

## Studium vlivu koloidní stabilizace piva sorbentem Polyclar 10 na polyfenolové antioxianty a senzoričnou stabilitu piva

### *Study of an influence of beer colloidal stabilization by sorbent Polyclar 10 on polyphenolic antioxidants and sensorial stability of beer*

ALEXANDR MIKYŠKA, DANUŠA HAŠKOVÁ, JÍŘÍ ČULÍK, MARIE JURKOVÁ, PAVEL ČEJKA

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Lípová 15, 120 44 Praha 2

Research Institute of Brewing and Malting, Plc., Lípová 15, 120 44 Praha 2

e-mail: mikyska@beerresearch.cz

**Mikyška, A. – Hašková, D. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P.: Studium vlivu koloidní stabilizace piva sorbentem Polyclar 10 na polyfenolové antioxianty a senzoričnou stabilitu piva.** Kvasny Prum. 56, 2010, č. 3, s. 167–174.

Vliv koloidní stabilizace piva sorbentem polyfenolů na skladbu polyfenolů, antioxičnou aktivitu piva, obsah karbonylů a senzoričnou kvalitu čerstvého a tři měsíce skladovaného piva byl studován v pokusných várkách (200 l) chmelených buď aromatickým, nebo hořkým chmelem. Část piva z každé várky byla stabilizována dvěma rozdílnými dávkami sorbentu Polyclar 10. Stabilizací byl snížen obsah jak složitějších polyfenolů, tak některých volných fenolových látek, flavanolů a derivátů p-hydroxybenzoové kyseliny. Po odstranění 15 až 40 % polyfenolových látek ze sledovaných skupin polyfenolů stabilizací byl zjištěn pokles antioxičnou aktivity ESR-DPPH pouze o 5–15 %. Antiradikálová kapacita ESR – lag time se stabilizací prakticky nezměnila. V čerstvých stabilizovaných pivech byl stanoven mírně nižší obsah většiny markerů karbonylů a zároveň nižší obsah oxidu siřičitého oproti pivu srovnávacímu. Po třech měsících skladování piva nebyl zjištěn markantní vliv stabilizace Polyclarem 10 na obsah karbonylů tvořených z aminokyselin a vyšších alkoholů. Vliv stabilizace na obsah karbonylů tvořených z mastných kyselin byl zjevný. Nárůst obsahu těchto karbonylů v průběhu skladování byl vyšší u stabilizovaných piv, a to zejména u várky chmelené aromatickým chmelem. Senzoricky byla stabilizovaná piva po skladování hodnocena markantně lépe nežli pivo srovnávací, měla nižší intenzitu staré respektive oxidační chuti a vůně. Koloidní stabilizací sorbentem polyfenolů Polyclarem AT jsou odstraněny především nežádoucí polyfenolové sloučeniny. Tato technologie má příznivý efekt z hlediska zpomalení jak tvorby koloidního zákalu, tak i senzoričného stárnutí piva.

**Mikyška, A. – Hašková, D. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P.: Study of an influence of beer colloidal stabilization by sorbent Polyclar 10 on polyphenolic antioxidants and sensorial stability of beer.** Kvasny Prum. 56, 2010, No. 3, p. 167–174.

The influence of beer colloidal stability by polyphenols sorbent treatment on polyphenols composition, antioxidant activity of beer, carbonyls content and sensorial quality of fresh and three months stored beer was studied in trial brews (200 L) hopped either by aroma or bitter hops. A part of each brew was stabilized by the use of two different doses of sorbent Polyclar 10. Content of both complex polyphenols and content of some free phenol compounds, flavanoids and p-hydroxybenzoic acid derivatives decreased by stabilizing action. It was found out ESR-DPPH antioxidant activity decrease only in 5–15 % after 15–40 % polyphenols of investigated groups removing by stabilization. Antiradical activity ESR-lag time had not practically changed by stabilizing action. Slightly lower content most of carbonyl markers as well as lower sulfur dioxide content was determined in fresh stabilized beers compare with non stabilized beer. After three months of beer storage there was not distinct influence of stabilization by Polyclar 10 on content of carbonyls originated from amino acids and higher alcohols found out. An influence of stabilization on carbonyls originated from fatty acids was apparent. These carbonyls content increase in the course of beer storage was higher for stabilized beers, especially for brew hopped by aroma hops. After beer storage stabilized beers were sensorial evaluated to be better compared to non stabilized beers, they had low age and oxidized off flavors intensity. Especially undesirable polyphenol compounds have been removed by beer colloidal stabilizing by polyphenols sorbent Polyclar 10. This technology has positive effect from the point of view both colloidal haze formation and beer flavor staling deceleration.

**Mikyška, A. – Hašková, D. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P.: Studium des Einflusses der kolloidalen Stabilisation von Bier mittels Sorbent Polyclar 10 auf Polyphenol Antioxidante und sensorische Stabilität von Bier.** Kvasny Prum. 56, 2010, Nr. 3, S. 167–174.

