

Tvorba oxidu siřičitého pivovarskými kvasinkami

663.45:546.224 663.123

Ing. JANA VERNEROVÁ, CSc., Ing. ALEXANDR MIKYŠKA — Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc. — Vysoká škola chemicko-technologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha

ÚVOD

V předcházejících článcích byl stručně zhodnocen význam, obsah a původ oxidu siřičitého v pivu včetně současných běžných metod pro jeho stanovení. Diskuse o vzniku oxidu siřičitého v pivu, které byly v posledním období publikovány v zahraničním odborném tisku jsou reakcí na původní názor, že hodnoty nad 10 mg SO₂ v litru piva naznačují již úpravu tohoto nápoje sirnými konzervačními prostředky.

V předkládaném článku uvedené výsledky experimentů potvrzují v souladu s pracemi zahraničních autorů [1, 2, 3, 4], že se v pivech vyskytují rozdílné koncentrace oxidu siřičitého v širokém rozmezí v závislosti na řadě technologických faktorů. Během studií se sledoval:

- a) vliv kvasničného kmeně na tvorbu oxidu siřičitého,
- b) vliv dávky násadních kvasnic,
- c) vliv stupně provzdušnění mladiny hodnocený koncentrací rozpuštěného kyslíku.

MATERIÁL A METODIKA

Hodnocené kmeny kvasinek

Tvorba oxidu siřičitého se sledovala u kmenů spodních pivovarských kvasinek *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*) P₂, P₆, P₉, P₁₀, 96, které jsou vedeny ve sbírce VÚPS a jsou používány v provozech pivovarů. Na základě jejich nejvýznamnějších technologických vlastností, kvasné a sedimentační schopnosti, prověřených při jejich typizaci [5] je kmen *Saccharomyces uvarum* P₂ charakterizován jako středně prokvašující,

ostatní kmeny jako hlubokoprokvašující. Podle sedimentační schopnosti jsou všechny kmeny hodnoceny jako dobře sedimentující.

Orientační ověření tvorby oxidu siřičitého v průběhu hlavního kvašení v provozních podmínkách

Tvorba oxidu siřičitého se sledovala při zkvašování 12% světlé mladiny s násadní dávkou kvasnic P₆ 0,5 l hustých várečných kvasnic na 1 hl mladiny. Vzorky k rozborům se odebíraly ve 24hodinových intervalech. Vedle oxidu siřičitého se sledovaly změny pH, teploty, zkvasitelných cukrů, zdánlivého stupně prokvašení a množství kvasnic v kvasící mladině.

Sledování vlivu kvasničného kmeně na tvorbu oxidu siřičitého

Hlavní kvašení se modelovalo v laboratorních podmínkách v objemu 1 l 12% provozní světlé mladiny v lahvích se zúženým hrdlem, uzavřených kvasnou zátkou, plněnou glycerínem. K zakvašení se použily kvasnice v množství 3 g na 1 litr mladiny, z druhé generace odebrané v provozu a odstředěné při 3000 otáčkách za minutu. K zajištění dostatečné koncentrace rozpuštěného kyslíku (v rozsahu 8,7–9,2 mg O₂/l) se ochlazená mladina provzdušňovala přes skleněnou fritu. Produkce oxidu siřičitého u kmenů P₂, P₆, P₉, P₁₀, 96 se hodnotila po 12 dnech kvašení při teplotě 8 °C.

Ověření vlivu koncentrace rozpuštěného kyslíku v mladině a množství násadních kvasnic na produkci oxidu siřičitého

12% provozní mladina se v laboratorních podmínkách upravila na koncentraci rozpuštěného kyslíku od 1,1 do 9,0 mg O₂/l. Nízké koncentrace rozpuštěného kyslíku (1,1 až 1,7 O₂/l) se zajistily probubláváním mladiny dusíkem přes skleněnou fritu. Obsah kyslíku 3,9–4,9 mg O₂/l odpovídal hodnotám odebrané mladiny. Pro dosažení maximální posuzované koncentrace kyslíku se ochlazená mladina upravila proudem stlačeného vzduchu. Vliv množství násadních kvasnic se hodnotil při dávkách 3 a 5 g odstředěných várečných kvasnic na 1 litr mladiny. Další podmínky pokusů byly totožné jako při sledování vlivu kvasničného kmene.

