

# Z výzkumu a praxe

## VÝZNAM AMINOKYSELIN V TECHNOLOGII A KVALITĚ PIVA

Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Ing. JAN JANOUŠEK, Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Výtah z přednášky na schůzi Českých sládků, Plzeň 16. 2. 2000

**Klíčová slova:** pivo, aminokyseliny, kvašení, stará chuť, sladování

### 1 ÚVOD

Aminokyseliny sladu, které ve varném procesu přecházejí do mladiny, byly až do doby rozšířených poznatků o účasti těchto sloučenin v reakcích vedoucích k tvorbě tzv. komponent staré chuti piva považovány za bezproblémové látky sladářského a pivovarského procesu. Jejich velké množství v mladině se dokonce považovalo za příznivé pro technologii piva.

Základní význam aminokyselin sladu, nezbytných pro růst a metabolismus pivovarských kvasinek je jednoznačný, ale vzhledem k jejich účasti v reakcích vedoucích k tvorbě sensoricky nežádoucích sloučenin od sušení sladu až po skladování piva byly aminokyseliny zařazeny do skupiny tzv. kompromisních složek, které za určitých podmínek procesu a koncentrace v pivovarských médiích a pivu mají negativní vliv na organoleptické vlastnosti piva. V následujícím přehledu je stručně uveden pozitivní i negativní význam aminokyselin pro výrobu sladu a piva.

### 2 REAKCE TVORBY KOMPONENT STARÉ CHUTI PIVA

Ke staré chuti piva přispívá velké množství sloučenin. Stará chuť piva nebyla přesně definována a jednotlivé komponenty se podílejí různou intenzitou na chuťovém vjemu označovaném jako lepenkový, papírový, oxidovaný, slámový, karamelový, medový, sherry aj. Dominantní roli v tomto fenoménu hrají karbonyly (především aldehydy), jejichž tvorba je podmíněna velkým množstvím reakcí probíhajících rychle za vyšší teplot hvozdění, vaření rmutů a mladiny a při pasteraci, pomaleji v průběhu studených fází výroby piva a během skladování [1,2]. Vedle vlastních množství přímých reaktantů jejich tvorbu v meziproduktech a pivu významně podporuje přítomnost kyslíku, oxidačně-redukční potenciál, pH, hladina kovových iontů aj. Na tvorbě velkého množství sensoricky nežádoucích aldehydů se podílejí aminokyseliny.

Základní reakce tvorby aldehydů jako komponent staré chuti piva, na nichž se přímo podílejí aminokyseliny, jsou:

1. Maillardovy reakce pentos (ale i hexos) s aminokyselinami, aminy, peptidy a proteiny za vzniku 3-deoxyhexosových sloučenin, které s dusíkatou složkou tvoří

melanoidiny nebo deriváty furfuralu [3] a za účasti kyslíkatých radikálů [4].

2. Streckerovo odbourání aminokyselin na aldehydy o jeden uhlík kratší než výchozí aminokyselina je další reakcí v průběhu tvorby melanoidinů [5].

3. Aldolová kondenzace a oxidační degradace aldehydů jsou reakce tvorby komponent staré chuti piva, ve které aminokyseliny působí jako bazické katalyzátory, které tvoří s aldehydy přechodné iminy [6].

4. Oxidace alkoholů především nížemolekulárními melanoidiny [7] za účasti kyslíku a kovových iontů v radikálových reakcích [8,9].

5. Oxidace alkoholů kovovými ionty vzdušným kyslíkem za přítomnosti vhodného redukčního činidla, kterým může být i aminokyselina cystein [9].

6. Oxidace polyfenolů a kondenzace s aminokyselinami [10].

Z aminokyselin alaninu vzniká acetaldehyd, z leucinu 3-methylbutanal, z valinu 2-methylpropanal, z methioninu methanal, z fenylalaninu fenylacetaldehyd a za přítomnosti maltosy a mědnatých iontů i benzaldehyd [59].

Další základní reakce vedoucí k tvorbě komponent staré chuti jsou:

7. Oxidace lipidů působením enzymu lipoxygenasy (EC 1.13.11.12) za přechodného vzniku hydroxyperoxidů polynasycených mastných kyselin na počátku rmutování, vedoucí ke vzniku především *trans*-2-nonenalu z linolové kyseliny [11,12].

8. Autooxidace nebo fotooxidace nenasyčených mastných kyselin za účasti radikálů. V průběhu rmutování a varu mladiny jsou považovány z hlediska vlivu na sensoriku piva za málo významné [13].

9. Neoxidační cesty tvorby *trans*-2-nonenalu z prekurzorů vlivem teploty a nízkého pH skladovaného piva [14].

10. Oxidační odbourání iso- $\alpha$ -hořkých kyselin účinkem radikálů, které rovněž vede k tvorbě aldehydů [15,16].

### 3 VÝZNAM AMINOKYSELIN V POSKLIZŇOVÉM DOZRÁVÁNÍ JEČMENE

Ječmen po sklizni není schopen klíčit

a musí projít stadiem posklizňového dozrávání, při kterém se degradují a oxidují v zrna přítomné inhibitory klíčení, jako dorminy, kumarin, vanilinová kyselina aj. Současně se aktivují stimulatory klíčení gibbereliny, čímž je zrno opět schopno vegetace [17]. V tomto procesu mají významnou úlohu aminokyseliny s -SH skupinou, především glutathion a cystein, které zajišťují indukci dýchacích systémů metabolismu ječného zrna a syntézu proteinů, enzymových komplexů a nových tkání (kořínků a klíčku) [18]. Doba posklizňového dozrávání je závislá na genetickém základu odrůdy ječmene. Lze ji urychlit zvýšenou teplotou (např. sušením ječmene) či přidáváním oxidačních přípravků a gibberelové kyseliny do máčecí vody nebo postřikem v prvních fázích klíčení.