Auf den durch bitter- oder aromatischen Hopfen gehopften Versuchsuden (200 L) wurde Einfluss der kolloidalen Stabilisation durch Polyphenol Sorbent auf die Polyphenolen Zusammensetzung, Gehalt an Carbonyl und auf die sensorische Qualität des frischen und drei Monate alten Bieres studiert. Ein Teil jedes Sudes wurde durch die Zugabe von zwei verschiedenen Dosen Sorbent Polyclar 10 stabilisiert. Durch die Stabilisation wurde sowohl der Gehalt an zusammengesetzte Polyphenole als auch an einige freie Phenolstoffe, Flavane und an Derivate der p-Hydroxybenzoesäure erniedrigt. Nach der Beseitigung von 15–40% Polyphenolstoffen durch Stabilisation aus den verfolgten Polyphenolgruppen wurde eine Senkung der Antioxidationsaktivität ESR-DPPH nur im Bereich 5–15% festgestellt. Durch die Stabilisation hat sich die Antiradikalkapazität ESR – lag time nicht geändert. Im frischen stabilisierten Bier wurde ein bisschen niedrigerer Gehalt an Mehrzahl Carbonyl Markers auch gegen das Vergleichsbier niedrigerer Gehalt an SO<sub>2</sub> gefunden. Nach drei Monaten wurde kein wesentlicher Einfluss der Polyclar 10 Stabilization auf den Gehalt an aus den Aminosäuren und höheren Alkoholen entstehenden Carbonyls festgestellt, jedoch der Einfluss der Stabilisation auf den Gehalt an Carbonyls aus Fettsäuren war deutlich, der Anstieg dieses Gehalts wurde beim stabilisierten Bier und insbesondere beim mit dem aromatischen Hopfen gehopften Sud wesentlich höher. Nach der Lagerung wurde das stabilisierte Bier sensorisch besser als das Vergleichsbier ausgewertet, die Intensität des alten, bzw. oxidativen Geschmacks und Dufts war schwächer. Durch die Kolloidstabilisation mit Polyphenolsorbent Polyclar 10 wurden vor allen die ungewünschten Polyphenolverbindungen beseitigt. Aus dem Punkt einer Verlangsamung der kolloidal Trübungsbildung und Bierveralterung hat diese Technologie einen günstigen Effekt.

**Klíčová slova:** polyfenoly, antioxičny, karbonyly, koloidní stabilizace, senzoričká stabilita, pivo

**Keywords:** polyphenols, antioxidants, carbonyls, colloidal stabilization, sensorial stability, beer

## 1 ÚVOD

Koloidní stabilizace piva sorbenty polyfenolových látek je účinným postupem zejména pro zajištění dlouhé garance čirosti piv. Polyfenolové látky, cukerné reduktory a v průběhu kvašení tvořený oxid siřičitý jsou důležitými přirozenými antioxičny v pivovarství. Polyfenolové látky sladů a chmele ovlivňují antioxičnou aktivitu a tím i po-

## 1 INTRODUCTION

Colloidal stabilization of beer by polyphenols sorbent treatment is effectual procedure especially for long term beer clarity guarantee insurance. Polyphenol compounds, sugar reductions and in the course of fermentation formed sulphur dioxide are important natural antioxidants in beer brewing. Polyphenol compounds of malt and hops af-

tenciálně senzoričnou stabilitu piva [1–7]. Antiradikálová aktivita piva závisí kromě jiného na množství i skladbě polyfenolů. Některé polyfenoly mohou působit jako prooxidanty [8]. Karbonylové látky staré chuti jsou tvořeny v řetězci radikálových reakcí, kde vznikají působením aktivních forem kyslíku na některé látky, jako jsou mastné kyseliny, aminokyseliny, vyšší alkoholy a cukry [9]. Někteří autoři usuzují, že zpomalení nežádoucích procesů v průběhu skladování piva je ovlivněno zejména oxidem siričným tvořeným při kvašení a význam polyfenolických a cukerných antioxi-dantů je podstatně menší [10–14]. Jiní autoři našli jasnou závislost mezi antioxi-dačními vlastnostmi piva a meziproductů jeho výroby a tvorbou karbonylů staré chuti i senzoričnou stabilitou piva [2, 3, 4, 6, 15–18]. Cílem této studie bylo přinést více poznatků o dopadu ošetření piva sorbentem polyfenolů na obsah volných fenolických látek, antioxi-dační aktivitu a tvorbu karbonylových látek ve skladovaném pivu.

## 2 MATERIÁL A METODY

### 2.1 Pokusné várky

Byly uvařeny dvě pokusné várky o objemu 240 l horké mladiny 12% celoskladového světlého ležáku. Sladina byla připravena dvourmutovým dekokčním postupem. Množství polyfenolů v pivu bylo nastaveno chmelením buď peletami odrůdy Žatecký červenák, typické vysokým obsahem polyfenolů, nebo peletami nové hořké odrůdy Rubin. Mladiny byly po odkalení a zchlazení provzdušněny na shodný obsah rozpuštěného kyslíku (7 mg/l) a zakvašeny lisovanými kvasnicemi kmene č. 95 sbírky VÚPS. Teplota hlavního kvašení byla udržována do 12 °C. Dokvašování při teplotě 0 až 2 °C trvalo 40 dní. Část piva byla při filtraci stabilizována komerčním sorbentem polyfenolů Polyclar 10. Byly aplikovány dvě dávky, 15 g/hl (běžná dávka) a 30 g/hl (maximální provozní dávka). Piva byla stočena do lahví na plniči s dvoj-itou evakuací pod ochrannou atmosférou oxidu uhličitého. Stočené pivo bylo pasterováno na úroveň přibližně 20 PU. Piva byla sklado-vána v přepravech v laboratoři při teplotě 20 °C, tedy za podmínek blízkých podmínkám v obchodní síti.

