

## ANTIOXIDAČNÁ AKTIVITA MEDZIPRODUKTOV PRI VÝROBE PIVA

## ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF INTERMEDIATE PRODUCTS IN BREWING

RADOSLAV SELECKÝ, DANIELA ŠMOGROVIČOVÁ

Oddelenie biochemickej technológie, Ústav biotechnológie a potravinárstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava 1, Slovenská Republika,  
*Department of Biochemical Technology, Slovak Technical University, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic, e-mail: radoslav.selecky@stuba.sk*

**Selecký, R. – Šmogrovičová, D.: Antioxidačná aktivita medzi-produktov pri výrobe piva.** Kvasny Prum. 52, 2006, č. 7–8, s. 226–227.

Metódou FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), založenou na redukcii železitého tripyridyltriazínového komplexu antioxidantmi vzorky, bola stanovená antioxidačná aktivita sladiny (ekvivalent redukovaného železa 1,92 mmol.l<sup>-1</sup>), mladiny (2,46 mmol.l<sup>-1</sup>), mladého piva (1,89 mmol.l<sup>-1</sup>) a piva po dokvasení (1,63 mmol.l<sup>-1</sup>). Antioxidačná aktivita sledovaných pív z obchodnej siete variovala v rozmedzí 1,52–2,57 mmol.l<sup>-1</sup> (alkoholické piva) a 0,95–1,46 mmol.l<sup>-1</sup> (nealkoholické).

**Selecký, R. – Šmogrovičová, D.: Antioxidative Activity of Intermediate Products in Brewing.** Kvasny Prum. 52, 2006, No. 7–8, p. 226–227.

By means of FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) method, based on ferric tripyridyltriazine complex by the antioxidants from sample was measured the antioxidative activity of sweet wort (equivalent of 1.92 mmol reduced iron per liter), hopped wort (2.46 mmol.l<sup>-1</sup>), green beer (1.89 mmol.l<sup>-1</sup>) and beer after maturation (1.63 mmol.l<sup>-1</sup>). The antioxidative activity of some beers from market varied between 1.52–2.57 mmol.l<sup>-1</sup> (in case of alcoholic beers) and 0.95–1.46 mmol.l<sup>-1</sup> (non-alcoholic beers).

**Selecký, R. – Šmogrovičová, D.: Antioxidationsaktivität von Zwischenprodukten bei der Bierherstellung.** Kvasny Prum. 52, 2006, Nr. 7–8, S. 226–227.

**Kľúčové slová:** antioxidačná aktivita, sladina, mladina, pivo  
**Keywords:** antioxidative activity, sweet wort, hopped wort, beer

## 1 ÚVOD

V priebehu technologického procesu výroby piva sa množstvo prirodzených antioxidantov v jednotlivých medziproduktach mení. Pri kľúčení jačmeňa obsah polyfenolov poklesne, avšak počas hvozdenia sa Maillardovými reakciami vytvoria nové a slad obsahuje viac celkových polyfenolov ako jačmeň. K najväčšiemu prísunu látok s antioxidačnou aktivitou dochádza pri chmeľovare. Antioxidačná aktivita mladiny je výrazne vyššia, ak sa použije chmeľ alebo chmeľové peletky, nižšia ak sa použijú chmeľové extrakty. Lermusieau a i. pri varení sladiny s prídavkom peletiek rôznych druhov odrody žateckého chmeľu zaznamenali 36% nárast redukčnej sily mladiny oproti slepej várke (bez chmeľu), kým pri prídavku CO<sub>2</sub> extraktu z tej istej odrody dochádzalo iba k 4% nárastu redukčnej sily mladiny. Chmeľ bol pridaný na začiatku chmeľovaru a jeho výsledná dávka sa rovnala 4,5 mg.l<sup>-1</sup> vo várke [1]. V nasledujúcich výrobných krokoch obsah celkových polyfenolov už iba klesá. Fantozzi a i. [2] zaznamenali v jednotlivých štádiách výroby talianskeho piva obsah celkových polyfenolov v mladine 444 mg.l<sup>-1</sup>, v pive pred koncom maturácie 396 mg.l<sup>-1</sup>, v pive po filtrácii 337 mg.l<sup>-1</sup> a konečne, v nafflašovanom a pasterizovanom pive 322 mg.l<sup>-1</sup>. Pre tie isté výrobné fázy produktu boli zaznamenané zodpovedajúce poklesy antioxidačnej aktivity. Celkový pokles obsahu polyfenolov medzi mladinou a hotovým pivom

