

Obsah polyfenolů v pivu a jeho koloidní stabilita v závislosti na množství stabilizačního prostředku

Iveta Černošková

Bakalářská práce
2015/2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Iveta Černošková**

Osobní číslo: **T13262**

Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Obsah polyfenolů v pivu a jeho koloidní stabilita v závislosti na množství stabilizačního prostředku**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Technologicky významné látky chmele a sladu.
2. Polyfenolické látky v pivu.
3. Koloidní stabilita piva a vznik případných vad v pivu.
4. Metody stabilizace piva.
5. Metody měření koloidní stability piva.

II. Praktická část

1. Měření obsahu polyfenolů v pivu spektrofotometrickou metodou.
2. Měření čirosti piva spektrofotometrickou metodou.
3. Vyhodnocení výsledků, diskuze a formulace závěrů práce.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] **BASAŘOVÁ, G., J. ŠAVEL, P. BASAŘ a T. LEJSEK. Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva. Praha: Nakladatelství VŠCHT, 2010, ISBN 978-80-7080-734-7.**

[2] **BASAŘOVÁ, Gabriela. Sladařství: Teorie a praxe výroby sladu. Praha: Havlíček Brain Team, 2015, ISBN 978-80-87109-2.**

[3] **DOSTÁLEK, P., B. KOTLÍKOVÁ, J. FIALA, L. JELÍNEK, Z. ČERNÝ, B. ČÁSENSKÝ a J. MIKULKA. Stabilizační prostředky pro zvýšení koloidní stability piva. Kvasný průmysl, 2011, roč. 57, s. 290-295. ISSN: 0023-5830.**

[4] **ANONYM. Predicting colloidal stability in beer. The Brewer International [online]. 2002, Technical summary 4: s. 41-42 [cit. 2015-06-26]. Dostupné z: <https://www.ibd.org.uk/cms/file/309>.**

[5] **DIENSBIER, M., L. JANKOVÁ, P. SLADKÝ a P. DOSTÁLEK. Metody předpovědi koloidní stability piva. Chemické listy, 2010, roč. 104, s. 86-92. ISSN: 1213-7103.**

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Eva Lorencová, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

2. února 2016

Termín odevzdání bakalářské práce:

4. května 2016

Ve Zlíně dne 2. února 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Černošková Iveta

Obor: CHKP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 29. 4. 2016

Iveta Černošková

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato práce pojednává o skupině látek obsažených v pivu, které pocházejí z velké části z chmele, ale také ze sladu. Tyto látky se nazývají polyfenoly. Mají velmi příznivé účinky na organismus, protože mají povahu antioxidantů, které zbavují tělo volných radikálů a tím snižují riziko vzniku různých onemocnění. Těchto polyfenolů ale bývá ve sladu a v chmelu takové množství, které při dlouhodobém skladování ovlivňuje koloidní stabilitu piva. Proto se pivo zbavuje určitého množství polyfenolů na takovou míru, aby neovlivňovaly jeho koloidní stabilitu, ale zároveň jich bylo takové množství, aby bylo pivo pro organismus přínosem. Tato práce se zabývá zkoumáním, jak množství stabilizačního prostředku ovlivňuje zákal v pivu. Stabilizační látky jsou sloučeniny, které na sebe vážou polyfenoly a tím snižují riziko vzniku koloidních zákalů. Ty se tvoří navázáním bílkovin obsažených v pivu na polyfenoly. Koloidní stabilitu piva ale také ovlivňují další faktory, jako jsou různé druhy obalů, prostředí skladování a teplota při skladování. Ovlivnění těmito faktory je zahrnuto do řešení problematiky v této práci. Sledovaná piva byla stabilizována stabilizačním prostředkem polyvinilpyrrolidon (PVPP). Intenzita stabilizace se lišila dle požadované doby minimální trvanlivosti. Pro stabilizaci na čtyři měsíce bylo do piva dávkováno 30 g/hl PVPP, pro stabilizaci piva na šest měsíců bylo dávkováno 50 g/hl PVPP a pro stabilizaci piva na dvanáct měsíců bylo do piva přidáno 60 g/hl PVPP. Sledováním a poté měřením konkrétních vzorků piv bylo stanoveno, že je koloidní stabilita závislá na intenzitě stabilizace. Čím je do piva dávkováno více stabilizačního prostředku, tím delší dobu vydrží pivo koloidně stabilnější.

Klíčová slova: pivo, polyfenoly, stabilizační prostředky, koloidní stabilita, zákal

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with a specific group of beer substances, which mostly originate from the hops and from the malt raw materials too. The name of these substances is polyphenols. Polyphenols have a favorable influence on the human body, because of their antioxidant character. They are able to decrease the amount of free radicals in organism. However, the natural total amount of polyphenols in beer is quite high and they influence colloidal stability during prolonged storage period. Because of that fact, it is necessary to remove part of polyphenols from beer, not to decrease the colloidal stability but to a level, which is profitable for human health. The aim of this study was to evaluate the influence of stabilization agents dosing on beer cloudiness. Substances which are applied for beer stabilization adsorb molecules of polyphenols and the result is lower risk of colloidal turbidity. That arises after reaction of polyphenols and proteins. The colloidal stability of beer is affected by factors such as different types of packaging, shelf-life conditions and temperature. The observed beer samples were stabilised by the means of the stabilizing agent, Polyvinylpyrrolidone (PVPP). The intensity of stabilization varied according to the desired minimum durability date. For the stabilisation effect for four months the dose of PVPP to beer was 30 g/hl PVPP, to stabilize beer for six months the dose was 50 g /hl PVPP and to stabilize beer for twelve months was added 60 g/hl of PVPP, respectively. After the analyses, it was evidential that beer colloidal stability is intensity of stabilization dependant. The higher dosage of stabilizer is applied, the longer time beer maintains its colloidal stability.

Keywords: beer, polyphenols, stabilizers, colloidal stability, turbidity

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST.....	12
1 SUROVINY PRO VÝROBU PIVA	13
1.1 SLAD A JEHO VLASTNOSTI	13
1.1.1 Druhy sladů	13
1.2 CHMEL A JEHO VLASTNOSTI	15
1.2.1 Systematika botanického zařazení chmele.....	16
1.3 VODA PRO PIVOVARNICTVÍ.....	16
1.4 PIVOVARSKÉ KVASINKY	17
2 TECHNOLOGICKY VÝZNAMNÉ LÁTKY CHMELE A SLADU.....	18
2.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ CHMELE	18
2.1.1 Obsah vody v sušených hlávkách	18
2.1.2 Obsah pryskyřic	18
2.1.3 Chmelové silice.....	20
2.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ SLADU	21
2.2.1 Obsah vody.....	21
2.2.2 Škrob	21
2.2.3 Dusíkaté látky.....	22
2.2.4 Lipidy	24
3 POLYFENOLY V PIVU.....	25
3.1 POLYFENOLY VE SLADU	26
3.2 POLYFENOLY V CHMELU	27
4 KOLOIDNÍ STABILITA PIVA AVZNIK PŘÍPADNÝCH VAD V PIVU.....	29
4.1 PŘIROZENÁ KOLOIDNÍ STABILITA PIVA	29
4.2 CHLADOVÉ ZÁKALY.....	29
4.3 BIOLOGICKÉ ZÁKALY	30
4.4 TRVALÉ ZÁKALY.....	30
4.5 VADY V PIVU	31
5 METODY STABILIZACE PIVA.....	32
5.1 STABILIZAČNÍ PROSTŘEDKY	32
5.1.1 Křemelinové gely	32
5.1.2 Polyvinylpolypirrolidon (PVPP).....	33
5.1.3 Polyamidy	33
5.1.4 Iontoměniče.....	34
5.1.5 Taniny	34
5.1.6 Proteolytické enzymy.....	34
5.1.7 Antioxidanty.....	35
6 METODY MĚŘENÍ KOLOIDNÍ STABILITY PIVA.....	36

6.1	MĚŘENÍ PŘÍMÉHO ZÁKALU	36
6.2	ŠOKOVACÍ TESTY	36
6.3	PRECIPITAČNÍ TESTY	37
6.3.1	Síranový test.....	37
6.3.2	Stanovení tanoidů.....	38
6.3.3	Stanovení proteinů	38
6.3.4	Formaldehydový test.....	38
6.4	METODY STANOVENÍ ZÁKALOTVORNÝCH LÁTEK	38
6.4.1	Stanovení polyfenolů	38
6.4.2	Stanovení antokyanogenů	39
6.4.3	Stanovení zákalotvorných bílkovin.....	39
II PRAKTICKÁ ČÁST		40
7	CÍLE PRÁCE	41
8	METODIKA.....	42
8.1	MĚŘENÍ OBSAHU POLYFENOLŮ V PIVU SPEKTROFOTOMETRICKOU METODOU	42
8.1.1	Analyzované vzorky.....	43
8.1.2	Zařízení	43
8.1.3	Metodika analýzy celkových polyfenolů před stabilizací a po stabilizaci.....	44
8.2	MĚŘENÍ OBSAHU POLYFENOLŮ V PIVU SPEKTROFOTOMETRICKOU METODOU	44
8.2.1	Měření čirosti piva v průběhu jeho stárnutí	44
9	VÝSLEDKY	46
DISKUZE		54
ZÁVĚR		56
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		57
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		61
SEZNAM OBRÁZKŮ.....		62
SEZNAM TABULEK		63

ÚVOD

Tato práce se zabývá obsahem skupin látek v pivu nazývané polyfenoly. Tyto látky pocházejí z velké části z chmele. Dále jsou polyfenoly obsaženy ve sladu, převážně v obalové části zrn. Polyfenolové látky mají v technologii a kvalitě piva pozitivní, ale i negativní význam.

K pozitivním vlastnostem polyfenolových látek patří schopnost podílet se na plnosti chuti piva a podporují vlastnost piva takzvanou pitelnost. Negativní vlastností polyfenolů je tvorba nebiologických zákalů. Tyto zákalové látky způsobují koloidní nestabilitu filtrovaného piva při dlouhodobém skladování.

Výsledky měření uvedené v praktické části práce byly pořízeny v laboratoři pivovaru Zubr Přerov. V tématu je zadáno zkoumání vlivu množství stabilizačního prostředku na množství polyfenolových látek ovlivňujících koloidní stabilitu piva. V období zadání témat prací bylo možné v provozu operovat s množstvím stabilizačního prostředku, ale bohužel za uplynulý čas se rapidně změnila požadavky trhu a požadavky zákazníků na trvanlivost piva v obalech a tak z technických důvodů už nebylo možné stabilizovat pivo na nižší dobu trvanlivosti. Proto jsou do výsledků zahrnuta měření z dob, kdy tyto stabilizace byly možné. Analýzy a stanovení množství polyfenolů a také měření čírosti piva jsou zahrnuty do mé pracovní náplně, proto byly tyto výsledky do práce použity.

Dané hodnoty jsou uvedeny za souhlasu vedení pivovaru. Tato měření jsou vytvořena jak za účelem kontroly kvality, tak i jako konkrétní výsledky pro tuto práci.

Koloidní stabilita piva je závislá nejen na množství polyfenolů, ale také na druhu použitého obalu a na způsobu skladování.

Regulace množství polyfenolů se provádí z důvodu prodloužení doby trvanlivosti, aniž by se po tuto dobu vytvářel koloidní nebiologický zákal, který je nežádoucí pro kvalitu piva. Z důvodu náročných požadavků trhu na trvanlivost je bohužel trendem snižovat množství polyfenolů na takovou míru, aby trvanlivost byla co nejdélejší. Zároveň se ale výrobci snaží zachovat takové množství polyfenolů, aby bylo pivo pro zdraví prospěšné díky antioxidačním účinkům polyfenolových látek a aby se tyto látky podílely na dotváření sensoricky charakteristických vlastností piva.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SUROVINY PRO VÝROBU PIVA

Pivo je jedním z nejstarších a současně cíleně připravovaných nápojů. Původně se připravovalo jako významná potravina. Rozdílné druhy pív vznikaly již v samém počátku jeho výroby v závislosti na lokalitě, pěstovaných surovinách a klimatických podmínkách. Dnes se pivo řadí mezi nejžádanější nízkoalkoholické nápoje ve světě i u nás. V České republice je základním druhem světlý ležák s obsahem původního extraktu 11-13 % s výraznou hořkostí a dobrou pěnivostí, vyráběný dvourmutovým dekokčním způsobem [1].

Podle technologie výroby a použití surovin se piva dělí na několik druhů např. lehká piva, výčepní piva, ležáky, speciální piva, nealkoholická piva aj. V dnešní době, kdy je na výrobce kladen vysoký nárok na zajištění dlouhodobé trvanlivosti, je výrobce nucen přizpůsobovat technologii k zajištění dlouhodobé koloidní stability. Ta je často považována za důležitější faktor při konzumaci zákazníkem, než chuťová stabilita. Koloidní stabilitu do značné míry ovlivňují použité suroviny [2, 20, 21].

1.1 Slad a jeho vlastnosti

Slad je surovina, ze které se při výrobě piva získávají hlavně extraktivní látky. V technologii varního procesu zajišťuje redoxní kapacitu piva, která má významnou pozitivní roli pro požadovanou odolnost piva proti tvorbě nebiologických zákalů a k docílení sensorické stability piva [1, 2].

Kvalita sladu závisí na druhu použitých surovin, způsobu zpracování a podmínkách skladování. Dále jeho kvalita ovlivňuje celkový průběh výroby piva a v konečném důsledku fyzikálně-chemické, biochemické a sensorické vlastnosti piva. Velmi důležitými znaky sladu v moderní velkokapacitní výrobě jsou čistota a vlastnosti odrůdy ječmene použitého pro přípravu, homogenita a stupeň modifikace sladu [2].

V současné době je kladen důraz na kvalitu sladu nejen z důvodu optimálního průběhu technologie, ale i z důvodu zachování základních kritérií kvality piva v analytických znacích i v sensorické kvalitě. Dále je dodržování kvality zásadní pro docílení přirozené fyzikálně-chemické stability piva, která je důležitá pro úspěšnou aplikaci stabilizačních prostředků, dávkovaných k docílení víceměsíční koloidní stability piva. Během skladování suroviny, ječmene i sladu, stoupá obsah oxidovatelných mastných kyselin ovlivňujících nepříznivě stabilitu chuti piva [1, 2, 3].

