

## Význam a původ oxidu siřičitého v pivu

Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Ing. ALEXANDR MIKYŠKA, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

### Úvod

V posledním období se stále upřesňují přípustné hranice řady látek v poživatinách, které by mohly při vyšších koncentracích a dlouhodobé konzumaci působit změny zdravého organismu. Kromě výrazně toxických, kancerogenních a mutagenních sloučenin jsou zkoumány i účinky dalších látek přítomných jako přirozené substance v potravinách, jejichž obsah se však může mnohonásobně zvýšit úpravou potravin přípravky zlepšujícími jejich vzhledové vlastnosti a trvanlivost. Tím se však zvýší i potenciální nebezpečí příslušných sloučenin pro zdravý organismus. Do uvedené skupiny patří i oxid siřičitý, který je přítomen v běžných surovinách pro výrobu piva v nepatrných koncentracích a tvoří se především při kvašení piva v metabolických cestách zásadních změn sirných sloučenin. Úprava suroviny, tj. sladu a chmele sířením, může více či méně zvýšit koncentraci oxidu siřičitého, ale nemá podstatný vliv na jeho zvýšení v pivu, protože se tato sloučenina odpaří ve varném procesu. Vysoké koncentrace  $\text{SO}_2$  v pivu však může způsobit úprava tohoto nápoje sirnými sloučeninami za účelem zvýšení trvanlivosti a potlačení možností oxidačních změn piva. U nás i v řadě dalších států je úprava piva sirnými přípravky zakázána. Názory autorů na hraniční koncentraci  $\text{SO}_2$ , která je rozhodující pro průkaz úpravy piva uvedeným způsobem, se značně liší. Předkládaný a další články mají přispět k bližší specifikaci základních faktorů, které ovlivňují tvorbu oxidu siřičitého v pivu a k určení maximálních koncentrací, které se vytvoří přirozenou cestou v metabolismu pivovarských kvasinek.

### Působení oxidu siřičitého a dalších sirných sloučenin na živý organismus

Přípustná denní dávka kyseliny siřičité a jejích solí pro člověka je z hlediska zdravotní nezávadnosti podle WHO-FAO 0,0–0,7 mg na kg hmotnosti a den [1]. Do této limitní dávky se započítávají sirné sloučeniny obsažené v potravinách a nápojích jako přirozené látky surovin a metabolických pochodů včetně přídatných látek používaných k úpravě poživatin [2]. Experimentálně se prokázalo, že uvedená přípustná denní dávka je konzumována ve výši pouze 1 až 10 % [3].

Otrava sirnými sloučeninami u lidí při perorálním příjmu není možná, protože následuje vydávení [4]. Letální dávka pro 50 % pokusných zvířat ( $\text{LD}_{50}$ ) při této aplikaci je vysoká, a to 1000 až 1600 mg  $\text{SO}_2$  na kg hmotnosti [1].

Podstatně silněji toxické jsou sirné kyseliny a sulfity při intravenózní aplikaci. Například u myši je  $\text{LD}_{50}$  130 mg natriumhydrogensulfitu ( $\text{NaHSO}_3$ ) a 175 mg natriumsulfitu ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) na kg hmotnosti [4]. Při zvýšené konzumaci kaliummetabisulfitu (0,5–1,0 %) po dobu 10 dnů se zvyšuje ztráta vápníku v organismu [5]. Smrtelné účinky se stupňují, jsou-li pokusná zvířata držena v chladu. U dalších skupin zvířat, např. prasat, 15týdenní podávání 1,7 % dávek sulfitů způsobilo zastavení růstu a změny vnitřních orgánů [6]. Dávky 0,5–2,0 % v potravě během jednoho roku způsobí škody v řadě směrů, především na nervovém systému a vnitřních orgánech. U lidí vyvolávají přídatky v potravě pod 0,1 % natriumbisulfitu nejdříve přírůstky hmotnosti [7].

Z biologických vlivů se prokázalo, že zvýšená koncentrace sulfitů v potravě ovlivňuje mikrobiální systém v oblasti trávicího traktu před žaludkem. Sulfity ničí thiamin, u ostatních vitamínů skupiny B nebyl pozorován žádný vliv [8]. Při pokusech na lidech se neprokázaly významné změny.

Lidé s chybějící nebo sníženou hladinou volné kyseliny chlorovodíkové v žaludku lépe snášejí bohatě sířená vína, protože se při teplotě těla 37 °C rychle odštěpí volný oxid siřičitý z vázaných sirných solí [9].

