

Vliv rozpuštěných plynů (CO_2 a O_2) na trvanlivost lahvového piva

Ing. JAN ŠAVEL, Ing. MARIE PROKOPOVÁ,
jihočeské pivovary, n. p., České Budějovice

O vlivu rozpuštěného oxidu uhličitýho a kyslíku na růst mikroorganismů v pivu existuje jen málo literárních údajů. Všeobecně se uvádí, že rozpuštěný kyslík podporuje růst kvasinek a aerobních bakterií a v nízké koncentraci kladně působí na pomnožování laktobacilů. Oxid uhličitý potlačuje vývoj gramnegativních bakterií a na většinu kmenů mléčných bakterií a kvasinek nemá podstatný vliv. Teprve v poslední době se objevila práce [1] o gramnegativních bakteriích rostoucích ve stočeném pivu.

Lahvové pivo stáčené běžnými stáčecími stroji obsahuje zpravidla 0,6 až 2,0 mg $\text{O}_2 \text{ l}^{-1}$, v praxi se vyskytují výkyvy až do 4 mg $\text{O}_2 \text{ l}^{-1}$. Obsah oxidu uhličitýho v pivu závisí na mnoha činitelích, především na průběhu dokvašování v ležáckém sklepu a pohybuje se v rozmezí 0,30 až 0,50 hmotových procent.

K tomu přistupuje obsah těchto plynů v hrdlovém prostoru lahvi, kde se podle kvality vypěňování může vyskytovat 0 až 20 ml vzduchu (0,5 l láhev), zbytek je oxid uhličitý. Celkové množství plynů v 500 ml piva v láhvi s 20 ml hrdlového prostoru udává ve zvolených případech tabulka 1.

Tabulka 1. Obsah CO_2 a O_2 v lahvovém pivu (20 °C, 0,1 MPa)

Hrdlový prostor (20ml)			10 % pivo (500 ml)			
ml vzduchu	O ₂	CO ₂	O ₂ mg l ⁻¹	CO ₂ %	O ₂	CO ₂
	mol.10 ⁴				mol.10 ⁴	
1	0,0873	7,90	1,0	0,35	0,156	401
10	0,873	4,16	2,0	0,40	0,313	458
20	1,746	0	3,0	0,45	0,469	515

Tabulka 2. Úprava vzorků lahvového piva

A — nízký obsah rozpuštěného O_2 , nízký obsah rozpuštěného CO_2
po 1 h třepání piva v 1l baňce pod kvasným uzávěrem se pivem naplnila 0,5l láhev po okraj a uzavřela korunkou
B — vysoký obsah rozpuštěného O_2 , nízký obsah rozpuštěného CO_2
po 1 h třepání piva v 1l baňce překryté gázou se pivem naplnila 0,5l láhev po okraj a uzavřela korunkou
C — vysoký obsah rozpuštěného O_2 , vysoký obsah CO_2
hrdlový prostor v láhvi s původním vzorkem se naplnil čistým kyslíkem, láhev uzavřela korunkou a její obsah protřepal opakovaným převrácením [30×]
D — nízký obsah rozpuštěného O_2 , vysoký obsah CO_2
původní vzorek bez úpravy

Tabulka 3. Reprodukovatelnost úpravy obsahu rozpuštěných plynů v pivu

Úprava	Rozpuštěný O_2 mg l^{-1}				Rozpuštěný CO_2 % hm.			
	1	2	3	4	1	2	3	4
A	0,2	0,2	0,2	0,2	0,17	0,15	0,17	0,17
B	7,0	6,6	6,2	7,3	0,10	0,05	0,04	0,11
C	8,7	8,2	9,8	9,2	0,35	0,35	0,35	0,35
D	0,8	0,6	0,7	0,8	0,39	0,39	0,40	0,39

Tabulka 4. Obsah rozpuštěných plynů a hrdlového vzduchu v sledovaném souboru vzorků