1.1.1 Druhy sladů

Jednotlivé druhy sladů s typickými vlastnostmi se získají úpravami technologie máčení a klíčení ječmene (či jiné obiloviny), kterými lze regulovat biosyntézu a aktivitu sladových enzymů působících na určité složky extraktu, především míru degradace vysokomolekulárních látek, redoxní potenciál sladu a aciditu sladu. Míru tvorby barevných a aromatických sloučenin lze regulovat dalšími úpravami v postupu hvozdění sladu [2, 3].

Pro výrobu piva se používají převážně slady z jarních ječmenů, ale také slady z ječmenů ozimých. Ty ale mohou způsobovat technologické problémy, proto se používají jako alternativa při nízké sklizni jarního ječmene. Vlastnosti odrůd ječmenů výrazně ovlivňují kvalitu sladu a z něj vyrobeného piva, především charakteristické vlastnosti jednotlivých značek piva [1, 2, 3].

Celosvětově se vyrábějí především světlé slady plzeňského typu pro světlá piva a tmavé slady mnichovského typu pro piva tmavá. Další typy sladů slouží pro zvýraznění určitých kvalitativních a specifických vlastností základních typů světlých a tmavých piv [2,3].

- Světlé slady plzeňského typu

Tento typ sladu se používá pro výrobu světlých piv typu ležáků, konzumních piv a speciálních piv s různou koncentrací původní mladiny. Je charakteristický vysokou extraktivností a velkou enzymatickou silou. Typickými znaky jsou nízká hodnota barvy kongresní sladiny (3,0 až 4,2 jednotek EBC (European Brewery Convention)) a barvy po povaření [1, 2, 3].

Obsah vody se pohybuje kolem 4 %. Světlé slady vykazují dostatečnou enzymatickou aktivitu pro rychlé zajištění dokonalého zcukření rmutů ve varném procesu [1, 2, 3].

-Tmavé slady mnichovského (bavorského) typu

Jsou používány pro výrobu tmavých piv. Mají především typické vysoké hodnoty barvy kongresní sladiny (11,0 až 17,3 jednotek EBC), vyšší obsah bílkovin, výrazné aroma, nižší extraktivnost, nižší aktivity sladových enzymů a především širší barevné spektrum a vyšší koncentrace Maillardovy reakce, které jsou výsledkem intenzivnějšího klíčení a vyššího teplotního zatížení při hvozdění. Slad klíčí o 1-2 dny déle při vyšší teplotě a s vyšším obsahem vody, který se pohybuje kolem 2 %. Cílem je dosažení většího množství melanodinů [1, 2, 3].

- Pšeničné slady

Slady z pšenice seté (*Triticum aestivum*, L., lipnicovité, *Poaceae*) se používají pro výrobu pšeničných piv. V Německu je např. výroba založena převážně na použití 50 až 80 % pšeničného sladu v sypání, zatím co v Belgii je časté sypání 60 % ječného sladu a 40 % nesladované pšenice. Pšeničný slad zajišťuje různé variace chutí, obecně podporuje pěnivost, a proto se v malém množství může využít u piv z ječného sladu se špatnou stabilitou pěny. Pšeničné slady se vyrábí podobně jako slady z ječmene, ale klíčí kratší dobu a suší se při nižších teplotách. Liší se od ječmenných sladů také vyšší extraktivností až o 4-5 %, vyšším obsahem dusíkatých látek [1, 4, 5].

- Speciální slady

Speciální slady se používají pro výrobu tmavých a speciálních piv, při použití náhražky sladu a k úpravě určitých kritérií sladiny běžných sladů. Od běžných světlých a tmavých sladů se liší enzymovými aktivitami nebo redoxní kapacitou, kyselostí, barvou apod. Jejich přidáním k běžným sladům se docílí např. úprava barvy, chuti či pěnivosti piva, zvýšení jeho odolnosti k předčasné tvorbě koloidních zákalů [2, 3].

Mezi speciální slady patří např. slady karamelové, barvicí, nakuřované, melanoidinové, diastatické, proteolytické slady a slady zvyšující redoxní kapacitu piva [1, 2, 3].

1.2 Chmel a jeho vlastnosti

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L.) byl znám jako planě rostoucí rostlina už od dávnověku. Jako kulturní rostlina se pěstuje asi od počátku našeho věku. Tato dvoudomá víceletá konopovitá pravotočivá rostlina má pravlast v úrodné Mezopotámii mezi řekami Eufратem a Tigridem, v nížinách Kavkazu a jižní Sibiře. V minulosti byl používán jako prostředek na léčení různých chorob. Původně se používal k ochucování medoviny, ale později byly zkušenosti s „hořčícími vlastnostmi“ chmele využity pro výrobu piva [1, 23].

Chmel a chmelové výrobky jsou nezastupitelnou surovinou dávající pivu typickou hořkost a aroma odlišující je od jiných alkoholických i nealkoholických nápojů, ale ovlivňující rovněž technologii a další kvalitativní kritéria piva. Nejdůležitějšími složkami chmele jsou chmelové pryskyřice, silice a polyfenoly, ostatní složky mají již menší technologický význam. Nositel hořkosti chmele jsou obecně chmelové pryskyřice složené z řady chemicky

podobných sloučenin, z nichž nejvýrazněji ovlivňují hořkost produkty izomerace α -hořkých kyselin [1, 2, 6].

1.2.1 Systematika botanického zařazení chmele:

Systematika zařazení chmele není v odborné literatuře doposud uváděna jednoznačně. Převládá začlenění do čeledě rostlin konopovitých (*Cannabinaceae*), před zařazením do čeledě morušníkovitých (*Moraceae*) nebo kopřivovitých (*Urticaceae*).

Na základě shrnutí kritických názorů různých autorů na druhovou samostatnost chmelů podle genetických znaků se za správné považuje dělení na tři druhy:

- Chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L.) – je mnohaletá rostlina rostoucí v celém mírném pásmu, více či méně bohatá na lupulin. Podle především morfologických znaků se dělí na tři druhy – chmel evropský, chmel novomexický a chmel srdčitolistý.
- Chmel japonský (*Humulus japonicus* Sieb. et Zucc.)
- Chmel oplétavý (*Humulus scandens* Lour et Merrill)

Poslední dva druhy však nejsou pro pivovarnictví technologicky významné [1, 6].

1.3 Voda pro pivovarnictví

Voda patří k základním surovinám pro výrobu piva a její vlastnosti a jakost jsou důležité pro charakter vyrobeného piva. Vody čerpané z přírodních zdrojů obsahují různé množství rozpuštěných iontů. Pro koloidní stabilitu jsou důležité ionty kovů, zejména však ionty železa, mědi, zinku, cínu i hliníku. Tyto ionty jsou zodpovědné za tvorbu trvalých koloidních zákalů, tzv. kovových. Jejich koncentrace a koncentrace dalších druhů částic závisí na lokalitě, ze které je voda odebírána [2]

Voda, která je používána k varnému procesu, musí mít vlastnosti pitné vody, a proto se musí v závislosti na jejím přírodním charakteru upravovat. Úpravy mohou obsahovat různé postupy jako je filtrace, pro odstranění tuhých nečistot, koagulace, odstranění koloidních látek jejich vysrážením pomocí činidel, odstranění mikrobiálních znečištění např. chlorováním, ozónováním, působením UV paprsků. Dále se upravuje tvrdost vody, čím rozumíme obsah iontů alkalických zemin Ca^{2+} , Mg^{2+} , případně Sr^{2+} a Ba^{2+} [2, 22, 24].

1.4 Pivovarské kvasinky

Při výrobě piva, ale i jiných alkoholických nápojů se využívá kvasinek, převážně druhu *Saccharomyces cerevisiae*. Kvasinky jsou surovinou, u které je předpokládána stálost vlastností při opakovaném nasazení a jejich kondice pro kvalitní kvašení je snadno kontrolovatelná jednoduchými metodami. Pivovarské kvasinky se dělí na dva druhy a to pro svrchní kvašení a pro spodní kvašení. Spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* (*carlsbergensis*), popř. *uvarum* jsou používány pro výrobu piva ležáckého typu s teplotou kvašení 7 – 15 °C a sedimentací kvasinek na dně kvasné nádoby. Kvasinky svrchního kvašení *Saccharomyces cerevisiae* se používají pro kvašení piv typu Ale a dalších speciálních druhů piv s teplotou kvašení 18 – 22 °C, kdy vzniká na povrchu kvasné nádoby tzv. kvasná deka [1, 25].

Vlastnosti kvasinek a průběh jejich metabolismu ovlivňují koloidní stabilitu piva. Při metabolismu kvasinek vznikají sirné sloučeniny, ze kterých je tvořen SO₂. Ten patří mezi přirozené antioxidanty v pivu, které zpomalují oxidaci a tím vznik koloidních zákalů. Správný průběh metabolismu zajišťuje dostatečné provzdušnění kvasinek i zakvašované mladiny. Látky, které vznikají produkcí kvasinek, pozitivně ovlivňují koloidní i senzoric-kou stabilitu piva [1, 25, 30].

2 TECHNOLOGICKY VÝZNAMNÉ LÁTKY CHMELE A SLADU

Chemické složení chmele i sladu ovlivňuje průběh výroby piva, ale především jeho základní i specifické chemické, biochemické a senzorické vlastnosti. Tyto kvalitativní znaky se stanovují v průběhu procesu vaření piva. Postupy metod stanovení jsou popsány v každé pivovarsko-sladařské analytice [1].

2.1 Chemické složení chmele

Chemické složení chmele je závislé na odrůdě, pěstební oblasti, ročníku sklizně a způsobu zpracování a uskladnění. Suché chmelové hlávky obsahují technologicky a ekonomicky důležité sloučeniny, balastní látky, ale i nežádoucí složky, které jsou nazývány jako problematické složky a patří mezi ně dusičnany, rezidua postřikových látek, těžké kovy a někdy se mohou vyskytnout i rezidua chemických katalyzátorů. Hlavními technologicky významnými složkami chmele ovlivňujícími průběh výroby i kvalitu piva jsou polyfenoly, které se vyskytují hlavně v krycích a pravých listenech chmele a do piva přechází hlavně v průběhu chmelovaru. Další technologicky významnou složkou chmele jsou silice a chmelové pryskyřice [1, 2, 22].

2.1.1 Obsah vody v sušených hlávkách

Obsah vody ovlivňuje vlastnosti chmele během skladování. Příliš suché chmele s vlhkostí pod 10 % se drolí a dochází ke ztrátám technologicky cenných, především hořkých látek. Naopak chmele s obsahem vody nad 12 %, které mají vlhčí především vnitřní části hlávek, věténko a střední listeny, jsou snadno napadány mikroorganismy a podléhají více i oxidačním a polymeračním změnám. Proto obsah vody v chmelových hlávkách po usušení by se měl pohybovat v rozmezí 10-11 % [1, 2].

2.1.2 Obsah pryskyřic

Chmelové pryskyřice patří k nejdůležitějším složkám chmele a chmelových výrobků. Jejich obsah tvoří až 30 % hmotnosti. Chmelové pryskyřice jsou deriváty floroglucinu. Po izomeraci, ke které dochází při vaření, ovlivňují intenzitu hořkosti piva v závislosti na dávce chmelení. Dále se podílí na charakteru hořkosti, ovlivněném složením a oxidačními změnami hořkých látek během skladování a zpracování chmele [1, 31].

Základními složkami chmelových pryskyřic jsou měkké chmelové pryskyřice, kam patří specifické α -hořké kyseliny a β -hořké kyseliny, dále pak nespecifické měkké pryskyřice a

tvrdé pryskyřice. Obecně jsou to látky chemicky podobné, nepolárního charakteru, které jsou velmi citlivé na oxidační změny, a to zvláště nejdůležitější α -hořké kyseliny, které se snadno mění na nespecifické až tvrdé pryskyřice s menší pivovarskou hodnotou. Proto se musí chmel skladovat v chladu a temnu za omezeného přístupu kyslíku [1, 34].

Alfa - hořké kyseliny

Alfa-hořké kyseliny jsou tvořeny směsí pěti analogů humulonů: humulon (35 – 70 %), kohumulon (20 - 55 %), adhumulon (10 – 15 %), peohumulon (1 – 10 %) a posthumulon (1 – 5 %). Analogy se liší acylovým zbytkem. A-hořké kyseliny jsou slabé kyseliny, které velmi obtížně disociují, a proto jsou ve vodě a vodných roztocích obtížně rozpustné v závislosti na pH roztoku. Za varu ve slabě kyselém vodním prostředí, jak je tomu v mladině, jsou chemicky nestálé a z větší části izomerují za vzniku cis- a trans- izo- α -hořkých kyselin, které jsou již rozpustnější a vykazují silnou organoleptickou hořkost. Dále podléhají oxidaci a transformaci postranních izoprenoidních řetězců [1, 6, 34].

Senzorická hořkost piva je ovlivněna nejen obsahem izo- α -hořkých kyselin, ale přispívají k ní částečně i další produkty přeměny hořkých kyselin a některé další složky piva. Hořkost tak vykazuje různé chuťové odstíny [2, 32].

V chmelu běžně převažují humulon, kohumulon a adhumulon, celkově je však množství α -hořkých kyselin a jejich analogů ve chmelu značně závislé na řadě faktorů, především na odrůdě, pěstebním místě, ročníku, podmínkách sklizně a skladování [1].

A-Hořké kyseliny jsou v čistém stavu bez chuti a vůně. Čistý humulon je světle žlutá pevná látka, analogy jsou vesměs olejovité kapaliny. Piva vyrobená z chmelů s nízkým obsahem kohumulonů mají mírnější a příjemnější hořkost než piva s vysokým obsahem kohumulonů. Kromě vytváření sensorické hořkosti jsou izo- α -hořké kyseliny důležité pro vznik a stabilitu pивní pěny. Spolu s určitými frakcemi bílkovin a kationty dvojmocných kovů se aktivně spolupodílejí na tvorbě povrchu blanky bublinek pěny, která svou pružností zpomaluje rozpad a opadání pивní pěny [2, 26].

