

## STUDIUM ROZPUSTNOSTI SLADOVÝCH POLYFENOLŮ

Ing. PAVLA BOUŠOVÁ, ing. JIŘÍ ŠROGL, ing. JIŘÍ FAMĚRA – Plzeňský Prazdroj, a. s.,  
RNDr. KAREL KOSAŘ, CSc., VÚPS, a. s.

**Klíčová slova:** Polyfenolové látky, sladování, odrůdy ječmene, kvalitativní kritéria sladu

### 1. ÚVOD

V současné době se pivovarská odborníci shodují na důležitosti polyfenolových látek jak při výrobě piva, tak i jejich obsahu v hotovém výrobku. Tato skutečnost je známa poměrně dávno, první zprávy lze nalézt již na konci minulého století, zvýšený zájem o tuto skupinu látek však pozorujeme od konce padesátých let. Tehdy byl zjištěn velmi podstatný vliv na koloidní stabilitu a pivo se začalo stabilizovat se zaměřením na polyfenolové látky. Od té doby lze pozorovat zvýšený zájem výzkumných pracovníků o polyfenoly a ten pokračuje i proto, že je pravděpodobný jejich vliv i na jiné stránky piva, jako je například chuťová stabilita [1, 2, 3, 4, 5].

Rozsáhlé výzkumy Gramshawa [6, 7], Dadiče [8, 9], Jerumanise [10], Chapona [11, 12] a mnoha dalších prokázaly, že jde o velmi komplikovanou skupinu látek, takže se jejich neobjasněné stránky nezužují, ale naopak spíše jich přibývá.

V naší práci jsme navázali na výzkum polyfenolů, jehož výsledky jsme uvedli v minulém sdělení [13]. Zjistili jsme, že polyfenoly do technologického procesu přecházejí poněkud málo objasněným způsobem a že do rozpustné formy se dostávají patrně již během sladování. V další práci jsme se proto zaměřili na změny rozpustných polyfenolů během sladovacího procesu.

Polyfenolové látky mají pro pivovarskou výrobu význam srovnatelný s významem bílkovin, které jsou však prozkoumány neporovnatelně více. Mezi oběma skupinami látek jsou ovšem značné rozdíly. Tak např. polyfenoly podléhají daleko méně činnosti sladovacích enzymů a jejich reakce mají jiný charakter než jiné skupiny látek s vyšší molekulární hmotností. Reaktivita polyfenolů je značná ve smyslu neenzymových reakcí, jako jsou oxidačně redukční, kondenzační a další obdobné reakce. Na překážku lepšího poznání je také analytika, která je málo zpracovaná, a značná reaktivita polyfenolů, znesnadňující měření.

## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1. Materiál

Vzorky odrůdově čistého ječmene ze šlechtitelské stanice Věrovany, rok výroby 1995 a 1996, poskytl VÚPS Brno.

Provozní ječmen na namáčku a zelený slad ze Saladinovy skříně byl odebíran na sladovně Plzeňský Prazdroj a. s.

### 2.2. Metody

Stanovení polyfenolů podle Jerumanise, obsahu sušiny, Kolbachova čísla, friability a rozdílu moučka šrot bylo provedeno podle Pivovarsko-sladařské analytiky [14], stanovení anthokyanogenů modifikovanou metodou podle Harrise a Rickettse [15].

### Příprava výluhu ječmene a zeleného sladu

50 g zeleného sladu jsme mixovali s vodou teplou 45 °C 2 min, pak 1 h míchali ve rmutovacím přístroji při této teplotě. Po dovažení na 250 g a filtraci přes papírový filtr jsme v takto získaném výluhu měřili obsah polyfenolů a přepočítali na sušinu zeleného sladu.

### Mikrosladovací postup

Třídenní máčení s 18 h vzdušnými přestávkami, dvou- a třídenní klíčení, teplota máčecí vody 14 °C, teplota v hromadě max. 18 °C. Stupeň domočení byl přibližně nastaven na 40 a 45%.

K srovnání klasického máčecího postupu a postupu se vzdušnými přestávkami byl tentýž ječmen namočen na 72 hodin s každodenní výměnou vody a po této době jsme změřili obsah polyfenolů a srovnali s ječmenem, který byl máčen výše uvedeným postupem.

