

VÝZNAM OXIDU SIŘIČITÉHO V PIVU

Část 3.: Faktory ovlivňující tvorbu oxidu siřičitého během pivovarského kvašení

SIGNIFICANCE OF SO₂ IN BEER

Part 3: Factors which effect on production of sulphur dioxide during brewing fermentation

JOSEF DVOŘÁK, PAVEL DOSTÁLEK, Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice / Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering, Institute of Chemical Technology, Prague, Technická 5, 166 28 Prague

VLADIMÍR KELLNER, PAVEL ČEJKA, JIŘÍ ČULÍK, TOMÁŠ HORÁK, MARIE JURKOVÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Pivovarský ústav Praha, Lípová 15, 120 44 Praha 2 / Research Institute for Brewing and Malting, Brewing Institute Prague, Lípová 15, CZ-120 44 Prague; e-mail: cejka@beerresearch.cz

Dvořák, J. – Dostálek, P. – Kellner, V. – Čejka, P. – Čulík, J. – Horák, T. – Jurková, M.: Význam oxidu siřičitého v pivu. Část 3.: Faktory ovlivňující tvorbu oxidu siřičitého během pivovarského kvašení. Kvasny Prum. 54, 2008, č. 5, s. 142–148.

V článku je zkoumán vliv kmene pivovarských kvasinek a technologických parametrů na tvorbu oxidu siřičitého. Je zde také sledován úbytek oxidu siřičitého během skladování, dále je ukázán jeho vliv na zlepšení oxidační a staré chuti piva a také korelace jeho koncentrace v pivu s oxidoredukční kapacitou.

Dvořák, J. – Dostálek, P. – Kellner, V. – Čejka, P. – Čulík, J. – Horák, T. – Jurková, M.: Significance of SO₂ in beer. Part 3: Factors which effect on production of sulphur dioxide during brewing fermentation. Kvasny Prum. 54, 2008, No. 5, p. 142–148.

In this article the effect of yeast brewing strains and technological conditions on the production of sulphur dioxide are studied. The decrease of sulphur dioxide during the storage, its influence on the improvement of the oxidative and the stale flavour of beer and also the correlation between its concentration in beer and redox capacity of beer are monitored in this study.

Dvořák, J. – Dostálek, P. – Kellner, V. – Čejka, P. – Čulík, J. – Horák, T. – Jurková, M.: Die Bedeutung des Schwefeldioxids im Bier. Teil 3.: Die Faktor, die die Schwefeldioxidbildung während der Hauptgärung beeinflussen. Kvasny Prum. 54, 2008, Nr. 5, S. 142–148.

Im diesen Artikel wird der Einfluss von den Bierhefenstämmen und den technologischen Parametern auf die Schwefeldioxidbildung beschrieben. Weiterhin wurde eine Schwefeldioxidabnahme während der Lagerung des Bieres verfolgt. Ein Einfluss des Schwefeldioxids auf die Verbesserung des Oxidations- und Alterungsgeschmacks des Bieres wurde angezeigt. Es wurde auch eine Korrelation der Schwefeldioxidkonzentration im Bier zu der Oxidoreduktionskapazität angeführt.

Дворжак, Й. – Досталек, П. – Келлнер, В. – Чейка, П. – Чулик, Й. – Горак, Т. – Юркова, М.: Значение двуокиси серы в пиве. Часть 3: Факторы влияющие на образование двуокиси серы в процессе пивоваренного брожения. Kvasny Prum. 54, 2008, No. 5, стр. 142–148.

В статье исследуется влияние штамма пивоваренных дрожжей и технологических параметров на образование двуокиси серы. Также исследуется убыль двуокиси серы во время хранения пива, показано её влияние на улучшение старинного привкуса пива и соотношение её концентрации в пиве с окислительно-восстановительной емкостью.

Klíčová slova: pivo, oxid siřičitý, kvašení, skladování, senzorická analýza

Keywords: beer, sulphur dioxide, fermentation, storage, sensory analysis

1 ÚVOD

Senzorická a koloidní stabilita vyráběného piva je nezbytnou podmínkou pro poskytování mnohaměsíčních (až ročních) garancí. Skladováním piva se totiž postupně zvyšuje jeho barva, tvoří se zákal, klesá jeho senzorická stabilita a vzniká zvětralá chuť piva. Za příčinu těchto negativních změn se považují oxidační reakce složek piva. Koloidní a senzorickou stabilitu piva lze do jisté míry zlepšit použitím vhodného kmene pivovarských kvasinek s dostatečnou produkcí oxidu siřičitého. Oxid siřičitý působí v pivu jako antioxidant. Důležitá je také jeho schopnost maskovat aldehydy tvorbou aduktů s karbonylovými sloučeninami.

Celkové množství oxidu siřičitého v pivu může tedy do určité míry ovlivnit jeho chuťovou stálost.

2 MATERIÁL A METODY

2.1 Analytické metody

Průběh modelových kvasných zkoušek byl sledován běžnými metodami Pivovarsko-sladařské analytiky [1] a analytiky EBC [2]. Původní extrakt a zdánlivé prokvašení mladiny byly stanoveny na přístroji Anton Paar DMA 4500. Oxid siřičitý byl stanovován elektrochemicky [3]. Obsah kvasničných buněk při zakvašení a v průběhu kvasných zkoušek se určoval přímým počítáním v Bürkerově komůrce, koncentrace síranů v mladině byla zjištěna pomocí rychlotestu na sírany Spectroquant 14791 od firmy Merck, Darmstadt. Koncentrace rozpuštěného kyslíku v mladině byla stanovena pomocí Oxygen Analyzer InTap 4000e. Oxidoredukční kapacita byla zjištěna dle metodiky MEBAK [4]. Karbonylové sloučeniny byly stanoveny meto-

1 INTRODUCTION

Sensory analysis and colloidal stability of produced beer are required for providing of multimonth (year) expiration dates. During the storage the colour of beer increases, the haze forms, sensory stability declines and stale flavour of beer creates. The cause of these negative changes is probably reaction between components of beer. Colloidal and sensory stability of beer can be improved by using suited yeast strain with sufficient production of sulphur dioxide. Sulphur dioxide has an antioxidant effects in beer. Its ability to mask aldehydes by creating adducts with carbonyl compounds is also very important.

Total amount of sulphur dioxide in beer can in same way effect its flavour stability.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Analytical methods

Simulative fermentations were monitored by using common methods from Pivovarsko-sladařská analytika [1] and EBC Analytika [2]. The original wort gravity and apparent attenuation were detected by Anton Paar DMA 4500. Sulphur dioxide was determined by electrochemical method [3]. Counts of cells in the pitching rate and during the fermentation were measured by direct counting in Bürker cell, the concentration of sulphates in wort was measured by Spectroquant 14791 from Merck, Darmstadt. Concentration of dissolved oxygen in wort was determined by using Oxygen Analyzer InTap 4000e. Redox capacity was measured by MEBAK method [4]. Carbonyl compounds were analyzed by method using derivatization in a solution [16]. Other parameters were detected by common methods [1].

dou derivatizace v roztoku [16]. Ostatní parametry byly stanovovány dle běžných popsanych postupů [1].