Beta - hořké kyseliny

Vyskytují se ve chmelu v množství okolo 3 – 5 %. Jsou směsí pěti analogů nazývaných lupulon, kolupulon, adlupulon, prelupulon a postlupulon. B-hořké kyseliny jsou druhou nejvíce zastoupenou frakcí chmelových pryskyřic. Z pivovarského hlediska jsou méně významné. Díky hydrofobnímu postrannímu řetězci jsou mnohem méně rozpustné ve vod-

ném prostředí. V průběhu chmelovaru se β -hořké kyseliny přemění jen z velmi malé části na oxidačně-izomerační produkty, zvané hulupony, rozpustné v mladině a pivu. Přesto, že jejich hořkost je výrazná stejně jako hořkost izo- α -hořkých kyselin, přispívají jen v malé míře k celkové intenzitě sensorické hořkosti. Přirozená směs β -hořkých kyselin tvoří bílé krystalky šesterečné soustavy. Tyto kyseliny mají slabou esterovou vůni a nahořklou chuť [1, 2, 26].

2.1.3 Chmelové silice

Silice jsou směsí několika set látek různého chemického složení, fyzikálních vlastností i aroma, které doposud nebyly zcela identifikovány. Jejich celkové zastoupení a množství jednotlivých složek závisí především na genetických vlastnostech odrůdy, dále na podmínkách pěstování, sklizně i skladování. Chmelové silice udělují pivu charakteristickou vůni v závislosti na jejich složení, značně ovlivněném odrůdou chmele. Silice se tvoří v konečných fázích zrání rostliny [1, 2, 32].

Bylo publikováno rozdělení složek silic na pozitivní a negativní pro tzv. evropské aroma. K pozitivním složkám patří humulen, karyofylen, karvon, methylester dec-4-enové kyseliny, undekan-2-on, β -farnesen a humulenepoxid. Do negativních složek byl zařazen myrcen, α -muurolen, germakren D, kurkumen, β -selinen, aj. Výsledné aroma silic závislé na jejich vzájemném působení [1, 26].

Chmelové silice se dají rozdělit do tří základních skupin:

- uhlíková frakce
- kyslíkatá frakce (oxidovaná frakce)
- frakce sirných sloučenin

Uhlovodíková frakce chmelových silic tvoří v čerstvém chmelu největší podíl, až 80 %. Nejdůležitějšími složkami jsou monoterpeny a seskviterpeny, jejichž vzájemné poměry jsou genetickou vlastností jednotlivých klonů chmele. Silice uhlovodíkové frakce jsou v pivu málo rozpustné a z větší části během chmelovaru vytékají [1, 32, 33].

Kyslíkatá (oxidovaná) frakce chmelových silic vzniká během zrání, zpracování a skladování chmele a tvoří asi 30 % z celkových silic. Je složitou směsí terpenových, seskviterpenových, alifatických a aromatických alkoholů, různých aldehydů, ketonů, kyselin a esterů. Vzhledem k vyšší rozpustnosti této frakce, může být jejich zastoupení v pivu výrazné a

ovlivňuje charakter jeho aroma. Složení kyslíkaté frakce závisí nejen na odrůdě, ale hlavně na způsobu posklizňové úpravy a na podmínkách skladování, kdy jejich obsah v chmelu stoupá. Nejintenzivnější aroma vykazují estery, kterých bylo v silicích identifikováno velké množství [1, 6].

Frakce sirných sloučenin je obsažena v chmelových silicích v malém množství okolo 0,1 %. Sirné sloučeniny se negativně projevují jako chuťové a vonné látky již v nízkých koncentracích. Zvýšený obsah sirných sloučenin mají především chmele ošetřené během vegetace sirnými preparáty proti houbovým chorobám a chmele konzervované sířením v posklizňových úpravách. Jednoduché sirné sloučeniny a sirné sloučeniny chmelových silic typu terpenových sulfidů, polysulfidů a thioesterů mohou nepříznivě ovlivnit vůni a chuť piva [1].

Polyfenolům obsaženým v chmelu byla věnována následující kapitola.

2.2 Chemické složení sladu

Jako u všech používaných surovin závisí kvalita piva na optimálním chemickém složení sladu. Jeho složení ovlivňuje chemické, biochemické a organoleptické vlastnosti piva. Kvalitativní, chemické a biochemické znaky sladu se stanovují v kongresní mladině a tyto postupy jsou uvedeny v každé pivovarsko-sladařské analytické chemii [1, 3].

2.2.1 Obsah vody

Vlhkost sladů po hvozdnění se liší podle barvy sladů. U světlých sladů se vlhkost pohybuje kolem 3,5 % a u tmavých sladů je to kolem 2 %. Vlhkost by neměla překročit hodnotu 6 % z důvodu nebezpečí mikrobiální kontaminace. Dále zvýšená vlhkost ovlivňuje extraktivnost, způsobuje potíže při skladování a mohou být způsobeny problémy při kvašení [1, 3].

2.2.2 Škrob

Škrob se ve sladu vyskytuje v endospermu ve formě škrobových zrn, které se skládají z polysacharidů a proteinů. Škrobová zrna jsou tvořena z 98 % chemicky čistým škrobem, na zbylých 2 % se podílí proteiny, lipidy, obalové části zrn a minerální látky. Škrobová zrna v endospermu se dělá na velká a malá. Velká škrobová zrna mají rozměry 25 – 30 μm a tvoří 90 % hmotnosti škrobu v endospermu. Tato zrna jsou lépe degradovatelná při varném procesu. Malá škrobová zrna o rozměrech 1 – 5 μm tvoří zbylých 10 % hmotnosti

škrobu. Díky vysokému zastoupení stavebních složek a doprovodných sloučenin jsou hůře degradovatelná než zrna velká. Jejich štěpení komplikuje tvorba komplexů škrobu s lipidy [7, 35].

Jednotlivé zastoupení škrobových zrn ve sladu jsou genetickým znakem odrůdy ječmene a mají velký vliv na vlastnosti sladu. Zrna se skládají ze sférokystalů, které se shlukují do vrstev. Celkovou stabilitu a pevnost škrobového zrna zajišťuje provázanost lineárních amylozových a větvených amylopektinových řetězců, které tvoří micely a jsou mezi sebou vázány pomocí vodíkových můstků. To zajišťuje, že škrobová zrna drží pohromadě [1, 35].

Škrob se skládá ze dvou různých molekul, amylozy a amylopektinu. Amylóza je tvořena řetězci glukózových jednotek, které jsou vázány vazbami α - 1,4, ale základní složkou je disacharid maltóza, která vytváří šroubovice. Ty obsahují šest glukózových jednotek. Amylóza je část škrobu, která tvoří ve vodě škrobový sol, který při zvýšené teplotě 50-60°C tvoří gel. Zkouška na amylozu je tvořena reakcí na roztok jodu, kdy se amyloza zbarví modře. Obsah amylozy ve škrobu je asi 17 – 24 % u velkých škrobových zrn, u malých škrobových zrn obsah činí asi 40 % [1, 35].

Amylopektin se skládá také z glukózových jednotek, ale jsou vázány vazbami α -1,4 a α -1,6. Jsou větveny po 7 – 8 glukózových jednotkách, proto je amylopektin tvořen molekulami maltózy a izomaltózy. Reakcí s roztokem jodu se barví fialově až červeně [1, 35].

2.2.3 Dusíkaté látky

Množství dusíkatých látek ve sladu je ovlivněno kvalitou použitého ječmene. Kvalita je závislá na obsahu bílkovin a na technologii sladování a sušení sladu [3].

Dusíkaté látky představují pro výrobu piva velmi rozmanité typy sloučenin, jako jsou vysokomolekulární látky např. proteiny, polypeptidy, ale i velké množství aminokyselin. Výskyt těchto látek v pivu má pozitivní význam na jeho výrobu, ale jsou i sloučeniny, které působí negativním způsobem. Pozitivní či negativní význam závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech těchto látek. Ovlivňují celkový charakter piva jako je jeho chuť, barvu, pěnovost, ale také průběh výroby, jako například prostředí pro metabolismus kvasinek [22, 2].

Největší podíl dusíkatých látek je ve sladu vytvořen v průběhu klíčení ječmene. Jsou to hlavně makropeptidy, polypeptidy, nižší peptidy a aminokyseliny. V sušině sladu je obsaženo přibližně 3,5 g rozpustných proteinů na 100 g. Z tohoto množství se v průběhu rmu-

tování uvolní do sladiny cca 1,4 g. Množství dusíkatých látek ve rmutu ovlivňuje rmutovací teplota [8].

Podle dřívějších studií se proteiny v ječmeni a sladu dělily do čtyř skupin, a to na albuminy, globuliny, prolaminy a gluteliny. Další látky se pak řadily mezi složené (komplexní) proteiny. Jejich složení v mladině je ovlivňováno působením výrobního procesu a také působením sladových enzymů, kdy dochází k degradaci na nízkomolekulární sloučeniny [1, 3].

Albuminy patří mezi bílkoviny rozpustné ve vodě a v roztocích soli. Koagulují při teplotě 52°C [1, 35].

Globuliny jsou látky také rozpustné v roztocích solí. Dělí se do čtyř základních složek α -globulin, β -globulin, γ -globulin a δ -globulin. Koagulují při vysoké teplotě 90 °C. Největší význam má β -globulin, který se nejvíce podílí na tvorbě nebiologických zákalů v pivu [1, 35].

Prolaminy jsou nerozpustné jak ve vodě, tak v roztocích solí. Rozpustné jsou pouze v etanolu a některých dalších alkoholech. Největší význam má prolamin hordein, který se z velké části podílí na tvorbě koloidních zákalů v pivu. Ve varném procesu vykazují negativní působení při zcukřování a působí ztrátu extraktu. V mlátu se zalepí póry koláče a ztěžují tak scezování [1, 35].

Gluteliny jsou obsaženy v buněčných stěnách a rozpouštějí se pouze v alkalickém prostředí. Tyto gelové proteiny interagují s lipidy, komplexy β -glukanů a pentózanů a díky zvětšování molekul působí potíže při scezování [1, 35].

Glykoproteiny jsou doprovodnou součástí albuminů. Při sladování jsou z glykoproteinů uvolňovány dusíkaté látky, které obsahují albumin a globulin. Naopak stabilní jsou glykoproteiny glutelinů a prolaminů [1, 35].

V průběhu rmutování dochází ke zvýšení obsahu rozpustných dusíkatých látek. Zvýšení podílu aminodusíku je ale mešší. Proto při zpracování nedostatečně rozklíčeného sladu nelze rmutováním zajistit obsah aminodusíku, který je důležitý pro metabolismus kvasinek [1, 36].

2.2.4 Lipidy

Lipidy, které ovlivňují charakter piva, jsou obsaženy hlavně ve sladu. Největší podíl lipidů se nachází v zárodku sladu, zbytek pak v aleuronové vrstvě. Zanedbatelné množství je pak v endospermu na povrchu škrobových zrn. Jsou to hydrofobní látky, z nichž největší význam mají mastné kyseliny. Vliv lipidů při výrobě piva je nejvýraznější u metabolismu kvasinek. Negativní význam mají na stabilitu pěny a chuť piva [1, 37].

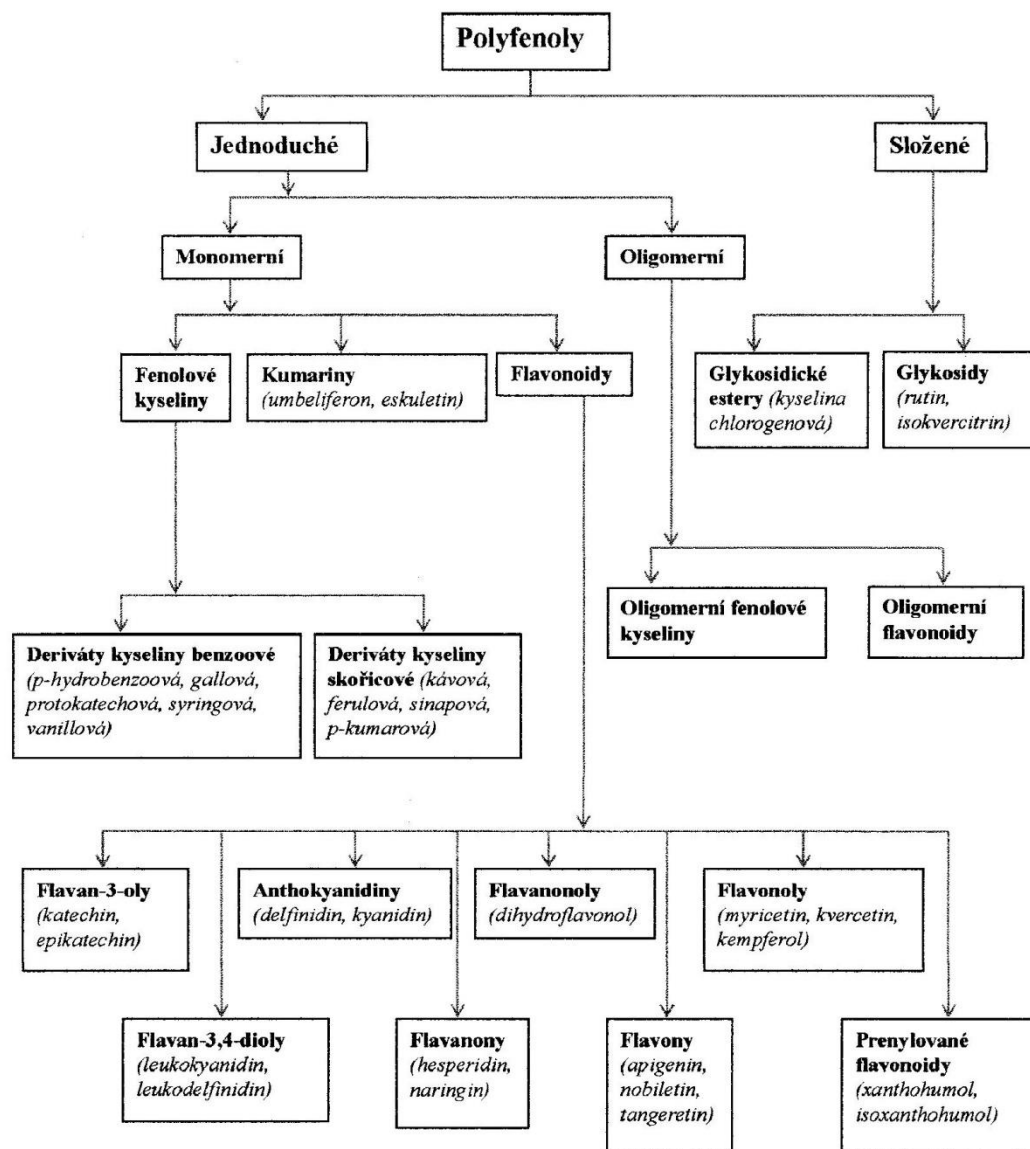
3 POLYFENOLY V PIVU

Polyfenoly jsou látky, jejichž největší podíl v pivu pochází hlavně z chmele a chmelových přípravků, ale také ze sladu a z nesladovaných obilovin. Jsou to látky velmi rozličného složení s různými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, o různé molekulové hmotnosti. Přispívají k plnosti chuti piva a podporují jeho takzvanou pitelnost [3].

