

# SLEDOVÁNÍ OXIDAČNÍCH ZMĚN SACHARIDŮ A REDUKTONŮ BAREVNÝMI INDIKÁTORY

Doc. Ing. JAN ŠAVAL, CSc., Budějovický Budvar, n.p., České Budějovice

**Klíčová slova:** pivo, oxidační reakce, reduktory, sacharidy, indikátory

## 1 ÚVOD

Řízené oxidační reakce v živých organismech často poskytují nadbytečná množství aktivních forem kyslíku (ROS) nebo přímo radikály, schopné napadat veškeré organické složky živé hmoty. Poškození biochemických cílů může souviset se vznikem mnoha vážných nemocí a v současnosti se považuje za hlavní příčinu stárnutí živých organismů [1].

Také u neenzymových reakcí nelze zcela zabránit tvorbě těchto látek, které jsou příčinou zhoršování organoleptických vlastností potravin, ale mohou také působit v živých organismech, např. v glykosylačních reakcích u diabetes mellitus [2].

Nežádoucí změny vlastností piva po jeho stočení mohou mít stejný původ. Z těchto důvodů se věnuje testování prooxidačních a antioxidačních složek jednotlivých složek potravin velká pozornost. Základní mechanismus stárnutí piva zahrnuje také působení molekulárního kyslíku, který se převádí na volné radikály kyslíku (OFR). V současnosti se předpokládá i oxidace bez účasti kyslíku, neboť stárnou i piva s velmi nízkým obsahem rozpuštěného kyslíku [3].

Strategie průkazu nežádoucích dějů se zaměřuje na detekci anorganických nebo organických radikálů přímými fyzikálními metodami, měřením doprovozných fyzikálních jevů, např. chemiluminiscence, nebo sledováním změn chemického složení potravin, popř. barvy přidaného indikátoru [4].

Mezi přímé fyzikální metody náleží elektronová spinová rezonanční spektroskopie (ESR), nukleární magnetická rezonanční spektroskopie (NMR), pulzní radiolýza a měření intenzity emitovaného záření při oxidačních procesech.

Chemické metody zahrnují prakticky všechny chemické analytické postupy, indikátorové metody často používají změn barevných sloučenin, které přednostně reagují s oxidačními činidly. Mezi barevné indikátory náleží i oxidačně

redukční indikátory, které mohou snadno předávat elektrony a měnit barvu, přičemž tyto změny jsou často vratné. Barevné radikálové indikátory (CRI) zahrnují barevné organické radikály nebo barviva, která se naopak účinkem radikálů rozkládají [4].

Radikálové reakce se často iniciují působením fyzikálních nebo chemických iniciátorů, popř. enzymových reakcí generujících radikály. Často se tyto postupy kombinují. Antioxidanty tyto reakce blokují (zhašejí), přičemž prooxidanty je naopak zesilují [5].

Mezi fyzikální iniciátory náleží radiolýza, fotolýza v ultrafialové i viditelné oblasti a termický rozklad přirozených nebo uměle připravených látek. K chemickým iniciátorům patří peroxidy, peroxodisírany a azobarviva (např. dihydrochlorid 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropanu) – AAPH) a další sloučeniny. Nejčastějším přirozeným iniciátorem je Fentonova reakce za přítomnosti kovových iontů. Enzymové iniciátory často využívají skupiny oxidačně redukčních enzymů, oxidoreduktas [5].

V poslední době jsme se zabývali tepelným rozkladem sacharidů za účasti peroxodisírany a analýzou jejich reakčních produktů [6]. Současné sdělení se zabývá účastí sacharidů v přirozených oxidačních procesech při výrobě piva. Rovněž se zkoumají změny rozkladu silných reduktů, jako např. kyseliny askorbové. Reduktory se obvykle považují za antioxidanty.

Všeobecně se předpokládá, že silná redukční činidla blokují vznik radikálů nebo je rychle zhašejí, čímž eliminují nežádoucí radikálové reakce. Redukční prostředí však naopak může přispívat k autokatalytickým reakcím, zajišťujícím zpětnou redukci oxidovaných forem kovových iontů ve Fentonově reakci.

## 2 MATERIÁL A METODY

### 2.1 Chemikálie

D(+) monohydrát maltosy, dihydrochlorid N,N,N',N'-tetramethyl-p-fenylen-

diaminu, 1,1'-difenyl-2-pikryl hydrazyl, 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát), chlorid nitrotetrazolové modři, 4-nitroso-N, N-dimethylanilin, methylenová modř, N-benzoyl leukomethylenová modř, sodná sůl methylové červeně, dihydrochlorid 2,2'-azo-bis-(2-methylpropinamidinu) – AAPH, peroxodisíran draselný – PK, kyselina linolová, Tween 20 (vše FLUKA Chemie, Švýcarsko), sodná sůl 2,6-dichlorfenolindofenolu, indigokarmín (disodná sůl indiga), dihydrát kyseliny citronové, hydroxid sodný (MERCK, SRN).