### 2.2 Analýzy

Analýzy sladin, mladiny a piv včetně celkových polyfenolů a flavanoidů byly provedeny podle Analytiky EBC [19], anthokyanogeny byly stanoveny podle Pivovarsko-sladařské analytiky [20]. Obsah trans a cis stereoisomerů iso-alfa hořkých kyselin byl stanoven HPLC metodou vypracovanou na VÚPS. Obsah volných fenolických látek (gallová kyselina, protocatechová kyselina, gentisová kyselina, p-hydroxybenzoová kyselina, 4-hydroxyfenyloctová kyselina, katechin, chlorogenová kyselina, vanilová kyselina, kávová kyselina, syringová kyselina, epikatechin, vanilin, p-kumarová kyselina, umbelliferon, skopoletin, ferulová kyselina, sinapová kyselina, rutin, naringin, myricetin, 4-hydroxykumarin, daidzein, kvercetin, genistein, apigenin) byl stanoven metodou HPLC s CoulArray detektorem [21]. Antioxi-dační (antiradikálová) aktivita byla měřena dvěma metodami. Antiradikálová aktivita s použitím volného radikálu DPPH (1,1-dipirydyl-2-picryl hydrazyl) byla stanovena postupem ESR-DPPH popsaným dříve [22, 23]. Stanovení endogenní antiradikálové aktivity (ESR lag-time) bylo provedeno původní metodou popsanou Ushidou [24, 25]. Karbonylové látky (17 markerů – acetaldehyd, aceton 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, benzaldehyd, phenylacetaldehyd, (E)-2-nonenal, (E)-2-oktenal, (E)-butenal, hexanal, heptanal, oktanal, 2-furfural, 3-methyl butan-2-on) byly stanoveny metodou GC/MS [26, 27]. Senzorická analýza čerstvého piva a 3 měsíce skladovaného piva byla provedena panelem osmi trénovaných hodnotitelů VÚPS [28]. Doznívání hořkosti bylo sledováno testem popsaným Čepičkou [29]. S ohledem na potřebu simultánního vyhodnocení celého souboru polyfenolových látek stejně jako karbonylových látek byla použita multifaktoriální metoda analýzy dat, klastrová analýza.

## 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 3.1 Polyfenolové látky

Sladiny obou várek byly srovnatelné kvality, v mladinách obsah polyfenolových látek i hodnota antioxi-dační aktivity reflektovala rozdíl v kvalitě použitého chmele (tab. 1). Mladina chmelená Žateckým červenákem (várka 2) měla obsah celkových polyfenolů a anthokyanogenů o cca 38 % vyšší, obsah flavanoidů byl vyšší o 18 %. Byl tak naplněn záměr připravit pro studium vlivu koloidní stabilizace várky s rozdílnou hladinou a skladbou polyfenolů. Rozdíl v pivech byl ještě výraznější (tab. 2). Pivo 2 obsahovalo o 17 % více volných fenolových

fect antioxidant activity and thus potentially sensorial stability of beer [1–7]. Antiradical activity of beer depends among other things on polyphenols quantity and composition. Some polyphenols can act as prooxidants [8]. Stale flavor carbonyl compounds are formed in radical reactions chain, where they are formed by the action of reactive oxygen species on some compounds as are fatty acids, amino acids, higher alcohols and saccharides [9]. Some authors conclude deceleration of undesirable processes running in the course of beer storage is influenced mainly by sulfur dioxide forming by fermentation and, the importance of polyphenols and sugar antioxidants is considerably smaller [10–14]. Other authors found out clear dependences between antioxidant properties of beer and its production intermediates and stale flavor carbonyl compounds as well as beer sensorial stability [2, 3, 4, 6, 15–18]. The aim of this study was to bring more knowledge about the impact of beer treatment by polyphenols sorbent on free phenol compounds, antioxidant activity and carbonyl compounds formation in stored beer.

## 2 MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Trial brews

There were two experimental 200 l brews of 12 °P all malt pale lager beers prepared. Wort was prepared by the use of two mash decoction procedure. Polyphenols content in beer was adjusted by hopping either by hop pellets of Saaz variety characteristic by high polyphenols content or by hop pellets of new bitter variety Rubin. Break was separated in a clarifying tank; cooled worts were aerated on the same level of dissolved oxygen (7 mg/l) and inoculated by pressed yeast, strain No 95 of yeast collection of RIBM. Maturation period was 40 days by the temperature 0–2 °C. Part of beer was stabilized during filtration by the use of commercial polyphenols sorbent Polyclar 10. Two dosages were applied, 15 g/hl (common dosage) and 30 g/hl (maximal dosage) and bottled by the use of a filling machine with double-evacuation and pre-filling of bottles by carbon dioxide. Bottled beer was pasteurized at the level approx. 20 PU. Beers were stored in laboratory in crates at a temperature of 20 °C, thus conditions are near to ones in trade network.