Díky svým antioxidačním vlastnostem zabraňují vzniku tzv. staré chuti piva a jednoduché polyfenoly oddalují vznik koloidního zákalu. Naopak nepříznivý vliv mají díky své oxidaci, kdy dochází k polymeraci, čímž je způsobena tvorba nebiologických koloidních zákalů. Polyfenoly jsou velmi reaktivní látky a díky své charakteristické stavbě velmi snadno tvoří vazby s bílkovinami, což je hlavní důvod tvorby koloidních zákalů. K pozitivním vlastnostem polyfenolů patří schopnost sdružovat se s polypeptidy a tím mají schopnost vylučovat kaly během chlazení mladiny [3, 22].

Polyfenoly se dělí do dvou základních skupin jako jednoduché a složené. Podrobnější dělení je pak rozčleněno na podskupiny (Obr. 1). Kondenzačními produkty polyfenolů jsou flavanoly, flavonoly, flavanony a flavony. Ty tvoří vodíkové můstky v místě karbonylových skupiny v poloze 4 s hydroxylovou skupinou v poloze 5. Dalšími důležitými látkami polyfenolového charakteru jsou fenolové kyseliny, zejména deriváty kyseliny benzoové a skořicové. Odvozeninami od těchto kyselin jsou také důležité kyseliny gallová, p-hydroxybenzoová, protokatechová, vanilová a syringová a další. Vytvořením vazeb vodíkových můstků těchto látek je tvořen komplex, ze kterého je následně tvořen dimer až polymer [22].

Vysokomolekulární polyfenoly mají schopnost vázat se s polypeptidy a bílkovinami za vzniku nebiologických zákalů. Vazby polyfenolů s polypeptidy se tvoří dříve, mechanismem nekovalentních interakcí, ale také tvorbou můstků mezi molekulami, avšak interakce jsou častější než tvorba můstků. Celková schopnost se vázat a tvořit můstky a komplexy je závislá na chemických a fyzikálních vlastnostech polyfenolů. Ty, které tvoří zákal, obsahují několik vazebných míst, schopné se vázat se specifickými vazbami polypeptidů. Jejich reaktivita je velmi závislá na molekulové hmotnosti a chemické struktuře, nejvíce na počtu –OH skupin v molekule [1, 12, 22].



Obr. 1 Rozdělení polyfenolů na podskupiny [22]

3.1 Polyfenoly ve sladu

Polyfenoly ze sladu představují „tříslovinné“ látky, které jsou obsaženy v obalové části zrn obilovin a v jejich aleuronové vrstvě. Jejich obsah v znu závisí na odrůdě zpracovaného ječmene, pěstební oblasti a ročníku sklizně. Obsah polyfenolů koreluje s obsahem bílkovin. Čím je větší množství bílkovin, bývá zpravidla menší obsah polyfenolů. Celkové množství polyfenolů se pohybuje kolem 0,1 – 0,6 % sušiny. Z celkového počtu polyfenolů obsažených v pivu pochází 70 – 80 % právě ze sladu. Do sladiny a následně pak do piva se dostávají v průběhu vystírání a rmutování [2, 22].

Polyfenoly pocházející ze sladu mají pro výrobu piva velký pozitivní i negativní význam. Nezoxidované polyfenoly mají pozitivní antioxidační vlastnosti, které oddalují stárnutí

piva a tvorbu koloidních zákalů. Tyto vlastnosti však závisí na prostředí a proto nemají tak velký antioxidační význam jako např. oxid siřičitý z produkce metabolismu kvasinek. Má se za to, že nižší stupeň kondenzace a vyšší počet hydroxylových skupin u oligomerů a polymerů polyfenolů má kladný vliv na oxidačně-redukční vlastnosti piva i jeho mezi-produktů. Polyfenoly ze sladu jsou do produktu vneseny díky technologickým postupům dříve, a proto více podléhají oxidačním změnám [3, 9, 10].

Sladové polyfenoly patří mezi látky, které jsou méně rozpustné ve vodě než polyfenoly pocházející z chmele. I přes to je jejich podíl v pivu větší. Jejich rozpustnost závisí na poměru polárních a nepolárních skupin v molekule. Do sladiny se uvolňují ze sladového šrotu při rozpuštění extraktu. Další polyfenoly však zůstávají navázané ve sladovém šrotu a klasickým rmutováním je nelze uvolnit do sladiny. Proto se mohou do rozpustné formy převést pomocí přidaných enzymů, např. papainu a to v průběhu varního procesu. Polyfenoly ze sladu jsou mnohem méně rozpustné, než polyfenoly z chmele, přesto jsou v pivu více zastoupené polyfenoly pocházející ze sladu [3, 11, 22].

3.2 Polyfenoly v chmelu

Polyfenoly získané z chmele mají rovněž velký technologický význam. Jejich obsah ovlivňuje jak technologické procesy, tak i kvalitu piva. Mezi české chmely bohaté a obsah polyfenolů patří jemně aromatická odrůda Žatecký poloraný červeňák a vysokoobsažná odrůda Vital. Polyfenoly v chmelu mají také antioxidační schopnosti, které chrání chmelové pryskyřice před oxidací. V technologii mají velký význam při chmelovaru, kdy napomáhají vylučování kalů reakcemi s dusíkatými látkami při chlazení mladiny a při kvašení. Tyto polyfenoly ovlivňují také sensorické vlastnosti piva. Mají vliv na hořkost piva, podílejí se na plnosti chuti piva a dále se jim přisuzuje pozitivní vliv na zdraví [22, 1, 27].

Chmelové polyfenoly v pivu mají menší zastoupení než polyfenoly sladové. Mají polární charakter a jsou lépe rozpustné a jejich celkový obsah v pivu je závislý na velikosti chmelení a na použité odrůdě chmele. Největší podíl polyfenolů obsahují aromatické odrůdy chmele a to zejména žatecký poloraný červeňák. Menší podíly polyfenolů naopak obsahují chmelové přípravky [1, 22].

Důležité konkrétní látky se nazývají flavonoly a jejich glykosidy. Ty jsou součástí přírodních barviv a mají antioxidační účinky. Množství flavonolů a jejich glykosidů je závislé na pěstební odrůdě. Další důležitou látkou jsou katechiny. Jsou to bezbarvé látky a tvoří vel-

kou část polyfenolů. Fenolové kyseliny a jejich deriváty jsou další velkou skupinou látek obsažených v chmelu. Jedná se o aromatické deriváty, které jsou odvozené od kyseliny 4-hydroxybenzoové a kávové. Jejich estery s chinovou kyselinou kondenzují na různé polymery a oxidují na chinony, které jsou součástí procesů hnědnutí mladiny a piva [1, 28, 31].

Kumariny jsou látky zastoupené v menší míře, přesto mají význam jako antibakteriální a antifungicidní látky s dalšími biologickými účinky [1].

Velký význam polyfenolů je přisuzován jejich antioxidačním vlastnostem. Ty působí buď přímo antioxidační aktivitou, nebo jako tzv. lapače volných radikálů. Rozdíl mezi antioxidy a lapači volných radikálů je takový, že antioxidy zpomalují vznik hydroperoxidů tím, že reagují s hydroperoxylovými radikály. Lapače nezabraňují vzniku těchto radikálů, ale ty reagují s vodíkovým atomem lapačů, za vzniku komplexních radikálů, které jsou relativně stabilní díky delokalizaci volného elektronu ve své struktuře. Tím zabraňují řetězové reakci, při níž by vznikaly další uhlovodíkové radikály [1].

Antioxidační vlastnosti jsou závislé na fyzikálně-chemických vlastnostech polyfenolů. Ty se posuzují podle množství volných hydroxylových skupin. Velký vliv na tyto vlastnosti má ale také pH. Bylo prokázáno, že při pH 7,0 byly reakce polyfenolů a fenolických látek zaznamenány ve větším množství, než při pH 4,3, což je běžná hodnota piva [22, 29].

4 KOLOIDNÍ STABILITA PIVA A VZNIK PŘÍPADNÝCH VAD V PIVU

Koloidní stabilita patří mezi hlavní ukazatele trvanlivosti filtrovaného piva. Trvanlivost je doba, která uplyne do vzniku sedliny, tzv. koloidního zákalu, při teplotě 20 °C. V nefiltrovaném pivu jsou obsaženy různorodé částice o různých velikostech, zejména kvasinky a bakterie, které jsou původci biologického zákalu. Dále se pak v nefiltrovaném pivu nachází koloidní částice o velikosti do 1 μm, škrobové granule a velké množství rozpustných koloidních částic menších než 10⁻¹ μm. Větší částice, především mikroorganismy a vysrážené koloidní částice se z piva odstraní filtrací, ostatní rozpustné látky zůstanou v disperzním roztoku [1, 19].

Po určité době skladování piva a jeho transportu se mohou objevit různé koloidní zákaly či sedliny, které jsou nebiologického charakteru. V tomto časovém intervalu v pivu vzájemně reagují polypeptidy, polyfenoly, neškrobové polysacharidy a hořké látky a podléhají vzájemně změnám a vznikají tyto koloidní zákaly. Jejich obsah je závislý na složení použitých surovin, technologii výroby, stabilizačních úpravách a podmínkách skladování. Zákaly se dělí na dvě základní skupiny chladové zákaly a trvalé zákaly, ale mohou se vyskytovat i zákaly kovové a polysacharidové [1, 17, 19, 20].

4.1 Přirozená koloidní stabilita piva

Pivo, které má být stabilizováno, musí mít určité chemické složení, jako je obsah polyfenolů, polypeptidů a co nejnižší obsah rozpuštěného kyslíku. Toto složení se dá nazývat jako přirozená koloidní stabilita piva, která je základem po technologickém zpracování surovin a je předpokladem k úspěšné stabilizaci piva. Pokud má pivo dobrý předpoklad pro přirozenou koloidní stabilitu, je možné ho snadno technologicky i ekonomicky stabilizovat na požadovanou dobu minimální trvanlivosti [1, 2].

4.2 Chladové zákaly

Tyto zákaly a sedliny se v pivu vytváří při skladování při nízkých teplotách kolem 0 °C. Při zpětném zvýšení teploty na 20 °C může dojít k rozpuštění zákalu, tento děj je tedy reverzibilní. Vznik chladového zákalu podporuje oxidace piva vzdušným kyslíkem, přítomnost iontů těžkých kovů zejména ionty železa, mědi, zinku a vliv světla. Částice vzniklé

chladovým šokem jsou vázány vodíkovými můstky a mají kulovitý tvar o velikosti 0,1 až 1 μm [2].

Náchylnost k tvorbě chladového zákalu je různá. Odvíjí se od fyzikálně-chemických vlastností látek obsažených v pivu, které jsou náchylné k tvorbě zákalů. Tomuto druhu zákalu se dá zabránit zchlazením piva před filtrací na 0 až $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Toto opatření je možno využít při použití technologie výroby v cylindrokónických kvasných tancích (CKT). Další prevencí vzniku chladového zákalu je účinná stabilizace [1, 2, 17, 22].

4.3 Biologické zákaly

Biologické zákaly v pivu vznikají díky porušení mikrobiologické stability, kdy v pivu dochází k pomnožení různých druhů mikroorganismů. Podle druhu mikroorganismů vznikají zákaly kvasničné, způsobené kulturními nebo divokými kvasinkami nebo bakteriální zákaly, které vznikají pomnožením bakterií mléčného či octového kvašení. Biologická stabilita se zajišťuje pasterací nebo účinnou filtrací [2].

4.4 Trvalé zákaly

Tyto zákaly se nazývají také ireverzibilní neboli nevratné, kdy nedochází k rozpuštění zákalu při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, ale až při 40 až $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Těmto teplotám se však skladované pivo nevystavuje. Trvalé zákaly vznikají tvorbou pevných kovalentních vazeb mezi subjednotkami zákalu. Dosahují velikosti od 1 do $10\text{ }\mu\text{m}$ [2].

Mezi trvalé zákaly se řadí polysacharidový zákal, který je tvořen ze zákalotvorných komponent (polypeptidů a polyfenolů), škrobových zbytků a neškrobových polysacharidů. Vznikají neúplnou hydrolýzou škrobu a při náhlých teplotních změnách (při zmrznutí a tání) při transportu a skladování piva. K dalším trvalým zákalům se řadí produkty reakcí bílkovin a polyfenolů, kdy vznikají rozpustné komplexy, které se ale postupem času zvětšují a tím vzniká viditelný zákal, jehož vznik je podporován oxidací piva [13, 19, 1].

Dalšími trvalými zákaly jsou kovové zákaly, které obsahují velké množství kovů, především železa, mědi, zinku a hliníku. Kovové ionty se do piva dostávají z varní vody, z koro-dovaných zařízení a dalších pomocných materiálů [1].

4.5 Vady v pivu

Největší podíl na tvorbě různých vad v pivu mají fyzikální faktory. Při skladování a transportu piva ve spotřebitelských obalech dochází k nepříznivým změnám jeho sensorických vlastností hlavně díky působení světla, pohybu a výkyvům teplot. Při skladování dochází ke stárnutí piva, kdy se snižuje obsah hořkých látek, vzrůstá sladkost piva a tvoří se různé cizorodé vonné a chuťové látky, především karbonylové látky. Na průběh stárnutí mají vliv také chemické faktory při výrobě piva, jako je obsah rozpuštěného kyslíku v pivu, nedokonalé odstranění kalů z mladiny, vysoké pH sladiny [2, 22].