2.2 Kmeny použitých kvasnic

Bylo testováno pět kmenů *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum*, označení dle sbírky VÚPS Praha:

- kmen č. 2 – středně až hluboko prokvašující, dobře až velmi dobře sedimentující
- kmen č. 7 – středně prokvašující, dobře sedimentující
- kmen č. 55 – nízkoprokvašující, dobře sedimentující
- kmen č. 95 – hluboko prokvašující, dobře sedimentující
- kmen č. 96 – hluboko prokvašující, velmi dobře sedimentující.

2.3 Kvasné zkoušky

Cílem kvasných zkoušek bylo posouzení rychlosti tvorby oxidu siřičitého během pivovarského kvašení a dále studium vlivu kmene pivovarských kvasinek a technologických parametrů na tvorbu oxidu siřičitého v průběhu kvašení.

Kvasinky daného kmene byly nejprve pomnoženy do potřebné zá-kvasné dávky. Před zakvašením byly kvasnice promyty a odstředěny, pak následovalo vlastní zakvašení. Kvašení probíhalo v otevřených skleněných kvasných válcích, objem zakvašované mladiny byl 1 litr. Všechny dále popsané kvasné zkoušky byly, kromě porovnání vlivu původní koncentrace mladiny na tvorbu oxidu siřičitého, provedeny na 12% světlé mladíně, provzdušněné na přibližně 8 mg/l O₂. Ná-sadní dávka kvasnic byla, pokud není uvedeno jinak, 15 mil. buněk/ml. Hlavní kvašení probíhalo při 12–14 °C. Dokvašovalo se při 2 °C.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1 Monitorování tvorby oxidu siřičitého během pivovarského kvašení

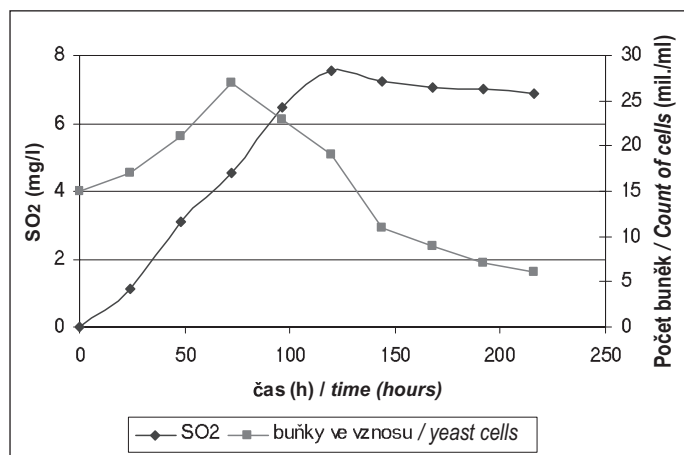
Záměrem této práce bylo posouzení tvorby oxidu siřičitého při kva-šení kmenem č. 95 a jeho následný úbytek při dokvašování. Byla pro-vedena dvě paralelní kvašení, výsledky vyjadřují průměr dvou hod-not (obr. 1 a 2).

Z obr. 1 je vidět, že tvorba oxidu siřičitého při kvašení začíná již ve fázi růstu kvasinek a s rostoucí koncentrací buněk se postupně zvyšuje. Se zvýšením sedimentace se postupně přírůstky koncent-race oxidu siřičitého snižují a jeho koncentrace kulminuje. Poté kon-centrace oxidu siřičitého pozvolna klesá. Pokles je pravděpodobně způsoben strháváním oxidu siřičitého oxidem uhličitým. K obdobným výsledkům dospěli rovněž Basařová a spol. [5] a Vernerová a spol. [6].

Při dokvašování dochází dále k postupnému poklesu koncentrace oxidu siřičitého, tento pokles je patrně opět způsoben strháváním oxidu siřičitého oxidem uhličitým (obr. 2).

3.2 Vliv kmenů pivovarských kvasinek na tvorbu oxidu siřičitého

Byla posuzována tvorba oxidu siřičitého u pěti vybraných pivovar-ských kmenů. Pro každý testovaný kmen byla snaha zajistit zcela shodné technologické podmínky, tím lze zjištěné rozdíly ve tvorbě oxidu siřičitého přičítat genetickým odlišnostem studovaných kmenů. Byla provedena dvě kvašení. Výsledky vyjadřují průměr dvou hodnot (obr. 3).



Obr. 1 / Fig. 1 Tvorba oxidu siřičitého při kvašení / Production of sulphur dioxide during the fermentation

2.2 Used yeast strains

Five yeast strains *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum*, marked in collection VÚPS Praha, were tested:

- strain no. 2 – medium to high attenuating, good to very good sedi-mentation
- strain no. 7 – medium attenuating, good sedimentation
- strain no. 55 – low attenuating, good sedimentation
- strain no. 95 – high attenuating, good sedimentation
- strain no. 96 – high attenuating, very good sedimentation.

2.3 Simulative fermentations

The aim of simulative fermentations was the comparing of speed production of sulphur dioxide during brewing fermentation and then the study of the influence of yeast strains and technological condi-tions on the production of sulphur dioxide during fermentation.

First of all the bottom yeast strains were propagated to the neces-sary pitching rate. Before the fermentation started, yeast strains were washed and centrifuged. Fermentations were carried out in 1 liter glass jars. All simulative fermentations, except the comparing of the influence of the original wort gravity on the production of sulphur di-oxide, were carried out on 12 % hopped wort, aired to approximately 8 mg/l O₂. Pitching rate was, if not noted, 15 m. cells/ml. Main fer-mentation was hold at 12–14 °C. Secondary fermentation was hold at 2 °C.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Monitoring of the production of sulphur dioxide during brewing fermentation

The aim of this study was the measurement of the production of sulphur dioxide during fermentation by yeast strains no. 95 and its decline during the second fermentation. Two parallel fermentations were carried out; results are the average values of two values (fig. 1 and 2).

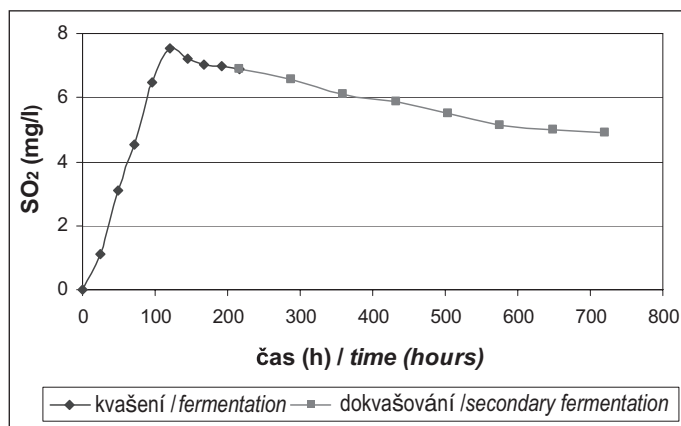
In fig. 1 it is shown that the production of sulphur dioxide during the fermentation starts in the phase of yeasts growth and it is in-creasing by the increasing of the concentration of cells. By the incre-ase of sedimentation increments of sulphur dioxide concentration de-crease and its concentration culminates. After that the concentration of sulphur dioxide slowly declines. This loss of sulphur dioxide is pro-bably caused by its stripping by carbon dioxide. Basařová et al. [5] and Vernerová et al. published similar results [6].

During the second fermentation the concentration of sulphur di-oxide decreases gradually, this decline of sulphur dioxide is caused again by stripping by carbon dioxide (fig. 2).

