

Ing. IVO HLAVÁČEK, CSc., Ing. JIŘÍ ŠROGL, Ing. JAROSLAV PESLER Západočeské pivovary, n. p., Plzeň

Oxid uhličitý (CO₂) je jedním z hlavních produktů kvašení a jako takový reaguje s ostatními složkami kvasící mladiny, resp. piva. Vývoj CO₂, který kvasinky produkují téměř po celou dobu kvašení a dokvašování je velmi intenzivní a bublinky plynu procházející substrátem působí na ostatní složky různě. Nejnápadnějším projevem unikání CO₂ z piva je jeho spolupůsobení při tvorbě pěny. Již během kvašení bublinky, stoupající vrstvou mladiny na sebe zachycují látky s nízkým povrchovým napětím a koncentrují je do vrstvy pěny, tvořící se na povrchu.

Při tvorbě pěny nelze zanedbat reakce hořkých látek, které se v pěně vyskytují v poněkud vyšší koncentraci než ve zbývajících kapalině. Na tuto skutečnost upozornil například *Piratzki* [1], vysvětlení však v tomto případě není jednoznačné. Obecně se izohumulony považují za látky, které mají příznivý vliv na pěnivost, avšak mechanismus, jakým zde působí, není objasněn. V průkopnických pracích *Salače et al.* [2, 3] se upozorňuje na důležitost vazby hořkých látek na bílkoviny. Rozdělují proto

hořké látky piva na „koloidní“ vázané na vysokomolekulární bílkoviny a „molekulární“, které se nesrážejí společně s vysokomolekulárními bílkovinami.

Složení pивní pěny je dosti komplikované a sloučeniny bílkovinného charakteru, zde mají značný vliv, a patrně rozhodující úlohu. Pěnotvorné látky, které se působením CO₂ koncentrují do pивní pěny spolupůsobí při tvorbě tzv. „kvasných dek“. Jejich složení je v odborné literatuře věnována značná pozornost. V „kvasných dekách“ se totiž ztrácí nezanedbatelné množství hořkých látek, které odpadají z technologického procesu a tedy se nevyužívají. Údaje literatury se v tomto směru dosti liší. Uvádějí se ztráty 9–39 % během kvašení, které lze rozdělit na ztráty v „dekách“ a ztráty absorpcí na kvasničných buňkách. *Dixon et al.* [4, 5] zkoumali složení „kvasných dek“ u svrchního kvašení. Upozornili na to, že bublinky CO₂ vynášejí izosloučeniny na hladinu, kde se zachycují společně s kvasnicemi. Dále však zjistili, že vlastní adsorpce na kvasnicích je poměrně malá a podílí

se na celkové ztrátě hořkých látek při kvašení asi 20 % (tj. 1,1–7,8 % z celkových hořkých látek). Neměli tedy vysvětlení pro ztráty 15 až 20 % celkových hořkých látek, které byly přítomny v „dece“. Jejich vyloučení z roztoku vysvětlovali chemickými změnami izohumulonů při promývání vrstvy piva CO₂.

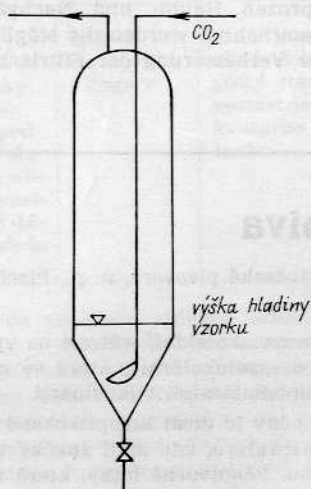
Spetsig [6] podrobil analýze některé produkty odpadající z technologického procesu (chmelové mláto, kvasné deky, hořké kaly). Zjistil, že v kvasných dekách jsou hořké látky přítomny většinou ve formě sloučenin, které jsou za normálních okolností rozpustné (izohumulony, hulupony). Krauß [7] ve svém přehledu též upozorňuje na ztráty hořkých látek v dekách, ztráty jsou menší, když se deka nevytvoří. Mechanismus tvorby „deky“, tj. reakce izohumulonů s bílkovinami mladiny, není dosud zcela objasněn.

Roberts [8] zkoumal reakce proteinů a izohumulonů podrobněji a zjistil, že vazba je v tomto případě poměrně slabá (izohumulony lze oddělit dialýzou). Pro vlastní reakci předpokládá též účast alkoholu při interakci bílkovina — izohumulon. Dosud lze však mluvit pouze o hypotéze.

