Vztah polyfenolů k důležitým analytickým kritériím sladu

PhMr. HANA VRTĚLOVÁ - Dr. ALICE DOLEŽALOVÁ — VÚPS Brno

663.439.1:547.56

I. část — Rešerše

Předneseno ve zkráceném znění na Pivovarsko-sladařských dnech v Karlových Varech v listopadu 1975

Se zaváděním nových odrůd a nové zemědělské technologie se kvalitativně mění základní pivovarská surovina — ječmen a tím také kvalita sladu. Hledají se proto nové metody a postupy, které by umožnily poznat vlastnosti dobrých sladovnických ječmenů a z nich vyrobených sladů. Cílem nových metod je hlubší poznání důležitých vlastností suroviny na základě podrobného rozboru s možností využít těchto poznatků pro další pracovní postupy, popřípadě předvídat problémy a zároveň je umět předcházet.

V poslední době byla věnována velká pozornost problému polyfenolových sloučenin. Studoval se účinek polyfenolů ječmene a sladu i další souvislosti. Chemismus těchto látek byl pro jejich složitost prostudován nedostatečně a experimentálně doložen jen částečně.

Po praktické stránce mají polyfenoly a jejich změny vliv a zároveň se podílejí na tvorbě chuti, barvě i vůni piva a rovněž koloidní stabilitě piva [1]. Zjistilo se, že změny polyfenolů jsou ve varním procesu značně ovlivněny odrůdou použitého ječmene, způsobem sladování [2] a stupněm rozluštění sladu [3].

Ječné i sladové zrno obsahuje polyfenoly rozdílné co do množství i chemické struktury. Předpokládá se, že mezi bílkovinami a polyfenoly existuje vztah se stupněm kondenzace těchto skupin polyfenolů, které jednoduše přecházejí do roztoku. S polyfenoly, které přecházejí do vodného roztoku, může pivovarník počítat a jsou-li srazitelné polyvinylpyrolidonem, nazývá je *Chapon* tanoidy.

Zkoušky *Narziße* a dalších podporují korelaci rovnoměrného přírůstku rozpustných polyfenolů s rostoucím stupněm rozluštění sladu a kladou důraz na vliv odrůdy ječmene, půdní a klimatické podmínky [4].

Lie et al. [5] sledoval celkové množství polyfenolů a tanoidů. Uvádí, že množství těchto látek je závislé na druhu ječmene a zároveň se mění podle množství bílkovin. Totéž platí u sladů. Stanovení polyfenolů v ječmenu a sladu považují za nutnou a hlavní část obvyklé kontroly surovin.

Skupina EBC konala rozsáhlý pokus na polích v Norsku s cílem objasnit otázky koncentrace polyfenolů a aminového dusíku ve sladech vyrobených z různých odrůd ječmene. Obsah polyfenolů a volného aminodusíku ve sladu značně kolísá [6]. Koncentrace tanoidů v ječmenu má jasně klesající tendenci při zvyšování obsahu bílkovin v ječmenech i ve sladech. Je nepřímý vztah mezi obsahem tanoidů a bílkovinami v ječmenech a sladech. Způsob sladování může silně ovlivnit obsah volného aminodusíku, zatímco jen nepatrně ovlivní obsah tanoidů.

Jerumanis [7] studoval nejdříve při mikrosladovacích zkouškách vliv různých podmínek sladování na obsah polyfenolů. Změny stupně domočení, teploty při klíčení a přidání kyseliny giberelové jako aktivátoru růstu, nevedly k významné změně obsahu polyfenolů při máčení, klíčení a hvozdění. Dále sledoval vliv rmutování na změny polyfenolů (u čtyř odrůd) při rozdílném mikrosladování, avšak stejném kongresním rmutování. Tyto pokusy ukázaly, že vysoce rozluštěné slady s vysokým obsahem rozpustného dusíku obsahují hodně rozpustných polyfenolů. Polymerační index byl rozhodně vyšší než u sladů s horším rozluštěním. Kyslík podporuje polymeraci a rozklad polyfenolů. Za nepřístupu vzduchu polyfenoly nepolymerují.

Reiner a *Narziß* [8] zkoumali podíl vlivu odrůdy a prostředí na polyfenoly v ječmenu a sladu, v mladině a pivu. Jejich výzkum ukázal, že v technologickém řetězu ječmen—slad—mladina—pivo variační podíl pro odrůdu slábne a variační podíl pro prostředí úměrně stoupá. U mladiny a piva nebyl vliv odrůdy ječmene na množství polyfenolů tak významný, ale vykazoval ve srovnání s množstvím bílkovin vyšší hodnoty.

Enari [9] potvrzuje, že stanovení polyfenolů spolu se stanovením bílkovin v pivovarské surovině poskytuje velmi užitečný obraz pro předpověď biologické i chuťové stability. Správně rozluštěný slad dává piva s lepší koloidní stabilitou. Byla zjištěna vyšší výtěžnost sladiny čím byl nižší obsah polyfenolů. Toto zjištění podporuje i *Steiner* [10].