Negativní roli na tomto úseku výroby sladu a v průběhu skladování ječmene a sladu lze připsat aminokyselinám jako živinám pro pomnožení nežádoucích půdní či skladištní mikroflóry. Jedná se o pomnožení určitých rodů plísní. Tyto mikroorganismy obecně zhoršují kvalitu sladu. Škodlivé jsou především plísně, které produkují aflatoxiny (*Fusarium*), látky s karcinogenními a mutagenními účinky. Ječmen či slad napadený těmito plísněmi by při výrobě sladu a piva neměl vůbec být použit. Dalšími nežádoucími plísněmi jsou rody *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Stemphylium*, *Cladosporium* aj.) a skladištní (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Nigrospora*) mikroflóry, které produkují speciální metabolity způsobující v pivu tzv. primární gushing neboli přepěňování [19]. Tyto látky byly izolovány např. u *Nigrospora* sp. jako peptidický metabolit s účinnými disulfidovými vazbami a karboxylovými skupinami, označený NGF. U *Stemphylium* sp. se jedná o peptidoglykan s označením SGF. V obou případech se na jejich syntéze vzhledem k chemické podstatě podílejí aminokyseliny, které mikroorganismus využívá z napadené suroviny.

### 4 SLADOVÁNÍ

Hlavním cílem sladování je zajistit proteolytické a cytolytické rozluštění zrna a dostatečnou hladinu široké škály aktivovaných a nově syntetizovaných enzymů nejen pro uvedený účel, ale i pro



technologické pochody – především pro štěpení škrobu při přípravě mladiny. Aminokyseliny hrají v tomto procesu významnou roli. Působením proteolytických enzymů vznikají v zrně volné aminokyseliny a zvyšuje se hladina celkového aminodusíku. Současně se část volných aminokyselin podílí na syntéze enzymů zrna a bílkovin v hromadách v nových tkáních, tj. kořínků a stříšky [10, 17].

Vznik volných aminokyselin štěpením bílkovin je při klíčení závislý na vlastnostech použité odrůdy ječmene, stupni domočení, teplotě klíčení, délce sladování a obsahu oxidu uhličitého v hromadách v prvních třech až čtyřech dnech sladování [20,21].

Míra proteolytického rozluštění sladu je tím větší, čím vyšší je stupeň domočení ječmene, čím déle ječmen klíčí a čím je vyšší koncentrace oxidu uhličitého v hromadě v prvních dnech sladování. Se zvýšenou teplotou sladování hladina uvolněných aminokyselin klesá. Vyšší stupeň domočení podporuje podle Narzisse et al. [22] v pivu vznik především 3-methylbutanal, 2-fenylethanal a 2-furfural. Příklad vlivu uvedených faktorů na obsah celkového aminodusíku v klíčícím sladu dokumentují údaje v tab. 1.

Na základě současných poznatků o negativním vlivu aminokyselin, vzhledem k jejich účasti na tvorbě komponent staré chuti piva, je zájem o slad s nižším proteolytickým rozluštěním než v nedávném období.

Jestliže se dříve požadoval slad s Kolbachovým číslem až 44, v současnosti se většina pivovarníků vrací k preferenci hodnot Kolbachova čísla do 41. U celkového aminodusíku ve sladině se snižují požadavky z dříve preferovaných 250 mg/l a více na hodnoty nejvýše kolem 200 mg/l. Proto jsou revidovány i podmínky míry domočení a délky vedení hromad při sladování.

V technologii piva, ale i při tvorbě komponent staré chuti piva, má značný význam hodnota pH sladu a z něho vyrobené mladiny. I toto kritérium výrazně ovlivňuje podmínky sladovacího procesu. Zatímco v počátečních třech až čtyřech dnech klíčení je nutné důsledně odvětrávat produkt dýchání – oxid uhličitý, od stadia vyrovnané hromady určitá anaerobická procesu zajištěná zadržetým oxidem uhličitým podporuje tvorbu derivátů organických kyselin, a to především L-laktátu, malátu aj., které příznivě snižují hodnotu pH [23]. Z hlediska omezené

tvorby komponent staré chuti piva jsou žádoucí nízké hodnoty pH ve sladu, sladině a mladině (do pH 5,3), naopak nízké hodnoty pH (zvláště pod 4,0) v pivu jejich vznik podporují.