Experimentální část

V našich pokusech jsme se zaměřili na sledování vlivu průchodu CO₂ pivem na změny hořkých látek a zejména na jejich interakce s vysokomolekulárními bílkovinami. Na testování jsme používali běžná konzumní piva. Základní sledování jsme provedli na 12% pivu Prazdroj, chmeleném žateckým chmelem.

- K promývání jsme použili čistý kvasný CO₂ získaný jímáním při hlavním kvašení,
- izohumulony jsme stanovovali podle Kloppe [9, 10],
- povrchové napětí jsme stanovovali stalagmometrickou metodou [11],
- pěnivou schopnost jsme stanovovali metodou vyvíjenou v naší laboratoři a popsanou dříve [12].



Obr. 1. Pokusná aparatura — flotační kolona

K vlastnímu sledování jsme použili aparatury, schematicky znázorněné na obr. 1. Jde v podstatě o válcovitou nádobu v dolní části kónickou, opatřenou výpustí (možno použít válcovou dělicí nálevku objemu 1 litr). Do spodní části aparatury se fritou (S2) vhání CO₂, který horní částí odchází.

Do aparatury znázorněné na obr. 1 jsme nalili vhodné množství (v našem případě 200–250 ml) vzorku. Potom jsme začali kapalinu promývat CO₂. Z piva, resp. mladiny,

se začala tvořit pěna, jejíž vrstvu jsme nechali vystoupit co nejvýše. Potom jsme seřídili průtok CO₂ tak, aby pěna dále nestoupala, ale zůstávala ve stejné výšce. V tomto stavu byla nově tvořící se pěna v rovnováze s pěnou zanikající. Jde o „flotační kolonu“, kde se látky dělí přibližně podle povrchového napětí: v horní části pěny se koncentrují látky „pěnotvorné“, tj. povrchově aktivní. CO₂ jsme takto nechali procházet delší dobu (obvykle 1 hodinu). Již po 15 minutách promývání piva nebo mladiny se počala na povrchu pěny tvořit hnědá „deka“, která je analogií tzv. „kvasné deky“ při hlavním kvašení. Částičky vznikající sraženiny se usazovaly na stěnách a vnitřním povrchu aparatury. Po 1 hodině promývání jsme vypustili kapalinu ze spodní části aparatury a podrobili ji analýze, zaměřené na obsah hořkých látek, resp. izohumulonů. Výsledky získané u jednotlivých druhů piv jsou uspořádány v tabulce 1.

Tabulka 1.

Druh piva	Obsah izo- α -hořkých kyselin (Kloppe)			
	Před promytím CO ₂		Po promytí CO ₂	
	E ₂₇₅	(MJH)	E ₂₇₅	(MJH)
12 % světlé pivo I	0,806	40,3	0,130	6,5
12 % světlé pivo II	0,786	38,4	0,106	5,3
12 % světlé pivo III	0,712	35,6	0,172	8,6
12 % světlé pivo NDR	0,790	39,5	0,126	6,3
Dia - pivo	0,356	17,8	0,190	9,5
10 % pivo	0,356	17,8	0,118	5,9
18 % tmavé pivo	0,524	26,2	0,252	12,6

Hodnoty uvedené v tabulce vyjadřují překvapivě zjištění, že promývání piva CO₂ má za následek odstraňování hořkých látek (izosloučenin) z roztoku ve značné míře. Stupeň odstranění hořkých látek je různý, je však třeba připomenout, že intenzita promývání plynem nebyla stejná a nebylo ji v popsaných podmínkách možno zajistit. Rheologické vlastnosti jednotlivých vzorků byly totiž značně odlišné. Například 18% tmavé pivo jsme museli promývat CO₂ méně intenzivně, protože vznikající pěna zde zpočátku byla velmi stabilní a průtok plynu kolonou musel být velmi nízký.

Tabulka 2.