Chapon et al. [11] dokázali souvislost obsahu tanoidů s fyzikální stabilitou piva. Vysoké hodnoty tanoidů jsou žádoucí a jasnou indikací pro dobrou kvalitu ječmene a také pivovarskou hodnotu sladu.

Mnoho autorů se zabývalo studiem komplexů skupiny polyfenolů v ječmenu. Došli k stejnému názoru, že jediná metoda nemůže poskytnout spolehlivou informaci o polyfenolech. V posledních letech umožnily nové metody moderní analýzy, jako např. chromatografie plynová, papírová apod., stanovit různé složky polyfenolů. Dosud používané metody byly nevhodné, časově náročné a zastaralé. Na základě nových výzkumů byly vyvinuty metody pro stanovení celkových polyfenolů i antokyanogenů.

Touto prací se podrobně v posledních letech zabývali *Jerumanis* a *De Clerck*. Metody rozdělili do dvou skupin:

1. metody pro stanovení celkových polyfenolů,
2. metody pro stanovení antokyanogenů.

Modifikace metody podle *Jerumanise* a *De Clercka* pro celkové polyfenoly v pivu byla doporučena ke studiu vztahů k zákalům. Zákalová skupina EBC dokázala velmi přesvědčivě hlavní úlohu polyfenolů při tvorbě zákalů v pivě. Potvrdila, že molekulová hmota polyfenolových jednotek a chemická povaha některých skupin, spolu s účinkem kyslíku a stopami kovů, má rozhodující vliv na tvorbu zákalů. Metoda Jerumanisova-De Clercka byla modifikována *Whitearem* [12] a dávala dobré výsledky. Ve snaze ověřit reprodukovatelnost této metody byla analyzována tři různá piva na obsah celkových polyfenolů. Byl zjištěn průměrný obsah 144 až 187 ppm polyfenolů. Výsledky u vzorků analyzovaných v jedné laboratoři se pohybovaly v rozmezí ± 1 %, ale mezi různými laboratořemi 7 až 10 %. Vyšší rozdíly byly způsobeny patrně zpožděnou dopravou analyzovaných vzorků, což mělo za následek vytvoření slabého zákalu piva. Metoda byla uznána jednoduchou a přesnou a byla proto doporučena EBC.

Při pracovním postupu pro stanovení celkového množství polyfenolů je velmi důležitý obsah Fe a bylo doporučeno používat výhradně citrát železitoamonný zelený (asi 15 % Fe). Se zřetelem na různé rušivé faktory doporučuje se uvádět místo údaje o celkovém množství polyfenolů (mg na litr) raději údaj „EPZ" tj. Eisen-Polyfenol-Zahl. Tento údaj se získá násobením extinkce získané při analýze faktorem 1000. Měří se při 600 nm [13].

Přehled a popis hlavních metod na stanovení polyfenolů, které se používají v pivovarství v současné době, shrnul Jerumanis [14] do tří hlavních částí:

a) stanovení polyfenolů a antokyanogenů v mladině a pivu,
b) extrakci a stanovení polyfenolů v ječmenu a chmelu,
c) stanovení katechninů.

Uveřejněná práce představuje definitivní úpravu metod na stanovení polyfenolů v pivovarství, o kterých bylo již dříve referováno. Podobnou rešerši ke stanovení polyfenolů v pivu a chmelu provedla *Basařová* [15] a dále na této problematice pracuje.

Různé odrůdy ječmene vykazují rozdílné kvantitativní poměry v obsahu antokyanogenů. Celkový obsah antokyanogenů ječmene je závislý na vnitřní části zrna, zejména aleuronové vrstvě [16]. Přesto nelze považovat obsah antokyanogenů za odrůdovou vlastnost; je ovlivněn mnoha faktory (půdní, klimatické a pěstební podmínky).

Protože analytické stanovení polyfenolů není snadné, rozhodli jsme se ze všech navrhovaných metod u ječmene a sladu pro metodu Jerumanise a De Clercka. Modifikace této metody má dobrou reprodukovatelnost a vyhovuje jako metoda pro celkové polyfenoly. Pro stanovení tanoidů srážejících bílkoviny byla použita metoda *Chaponova* [17]. Dohromady poskytují výsledky těchto dvou metod určitou představu o chování i množství polyfenolů ve sledovaném materiálu.