## 5 SUŠENÍ A HVOZDĚNÍ SLADU

V počátečních fázích sušení sladu do snížení obsahu vody k 20 % a zvýšení teploty do 40 °C, která se označuje jako růstová, je zrno ještě schopno klíčit. Pokračuje štěpení vysokomolekulárních dusíkatých látek a zvyšuje se obsah volných aminokyselin v zrně. Nepatrná část aminokyselin je spotřebována na syntézu bílkovin v stále rostoucích kořínkách a střílce. Obsah aminokyselin dále stoupá i po snížení obsahu vody v zrně pod 20 % a vzestupu teplot od 40 °C až do 60 °C v tzv. enzymové fázi sušení, kdy je zastaven vegetační projev zrna, ale pokračuje působnost sladových enzymů, a tudíž i proteolytických. Při dotahování od poklesu obsahu vody pod 10 % a vzestupu teplot od 60 °C klesá hladina volných aminokyselin v sladu. V této tzv. chemické fázi hvozdění je již aktivita enzymů inhibována a v rámci chemických reakcí vzniká široká škála barevných a aromatických látek. Vzniklé látky jsou důležité pro zajištění typické barvy, aroma a oxidačně-redukčního potenciálu sladu. Na druhé straně řada sloučenin z těchto reakcí jsou prekurzory či přímo komponenty staré chuti piva. Jejich nepříznivě vysoké obsahy se vytvářejí při špatném sladění poklesu vody s vzestupem dotahovacích teplot. Čím je teplota a obsah vody vyšší, tím více vzniká prekurzorů aromatických a barevných sloučenin, z nichž se při snížení obsahu vody k 5 % a vysokých teplotách dotahování tvoří různé druhy nejen pro slad typických barevných a aromatických látek, ale i senzoryckých nežádoucích komponent staré chuti piva [10].

Melanoidiny vznikají v reakcích cukrů s aminokyselinami. Tyto tzv. Maillardovy reakce probíhají v několika stupních, při nichž reaktivita aminokyselin je tím větší, čím jsou v jejich molekulách od sebe vzdáleněji situovány amino a karboxylové skupiny [24]. Reakční produkty za účasti jednotlivých aminokyselin mají rozdílnou intenzitu barvy i chuti.

Při tvorbě melanoidinů vznikají rovněž v tzv. Streckerových reakcích z aminokyselin aldehydy o jeden uhlík chudší než

výchozí aminokyselina. Tyto aldehydy mají různé aroma a vstupují do dalších reakcí s jinými aldehydy, štěpnými produkty cukrů, furfurelem, aldiminy, ketoiny a dalšími sloučeninami.

Při syntéze melanoidinů se tvoří několika cestami velké množství redukonů, které dále reagují např. s vodou na furany, s amoniakem na pyrroly, se sirovo-díkem na thiofeny a řadu dalších sloučenin patřících do kategorie prekurzorů či komponent staré chuti piva.

Termickým štěpením cukrů se tvoří látky s rozdílnou barevnou a chuťovou intenzitou, které opět mohou reagovat s aminokyselinami především s dlouhými řetězci (valinem a leucinem), či aminokyselinami obsahujícími v molekule síru za vzniku různých typů aldehydů.

Aminokyseliny rovněž reagují s dikarbonylovými sloučeninami vznikajícími při hvozdění oxidací polyfenolů za vzniku různých typů melanoidinů zvyšujících barvu a ovlivňujících aroma sladu a následně piva [10].

Z typických komponent staré chuti piva se při dotahovacích teplotách tvoří především 2-acetylfuran a 2-acetylmet-hylfuran [22].

Obecně platí, že přílišné proteolytické rozluštění sladu, a dále vyšší a déletrvající dotahovací teploty hvozdění zvyšují v příslušných pivech inklinaci k tvorbě staré chuti, na které se podílejí kromě dalších sloučenin aldehydy vzniklé za účasti aminokyselin sladu. Narziss et al. [22] považují za nejvhodnější pro výrobu českých sladů nízkou dotahovací teplotu pouze do 80 °C.

## 6 PŘÍPRAVA MLADINY

Během vystírky a rmutování ve varně přecházejí volné aminokyseliny ze sladu do roztoku a pokračuje v omezené míře (v porovnání se sladovacím procesem) jejich uvolnění z vysokomolekulárních dusíkatých sloučenin působením aktivních proteolytických enzymů. Množství uvolněných aminokyselin je závislé na teplotě vystírky. Nízké teploty studené a teplé vystírky do 50 °C znamenají přínos pro zpracování hůře proteolyticky rozluštěných sladů. Naopak u dobře rozluštěných či přelouštěných sladů prodlužování teplot dila do 50 °C podporuje při zvyšujících se teplotách a varech rmutů, scezování a chmelovaru tvorbu nejen melanoidinů a dalších barevných a aromatických látek, ale i komponent staré chuti piva, především aldehydů z reakcí Streckerova odbourání aminokyselin a indikátorů tzv. tepelného zatížení, jako je 2-furfural. Ten není v pivu přímým původcem staré chuti, ale nárůst jeho koncentrace koresponduje se zhoršováním senzoryckého profilu skladovaného piva [25]. Při nízkých teplotách vystírky a až do 56 °C katalyzují sladové lipoxigenasy tvorbu *trans*-2-nonenalu, který na rozdíl od výše uvede-

Tab. 1 Vliv podmínek sladování na obsah aminodusíku ve sladu [20,21]

Stupeň domočení	[%]	39	42	45	48	
Aminodusík	[mg/100 g sušiny]	105	112	136	175	
Teplota klíčení	[°C]		12	15	18	
Aminodusík	[mg/100 g sušiny]		150	132	120	
Doba klíčení	[dny]	4	5	6	7	8
Aminodusík	[mg/100 g sušiny]	125	128	135	145	142
CO <sub>2</sub> v hromadě	[% po 3 dnech klíčení]			0	10	20
Aminodusík	[mg/100 g sušiny]			134	140	159



ných sloučenin při varech rmutů a chmelovaru vytéká [12]. V dalších výrobních fázích opět vzniká neenzymovou cestou oxidačními degradacemi [13].