Pro zjištění, jaký vliv má způsob hvozdní na obsah polyfenolů, byl využit mikrohvoz s teplotou dotahování 82, 78 a 70 °C na stejně připravený zelený slad. Polyfenoly jsme měřili v kongresní sladině.

### 2.3. Přístroje

- Mixer Eta 1012
- Mikrosladovna Seeger
- Rmutovací přístroj Kube
- Friabilimetr Pfeufer
- Přístroj na stanovení dusíku Kjeltec System 2006 a 1002
- Laboratorní sušárna.

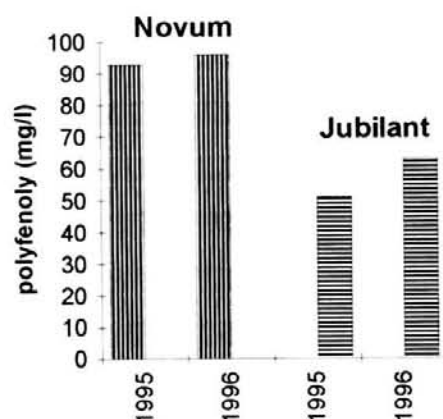
## 3. VÝSLEDKY A DISKUSE

V naší předchozí práci bylo jedním z nejdůležitějších poznatků zjištění, že se ječné, resp. sladové polyfenoly nepřevádějí do rozkladu v rozhodující míře během rmutování a chmelovaru a že jejich množství, přecházející do mladiny, je dáno pravděpodobně vlastnostmi výchozího sladu. V této práci jsme se proto zabývali podmínkami přechodu ječných a sladoých polyfenolových látek do rozpustné formy během sladovacího procesu.

### 3.1. Mikrosladovací zkoušky

V první fázi jsme podrobili mikrosladovacím zkouškám čisté odrůdové vzorky ječmene. Provedli jsme celkem 60 mikrosladovacích zkoušek. Každý vzorek ječmene byl zpracován při dvou různých stupních domočení a s jednodenním rozdílem v délce klíčení.

Z výsledků jsou patrné určité odrůdové odlišnosti, při čemž obsah polyfenolových látek v kongresních sladinách kolísá od 50 (odrůda Jubilant) do 110 mg/l (odrůda Malvaz). (Tato hodnota je průměr ze 4 techno-



Obr. 1 Vliv odrůdy na obsah polyfenolů

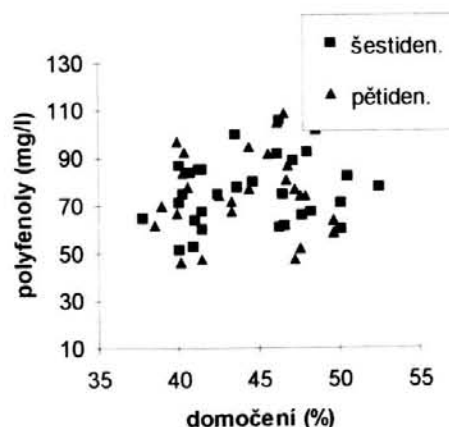
logii sladování vzorku.) Rozdíl v obsahu polyfenolů u sladů s různým rozluštěním byl malý (max. 20 mg/l) v rámci jedné odrůdy a více se uplatňoval vliv stupně domočení než prodloužení doby klíčení.

Obr. 1 ukazuje srovnání obsahu polyfenolových látek v kongresní sladině u dvou odlišných odrůd ječmene ve dvou ročníkách. Obě odrůdy se od sebe poměrně liší, zatímco rozdíl mezi ročníky je malý.