na expedíciu bol 28 %, čo zodpovedalo 29% strate antioxidačnej aktivity.

Cieľom tejto práce bolo sledovať antioxidačnú aktivitu medziproduktov pri výrobe piva, mladého a dokvaseného piva, a porovnať ju s antioxidačnou aktivitou pív z obchodnej siete – alkoholických i nealkoholických. Na jej stanovenie sme použili metódu FRAP, založenú na redukcii železitého tripyridyltriazínového komplexu (obr. 1) antioxidantami zo vzorky. Metódu popísali v roku 1996 Benzie a Strain [3], používala sa najmä na stanovenie prítomnosti látok s antioxidačnými vlastnosťami *in vitro* pre medicínske účely. Aplikácia v pivovarníctve nebola dosiaľ popísaná.

## 2 MATERIÁL A METÓDY

**Mikroorganizmus:** *Saccharomyces cerevisiae* CCY 48-48 (kvasinka spodného kvaseňa).

**Fermentačné médium:** 10% mladina získaná zo sladiny, povarením počas 90 minút s prídavkom 0,16 % hm. chmeľových peletiek odrody Sládek (90).

**Fermentácia:** Prebiehala pri 7 °C do konštantného poklesu skutočného extraktu, pivo sa dokvasovalo mesiac pri teplote 2 °C.

**Vzorky pív z obchodnej siete:** Na porovnanie bolo analyzovaných 5 alkoholických pív označených A až E a 3 piva nealkoholické (a, b, c) s približne rovnakou trvanlivosťou.

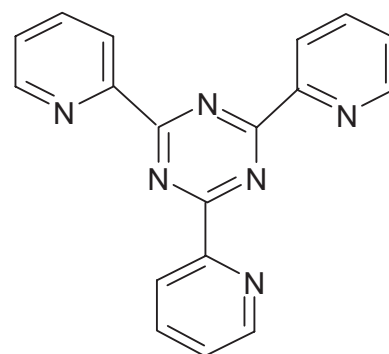
Mittels der FRAP Methode (Ferric Reducing Ability of Plasma) wurde die Antioxidationsaktivität der Süßwürze (Äquivalent des reduzierten Eisens 1,92 mmol.l<sup>-1</sup>), der Würze (Äquivalent des reduzierten Eisens 2,46 mmol.l<sup>-1</sup>), des Jungbieres (Äquivalent des reduzierten Eisens 1,89 mmol.l<sup>-1</sup>) und des Bieres nach der Lagerung (Äquivalent des reduzierten Eisens 1,63 mmol.l<sup>-1</sup>) festgestellt. Die FRAP Methode wurde auf der Basis der Reduktion des Eisentripyridyltriazinkomplexes gegründet. Die Antioxidationsaktivität von anderen Sorten des Bieres aus dem Handelsnetz liegt im Bereich 1,52–2,57 mmol.l<sup>-1</sup> (Alkoholhaltiges Bier) und 0,95–1,46 mmol.l<sup>-1</sup> (Alkoholfreies Bier).

**Селецкий, Р. – Шмогрови́чова, Д.: Антиокислительная активность промежуточных продуктов в пивоварении.** Квасны Прум. 52, 2006, Но. 7–8, стр. 226–227.