Mezi hlavní vady v pivu, které vznikají při transportu a skladování patří změna barvy a čirosti piva. K jejich posouzení se využívá jak sensorického hodnocení, tak použití analytických metod. Při stárnutí obecně nastává zvýšení intenzity barvy, kdy se mění odstín směrem k červenohnědé barvě. Barva je závislá na obsahu melanoidinů, látek, které vznikají rozpadem sacharidů a oxidací polyfenolů a flavonoidů [1, 37].

Vznik koloidních zákalů a změna barvy v průběhu stárnutí má velký vliv na chuťové vlastnosti piva, kdy mohou vznikat nepříjemné vady jako je drsná chuť a změna ve vůni. Tyto vady mohou být způsobeny reakcí látek, které se v pivu přirozeně vyskytují jako netěkavé (aminokyseliny, hořké látky, produkty Maillardových reakcí) a jako těkavé (alkoholy, karboxylové a nenasycené mastné kyseliny, ketony, aj.). Další přirozeně se vyskytující aromatické látky jsou organické a anorganické sloučeniny síry (sulfan, SO₂, thioly, aj.). Veškeré tyto látky vznikají v průběhu varního procesu. Podléhají oxidačně-redukčním reakcím, kdy převládají oxidační reakce, za vzniku karbonylových sloučenin, zodpovědných za tvorbu vůní starého piva [1, 14, 15].

Stárnutí piva doprovází kromě vzniku sensoricky aktivních látek tvorba mnoha látek s vysokou prahovou hodnotou, které se neprojevují v chuti a vůni, ale jsou velmi snadno detekovatelné a tím mohou sloužit jako indikátory stárnutí (furan-2-karbaldehyd a jeho deriváty, 5-hydroxymetylfuran-2-karbaldehyd) [16].

5 METODY STABILIZACE PIVA

Stabilizace piva je důležitým krokem v produkci piva. Obecně rostou požadavky na prodloužení trvanlivosti kvůli exportu piva do zahraničí, kdy je často prodloužena doba transportu mezi výrobcem a spotřebitelem. Proto jsou v pivovarech používány různé druhy stabilizačních prostředků. Ke stabilizaci piva dochází ale také odfiltrováním částic obsažených v nefiltrovaném pivu, jako jsou mikroorganismy a koloidní částice, kdy se zvyšuje jeho biologická údržnost [1, 17, 19].

Koloidní stability se dosahuje použitím přípravků, které snižují v roztoku obsah vysokomolekulárních dusíkatých látek a polyfenolů a dále pak přípravků eliminujících oxidační změny, které jsou způsobeny provzdušněním piva při závěrečných technologických úpravách. Nejčastěji se používá stabilizace piva během filtrace nebo na stabilizačním filtru po filtraci. Dávkování stabilizačních přípravků je nastaveno pro každý pivovar individuálně, z důvodu rozdílného složení piva, kdy se nastavení množství stabilizačního prostředku provádí pro každou technologii otestováním konkrétních výrobků [1, 17].

Díky správnému dodržování technologických postupů lze nastavit výhodnější podmínky pro stabilizaci, která je ekonomicky výhodnější a přitom spolehlivá. Pro stabilizaci se dnes využívají různé druhy stabilizačních prostředků, jako jsou proteolytické enzymy, taniny, antioxidační prostředky a adsorbenty dusíkatých a polyfenolových látek. Dále je pak známa stabilizace pomocí křemičitých gelů. Postupy s použitím gelů a stabilizačních prostředků se mohou využívat v kombinaci. Nejpoužívanějšími jsou adsorbční prostředky z důvodu nejúčinnějšího odstranění zákalotvorných látek, ale také díky své nerozpustnosti, čímž jsou z piva snadno kompletně odstranitelné [2, 17, 19].

5.1 Stabilizační prostředky

5.1.1 Křemelinové gely

Technologie s použitím těchto gelů se vyvinula v 70. letech, kdy byl uveden křemičitý gel s názvem Stabifix. Tyto gely jsou řazeny mezi adsorbční stabilizační prostředky, které velmi snadno váží bílkoviny. Jelikož mají tyto gely podobné filtrační vlastnosti jako křemelina, musí být jejich dávkování regulováno, aby nebyla ovlivněna konečná čírost piva. Tyto gely vznikají reakcí kyseliny sítové s křemičitanem vápenatým. Gely z této reakce se

mohou dále zpracovávat, a tím se dělí na hydrogely s obsahem vody přes 50 % a xerogely, takzvané suché gely s obsahem vody 5 % [17].

Doporučený způsob dávkování těchto gelů je přímo do ležáckých tanků ve fázi dokvašování. Funkčnost křemelinových gelů je závislá na objemu pórů, jejich průměru a na jejich specifickém povrchu. Tento profil je nazýván jako porozita. Ta je důležitá pro navázání zákalotvorných látek pomocí adsorbčního potenciálu a Van der Walsových sil [2, 17, 19].

5.1.2 Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP)

PVPP patří mezi makromolekulární, trojrozměrnou, zesíťnou sloučeninu, nerozpustnou ve vodě, která má schopnost vázat látky, které obsahují fenolickou funkční skupinu a mají odpovídající velikost a molekulové uspořádání, vhodné pro vazby s proteiny. Také je řazen mezi adsorbenty a jeho předností je, že je kompletně inertní a tím bezpečný pro použití v potravinářském průmyslu. Pro technologii je dodáván v podobě bílého prášku s velmi vysokým poměrem povrchu ku jeho hmotnosti, což je výhodou k použití menších dávek. Reakce PVPP s polyfenoly probíhá pouze v kyselém pH. V zásaditém pH dochází ke zpětnému uvolnění polyfenolů do roztoku. Této reakce se využívá při regeneraci PVPP, kdy se po určitém množství stabilizovaného piva musí suspenze regenerovat pro úspěšnou stabilizaci. Regenerace probíhá ve filtrační stanici za použití NaOH, kdy dochází k uvolnění zákalotvorných látek, následně probíhá proplach, neutralizace a pasterace. Po tomto procesu je PVPP opět účinný pro další stabilizaci [2, 19].

Ke stabilizaci PVPP je možno využít tří způsobů. Dávkování PVPP v průběhu filtrace ke křemelině, to je tzv. stabilizace do ztracena. Dále může být PVPP součástí filtrační přepážky a třetím způsobem je stabilizace, kdy je PVPP následně recyklován. Při stabilizaci PVPP prakticky nedochází ke ztrátám (max. 1% při každé regeneraci), přesto je nutná pravidelná kontrola stanovením obsahu sušiny a případné doplnění [2, 19, 20].

5.1.3 Polyamidy

V současné době se vyvíjí nové alternativy k používanému PVPP, který je drahý. Proto byla vyvinuta řada polyamidových sorbentů, které mají velmi dobré adsorbční schopnosti vůči polyfenolům a bílkovinám. Patří mezi ně už v provozu úspěšně otestovaný český výrobek BEERPA, určený ke stabilizaci piva a vína. Principem jeho funkčnosti je adsorpce polyfenolů a jeho výhodou proti PVPP je stejná adsorbční schopnost za nižší cenu, vyšší

aktivita pro vazbu s bílkovinami, má lepší průtočné schopnosti a nízký filtrační odpor. Také se může kombinovat s křemičitými gely [17, 19, 38].

5.1.4 Iontoměniče

Iontoměniče neboli agarózové sorbenty jsou stabilizační zařízení, které jsou složeny z částí, ve kterých je obsažena náplň upravené agarózy. Stabilizované pivo protéká systémem naplněným agarózou a ke stabilizaci dochází adsorpcí bílkovin a polyfenolů na její povrch. Doba kontaktu pro úspěšnou adsorpci je řádově několik sekund. Po použití iontoměničů musí docházet k regeneraci a tím k uvolnění vazebných míst pro následující stabilizaci. Výhodou použití agarózy je nulový přechod jakýchkoli látek do piva [19].

5.1.5 Taniny

Taniny jsou přírodní látky polyfenolového charakteru, které se dělí na kondenzované a hydrolyzované. Hydrolyzované mohou být dále děleny na gallotaniny a ellagitaniny. Jedná se o deriváty kyseliny gallové. Kondenzované taniny jsou polymery složené z flavonových jednotek. Všechny tyto skupiny taninu vytváří reakce s nukleofilními skupinami za vzniku bílkovinného komplexu. Aplikace taninu je možná v různých fázích výroby (př. během rmutování, chmelovaru či sudování i při filtraci). Nevýhodou použití taninů je možný zbytek hydrolyzovaných taninů v pivu, čímž nesplňují tzv. zákon o čistotě piva [19].

5.1.6 Proteolytické enzymy

Proteolytické enzymy byly významně používány ke stabilizaci piva, ale od jejich použití se upouští z důvodu reakcí s látkami, které jsou pro vzhled piva důležité. Patří mezi ně polypeptidy, které jsou enzymy hydrolyzovány. Ty jsou zodpovědné pro vznik kvalitní pивní pěny. Dalším důvodem je schopnost setrvání v pivu, což je v rozporu se zákonem o čistotě piva. Jejich inaktivace je možná použitím pasterace, ale účinek nemusí být vždy spolehlivý. Oproti tomu je jejich výhodou nízká cena. Mechanismus účinku enzymů při stabilizaci spočívá ve štěpení bílkovinných řetězců, které následně nejsou schopny tvořit s polyfenoly komplex. Dávkování enzymů je možné při chmelovaru, ale na dobu ležení [19].

5.1.7 Antioxidanty

Tyto látky se ke stabilizaci používají za situace, kdy je pivo vystaveno působení kyslíku, tím, že mají schopnost vázat volný kyslík. Mezi nejpoužívanější antioxidanty se řadí kyselina askorbová a oxid siřičitý v podobě siřičitanů. Mohou se dávkovat při filtraci piva nebo do přetlačných tanků. Oxid siřičitý však vzniká během ležení piva a je tím přirozeným antioxidantem a jeho přidání není vždy nutné [1, 19, 22].

6 METODY MĚŘENÍ KOLOIDNÍ STABILITY PIVA

Pivo, které je určeno k balení, je vizuálně čiré. Jeho koloidní stabilita může být ale změněna v průběhu konečného zpracování nebo při přepravě a skladování. Proto každý výrobce, který zajišťuje stabilizaci piva, provádí kontrolní metody, pro rychlou a spolehlivou předpověď koloidní stability piva každé šarže. K predikci koloidní stability piva se nejčastěji používají metody nazývané šokovací a precipitační tesy. Dále se používají metody pro přímé měření zákalotvorných látek v pivu. Díky výsledkům z těchto testů mohou výrobci předpokládat a následně deklarovat dobu, kdy bude pivo dostatečně koloidně stabilní a zda vůbec byla dostatečně provedena stabilizace piva [20].

Nedílnou součástí analýz je kromě předpovědi koloidní stability i kontrola skutečné trvanlivosti. Tato kontrola probíhá při výrobě každé šarže ihned po stočení, ale také během stárnutí, až po konec deklarované minimální trvanlivosti [17, 38].

6.1 Měření přímého zákalu

K měření přímého zákalu se využívají zákaloměry, optické zařízení, které jsou schopny ihned vyhodnotit skutečný zákal v analyzovaném vzorku. Měření probíhá v kyvetě, která je prosvěcována paprsky světla fotometru a výsledná hodnota vyjadřuje vychýlení těchto paprsků z důvodu přítomnosti koloidních částic. Prosvěcování paprsky se provádí ve dvou úhlech 90° a 25° . Měření koloidního zákalu zajišťují paprsky s úhlem 90° , paprsky s úhlem 25° detekují větší částice, jako jsou kvasinky nebo částice křemeliny. Výsledné hodnoty jsou vyjádřeny v jednotkách EBC (European Brewery Convention) [1, 20, 40].

Běžná světlá piva jsou stáčena se zákalem menším než 0,80 EBC při prosvěcování paprsky pod úhlem 90° a zákalem menším než 0,50 EBC při prosvěcování paprsky pod úhlem 25° . Piva, která obsahují zákal způsobený skladováním či transportem a jsou detekovatelná okem, nabývají hodnot 2 až 3 EBC. Měření přímého zákalu rozptýlenými světelnými paprsky je také označováno jako nefelometrické měření [1, 17, 20, 38, 40].

6.2 Šokovací testy

Nebo také testy akcelerovaného stárnutí využívají stavu tzv. šokování, kdy se pomocí střídavého působení rozdílných teplot na daný vzorek piva zkouší jeho stabilita. Rozmezí teplot se pohybuje od nízkých, 0°C až po extrémní teploty 40 až 60°C . Hlavním důvodem těchto testů je vyvolání urychlení stárnutí piva a tím vytvoření chladového zákalu. Po vy-

tvoření zákalu se vzorky podrobují měření, kdy se vzorek prosvěcuje rozptýlenými paprsky světla pod úhlem 90° a 15° a měří se jejich rozptýlení. Tato metoda měření se udává v jednotkách EBC. Z důvodu použití vysokých teplot až k 60°C , nemusí být výsledky příliš spolehlivé k aplikaci na běžně skladované vzorky, protože se těmto teplotám pivo při běžném skladování nevystavuje. Přesto se výsledky těchto metod shodují se skutečnou dobou trvanlivosti [17, 38].

Existuje několik druhů metod (European Brewery Convention (1963), Harp metoda, cyklické testy EBC), které se liší druhem použitých „šokových“ teplot a dobou působení těchto teplot. Nevýhodou „šokových“ testů je dlouhá doba provedení, proto byly vyvinuty jiné metody pro rychlejší analýzu vzorků [17, 20, 38].

6.3 Precipitační testy

Výhodou těchto testů je jejich rychlost. Analýza probíhá během několika minut. Dochází ke stanovení obsahu zákalotvorných látek, ze kterého se dá odhadnout doba koloidní stability. Mezi stanovované zákalotvorné látky patří celkové a jednotlivé polyfenoly, oxidované a oxidovatelné polyfenoly a antokyanogeny. Principem jejich stanovení je jejich vysrážení přidáním titračního činidla, kdy dochází ke tvorbě komplexů. Stanovení doby trvanlivosti se pak vyhodnocuje buď přímo měřením intenzity vzniklého zákalu, nebo podle množství titračního činidla, které je potřeba ke vzniku pozorovatelného zákalu. Precipitační testy se dělí podle použitého titračního činidla [17, 20, 38].