Podle nových výzkumů může sulfit *in vitro* změnit vzájemně cytosin a uracil, respektive cytidin a uridin. Možnost mutagenních a kancerogenních účinků působením zvýšených dávek sirných sloučenin u lidí nebyla doposud prokázána [1]. Jako primární vliv přichází v úvahu nárazové působení na nervový systém zahrnující faktory stresu, změny teploty a infekce vzhledem k ovlivnění tvorby kortikosteroidů.

### Původ oxidu siřičitého v pivu

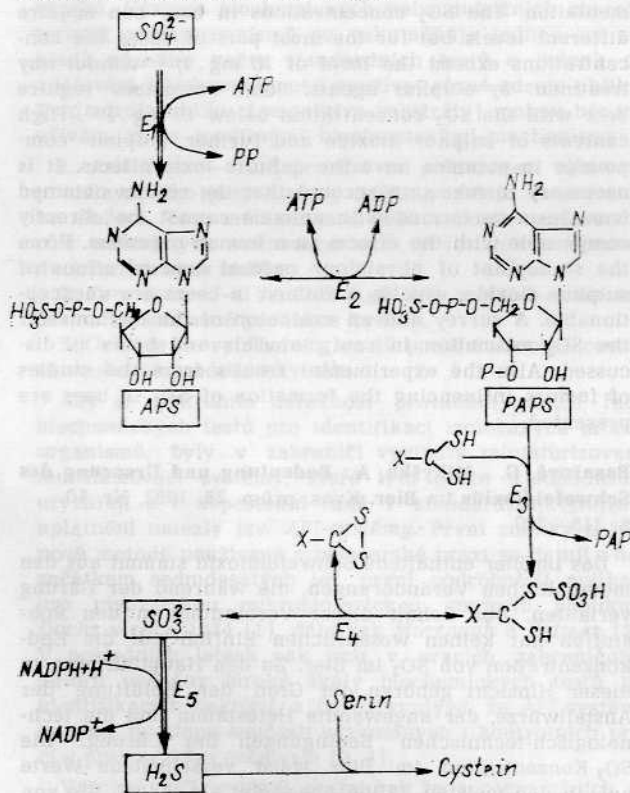
Podrobný výzkum statistiky zpracovaných analýz celé škály druhů pív prokázal, že oxid siřičitý může vznikat při hlavním kvašení a dokvašování průměrně v množství 15–20 mg na litr, aniž by se přidával jako pomocná látka [10].

Proto některými zahraničními odběrateli limitovaná přípustná koncentrace 10 mg/l je nelogická a všeobecně jsou v posledním období určovány přípustné hranice v různých širších rozmezích [11].

Ječmen neobsahuje oxid siřičitý, ale k zevšeobecnění tohoto tvrzení by bylo zapotřebí analyzovat vzorky z oblastí velkých průmyslových celků a silného automobilového provozu [12].

Provozní voda může přinést do mladiny zvýšená množství (0–912 mg/l síranu) [11].

Ve sladu se uvádí průměrná koncentrace oxidu siřičitého 11,1 mg/kg s rozsahem výkyvů od 0 do 64 mg/kg [13]. Vyšší koncentrace se zjišťují u sladů vyrobených na hvozdech s přímým vyhříváním při použití topných olejů (15–30 mg/kg) a koksu (40–80 mg/kg). Slady z hvozdu s nepřímým vyhříváním obsahují převážně pouze stopy  $\text{SO}_2$ . Ve sladech, které se intenzivně síří k omezení tvorby kancerogenních nitrosaminů, zůstává zachyceno pouze 12–21 % aplikovaného množství síry jako  $\text{SO}_4$  nebo  $\text{SO}_2$  [11]. Zbytek jde do atmosféry a narušuje zařízení korozí. V zásadě silně sířené slady a vody s větším obsahem sulfidových iontů nemají stěžejní vliv na koncentraci oxidu siřičitého v pivu. Sulfátové vody snižují pH rmutů, podporují proteolýzu a v souvislosti s tím jsou mladiny bohatší na sírné aminokyseliny. Na světovém trhu převažuje v současnosti požadavek, aby slad obsahoval maximálně 10 mg  $\text{SO}_2$ /kg.



Obr. 1. Schéma enzymové redukce sulfátových iontů.

ATP — adenosintrifosfát, APS — adenosyl-5-fosfosulfát, PAPS — 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfát,  $E_1$  — sulfátadenylyltransferáza (EC 2.7.7.5),  $E_2$  — adenylylsulfátkináza (EC 2.7.1.25),  $E_3$  — sulfáttransferáza,  $E_4$  — sulfidreduktáza (EC 1.8.1.2)

Chmel se běžně síří, aby se zabránilo oxidaci hořkých kyselin [14, 15]. Tato surovina silně přijímá síru při úpravě, ale její koncentrace klesá během skladování. Uváděné obsahy  $\text{SO}_2$  v hlávkovém chmelu se velmi liší a jsou od 128 do 3000 mg/kg, v chmelovém extraktu 0 až 160 mg/kg [12].