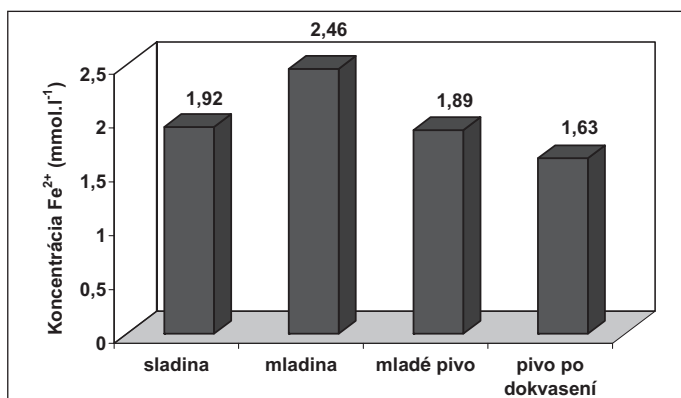
Методом „FRAP“ (Ferric Reducing Ability of Plasma), основанным на восстановлении железистого трипиридилтриазинного комплекса антиокислителями пробы, была определена антиокислительная активность сусла (эквивалент восстановленного железа 1,92 ммол.л<sup>-1</sup>), охмеленного сусла (2,46 ммол.л<sup>-1</sup>), зеленого пива (1,89 ммол.л<sup>-1</sup>) и готового пива (1,63 ммол.л<sup>-1</sup>). Антиокислительная активность наблюдаемых пив из торговой сети колебалась в пределах от 1,52 до 2,57 ммол/л<sup>-1</sup> (алкогольные пива) и от 0,95 до 1,46 ммол/л<sup>-1</sup> (безалкогольные пива).

**Analytické stanovenia:** Antioxidačná aktivita bola stanovená metódou FRAP – Ferric Reducing Ability of Plasma [3], celkové polyfenoly podľa Basařovej a i. [4].

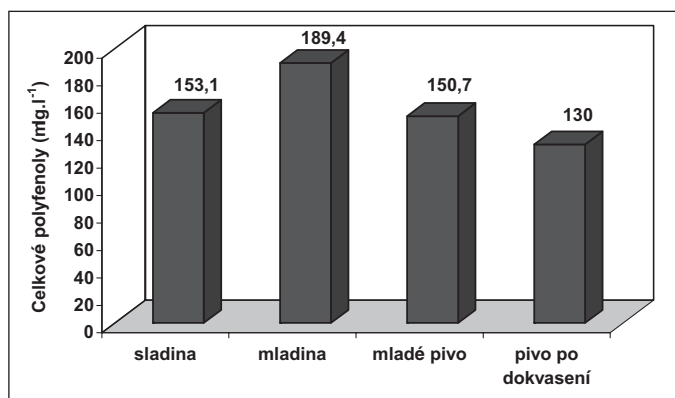
**Metóda FRAP** (Ferric Reducing Ability of Plasma): Pri nízkom pH v prítomnosti antioxidantu sa železitý tripyridyltriazínový komplex – TPTZ (obr. 1) redukuje na železnatú formu. Redukcia sa prejaví vznikom intenzívne modrého zafarbenia s absorbným maximom pri 593 nm. Antioxidačná aktivita sa vyhodnocuje na základe získanej kinetiky reakcie ako závislosť koncentrácie vytvoreného dvojmočného železa od koncentrácie antioxidantu, resp. štandardu (α-tokoferol o koncentrácii 1 mmol.l<sup>-1</sup>). Kalibračná čiara sa zostrojí pomocou roztokov FeSO<sub>4</sub> rôznych koncentrácií.