### 2.2 Roztoky indikátorů

Zásobní roztoky indikátorů se připravily podle tab. 1 a 2 v redestilované vodě nebo v 96% ethanolu. Roztoky indikátorů se přidávaly k jednotlivým vzorkům v množství potřebném k dosažení pracovní koncentrace (1:100). Takto připravené indikátory měly barvu oxidační formy indikátoru, s výjimkou bezbarvých roztoků ABTS a MELE, k jejichž oxidaci je zapotřebí radikálové činidlo.

### 2.3 Zásobní roztok chloridu měďnatého

Roztok dihydrátu chloridu měďnatého ( $c = 0,268 \text{ g.l}^{-1}$ ) v redestilované vodě se přidával k vzorkům v poměru 1:100 ( $c = 1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ ).

### 2.4 Zásobní roztok kyseliny linolové

Zásobní roztok kyseliny linolové ( $c = 0,25 \%$ ), připravený podle [7] se k jednotlivým vzorkům přidával v poměru 1:100.

### 2.5 Vodovodní voda

Vodovodní voda s tvrdostí  $0,7 \text{ mmol.l}^{-1}$ , obsahem železa ( $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a vodivostí  $170 \text{ } \mu\text{S}$ , pH = 6,9.

### 2.6 Redestilovaná voda

Redestilovaná voda s vodivostí  $< 0,2 \text{ } \mu\text{S}$ , pH = 6,4.

Tab. 1 Oxidoredukční, alkalimetrické a radikálové indikátory

Zkratka	Název	Molekulová hmotnost	Literatura
DCIP	Sodná sůl 2,6-dichlorfenolindofenolu	326,11	8
INDC	Indigokarmín (disodná sůl indiga)	466,36	9
TMPD	N,N,N',N'-tetramethyl-p-fenylendiamin	237,17	10
DPPH	1,1'-difenyl-2-pikrylhydrazyl	394,33	11
ABTS	2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát)	548,68	12, 13
NBTZ	Chlorid nitrotetrazolové modři	867,80	4
PNDA	p-nitrosodimethylanilin	150,18	14
MEBL	Methylenová modř	319,86	9
MELE	N-benzoyl leukomethylenová modř	389,52	15
METR	Sodná sůl methylčerveně	291,29	9

Tab. 2 Barva indikátorů ve vodném roztoku v pracovní koncentraci a jejich zásobní koncentrace (\* = ethanol)

Indikátor	Barva indikátoru, forma			Koncentrace [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	
	oxidační	$\lambda_{\text{max}}$	redukční	zásobní	pracovní
DCIP	modrá	605	bezbarvá	1000	10
INDC	modrá	610	žlutá	1000	10
TMPD	modrá	610	bezbarvá	1000	10
DPPH	fialová	525	bezbarvá	*500	5
ABTS	bezbarvá – zelená	650	bezbarvá	1000	10
NBTZ	žlutá	550	modrá	800	8
PNDA	žlutozelená	440	zelená – bezbarvá	*1000	10
MEBL	modrá	666	bezbarvá	1000	10
MELE	modrá	666	bezbarvá	*800	8
METR	oranžová	520	červená – bezbarvá	1000	10



## 2.7 Přístroj pro přehánění vodní párou

Přístroj pro přehánění vodní párou s elektrolytickým vyvíječem vodní páry (1-CUBE, Havlíčkův Brod). Z 50 ml vzorku se přehánilo vodní párou 50 ml destilátu za 2 min.

## 2.8 Spektrofotometr

Spektrofotometr CADAS 200 (Dr. Lange, SRN). Spektra se proměřovala v 1 cm křemenných kyvetách proti redestilované vodě.

## 2.9 Laboratorní přístroj pro přípravu destilované a redestilované vody

Přístroj pro přípravu destilované a redestilované vody reverzní osmózou (PREMIER, USA).

## 3 PRACOVNÍ POSTUPY

### 3.1 Spektrální změny těkavých produktů a meziproduktů piva

Pivo zbavené oxidu uhličitého, sladina a mladina se stejným původním extraktem 12 %, se zahřívaly po dobu 1 – 3 dny při 80 °C. Po přehánění vodní párou se proměřila spektra destilátů v oblasti 200 – 320 nm. Příklady měření uvádí obr. 1.