Tvorbu komponent staré chuti piva ve varním procesu podporuje přístup vzdušného kyslíku při mletí sladu, vystírání, přečerpávání díla v jednotlivých fázích a intenzivní pohyb při vaření rmutů a chmelovaru. Proto jsou navrhovány technologické postupy s aplikací inertních plynů při mletí sladu a varním procesu, vystírání sladu do odplyněné vody a napouštění díla do spodu nádob [26]. Rovněž potřeba překopávání a nového opakování počátku scezování v případě špatného stékání nepříznivě provzdušňuje dílo a podporuje nežádoucí reakce.

Kalné sladiny a mladiny obsahují vedle většího množství pevných částic i větší množství lipidů, a proto podporují v pivu tvorbu komponent staré chuti [27]. Vyšší koncentrace mastných kyselin v mladině inhibují při kvašení tvorbu oxidu siřičitého, který je v pivu přirozeným antioxidantem, a tím mastné kyseliny zhoršují senzorkou stabilitu piva [28]. Ze zařízení pro separaci mláta jsou z hlediska dosahované optimální čílosti považovány za nejvhodnější scezovací nádoby, horších výsledků se průměrně dosahuje na zařízení Strai-master. Nejvíce lipidů většinou obsahují sladiny z klasických sladivových filtrů [29].

Velký význam má v tvorbě nežádoucích prekurzorů a komponent staré chuti piva vyšší hodnota pH rmutů, sladiny a mladiny. Snížení pH biologickým oxyselováním k hodnotě 5,1 až 5,3 může do značné míry nežádoucí vliv kyslíku ve varním procesu eliminovat [22].

Do jaké míry se uplatní vliv špatné čílosti sladiny na senzorkou stabilitu piva, závisí na množství vyloučených kalů při chmelovaru. Intenzita a doba chmelovaru má dva protichůdné dopady [11]: vyšší intenzita a delší doba podporuje odpar karbonylových látek, odstranění prakticky veškerého *trans*-2-nonenalu odparem [31] i oxidační degradací [32] a vyloučení kalů, ale současně podporuje zvýšenou tvorbu nových karbonylových látek. Především vznikají aldehydy v rámci probíhající Maillardových reakcí, včetně Streckerova odbourávání aminokyselin, a tvoří se i další sloučeniny nežádoucí pro chuť piva. Proto je třeba volit kompromis, neprodukovat chmelovar nad 90 minut a zabránit nadměrnému pohybu díla při tomto varu.

Značná množství karbonylů se dostávají do mladiny při zpracování starých zoxidovaných chmelů a chmelových preparátů [33].

## 7 CHLAZENÍ A PROVZDUŠŇOVÁNÍ MLADINY

V průběhu chlazení mladiny probíhají při teplotách poměrně blízkých varu ve

vířivých kádích chemické reakce, při kterých pokračuje tvorba barevných, aromatických látek i komponent staré chuti piva. Jejich vznik podporuje tangenciální nátok způsobující intenzivní pohyb mladiny a délka doby prodlevy do usazení kalového kužele [1]. V tomto výrobním kroku se vzniklé produkty neodpaří a zůstanou v mladině. Při nízkých teplotách dochlazení jsou již příslušné reakce pomalé.

Dokonalé odstranění hrubých i jemných kalů omezuje tvorbu komponent staré chuti piva v dalších výrobních fázích [34, 35].

Nasycit mladinu kyslíkem je nezbytné pro zahájení kvasného procesu. Příliš dlouhá doba provzdušňování mladiny před zakvašením či v jeho průběhu může podpořit tvorbu senzoricke nežádoucích sloučenin, především za přítomnosti vyššího množství kalů, ve kterých je obsaženo nejen větší množství lipidů, ale i volných radikálů. Z toho vyplývá, že při dlouhodobém provzdušňování mladiny především během filtrace či napouštění flotačního tanku a následně cylindrokónického tanku se sice zajistí pro kvašení vhodná vyšší hladina kyslíku (8 až 10 mg/l), ale současně i podmínky pro tvorbu aldehydů a dalších komponent staré chuti piva. V každém případě negativním faktorem je prodlužování doby těchto procesů, a je proto vhodné provzdušňovat mladinu pouze do ochlazení na zákvasnou teplotu a jenom v míře potřebné pro pomnožení kvasinek (5-7 mg/l O<sub>2</sub>) [36]. Prodlužování flotačního procesu u nezakvašené mladiny výrazně snižuje její redukční kapacitu [37].