Úprava	Rozpuštěný O_2 mg l^{-1}			Rozpuštěný CO_2 % hm			Hrdlový obsah vzduchu		
	min.	prům.	max.	min.	prům.	max.	min.	prům.	max.
A	0,2	0,33	0,8	0,12	0,18	0,23	—	—	—
B	4,8	6,44	8,4	0,02	0,07	0,14	—	—	—
C	6,2	9,89	15,0	0,32	0,36	0,42	—	—	—
D	0,7	1,89	4,1	0,32	0,37	0,44	1,0	3,9	6,8

Mezi plynnou a kapalnou fází se obsah plynů vyměňuje teoreticky až do dosažení rovnováhy. Za běžných podmínek je výměna plynů pomalá, takže se uplatňuje i spotřeba kyslíku mikroorganismy, popř. chemickými reakcemi s pivem. K rovnováze se lze přiblížit intenzivním protřepáváním láhve. Program pro výpočet rovnovážných koncentrací kyslíku, dusíku a oxidu uhličitýho v obou fázích v láhvi po uzavření je k dispozici v naší laboratoři.

Metodika

Různé vzorky stočeného 10% a 12% piva v 0,5 l lahvičce se upravily při zachování aseptických podmínek (sterilní nádoby, korunky apod.) podle tab. 2. V takto upravených vzorcích se určila trvanlivost při 22 °C a mikroskopický obraz sedimentu nebo zákalu. V souběžně připravených vzorcích se titračně stanovil oxid uhličitý podle [2], rozpuštěný kyslík přístrojem OXI 57 [3] a hrdlový obsah vzduchu [4]. Reprodukovatelnost metody při opakované přípravě vzorků A až D ze stejného vzorku piva udává tab. 3.

Výsledky a diskuse

Obsah rozpuštěných plynů (O_2 a CO_2) a hrdlového obsahu vzduchu v souboru 12 vzorků udává tab. 4. Výsledky trvanlivosti při 22 °C shrnuje tab. 5.

Snížení obsahu rozpuštěného CO_2 z 0,3—0,4 % na 0,02—0,2 % v stočeném pivu podpořilo růst kvasinek i bakterií kazících pivo, a to i v případě, když pivo se sníženou koncentrací CO_2 obsahovalo méně rozpuštěného kyslíku než původní vzorek. V jednom případě rostly kvasinkovité mikroorganismy pouze v pivu se sníženým

663.41:543.92
546.264 546.21

Tabulka 5. Trvanlivost piva při různém obsahu O_2 a CO_2

Vzorek č.	Doba pomnožení kvasinek/baktérií (dny/dny při 22°C)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	5/6	3/4	—/7	5/8	—/6	7/8	—/9	—/8	4/8	7/—	—/24	8/10
B	3/5	3/4	—/6	4/7	3/4	6/7	—/8	7/7	3/7	4/—	—/22	8/10
C	5/9	—/5	—/8	5/18	5/16	8/15	—/10	8/9	5/12	14/—	—/26	8/14
D	5/8	—/5	—/9	5/16	5/9	9/10	—/11	9/9	5/13	18/—	—/30	8/13

vzorky 1—6: 10%, 6—12: 12% pivo

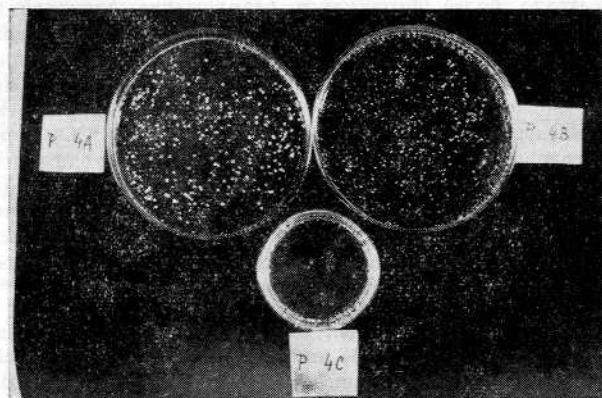
obsahem CO_2 . Typické protáhlé tvary kvasinek s tvorbou pseudomycelia se vyskytovaly v sledovaném souboru vzorků pouze v pivu s nízkou koncentrací CO_2 (série AB).