### 3.2 Redukce produktů zahřívání piva kvasničními enzymy

Vytřepané 10% a 12% pivo se zahřívalo 2 dny při 80 °C. Po ochlazení se přidaly odstředěné kvasnice ve výsledné koncentraci  $10^8$  buněk. $\text{ml}^{-1}$  vzorku a 4 h se ponechaly při 25 °C. Po redukci

Tab. 3 Změny barvy indikátorů v závislosti na pH, oxidačně-redukčním prostředí a radikálové oxidaci

Indikátor	Barva indikátoru v pracovní koncentraci				
	Redestilovaná voda	Kyselina citronová	Kyselina askorbová	12% pivo	Radikálový iniciátor
DCIP	modrá	fialová	bezbarvá	žlutá	část. odbarvená
INDC	modrá	modrá	část. odbarvená	žlutá	část. odbarvená
TMPD	modrá	modrá	bezbarvá	žlutá	bezbarvá
DPPH	fialová	fialová	bezbarvá	žlutá	bezbarvá
ABTS	bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá	žlutá	zelená
NBTZ	žlutá	žlutá	žlutá	žlutá	žlutá
PNDA	žlutozelená	část. odbarvená	část. odbarvená	část. odbarvená	část. odbarvená
MEBL	modrá	modrá	část. odbarvená	modrozelená	modrá
MELE	bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá	žlutá	modrá
METR	oranžová	červená	červená	červená	červená

se kvasnice odfiltrovaly, vzorek se přehnal vodní párou a proměřila se spektra těkavých produktů (obr. 2).

### 3.3 Spektrální změny těkavých produktů kyseliny askorbové

Roztoky kyseliny askorbové v redestilované a vodovodní vodě (0,1 %) s přídavkem  $\text{Cu}^{2+}$  ( $1 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a bez něj se ohřívaly 1 – 3 dny při 80 °C. Po přehánění vodní párou se proměřila spektra destilátů v 1 cm kyvetě v oblasti 230 – 320 nm. Příklady měření uvádí obr. 3.

### 3.4 Barevné změny indikátorů v přítomnosti maltosy

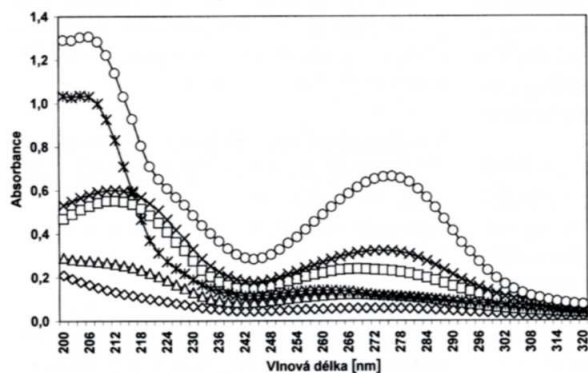
Roztoky maltosy ( $c = 5 \%$ ) ve vodovodní a redestilované vodě s přídavkem  $\text{Cu}^{2+}$  ( $1 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a bez něj se zahřívaly při 80 °C a sledovaly se změny barvy indikátorů, přidaných v pracovních koncentracích.

Před zahříváním měla všechna barviva rozpuštěná v redestilované nebo vodovodní vodě barvu na vzduchu oxidovaných forem (tab. 2), s výjimkou ABTS a MELE, které jsou v základních roztocích bezbarvé a vybarvení se dosáhne teprve reakcí s aktivními formami kyslíku.

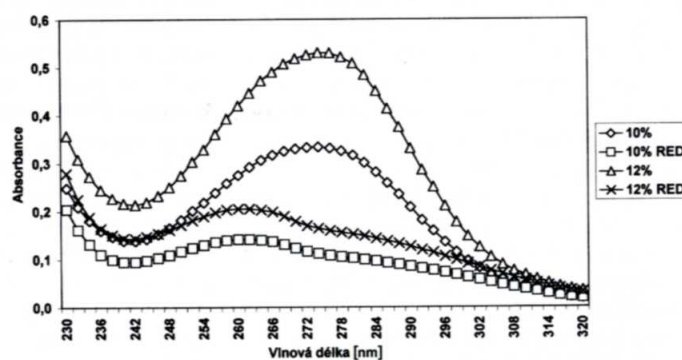
Současně se sledovaly změny barvy indikátorů v pracovní koncentraci v roztocích kyseliny citronové nebo askorbové ( $c = 0,1 \%$ ) a v 12% pivu při 25 °C (tab. 3). Účinek radikálových iniciátorů se posuzoval podle barevných změn indikátorů v pracovních koncentracích v roztocích PK a AAMH ( $c = 0,1 \%$ ) při 25 °C (tab. 3).