Obr. 1 2,4,6-tri-(2-pyridyl)-s-triazín (TPTZ)



Obr. 2 Antioxidačná aktivita medziproduktov pri výrobe piva stanovovaná metódou FRAP, vyjadrená ako koncentrácia vytvoreného redukovaného železa v 15. minúte kinetiky reakcie



Obr. 3 Koncentrácia celkových polyfenolov v medziproduktov pri výrobe piva

### 3 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri stanovení antioxidačnej aktivity sme do výpočtov použili absorbancie v 15. minúte kinetiky farebnej reakcie redukcie železitého tripyridyltriazínového komplexu na dvojnásobnú formu. Hodnota 1,93 mmol.l<sup>-1</sup> zodpovedá redukčnej kapacite štandardu – roztoku  $\alpha$ -tokoferolu o koncentrácii 1 mmol.l<sup>-1</sup>. Ako je zrejme z obr. 2, antioxidačná aktivita 10% sladiny bola 1,92 mmol.l<sup>-1</sup>, mladiny 2,46 mmol.l<sup>-1</sup>, mladého piva po prekvasení 1,89 mmol.l<sup>-1</sup> a piva po maturácii 1,63 mmol.l<sup>-1</sup>. Podľa očakávania, aj obsah celkových polyfenolov v medziproduktov v jednotlivých fázach výroby kopíroval antioxidačnú aktivitu. Najvyššia koncentrácia (189,4 mg.l<sup>-1</sup>) bola nameraná v mladine, najnižšia v pive po dokvasení (130 mg.l<sup>-1</sup>), čo je znázornené na obr. 3.

Antioxidačná aktivita vzoriek alkoholických pív z obchodnej siete variovala v rozmedzí 1,52–2,57 mmol.l<sup>-1</sup> a nealkoholických pív v rozmedzí 0,95–1,46 mmol.l<sup>-1</sup>. Kinetika redukcie trojmocného železa vo vzorkách 10% alkoholických pív je znázornená na obr. 4, nealkoholických pív na obr. 5.

Výsledky merania antioxidačnej aktivity metódou FRAP sú v zhode so známymi skutočnosťami. K značnému poklesu dochádza pri hlavnom kvasení, preto antioxidačná aktivita aj koncentrácia polyfenolických zlúčenín v mladom pive je nižšia ako v mladine. Vyplyva to z kondenzačných a polymerizačných reakcií, uplatňujúcich sa pri tvorbe vysokomolekulárnych zlúčenín s vysokou zrážavou aktivitou voči bielkovinám extraktu piva. Tento fenomén však ovplyvňuje celý rad faktorov spojených s chmelením a celkovým priebe-

hom kvasenia. Je to zrejme aj z výsledkov stanovenia antioxidačných aktivít niekoľkých náhodne vybraných pív z obchodnej siete. Rozptyl koncentrácie vytvoreného redukovaného železa v alkoholických pivách je značný, krajné hodnoty 1,63 mmol.l<sup>-1</sup> a 2,73 mmol.l<sup>-1</sup> predstavujú extrémy, zatiaľ čo koncentrácie redukovaného železa vo zvyšných troch vzorkách sú porovnateľné s koncentráciou v pive pripravenom v našom laboratóriu. V nealkoholických pivách sa všeobecne predpokladá nižšia antioxidačná aktivita v porovnaní s pivami alkoholickými. Vzhľadom k malému počtu vzoriek a značným odlišnostiam v ich výrobe, je však ťažké prijať takéto zovšeobecnenie.

### 4 ZÁVER

Metóda FRAP sa javí ako využiteľná na stanovenia antioxidačnej aktivity piva, sladiny aj mladiny. Výsledky meraní jednotlivých medziproduktov kopírovali známe fakty – antioxidačná aktivita sladiny a mladiny bola vyššia než antioxidačná aktivita postfermentačných medziproduktov, mladého a hotového piva. Výsledky meraní antioxidačnej aktivity piva pripraveného laboratórne v malých várkach korelovali s hodnotami antioxidačnej aktivity alkoholických pív z obchodnej siete.

