

Dimethylsulfid v pivě a sladu

663.41
663.45

Ing. BOHUMIL ŠPINAR, CSc., Ing. VLADIMÍR KELLNER, CSc., Ing. JIŘÍ ČULÍK, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 120 44 Praha

Klíčová slova: *slad, sladování, pivo, výroba, složení, senzorka, dimethylsulfid, varní proces, prekurzor, termolabilita, kvasinky, metabolismus, pasterace, skladování, kvašení, mladina, plynová chromatografie, plamenofotometrický detektor*

1. ÚVOD

Jednou ze základních složek tvořících vůni piva jsou sirné sloučeniny; z nich především dimethylsulfid (DMS), který byl jako složka piva poprvé identifikován v roce 1963 [1]. Obvyklý práh koncentrace DMS v pivě je $30 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ [1, 2]. Nalezené koncentrace v pivech se pohybují v rozmezí: světlé ležáky $10\text{--}120 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, tmavá piva $1\text{--}20 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ DMS. U sladu jsou hladiny DMS vyšší: světlé slady $2\text{--}3 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, tmavé slady $1\text{--}2 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DMS

[3]. Dimethylsulfid v pivě vzniká dvěma základními cestami:

1. konverzí tepelně labilních prekurzorů dimethylsulfidu (DMSP) vlivem tepla během varního procesu mladiny;
2. metabolismem kvasinek během procesu kvašení mladiny [4].

Na obsah DMS ve finálním výrobku — lahvovém pivě — má vliv zbytkový obsah reziduí DMSP v pivě, jejichž rozklad za tepelně nepříznivých podmínek (pasterace,

skladování za vyšších teplot) vede ke zvýšení obsahu DMS v lahvovém pivě [3]. Z dalších možných zdrojů DMS v pivě lze uvažovat:

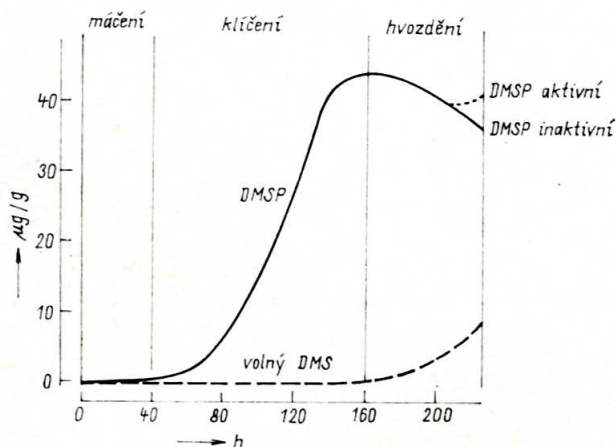
1. bakteriální kontaminace mladiny,
2. obsah DMS ve chmelu.

Posledně uvedený faktor má na konečný obsah DMS v pivě zanedbatelný vliv, neboť vznikají ztráty při chmelovaru [5].

2. DIMETHYLSULFID VE SLADU

Dimethylsulfidové prekurzory (DMSP) vznikají v ječmenu během klíčení a jsou přítomny v zeleném sladu ve vysokých koncentracích. Jako základní prekurzor byla nalezena látka S-methylmethionin, a to nikoliv jako jednoduchá aminokyselina, ale ve formě peptidového řetězce [5]. Byly rozlišeny dva typy dimethylsulfidových prekurzorů ve sladu, lišící se svými reakcemi při procesu kvašení mladiny [2, 4, 6]:

1. *inaktivní prekurzory*, které při metabolismu kvasinek neposkytují DMS;
2. *aktivní prekurzory*, které jsou metabolizovány kvasinkami za vzniku DMS.



Obr. 1. Vznik DMS a DMSP během sladovacího procesu

Aktivní DMSP vznikají z inaktivních při procesu hvozďení sladu za teplot vyšších než 70 °C. Účinnost konverze je závislá na podmínkách hvozďení (teplota, doba hvozďení, výška vrstvy, vlhkost). Oba typy prekurzorů se za vysokých teplot během hvozďení rozkládají za vzniku volného DMS, jehož část vytéká při dotahování a část zůstává ve sladu, z něhož přechází do mladiny. Při optimálním teplotním režimu hvozďení je dosaženo maximální konverze DMSP na aktivní formu v kombinaci s minimální tepelnou destrukcí za vzniku volného DMS.

Přesné chemické složení obou typů DMSP není dosud známo, za základní složku aktivních DMSP je některými autory považován dimethylsulfoxid [5, 7].