Použité analytické metody

Rozpuštěný kyslík v mladině se stanovoval přístrojem OXI-56-WTW [Wissenschaftlich-technische-Werkstätten, GmbH, NSR] s elektrodou EO 16-B.

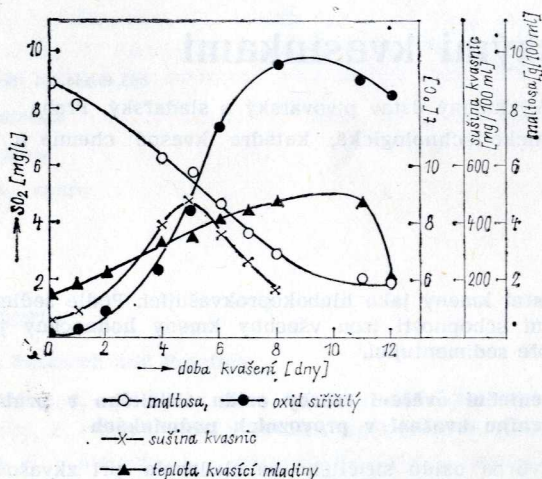
Obsah oxidu siřičitého v průběhu kvašení a v mladém pivu se určoval destilační metodou podle MEBAK [6].

Obsah aminodusíku v mladině se stanovil spektrofotometricky, po reakci s kyselinou trinitrobenzensulfonovou [7].

Analýzy mladiny a mladého piva se prováděly podle postupů běžných v pivovarské analytice [8].

VÝSLEDKY A DISKUSE

Tvorba oxidu siřičitého v průběhu hlavního kvašení



Obr. 1. Časový průběh hlavního kvašení 12% světlé mladiny

Výsledky uvedené v obr. 1 ukazují produkci oxidu siřičitého spolu s nárůstem kvasnic, úbytkem cukrů a změnami teploty v průběhu hlavního kvašení spodními pivovarskými kvasinkami, v závislosti na době kvašení. Je z nich zřejmé, že přítomnost oxidu siřičitého v mladém pivu je výsledkem metabolismu kvasinek. Jeho pozvolný vývin začíná již ve fázi růstu kvasinek a se zvyšující se koncentrací buněk se jeho produkce zvyšuje. S nastupující sedimentací kvasnic se koncentrace přírůstků snižují a obsah oxidu siřičitého kulminuje. V závěrečné fázi hlavního kvašení, po sedimentaci základního množství kvasnic jeho produkce končí. Z dalšího průběhu křivky lze zaznamenat pozvolný pokles koncentrace, který je způsoben pravděpodobně vymýváním jeho volné formy unikajícím oxidem uhličitým.

V metabolismu kvasinek, a tedy v produkci oxidu siřičitého se uplatňuje řada faktorů. Vedle složení mladiny a např. uváděného množství násadních kvasnic či teploty kvašení, uplatňuje se i vlastní objem a geometrie kvasných nádob. Potvrzují to výsledky zazname-

nané při hodnocení tvorby oxidu siřičitého v současně vedených laboratorních a provozních zkouškách, se stejnými násadními kvasnicemi a mladinou. Zatímco v laboratorních zkouškách dosáhla koncentrace oxidu siřičitého 10,6 a 12,5 mg SO₂/l, byly v provozu zaznamenány hodnoty o 20 až 40 % nižší (tabulka 1). Faktory, které se zde pravděpodobně nejvíce uplatňují, jsou rozdílný objem a intenzita vývinu a úniku oxidu uhličitého.