Táto metóda je výhodná najmä z hľadiska inštrumentálnej nenáročnosti, nevýhodou je jej nízka selektivita spôsobená odozvou iba na ióny železa a pomerne nepraktické vyjadrenie miery antioxidačnej aktivity, úmerné redoxnému potenciálu média. Okrem toho je zložité prijať akýsi zovšeobecňujúci koeficient

vzťahujúci sa k štandardnému antioxidantu, pretože v súvislosti s touto metódou ich bolo navrhnutých niekoľko (bilirubín, kyselina askorbová,  $\alpha$ -tokoferol, Trolox, kyselina močová), najfrekvencovanejší je však derivát vitamínu E, Trolox.

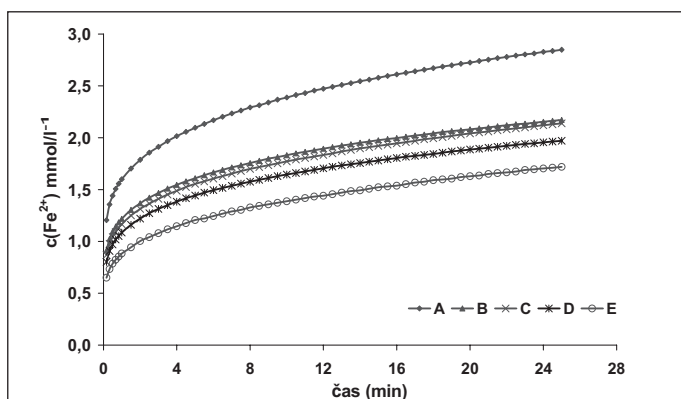
### Podakovanie

Práca bola vypracovaná s podporou Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva SR a Slovenskej akadémie vied VEGA, reg. č.: 1/2391/05.

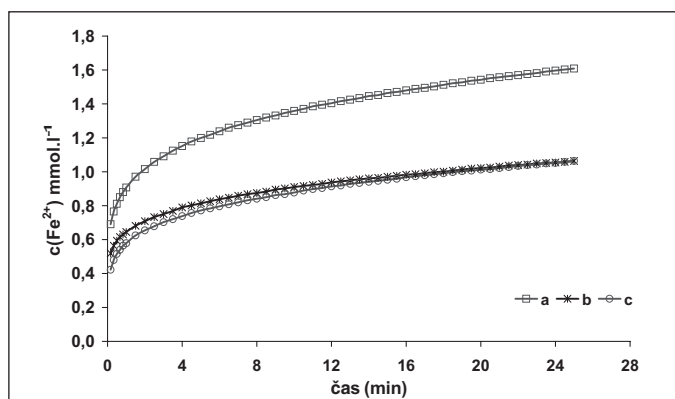
### Literatúra

1. Lermusieau, G., Liégeois, C., Collin, S.: Reducing power of hop cultivars and beer ageing. *Food Chemistry* **72**, 2001, 413–418.
2. Fantozzi, P., Montanari, L., Mancini, F., Gasbarrini, A., Addolorato, G., Simoncini, M., Nardini, M., Ghiselli, A., Scaccini, C.: In vitro antioxidant capacity from wort to beer. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.* **31**, 1998, 221–227.
3. Benzie, L.F., Strain, J.: Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239**, 1996, 70–76.
4. Basařová, G., Čepička, J., Doležalová, A., Kahler, M., Kubíček, J., Poledníková, M., Voborský, J.: *Pivovarsko-sladařská analytika 1–3 zv.*, Merkanta, Praha, 1993, 965.

Zpracováno na základě posteru na 21. Pivovarsko-sladařských dnech v Ústí nad Labem, 6.–7. 10. 2005  
Do redakce došlo 14. 3. 2006



Obr. 4 Kinetika zmeny koncentrácie redukovaného železa v komerčne vyrábaných alkoholických pivách rôznych značiek pri stanovovaní antioxidačnej aktivity metódou FRAP



Obr. 5 Kinetika zmeny koncentrácie redukovaného železa v komerčne vyrábaných nealkoholických pivách rôznych značiek pri stanovovaní antioxidačnej aktivity metódou FRAP