### 2.2 Analyses

Sweet worts, hopped worts and beers analyses including total polyphenols and flavanoids were made according to Analytica EBC [19], anthocyanogens were determined according to Pivovarsko-sladařská analytika [20], Content of trans and cis stereoisomers of iso-alfa bitter acids was determined by HPLC method developed at RIBM. Content of free phenolic substances (Gallic acid, Protocatechuic acid, Gentisic acid, Esculin, p-Hydroxybenzoic acid, 4-Hydroxyphenylacetic acid Catechin, Chlorogenic acid, Vanillic acid, Caffeic acid, Syringic acid, Epicatechin, Vanillin, Coumaric acid, Umbelliferon, Scopoletin, Ferulic acid, Sinapic acid, Rutin, Naringin, Myricetin, 4-Hydroxycoumarin, Daidzein, Quercetin, Genistein, Apigenin, Formononetin, Biochanin A) were determinate by HPLC with CoulArray detector [21]. Antioxidant (antiradical) activities were measured by the use of two methods. Antiradical activity by the use of free radical DPPH (1,1-dipirydyl-2-picryl hydrazyl) was accessed according to ESR-DPPH procedure previously described [22, 23]. Determination of endogenous antiradical capacity beers (ESR lag-time) proceeded according to original method described by Ushida [24, 25]. Carbonyl compounds (17 markers – acetaldehyde, aceton 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, benzaldehyde, phenylacetaldehyde, (E)-2-nonenal, (E)-2-oktenal, (E)-butenal, hexanal, heptanal, oktanal, 2-furfural, 3-methyl butan-2-on) were determinate by GC/MS method [26, 27]. Sensorial analysis of fresh beers and 3 months stored beers was carried out by the panel of eight trained tasters of RIBM [28]. Bitter taste decay was monitored by a test described by Čepička [29]. With respect to a need of simultaneous evaluation of whole set of polyphenol substances as well as carbonyl compounds multivariate data analyze method, cluster analysis was applied.

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1 Polyphenols

Quality of sweet worts of both brews was comparable. Polyphenols as well as antioxidant activity values of hopped wort deflexed different in the quality of hops used (Tab. 1). Wort hopped by Saaz hops (brew 2) had total polyphenols as well as anthocyanogens content higher in approx. 38 %, flavanoids content was in 18 % higher. Thus

Tab. 1 Výsledky rozboru sladiny a mladiny / Results of wort and hopped wort analyses

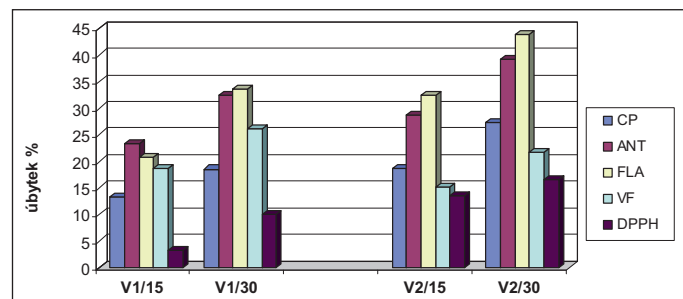
Várka / Brew		1-Rubín	2-SAAZ
<b>Sladina / Sweet wort</b>			
Extrakt / Extract	%	11.24	11.16
Celkové polyfenoly / Total polyphenols	mg/l	157	147
ESR – DPPH	%	52.6	52.9
<b>Mladina / Hopped wort</b>			
Extrakt / Extract	%	12.33	12.3
Prokvašení dosažitelné / Final attenuation	%	74.5	76.3
Hořkost / Bitterness	j.h/BU	56	50
Celkové polyfenoly / Total polyphenols	mg/l	197	272
Anthokyanogeny / Anthocyanogens	mg/l	41.3	56.6
Flavanoidy / Flavanoids	mg/l	26.8	31.5
ESR – DPPH	%	65.1	75.3

látek v sumě 25 látek stanovených HPLC-CoulArray. Výrazně vyšší byl obsah u jednotlivých flavanoidů (o 95 %) a derivátů p-hydroxybenzoové kyseliny (o 29 %).

Stabilizaci pív sorbentem polyfenolů Polyclar 10 byla odstraněna v závislosti na dávce sorbentu a variantě chmelení značná část celkových polyfenolů (13–27 %), anthokyanogenů (23–39 %), flavanoidů (20–44 %) i nezanedbatelná část volných fenolových látek (14–22 %). Pro pivo 2 s vyšším obsahem polyfenolů byly úbytky výraznější (tab. 2, obr. 1, 2). Z volných polyfenolů byl stabilizačním zásahem snížen obsah zejména flavanoidů katechinu a epikatechinu a rovněž p-hydroxybenzoové kyseliny (tab. 3). Sorbent Polyclar AT na bázi polyvinylpyrrolidonu váže polyfenoly přes vodíkové můstky, vazba probíhá na volných vazebných místech zákalotvorných polyfenolů. Přednostně jsou sorbovány polymerní flavanoidy s více vazebnými místy v molekule, vazba může probíhat i u polyfenolů s jedním vazebným místem, tedy polyfenolů nezákalotvorných [30]. Z dendrogramu na obrázku 2 je jasně patrný jak rozdíl v obsahu volných fenolových látek v pivu 1 a pivu 2, tak nezanedbatelné snížení obsahu těchto látek po aplikaci sorbentu. U barvy a hořkých látek byl zaznamenán malý úbytek po stabilizaci piva, který je pro tento zásah běžným jevem.