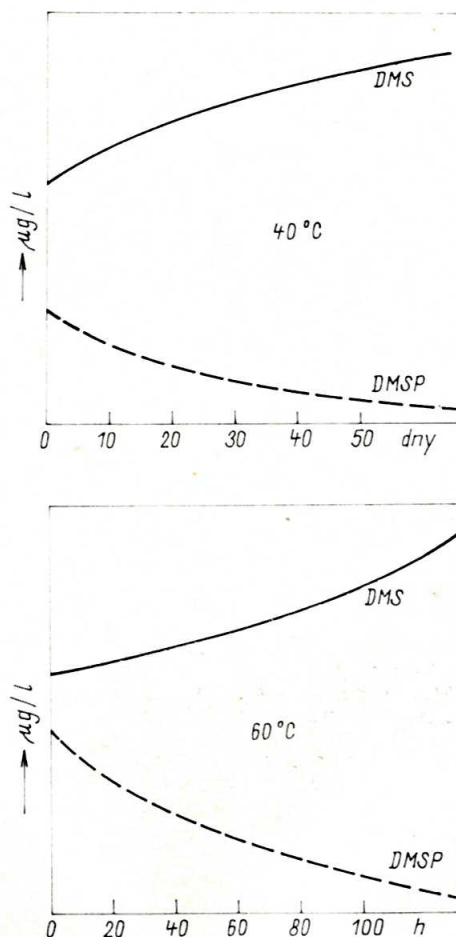
3. DIMETHYLSULFID V MLADINĚ

Tepelným rozkladem prekurzorů dimethylsulfidu za varu mladiny vzniká dimethylsulfid, jehož část zůstane ve zchlazené mladině. Při kvašení část volného DMS vytéká společně s kvasnými plyny. Rezidua inaktivních DMSP nemají další vliv na obsah DMS v pivě, neboť jejich enzymová reakce při procesu kvašení poskytuje látky odlišného složení, než je DMS. Aktivní DMSP reagují s kvasinkami za vzniku DMS, čímž podstatně ovlivňují hladinu DMS v pivě.

4. DIMETHYLSULFID V PIVĚ

Hladina DMS v pivě závisí na obsahu a složení DMSP ve sladu a v mladině. V pivě vyrobeném ze světlého sladu hvozďeného při nižších teplotách, popř. s přidavkem

zeleného sladu, je pouze malá část DMSP metabolizována kvasinkami na DMS. Finální hladina DMS v pivě je výsledkem tepelné destrukce DMSP během varu mladiny a zároveň závisí na rozsahu ztrát při hvozďení a následujících procesech. Naproti tomu v pivě vyrobeném ze sladu hvozďeného při vysokých teplotách je obsah aktivních DMSP vyšší a DMS je většinou produkován kvasinkami při kvašení mladiny, v menší míře tepelným rozkladem DMSP [6].



Obr. 2. Změny v obsahu DMS a DMSP při skladování piva za středních a vyšších teplot

Bylo též zjištěno, že během kvasného procesu kvasinky produkují nové prekurzory dimethylsulfidu, které spolu s rezidui DMSP v mladině ovlivňují obsah DMS v hotovém pivě. Během skladování lahvového piva při středních a vyšších teplotách, popř. u starého piva, se obsah DMS výrazně zvyšuje [3, 8, 9].

5. STANOVENÍ DIMETHYLSULFIDU V PIVĚ

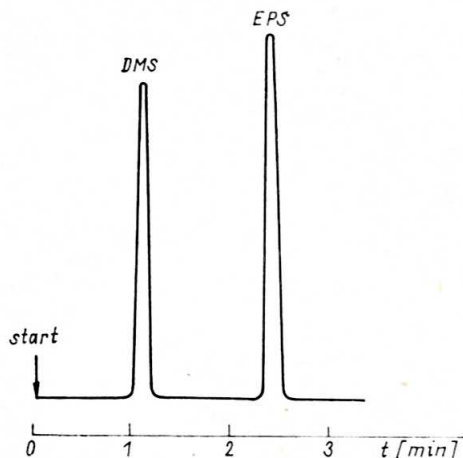
Vzhledem k velmi nízkým koncentracím DMS v pivě (řádově ppb) se jedná o náročnou stopovou analýzu složitě matrice. Dimethylsulfid je těkavý, a proto se s výhodou k jeho stanovení může použít nová technika plynové chromatografie, tzv. *headspace analýza* [9, 10]. Obecně se jedná o extrakci studovaného vzorku plynem a následující plynově chromatografickou analýzu plynného extraktu. Z hlediska vlastního provedení extrakce plynem lze používané techniky *headspace analýzy* rozdělit do dvou kategorií:

1. *statické systémy* — techniky, při kterých se analyzuje vzorek plynu, odebraný z prostoru nad kondenzovanou fází uzavřeného systému, který je v rovnováze;

2. *dynamické systémy* — techniky, při kterých se kondenzovaná fáze kontinuálně extrahuje proudem plynu a tento plyn se poté analyzuje na obsah komponentů uvolněných z extrahovaného materiálu.

U obou alternativ lze stanovovat buď plynný extrakt jako takový, nebo použít některé z obohacovacích technik a stanovovat příslušný koncentrát.

Tato technika se liší od běžné plynové chromatografické analýzy jednofázových systémů tím, že je nutno uvažovat při kvantitativním stanovení i distribuci stanovené složky mezi fáze systému. V praxi se volí vhodné postupy, při nichž by se faktor distribuce vhodným způsobem eliminoval, jako např. použitím metody standardního přídatku.



Obr. 3. Chromatogram stanovení DMS v pivě metodou headspace

K detekci dimethylsulfidu se používá plamenofotometrický detektor FID [11] a detektor plamenofotometrický FPD, který je selektivní pro látky s atomem síry v molekule [3, 5].

V naší práci bylo použito statické provedení headspace analýzy, kdy byl stanovován vzorek plynné fáze, odebraný z prostoru nad vzorkem piva v uzavřeném systému, který byl v rovnováze.

5.1 Příprava vzorku

Do skleněné nádoby o objemu 100 ml opatřené septovým uzávěrem a předem propláchnuté dusíkem bylo přidáno 20 ml vzorku piva, 8 g NaCl a ethylpropylsulfid jako interní standard ($35 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ v ethanolu, $50 \mu\text{l}$). Po třiceti minutách teploty ve vodní lázni při teplotě 35°C byl odebrán 1 ml plynné fáze nad vzorkem piva a nastříknut do plynového chromatografu.

5.2 Chromatografické podmínky

Přístroj: Carlo Erba Fractovap 2350, detektor SSD (FPD), kolona: skleněná, 2 m \times 2 mm ID, náplň 10% TRITON X-305 na Chromosorbu WAW-DMCS 80/100, teploty: kolona 55°C , nástřik 150°C , průtoky plynů: dusík $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, vodík $100 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, vzduch $120 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$.

6. ZÁVĚR

Z provozní problematiky vyplývá, že k ovlivnění produkce DMS je nutno znát počet a charakteristiku zdrojů DMS ve sladu, chování během výroby mladiny a dále vznik DMS během kvasného procesu. Zároveň je nutno dbát na správné skladování piva. Souhrnně lze říci, že během výroby piva je důležité sledovat:

1. výběr surovin (odrůda ječmene, podmínky kultivace),
2. podmínky klíčení ječmene,
3. podmínky hvozdní sladu,
4. výrobu mladiny — varný proces,
5. podmínky kvašení,
6. výběr vhodného druhu kvasnic,

7. další úpravy piva a skladování.

Průměrná hladina dimethylsulfidu v měřených pivech byla $40 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Použitá headspace technika dává výsledky srovnatelné s běžnou plynově chromatografickou analýzou, avšak je méně pracná a časově méně náročná.

Obsah dimethylsulfidu charakterizuje různé druhy pív, a proto je důležité sledovat jeho obsah.

Literatura

- [1] ANDERSON R. J., CLAPPERTON J. F., CRABB D., HUDSON J. R.: J. Inst. Brew. **81**, 1975, s. 208.
- [2] HYSERT D. W., WEAVER R. L., MORRISON N. M.: Technical Quarterly **17**, 1980, s. 34.
- [3] MATSUI S.: Bull. Brew. Sci. **26**, 1980, s. 9.
- [4] HYSERT D. W., MORRISON N. M., WEAVER R. L.: ASBC J. **37**, 1979, s. 169.
- [5] DICKENSON C. J.: J. Inst. Brew. **89**, 1983, s. 41.
- [6] WHITE F. M., WAINWRIGHT T.: J. Inst. Brew. **83**, 1977, s. 43.
- [7] ANNES B. J.: J. Inst. Brew. **86**, 1980, s. 134.
- [8] GRIGSBY J. H., PALAMAND S. R.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **35**, 1977, s. 43.
- [9] HYSERT D. W., MORRISON N. M., JAMIESON A. M.: ASBC J. **37**, 1979, s. 30.
- [10] CHARALAMBOUS G.: Analysis of Food and Beverages, Headspace Technique, Academic Press, New York 1978.
- [11] OTTER G. E., MARSH A. S.: J. Inst. Brew. **88**, 1982, s. 76.