Substrát	Obsah izohumulonů	
	E 275	(MJH)
12 % světlé pivo - srovnávací	0,776	38,8
12 % světlé pivo 4 h promývané CO ₂	0,056	2,8
12 % mladina	1,17	58,5
12 % mladina 3 h promývaná CO ₂	0,099	5,0
prokvašená 12 % sladina	0,112	5,6

Při dalších pokusech jsme zjistili, že popsaným postupem lze pivo izohumulonů zbavit úplně. To jsme ověřili dlouhodobým (4 hodiny) promýváním. Extinkce izooktanového výtěpku byla v tomto případě nižší než u stejné analyzované prokvašené 12% sladiny — (podle Kloppe). Podobně lze zbavit izohumulonů i mladinu. Analytické zjištění je přitom v souladu s organoleptickým posouzením — dlouhodobě promývaná piva a mladiny nechutnají hořce. Výsledky analýz jsou uspořádány v tabulce 2. Protože nelze při tak nízkých extinkcích sta-

novení podle Kloppea považovat zjištěné hodnoty za odpovídající skutečným „izohumulonům“, uvádíme ve všech případech též extinkci izooktanového výtřepku při 275 nm. Po usazení pěny a vypuštění kapaliny z aparatury zůstávají na stěnách částice usazené „deky“. Abychom zjistili alespoň přibližně jejich složení, vypláchli jsme aparaturu fosfátovým ústojným roztokem pH 7,1 a orientačně zjistili přítomnost izohumulonů ve vysokém množství. Mimoto jsme podrobili vzorky zkoumaného piva, promytého piva i výplachu aparatury chromatografii na sloupci Sephadexu G-25. Podmínky chromatografie:

dávky vzorku 10 ml

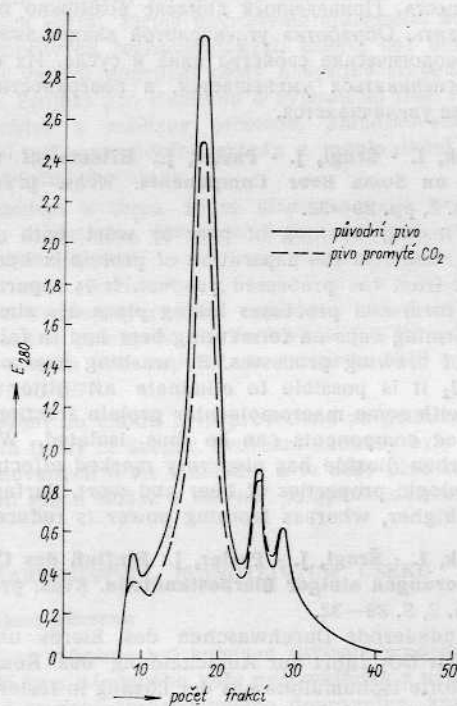
délka kolony 40 cm

Ø kolony 2,5 cm

eluze 0,05 M NaCl

rychlost průtoku kolonou 10 ml/10 min

detekce — měření extinkce při 280 nm.



Obr. 2. Vzorek zkoumaného piva

Tabulka 3.

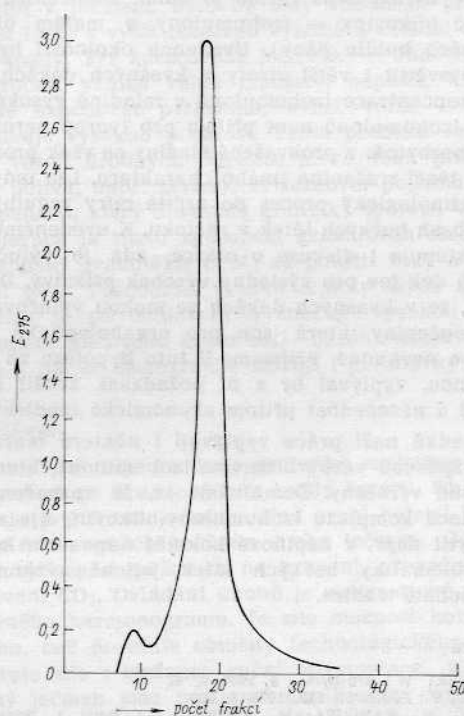
Druh piva	Povrchové napětí (mN · m ⁻¹)	Pěnová schopnost (Σ)
12 % světlé pivo	49,39	236
12 % světlé pivo po promytí CO ₂	53,96	101

Výsledky jsou zachyceny v obr. 2 a 3. Z obr. 2 je patrné, že promýváním CO₂ ubývá vyšemolekulárních, bílkovinných frakcí piva. Zřejmě však vazba izohumulonů není omezena na nějakou frakci s přesně ohraničenou molekulovou hmotností, vyšemolekulární frakce zaznamenaly pokles, zejména u prvních dvou vrcholů.

Na obr. 3 je patrný výsledek gelové chromatografie výplachu aparatury, tj. rozpouštění pevných částí. Potvrdilo se, že s izohumulony reagují podle očekávání vý-

Tabulka 4.