### 3.5 Změny absorbance roztoků kyseliny askorbové v přítomnosti kovových iontů

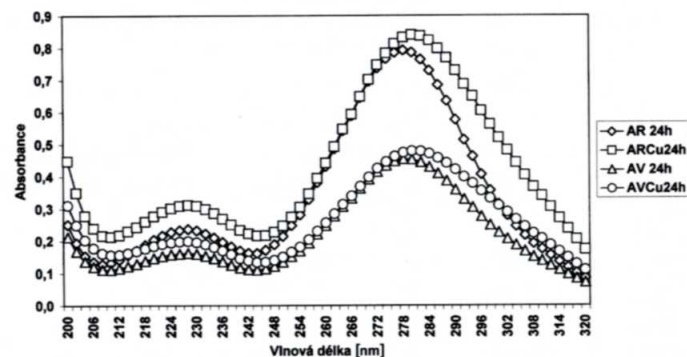
Roztoky kyseliny askorbové ( $c = 0,1 \%$ )



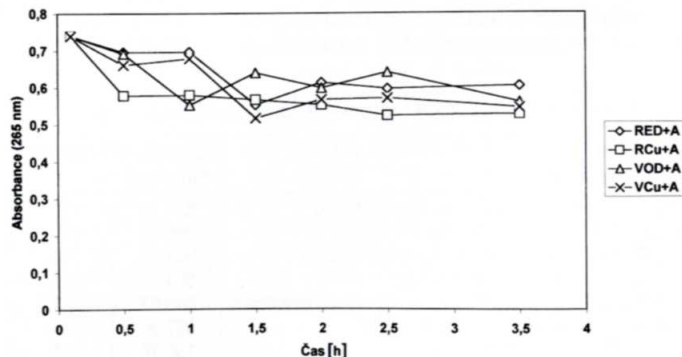
Obr. 1 Absorpční spektra destilátů piva a meziproduktů po ohřevu 3 dny při 80 °C



Obr. 2 Absorpční spektra destilátů piv, ohřívání 2 dny při 80 °C, před a po redukci kvasnicemi ( $10^8 \text{ ml}^{-1}$ ) při 25 °C

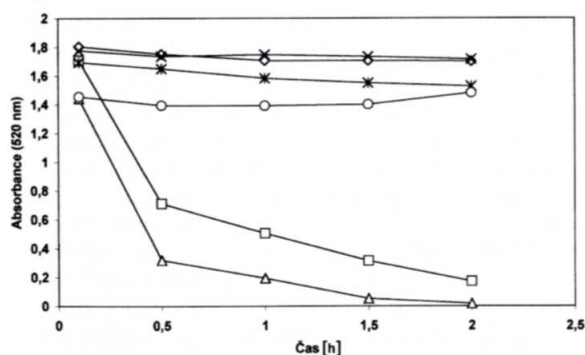


Obr. 3 Absorpční spektra roztoků kyseliny askorbové ( $c = 0, 1 \%$ ), zahřívání 24 h při 80 °C v redestilované (AR) a vodovodní (AV) vodě

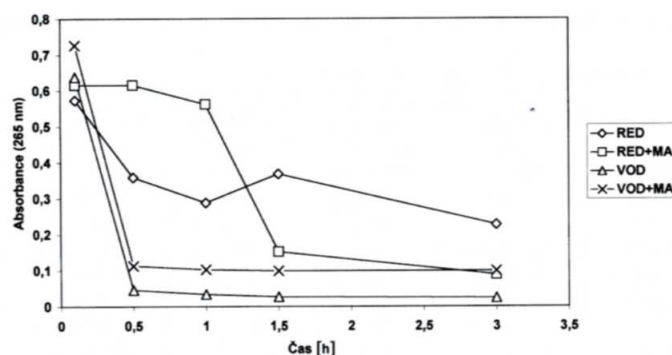


Obr. 4 Změny absorbance roztoků kyseliny askorbové ( $A, c = 0,1 \%$ ,  $1 : 100$ ) v redestilované (RED) a vodovodní (VOD) vodě s přídavkem  $\text{Cu}^{2+}$  při 40 °C

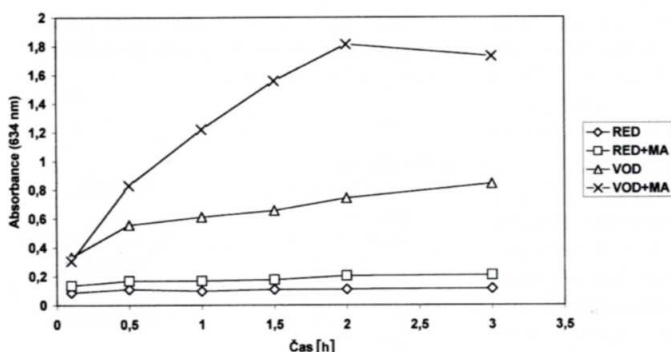




Obr. 5 Změny absorbance roztoků methylové červeně s kyselinou askorbovou (A) a citronovou (C), ( $c = 0,1 \%$ ) v různém prostředí při  $40^\circ\text{C}$



Obr. 6 Změny absorbance kyseliny askorbové ( $c = 0,001 \%$ ) v přítomnosti maltosy (MA,  $c = 5 \%$ ) v redestilované (RED) a vodovodní (VOD) vodě při  $40^\circ\text{C}$