6.3.1 Síranový test

Při této metodě se využívá činidla síranu amonného, který je schopen vysrážet z piva látky, které s ním tvoří soli a jsou nerozpustné. Po vysrážení těchto látek přidáním určitého množství síranu amonného dojde ke vzniku koloidního systému. Intenzita zákalu je v počátku reakce malá, ale po dosažení dané koncentrace dojde k prudkému nárůstu intenzity zákalu. Tato koncentrace je definovaná jako práh vysolení, kdy je sledováno množství spotřebovaného síranu amonného. Čím větší je spotřeba síranu amonného, tím je pivo koloidně stabilnější [17, 20, 38].

6.3.2 Stanovení tanoidů

Stanovení tanoidů je závislé na reakci s PVP (polyvinylpyrrolidon), kdy dochází k adsorbci tanoidů na vysokomolekulární PVP pomocí vodíkových můstků a tím k tvorbě zákalu. PVP se do piva dávkuje postupně, kdy dochází ke zvyšování intenzity zákalu až do navázání všech tanoidů. Dále pak dochází k převážení obsahu PVP a zákal tím začne klesat. Z tohoto stanovení se zhotovuje křivka, kdy je možno z maxima zjistit množství spotřebovaného PVP, který odpovídá koncentraci tanoidů. Intenzita zákalu je měřena nefelometricky a je vyjádřena v mg/l [17, 20, 38].

6.3.3 Stanovení proteinů

Tímto stanovením dochází ke vzniku koloidního zákalu reakcí citlivých proteinů s taninem, kdy vzniká nerozpustný komplex. Tento komplex zvyšující koloidní zákal vzniká reakcí nukleofilní skupiny proteinu (např. $-SH$ či $-NH_2$) s ketonovou skupinou taninu. Zákal se měří nefelometricky, kdy výsledná hodnota odpovídá obsahu látek tvořící koloidní zákal [17, 38].

6.3.4 Formaldehydový test

Formaldehydový test je založen na reakci, která probíhá po přidání formaldehydu do piva, za vzniku koloidního zákalu, který se v pivu vyloučí ochlazením na 0°C . Ten je následně měřen v jednotkách EBC. Jednotky se poté přepočítávají na tzv. teplé dny, které vyjadřují trvanlivost měřeného vzorku. Výhodou tohoto testu je jeho rychlost, ale výsledné hodnoty jsou závislé na podmínkách stanovení [17, 38].

6.4 Metody stanovení zákalotvorných látek

6.4.1 Stanovení polyfenolů

Stanovení polyfenolů se dělí do několika skupin. Celkové stanovení polyfenolů se provádí spektrofotometrickým měřením nebo použitím vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC). Při použití spektrofotometrie se využívá reakce polyfenolů s ionty železa, kdy vzniká červenohnědý komplex, který je měřitelný při vlnové délce 600 nm proti slepému vzorku. Získaná hodnota je udávána v mg/l. Další možností je stanovení jednotlivých polyfenolů adsorbci na polyamidový sorbent a následné vyextrahování acetonem. Po zakoncentrování polyfenolů je použita další extrakce etylacetátem. Poté je rozpouštědlo ze vzorku

odpařeno a po přidání malého množství metanolu je vzorek podroben HPLC, ze které jsou výstupem hodnoty obsahu a druhu polyfenolů v analyzovaném vzorku piva [17].

Ze vzorku je možné také zjistit obsah oxidovaných a oxidovatelných polyfenolů. Obsah oxidovaných polyfenolů lze stanovit reakcí s cinchoninsíranem. Vzniká koloidní zákal, který se měří nefelometricky. Množství oxidovatelných polyfenolů se dá zjistit po přidání peroxidu vodíku, který zapříčiní jejich oxidaci a dále je stanovení stejné jako u oxidovaných polyfenolů [17, 38].

6.4.2 Stanovení antokyanogenů

Stanovení probíhá použitím spektrofotometrické metody, kdy je měřeno červené zabarvení oxoniových solí, při vlnové délce 550 nm. Tyto soli vznikají při zahřátí adsorbovaných antokyanogenů na polyamidový prášek ve směsi s butanolem a kyselinou chlorovodíkovou [17].

6.4.3 Stanovení zákalotvorných bílkovin

Pro zjištění obsahu bílkovin, které tvoří koloidní zákal, se využívá testů ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). K jejich účinnému stanovení je zapotřebí je izolovat z analyzovaného vzorku. K izolaci je možno využít několika metod, např. membránové filtrace, kdy se z uměle zakaleného piva odfiltruje vzniklý zákal. Dále pak adsorbce na silikagel. Test ELISA využívá schopnosti, kdy dochází k navázání protilátky na pevnou fázi a navázání antigenu na tuto protilátku. K vzniklému komplexu protilátka-antigen se naváže další enzymová protilátka. Enzym, často alkalická fosfatáza, zajišťuje vznik barevného produktu. Intenzita vzniklé barvy koreluje s obsahem bílkovin. Ta je měřitelná spektrofotometricky při vlnové délce 405 nm [17].

Tyto metody mají využití nejen pro předpověď koloidní stability piva, kdy výrobci mohou podle výsledků přizpůsobovat technologii pro co nejlepší efektivitu výroby, ale také pro ověření účinnosti stabilizace [17, 20, 38].

PRAKTICKÁ ČÁST

7 CÍLE PRÁCE

Hlavní cíl:

- stanovení koloidní stability piva v závislosti na množství stabilizačního prostředku

Dílčí cíle:

- stanovení polyfenolů v pivu před jeho stabilizací a po stabilizaci
- stanovení polyfenolů ve stočeném lahvovém obale
- stanovení čirosti piva do týdne po stočení
- stanovení čirosti piva každý následující měsíc
- zjištění závislosti koloidní stability piv na intenzitě stabilizace

8 METODIKA

8.1 Měření obsahu polyfenolů v pivu spektrofotometrickou metodou

Ke zjištění obsahu polyfenolů spektrofotometrickou metodou se využívá reakce polyfenolů s ionty železa, za vzniku komplexu červenohnědého zabarvení, který je měřitelný při vlnové délce 600 nm [41].

Byly testovány vzorky světlých piv o různých extraktech původní mladiny (EPM). Pro vyhodnocení účinnosti stabilizace byly naměřeny hodnoty obsahu celkových polyfenolů u všech zkoumaných druhů piv před stabilizací a po stabilizaci, jakožto při finální úpravě piva. Intenzita stabilizace byla rozdílná dle požadované doby minimální trvanlivosti (DMT).

Množství nadávkovaného PVPP v g/hl lze zjistit z počtu dílků na šroubu dávkovacího čerpadla, kdy jeden dílek vyjadřuje dávkování 25 l suspenze za hodinu. Z grafu v Obr. 2 lze vyhodnotit při výkonu filtrace, která v době odběru vzorků činila 400 hl/h, množství nadávkovaného PVPP v g/hl. Stabilizace PVPP v provozu je součástí filtrační stanice. Je to tedy typ stabilizace, při které je nutná jeho regenerace. Proto dochází k relativnímu úbytku PVPP, který je kontrolován po každé regeneraci analýzou, kdy je stanoven obsah sušiny. Přepočtem je zjištěn celkový obsah PVPP ve stabilizačním filtru a jestliže jeho hmotnost klesne pod 170 kg, obsluha filtrační stanice zajistí doplnění o 25 kg, čímž je zajištěna účinná stabilizace. Celkový obsah polyfenolů byl také měřen v konečném lahvovém obalu z důvodu upřesnění konkrétní hodnoty obsahu polyfenolů, které se v průběhu stárnutí účastnily reakcí, při kterých vznikala koloidní zákal [17, 38].

8.1.3 Metodika analýzy celkových polyfenolů před stabilizací a po stabilizaci

Vzorky pív před stabilizací a po stabilizaci byly odebrány do 0,5 l baněk odběrovými kohouty před a za stabilizačním filtrem. Pivo, které bylo určeno k analýze, bylo zbaveno CO₂ vytřepáním na třepačce po dobu 20-ti minut. Poté bylo do 25 ml odměrné baňky napipetováno 10 ml vytřepaného piva a 8 ml karboxymethylcelulózy. Ta byla připravena do 250 ml odměrné baňky navážením 1 g kyseliny etylendiamintetraoctové (EDTA 3) a 5 g karboxymethylcelulózy. Po promíchání bylo přidáno 0,5 ml roztoku citrátu železitoamonného, připraveným rozpuštěním 0,875 g v destilované vodě do 10 ml odměrné baňky a po důkladném promíchání bylo přidáno 0,5 ml roztoku amoniaku naředěným 1:2 s destilovanou vodou. Po promíchání byla baňka doplněna po rysku destilovanou vodou. Po 10-ti minutách stání byla u roztoku měřena absorbance v 1 cm kyvetách při vlnové délce 600 nm proti slepému pokusu na spektrofotometru CADAS 200 UV VIS od výrobce Dr. LANGE. Slepý pokus byl připraven analogicky do 25 ml odměrných baněk bez přidání 0,5 ml roztoku citrátu železito-amonného [41].

Celkový obsah polyfenolů je vyjádřen přepočtem absorbance $A_{600} \cdot 820$ v mg/l a hodnota byla zaokrouhlena na celé číslo. Kdy číslo 820 je empiricky zjištěný koeficient. Obsah polyfenolů se v pivu průměrně pohybuje od 150 do 200 mg/l [41].

8.2 Měření čirosti piva spektrofotometrickou metodou

8.2.1 Měření čirosti piva v průběhu jeho stárnutí

Měření čirosti piva bylo prováděno na fotometrickém laboratorním zákaloměru SIGRIST. Tento přístroj měří průchod světelných paprsků kapalinou v měřicí kyvetě pod úhly 90° a 25°. Hodnoty naměřené při úhlu 90° stanovují výskyt látek tvořících koloidní zákal a hodnoty naměřené při úhlu 25° vyjadřují výskyt větších částic [40].

Měřené pivo bylo z lahvového obalu přelito do měřicí kyvety, která byla uzavřena víčkem. Po vyrovnání tlaku uvnitř kyvety došlo k ustání proudu bublinek CO₂, které by mohly měření nepříznivě ovlivnit. Takto ustálený vzorek v kyvetě byl měřen laboratorním zákaloměrem SIGRIST LAB SCAT 2, vyrobeným ve Švýcarsku, při pokojové teplotě, která v místnosti byla vždy v rozmezí 20 až 25 °C. Všechny sledované vzorky byly měřeny čtyři dny po stočení a každý následující měsíc, kdy byly skladovány při běžných pokojových podmínkách a při standardním přístupu světla. Naměřené hodnoty jsou uvedeny

v tabulkách níže. Výsledky jsou rozděleny dle extraktu původní mladiny a dávkování stabilizačního prostředku.

9 VÝSLEDKY

V této kapitole jsou uvedeny naměřené hodnoty obsahu polyfenolů u vzorků piva, které byly vyrobeny klasickou dekokční metodou bez surogace. Tyto vzorky se lišily hodnotou EPM, kdy byly sledovány vzorky o EPM 10 %, 11 %, 11,5 % a 12 %. EPM neovlivňuje přímo koloidní stabilitu piva, ale ovlivňuje, jaký bude obsah původních polyfenolů v pivu po uvaření. Čím vyšší je EPM, tím je větší pravděpodobnost vyššího obsahu polyfenolů v původně navařeném pivu. Záleží ale také na obsahu polyfenolů v použitých surovinách (chmelu a sladu), kdy se hodnoty polyfenolů mohou lišit podle sklizně a způsobu skladování. Tyto hodnoty jsou proměnlivé. Množstvím původních polyfenolů je také ovlivněno to, kolik polyfenolů na sebe naváže stabilizační přípravek [1].

Teoreticky by měl PVPP při dané intenzitě navázat stejné množství polyfenolů [1], což se ale měřením nepotvrdilo, protože vzorky nebyly odebrány při stejných várkách vaření, ale v datu, kdy dosahovaly požadované doby ležení. Z tohoto důvodu jsou rozdílné hodnoty počátečních polyfenolů, které byly získány z různých dodávek surovin, jak vyplývá z hodnot uvedených v tabulkách Tab. 1. až Tab. 3.

Tab. 1. Stabilizace při dávkování 30 g/hl stabilizačního prostředku PVPP

EMP [%]	Obsah polyfenolů před stab.filtrem [mg/l]	Obsah polyfenolů za stab.filtrem [mg/l]	Úbytek polyfenolů [mg/l]	Úbytek polyfenolů [%]
10	194	129	65	18,7
11	213	168	45	21,1
12	237	170	67	28,3

Tab. 2. Stabilizace při dávkování 50 g/hl PVPP stabilizačního prostředku PVPP

EMP [%]	Obsah polyfenolů před stab.filtrem [mg/l]	Obsah polyfenolů za stab.filtrem [mg/l]	Úbytek polyfenolů [mg/l]	Úbytek polyfenolů [%]
10	215	140	75	34,9
11	231	157	74	32
11,5	228	168	60	26,3
12	232	170	62	26,7

Tab. 3. Stabilizace při dávkování 60 g/hl PVPP stabilizačního prostředku PVPP

EMP [%]	Obsah polyfenolů před stab.filtrem [mg/l]	Obsah polyfenolů za stab.filtrem [mg/l]	Úbytek polyfenolů [mg/l]	Úbytek polyfenolů [%]
10	210	147	63	30
11	204	153	51	25
11,5	232	162	70	30,2
12	183	154	29	15,9

V těchto tabulkách je také uveden rozdíl v mg/l v obsahu polyfenolů před stabilizací a po stabilizaci při různé intenzitě dávkování PVPP a vyjádření úbytku polyfenolů v procentech. V tabulkách Tab. 1., Tab. 2. a Tab. 3. jsou uvedeny výsledky stanovení obsahu polyfenolů před stabilizací a po stabilizaci na filtrační stanici přidáním rozdílného množství stabilizačního prostředku PVPP v g/hl. Je zde patrný vysoký obsah původně obsažených polyfenolů v pivu ze surovin (chmele a sladu), kdy po stabilizaci bylo dosaženo snížení jejich obsahu. Stanovené množství původních polyfenolů se liší, z důvodu odebrání vzorků po požadované době ležení v ležáckém sklepe a ne při vaření ze stejných surovin. Suroviny z různých dodávek obsahují různé množství polyfenolů.