Špinar, B., Kellner, V., Čulík, J.: Dimethylsulfid v pivě a sladu. Kvas. prům. **32**, 1986, č. 5, s. 98—101.

Dimethylsulfid (DMS) je důležitou složkou ovlivňující senzorycké vlastnosti piva. Vzniká rozkladem tepelně labilních prekurzorů dimethylsulfidu během varného procesu a metabolismem kvasinek při kvašení mladiny. Na obsah DMS v pivě má vliv také zbytkové množství nerozložených prekurzorů v mladině, neboť se rozkládají při pasteraci či skladování za vyšších teplot, čímž se zvyšuje obsah DMS v lahvoém pivě. Hladina DMS v pivě může být ovlivněna technologickými úpravami sladování, výroby piva a skladování. Ke stanovení DMS v pivě byla použita headspace technika plynové chromatografie s plamenofotometrickým detektorem FPD. Průměrný obsah DMS v měřených pivech byl $40 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Шпинер, Б., Келлер, В., Чулик, И.: Диметилсульфид в пиве и солоде. Квас. прум. **32**, 1986, № 5, стр. 98—101.

Диметилсульфид (ДМС) является важной составной частью, оказывающей влияние на органолептические свойства пива. Он возникает путем разложения термически мало устойчивых прекурсоров диметилсульфида в течение процесса варки и метаболизмом дрожжей при сбраживании сусла. На содержание ДМС в пиве влияет также остаточное количество неразложившихся прекурсоров в сусле, так как они разлагаются при пастеризации или хранении при высших температурах, чем повышается содержание ДМС в бутылочном пиве. Уровень ДМС в пиве может быть вызван технологическими изменениями процесса соложения, производства пива и хранения. Для определения ДМС в пиве был применен headspace способ газовой хроматографии с пламенно-фотометрическим детектором ФПД. Среднее содержание ДМС в исследуемых пивах составляло $40 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Špinar, B. - Kellner, V. - Čulík, J.: Dimethyl Sulphide in Beer and Malt. Kvas. prům. **32**, 1986, No. 5, pp. 98—101.

Dimethyl sulphide (DMS) is a significant component affecting sensorial properties of beer. DMS is formed from a splitting of thermal labile precursors of DMS during the brewing process and in the yeast metabolism during a fermentation of wort. Also the residual quantity of non-splitting precursors in wort affects the level of DMS in beer. These precursors are splitted during pasteurisation and storage under higher temperatures that results in an increased level of DMS in the bottled beer. The DMS level in beer can be influenced by the technology of the malting, the beer production and the storage.

The head-space technique of GLC with the flame-photometric detector (FPD) was used for the determination of DMS in beer. The mean level of DMS in beers tested was $40 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Špinar, B. - Kellner, V. - Čulík, J.: Dimethylsulphid in Bier und Malz. Kvas. prům. **32**, 1986, Nr. 5, S. 98—101.

Dimethylsulphid (DMS) ist eine bedeutende Komponente, die die sensorischen Eigenschaften des Bieres beeinflusst. DMS entsteht durch die Zersetzung der thermolabilen Precursoren des DMS im Verlauf des Sudprozesses und durch den Hefemetabolismus bei der Gärung der Würze. Der DMS-Gehalt im Bier wird auch durch den Restgehalt der unzerlegten Precursoren in

der Würze beeinflusst, denn diese zersetzen sich während der Pasteurisierung und Lagerung bei höheren Temperaturen, wodurch der DMS-Gehalt im Flaschenbier ansteigt. Der DMS-Spiegel im Bier kann durch technologische Modifikationen beim Mälzen, und Bierbrauen und Änderung der Lagerungsbedingungen beeinflusst werden. Zur Bestimmung von DMS wurde die Headspace-Technik der Gaschromatographie mit dem Flammenphotometrischen Detektor FPD angewendet. Der durchschnittliche DMS-Gehalt in den untersuchten Bieren betrug $40 \mu\text{g.l}^{-1}$.