Obr. 7 Změny absorbance kyseliny linolové ( $c = 0,0025 \%$ ) v přítomnosti maltosy (MA,  $c = 5 \%$ ) v redestilované (RED) a vodovodní (VOD) vodě při  $40^\circ\text{C}$

ve vodovodní i redestilované vodě s přidáním  $\text{Cu}^{2+}$  ( $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a bez něj se zahřívaly při  $40^\circ\text{C}$ . Před měřením absorbance při  $265 \text{ nm}$  se vzorek zředil 1:100 redestilovanou vodou (obr. 4). V souběžném pokusu se k roztokům kyseliny askorbové a citronové ( $c = 0,1 \%$ ) přidal roztok methylové červeně ( $c = 10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a měřila se absorbance při  $520 \text{ nm}$  v redestilované, vodovodní vodě a pivo (obr. 5).

### 3.6 Oscilační reakce v roztoku kyseliny askorbové v pivo

K  $10 \text{ ml}$  vytřepeného  $12\%$  piva se přidalo  $0,1 \text{ ml}$  roztoku kyseliny askorbové ( $c = 10 \%$ ) a  $0,1 \text{ ml}$  zásobního roztoku methylové červeně ( $c = 1000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Roztoky se promíchaly a sledovaly se barevné změny tohoto systému při  $25$  a  $40^\circ\text{C}$ .

### 3.7 Rozklad kyseliny askorbové v přítomnosti maltosy

Roztoky kyseliny askorbové ( $c = 0,001 \%$ ) v redestilované vodě a vodovodní vodě se zahřívaly při  $40^\circ\text{C}$  s přidáním maltosy ( $c = 5 \%$ ) a bez něj. Úbytek kyseliny askorbové se měřil podle poklesu absorbance při  $265 \text{ nm}$  (obr. 6).

### 3.8 Oxidace kyseliny linolové v přítomnosti maltosy

Roztoky kyseliny linolové ( $c = 0,0025 \%$ ) v redestilované vodě a vodovodní vodě se zahřívaly při  $40^\circ\text{C}$  s přidáním

maltosy ( $c = 5 \%$ ) a bez něj. Oxidace kyseliny linolové se měřila podle nárůstu absorbance při  $234 \text{ nm}$  (obr. 7).

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Zahřívání mezi-produktů výroby piva vykazuje podobné změny absorbance těkavých produktů jako pivo (obr. 1). V oblasti  $240$  až  $310 \text{ nm}$  se

absorpční křivka destilátu postupně posouvá ve svislém směru za současného vodorovného posunu absorpčního maxima. Konečným produktem rozpadu je furfural s charakteristickým absorpčním maximem při  $277 \text{ nm}$ .

Tyto změny lze pozorovat i v průběhu varního procesu a využít je proto při jeho kontrole. Během hlavního kvašení a do-kvašování se furfural redukuje na furfurylalkohol, ale při stárnutí piva se tvoří opět furfural a změny absorpční křivky se opakují.

Redukci těkavých produktů starého piva kvasničnými enzymy lze eliminovat vliv furfuralu a získat původní absorpční křivku před stárnutím (obr. 2). Tímto způsobem lze odstranit neznalost původní absorpční křivky těkavých produktů piva před stárnutím. Rozdíl mezi původní a aktuální absorpční křivkou těkavých produktů lze považovat za míru stárnutí piva.

Kyselinu askorbovou je možné považovat za příklad silného reduktoru, jehož rozkladem mohou také vznikat produkty typické pro rozklad sacharidů (obr. 3).

Při sledování změn barevných indikátorů je nutné zvážit vliv pH, které se u pivovarských substrátů pohybuje v rozmezí  $4,3 - 5,5$  a oxidačně redukční kapacity roztoků. Pivovarské meziproducty a pivo mají vždy výraznější redukční schopnost. Vliv pH a redukčního prostředí lze posoudit podle změn barvy indikátorů v prostředí  $0,1\%$  kyseliny citro-

nové nebo askorbové. Hodnoty pH obou kyselin v této koncentraci jsou okolo  $4,0$ ; kyselina askorbová je navíc silným redukovadlem (tab. 3).

Nízká hodnota pH ovlivňovala barvu u indikátorů DCIP (směrem k fialové barvě) a PNDA (částečné odbarvení). Redukční prostředí kyseliny askorbové se projevilo odbarvením indikátorů DCIP, DPPH, TMPD a částečně také INDC, PNDA a v malém rozsahu i METR.

V přirozeném prostředí piva se podle očekávání odbarvily indikátory DCIP, INDC, DPPH a TMPD, pomalu klesala také absorbance roztoků s přidáním PNDA a METR.