Z tabulek Tab. 1., Tab. 2. a Tab. 3. vyplývá, že EPM ovlivňuje množství původních polyfenolů z použitých surovin a ovlivňuje tak celkový úbytek polyfenolů, které je stabilizační prostředek schopen na sebe navázat. S rostoucím množstvím přidávaného PVPP by se měl teoreticky obsah polyfenolů snižovat. Nesrovnalosti v tabulkách mohly být způsobeny nedostatečnou regenerací PVPP, který měl tímto ovlivněné množství vazebných míst, na které by se mohly polyfenoly navázat.

Pro upřesnění konkrétní hodnoty množství polyfenolů ve vzorcích piv byla analýza obsahu polyfenolů opakována i z konečného lahvového obalu. Tyto hodnoty jsou uvedeny v tabulkách Tab. 4. až Tab. 6.

Tab. 4. Obsah polyfenolů v lahvovém obalu při stabilizaci na 4 měsíce dávkováním 30 g/hl PVPP.

EPM [%]	Obsah polyfenolů [mg/l]
10	135
11	173
12	171

Tab. 5. Obsah polyfenolů v lahvovém obalu při stabilizaci na 6 měsíců dávkováním 50 g/hl PVPP.

EPM [%]	Obsah polyfenolů [mg/l]
10	133
11	155
11,5	166
12	172

Tab. 6. Obsah polyfenolů v lahvovém obalu při stabilizaci na 12 měsíců dávkováním 60 g/hl PVPP.

EPM [%]	Obsah polyfenolů [mg/l]
10	147
11	153
11,5	164
12	154

Stanovené obsahy polyfenolů ve stabilizovaném pivu odpovídají vnitřním normám používaným v laboratoři Zubr a.s. Tyto normy deklarují koloidní stabilitu piva na požadované datum minimální trvanlivosti.

Dále jsou ve výsledcích zahrnuty měření čirostí piv již zmíněných druhů, lišících se v EPM, které jsou shrnuty v Tab. 7. až Tab. 17. Tato měření probíhala poprvé do čtyř dnů po stočení do lahvových obalů a následně každý následující měsíc. Vzorky piv jsou rozděleny podle EPM a to tak, že každý druh vzorku byl stabilizován přidáním 30, 50 a 60 g/hl stabilizačního prostředku PVPP podle deklarované DMT.

Z výsledků měření lze usoudit, že koloidní stabilita sledovaných vzorků se výrazně neměnila po celý čas deklarované DMT a začínala se zvyšovat až na jejím konci a výrazně vzrostla po překročení DMT. Toto je patrné ze zvyšujících se hodnot naměřených při EBC 90° (měření paprsky pod úhlem 90°) a EBC 25° (měření paprsky pod úhlem 25°). Rostoucí hodnoty EBC 90° stanovují zvyšující se obsah koloidních částic a hodnoty EBC 25° stanovují rostoucí obsah větších částic o velikosti 3-15 μm [38].

Proto lze usoudit, že technologicky vyzkoušené množství dávkovaného stabilizačního prostředku PVPP pro tuto výrobu zaručuje koloidní stabilitu po dobu stanovenou výrobcem. Po překročení deklarované DMT dochází k prudkému nárůstu koloidního zákalu, který je sledovatelný i vizuální kontrolou.

Tab. 7. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 10 % stabilizovaného přidáním 30 g /hl PVPP po dobu 8 měsíců.

EPM 10 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,45	0,19
1 měsíc	0,44	0,20
2 měsíc	0,49	0,17
3 měsíc	0,51	0,18
4 měsíc	0,54	0,18
5 měsíc	0,69	0,39
6 měsíc	1,22	0,61
7 měsíc	2,89	1,08
8 měsíc	3,60	2,97

Tab. 8. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11 % stabilizovaného přidáním 30 g /hl PVPP po dobu 8 měsíců.

EPM 11 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,37	0,12
1 měsíc	0,38	0,10
2 měsíc	0,40	0,13
3 měsíc	0,41	0,16
4 měsíc	0,44	0,17
5 měsíc	0,57	0,35
6 měsíc	0,99	0,78
7 měsíc	1,89	1,39
8 měsíc	3,32	3,05

Tab. 9. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 12 % stabilizovaného přidáním 30 g /hl PVPP po dobu 8 měsíců.

EPM 12 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,34	0,14
1 měsíc	0,35	0,14
2 měsíc	0,39	0,16
3 měsíc	0,45	0,17
4 měsíc	0,48	0,17
5 měsíc	0,57	0,39
6 měsíc	0,91	0,79
7 měsíc	2,15	1,74
8 měsíc	3,64	3,28

Tab. 10. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 10 % stabilizovaného přidáním 50 g /hl PVPP po dobu 8 měsíců.

EPM 10 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,30	0,15
1 měsíc	0,30	0,16
2 měsíc	0,35	0,20
3 měsíc	0,33	0,22
4 měsíc	0,36	0,27
5 měsíc	0,47	0,39
6 měsíc	0,68	0,53
7 měsíc	0,82	0,86
8 měsíc	1,23	1,27

Tab. 11. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11 % stabilizovaného přidáním 50 g /hl PVPP po dobu 8 měsíců.

EPM 11 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,25	0,10
1 měsíc	0,26	0,12
2 měsíc	0,29	0,21
3 měsíc	0,36	0,32
4 měsíc	0,47	0,38
5 měsíc	0,49	0,41
6 měsíc	0,62	0,70
7 měsíc	1,35	2,08
8 měsíc	1,87	3,29

Tab. 12. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11,5 % stabilizovaného přidáním 50 g /hl PVPP po dobu 8 měsíců.

EPM 11,5 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,25	0,09
1 měsíc	0,29	0,15
2 měsíc	0,31	0,20
3 měsíc	0,49	0,33
4 měsíc	0,55	0,47
5 měsíc	0,79	0,66
6 měsíc	0,86	0,79
7 měsíc	1,23	1,74
8 měsíc	2,13	3,23

Tab. 13. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 12 % stabilizovaného přidáním 50 g /hl PVPP po dobu 8 měsíců.

EPM 12 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,25	0,10
1 měsíc	0,27	0,12
2 měsíc	0,33	0,19
3 měsíc	0,37	0,26
4 měsíc	0,48	0,37
5 měsíc	0,51	0,61
6 měsíc	0,73	0,82
7 měsíc	0,89	1,86
8 měsíc	1,20	3,79

Tab. 14. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 10 % stabilizovaného přidáním 60 g /hl PVPP po dobu 14 měsíců.

EPM 10 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,28	0,16
1 měsíc	0,27	0,15
2 měsíc	0,29	0,17
3 měsíc	0,30	0,16
4 měsíc	0,28	0,15
5 měsíc	0,26	0,16
6 měsíc	0,29	0,18
7 měsíc	0,35	0,22
8 měsíc	0,41	0,27
9 měsíc	0,57	0,44
10 měsíc	0,63	0,65
11 měsíc	0,81	0,98
12 měsíc	1,23	1,59
13 měsíc	2,55	2,77
14 měsíc	3,88	4,20

Tab. 15. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11 % stabilizovaného přidáním 60 g /hl PVPP po dobu 14 měsíců.

EPM 11 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,39	0,30
1 měsíc	0,35	0,31
2 měsíc	0,34	0,27
3 měsíc	0,36	0,29
4 měsíc	0,32	0,30
5 měsíc	0,30	0,28
6 měsíc	0,39	0,29
7 měsíc	0,47	0,36
8 měsíc	0,52	0,48
9 měsíc	0,69	0,72
10 měsíc	0,81	0,97
11 měsíc	1,03	1,85
12 měsíc	2,31	3,02
13 měsíc	2,89	5,13
14 měsíc	3,66	5,96

Tab. 16. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11,5 % stabilizovaného přidáním 60 g /hl PVPP po dobu 14 měsíců.

EPM 11,5 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,28	0,12
1 měsíc	0,27	0,11
2 měsíc	0,29	0,14
3 měsíc	0,33	0,13
4 měsíc	0,30	0,14
5 měsíc	0,31	0,14
6 měsíc	0,36	0,17
7 měsíc	0,44	0,23
8 měsíc	0,57	0,29
9 měsíc	0,62	0,40
10 měsíc	0,74	0,59
11 měsíc	0,93	0,89
12 měsíc	1,33	1,55
13 měsíc	2,25	2,64
14 měsíc	3,22	4,09

Tab. 17. Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 12 % stabilizovaného přidáním 60 g /hl PVPP po dobu 14 měsíců.

EPM 12 %		
Doba po stočení	EBC 90°	EBC 25°
ihned po stočení	0,32	0,33
1 měsíc	0,30	0,30
2 měsíc	0,29	0,34
3 měsíc	0,33	0,32
4 měsíc	0,32	0,30
5 měsíc	0,34	0,31
6 měsíc	0,34	0,29
7 měsíc	0,38	0,35
8 měsíc	0,40	0,35
9 měsíc	0,40	0,38
10 měsíc	0,69	0,51
11 měsíc	0,81	0,83
12 měsíc	1,58	1,87
13 měsíc	2,37	2,69
14 měsíc	3,19	4,24

V tabulkách Tab. 7 až Tab. 17 jsou shrnuty výsledky měření vzorků piv o různých EPM a různých intenzitách stabilizace. Tyto vzorky byly měřeny na laboratorním zákaloměru SIGRIST a toto měření bylo prováděno do týdne po stočení do lahvového obalu a poté každý následující měsíc do konce DMT a 2 až 4 měsíce po něm. Při stabilizaci přidáním 30 g/hl PVPP výrobce deklaruje koloidní i senzoričnou stabilitu po dobu 4 měsíců. Po přidání 50 g/hl PVPP je deklarovaná stabilita piva po dobu 6 měsíců a stabilizací dávkováním 60 g/hl PVPP je deklarovaná doba, po kterou je pivo koloidně i senzoričnou stabilní, 12 měsíců.

U naměřených vzorků lze dle výsledků z tabulek Tab. 7. až Tab. 17. usuzovat koloidní stabilitu do požadovaného DMT. Po dosažení této doby bylo z výsledků z tabulek Tab. 7. až Tab. 17. možno usuzovat, že u pozorovaných piv docházelo k prudkému nárůstu koloidního zákalu, který začínal být pozorovatelný měřením již ke konci minimální doby trvanlivosti, na kterou bylo pivo stabilizované. Po překročení deklarovaného DMT docházelo k takovému nárůstu koloidního zákalu, který byl pozorovatelný i vizuálním pohledem. Takto vypadající pivo by bylo pro zákazníka nepřijatelné. Nic méně bylo měřením stanoveno, že do doby minimální trvanlivosti deklarované výrobcem, bylo pivo pro zákazníka v požadovaném stavu.

DISKUZE

Tato práce byla věnována zkoumání technologického procesu stabilizace piva. Stabilizace je ve výrobě lahvovaných piv, které mohou být dlouhou dobu skladovány, nepostradatelný proces. V této práci byla pozornost věnována problematice přidavku stabilizačních prostředků a následné koloidní stabilitě lahvovaného piva v průběhu stárnutí. Vliv na stabilitu mají další faktory, jako je např. působení přirozených vlivů tepla a světla při skladování a při mechanickém zacházení s pivem.

Studiemi, které provedla Kotlíková a kol. (2013) bylo zjištěno, že mezi látky, které ovlivňují stabilitu piva, patří polyfenoly. Ty jsou jednou z hlavních složek v pivu, které svým množstvím ovlivňují jeho koloidní stabilitu. Proto je v technologiích pivovarů důležitým cílem jejich snížení na takovou úroveň, aby byla koloidní stabilita piva uchovatelná po deklarovanou dobu minimální trvanlivosti (DMT) [22].

Nejpoužívanějším způsobem stabilizace je navázání polyfenolů obsažených v pivu na makromolekulární látku PVPP. Bílkovinné látky, které jsou taktéž v pivu přirozeně obsaženy, právě navázáním na polyfenoly tvoří nerozpustný koloidní zákal. Snížením množství polyfenolů je zabráněno tvorbě vazby s bílkovinami a tím vzniku koloidního zákalu [19].

Výrobce, používající již vyzkoušenou technologii na vlastních výrobcích, je schopen ovlivnit dobu, při které je pivo vizuálně čiré a tím pro zákazníka přijatelné. Proto používá stabilizace o různých dávkovacích množstvích stabilizačního prostředku, kterým ovlivňuje dobu, kdy si pivo zachovává čirost.

Díky stanovení obsahů polyfenolů v původním a následně ve stabilizovaném pivu bylo v této práci možno zjistit, za jakou dobu se v běžně skladovaném pivu vytvoří koloidní zákal a jak moc ho množství přidaného stabilizačního přípravku ovlivní. Jelikož si musí každý výrobce stanovit konkrétní dávkování na svůj daný výrobek, nemusí být uvedené dávkování stabilizačního prostředku vhodné pro ostatní výrobce, z důvodu různého chemického složení piv, jejich extraktu a také z důvodu odlišných technologií výroby, které se mohou u jednotlivých výrobců lišit.

Stanovením obsahů polyfenolů a následným měřením čirostí bylo stanoveno, že množství přidaného stabilizačního prostředku výrazně ovlivňuje dobu, kdy se koloidní zákal v pivu vytvoří. Toto lze předpokládat, protože díky většímu množství stabilizačního prostředku je

možné z původně vyrobeného piva odstranit takové množství polyfenolů, aby byla tvorba koloidního zákalu oddálena na co nejdelší dobu.

Jak uvádí studie, kterou publikoval Dostálek a kol. (2011), je na zkušenostech a technologických znalostech každého výrobce, jak technologii stabilizace nastaví [19].

V dnešní době je obchodním trhem tvořen velký tlak na výrobce. Trh požaduje dlouhou DMT, hlavně pro exportní vývoz, kdy vyžaduje DMT překračující roční trvanlivost. Proto jsou výrobci nuceni DMT prodlužovat. Roční DMT je ale pro koloidní stabilitu piva hraniční. Po překročení jednoho roku je pivo velmi výrazně zakalené a jsou způsobeny i negativní změny v jeho senzorickém profilu. Pivo je tmavé a po chuťové a čichové stránce často nepřijatelné, kdy v pivu v průběhu jeho skladování probíhají různé reakce, např. Maillardovi. Při těchto reakcích v pivu vznikají jak barevné látky, tak i nežádoucí chuťové a vonné látky [1].