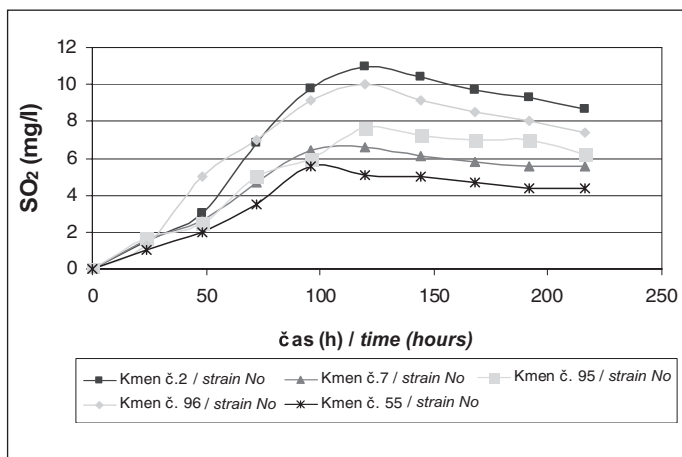
3.2 Influence of yeast strain on the production of sulphur di-oxide

The production of sulphur dioxide was tested by using five strains of bottom yeast. For each tested strain the same technological con-ditions were kept, so differences among strains in sulphur dioxide production were promoted by genetic differences of tested strains. Two fermentations were carried out. Results are the mean values of two values (fig. 3).

Results of simulative fermentations are summarized in fig. 3. Men-



Obr. 2 / Fig. 2 Tvorba oxidu siřičitého při kvašení a jeho úbytek při dokvašování / Production of sulphur dioxide during the fermentation and its decreasing during the secondary fermentation



Obr. 3 / Fig. 3 Tvorba oxidu siřičitého při kvašení – porovnání testovaných kmenů / Production of sulphur dioxide during the fermentation – comparison of testing yeast strains

Výsledek kvasných zkoušek je shrnut na obr. 3. Ukázalo se, že uvedené kmeny vykazují odlišné tendence k tvorbě oxidu siřičitého. Z výsledků je patrné, že tendence k tvorbě oxidu siřičitého je různá jak u kmenů s rozdílnou základní charakteristikou (sedimentace, prokvašování), tak u kmenů, jejichž základní charakteristika je stejná.

Nejvyšší tendenci k tvorbě oxidu siřičitého měly kmeny č. 2 a 96, nižší byla u kmenů č. 7 a 95 a nejnižší u kmene č. 55. Získané poznatky jsou ve shodě s údaji v literatuře, které uvádějí Basařová a kol. [5, 7] a Vernerová a kol. [6].

3.3 Vliv technologických parametrů na tvorbu oxidu siřičitého

Dále byl zkoumán vliv zákvasné dávky, koncentrace síranů v mladině, původní koncentrace extraktu mladiny a provzdušnění mladiny na koncentraci oxidu siřičitého v mladém pivu. Pro zakvašení byl použit kmen č. 96. Při sledování vlivu jednotlivých parametrů byla snaha ostatní parametry zachovat konstantní.

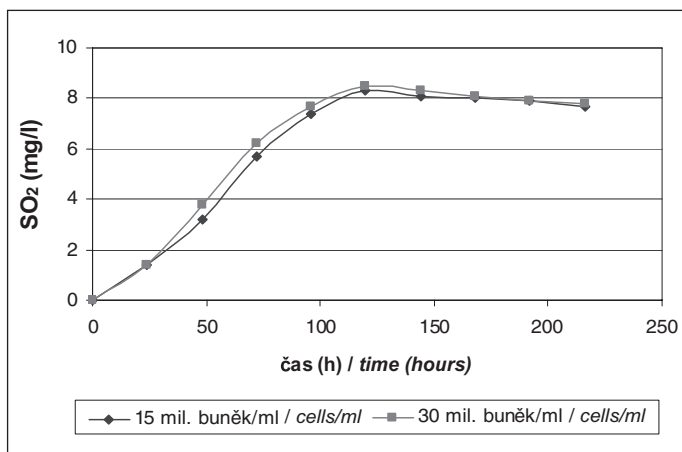
3.3.1 Vliv provzdušnění mladiny na tvorbu oxidu siřičitého

Tvorba oxidu siřičitého byla sledována pro dvě různé koncentrace kyslíku v mladině (3,5 a 7,4 mg/l). Z obr. 4 vyplývá, že vyšší provzdušnění mladiny vede k hlubšímu prokvašení a k omezení tvorby oxidu siřičitého v pivu.

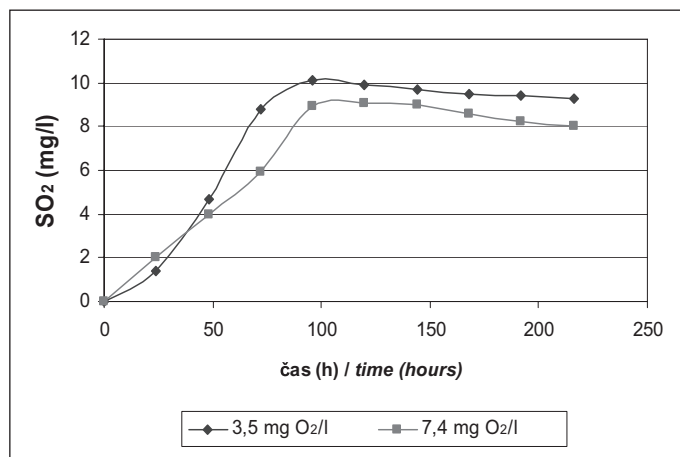
Dostatek kyslíku v mladině zlepšuje množení kvasnic a intenzitu jejich růstu, což zvyšuje požadavek na sírné aminokyseliny a zamezuje hromadění oxidu siřičitého v prostředí. Nedostatek kyslíku naopak vede ke snížení zdánlivého prokvašení a prodloužení lag-fáze. Zjištěné výsledky potvrzují výsledky uváděné Vernerovou a kol. [6].

3.3.2 Vliv zákvasné dávky na tvorbu oxidu siřičitého

Byl sledován vliv dvou různých zákvasných dávek, 3,1 a 6,2 g kvasnic/l (15 a 30 mil. buněk/ml), na tvorbu oxidu siřičitého během kvašení provzdušněné mladiny. Výsledky jsou shrnuty na obr. 5. Je



Obr. 5 / Fig. 5 Tvorba SO_2 při kvašení pro zákvasnou dávku 3,1 a 6,2 g kvasnic/l / The production of SO_2 during fermentations for pitching rates 3,1 and 6,2 g yeast/l



Obr. 4 / Fig. 4 Tvorba oxidu siřičitého při kvašení pro různé koncentrace kyslíku v mladině / Production of sulphur dioxide during the fermentation using by different concentrations of oxygen in wort

tioned yeast strains have different tendencies to sulphur dioxide production. The tendency to the production of sulphur dioxide is different for yeast strains with the same characteristics (sedimentation, attenuation) and also for yeast strains with different characteristic.

The highest production of sulphur dioxide was detected in strains no. 2 and 96, lower production was determined in strains no. 7 and 95 and the lowest in strain no. 55. Obtained results consist with data published by Basařová et al. [5, 7] and Vernerová et al. [6].

3.3 Influence of technological conditions on sulphur dioxide production

Further the influences of pitching rate, concentration of sulphates in wort, original wort gravity and the aeration of wort on the production of sulphur dioxide in new beer were monitored. Yeast strain no. 96 was used for pitching. There was a tendency to hold constant conditions during the monitoring of individual parameters.