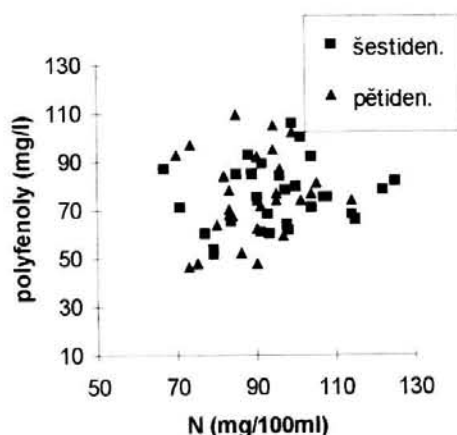
Tyto odrůdy jsou uvedeny jako příklad. Zdá se, že obsah polyfenolů může být ve statistickém smyslu odrůdově charakteristický. Tento poznatek není překvapivý, protože se uvedeným směrem koncipují šlechtitelské pokusy (např. ječmen bez anthokyanogenů).

U mikrosladovacích pokusů jsme se snažili nalézt případný vztah mezi kvalitativními znaky sladu a obsahem polyfenolových látek v kongresní sladině. (Obr. 2, 3, 4).

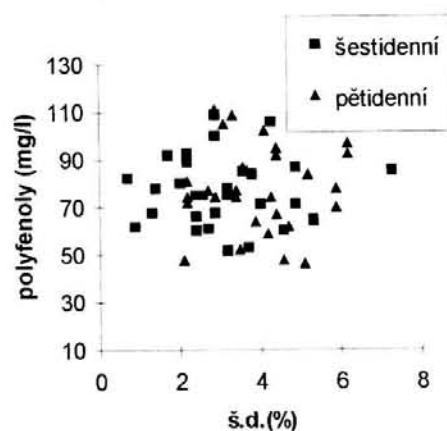
Obr. 2 ukazuje vztah mezi stupněm domočení a obsahem polyfenolů v kongresních sladinách. Z obrázku je vidět, že se vzrůstajícím stupněm domočení roste i obsah polyfenolových látek, avšak rozdíly mezi jedno-



Obr. 2 Závislost obsahu polyfenolů na stupni domočení



Obr. 3 Souvislost obsahu polyfenolů a obsahu rozpustného dusíku



Obr. 4 Souvislost obsahu polyfenolů a rozdílu moučka-šrot

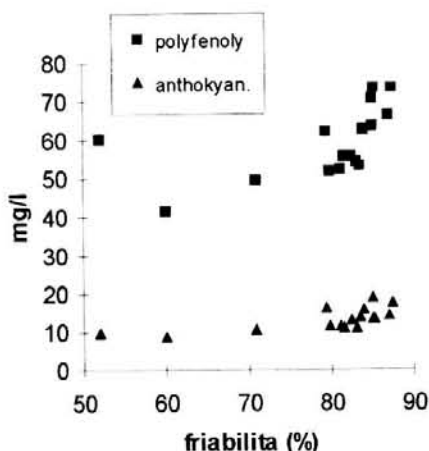
tlivými slady jsou tak velké, že nelze nalézt vzájemnou závislost.

Na obr. 3 je zachycen vztah mezi obsahem rozpustného dusíku a obsahem polyfenolů. I když lze pozorovat stoupající tendenci obsahu polyfenolů s proteolytickým rozluštěním sladu, více významné jsou rozdíly mezi jednotlivými odrůdami sladu.

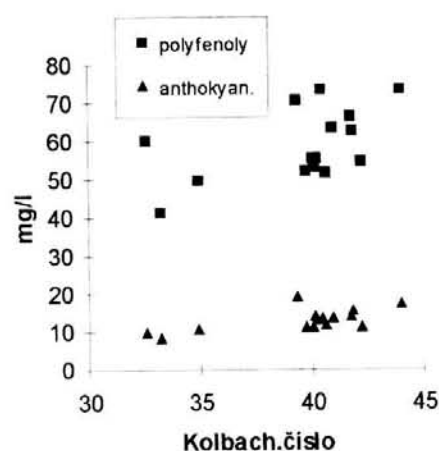
Na obr. 4 jsou zachyceny rozdíly extraktů moučka-šrot a polyfenoly v kongresní sladince. Jsou zcela bez vzájemné závislosti. Zdá se, že cytolytické rozluštění sladu nemá na obsah polyfenolů vliv.