Snížením koncentrace CO_2 v pivu o 0,2–0,3 % poklesla trvanlivost piva pomnožením kvasinek o 1 až 11 dnů, baktérií o 1 až 10 dnů. Rozdíl mezi trvanlivostmi vzorků A, B (1 až 2 dny) pravděpodobně rovněž souvisí s nižším obsahem CO_2 u vzorků B. Pokles obsahu CO_2 neměl vliv na morfologii pomnožených baktérií.

Naproti tomu zvýšení obsahu rozpuštěného kyslíku v pivu ovlivnilo ve většině případů jen málo trvanlivost piva (pokles o 1–4 dny) u piv s původní (0,3–0,4 %) i sníženou (0,02–0,2 %) koncentrací rozpuštěného CO_2 . Se vzrůstem obsahu kyslíku v pivu se kvasinky pomnožovaly rychleji (pokles trvanlivosti), baktérie rostly v některých vzorcích rychleji, v jiných pomaleji. Některé druhy kvasinek rostly pouze v pivu s nízkým obsahem CO_2 a vysokým obsahem rozpuštěného O_2 .

Získané výsledky ukazují na význam rozpuštěného CO_2 pro růst mikroorganismů v pivu. V mikrobiologické kontrole se při odběru vzorků filtrovaného piva ze stáčecích cest pivo často ochuzuje o CO_2 a tím se zkresluje výsledek stanovení trvanlivosti piva. Vzorky by se měly odebírat za protitlaku, nebo alespoň láhve uzavírat brzo po odběru.

Dosavadní kultivace vzorků piva a provozních mezi-produktů na ztužených živných půdách za aerobních podmínek nebo v atmosféře CO_2 při atmosférickém tlaku nerozlišuje mikroorganismy citlivé nebo necitlivé k CO_2 . Tak se mohou na živných půdách pomnožit mikroorganismy, které v pivu rostou pomalu nebo nerostou.

Obr. 2. *Sacch. uvarum* na pivním agaru

A — aerobní kultivace, B — kultivace v atmosféře CO_2 při 0,1 MPa, C — kultivace v CO_2 při 0,25 MPa.

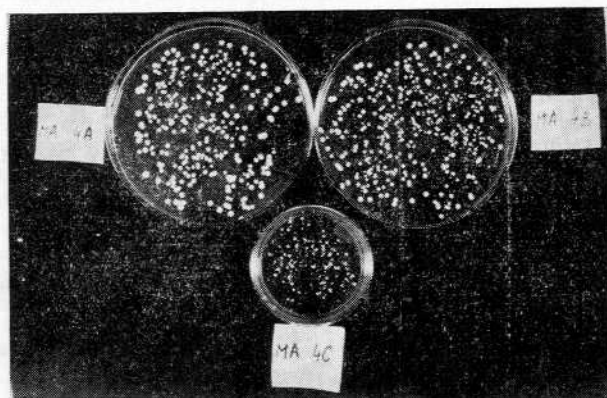
agaru aerobně, v CO_2 za atmosférického tlaku 0,1 MPa i zvýšeného tlaku 0,25 MPa. Přetlak CO_2 nestačil potlačit kvasinky na živinami bohaté půdě, ale na agarem ztuženém pivu byl inhibiční účinek CO_2 dobře patrný. Oxidu uhličitého lze pravděpodobně využít v mikrobiologické kontrole jako selektivního a specifického činidla pro pěstování těch druhů mikroorganismů, které kazí pivo.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Vliv rozpuštěných plynů (CO_2 a O_2) na trvanlivost lahvového piva. Kvas. prům. 26, 1980, č. 6, s. 124–126,