Tabulka 1. Porovnání obsahu oxidu siřičitého v mladém pivu při kvašení v laboratorních a provozních podmínkách

Laboratorní podmínky		Provozní podmínky	
SO ₂ [mg/l]	Zdánlivý stupeň prokvašení [%]	SO ₂ [mg/l]	Zdánlivý stupeň prokvašení [%]
10,6	64,35	8,6	64,52
12,5	65,60	6,7	67,83

Tabulka 2. Vliv kmene kvasinek na tvorbu oxidu siřičitého

Kmen	O ₂ [mg/l]	Zdánlivý stupeň prokvašení [%]	pH	SO ₂ [mg/l]
P ₂	9,2	69,07	4,65	26,4
P ₆	8,8	66,50	4,55	17,7
P ₉	9,2	62,67	4,48	17,4
P ₁₀	9,2	58,44	4,49	13,2
96	8,7	69,19	4,38	10,9

Tabulka 3. Vliv kmene kvasinek na tvorbu oxidu siřičitého

Kmen	O ₂ [mg/l]	Zdánlivý stupeň prokvašení [%]	pH	SO ₂ [mg/l]
P ₂	8,6	72,06	4,75	28,8
P ₆	8,6	60,45	4,69	17,7
P ₉	8,2	69,00	4,45	13,3
P ₁₀	8,2	66,85	4,63	11,2
96	9,0	79,02	4,36	7,2

Vliv kvasničného kmene na tvorbu oxidu siřičitého

Tvorba oxidu siřičitého u vybraných produkčních kmenů spodních pivovarských kvasinek se hodnotila po 12 dnech kvašení, vedeném za standardních laboratorních podmínek, na 12% provozní mladině nasycené vzdušným kyslíkem, tohoto složení:

extrakt	12,27 %
maltosa	8,13 g/100 ml
aminodusík	270 mg/l
pH	5,37

Jak ukazují výsledky stanovení sledovaných parametrů v tabulce 2, množství produkovaného oxidu siřičitého se pohybuje mezi 10,9 až 26,4 mg/l. Nejmenší množství oxidu siřičitého produkoval hlubokoprokvašující, flokulující kmen 96. Poněkud zvýšené množství produkoval další hlubokoprokvašující kmen P₁₀ a kmeny P₆ a P₉, které se projevují někdy jako kmeny pomaleji prokvašující. V porovnání s nimi tvoří středněprokvašující, flokulující kmen P₂ oxid siřičitý téměř v dvojnásobném množství.

Tabulka 4. Produkce oxidu siřičitého v průběhu kvašení na různě větraných mladínách

Kmen	Původní mladina	Prokvašená mladina		
	O ₂ [mg/l]	Zdánlivý stupeň prokvašení [%]	Prokvašení cukrů [%]	SO ₂ [mg/l]
P ₂	1,1	71,96	73,60	34,5
	4,9	72,14	74,42	29,5
	8,6	72,06	74,73	28,8
P ₉	1,2	70,50	70,95	16,3
	4,6	71,49	66,38	16,1
	8,2	75,40	77,93	14,2
P ₁₀	1,2	63,51	59,70	13,9
	4,6	66,84	63,54	14,4
	8,2	69,41	67,31	11,8
96	1,7	73,36	79,95	10,2
	3,9	65,33	70,73	8,2
	9,0	79,02	84,63	7,1

Tabulka 5. Vliv množství násadních kvasnic na produkci oxidu siřičitého

Kmen	O ₂ [mg/l]	Dávka kvasnic [g/l]	Zdánlivé prokvašení [%]	SO ₂ [mg/l]
P ₂	9,5	3	66,18	23,6
		5	69,44	24,1
P ₁₀	1,2	3	63,51	13,9
		5	69,83	17,9
	8,2	3	69,41	11,8
		5	73,32	12,5
96	1,7	3	73,36	10,2
		5	74,02	12,2
	9,0	3	79,02	7,2
		5	73,61	8,1

V druhé pokusné řadě se tvorba oxidu siřičitého u každého kmene sledovala na 12% mladíně, na níž byl kvasničný kmen adaptován, odebrané v provozu současně při odběru kvasnic. Dosažené výsledky uvádí tabulka 3. Obsah oxidu siřičitého se pohybuje v rozmezí 7,2 až 28,8 mg/l mladiny. Nejvyšší produkce byla zaznamenána opět u středněprokvašujícího, flokulujícího kmene P₂. Výsledky u dalších kmenů potvrzují pořadí, zjištěné v první pokusné sérii.