### 3.2. Provozní slady

Výše uvedený poznatek nesouhlasí s výsledky práce Mikyšky [16], který zjistil, že existuje korelace mezi friabilitou, hodnotou, která rovněž charakterizuje cytolytické rozluštění sladu, a obsahem polyfenolů ve sladince. Jeho pokusy byly prováděny na čisté odrůdě ječmene. Proto jsme sledovali řadu provozně vyráběných sladů, které však byly vždy směsí několika odrůd a partií ječmene. Snažili jsme se nalézt vztah mezi běžně sledovanými hodnotami sladu a obsahem polyfenolů a anthokyanogenů v kongresní sladince. Pravděpodobně vzhledem k značné nehomogenitě vzorků jsme nenašli žádnou vzájemnou závislost mezi těmito hodnotami, pouze mezi friabilitou, Kolbachovým číslem a polyfenoly byly velmi slabé korelace ( $r < 0,5$ ) (viz obr. 5 a 6).



Obr. 5 Závislost obsahu polyfenolových látek na friabilitě u provozních sladů



Obr. 6 Závislost obsahu polyfenolových látek na Kolbachově čísle u provozních sladů

Z uvedených vybraných výsledků plyne, že se nám nepodařilo nalézt zákonitou souvislost mezi kvalitativními znaky charakterizujícími rozluštění sladu a mezi obsahem polyfenolových látek v roztoku. Kritéria rozluštění jsou totiž zaměřena jednoznačně na enzymy štěpící bílkoviny. Podle dosavadních výsledků není vztah polyfenolových látek k bílkovinám jednoznačně dán činností enzymů. Naopak změny polyfenolových látek nejsou rozhodující měrou řízeny enzymovými komplexy, přispívají pravděpodobně více k oxido-redukčnímu působení ve smyslu neenzymových reakcí.

### 3.3. Vliv máčení a hvozďení

Další možností, která může připadat v úvahu při sladařské technologii pro změny polyfenolů, je způsob máčení. Pro tento účel jsme připravili další pokus. Vzorek ječmene jsme namočili jednak klasicky bez vzdušných přestávek, jednak současně užívaným způsobem, krátké máčení pod vodou s dlouhými vzdušnými přestávkami. Výsledky

Tab. 1 Vliv způsobu máčení na obsah polyfenolů

	Klasicky	S vzduš. přest.
Stupeň domočení (%)	43	41
Polyfenoly (mg/l)	56	54

jsou uvedeny v tab. 1. Z tabulky je vidět, že do roztoku se dostalo stejné množství polyfenolů, způsobem máčení jejich obsah nebyl ovlivněn.

Postup hvozďení je další technologický prvek, který by mohl ovlivnit změny polyfenolů. Pro ověření této domněnky jsme uspořádali pokus se třemi dotahovacími teplotami. Obsah polyfenolů jsme měřili v kongresní sladince (tab. 2). Zjistili jsme, že nejsou podstatné rozdíly v obsahu polyfenolů mezi různě dotahovanými slady ze stejného ječmene.

Tab. 2 Vliv technologie hvozďení na obsah polyfenolů

Dotahovací teplota (°C)	Polyfenoly (mg/l)
82	58
78	66
70	55

Tab. 3 Obsah polyfenolů a anthokyanogenů během klíčení ječmene

Odběr vzorku	Anthokyanogeny (mg/l)	Polyfenoly (mg/l)
po 2. – vodě	27	107
po 1. dnu	30	86
po 2. dnu	17	71
po 3. dnu	21	64
po 4 dnech	24	70

### 3.4. Změny obsahu polyfenolových látek během klíčení

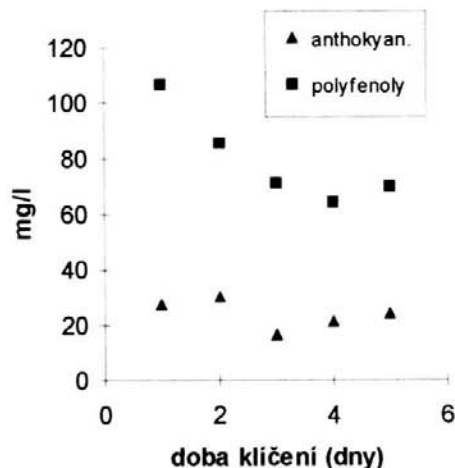
V další fázi našich pokusů jsme přistoupili ke sledování změn obsahu rozpustných polyfenolů během vlastního klíčení.