Ze vzorků mikrobiologicky kontaminovaných piv odebraných z provozu se od každého vzorku připravily láhve 4 sérií (A–D) s různými koncentracemi rozpuštěného O_2 a CO_2 . Obsahy rozpuštěných plynů se pohybovaly v rozmezích A: 0,2–0,8 mg O_2 l⁻¹, 0,12–0,23 % CO_2 , B: 4,8–8,4 mg O_2 l⁻¹, 0,02–0,14 % CO_2 , C: 6,2–15,0 mg O_2 l⁻¹, 0,32–0,42 % CO_2 , D: 0,7–4,1 mg O_2 l⁻¹, 0,32–0,44 % CO_2 . U všech lahví se stanovila trvanlivost při 22 °C a mikroskopicky posuzovaly pomnožené mikroorganismy. Snížením koncentrace CO_2 v pivu o 0,2 až 0,3 % poklesla trvanlivost piva pomnožením kvasinek o 1–11 dnů, baktérií o 1–10 dnů. Změny koncentrace rozpuštěného kyslíku v uvedených mezích ovlivňovaly růst mikroorganismů v pivu méně než změny koncentrace rozpuštěného CO_2 . Inhibiční vliv CO_2 se prokázal i na agarem ztuženém pivu při tlaku 0,25 MPa u *Sach. uvarum*. Inhibice na živinami bohaté půdě (mladinový agar) byla výrazně slabší než na pivním agaru.

Literatura

- [1] SEIDEL, H. - BACK, W. - WEISS, N.: Brauwiss. 32, 1979, s. 262–270.
- [2] ŠROGL, J. - AUGUSTIN, S. - TETZELI, J. - NOVOTNÝ, L.: Kvas. prům. 21, 1975, s. 36–38.
- [3] WISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHE WERKSTÄTTEN, Weilheim, NSR: Beschreibung und Bedienungsanleitung zum OXI 39, OXI 6, OXI 57.
- [4] Pivovarsko-sladařská analytika. Praha 1966.

Obr. 1. *Sacch. uvarum* na mladínovém agaru

A — aerobní kultivace, B — kultivace v atmosféře CO_2 při 0,1 MPa, C — kultivace v CO_2 při 0,25 MPa.

Příklad stanovení uvádí obr. 1 a 2. 10 dní stará kultura *Sacch. uvarum* (carlsbergensis) se po zředění kultivovala 3 dny při 28 °C na mladínovém agaru a pivním

Шавел. Я. — Прокопова, М.: Влияние содержания растворенных газов (CO_2 и O_2) на стойкость бутылочного пива. Квас. прум. 26, 1980, № 6, стр. 124—126.

Микробиологически обсемененное пиво было разлито в бутылки и приготовлено так для последующих лабораторных анализов 4 серии (А—D) проб со следующим содержанием растворенных O_2 и CO_2 : А: 0,2 — 0,8 мг $\text{O}_2/\text{л}^{-1}$, 0,12 — 0,23 % CO_2 , В: 4,8 — 8,4 мг $\text{O}_2/\text{л}^{-1}$, 0,02 — 0,14 % CO_2 , С: 6,2 — 15,0 мг $\text{O}_2/\text{л}^{-1}$, 0,32 — 0,42 % CO_2 , D: 0,7 — 4,1 мг $\text{O}_2/\text{л}^{-1}$, 0,32 — 0,44 % CO_2 . Бутылки хранились при температуре 22 °C. Размножение микроорганизмов определялось микроскопически. Снижение концентрации углекислого газа в пиве на 0,2—0,3 % вызвало более интенсивное размножение дрожжей и длительность складирования уменьшилась на 1—11 дней. Размножение бактерий сокращает длительность складирования на 1—10 дней. Содержание кислорода влияет на размножение микроорганизмов значительно слабее чем концентрация CO_2 . Ингибирующее влияние CO_2 подтвердили также результаты экспериментов, в ходе которых дрожжи *Saccharomyces uvarum* разводились под давлением 0,25 МПа в пиве загущенном агаром. При разведении в агаре на пивном сусле, отличающемся высоким содержанием питательных веществ, ингибирующее действие CO_2 заметно менее чем в сусле пивном.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Effects of the Concentration of Dissolved Gases (CO_2 and O_2) Upon the Stability of Bottled Beer. Kvas. prům. 26, 1980, No. 6, pp. 124—126.