Stabilita barevných indikátorů se rovněž hodnotila reakcí jejich roztoků s radikálovými činidly peroxodisíranem draselným a AAMH v koncentraci  $0,1 \%$ . Jejich účinek se podle očekávání projevil rychlým odbarvením roztoků TMPD peroxodisíranem draselným a DPPH oběma radikálovými iniciátory. ABTS a MELE získaly působením iniciátorů barvu oxidačních forem, po delším působení ( $24 \text{ h}$ ) se úplně odbarvila prakticky všechna testovaná barviva s výjimkou MEBL, MELE a PNDA.

Změny barvy přidáním iniciátoru závisely také na jeho druhu, což bylo patrné zejména u TMPD. Tento indikátor se přidáním PK rychle měnil přes barevnou na bezbarvou formu, zatímco působením AAMH se tvořila pouze relativně stabilní barevná forma. Naproti tomu iniciátor AAMH rychleji odbarvoval DCIP a INDC ve srovnání s PK.

Při zahřívání indikátorů s roztokem maltosy při  $80^\circ\text{C}$  byly barevné změny většinou výraznější v roztocích ve vodovodní vodě nebo v redestilované vodě s přidáním  $\text{Cu}^{2+}$  než v samotné redestilované vodě. Již po  $8 \text{ h}$  zahřívání se ve vodovodní vodě částečně nebo úplně odbarvily roztoky DCIP, INDC, TMPD, PDNA, MEBL a METR.

V redestilované vodě bez nebo s přidáním  $\text{Cu}^{2+}$  se červeně zbarvily roztoky maltosy s METR, indikátor MEBL se zbarvil modře pouze v roztoku maltosy s  $\text{Cu}^{2+}$ . Roztok NBTZ se barvil fialově při zahřívání s maltosou ve vodo-



Tab. 4 Změny indikátorů po zahřívání v roztoku maltosy ( $c = 0,5 \%$ )

Indikátor	Barva indikátoru v pracovní koncentraci			
	Redestilovaná voda	Redestilovaná voda + $\text{Cu}^{2+}$	Vodovodní voda	12% pivo
DCIP	bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá	žlutá
INDC	modrá	bezbarvá	bezbarvá	žlutá
TMPD	bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá	žlutá
DPPH	bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá	žlutá
ABTS	bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá	žlutá
NBTZ	fialová	fialová	fialová	fialová
PNDA	žlutozelená	světle zelená	bezbarvá	žlutá
MEBL	modrá	modrá	modrá	zelená
MELE	bezbarvá	světle modrá	bezbarvá	žlutá
METR	červená	červená	bezbarvá	žlutá

vodní vodě, podobně jako v pivu. Barevné změny NBTZ se považují za průkaz superoxidového radikálu [4].

Ve vodovodní vodě se zpočátku odbarvil i roztok maltosy s MEBL, který potom opět zmodral. Dlouhodobým zahříváním se tento roztok opět odbarvil, přičemž pokles teploty o několik  $^{\circ}\text{C}$  znovu měnil barvu do modra.

Po 24 h zahřívání při  $80^{\circ}\text{C}$  ve vodovodní vodě s maltosou se kromě NBTZ a MEBL odbarvila většina indikátorů (tab. 4). Naproti tomu roztoky indikátorů ve stejném prostředí bez maltosy byly stabilní, pomalejší rozklad vykazovaly DCIP, INDC, TMPD a DPPH.

Nejvýrazněji se barevné změny indikátorů projeví v roztoku maltosy ve vodovodní vodě, kde se může uplatnit jak vyšší pH, tak přítomnost dalších iontů kovů, např. železa. Ve shodě s tím probíhal tepelný rozklad sacharidů vždy nejrychleji v tomto prostředí [16].

Porovnáním účinku ohřevu indikátorů s maltosou a účinku radikálových indikátorů je zřejmé, že se v obou případech tato barviva rozkládala. Přitom je nutné zvážit také vratné nebo nevratné odbarvení indikátorů v redukčním prostředí, jak např. vyplývá z reakce MEBL s maltosou, nebo jejich tepelný rozklad.

Rozkladem maltosy také vzniká látka kyselé povahy za současného rozkladu methylové červeně ve vodovodní vodě. Rozklad sacharidů může zahrnovat tvorbu reduktonů s redukční schopností i tvorbu radikálů s oxidační schopností.

Rozklad indikátorů může rovněž souviset s tvorbou radikálů, v redestilované vodě se však postupně rozkládal pouze TMPD a DPPH.

Vzhledem k složitosti probíhající reakcí a množství možných mechanismů je zřejmé, že nadějnými indikátory pro sledování radikálových změn s použitím

iniciátorů PK a AAMH mohou být všechny uvedené indikátory, při rozkladu maltosy jsou vhodné METR, PNDA, TMBS a MELE. Situaci dále komplikuje skutečnost, že oxidační změny mohou rovněž probíhat v silně redukčním prostředí. Pro hodnocení stárnutí piva by bylo možné využít změn indikátorů METR, PNDA a TMBS.