Sledovali jsme několik klíčících partií ječmene z provozu, od ječmene před namočením až po hotový slad. Paralelně jsme jednu hromadu sledovali i v podmínkách mikroskladovny. Vzorky jsme odebírali každý den z hromady ze stejného místa, ale přesto docházelo ke kolísání hodnot vzniklému nehomogenitou ječmene po přeorání. Vedle polyfenolů jsme měřili i anthokyanogeny.

Výsledky měření pěti hromad, uvedené v tab. 3 a na obr. 7, jsou pro zjednodušení zprůměrovány a vyneseny proti době klíčení. Z výsledků vyplývá, že obsah celkových rozpustných polyfenolových látek během máčení a klíčení v prvních třech dnech klesá a pak zůstává zhruba na stejné úrovni, zatímco obsah anthokyanogenů se mění jen málo (v mezích analytické chyby). U jednotlivých vzorků se projevilo dosti silné kolísání v obsahu polyfenolových látek, což je pochopitelné, neboť každá hromada představuje velkou partii často odrůdově nejednotného ječmene. Vzorek sledovaný v mikroskladovně potvrdil sledování provozní.

Je zajímavé, že s postupujícím rozluštěním sladu do výluhu přechází méně polyfenolů. Možným vysvětlením je, že během klíčení se tvoří pevný komplex mezi polyfenoly a jinými součástmi zrna (např. bílkovinami).





Obr. 7 Obsah polyfenolů v zeleném sladu

#### 4. ZÁVĚR

Z výsledků této práce se dají vyvodit následující obecné závěry:

1. Přechod polyfenolových látek do vodného roztoku nesouvisí s běžnými kvalitativními ukazateli rozluštění sladu.

2. Obsah polyfenolových látek v roztoku sladiny je ovlivněn odrůdou ječmene.

3. Obsah polyfenolových látek v kongresní sladince je nezávislým kritériem kvality a pravděpodobně by bylo účelné ho stanovovat.

4. Přechod sladových polyfenolů do roztoku sladiny a mladiny je velmi komplikovaný a bude vyžadovat intenzivní výzkumnou činnost.

#### LITERATURA

- [1] HASHIMOTO, N.: In Brewing Science J. R. A. Pollock, Ed. Academic Press, London, Vol.2, 1981, s. 347.
- [2] DALGLEISH, C. E.: Proc. Congr. EBC 16, 1997, s.623.
- [3] McMUROUGH, I. et al.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **54**, 1996, s. 141
- [4] NARZISS, L. Et al.: Tech. Q. Master. Brew. Assoc. Am. **30**, 1993, s. 48.
- [5] WALTERS, M.T., HEASMAN, A. P., HUGHES, P. S.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **55**, 1997, s. 83 a 91.
- [6] GRAMSHAW, J. W.: J. Inst. Brew. **73**, 1967, s. 258.

- [7] GRAMSHAW, J. W.: J. Inst. Brew. **75**, 1969, s. 61.
- [8] DADIC, M.: Tech. Q. Master. Brew. Assoc. Am. **10**, 1973, s. 69.
- [9] DADIC, M.: Tech. Q. Master. Brew. Assoc. Am. **11**, 1974, s. 11.
- [10] JERUMANIS, J.: Brauwissenschaft **25**, 1972, s. 37.
- [11] CHAPON, L.: In Brewing Science, J. R. A. Pollock, Ed. Academic Press, London, 1981, s. 407.
- [12] CHAPON, L.: Brew. Guard. **46**, 1994, s. 46.
- [13] ŠROGL, J., BOUŠOVÁ, P.: Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. 26, 1997, s. 275.
- [14] BASAŘOVÁ, G.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha 1993.
- [15] HARRIS, G. RICKETTS, R. W.: J. Inst. Brew. **65**, 1959, s.252
- [16] MIKYŠKA, A., HAŠKOVÁ, D.: Závěrečná zpráva VÚPS Praha, 1996

*Zpracováno podle přednášky na XVII. PS dnech, Frýdek-Místek  
Do redakce došlo 5. 12. 1997*