Obr. 1 Úbytek polyfenolových látek a antioxidační aktivity po stabilizaci piva / Fig. 1 Polyphenol compounds and antioxidant activity decrease after beer stabilization

CP – celkové polyfenoly / Total polyphenols, ANT – anthokyanogeny / anthocyanogens, FLA – flavanoidy / flavanoids, VF – volné fenolové látky / free phenolic compounds, DPPH – antioxidační aktivita / antioxidant activity ESR-DPPH, V1 várka / brew 1, V2 – várka / brew 2, 15 – Polyclar AT 15 g/hl, 30 – Polyclar AT 30 g/hl



there was intention to prepare brews different in the level and composition of polyphenols for the study of colloidal stabilization influence fulfilled. The different was more distinctive in beers (Tab. 2). Content of free phenolic compounds in beer 2 was in 17 % higher by mean of assumed content of 25 compounds accessed by HPLC Coul Array. Content of particular flavanoids (in 95 %) and p-hydroxybenzoic acid (in 29 %) was markedly higher in brew 2.

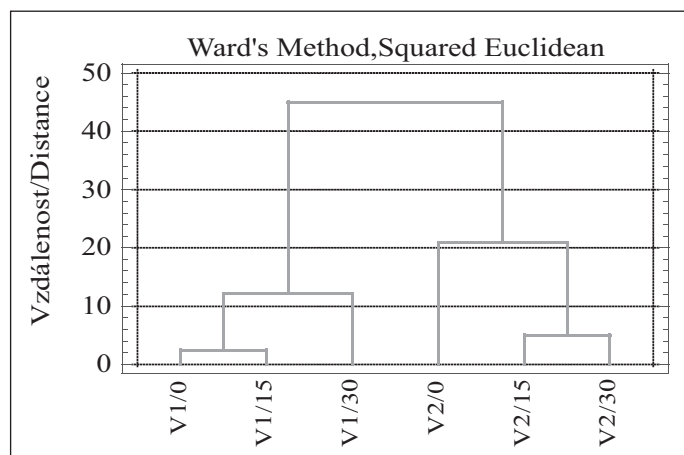
Considerable part of total polyphenols (13–27 %), anthocyanogens (23–39 %), flavanoids (20–44 %) as well as indispensable part of free phenolic compounds (14–22 %) was removed by polyphenols sorbent Polyclar 10 beer stabilization in dependence of sorbent dose and hopping variant. Decreases of beer 2 with higher polyphenols content were more distinctive (Tab. 2, Fig. 1, 2). From the point of view of free phenolic compounds, especially content of flavanoids catechin and epicatechin likewise p-hydroxybenzoic acid content was decreased by stabilization (Table 3). Sorbent Polyclar 10 based on polyvinylpyrrolidone binds polyphenols by hydrogen bridges, bond proceeds on free bonding places of haze active polyphenols. Polymeric flavanoids containing more bonding places in their molecule are bonded preferentially; bondage can proceed also with polyphenols containing only one bonding place, non-haze active proteins [30]. Clear evident both dif-

Tab. 2 Výsledky rozboru pív / Results of beer analyses

Várka / Brew		1 – Rubín			2 – ŽPČ/Saaz		
Stabilizace / Stabilizing Polyclar 10 (g/hl)		0	15	30	0	15	30
Extrakt původní / Original extract	%	12.27	12.23	12.23	12.22	12.16	12.24
Prokvašení zdánlivé / Apparent attenuation	%	78.6	78.9	78.7	78.8	78.9	78.8
Prokvašení skutečné / Real attenuation	%	65.0	65.2	65.1	65.1	65.2	65.1
Pěnivost / Foam stability NIBEM	Σ	280	279	284	258	259	256
Barva / Colour	CU	8.5	8.6	8.1	8.6	8.2	8.2
pH		4.39	4.42	4.41	4.39	4.41	4.40
Oxid uhličitý / Carbon dioxide	%	0.45	0.46	0.46	0.45	0.42	0.45
Oxid siřičitý / Sulphur dioxide	mg/l	7.2	6.8	7.0	8.0	7.4	7.0
Celkové polyfenoly / Total polyphenols	mg/l	151	131	123	224	182	163
Anthokyanogeny / Anthocyanogens	mg/l	33.4	25.6	22.6	55.0	39.2	33.5
Flavanoidy / Flavanoids	mg/l	14.0	11.1	9.3	27.2	18.4	15.3
Volné fenolické látky / Free phenolic compounds	mg/l	22.5	18.3	19.3	26.3	22.3	20.6
Hořkost / Bitterness	j.h/BU						
čersvé pivo / fresh beer		34.0	32.0	32.0	31.0	31.0	30.0
po 3 měsících / after 3 months		30.8	30.1	29.9	28.8	30.5	29.5
úbytek / decrease	%	9.4	6.0	6.4	7.2	1.5	1.5
ESR – DPPH	%						
čersvé pivo / fresh beer		60	58	54	66	57	55
po 3 měsících / after 3 months		51	49	45	64	52	43
úbytek / decrease	%	15.0	15.5	16.7	3.0	8.8	21.8
ESR – lag time	min.						
čersvé pivo / fresh beer		15	15	14	15	14	10
po 3 měsících / after 3 months		5	4	1	4	0	2
úbytek / decrease	%	69.7	74.8	90.8	73.9	98.6	77.1