Obecné schéma oxidačního rozkladu indikátoru může zahrnovat postupné vybarvování bezbarvé formy indikátoru, např. TMPD, ABTS a NBTZ, které podle reakčních podmínek přetrvává, nebo velmi rychle přechází na tvorbu bezbarvých produktů. Tento typ reakce jsme popsali v práci [10]. Rozklad TMPD přes barevnou formu katalyzují ionty železa a mědi. Tomuto rozkladu pravděpodobně podléhají i látky, vznikající např. při působení radikálových indikátorů na aminokyseliny nebo sacharidy.

Při hodnocení změn barvy těchto indikátorů je tedy nutné vždy zvážit podíl změny pH, redukční schopnosti vzorku a rozkladu barviva oxidačními vlivy. Odbarvení může být spojeno s vratnou nebo nevratnou redukcí, stejně jako s vratnou nebo nevratnou oxidací, popř. s jejich tepelným rozkladem.

Z dosažených výsledků vyplývá, že methylová červeně by mohla sloužit jako barevný radikálový indikátor v kyselém a redukčním prostředí, jaké představuje pivo a meziproducty.

Rozklad kyseliny askorbové ve vodném prostředí je závislý na její koncentraci, hodnotě pH a přítomnosti iontů kovů a je možné ho sledovat měřením absorbance při 265 nm [5], (obr. 4). Přítomnost měďnatých iontů, nebo prostředí vodovodní vody výrazně zrychlovaly rozklad methylové červeně (obr. 5).

Rozklad kyseliny askorbové mohou ovlivňovat i látky piva a produkty rozkladu. V systému vytřepaného piva s přidáním kyseliny askorbové ( $c = 0,1 \%$ ) a methylové červeně ( $c = 10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) ve zkumavce jsme při  $25^{\circ}\text{C}$  pozorovali po dvou hodinách tvorbu barevných proužků, které obvykle doprovázejí oscilační reakce, ačkoliv při  $40^{\circ}\text{C}$  se tento způsob reakce neprojevil a methylová červeně se rozkládala jen pomalu.

Rozklad methylové červeně jsme pozorovali i při zahřívání maltosy, ze které také vznikají látky s redukčním účinkem. Zdá se proto pravděpodobné, že rozklad maltosy probíhá přes tvorbu redukčních látek, které se dále rozkládají podobně jako kyselina askorbová.

Látky vznikající rozkladem maltosy tak pravděpodobně působí současně jako prooxidanty i antioxidanty, jak vyplývá z jejího vlivu na oxidaci kyseliny askorbové nebo linolové. Reakce probíhaly i v redestilované vodě, kde maltosa zpočátku potlačovala rozklad kyseliny askorbové, ale zrychlovala rozklad kyseliny linolové.

Tyto výsledky je však nutné považovat za předběžné a bude je nutné potvrdit dalším studiem.

## Literatura

- [1] THOMAS, M.J.: Crit. Rev. Food Sci. Nutr. **35**, 1995, s. 21
- [2] O'BRIEN, J., NURSTEIN, H. E., CRABBE, M.J.C., AMES, J.M.: The Maillard reaction in foods and medicine. 1.vyd. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1998
- [3] MULLER, R.: J.Inst.Brew. **103**, s. 307
- [4] PUNCHARD, N.A.; KELLY, F.J.: Free radicals – a practical approach. Oxford University Press. New York 1996
- [5] CADENAS, E., PACKER, L.: Handbook of antioxidants. 1. vyd. Marcel Dekker, New York, 1996
- [6] ŠAVEL, J., ZDVIHALOVÁ, D.: Oxidative destructive analysis of beer and intermediates. Proc. Eur. Brew. Congr. Cannes 1999, s. 267
- [7] SURREY, K.: Physiology **39**, 1964, s. 65
- [8] STONE, I., GRAY, P.P.: Walerstein Lab. Comm. **19**, 1956, s. 287
- [9] MERCK INDEX 11.vyd.1996.New York
- [10] ŠAVEL, J., ZDVIHALOVÁ, D., PROKOPOVÁ, M.: Kvasny Prum. **43**, 1997, s. 233
- [11] KANEDA, H., et al.: MBAA Techn. Quart. **32**, 1995, s. 90
- [12] PINKERNELL, U., KARST, U., NITZSCHE, F., TANZER, D.: Brauwelt **137**, 1997, č.31/32, s. 1256
- [13] ARAKI, S., et al.: J.Am.Soc. Brew. Chemists **57**, 1999, s. 34
- [14] KRALJIC, I., MOSHNI, S., E.: Photobiol. **28**, 1978, s. 577
- [15] BRIGHT, D., STEWART, G.G., PATINO, H.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **57**, 1999, s. 133
- [16] ŠAVEL, J., ZDVIHALOVÁ, D., PROKOPOVÁ, M.: Kvasny Prum. **43**, 1997, s. 233

Lektoroval

Ing. Vladimír Kellner, CSc.  
Do redakce došlo 1. 6. 2000

Šavel, J.: Sledování oxidačních změn sacharidů a reduktonů barevnými indikátory. Kvasny Prum. **47**, 2001, č. 3, s. 69–73.

