30] Analytica EBC 2. Auflage, Elsevier publishing Company Amsterdam 1963: 215.
- [31] BASAŘOVÁ, G. - KAHLER, M.: Kvasný průmysl **15**, č. 10—11, 1969, s. 222.
- [32] HIEFNER, R. - BURWIG, D.: Brauwissenschaft, **21**, 1968: 11.