Oxid siřičitý přítomný ve vzduchu značně poškozuje chmel v průběhu vegetace. Při teplotách 17 až 30 °C, relativní vlhkosti vzduchu 35–75 % a obsahu  $\text{SO}_2$  0,15 mg/m<sup>3</sup> vzduchu se tvoří na chmelu během pěti hodin skvrny. Při průkazném narušení rostlin se snižuje výnos až o 33 %. Především vznikají ztráty  $\alpha$ -hořkých kyselin; závažněji na stáří a vegetační fázi chmele [1].

Mladiny vyrobené ze surovin s vysokým obsahem oxidu siřičitého mají maximálně 1 mg  $\text{SO}_2$ /l, protože se tato

sloučenina ze surovin extrahuje a odpaří. Nebyly zjištěny podstatné rozdíly mezi infúzním a dekokčním postupem.

Velká pozornost se věnuje studiu tvorby a redukci oxidu siřičitého při kvašení a dokvašování, protože zde je hlavní zdroj koncentrace  $\text{SO}_2$  v pivu.

Z biochemického hlediska tvoří kvasinky aminokyseliny obsahující síru, tj. cystin a cystein z anorganických sulfátů při vzniku sulfitů a oxidu siřičitého jako meziproduktů. Sulfátové ionty se aktivují energeticky bohatými sloučeninami (ATP) a v řadě dalších enzymových reakcí jsou redukovány přes sulfit na sirovodík [16, 17]. Náclhynost ke zvýšené tvorbě  $\text{SO}_2$  souvisí s neúplnou opěťovanou redukcí sulfitu na sirovodík při syntéze sírných aminokyselin, především při jejich nedostatku v mladině. Schéma enzymové redukce sulfátových iontů při kvašení je uvedeno v obrázku 1 [18].

Rozdíly v koncentraci oxidu siřičitého v pivu jsou závislé na řadě faktorů [1, 11]. V každém případě má velký vliv kmen použitých kvasnic a zákvasná dávka. Svrchní kvasinky rychle vylučují  $\text{SO}_2$  již v zákvasné fázi a menší podíl spotřebují v době ležení. Spodní kvasinky tvoří  $\text{SO}_2$  pomaleji, ale ve větší koncentraci, redukce při ležení je menší [20, 12, 16, 21]. Přitom práškovité kmeny během dokvašování zajišťují vyšší úbytek  $\text{SO}_2$  v pivu než kdropíkovité [11]. Zvýšenou tvorbu oxidu siřičitého dále podporuje vyšší obsah cukrů a koncentrace mladiny [11, 22], vyšší teploty při kvašení, vysoký obsah sulfátů v mladině, přidání kyseliny pantothenové, pyridoxinu a thiaminu do mladiny [1], nedostatečné provzdušnění mladiny [11, 21]. U vysokoprocentních mladin silné provzdušnění znamená redukcí obsahu  $\text{SO}_2$  přibližně na polovinu, u běžných koncentrací asi o 20 %. Přitom práškovité kvasinky velmi citlivě reagují na obsah kyslíku v zakvašované mladině. Tvoří značné koncentrace  $\text{SO}_2$  při zkvašování neprovzdušněných mladiny a naopak minimální v případě dostatečného přísunu kyslíku v první fázi kvašení [1].

Z dalších vlivů na tvorbu  $\text{SO}_2$  při kvašení lze uvést přídavky zinku, které znamenají nepatrné snížení a promývání mladého piva oxidem uhlíčitým, které má naopak vysoký efekt. Promítá se i působení materiálu, ze kterého jsou vyrobeny varní pánve [11]. Piva z měděných nádob mají vyšší hodnoty pH než z nerezocelových, což znamená zhoršenou redukcí  $\text{SO}_2$  během ležení. Přídavek oxidu siřičitého (15 mg/l) stejně jako kyseliny askorbové (25 mg/l) během kvašení nebo ležení piva snižuje rH o 1,0 až 1,5, obsah aldehydů o 15 %. Nemá však vliv na průběh kvašení, tvorbu  $\text{SO}_2$ , ale stoupá obsah diacetylů v pivu [1].