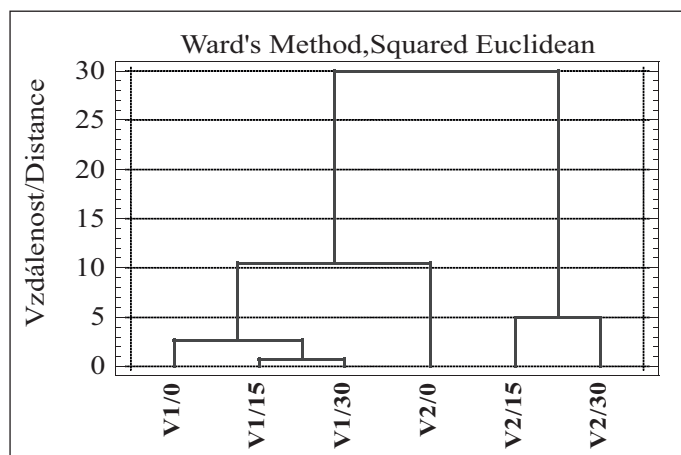
Obr. 2 Vliv stabilizace piva Polyclarem 10 na obsah volných fenolových látek / Fig. 2 Influence of beer stabilization by Polyclar 10 on free phenolic compounds content



### 3.2 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita ESR-DPPH várek závisela na chmelení, várka 2 měla hodnotu o 17 % vyšší, rozdíl v pivu byl 10 %. Výše diskutované rozdíly v obsahu jednotlivých sledovaných skupin polyfenolových látek byly podstatně vyšší (tab. 2, obr. 1). Antioxidační, antiradikálové vlastnosti projevují v podmínkách výroby piva jen některé polyfenoly, rozdílná je i specifická antiradikálová kapacita jednotlivých látek. Po odstranění polyfenolových látek stabilizací v rozmezí od 20 % do 40 % byl zaznamenán pokles antioxidační aktivity ESR-DPPH pouze od 5 % do 15 % (obr. 1). Hodnota antiradikálové kapacity ESR – lag time ve vztahu ke stabilizaci měla jen velmi slabý trend k poklesu. Hodnota lag time je závislá na obsahu oxidu siřičitého v pivu, u stabilizovaných piv byl patrný slabý trend k nižšímu obsahu celkového (volného i vázaného) oxidu siřičitého (tab. 2). Na základě dosažených výsledků je možno konstatovat, že koloidní stabilizaci piva sorbentem polyfenolů Polyclar 10 jsou odstraněny především zákalotvorné polyfenoly s malým antioxidačním efektem.

Obr. 3 Vliv stabilizace piva Polyclarem 10 na obsah karbonylů A v čerstvém pivu / Fig. 3 Influence of beer stabilization by Polyclar 10 on carbonyls A content in fresh beer



ferences in free phenolic compounds between beer 1, beer 2 and indispensable decrease of free phenolic compounds after stabilization are seen from dendrogram in Figure 2. Only small decrease of beer color and bitter substances after beer stabilization was detected, which is common phenomenon for this treatment.

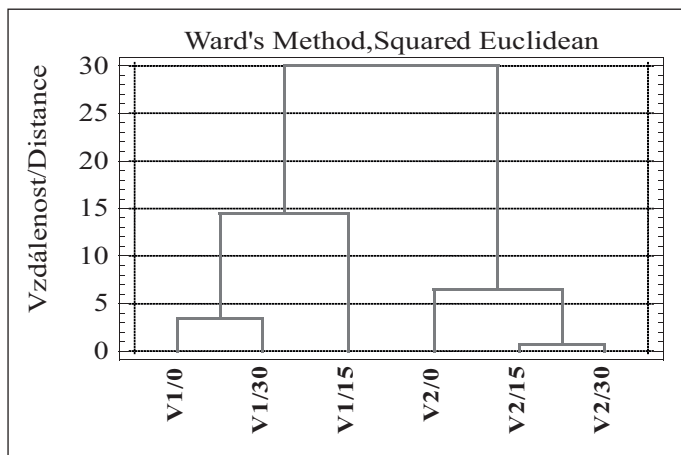
### 3.2 Antioxidant activity

Antioxidant activity ESR-DPPH of brews depended on hopping, value in hopped wort of brew 2 was higher in 17 %, difference was 10 % in beer. Differences in the content of particular groups of polyphenols studied discussed above were substantial higher (Tab. 2, Fig. 1). Only some polyphenols shows antioxidant, antiradical features in beer brewing, conditions, also specific antiradical capacity of individual compounds is different. After polyphenol substances removing in interval from 20 % to 40 %, there was found out ESR-DPPH antioxidant activity decrease only from 5 % to 15 % (Fig. 1). Only weak trend to decrease of antiradical capacity ESR lag time in de-

Tab. 3 Volné fenolové látky v pivu / Free phenolic compounds in beer (mg/l)