## 8 KVAŠENÍ A DOKVAŠOVÁNÍ PIVA

Aminokyseliny mají nezastupitelný význam při kvašení pro pomnožení kvasinek a metabolismu nejen dusíkatých látek, ale i sacharidů, lipidů, sirných sloučenin apod., jejichž využití je podmíněno indukovanými enzymy za tvorby ethanolu, esterů, vyšších alkoholů, mastných kyselin a dalších vedlejších metabolitů kvašení, důležitých pro typický buket piva [17]. Při výrazně nedostatečném obsahu aminokyselin v substrátu probíhá pomnožení buněk a kvašení pomalu, prokvašení mladého piva je nízké a senzorké vlastnosti piva mohou být narušeny.

Jednotlivé kmeny pivovarských kvasinek využívají aminokyseliny s rozdílnou rychlostí a mírou absorpce i v závislosti na jejich množství v mladině. Nejsou schopny absorbovat aminokyseliny spontánně, ale v určitém pořadí jako cukry. Z toho důvodu byly aminokyseliny mladiny rozděleny do skupin podle míry a rychlosti absorpce pivovarskými kvasinkami, které byly experimentálně připraveny i pro typické kmeny používané v českých pivovarech [38].

Tab. 2 Klasifikace aminokyselin mladiny podle množství v mladině, rychlosti a míry absorpce pivovarskými kvasinkami [38]

A : threonin, serin
A <sub>1</sub> : lysin, leucin
B : arginin, isoleucin
D : tyrosin
C : asparagová kyselina, fenylalanin, valin, alanin
E : methionin
F : histidin
G : glutamová kyselina, glycín
H : prolin

Kmenová odlišnost a dobrý fyziologický stav kvasinek mají vliv také na míru redukce karbonylů během kvašení [39], kterou zajišťuje jejich enzymatický potenciál s účastí alkoholdehydrogenasy, alkoholreduktasy i aldehyddehydrogenasy [40]. Na druhé straně aminokyseliny blokují při kvašení degradaci *trans*-2-nonenalu, protože s ním tvoří komplexy typu Schiffových bází, a tím je chrání před redukcí kvasinkovou populací [30].

Jednotlivé kmeny kvasinek se liší rovněž v produkci oxidu siřičitého při kvašení, který je v pivu přirozeným antioxidantem [41]. Oxid siřičitý je schopen tvořit s aldehydy senzoricke neutrální komplex, a tím je deaktivovat [45]. Jeho produkce při kvašení závisí na genetických vlastnostech použitého kvasničného kmene, jeho fyziologickém stavu, na koncentraci extraktu, pH, množství lipidů, kyslíku a sirných aminokyselin v mladině [46]. Nadměrné množství oxidu siřičitého v pivu má již negativní vliv na jeho chuťové vlastnosti [47] a hodnoty nad 10 mg/l vyvolávají u odběratelů podezření, že bylo pivo oxidem siřičitým upraveno, což je v řadě zemí zakázané.

Kvasinky nejdříve absorbují z mladiny aminokyseliny threonin a serin, aminokyseliny následujících skupin až po jejich poklesu, jehož míra je genetickou odlišností kmenů. Dokud nejsou schopny z uvedeného důvodu využívat aminokyseliny mladiny zařazené do skupin A<sub>1</sub> až G, syntetizují je ve vlastním buněčném metabolismu. Syntéza větvených aminokyselin leucinu a valinu v buňce znamená hromadění intermediátu  $\alpha$ -acetolaktátu, isoleucinu a  $\alpha$ -acetobutyrátu v buňce. Část těchto intermediátů je přeměna na příslušnou aminokyselinu a část vyloučena do kvasícího média, kde se neenzymovou cestou vlivem pH a kovových iontů mění na vicinální diketony, diacetyl a 2,3-pentadion, dávající pivu při vyšších koncentracích nepříznivou chuť a aroma [42]. Tento fenomén vyvolával obavy z nadměrné tvorby vicinálních diketonů při zavádění kvašení ve velkoobjemových cylindrokónických tancích, ve kterých se podle kapacitních podmínek varny prodlužuje doba plnění, a tím i opakovaně přísun mladiny s původní hladinou aminokyselin threoninu a serinu. To způsobuje zvýšenou aktivitu syntézy



především větvených aminokyselin v kvasničných buňkách. S dlouhodobým plněním CKT provzdušněnou mladinou se omezuje i příznivý pokles hodnot rH již rozkvašených prvních do tanku napuštěných várek. Praxe prokázala, že naplněním tanku optimálně do 12 hodin a nejvýše do 20 hodin, s časově omezenými prodlevami mezi jednotlivými napouštěnými várkami, případně s diferencovaným rozdělením zákvasné dávky kvasnic, při vhodné teplotní regulaci a dobrém fyziologickém stavu kvasnic, lze zajistit příznivě nízkou hladinu vicinálních diketonů v pivu [43]. U hlubokopokvašených piv z CKT s nízkou dávkou chmelení se mohou vyskytnout spíše změny charakteristických sensorických vlastností následkem nepříznivého zvýšení poměru vyšších alkoholů k esterům nad hranici hodnoty 7 [44].