Z celkového hodnocení produkce oxidu siřičitého u sledovaných kmenů spodních pivovarských kvasinek je zřejmé, že některé kmeny mají schopnost produkovat větší množství oxidu siřičitého. Potvrzuje se, že kvasničný kmen je jedním z významných faktorů, který ovlivňuje koncentraci oxidu siřičitého v pívu. V literatuře se uvádějí kmenové rozdíly mezi spodními a svrchními pivovarskými kvasinkami [1, 2, 3]. Je však zřejmé,

že kvantitativní odlišnosti existují i mezi jednotlivými kmeny spodních pivovarských kvasinek. Nejvyšší produkci se vyznačuje kmen, charakterizovaný z hlediska jeho technologicky významných vlastností jako kmen středněprokvašující, zatímco nejnižší produkci vykázal kmen, prověřený v praxi jako kmen rychle a hluboko-prokvašující. Tato tendence se potvrdila jak při kvašení na kontrolní mladíně, tak na mladíně příslušné původu inokula.

Vliv provzdušnění mladiny na obsah oxidu siřičitého v pívu

Vliv množství rozpuštěného kyslíku v mladíně na metabolismus kvasinek, z hlediska produkce oxidu siřičitého se sledoval v modelových laboratorních zkouškách, za uvedených standardních podmínek, při koncentracích kyslíku v rozmezí 1,1 až 9,0 mg/l mladiny. Dosažené výsledky, obsah oxidu siřičitého, společně s dosaženým zdánlivým prokvašením, úbytkem cukrů a obsahem rozpuštěného kyslíku v mladíně před zakvašením, uvádí tabulka 4. Vyplyvá z nich, že dokonalé provzdušnění mladiny vede při současném dosažení hlubšího prokvašení, jednoznačně k omezení tvorby oxidu siřičitého v mladém pívu. Snížení je však závislé na produkční tendenci hodnoceného kmene. U kmenů s vyšší produkcí oxidu siřičitého dosahuje snížení vlivem zvýšeného provzdušnění mladiny 13 až 17 %, zatímco u kmene s relativně nízkou produkcí oxidu siřičitého je toto snížení 30 %.

Dosažené výsledky odpovídají zjištění negativního vlivu nedostatku kyslíku ve výchozí mladíně, který prodlužuje lag-fázi kvašení a snižuje zdánlivý stupeň prokvašení, výtěžnost a sedimentaci kvasnic [5, 10]. Dostatečné množství rozpuštěného kyslíku v mladíně podporuje rychlost množení kvasnic a intenzitu růstu, což vede ke zvýšení požadavku na sírné aminokyseliny a omezení hromadění oxidu siřičitého v prostředí [11].

Vliv zvýšené dávky kvasnic na tvorbu oxidu siřičitého v pívu

Sledoval se vliv dvou dávek násadních kvasnic (3 g/l a 5 g/l) během kvašení provzdušněné a neprovzdušněné mladiny. Výsledky analýz těchto experimentů uvádí tabulka 5. Zásadně vyšší dávka násadních kvasnic znamená dosažení hlubšího prokvašení, ale současně i mírně vyšší tvorbu oxidu siřičitého (větraná mladina o 0,5 až 0,9 mg SO₂/l, nevětraná 2 až 4 mg SO₂/l). V nevětrané mladíně se diskutovaný faktor uplatňuje výrazněji než při vyšší koncentraci kyslíku v zakvašovaném médiu. Ze zjištěných výsledků lze usuzovat, že při vyšší dávce kvasnic snížené pomnožování má za následek další možný nárůst oxidu siřičitého v pívu, ale pouze za anomálních podmínek velmi nízké koncentrace kyslíku v mladíně 1,2 až 1,7 mg/l a abnormálně téměř dvojnásobné dávky kvasnic, což v praxi nepřichází v úvahu. Je proto faktor zvýšení dávky násadních kvasnic na koncentrační růst oxidu siřičitého v pívu v porovnání s vlivem typu kvasničného kmene z provozního hlediska nevýznamný, což souhlasí s údaji autora Brewera [12] a odporuje závěrům studií Narziše [4].