## Závěr

Nadměrný obsah oxidu siřičitého v nápojích působí toxicky, i když výsledky pokusů provedených na zvířatech nelze jednoznačně extrapolovat na lidský organismus. Podle dnešních poznatků jsou koncentrace oxidu siřičitého běžně obsažené v pivě fyziologicky nezávadné.

Piva, která nebyla upravena přídavky sírných přípravků, mají v převažujícím počtu druhů koncentrací  $\text{SO}_2$  nad hranici 10 mg/l [19]. Rozhodujícími faktory v tvorbě oxidu siřičitého při kvašení jsou stupeň provzdušnění zakvašované mladiny, druh a dávka použitých kvasnic a teploty kvašení.

## Literatura

- [1] PIENDL, A., SPECKNER, J., DRAXINGER, A., WILNHAMMER, J.: Brauwelt 120, 1980, s. 1746.
- [2] Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and specifications: Food and Agricult. Org. of the UN, Rome 1974, s. 40.
- [3] LÜCK, E., REMMERT, K. H.: Zschrift f. d. ges. Lebensmittelrecht 3, 1976, s. 115.
- [4] SCHLOETER, L. C.: Sulfur dioxide Applications in foods beve-



- rages and pharmaceuticals, Peégamon Press, New York 1966, s. 342.
- [5] HUGO, D., CAUSERT, J., LECLERC, J.: *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **5**, 1965, s. 53.
- [6] TIL, H. P., FERON, V. J., GROOT, A. P.: *Food Cosmetics Toxicology* **10**, 1972, s. 463.
- [7] FITZHUGH, O. G. G., KNUDSEN, L. F., NELSON, A. A.: *J. Pharmacology Exper. Therapy* **86**, 1946, s. 37.
- [8] LEICHTER, J., JOSLYN, M. A.: *Biochem. Journal* **113**, 1969, s. 611.
- [9] SCHANDLER, H.: *Zeitschrift Lebensm. Unters. Forsch.* **103**, 1956, s. 379.
- [10] THALACKER, R.: *Msch. Brauerei* **29**, 1976, s. 152.
- [11] NARZISS, L.: *Brauwelt* **122**, 1982, s. 254.
- [12] THALACKER, R.: *Msch. Brauerei* **27**, 1974, s. 186.
- [13] SCHILD, E., ZACHERL, R.: *Brauwissenschaft* **18**, 1965, s. 321.
- [14] HAUTKE, P., MAKOVEC, K., DREXLER, O., FRIC, U.: *Rostlinná výroba* **18**, 1972, s. 1087.
- [15] SCHUSTER, K., STARITZ, H.: *Brauwissenschaft* **9**, 1953, s. 182.
- [16] TRESSL, L., HOLZER, M., NEUMANN, L.: *Msch. Brauerei* **28**, 1975, s. 45.
- [17] LAWRENCE, W. C., COLE, E. R.: *Wallerstein Lab. Commun.* **31**, 1968, s. 95.
- [18] TRESSL, L., HOLZER, M., NEUMANN, L.: *Msch. Brauerei* **28**, 1975, s. 47.
- [19] THALACKER, R., KALTWASSER, L.: *Msch. Brauerei* **34**, 1981, s. 115.
- [20] BLENNER, H. W., OWADES, J. L.: *Proc. ASBC Congr.*, 1955, s. 41.
- [21] MASSCHELEIN, C. A., RAMOS JEUNEHOMME C., DEWREUX, A.: *Proc. EBC Congr.* 1981, s. 148.
- [22] THALACKER, R.: *Msch. Brauerei* **26**, 1973, s. 153.

**Basařová, G. - Mikyška, A.: Význam a původ oxidu siřičitého v pиву.** *Kvas. prům.*, **23**, 1982, č. 10, s. 218—220.

Oxid siřičitý obsažený v pиву pochází z metabolických změn probíhajících při kvašení. Obsah této sloučeniny v surovinách nemá zásadní vliv na konečnou koncentraci  $\text{SO}_2$  v pivě. Hlavními faktory v tomto směru jsou stupeň provzdušnění zakvašené mladiny, druh používaných kvasnic a technologicko-technické podmínky kvašení. Koncentrace  $\text{SO}_2$  v pиву jsou různé, ale ve většině případů přesahují některými odběrateli piv požadovanou hranici 10 mg/l, aniž se pivo upravovalo sirnými přípravky. Vysoké obsahy oxidu siřičitého a dalších sirných sloučenin v poživatinách mají určité toxické účinky, i když pokusy provedené na zvířatech nelze jednoznačně extrapolovat na lidský organismus. Přirozené koncentrace oxidu siřičitého obsažené běžně v pivech jsou fyziologicky nezávadné. V následujícím sdělení budou uvedeny přehledy a zhodnocení metod stanovení  $\text{SO}_2$  v surovinách a v pиву a experimentální výsledky studií faktorů ovlivňujících tvorbu oxidu siřičitého v pиву.