Při nízkých teplotách dokvašování probíhají metabolické procesy kvasinek již značně omezeně, včetně redukce karbonylů kvasinkami. Rovněž změny v hladině aminokyselin jsou minimální. Důležité je důsledně omezit provzdušnění piva jak při přepouštění z kvasného do ležáckého tanku, tak i při čerpání piva do přetlačných tanků a na filtraci. Zvýšení obsahu kyslíku v pivu na tomto úseku má za následek rychlé zhoršování fyzikálně-chemické i sensorické stability piva.

## 9 FILTRACE, STABILIZACE A STÁČENÍ PIVA

V průběhu filtrace, stabilizace a stáčení nejsou registrovány vzhledem ke krátké době těchto operací okamžité výrazné změny v obsahu aminokyselin a organoleptických vlastností piva. V přímé závislosti na míře provzdušnění se při těchto úpravách piva vytvářejí podmínky pro rychlé zhoršování jeho vlastností v průběhu skladování. Z filtračních a stabilizačních prostředků se mohou uvolňovat do piva rozpustné formy kovů, především železnaté ionty, které podporují radikálové reakce vedoucí k staré chuti piva [48]. Enzymové stabilizátory zvyšují v pivu hladinu volných aminokyselin [49].

Další přísun vzdušného kyslíku může nastat při špatně seřazeném napouštění piva do přetlačných tanků. Vzhledem k zájmu o dlouhodobou (nejen koloidní, ale i sensorickou) stabilitu piva byly doporučeny úpravy, které omezují jeho provzdušnění při filtraci a stáčení, jako používání odplyněné vody při naplavování základní vrstvy filtračních prostředků a prostředí inertních plynů po celém úseku od filtrace po stočení [36], včetně evakuace lahví, předplnění inertním plynem, vytěsnění vzduchu z hrdlového prostoru lahví vstříkem paprsku tlakové vody, používání korunek se speciálními vložkami likvidujícími obsah kyslíku v uzavřené lahvi [22] apod.

## 10 PASTERACE PIVA

K zajištění mikrobiologické trvanlivosti piva je tepelná úprava pasterací nejrozšířenějším a spolehlivým postupem [50]. Nešetrný způsob jejího provedení však může výrazně zhoršit organoleptické vlastnosti piva, které se projeví ihned po pasteraci jako tzv. pasterační příchut, nebo rychlým stárnutím chuti piva v průběhu skladování [51].

Působením pasterační teploty zesílí v pivu reakce tvorby barevných a aromatických látek včetně prekurzorů a komponent staré chuti piva. Na těchto změnách se podílí kromě obsahu kyslíku, volných kovových iontů, celkového fyzikálně-chemického stavu piva i hladina obsahu aminokyselin [52] a zvýšený průběh radikálových reakcí [53].

Hloubka změn organoleptických vlastností je rovněž ve značné míře závislá na množství kyslíku v pivu. Tzv. pasterační příchut, kterou způsobují karbonyly [54], se v pivu neprokáže, pokud obsah kyslíku je pod hranicí 0,1 ppm [55], ale může být znatelná u piv s obsahem kyslíku nad 0,15 až 0,20 ppm [56].

Při studiu podmínek tunelové pasterace lahvového piva se potvrdil dominantní vliv doby působení pasterační teploty a menší význam zvýšené teploty na chemické složení piva, včetně poklesu obsahu aminokyselin a zhoršení organoleptických vlastností piva [57]. Tento poznatek potvrzují výsledky výzkumu o vlivu průtokové pasterace na kvalitu piva, která má v případě nízké hladiny kyslíku v tomto nápoji prakticky neprokazatelný vliv na zhoršení jeho organoleptických vlastností [58], ačkoli je pivo vystavováno působení teplot až o 15 °C vyšších než při pasteraci tunelové, ale velice krátkodobě. Na základě uvedených skutečností nelze hodnotu pasteračních jednotek považovat za kritérium informace o poškození piva pasterací [55].

## 11 SKLADOVÁNÍ PIVA

V období skladování probíhá v pivu řada oxidačních i neoxidačních reakcí, v jejichž důsledku pivo stárne. Hloubka chemických a sensorických změn je přitom závislá na teplotě, délce doby skladování, pohybu, přístupu světla a v neposlední řadě na složení a fyzikálně-chemickém stavu piva [49]. Postupy, kterými v pivu vznikají komponenty staré chuti, podporují radikálové reakce [60]. Velký vliv na tvorbu těchto sensoricky nežádoucích látek mají i v pivu přítomné aminokyseliny [61].

Úbytek aminokyseliny glutaminu během skladování byl navržen jako parametr k posouzení míry stárnutí piva [62]. Analýzy tří druhů 12% světlých piv z českých pivovarů prováděných v období pěti let prokázaly jednoznačný pokles celko-

vého obsahu aminokyselin během 6 až 9měsíčního skladování. Největší snížení se přitom zaznamenalo v obsahu methioninu, fenylalaninu, histidinu a tyrosinu, u většiny vzorků i leucinu, isoleucinu a lysinu [63]. Tyto aminokyseliny se zřejmě nejvíce podílely na vzestupu hladin aldehydů v skladovaném pivu.