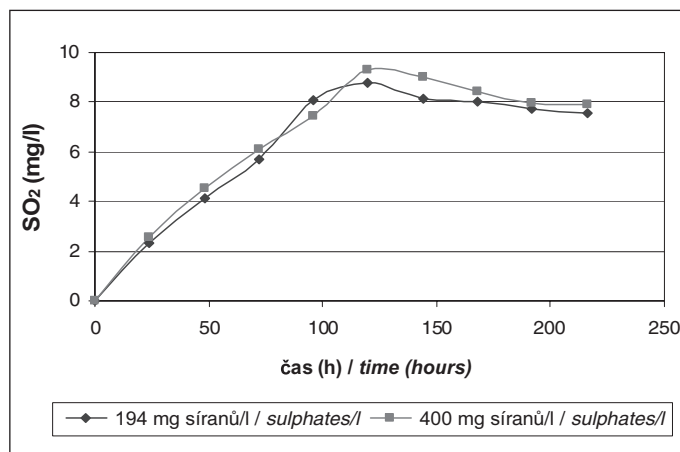
3.3.1 Influence of aeration on the production of sulphur dioxide

The production of sulphur dioxide was monitored for two different concentrations of oxygen in wort (3.5 and 7.4 mg/l). In fig. 4 it is shown that higher aeration of wort tends to higher attenuation and lower concentration of sulphur dioxide in beer.

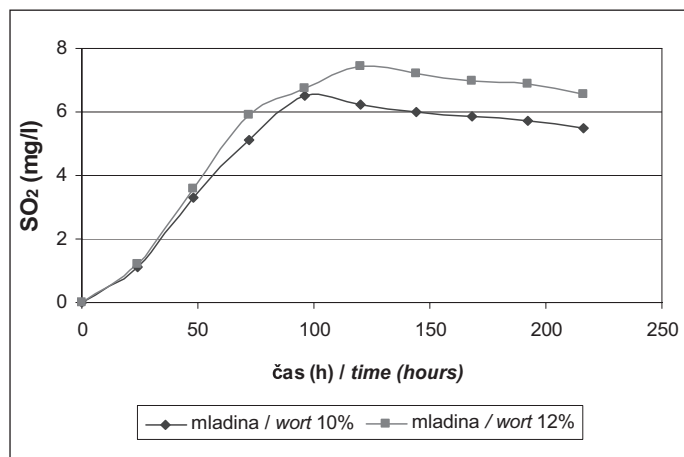
The abundance of oxygen in wort tends to higher amount of yeast and higher intensity of its growth, which increases the claim on sulphur amino acids and prevents the accumulation of sulphur dioxide in the medium (beer). The absence of oxygen tends to lower attenuation and to a longer lag-phase. Results are identical with those published by Vernerová et al. [6].

3.3.2 Influence of pitching rate on the production of sulphur dioxide

The influence of two different pitching rates, 3.1 and 6.2 g yeast/l



Obr. 6 / Fig. 6 Tvorba oxidu siřičitého při kvašení pro různé koncentrace síranů v mladině / The production of sulphur dioxide during the fermentation for different concentrations of sulphates in wort



Obr. 7 / Fig. 7 Tvorba oxidu siřičitého při kvašení mladiny s různou původní koncentrací mladiny / Production of sulphur dioxide during the fermentation of worts with different original gravities

zřejmé, že vyšší zákvasná dávka způsobuje vyšší prokvašení, ale nemá zásadní vliv na koncentraci oxidu siřičitého v mladém pivu. Koncentrace oxidu siřičitého je pouze mírně vyšší pro zákvasnou dávku 6,2 g kvasnic/l, než pro zákvasnou dávku 3,1 g kvasnic/l.

Vernerová a spol. [6] zjistili, že zvýšená zákvasná dávka způsobuje mírně vyšší tvorbu oxidu siřičitého. K obdobným výsledkům dospěli také Uchida a Ono [8] a Nordlöv [9]. Podle Kanedy [10] ale tvorba SO_2 s vyšší zákvasnou dávkou klesá.

3.3.3 Vliv koncentrace síranů v mladině na tvorbu oxidu siřičitého

Byla provedena dvě kvašení s různou koncentrací síranových iontů (194 a 400 mg/l) v mladině. Výsledky jsou zobrazeny na obr. 6.

Na základě získaných výsledků lze říci, že vyšší koncentrace síranových iontů v mladině vede k mírnému navýšení koncentrace oxidu siřičitého v mladém pivu, a rovněž k mírnému snížení zdánlivého prokvašení. Vyšší tvorbu oxidu siřičitého při vyšší koncentraci síranů v mladině zjistil rovněž Narziss [11].

3.3.4 Vliv původní koncentrace extraktu mladiny na tvorbu oxidu siřičitého

Byla provedena dvě pokusná kvašení na světlé mladině s původní koncentrací extraktu 10 % a 12 %. Z výsledků na obr. 7 je patrné, že vyšší původní koncentrace extraktu mladiny vede k vyšší koncentraci oxidu siřičitého v mladém pivu. Ke stejným výsledkům došli rovněž Van Haecht a spol. [12] a Angelino a spol. [13].

3.3.5 Vliv teploty kvašení a tlaku při kvašení na tvorbu oxidu siřičitého

Byl sledován vliv teploty kvašení a tlaku při kvašení na tvorbu oxidu siřičitého u kmene č. 95. Kvašení probíhalo v CKT tancích.

Tvorba oxidu siřičitého byla sledována při 8–10 °C a 12–14 °C a při aplikaci tlaku ihned po zakvašení CKT. Přetlak byl držen na hladině 0,27 MPa až do konce kvašení.

Z obr. 8 je zřejmé, že vyšší teplota kvašení vedla k rychlejší tvorbě a zvýšení maximální hladiny oxidu siřičitého. V závěru kvašení ovšem docházelo při vyšší teplotě kvašení k rychlejšímu poklesu koncentrace oxidu siřičitého vlivem vyššího strhávání oxidem uhličitým. Obdobné výsledky získala také Basařová a kol. [5, 7]. Podle Kanedy a spol. [10] se naproti tomu tvorba SO_2 snižuje s rostoucí teplotou kvašení. Uchida a Ono [8] se domnívají, že vliv teploty může být odlišný v závislosti na kmenu a fyziologickém stavu kvasnic.

Aplikace tlaku od počátku kvašení inhibuje růst kvasnic, zpomaluje a snižuje prokvašení, což se projevuje rychlejší tvorbou oxidu siřičitého a zvýšením jeho maximální koncentrace [8].

3.4 Úbytek oxidu siřičitého během skladování

Byl studován úbytek oxidu siřičitého během skladování u dvou vzorků čerstvých piv (A a B), ve kterých byly určeny počáteční koncentrace celkového oxidu siřičitého. Počáteční koncentrace byly 2,5 mg SO_2 /l u vzorku A a 14,5 mg SO_2 /l u vzorku B.