Literatura

[1] DADIC, M. VAN GHELUVE, G. E. A.: J. Inst. Brew. **77**, 1971, č. 4, s. 48
[2] NARZIß, L. - KESSLER, H.: Brauwiss. **23**, 1970, č. 10, s. 379
[3] NARZIß, L.: Braureitechniker **22**, 1970, č. 8, s. 63
[4] NARZIß, L.: Brauwelt **111**, 1971, č. 24, s. 475
[5] LIE, S. et. al.: Mschr. Brau. **25**, 1972, č. 10, s. 287
[6] RASCH, L. LIE, S.: Petit J. Brass. **79**, 1971, č. 3348, s. 263
[7] JERUMANIS, J.: Brauwiss. **25**, 1972, č. 10, s. 313
[8] REINER, L. - NARZIß, L.: Brauwiss. **25**, 1972, č. 8, s. 232
[9] DADIC, M. - Van CHELUVE: J. Inst. Brew. **80**, 1974, č. 6, s. 558.
[10] STEINER, K.: Proc. EBC, Congr. 1965, s. 260
[11] CHAPON, L. et al.: Proceeding EBC 1961, s. 319
[12] BISHOP, L. R.: Mschr. Brau. **25**, 1972, č. 1, s. 37
[13] THALACKER, R. a kol.: Mschr. Brau. **26**, 1973, č. 2, s. 41
[14] JERUMANIS, J.: Brass. Malt. Europe, **23**, 1973, č. 9, s. 161
[15] BASAŘOVÁ, G.: Dílčí závěrečná zpráva VÚPS-Praha, OÚ 10/15 — 1974
[16] MOŠTEK, J.: Biochemie a technol. sladu a piva, SNTL, Praha 1969
[17] DOLEŽALOVÁ, A. - VRTĚLOVÁ, H.: Dílčí závěrečná zpráva VÚPS Brno, 3/15, 1973

Vrtělová, H. - Doležalová, A.: Vztah polyfenolů k důležitým analytickým kritériím. Kvas. prům. **22**, 1976, č. 3, s. 56—58.

V posledních letech se mnoho výzkumných skupin zabývalo studiem polyfenolů. Různé odrůdy ječmene vykazují odlišné množství těchto látek, ale přesto jejich obsah nelze považovat za výhradně odrůdovou vlastnost, protože je ovlivněn mnoha faktory (půdní, klimatické, pěstební). Množství polyfenolů ve sladech lze ovlivnit způsobem sladování. Analytické stanovení polyfenolů není snadné a proto zákalová skupina EBC vybrala z četných navržených způsobů metodu, která byla jednoduchá a reprodukovatelná. Byla přijata a dále ještě upřesněna metoda podle Jerumanise a De Clercka.

Вртелова, Г. — Долежалова, А.: Значение полифенолов при оценке качества солода посредством главных аналитических критериев. Квас. прум. **22**, 1976, № 3, стр. 56—58.

В последнее время много исследовательских работ было посвящено изучению полифенолов. По содержанию полифенолов разные сорта ячменя друг от друга значительно отличаются, но их фактическая концентрация зависит не только от свойств, присущих данному сорту, но также от ряда других факторов, в том числе от состава почвы, климатических условий, применяемой агротехники итд. На содержание полифенолов в солоде можно повлиять применением той или иной технологии солодоращения. Аналитическое определение полифенолов сопряжено со значительными трудностями. Коллектив специалистов, занимающийся в рамках Европейского объединения пивоваренной промышленности проблематикой помутнения пива, выбрал из разных существующих в настоящее время методов из разных существующих обеспечивающий, однако, воспроизводимость. По существу выбранный метод является усовершествованной модификацией метода Иеруманиса-Клерка.

Vrtělová, H. - Doležalová, A.: Polyphenols and Important Analytic Criteria Applied to Specify the Quality of Malt. Kvas. prům. **22**, 1976, No. 3, pp. 56—58.

At present much attention is being paid by research workers to the study of polyphenols. Various barley varieties have different concentration of polyphenols, which is not determined only by inherent properties of the variety in question but depends also on many other factors as e. g. soil composition, climatic conditions, growing methods etc. Within certain limits their amount in malt can be controlled by malting technology. Analytic determination of polyphenols is rather difficult. The working group of EBC, formed to study turbidity problems, have chosen from a number of proposed methods one which is both simple and provides reproducible results. It is essentially the Jerumanis-Clerck method which has been appropriately modified and improved.

Vrtělová, H. - Doležalová, A.: Das Verhältnis der Polyphenole zu den wichtigen analytischen Kriterien des Malzes. Kvas. prům. **22**, 1976, No. 3, S. 56—58.

In den letzten Jahren befaßten sich mehrere Forschungsgruppen mit dem Studium der Polyphenole. Verschiedene Gerstensorten weisen Unterschiede in der Höhe des Polyphenolegehalts auf. Trotzdem wird die Höhe des Gehaltes and Polyphenolen nicht als ausschließlich sortenbedingt angesehen, weil sie durch mehrere Faktoren beeinflußt wird (Boden, Klima, Anbauverfahren). Die Höhe der Polyphenole im Malz kann durch das Mälzungsverfahren beinflußt werden. Die analytische Bestimmung der Polyphenole ist nicht leicht und deshalb wählte der EBC-Ausschuß für Biertrübungen aus mehreren vorgeschlagenen Verfahren eine Methode aus, die sich durch ihre Einfachheit und Reproduzierbarkeit am besten für die Brauereipraxis eignet. Es handelt sich um die Methode nach Jerumanis und De Clerck, die in einer weiteren Modifikation empfohlen wurde.