V současné době dokončovaný výzkum v Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství VŠCHT v Praze potvrdil korelaci mezi obsahem celkových aminokyselin, mírou jejich poklesu při skladování (při teplotě 9 °C) a zhoršeným sensorickým posouzením piva. Průkazné změny organoleptických vlastností vykazovala piva, která v čerstvém stavu měla obsah aminokyselin nad hranicí 700 mg/l a během šesti měsíců skladování se jejich hladina snížila o 5 a více procent. Tyto změny se promítly v celkovém dojmu po napití jeho sníženou hodnotu o 2 stupně i více v devítibodovém hodnocení. Piva s nízkým obsahem celkových aminokyselin okolo 600 mg/l i při jejich šestiprocentním snížení během skladování se prakticky v celkovém dojmu po napití zhoršila nejvýše o jeden stupeň.

## Literatura

- [1] BACK, W. et al.: Brauwelt Int., **17** (5), 1999, s. 394
- [2] NARZISS, L.: J. Inst. Brew. **92**, 1986, s. 346
- [3] MEILGAARD, M.: Brew. Dig. **47**, 1972, s. 48
- [4] ŠAVEL, J., ZDVIHALOVÁ, D.: Kvasny Prum. **45**, 1999, s. 113
- [5] TRESSL, R.: Brauwissenschaft **32**, 1979, s. 240
- [6] HASHIMOTO, N.: Rep. Res. Lab. Com. **31**, 1988, s. 19
- [7] HASHIMOTO, N.: J. Inst. Brew. **78**, 1972, s. 43
- [8] HASHIMOTO, A.: Rep. Res. Lab. Com. **19**, 1976, s. 1
- [9] IRWING, A. J., BAKER, R. L., PIPASTS, P.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **49**, 1991, s. 140
- [10] NARZISS, L.: Die technologie der Malzbereitung, 6. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1976, s. 275
- [11] GRAVELAND, A., PESMAN, L., VAN ERDE, P.: Tech. Quart. MBAA **9**, 1972, s. 98
- [12] DROST, B. W. et al.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **48**, s. 124
- [13] BAMFORTH, C. W., MULLER, R. E., WALKER, M. D.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **51**, 1993, s. 79
- [14] Liegeois, C. et al.: Cerevisia, 1999, s. 21
- [15] HASHIMOTO, N., ESHIMA, T.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **35**, 1977, s. 145
- [16] KANEDA, H. et al.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **47**, 1989, s. 49
- [17] BASAŘOVÁ, G., ČEPIČKA, J.: Sladařství a pivovarství, skriptum VŠCHT, SNTL, PRAHA 1986
- [18] BELDEROK, B.: J. Inst. Brew. **74**, 1968, s. 333
- [19] AMAHA, M., HORIUCHI, T.: J. Soc. Brew. Japan **74**, 1979, s. 805
- [20] WEINFURTER, F. et al.: Brauwelt **107**, 1967, s. 1459