LITERATURA

- [1] PIENDL, A., SPECKNER, J., DRAXINGER, A., WILNHAMMER, J.: Brauwelt, 120, 1980, s. 1746
- [2] THALACKER, R., KALTWASSER, I.: Mschr. Brauerei, 34, 1981, s. 115
- [3] NARZIŠ, L., REICHENEDER, E., NOTHAFT, H.: Brauwelt, 122, 1982, s. 502
- [4] NARZIŠ, L.: Brauwelt, 122, 1982, s. 254.
- [5] BENDOVÁ, O., KAHLER, M.: Pivovarské kvasinky, SNTL Praha, 1981.
- [6] Brautechnische Untersuchungsmethoden Band II. Methoden-

- sammlung der MEBAK, Selbstverlag MEBAK, Freising-Weihenstephan 1979, s. 346.
- [7] SATAKE, K., OKUYANA, I.: J. Biochem. Tokyo, **47**, 1960, s. 654.
- [8] Kolektiv autorů: Pivovarsko-sladařská analytika, SNTL Praha, 1966.
- [9] THALACKER, R.: Mschr. Brauerei, **29**, 1976, s. 152.
- [10] ŠAVEL, J.: Mikrobiologická kontrola v pivovarech, SNTL Praha, 1980.
- [11] NARZIŠ, L., REICHENEDER, E., NOTHAFT, H.: Brauwelt, **122**, 1982, s. 627.
- [12] BREWER, J. D.: Brew. Dig., **55**, 1980, s. 31.

Vernerová, J. - Mikyška, A. - Basařová, G.: Tvorba oxidu siřičitého pivovarskými kvasinkami. Kvas. prům. **29**, 1983, č. 6, s. 121—124.

V práci se sledovaly faktory ovlivňující tvorbu oxidu siřičitého v průběhu kvašení mladiny. Pozoroval se vývin oxidu siřičitého v jednotlivých fázích kvašení, vliv hluboko a středně prokvašujících kmenů spodních pivovarských kvasinek *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*), koncentrace rozpuštěného kyslíku v mladině a dávky násadních kvasnic na obsah oxidu siřičitého v mladém pivu.

Dominantní význam v dané problematice má kvasničný kmen. Při kvašení 12% světlé mladiny v laboratorních podmínkách produkoval největší množství oxidu siřičitého středněprokvašující kmen P₂, nejmenší množství hlubokoprokvašující kmen 96. Tvorbu oxidu siřičitého v průběhu hlavního kvašení zásadně ovlivňuje obsah rozpuštěného kyslíku. V dobře provzdušněných mladinách (8—9 mg O₂/l) vzniká v závislosti na produkční schopnosti kmene o 15 až 30 % oxidu siřičitého méně, než v mladinách deficitních na kyslík (1—2 mg O₂/l). Dávka násadních kvasnic, zvýšená o 70 %, ovlivnila produkci oxidu siřičitého u dobře větraných mladin jen v malém, prakticky nevýznamném rozsahu.

Вернерова, Я., Микышка, А., Басаржова, Г.: Образование двуокиси серы пивными дрожжами. Квас. прум., **29**, 1983, № 6, стр. 121—124.