Část lahví byla otevřena, hrdlový prostor byl vyplněn vzduchem, tím se zvýšil obsah vzduchu v lahvi, a lahve byly opět korunkovačkou uzavřeny. Část byla skladována v chladu (2 °C) a část při laboratorní teplotě (23 °C). Vznikly tak čtyři kombinace lahví:

1. bez vzduchu, v teple (23 °C)

(15 and 30 mil. cells/ml) on the production of sulphur dioxide during brewing fermentation of aired wort was monitored. Results are summarized in fig. 5. Higher pitching rate causes higher attenuation, but there is not a significant influence on the concentration of sulphur dioxide in new beer. The concentration of sulphur dioxide is only slightly higher for pitching rate 6.2 g yeast/l than for 3.1 g yeast/l.

Vernerová et al. [6] found out that higher pitching rate can cause slightly higher production of sulphur dioxide. Same results were obtained by Uchida and Ono [8] and Nordlöv [9]. According to Kaneda [10] the production of sulphur dioxide is increasing in the proportion to the rising pitching rate.

3.3.3 Influence of sulphates in wort on the production of sulphur dioxide

Two testing fermentations were carried out on worts with different concentrations of sulphated ions. The results are shown in fig. 6.

Higher concentration of sulphated ions tends to slight increasing of concentration of sulphur dioxide in new beer and also to slight decreasing of the apparent attenuation. Higher production of sulphur dioxide caused by the concentration of sulphated ions in wort obtained also Narziss [11].

3.3.4 Influence of original wort gravity on the production of sulphur dioxide

Two testing fermentations were carried out on 10% and 12% wort. From results in the fig. 7 follows that higher original wort gravity tends to higher concentration of sulphur dioxide in new beer. Same results were measured also by Van Haecht et al. [12] and Angelino et al. [13].

3.3.5 Influence of fermentation temperature and pressure on the production of sulphur dioxide

Using the yeast strain no. 95 the influence of fermentation temperature and pressure on the production of sulphur dioxide was monitored. The fermentations were held in CKT tanks.

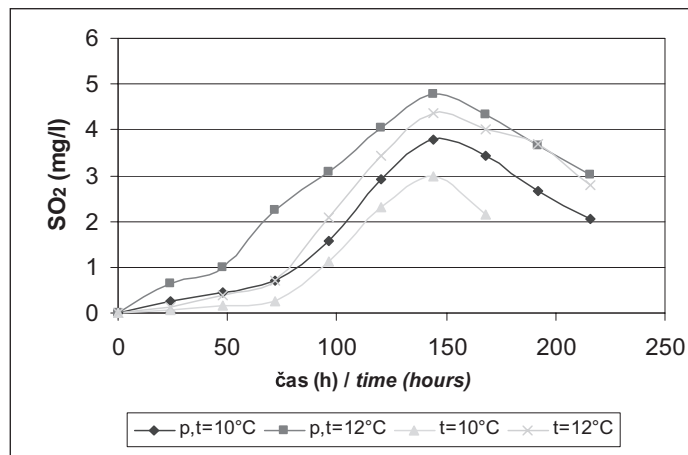
The production of sulphur dioxide was monitored at 8–10 °C and 12–14 °C and also by the application of pressure after pitching in CKT. The excess pressure was at 0,27 MPa till the end of fermentation.

In the fig. 8 it is shown that higher temperature tended to a quicker production of sulphur dioxide and also to the increasing its maximum level. At higher temperature a quicker decline of the concentration of sulphur dioxide occurred because of a higher stripping by carbon dioxide. The same results were also measured by Basařová et al. [5, 7]. According to Kaneda et al. [10] the concentration of sulphur dioxide decreases with the increasing of fermentation temperature. Uchida and Ono [8] judge that the influence of temperature can depend on yeast strain and its physiological conditions.

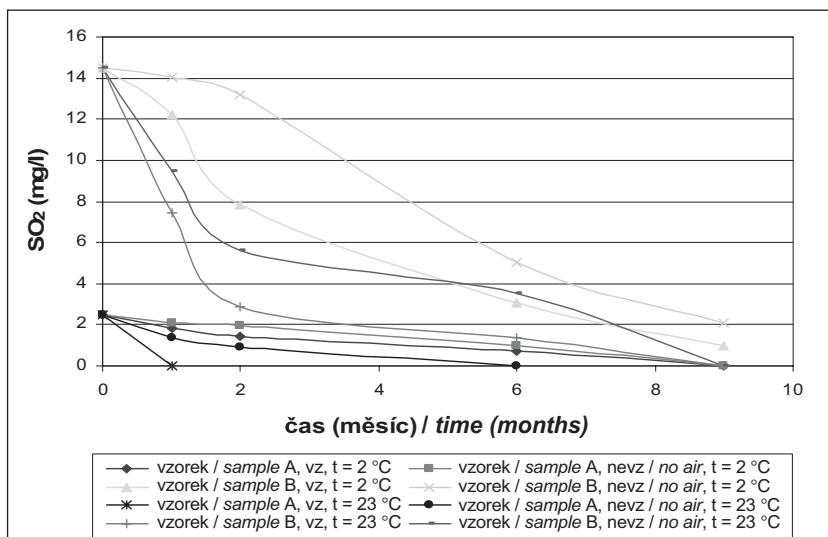
The application of pressure from the beginning of fermentation inhibits growth of yeasts, decelerates and diminishes the attenuation, which accelerates the production of sulphur dioxide and tends to the increasing its maximum concentration [28].

3.4 Decreasing of sulphur dioxide during the storing

Decreasing of sulphur dioxide during the storage was studied in two groups of fresh beer samples (A and B) in which the original con-



Obr. 8 / Fig. 8 Vliv aplikace tlaku a teploty na tvorbu oxidu siřičitého při různých teplotách kvašení / Influence of pressure and temperature on the production of sulphur dioxide at different temperatures of fermentation



Obr. 9 / Fig. 9 Vliv míry provzdušnění a teploty skladování na úbytek oxidu siřičitého během skladování vzorků – porovnání vzorků A a B / Influence of aeration and storing temperature on decreasing of total sulphur dioxide during storage of samples – comparison of samples A and B

2. bez vzduchu, v chladu (2 °C)
3. se vzduchem, v teple (23 °C)
4. se vzduchem, v chladu (2 °C).

Dále byl stanoven obsah celkového oxidu siřičitého v každé skupině lahví po 1, 2, 6 a 9 měsících od počátku skladování. Úbytek oxidu siřičitého je zobrazen na obr. 9. Po 6 a 9 měsících byly u každé skupiny lahví stanoveny také vybrané karbonylové látky.

Z obrázku je patrné, že při nízkých teplotách (2 °C) a při nízkých koncentracích SO₂ je pokles jeho obsahu celkem rovnoměrný, zatímco při vyšších teplotách (23 °C) dochází již na počátku skladování k jeho náhlému poklesu.

Rychlost poklesu závisí také na obsahu kyslíku v pivu. U nevzdušněných piv skladovaných při 2 °C klesá koncentrace oxidu siřičitého velmi nepatrně, o něco vyšší pokles byl pozorován u piv

centrations of sulphur dioxide were detected. Original concentrations were 2.5 mg SO₂/l in sample A and 14.5 mg SO₂/l in sample B.

Some bottles were opened, aerated and closed again. Part of bottles was stored in cold (2 °C) and rest at laboratory temperature (23 °C). Four groups occurred:

1. without air, warm (23 °C)
2. without air, cold (2 °C)
3. with air, warm (23 °C)
4. with air, cold (2 °C).

Further the content of total sulphur dioxide was detected in every group after 1, 2, 6 and 9 months. Decreases of sulphur dioxide are shown in fig. 9. Further carbonyl compounds were detected in each group after 6 and 9 months.