Várka / Brew	1 – Rubín			2 – ŽPČ/Saaz		
Stabilizace / Stabilizing Polyclar 10 (g/hl)	0	15	30	0	15	30
gallová kyselina / Gallic acid	0.27	0.27	0.25	0.29	0.29	0.27
protokatechová kyselina / Protocatechuic acid	0.17	0.13	0.14	0.22	0.23	0.23
gentisová kyselina / Gentisic acid	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01
p-hydroxybenzoová kyselina / p-Hydroxybenzoic acid	1.51	1.09	0.84	2.23	1.65	1.09
4-hydroxyfenyloctová kyselina / 4-Hydroxyphenylacetic acid	0.23	0.33	0.35	0.21	0.24	0.23
catechin / Catechin	2.82	1.89	1.36	5.60	3.88	2.72
chlorogenová kyselina / Chlorogenic acid	0.51	0.51	0.49	1.25	1.38	1.42
vanilová kyselina / Vanillic acid	0.60	0.61	0.59	0.61	0.64	0.63
kávoová kyselina / Caffeic acid	0.14	0.17	0.17	0.13	0.17	0.19
syringová kyselina / Syringic acid	0.20	0.22	0.22	0.20	0.21	0.22
epikatechin / Epicatechin	0.96	0.74	0.63	1.77	1.51	1.20
vanilin / Vanillin	0.19	0.18	0.18	0.17	0.17	0.17
p-kumarová kyselina / Coumaric acid	0.64	0.59	0.56	0.69	0.66	0.64
umbelliferon / Umbelliferon	0.40	0.38	0.36	0.65	0.44	0.34
skopoletin / Scopoletin	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
ferulová kyselina / Ferulic acid	3.74	3.74	3.52	3.56	3.76	3.70
sinapová kyselina / Sinapic acid	0.80	0.75	0.75	0.72	0.78	0.79
rutin / Rutin	0.65	0.65	0.12	0.65	0.68	0.68
naringin / Naringin	1.00	0.93	0.31	3.40	2.38	2.70
myricetin / Myricetin	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
4-hydroxykumarin / 4-Hydroxycoumarin	7.56	4.98	5.64	3.86	3.15	3.24
daidzein / Daidzein	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03
kvercetin / Quercetin	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
genistein / Genistein	0.01	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
apigenin / Apigenin	0.01	0.02	0.04	0.02	0.02	0.04
suma / total	22.45	18.25	16.57	26.28	22.30	20.56

Obr. 4 Vliv stabilizace piva Polyclarem 10 na obsah karbonylů B v čerstvém pivu / Fig. 4 Influence of beer stabilization by Polyclar 10 on carbonyls B content in fresh beer



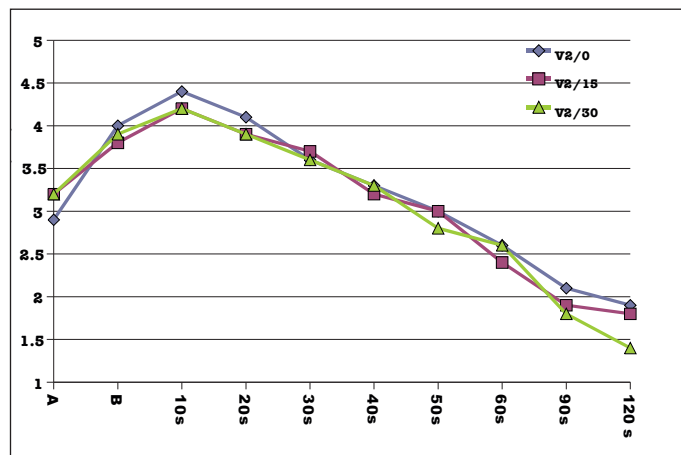
Po 3 měsících skladování byl úbytek antioxidační aktivity ESR-DPPH stabilizovaných piv z várky 1 srovnatelný s nestabilizovaným pivem. U várky 2 s vyšším obsahem polyfenolů rostla míra úbytku hodnoty ESR-DPPH s intenzitou stabilizace, dávkou Polyclaru 10. Hodnota lag-time ve skladovaných pivech nebyla stabilizací ovlivněna. Úbytek hořkých látek v průběhu skladování byl vyšší u nestabilizovaných piv. Stabilizovaná piva měla srovnatelný poměr stereoisomerů isohumulonů s pivy nestabilizovanými. Trans-isohumulony jsou méně stabilní a ve větší míře ubývají při skladování piva [31].

### 3.3 Senzoricky aktivní látky

Karbonylové látky, které jsou přítomny v pivu a dále se tvoří nebo uvolňují ze senzoryckých neaktivních komplexů s oxidem siřičitým v průběhu skladování piva, jsou pokládány za hlavní příčinu senzoryckého stárnutí piva. Pro hodnocení surovinových a technologických vlivů na tvorbu karbonylů a senzorycké stárnutí jsme rozdělili stanovované markery karbonylů staré chuti podle příslušných prekurzorů. Do skupiny Karbonyly A – „karbonyly z aminokyselin a vyšších alkoholů“ pak byly zařazeny 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, benzaldehyd a fenylacetaldehyd. Prekurzorem acetaldehydu je rovněž aminokyselina – glycin. Do skupiny Karbonyly B – „karbonyly z mastných kyselin“ byly zařazeny (E)2-nonenal, (E)2-oktenal, (E)2-butenal, hexanal, heptanal a oktanal. Prekurzorem 2-furfuralu jsou sacharidy, tento marker je indikátorem tepelné zátěže. 3-methylbutan-2-on je považován za silný obecný indikátor stárnutí piva.