Článek popisuje barevné změny 10 indikátorů za účinku radikálových iniciátorů. Většina indikátorů se rozkládala na bezbarvé produkty, některé z nich přes tvorbu barevných mezi-

produktů. Podobné změny se pozorovaly i po zahřívání těchto indikátorů za přítomnosti maltosy. Předpokládá se, že tepelným rozkladem maltosy vznikají redukční látky a probíhají radikálové reakce. Tepelným rozkladem některých redukujících látek může vznikat furfural, jak se prokázalo např. u kyseliny askorbové.

Průběh těchto reakcí se může sledovat podle stupně odbarvení přidané methylové červeně. Měřily se absorpční křivky těkavých produktů, které vznikají v procesu vaření mladiny i při stárnutí piva před a po redukcí kvasničními enzymy. Tyto techniky se mohou využít k sledování průběhu vaření mladiny i stárnutí piva.



**Šavel, J.: Monitoring of Oxidation Changes of Saccharides and Reductones by Colour Indicators.** Kvasny Prum. 47, 2001, No. 3, p. 69–73.

The article describes the colour changes of 10 indicators by the action of radical initiators. The majority of the indicators has decayed on colourless products, some of them by path of colour intermediates. Similar changes were observed as well following the heating of these indicators in presence of maltose. It is expected that by the thermal decomposition of maltose, reduction substances originate and radical reactions proceed. By means of the thermal decomposition of some reducing substances, furfural may originate as proven, for instance, in the case of ascorbic acid. The course of those reactions may be traced in accordance with the stage of discolouration of the added methyl red. The absorption curves were measured of the volatile products that had been created during the process of hopped wort brewing and of beer aging before and after the reduction by yeast enzymes. These techniques may be used for the monitoring of the course of the brewing of hopped wort and the aging of beer.

**Šavel, J.: Verfolgung der Oxidationsve-**

**ränderungen der Saccharide und Reduktone mittels Farbenindikatoren.** Kvasny Prum. 47, Nr. 3, S. 69–73.

In dem Artikel werden Farbenveränderungen bei 10 Indikatoren unter Einwirkung von Radikal-Initiatoren beschrieben. Die Merzahl der Indikatoren zerfiel zu farblosen Produkten, einige von ihnen über die Bildung von Farbzwischenprodukten. Ähnliche Veränderungen wurden auch nach der Erwärmung dieser Indikatoren in Anwesenheit von Maltose beobachtet. Es wird vorausgesetzt, dass bei dem thermischen Maltose-Zerfall Reduktionssubstanzen entstehen und Radikalreaktionen verlaufen. Durch den thermischen Zerfall einiger reduzierender Stoffe kann Furfural entstehen, was sich z.B. bei der Ascorbinsäure erwiesen hat. Der Verlauf dieser Redaktionen kann nach dem Entfärbungsgrad des zugesetzten Methylrots verfolgt werden. Es wurden die Absorptionskurven der flüchtigen Produkte gemessen, die im Prozess der Würzekochung und während der Alterung des Bieres vor und nach der Reduktion durch Hefeenzyme entstehen. Diese Methoden können zur Verfolgung des Verlaufs der Würzekochung und Bieralterung angewandt werden.

**Шавел, Я.: Исследование окислительных изменений сахаридов и редукто-**

**нов цветовыми индикаторами.** Kvasny Prum. 47, 2001, № 3, стр. 69–73.

В статье описываются изменения окраски 10 индикаторов под влиянием радикальных инициаторов. Большинство индикаторов было разложено на бесцветные продукты, некоторые из них посредством образования цветowych промежуточных продуктов. Аналогичные изменения наблюдались также после нагрева этих индикаторов при наличии мальтозы. Предполагается, что в течение термической деструкции мальтозы образуются восстановители и происходят радикальные реакции. При термической деструкции некоторых восстановителей может образоваться фурфурал, как было напр. доказано в случае аскорбиновой кислоты. Прохождение этих реакций можно наблюдать по степени обесцвечивания добавленного метилового красного. Измерялись кривые поглощения летучих продуктов, которые образуются в течение процесса кипячения сусла и при старении пива перед и после редукции дрожжевыми ферментами. Эти методы можно использовать для исследования процесса кипячения сусла и старения пива.