In the picture above it is shown that the decrease of the content of sulphur dioxide is uniform at low temperature (2 °C), while it is decreasing rapidly at warmer temperature (23 °C). The speed of decreasing depends also on the content of oxygen in the beer. In the group of non-aired beers stored at 2 °C the concentration of sulphur dioxide decreased very little, higher decreasing occurred in the group of beers which were aired and stored at 2 °C. The concentrations of sulphur

dioxide decreased rapidly in aired and non-aired beers stored at 23 °C.

Data which are mentioned above are according those published in the literature [14, 15].

Measured values of carbonyl compounds (tab. 1) were statistically treated by S-Plus program. The results of samples stored at 23 °C are statistically higher than in those beers stored at 2 °C for 2-methylpropanal, t-2-butanal, furfuraldehyde, octanal and benzaldehyde. The results in 9 months aged beers were statistically higher than in 6 months samples for 2-methylpropanal a hexanal. The concentrations of heptanal, octanal, benzaldehyde and fenylacetaldehyde were statistically higher in aired samples than in non-aired samples.

3.5 Influence of sulphur dioxide on the improvement of oxidative and old flavour of beer

Beers with different additive of sulphur dioxide were aged by ther-

Tab. 1 Karbonylové látky v pivu po 3 a 6 měsících skladování (koncentrace jsou uvedeny v µg/l) Vzorek A bylo pivo o počáteční koncentraci 2,5 mg SO₂/l a vzorek B o koncentraci 14,5 mg SO₂/l / Carbonyl compounds in beer after 3 and 6 months of storage (concentrations are shown in µg/l)

| Vzorek / Sample | Teplota / Temperature (°C) | Vzdušnění / Aeration | 2-Mepropanal | 3-Me-butan-2-on | 2-Me-butanal | 3-Me-butanal | t-2-butanal | Hexanal | Furfuraldehyde | Heptanal | Octanal | Benzaldehyde | t-2-octenal | Fenylacetaldehyde | t-2-nonenal |
|-----------------|----------------------------|----------------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-------------|---------|----------------|----------|---------|--------------|-------------|-------------------|-------------|
| A | 23 | ne | 17 | 148 | 22 | 82 | 157 | 10 | 144 | 66 | 89 | 9 | 19 | 16 | <1 |
| B | 23 | ne | 10 | 107 | 38 | 76 | 105 | 15 | 251 | 66 | 37 | 4 | 11 | 21 | <1 |
| A | 23 | ano | 19 | 379 | 40 | 658 | 207 | 14 | 232 | 105 | 226 | 26 | 28 | 354 | <1 |
| B | 23 | ano | 15 | 378 | 57 | 694 | 181 | 21 | 348 | 143 | 222 | 22 | 32 | 183 | <1 |
| A | 2 | ne | 5 | 135 | 17 | 84 | 123 | 14 | 113 | 52 | 11 | 2 | 19 | 23 | <1 |
| B | 2 | ne | 5 | 109 | 41 | 77 | 100 | 18 | 72 | 43 | 30 | 1 | 18 | 14 | <1 |
| A | 2 | ano | 6 | 407 | 44 | 653 | 188 | 15 | 170 | 62 | 111 | 10 | 3 | 216 | <1 |
| B | 2 | ano | 6 | 314 | 40 | 679 | 175 | 20 | 176 | 45 | 170 | 20 | 24 | 114 | <1 |
| A | 23 | ne | 61 | 231 | 42 | 253 | 134 | 39 | 286 | 64 | 106 | 12 | 21 | 166 | <1 |
| A | 23 | ano | 79 | 250 | 62 | 3055 | 177 | 37 | 310 | 149 | 186 | 34 | 25 | 218 | <1 |
| B | 23 | ne | 68 | 361 | 31 | 237 | 94 | 48 | 261 | 37 | 118 | 17 | 28 | 106 | <1 |
| B | 23 | ano | 60 | 355 | 22 | 1890 | 130 | 37 | 273 | 146 | 187 | 43 | 40 | 406 | <1 |
| A | 2 | ano | 31 | 137 | 19 | 256 | 272 | 42 | 67 | 81 | 62 | 11 | 23 | 139 | <1 |
| A | 2 | ne | 38 | 415 | 21 | 2206 | 308 | 45 | 102 | 88 | 116 | 21 | 76 | 156 | <1 |
| B | 2 | ano | 50 | 319 | 22 | 204 | 336 | 45 | 101 | 98 | 92 | 5 | 19 | 216 | <1 |
| B | 2 | ne | 42 | 447 | 19 | 2291 | 296 | 61 | 120 | 93 | 100 | 17 | 33 | 252 | <1 |

Tab. 2 Výsledky degustace tepelně šokovaných piv s přidavkem siřičitanů (vzorky C1, C2 a C3 o koncentracích 3,2; 8,2 a 18,2 mg SO₂/l a D1, D2 a D3 o koncentracích 6,1; 11,1 a 21,1 mg SO₂/l, vzorky C1 a D1 obsahují pouze přirozený SO₂, do ostatních vzorků bylo přidáno příslušné množství SO₂ v podobě siřičitanů) / *Results of the tasting of thermal shocked beers with the addition of sulphites (samples C1, C2 and C3 with concentrations 3.2; 8.2 and 18.2 mg SO₂/l, respectively and D1, D2 and D3 with concentrations 6.1; 11.1 and 21.1 mg SO₂/l, respectively, samples C1 and D1 contained only natural SO₂, into the rest of samples SO₂ was added in the form of sulphites)*

| | Oxidační/pasterační chuť / Oxidate flavour | | | Stará chuť / Stale flavour | | | Celkový subjektivní dojem / Overall impression | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---|-----|-----|-------------------------------|-----|-----|---|-----|-----|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Vzorek / Sample D | | | Vzorek / Sample C | | | Vzorek / Sample D | | | Vzorek / Sample C | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | | | | | | |
| Průměr známek Average value | 3,3 | 3,0 | 2,4 | 4,2 | 3,7 | 3,3 | 2,9 | 2,8 | 1,5 | 4,0 | 3,7 | 3,0 | 7,8 | 7,3 | 7,3 | 8,8 | 8,4 | 8,0 |

vzdušněných, skladovaných při 2 °C. U piv vzdušněných i nevzdušněných, skladovaných při 23 °C, koncentrace oxidu siřičitého prudce klesá.

Uvedené poznatky odpovídají údajům publikovaným v literatuře [14, 15].

Naměřené hodnoty karbonylových látek (tab. 1) byly statisticky zpracovány programem S-Plus. Bylo zjištěno, že výsledky u vzorků skladovaných při 23 °C jsou statisticky významně vyšší než u vzorků skladovaných při 2 °C pro 2-methylpropanal, t-2-butenal, furfuraldehyd, oktanal a benzaldehyd. U vzorků o stáří 9 měsíců byly statisticky významně vyšší výsledky než u šestiměsíčních vzorků pro 2-methylpropanal a hexanal. Koncentrace heptanal, oktanal, benzaldehydu a fenylacetaldehydu byly statisticky významně vyšší u vzdušněných vzorků než u vzorků nevzdušněných.