Vzorek	Dávka chmele (g/l)	Obsah izosloučenin		
		mladina (MJH)	mladé pivo (MJH)	ztráta
I.	2	42,5	33,0	9,5
II.	3	53,9	43,0	12,9
III.	4	85,8	55,8	20,0
IV.	5	93,2	65,0	26,3



Obr. 3. Vzorek výplachu aparatury

šemolekulární bílkoviny, nižemolekulární frakce se při popsáních podmínkách chromatografie neprojeví. Následkem promývání piva a mladiny CO₂ je snížení jejich pěnové schopnosti a zvýšení povrchového napětí. To je v daném případě velmi významné, jak lze vyčíst z výsledků uvedených v tabulce 3.

Je tedy zřejmé, že při promývání piva CO₂ se do „floatačních dek“, které jsou z největší pravděpodobnosti analogické „kvasným dekám“, zachycují vedle hořkých látek, resp. izohumulonů frakce bílkovin důležité pro pěnovost. Ve středu zájmu však dosud byla přítomnost hořkých látek v kvasných dekách. Je známo, že jejich ztráta je tím větší, čím více hořkých látek mladina obsahuje. To jsme potvrdili i laboratorním pokusem.

Z 12 % provozní sladiny jsme připravili laboratorní mladiny tak, že jsme dávkovali chmel v odstupňovaném množství. Potom jsme nechali mladinu prokvasit při nízké teplotě (asi +8 °C) a provedli stanovení izohumulonů. Výsledky jsou uspořádány v tabulce 4.

Diskuse výsledků a závěr

Z našich pokusů vyplývá, že na povrchu bublin se vylučují hořké látky z roztoku ve vazbě na vysokomolekulární bílkoviny. Je překvapující, že toto vylučování je značné: dokonce lze roztok popsáním postupem zcela zbavit izohumulonů. Vysvětlení tohoto jevu není jednoduché, avšak v principu lze uvažovat o dvou možnostech:

1. buď jsou veškeré izosloučeniny přítomné v mladině a pivo vázány na bílkoviny,

2. nebo vazba na bílkoviny probíhá až ve stěnách tvořících se bublin.

Domníváme se, že pravděpodobná je spíše alternativa uváděná jako první. Již lze totiž vysvětlit i vysoký obsah izosloučenin v hořkých kadech, kde tvoří převážující formu hořkých látek.

Vylučování hořkých látek z roztoku není způsobeno změnami pH, což jsme ověřili mimo jiné i měřením pH kapaliny vytvořené z posledního podílu pěny po dlouhodobém rozpěňování piva. Je tedy pravděpodobné, že vyloučení v nerozpustné formě je dáno zkoncentrováním komplexů bílkoviny — izohumulony v malém objemu (ve stěnách bublin pěny). Uvedenou okolností by bylo možno vysvětlit i větší ztráty v kvasných dekách, je-li vlastní koncentrace izohumulonů v mladině vysoká. Přítomnost izohumulonů není přitom pro tvorbu nerozpustné fáze nezbytná: z prokvašené sladiny se však promýváním CO₂ tvoří sraženina jiného charakteru. Lze tedy říci, že si technologický proces do určité míry reguluje výsledný obsah hořkých látek v roztoku. K uvedenému faktoru přistupuje i diskuse o otázce, zda je vylučování kvasných dek jev pro výsledný výrobek příznivý. Domníváme se, že v kvasných dekách se mohou vylučovat některé sloučeniny, které jsou pro organoleptické vlastnosti piva nevhodné. Přijmeme-li tuto hypotézu za pravděpodobnou, vyplývá by z ní požadavek zvážit dávku chmelení a nezanedbat přitom ekonomické hledisko.

Z výsledků naší práce vyplývají i některé teoretické otázky (způsobu vazby bílkovina-izohumulon), které nejsou dosud vyřešeny. Domníváme se, že naznačený postup izolace komplexu izohumulony-bílkoviny (je možno jej zachytit např. v náplňové koloně) napomůže ke studiu problematiky hořkých látek, jejichž výzkum má v ČSSR bohaté tradice.