- [21] NARZISS, L., MEHLTRETTER, A.: Brauwissenschaft **24**, 1971, s. 273
- [22] NARZISS, L. et al.: Mschr. Brauwissenschaft **52**, 1999, s. 192
- [23] SOUTH, J. B., CORKEY, K.: Proc. 25th EBC, Brussels, 1995, s. 233
- [24] LÜERS, H., LAMPL, P.: Brauwissenschaft **8**, 1955, s. 218
- [25] BRENNER, M. W., KHAN, A. A.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **35**, 1976, s. 14
- [26] YAMAGUCHI, et al.: Proc. 26th EBC, Maastricht, 1997, s. 257
- [27] ANNES, B. J., REED, R. J. R.: J. Inst. Brew. **91**, 1985, s. 313
- [28] KANEDA, H. et al.: J. Ferment and Bioeng. **73**, 1992, s. 456
- [29] ANNES, B. J., REED, R. J. R.: J. Inst. Brew. **91**, 1985, s. 456
- [30] LERMUSIEAU, G. et al.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **57**, 1999, s. 29
- [31] NOEL, S., COLLIN, S.: Proc. 25th EBC, Brussels, 1995, s. 483
- [32] COLLIN, S. et al.: Proc. 27th EBC, Cannes, 1999, s. 113
- [33] TRESSL, R. et al.: J. Agric. Food Chem. **28**, 1978, s. 1426
- [34] WHITEAR, A. L., MAULE, D. R., SHARPE, F. R.: Proc. 19th EBC, London, 1983, s. 81
- [35] EILS, H. G., JÜNEMANN, A.: Proc. 26th EBC, Maastricht, 1967, s. 367
- [36] BAMFORTH, C. W.: Brauwelt Int. **17**, 1999, s. 98
- [37] FORSTER, C., BACK, W.: Proc. 27th EBC, Cannes, 1999, s. 727
- [38] BASAŘOVÁ, G.: Brauwissenschaft **27**, 1974, s. 244
- [39] DROST, B. W. et al.: J. Amer. Soc. Brew. Chem. **48**, 1990, s. 124
- [40] DEBOURG, A. et al.: Proc. 24th EBC, Oslo, 1993, s. 437
- [41] BASAŘOVÁ, G., et al.: Kvasny Prum. **43**, 1997, s. 164
- [42] WAINWRIGHT, T. J.: J. Inst. Brew. **79**, 173, s. 451
- [43] BASAŘOVÁ, G.: Kvasny Prum. **36**, 1990, příloha Kvas, s. 43–46
- [44] BASAŘOVÁ, G.: Modernizace výroby piva, kvalita, typové vlastnosti z hlediska procesu výroby piva, Pivovarsko-sladařské dny, Pardubice 26.–27.10. 1973
- [45] NORDLOV, H., WINELL, B.: Proc. 19th EBC, London 1983, s. 271
- [46] NORLOV, H.: Proc. 20th EBC, Helsinki 1985, s. 291
- [47] KLIMOWITZ, R. J., KINDRAKA, J. A.: Tech. Quart. MBAA **26**, 1989, s. 70
- [48] KANEDA, H. et al.: J. Agric. Food Chem. **40**, 1992, s. 2102
- [49] BASAŘOVÁ, G.: Food Mikrostrukture **9**, 1990, s. 155
- [50] BRANDON, H., et al.: Tech. Quart. MBAA **21**, 1984, s. 153
- [51] DALGLIESH, C. E., Proc. 17th EBC, Amsterdam, 1977, s. 623
- [52] SZIMAJDA, A.: Studium faktorů senzorické stability piva, diplomová práce, VŠCHT, Praha 1998
- [53] WACKERBAUER, K., HARDT, C.: Brauwelt Int. **15**, 1997, s. 320
- [54] WACKERBAUER, K., ZUFALL, C.: Ce-revisia **3**, 1999, s. 37
- [55] BAMFORTH, C. W.: Ferment, **1**, 1988, s. 49
- [56] SMUTNÝ, P.: Vliv podmínek pasterace na změny ve složení polyfenolů a aldehydů piva, diplomová práce VŠCHT, Praha 1999
- [57] WACKERBAUER, K., ZUFALL, C.: Brauwelt Int. **15**, 1977, s. 90
- [58] ŠAVEL, J., ZDVIHALOVÁ, D.: Proc. 27th EBC, Cannes, 1999, s. 267
- [59] ŠAVEL, J., ZDVIHALOVÁ, D.: Kvasny Prum. **45**, 1999, s. 112
- [60] THUM, B., et al.: Proc. 25th EBC, Brussels, 1995, s. 491
- [61] HILL, P., LUSTIG, S., SAWATZKI, V.: Mschr. Brauwissenschaft **51**, 1998, s. 36
- [62] BASAŘOVÁ, G., et al.: Mschr. Brauwissenschaft **52**, 1999, s. 112
- [63] ŠAVEL, J., ZDVIHALOVÁ, D.: Proc. 27th EBC, Cannes, 1999, s. 267

*Do redakce došlo 28. 3. 2000*

**Basařová, G. – Janoušek, J.: Význam aminokyselin v technologii a kvalitě piva.** Kvasny Prum. **46**, 2000, č. 11, s. 314–318.

V rešeršním článku jsou diskutovány všechny aspekty významu aminokyselin ve sladařství a pivovarství. Diskutován je průběh změn složení i obsahu těchto látek od posklizňového dozrávání ječmene až po skladování hotového piva. Zvláštní pozornost je věnována významu aminokyselin při tvorbě staré chuti piva, která vzniká za aktivní účasti těchto látek deseti možnými způsoby.

**Basařová, G. – Janoušek, J.: Importance of Aminoacids in Beer Technology and Quality.** Kvasny Prum. **46**, 2000, No. 11, p. 314–318.

In the search report, all aspects of the importance of aminoacids in malting and brewing industry have been discussed. The course of changes of both composition and content of these substances from after-crop

maturation till finished beer storage has been discussed.

Particular attention is paid to the importance of aminoacids for the formation of beer old taste which is formed under active participation of these substances by 10 possible ways.

**Basařová, G. – Janoušek, J.: Bedeutung der Aminosäuren in der Technologie und Qualität des Bieres.** Kvasny Prum. **46**, 2000, Nr. 11, S. 314–318.

In dem auf Recherchen basierendem Artikel werden die verschiedenste Aspekte der Bedeutung der Aminosäuren in der Malz- und Brauindustrie diskutiert. Besprochen wird der Verlauf der Veränderungen in der Zusammensetzung und dem Gehalt dieser Substanzen von der Nachreife der Gerste nach der Ernte bis zur Lagerung des Fertigbieres. Besondere Aufmerksamkeit wird der Rolle der Aminosäuren bei der Entstehung des al-

ten Geschmacks des Bieres gewidmet – die Aminosäuren beteiligen sich an diesem Geschmack aktiv, wobei man zehn Einflussmechanismen unterschieden kann.

**Басаржова, Г.–Яноушек, Я.: Значение аминокислот в технологии и качестве пива.** Kvasny Prum. **46**, 2000, Nr. 11, стр. 314–318.

В статье приводится резюме всех аспектов значения аминокислот в солодоращении и пивоварении и ведется дискуссия вокруг них. Внимание уделяется изменениям состава и содержания этих веществ, начиная созреванием ячменя после его урожая и кончая хранением готового пива. Особое внимание уделяется значению аминокислот при возникновении старого привкуса пива, который возникает при активном участии этих веществ путем десяти возможных способов.