3.5 Vliv oxidu siřičitého na zlepšení oxidační a staré chuti piva

Piva s různým přidavkem oxidu siřičitého byla uměle „stařena“ formou tepelných šoků, a následně senzorycky vyhodnocena. Malé tepelné šokování spočívá v zahřátí piva při 45 °C po dobu 144 hodin.

Pro pokus byly použity vzorky piva (se stejným datem minimální trvanlivosti) C a D, od každé značky tři půllitrové lahve. V těchto pivech byla stanovena koncentrace oxidu siřičitého. Vzorek C obsahoval 3,2 mg SO₂/l, zatímco vzorek D obsahoval 6,1 mg SO₂/l. Dále bylo přidáno 0; 2,5 a 7,5 mg oxidu siřičitého v podobě Na₂SO₃. Pivo bylo nejprve otevřeno, do hrdlového prostoru byl poté fouknut vzduch a dále se přidalo určené množství SO₂ v podobě Na₂SO₃. Vznikly tak vzorky: C1, C2 a C3 o koncentracích 3,2; 8,2 a 18,2 mg SO₂/l a D1, D2 a D3 o koncentracích 6,1; 11,1 a 21,1 mg SO₂/l. Tyto vzorky byly dále podrobeny tepelnému šokování a „stařené“ vzorky byly dále degustacně vyhodnoceny.

Při degustačním hodnocení byla hodnocena intenzita oxidační/pasterační chuti, staré chuti a celkový subjektivní dojem. Intenzity chuti byly hodnoceny na stupnici s rozmezím 1-5, přičemž 1 odpovídá velmi slabá, 2 – slabá, 3 – střední, 4 – silná a 5 – velmi silná. Celkový subjektivní dojem byl hodnocen na stupnici s rozmezím 1–9, přičemž 1 odpovídá nejlepší a 9 – nejhorší. Výsledky degustace jsou shrnuty v tab. 2.

Z výsledků je patrné, že s rostoucím přidavkem oxidu siřičitého klesá intenzita chuti, staré chuti, intenzita oxidační/pasterační chuti a mírně se zlepšuje celkový subjektivní dojem u obou vzorků. Intenzita staré a pasterační/oxidační chuti byla, pro stejné množství SO₂, u vzorku D nižší než u vzorku C. Celkový subjektivní dojem byl nejhorší u vzorku C1 a naopak nejlepší u vzorku D3.

Výsledky tepelného šokování potvrdily funkci oxidu siřičitého jako antioxidantu (pokles oxidační chuti piva s přidavkem oxidu siřičitého) a sloučeniny maskující starou chuť piva (pokles staré chuti piva s přidavkem oxidu siřičitého).

3.6 Stanovení oxidačně-redukční kapacity a celkové koncentrace oxidu siřičitého ve vybraných českých a zahraničních pivech

Byla měřena oxidačně-redukční kapacita s využitím činidla DCI (2,6-dichlorfenolindofenolu) a celkový oxid siřičitý u 10 vzorků českých piv a 8 vzorků piv zahraničních. Byly vypočteny korelace mezi hodnotami oxidačně-redukční kapacity po 0,5; 5 a 30 minutách a koncentrací oxidu siřičitého. Jako statisticky významné se ukázaly být korelace po 5 a 30 minutách (tab. 3). Korelace mezi oxidačně-redukční kapacitou po 0,5 min a koncentrací SO₂ nebyla statisticky významná, pravděpodobně v důsledku vytékání oxidu siřičitého při odplynování vzorku. Z výsledků vyplývá, že variabilitu oxidační kapacity lze vysvětlit ze 24 procent obsahem oxidu siřičitého po 5 min a ze 32 procent po 30 min.

mal shocks and finally tasted. Thermal shock is the storage of beer at 45 °C for 144 hours.

Two samples of beer A and B (three bottles of each sample) were used for this testing (with same date of the shelf-life). Next the concentration of sulphur dioxide was determined in these beers. The concentration in the sample C was 3.2 mg SO₂/l and in the sample D 6.1 mg SO₂/l, than the amount of 0; 2.5 and 7.5 mg of sulphur dioxide was added in the form of Na₂SO₃. At first beers were opened, than aired and finally the amount of SO₂ was added in the form of Na₂SO₃. Samples C1, C2 and C3 with concentrations 3.2; 8.2 and 18.2 mg SO₂/l and samples D1, D2 and D3 with concentrations 6.1; 11.1 and 21.1 mg SO₂/l, respectively, were created. After that samples were thermally shocked and „aged“ and finally tasted in the taste panel.

During the tasting the intensity of oxidative flavour, stale flavour and total subjective effect were rated. Intensity of flavour was rated on the degree scale with the interval 1–5, the meaning is: 1 – very low, 2 – low, 3 – medium, 4 – high a 5 – very high. For overall impression the scale with 9 intervals was used, 1 is the best and 9 – the worst. Results of tasting are summarized in tab. 2.

From results it is clear that with the increasing of the additive of sulphur dioxide decrease its stale and oxidative flavour and the overall impression of both samples slightly improve. The intensity of stale and oxidative flavour in beers with same additive of SO₂ was lower in sample D than in sample C. The overall impression in sample C1 was the worst and the best in D3 sample.

The results of thermal shocked beers confirm the role of sulphur dioxide as the antioxidant and the compound which mask stale flavour of beer.

3.6 Determination of redox capacity and the concentration of total sulphur dioxide in chosen Czech and foreign beers

In 10 Czech beers and 8 foreign beers redox capacities and concentrations of total sulphur dioxide were measured. Correlations among values of redox capacities after 0.5; 5 and 30 minutes and concentrations of sulphur dioxide were calculated. The correlations after 5 and 30 minutes were statistically important (tab. 3). The correlation between redox capacity after 0.5 min. and concentration of sulphur dioxide was not statistically important, probably because of volatilization of sulphur dioxide during the degassing of sample. It is visual from the results that the variability of redox capacity after 5 (30) minutes can be explain from 24 (32) % by the content of sulphur dioxide

4 CONCLUSION

1. In the group of observed yeast strains it was found out that yeast strains no. 2 and 96 tended to a higher development of sulphur dioxide, strains no. 7 and 95 produced less amount of sulphur dioxide.

Tab. 3 Statistické vyhodnocení korelace oxidačně-redukční kapacity a SO₂ / *Statistical evaluation of the correlation between redox capacity and SO₂*

| Čas / Time (min) | R | r ² (%) | P |
|------------------|------|--------------------|-------|
| 0,5 | 0,41 | 17 | 0,155 |
| 5 | 0,49 | 24 | 0,047 |
| 30 | 0,57 | 32 | 0,018 |

4 ZÁVĚR

1. Potvrdilo se, že ze sledovaných kmenů nejvyšší tvorba oxidu siřičitého během kvašení byla nalezena u kmene č. 2 a 96, nižší hladiny byly zaznamenány u kmenů č. 7 a 95 a nejnižší u kmene č. 55.
2. U kmene č. 95 se potvrdilo, že maximum tvorby oxidu siřičitého roste s teplotou kvašení, ale současně nastává intenzivnější pokles jeho hladiny v závěru kvašení. Aplikace tlaku od začátku kvašení vede k rychlejší tvorbě oxidu siřičitého a zároveň ke zvýšení jeho koncentrace.
3. Zvýšená dávka násadních kvasnic a koncentrace síranů v mladině se u kmene č. 96 neprojevily ve zvýšení tvorby oxidu siřičitého během kvašení.
4. U kmene č. 96 byla prokázána zvýšená tvorba oxidu siřičitého během kvašení v souvislosti se zvyšující se koncentrací mladiny a s klesajícím provzdušněním zakvašované mladiny.
5. Úbytek oxidu siřičitého během skladování byl nejvyšší ve vzdušeném pivu skladovaném při 23 °C a naopak nejnižší v nevzdušeném pivu skladovaném při 2 °C.
6. Potvrdil se vliv přídavku oxidu siřičitého na potlačení oxidační a staré chuti piva.
7. Byla zjištěna statisticky významná korelace mezi oxidačněredukční kapacitou po 5, 30 minutách a koncentrací celkového oxidu siřičitého.