Nebyla však dodnes vyvinuta žádná metoda, která by spolehlivě zaručila konkrétní dobu, kdy pivo zůstane koloidně stabilní. I proto byla v této práci zkoumána technologie pro konkrétní druh piva a bylo stanoveno, že koloidnímu zákalu podléhá pivo ke konci doby trvanlivosti a hlavně po ní. Proto nelze zaručit neustále se zvyšující požadovanou DMT pro export. Nedílnou součástí proměnných faktorů je také způsob transportu a skladování piva, kterou už bohužel výrobce není schopen ovlivnit. Proto může dojít při nedodržení předepsaných podmínek k tvorbě koloidního zákalu i dříve, než na konci deklarované DMT [20, 38].

ZÁVĚR

Tato práce se zabývala stanovením koloidní stability piva, která je ovlivněna obsahem polyfenolů v pivu a jeho následnou stabilizací ve finální úpravě před stočením do lahvového obalu. Byly stanovovány a sledovány vzorky světlých piv, které byly uvařeny klasickou dekokční metodou bez surogace. Lišili se pouze chmelením a odlišným EPM, který ovlivňuje obsah polyfenolů původně obsažených v pivu.

Pro vyhodnocení výsledků bylo nutné stanovit obsah polyfenolů v pivu před stabilizací a po stabilizaci, kdy byl stanoven úbytek původně obsažených polyfenolů na takovou mez, aby bylo pivo koloidně stabilní po deklarovanou DMT. Celková koloidní stabilita pak byla sledována měřením čirosti sledovaných vzorků poprvé do čtyř dnů po stočení a poté každý následující měsíc.

Na základě výsledků praktické části lze konstatovat následující závěry:

- Extrakt původní mladiny ovlivňuje obsah původně obsažených polyfenolů v pivu.
- Při vyhodnocování výsledků bylo zjištěno, že koloidní stabilita piva je závislá na množství stabilizačního prostředku.
- Zvýšením koncentrace dávkovaného PVPP je možno dosáhnout dlouhodobější koloidní stability lahvovaného piva.
- Bez přidání stabilizačního prostředku by pivo vydrželo koloidně stabilní jen určitou dobu, která by byla výrazně kratší než po přidání stabilizačního prostředku.
- Při běžném skladování bylo u vybraných vzorků s různým EPM dosaženo koloidní stability po dobu deklarované minimální trvanlivosti, což je důležitým ukazatelem pro běžného spotřebitele.

Při výrobě piva je nutné použití stabilizačních prostředků z důvodu zachování koloidní stability piva pro požadovanou DMT. Množství dávkovaného stabilizačního prostředku bývá empiricky zjišťováno pro danou výrobu a pro konkrétní EMP, aby byla jakost výrobku po deklarovanou DMT přijatelná.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BASAŘOVÁ, G., J. ŠAVEL, P. BASAŘ a T. LEJSEK. *Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva*. Praha: Nakladatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [2] KOSAŘ, K. a S. PROCHÁZKA. *Technologie výroby sladu a piva*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000. ISBN 80-902658-6-3.
- [3] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Sladařství: Teorie a praxe výroby sladu*. Praha: Havlíček Brain Team, 2015. ISBN 978-80-871092.
- [4] HEISEL, S. E: *Providing cereals for brewing*. IN: *Brewing New Technologies*, Ed C. W. Bamforth. Cambridge: Woodhead publishing limited, 2006. ISBN 978-1-84569-003-8.
- [5] COLLET, J. H. a J. W. GREEN. *Some aspects of the use of wheat malt in brewing*. *Journal of the Institute Brewing*, 1939. ISSN 2050-0416.
- [6] BRIGGS, D. E., CH. A. BOULTON, P. A. BROOKES a R. STEVENS. *Brewing science and practice*. London: CRC Press, 2004. ISBN 978-0849324572.
- [7] WILHEMSON, A., M. VAINIKKA a S. HOME. Studies on the survival of amylose-lipid complexes under mashing conditions. *European Brewery Convention. Proc. 26th*, Maastricht, 1997. ISBN 019 963 690 7.
- [8] JONES, B. L. a L. D. BUDDE. Endoproteinases and hydrolysis of malt proteins during mashing. *European Brewery Convention, Proc. 27th Congress*, Cannes, 1999. ISBN 90-70143-20-8.
- [9] ANDERSEN, M. L., H. OUTTRUP, P. RIIS a L. H. SKIBSTED. Do polyphenols influence the flavour stability of beer? *European Brewery Convention. Proc. 27th Congress*, Cannes 1999. ISBN 90-70143-20-8.
- [10] BASAŘOVÁ, G., M. BLÁHA a P. VESELÝ. Vliv kmene kvasnic na senzoričnou stabilitu piva. *Kvasný průmysl*, 2003, roč. 49, vyd. 1, s. 3-9. ISSN 0023-5830.
- [11] ŠROGL, J., K. KOSAŘ, L. MIKYŠKA a P. BOUŠOVÁ. Changes occurring in polyphenol substances content during wort production. *European Brewery Convention. Proc. 26th Congress*, Maastricht 1997. ISBN 0 19 963690 7.

- [12] DAVÍDEK, Jiří. *Chemie potravin*. Praha: SNTL, 1983. 629 p.
- [13] BAMFORTH, C. W. A Beer haze. *Journal of the America Society Brewing Chemists*. 1999, roč. 57, s. 81-90.
- [14] HERTEL, M., J. TIPPMANN, K. SOMMER a K. GLAS. Engineering investigations of the recreating kinetics of flavor-components during the boiling of wort. *Monatsschr. Beauwiss.* 2006, s. 45-55.
- [15] VESELÝ, P., D. DUNCOMBE, L. LUSK, G. BASAŘOVÁ a J. SEABROOKS. The impact of fermentation temperature on yeast reductase activity. *Tech. Q. Master. Brew. Assoc. Am.* 2004, roč. 41. s. 282-292.
- [16] VANDERHAEGEN, B., H. NEVEN, H. VERACHTERT a G. DERDENLINCKX. The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chemistry*. 2006, roč. 95, s. 357-381. ISSN: 0308-8146.
- [17] KOTLÍKOVÁ, B., L. JELÍNEK, M. KARABÍN a P. DOSTÁLEK. Předpověď vzniku koloidního zákalu piva. *Kvasný průmysl*, 2013, roč. 59, s. 100-104. ISSN: 0023-5830.
- [18] DIENSBIER, M., L. JANKOVÁ, P. SLADKÝ a P. DOSTÁLEK. Metody předpovědi koloidní stability piva. *Chemické listy*, 2010, roč. 104, s. 86-92. ISSN: 1213-7103.
- [19] DOSTÁLEK, P., B. KOTLÍKOVÁ, J. FIALA, L. JELÍNEK, Z. ČERNÝ, B. ČÁSENSKÝ a J. MIKULKA. Stabilizační prostředky pro zvýšení koloidní stability piva. *Kvasný průmysl*, 2011, roč. 57, s. 290-295. ISSN: 0023-5830.
- [20] ANONYM. *Predicting colloidal stability in beer*. The Brewer International [online]. 2002, Technical summary 4: s. 41-42 [cit. 2015-06-26]. Dostupné z: <https://www.ibd.org.uk/cms/file/309>.
- [21] MIKYŠKA, A. a JURKOVÁ, M. Hodnocení obsahu hořkých kyselin a polyfenolů ve sklizni českých chmelů v roce 2013. *Kvasný průmysl*, 2014, roč. 60, s. 88-95. ISSN: 0023-5830
- [22] KOTLÍKOVÁ, B., L. JELÍNEK, M. KARABÍN a P. DOSTÁLEK. Prekurzory a vznik koloidního zákalu piva. *Chemické listy*, 2013, roč. 107, s. 362-368. ISSN: 0009-2770.

- [23] BARTH, H., CH. KLINKE a C. SCHMIDT. Der grosse Hopfenatlas – Geschichte und Geographie einer Kulturpflanze. *Nürnberg: j. Barth and Sohn*, 1994. s. 838. ISBN 3-418-00744-9.
- [24] PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 1999. ISBN 80-7080-340-1.
- [25] ANALYTICA-MICROBIOLOGICA-EBC: *European Brewery Convention: EBC Analytica-Microbiologica*. 2005. 2. vyd. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl. ISBN 3-418-00780-5.
- [26] SMITH, G. W.: Isomerized hop products. *Monograph – European Brewery Convention*, 1994. roč. 22, s. 92-104. ISBN 019 963 690 7.
- [27] FUKUMOTO, L. a G. MAZZA. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2000. roč. 48. ISSN: 3597-3604.
- [28] LERMUSIEAU, G., C. LIÉGEOIS a S. COLLIN. Reducting power of various hop varieties. *Cerevisia*. 2001. roč. 26, s. 33-41.
- [29] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. vydání 2. Praha: OSSIS, 2002, s. 343. ISBN 80-86659-00-3.
- [30] SWAN, T., B. BALDWIN, F. CLARKE, K. TONISSEN, M. ANDERSON a P. ROGERS. The development and application of natural yeast reductants to the stabilisation of beer. *European Brewery Convention. Proc. 29th Congress, Dublin 2003*, s. 708-722. ISBN 90-70143-22-4.
- [31] HOFTA, P., P. DOSTÁLEK a G. BASAŘOVÁ. Xantohumulon – chmelová pryskyřice nebo polyphenol?. *Chemické listy*. 2004. roč. 98, s. 825-830. ISSN: 0009-2770.
- [32] KROUPA, F.: *Objektivní charakteristika chmelového aroma českých chmelů a chmelových výrobků*. Doktorská disertační práce, VŠCHT Praha, 2007. s. 172.
- [33] MOIR, M.: Hop aromatics compounds, *Monograph – European Brewery Convention*, 1994. roč. 22. s. 165-180.
- [34] KROFTA, Karel. *Obsah a složení pryskyřic žateckých chmelů z pohledu jejich pivovarské hodnoty*. Doktorská disertační práce, VŠCHT Praha, 2002. s. 227.

- [35] BENISMAIL, N., L. SAULMIER, P. BOIVIN a N. ALLOSIO-QUARNIER. Arabinoxylans and arabinoxylanases from barley to beer. *European Brewery Convention. proc. 29th Congress, Dublin. 2003.* s. 192-196. ISBN 90-70143-22-4.
- [36] WILDE, P., F. A. HUSBAND, D. GEORGER, D. J. COOPER, R. E. MULLER, B. TAIDI a E. N. CLARE MILLS. The effect of the brewing process on the lipid binding properties of beer: a potential route for improving foam stability. *European Brewery Convention. Proc 30th Congress, Prague 2005.* s. 518-527. ISBN 90-70143-23-2.
- [37] CEJPEK, Karel. Vonné a chuťové složky sladů. *Chemické listy.* 2004. roč. 108. s. 426-435. ISSN: 0009-2770.
- [38] DIENSBIER, M., L. JANKOVÁ, P. SLADKÝ a P. DOSTÁLEK. Metody předpovědi koloidní stability piva. *Chemické listy.* 2010. roč. 104. s. 86-92. ISSN: 0009-2770.
- [39] DOSTÁLEK, P., Z. ČERNÝ a B. ČÁSENSKÝ. Stabilizace piva pomocí polyamidových sorbentů. 22. Pivovarsko-sladařské dny. Praha 1.- 2. 2007, *Kvasný průmysl.* roč. 53. 2007, s. 307. ISSN: 0023-5830.
- [40] SIGRIST: *Optické měřicí technologie SIGRIST pro aplikace v pivovarech.* [online]. [cit. 2016 -4-11]. Dostupné z: http://www.technoprocur.cz/underwood/download/files/Sigrist_pivovary.pdf
- [41] BASAŘOVÁ Gabriela a kol. *Pivovarsko - sladařská analytika 1.* Praha. 1992.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PVPP	Polyvinilpolypirrolidon
EBC	European Brewery Convention
DMT	Datum minimální trvanlivosti
EDTA	Kyselina etylendiamintetraoctová
ELISA	Enzyme linked Immuno Sorbent Assay
HPLC	High-performance liquid chromatography / Vysokoučinná kapalinová chromatografie
EPM	Extrakt původní mladiny

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1	Rozdělení polyfenolů na podskupiny [22].....	25
Obr. 2	Vyjádření dávkovaného množství PVPP v g/hl.....	42

SEZNAM TABULEK

Tab. 1	Stabilizace při dávkování 30 g/hl stabilizačního prostředku PVPP.....	45
Tab. 2	Stabilizace při dávkování 50 g/hl stabilizačního prostředku PVPP.....	45
Tab. 3	Stabilizace při dávkování 60 g/hl stabilizačního prostředku PVPP.....	46
Tab. 4	Obsah polyfenolů v lahvovém obalu při stabilizaci na 4 měsíce dávkováním 30 g/hl PVPP.....	46
Tab. 5	Obsah polyfenolů v lahvovém obalu při stabilizaci na 6 měsíců dávkováním 50 g/hl PVPP.....	47
Tab. 6	Obsah polyfenolů v lahvovém obalu při stabilizaci na 12 měsíců dávkováním 60g/hl PVPP.....	47
Tab. 7	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 10 % stabilizovaného přidáním 30 g/hl PVPP po dobu 8 měsíců.....	48
Tab. 8	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11 % stabilizovaného přidáním 30 g/hl PVPP po dobu 8 měsíců.....	48
Tab. 9	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 12 % stabilizovaného přidáním 30 g/hl PVPP po dobu 8 měsíců.....	48
Tab. 10	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 10 % stabilizovaného přidáním 50 g/hl PVPP po dobu 8 měsíců.....	49
Tab. 11	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11 % stabilizovaného přidáním 50 g/hl PVPP po dobu 8 měsíců.....	49
Tab. 12	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11,5 % stabilizovaného přidáním 50 g/hl PVPP po dobu 8 měsíců.....	49
Tab. 13	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 12 % stabilizovaného přidáním 50 g/hl PVPP po dobu 8 měsíců.....	50
Tab. 14	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 10 % stabilizovaného přidáním 60 g/hl PVPP po dobu 14 měsíců.....	50
Tab. 15	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11 % stabilizovaného přidáním 60 g/hl PVPP po dobu 14 měsíců.....	51

Tab. 16	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 11,5 % stabilizovaného přidáním 60 g/hl PVPP po dobu 14 měsíců.....	51
Tab. 17	Sledování dlouhodobé čirosti piva o EPM 12 % stabilizovaného přidáním 60 g/hl PVPP po dobu 14 měsíců.....	51