**Басаржова, Г., Микишка, А., Значение и происхождение двуокиси серы в пиве.** *Квас. прум.*, **28**, 1982, Но. 10, стр. 218—220.

Двуокись серы, содержащаяся в пиве, происходит из метаболических изменений, протекающих в течение брожения. Содержание этого соединения в сыре не оказывает принципиального влияния на окончательную концентрацию двуокиси серы в пиве. Главными факторами в этом направлении являются степень аэрации сброженного сусла, вид применяемых дрожжей и технологотехнические условия брожения. Концентрация двуокиси серы в пиве разна, однако в большинстве случаев она выше, чем некоторыми заказчиками требуемый предел 10 мг/л, без обработки пива сернистыми препаратами. Высокое содержание двуокиси серы и других серосодержащих соединений в пищевых продуктах имеет определенное токсичное действие, хотя экспери-

менты, проведенные с животными нельзя однозначно отнести к человеческому организму. Естественные концентрации двуокиси серы нормально содержащиеся в пивах физиологически безвредны. В следующем сообщении будет приведен обзор и оценка методов установления двуокиси серы в пиве и в сыре и экспериментальные результаты изучения факторов, оказывающих влияние на образование двуокиси серы в пиве.

**Basařová, G. - Mikyška, A.: Origin and Significance of Sulphur Dioxide in Beer.** *Kvas. prům.* **28**, 1982, No. 10, p. 218—220.

Sulphur dioxide presented in beer comes from metabolic changes which takes place during a fermentation. The content of that compound in raw materials has not a principal effect on the final  $\text{SO}_2$  concentration in beer. The main factors affecting the final  $\text{SO}_2$  concentration in beer are an aeration intensity of pitched wort, yeast species used and technological conditions of the fermentation. The  $\text{SO}_2$  concentrations in beer can acquire different levels but for the most part of cases the concentrations exceed the level of 10 mg.l<sup>-1</sup> without any treatment by sulphur agents. Some customers require beer with the  $\text{SO}_2$  concentration below 10 mg.l<sup>-1</sup>. High contents of sulphur dioxide and further sulphur compounds in eatables have the definite toxic effects. It is necessary to take into account that the results obtained from tests performed with animals cannot be directly comparable with the effects on a human organism. From the standpoint of physiology natural concentrations of sulphur dioxide, usually contained in beers are unexceptionable. A survey and an evaluation of the methods for the  $\text{SO}_2$  estimation in raw materials and beers is discussed. Also the experimental results from the studies of factors influencing the formation of  $\text{SO}_2$  in beer are presented.

**Basařová, G. - Mikyška, A.: Bedeutung und Ursprung des Schwefeldioxids im Bier.** *Kvas. prům.* **28**, 1982, Nr. 10, S. 218—220.

Das im Bier enthaltene Schwefeldioxid stammt aus den metabolischen Veränderungen, die während der Gärung verlaufen. Der Gehalt dieser Verbindung in den Rohstoffen hat keinen wesentlichen Einfluß auf die Endkonzentration von  $\text{SO}_2$  im Bier. Zu den Hauptfaktoren in dieser Hinsicht gehören der Grad der Belüftung der Anstellwürze, der angewandte Hefestamm und die technologisch-technischen Bedingungen der Gärung. Die  $\text{SO}_2$ -Konzentration im Bier weist verschiedene Werte auf, in den meisten Fällen übersteigt sie jedoch die von einigen Abnehmern geforderte Grenze von 10 mg/l, ohne daß das Bier durch Schwefelpräparate aufbereitet wäre. Hohe Gehalte des  $\text{SO}_2$  und weiterer Schwefelverbindungen in Lebens- und Genußmitteln weisen bestimmte toxische Wirkungen auf, wenn auch die Ergebnisse der an Tieren durchgeführten Versuche nicht eindeutig auf den menschlichen Organismus extrapoliert werden können. Die natürlichen, im Bier gewöhnlich enthaltenen  $\text{SO}_2$ -Konzentrationen sind physiologisch einwandfrei. In den anknüpfenden Mitteilungen werden Übersichten und Auswertungen der Methoden der  $\text{SO}_2$ -Bestimmung in Brauereirohstoffen und Bier sowie auch experimentale Ergebnisse der Studien der Faktoren, die die  $\text{SO}_2$ -Bildung im Bier beeinflussen, angeführt werden.