Poděkování

Tato práce je součástí řešení Výzkumného záměru VÚPS, a. s., „Výzkum sladařských a pivovarských surovin a technologií“ – MSM6019369701, Výzkumného záměru MSM 6046/37305 a výzkumného centra 1M0570 VŠCHT Praha, podporovaného MŠMT ČR.
Lektoroval Doc. Ing. Jan Šavel, CSc.
Do redakce došlo 17. 7. 2007

Literatura / Literature

1. Basařová, G., a kol.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha, 1993.
2. Analytica EBC, EBC Analysis Committee-Nürberg: Carl, Getränke-Fachverl, 5th edition, 1998.
3. Dvořák, J., a kol.: Determination of total sulphur dioxide in beer samples by flow-through chronopotentiometry J. Inst. Brew. **112**, 2006, 308–313.
4. Brautechnische Analysenmethoden, MEBAK, Freising-Weihenstephan, 4th edition, 2002, method 7.15.1., 104–106.
5. Basařová, G. a kol.: Vliv kmene kvasnic, teploty, tlaku a způsobu zakvašování na tvorbu oxidu siřičitého při pivovarském kvašení. Kvasny Prum. **43**, 1997, 164–167.
6. Vernerová, J., Mikyška, A., Basařová, G.: Tvorba oxidu siřičitého pivovarskými kvasinkami. Kvasny Prum. **29**, 1983, 121–124.
7. Basařová, G., Bláha, M., Veselý, P.: Vliv kmene kvasnic na senzorickou stabilitu piva. Kvasny Prum. **49**, 2003, 3–10.
8. Uchida, M., Ono, M.: Technological approach to improve beer foam stability: analysis of the effect of brewing processes on beer

xide and the lowest production of sulphur dioxide was measured after using the yeast strain no. 55.

2. By using yeast strain no. 95 it was shown that a maximum of sulphur dioxide formation increased with the temperature. Using of pressure from the beginning of the fermentation caused quicker production of sulphur dioxide and also its higher concentration.
3. During the fermentation the yeast strain no. 96 did not produce more sulphur dioxide than normal in connection with higher pitching rate and the concentration of sulphates in wort.
4. In connection with the increasing of original wort gravity and with the decreasing of wort aeration was verified that the yeast strain no. 96 produced more sulphur dioxide during the fermentation than normal.
5. Decrease of sulphur dioxide during the storage was the highest in aerated beer stored at 23 °C and the lowest in non-aerated beer stored at 2 °C.
6. By the addition of sulphur dioxide it was verified its impact on decreasing oxidative and stale cardboard flavour of beer.
7. Statistically relevant correlation was found between the redox capacity after 5 (30) minutes and the concentration of total sulphur dioxide.

Acknowledgements

This study was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Research Concept MSM6019369701, MSM 6046137305 and research Centre 1M0570).

flavor stability by the electron spin resonance method. J. Am. Soc. Brew. Chem. **58**, 2000, 8–17.

9. Nordlöv, H.: Formation of sulfur dioxide during fermentation. Proc. 20th Congr. Eur. Brew. Conv., Helsinki, 1985, 291–298.
10. Kaneda, H. a kol.: Role of the fermentation conditions on flavor stability of beer. J. Ferm. Bioeng. **72**, 1991, 26–30.
11. Narziss, L.: Beer flavour and the influence of raw materials and technological factors on it. Brauwelt Int. **45**, 1995, 2286–2296.
12. Van Haecht, J. L., Dufour, J. P.: The production of sulfur compounds by brewing yeasts: a review. Cerevisia **20**, 1995, 51–64.
13. Angelino, S. A. G. F., Mocking-Bode, H. C. M. a Vermeire, H. A.: Activity of sulphate-metabolizing enzymes and sulphur dioxide formation during main fermentation. Monatsschr. Brauwiss. **42**, 1989, 476–481.
14. Ilett, D. a Simpson, W.J.: Loss of sulphur dioxide during storage of bottled and canned beers. Food Res. Int. **28**, 1995, 393–396.
15. Škach, J. a kol.: Senzorická stabilita piva. Výzkumná práce. VÚPS, a. s., Pivovarský ústav Praha, Praha 1992.
16. Škach, J. a kol.: Senzorická stabilita piva. Výzkumná práce. VÚPS, a. s., Pivovarský ústav Praha, Praha 1993.

V roce 2008 se chmel v ČR bude pěstovat na 5345 ha

Podle údajů Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského je celková plocha chmele v ČR v roce 2007 odhadována na 5345 ha což znamená pokles od stavu roku 2007 o 44 ha. Nosnou odrůdou zůstává Žatecký poloraný červeňák s 88,8 % plochy.

V porovnání s předcházejícím rokem vzrostla opět plocha odrůdy Premiant, ale také plocha odrůdy Sládek. Bohužel opět se snížila celková plocha odrůdy Žatecký poloraný červeňák, a to především v Žatecké chmelařské oblasti (–70 ha) a v Ústěcké chmelařské oblasti (–35 ha). Pozitivní zprávou je, že se zvýšila plocha nově vysázeného chmele, a že se dá předpokládat další zvyšování nově vysazovaných ploch v následujících letech.

V Tršické chmelařské oblasti došlo dokonce k mírnému nárůstu plochy díky výsazům odrůdy Žatecký poloraný červeňák.

Od roku 2000 klesla plocha chmele v ČR o 750 ha, pokles plochy odrůdy Žatecký poloraný červeňák však dosáhl za stejné období již 1165 ha. V Žatecké a Ústěcké chmelařské oblasti jsou plochy této odrůdy na historickém minimu.

K poklesu ploch chmele došlo od poloviny devadesátých let převážně díky špatné ekonomice pěstování chmele, kterou ovlivnila především nízká pěstitelská cena a zvyšující se náklady na pěstování. Dalšími důležitými faktory jsou věková struktura porostů chmele v ČR a dlouhodobě negativní vývoj kurzu české měny vůči Euru.

Situace v produkci Žateckého poloraného



Svaz pěstitelů chmele České republiky

červeňáku tak po nízkých sklizních 2006 a 2007 dospěla do kritického stavu, kdy nemohla být zcela naplněna poptávka pivovarů po této jemné aromatické odrůdě chmele. Čeští pěstitelé také díky nižší produkci neměli volná množství chmele, a nemohli tedy profitovat z vysokých cen na volném trhu. I přes to se podařilo ve spolupráci s obchodními firmami dosáhnout navýšení i pro smluvně zajištěný chmel. Díky tomuto cenovému posunu nedošlo v roce 2008 k radikálnějšímu propadu ploch a čeští pěstitelé se budou snažit zajistit ze sklizně roku 2008 dostatečné množství chmele pro své dlouholeté tradiční partnery.