Samples of microbiologically contaminated beer containing different amounts of dissolved O_2 and CO_2 were bottled and divided for subsequent laboratory analyses into 4 series (A — D) with the following concentrations of the mentioned gases: A: 0,2—0,8 mg O_2/l^{-1} , 0,12—0,23 % CO_2 ; B: 4,8—8,4 mg O_2/l^{-1} , 0,02—0,14 % CO_2 ; C: 6,2—15,0 mg O_2/l^{-1} , 0,32—0,42 % CO_2 ; D: 0,7—4,1 mg O_2/l^{-1} , 0,32—0,44 % CO_2 . All samples were stored at 22 °C. Propagation of microorganisms was ascertained by microscopic examination. Reduction of

CO_2 concentration by 0,2—0,3 % resulted in decrease of beer stability and shorter safe storage period. Propagation of yeast reduced the storage period by 1—11 days, whereas propagation of bacteria by 1—10 days. Concentration of dissolved O_2 in the specified limits has far less pronounced effects on microorganisms than that of CO_2 . Inhibiting effects of CO_2 were confirmed by cultivating *Saccharomyces uvarum* in beer agar at 0,25 MPa pressure. Inhibition in wort agar, rich in nutritive substances, was less marked than in beer agar.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Einfluß der gelösten Gase (CO_2 und O_2) auf die Haltbarkeit des Flaschenbieres. Kvas. prům. 26, 1980, No. 6, S. 124—126.

Aus den Proben der mikrobiell kontaminierten Betriebsbiere wurden von jeder Probe Flaschen in 4 Serien (A—D) mit verschiedenen Konzentrationen des gelösten CO_2 und O_2 zubereitet. Die Gehalte der gelösten Gase bewegten sich innerhalb der folgenden Bereiche: A: 0,2—0,8 mg O_2/l^{-1} , 0,12—0,23 % CO_2 , B: 4,8—8,4 mg O_2/l^{-1} , 0,02—0,14 % CO_2 , C: 6,2—15,0 mg O_2/l^{-1} , 0,32—0,42 % CO_2 , D: 0,7—4,1 mg O_2/l^{-1} , 0,32—0,44 % CO_2 . In allen Flaschen wurde die Haltbarkeit bei 22 °C bestimmt und mikroskopisch die vermehrte Mikroorganismen beurteilt. Bei Verminderung der CO_2 -Konzentration im Bier um 0,2—0,3 % wurde eine Verkürzung der Haltbarkeit des Bieres aufgrund der Hefenvermehrung um 1 bis 11 Tage, durch Bakterienvermehrung um 1 bis 10 Tage festgestellt. Die Änderungen der Konzentration des gelösten Sauerstoffs innerhalb der angeführten Grenzen beeinflussten das Wachstum der Mikroorganismen im Bier weniger intensiv als die Änderungen der Konzentration des gelösten CO_2 . Der Inhibitionseinfluß von CO_2 wurde auch in dem durch Agar verstärkten Bier bei einem Druck von 0,25 MP und bei *Sach. uvarum* bestätigt. Die Inhibitionswirkung auf einem nährstoffreichen Boden (Würzeagar) war wesentlich schwächer als auf Bieragar.