Literatura

- [1] PIRATZKI W.: Brauwiss., 8, 1955, s. 42
- [2] SALAČ, V.: Brauwelt 113, 1973, s. 227
- [3] SALAČ, V., VANCURA, M., KOTRLA, M.: Petit J. Brass., 61, 1953, s. 725
- [4] DIXON, I. J.: Journal Inst. Brew., 73, 1967, s. 488
- [5] DIXON, I. J., LEACH, A. A.: Journal Inst. Brew., 74, 1968, s. 63
- [6] SPETZIG, L. O.: Journal Inst. Brew., 74, 1968, s. 346
- [7] KRAUSS, G.: Brauwiss., 8, 1955, s. 42
- [8] ROBERTS R.: Journal Inst. Brew., 62, 1976, s. 282
- [9] KRÜGER, E., BIELIG, H. J.: Betriebs- und Qualitätskontrolle in Brauerei und alkoholfreier Getränkeindustrie, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1976
- [10] Analytische EBC - III, Schweizer Brauerei-Rundschau, Zürich, 1977
- [11] JANÍČEK, G., ŠANDERA, K., HAMPL, B.: Rukověť potravinářské analýzy, SNTL, Praha 1962
- [12] ŠROGL J., PRŮCHA, P.: Kvasný průmysl, 25, 1979, s. 73

Hlaváček, J. - Šrogl, J. - Pesler, J.: Vliv CO₂ na změny některých složek piva. Kvas. prům., 27, 1981, č. 2, s. 29—32.

Dlouhodobé promývání piva i mladiny CO₂ způsobuje vylučování komplexů bílkoviny-izohumulony z roztoku v pevné formě. Tyto procesy jsou analogické ke tvorbě

„kvasných dek“ při kvašení a „mazání“ piva. Promýváním CO₂ lze zcela zbavit pivo popř. mladinu hořkých látek, ve vazbě s některými výšemolekulárními frakcemi bílkovin. Komplex uvedených skupin látek lze tímto postupem izolovat. Rheologické vlastnosti piva a mladiny se promýváním CO₂ značně mění, klesá jejich pěnová schopnost a stoupá povrchové napětí.

Главачек, И. — Шрогл, Ю. — Песлар, Я.: Влияние углекислоты на некоторые составляющие пива. Квас. прум., 27, 1981, № 2, стр. 29—32.

Длительная обработка пива или суслу углекислым газом вызывает выделение из них комплекса, состоящего из протеннов и изогумулона. Комплекс выделяется в твердом состоянии. Происходящие процессы сходны с процессами образования так наз. шапок на сбраживаемом пиве. Посредством обработки пива или суслу углекислотой можно из них удалить все горькие вещества, связанные с некоторыми высокомолекулярными фракциями белковых веществ. Приведенный комплекс возможно поэтому изолировать. Обработка углекислотой влияет значительно на реологические свойства пива и суслу. Их способность вспениваться уменьшается, а поверхностное натяжение увеличивается.

Hlaváček, J. - Šrogl, J. - Pesler, J.: Effects of Carbon Dioxide on Some Beer Components. Kvas. prům., 27, 1981, No. 2, pp. 29—32.

Long lasting washing of beer or wort with carbon dioxide results in the separation of protein-isohumulone complex from the processed product. It is separated in a solid form and processes taking place are similar to those forming caps on fermenting beer and in following stages of brewing processes. By washing beer or wort with CO₂ it is possible to eliminate all bitter resins bound with some macromolecular protein fractions. The mentioned components can be thus isolated. Washing with carbon dioxide has also very marked effects upon the rheologic properties of beer and wort. Surface tension is higher, whereas frothing power is reduced.

Hlaváček, J. - Šrogl, J. - Pesler, J.: Einfluß des CO₂ auf die Änderungen einiger Bierbestandteile. Kvas. prům., 27, 1980, No. 2, S. 29—32.

Das andauernde Durchwaschen des Bieres und der Würze mit CO₂ führt zur Ausscheidung des Komplexes Eiweißstoffe-Isohumulone aus der Lösung in fester Form. Diese Prozesse sind analogisch zu der Bildung der „Gärdecke“ und der Schaumhaube („Kappe“) nach dem Schlauchen. Das Durchwaschen mit CO₂ kann die totale Entfernung der Bitterstoffe in Bindung mit einigen höhermolekularen Eiweißfraktionen aus dem Bier, bzw. aus der Würze verursachen. Der Komplex der erwähnten Substanzengruppen kann durch diesen Vorgang isoliert werden. Die rheologischen Eigenschaften des Bieres und der Würze ändern sich durch das CO₂-Durchwaschen beträchtlich; das Schaumvermögen sinkt ab und die Oberflächenspannung wächst an.