В работе исследовались факторы, оказывающие влияние на образование двуокиси серы в течение брожения охмеленного сусла. Наблюдалось выделение двуокиси серы в отдельных фазах брожения, влияние глубоко и среднесбраживающих штаммов нижних дрожжей *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*), концентрация растворенного кислорода в сусле и дозы насадочных дрожжей на содержание двуокиси серы в молодом пиве.

Доминирующее значение в этой проблематике имеет дрожжевой штамм. При сбраживании 12 % светлого охмеленного сусла в лабораторных условиях самое большое количество двуокиси давал среднесбраживающий штамм P₂, самое меньшее количество — глубокосбраживающий штамм 96. Принципиальное влияние на образование двуокиси серы в течение главного брожения оказывает содержание растворенного кислорода. В хорошо аэрированном охмеленном сусле (8—9 мг O₂/л) возникает в зависимости от продуктивности штамма на 15—30 % двуокиси серы меньше чем в сусле с дефицитом кислорода (1—2 мг O₂/л). Доза насадочных дрожжей, повышенная на 70 % повлияла на образование

двуокиси серы в случае хорошо аэрированного охмеленного сусла только в незначительном масштабе.

Vernerová, J. - Mikyška, A. - Basařová, G.: Formation of Sulphur Dioxide by Brewing Yeasts. Kvas. prům. **29**, 1983, No. 6, p. 121—124.

Factors influencing the formation of sulphur dioxide during the fermentation of hopped wort are described. The effects of various strains, from the standpoint of the attenuation, of bottom brewing yeasts *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*), a dissolved oxygen concentration in hopped wort and an inoculum concentration on the formation of sulphur dioxide in the individual phases of fermentation were observed. The principal significance on the formation of sulphur dioxide has the yeast strain used. During the fermentation of 12% pale hopped wort under laboratory conditions the maximum formation of sulphur dioxide was observed with the strain P 2 having the mean attenuation and the minimum formation of SO₂ was observed with the strain 96 having the deep attenuation. During the principal fermentation the formation of sulphur dioxide is significantly affected by the dissolved oxygen concentration. The formation of sulphur dioxide is about 15 to 30 % higher in sufficiently aerated hopped worts (8—9 mg . l⁻¹) in comparison to those having low dissolved oxygen concentrations (1—2 mg . l⁻¹). The effect of the increased quantity of yeasts inoculated (about 70 %) on the formation of sulphur dioxide in sufficiently aerated hopped worts remained without meaning.

Vernerová, J. - Mikyška, A. - Basařová, G.: Bildung des Schwefeldioxids durch Brauereihefen. Kvas. prům. **29**, 1983, Nr. 6, S. 121—124.

In der Arbeit wurden die Faktoren verfolgt, die die Bildung von Schwefeldioxid im Verlauf der Gärung der Würze beeinflussen. Studiert wurde die Entwicklung des Schwefeldioxids in den einzelnen Gärungsphasen, der Einfluß der tief- und mittelvergärenden Stämme untergäriger Brauereihefen *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*), der Konzentration des gelösten Sauerstoffs in der Würze und der Hefegabe auf den Gehalt des Schwefeldioxids im Jungbier.

Eine dominante Bedeutung kommt in der gegebenen Problematik dem Hefestamm zu. Bei der Gärung der 12% hellen Würze produzierte die größte Schwefeldioxidmenge der mittelvergärende Stamm P₂, die geringste Produktion wurde bei dem tiefvergärenden Stamm 96 beobachtet. Die Schwefeldioxidbildung während der Hauptgärung wird grundsätzlich durch den Gehalt des gelösten Sauerstoffs beeinflusst. In gut durchlüfteten Würzen (8—9 mg O₂/l) entsteht in Abhängigkeit von der Produktionsfähigkeit des Stammes um 15 bis 30 % Schwefeldioxid weniger als in sauerstoffarmen Würzen (1—2 mg O₂/l). Eine um bis 70 % erhöhte Anstellhefegabe beeinflusste die Schwefeldioxidbildung bei gut belüfteten Würzen nur in einem geringen, praktisch unbedeutenden Ausmaß.