Z tabelovaných výsledků analýzy karbonylů v čerstvém pivu je patrný trend ke snížení obsahu většiny karbonylů skupiny A i skupiny B a rovněž tak 3-methylbutan-2-onu, acetaldehydu a acetonu po stabilizaci piva (tab. 3). Možným vysvětlením je sorpce komplexů karbo-

Obr. 5 Vliv stabilizace piva sorbentem polyfenolů na doznívání hořkosti piva / Fig. 5 Influence of beer stabilization by polyphenols sorbent on bitter taste decay of beer



pendence of stabilization was found out. Antiradical capacity ESR lag time value is dependent on sulfur dioxide content in beer, there was apparent a weak trend to lower total sulfur dioxide content (free and bonded) in stabilized beers (Tab. 2). It is possible to claim on the base on reached results, first of all haze active polyphenols low in antioxidant effect are removed by beer colloidal stabilization by the use of polyphenols sorbent Polyclar 10.

After three months storage antioxidant activity ESR-DPPH decrease of brew 1stabilized beers was comparable with the decrease of non stabilized beer. Rate of the decrease of ESR-DPPH value increased with stabilizing intensity, Polyclar 10 dose in the case of brew 2 higher in polyphenols content. Lag time value of stored beers was not influenced by stabilization. Bitter substances decrease of non stabilized beers was higher in the course of beer storage. Stabilized and non stabilized beers had comparable ratio of trans / cis stereo isomers of isohumulones. Trans isohumulones a less stable and decreased in larger amount in the course of beer storage [31].

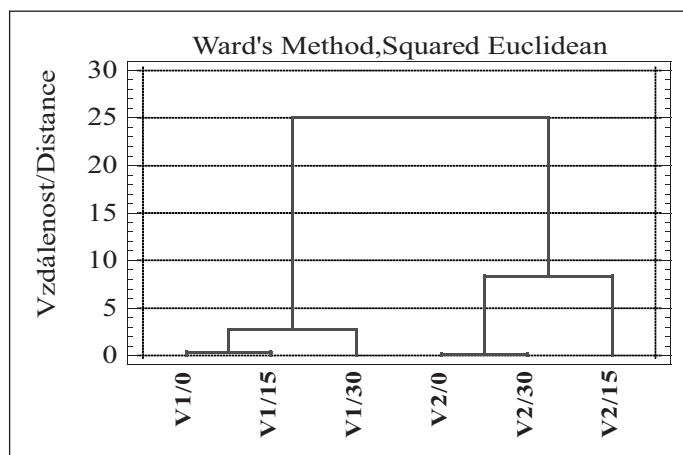
### 3.3 Sensorial active compounds

Carbonyl compounds, that are present in beer and further they are forming or releasing from sensorial non active complexes with sulfur dioxide are considered as main reason of beer sensorial staling. For purpose of raw materials and technological influences on the forming of carbonyls and beer sensorial staling evaluation we divided accessed markers of stale flavor carbonyls according their precursors. 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, benzaldehyde, phenylacetaldehyde were filled into the Carbonyls A – “carbonyls originated from amino acids and higher alcohols”. Also precursor of acetaldehyde is amino acid, glycine. (E)2-nonenal, (E)2-oktenal, (E)2-

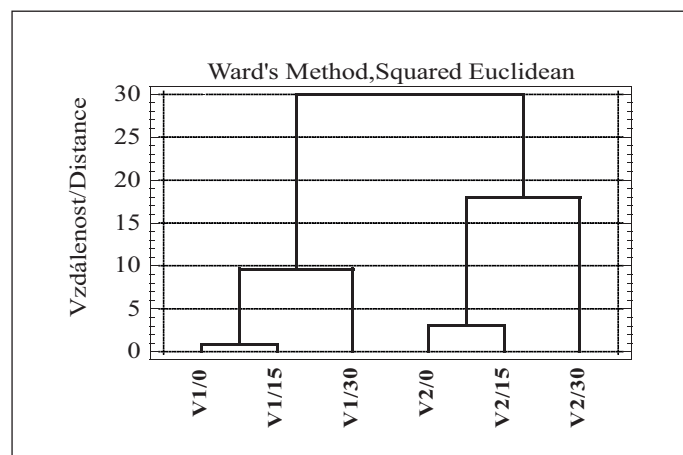
Tab. 4 Karbonyly v čerstvém pivu / Carbonyls in fresh beer (µg/l)

Várka / Brew	1 – Rubín			2 – ŽPČ/Saaz		
	0	15	30	0	15	30
<b>Stabilizace / Stabilizing Polyclar 10 (g/hl)</b>						
Acetaldehyd / Acetaldehyde	4268	3933	3956	4737	3912	3908
Aceton / Acetone	149	137	139	242	194	202
2-Methyl-Propanal	4.6	4.2	4.2	4.4	2.7	2.8
2-Methyl-Butanal	2.3	2.1	2.2	2.0	1.7	1.6
3-Methyl-Butanal	7.0	6.5	6.6	6.1	5.1	4.8
Benzaldehyd / Benzaldehyde	0.9	0.7	0.8	0.6	0.4	0.4
Fenylacetaldehyd / Phenylacetaldehyde	10.8	13.5	10.4	14.5	12.0	17.9
Karbonyly / Carbonyls A	25.7	26.9	24.1	27.6	21.9	27.5
Hexanal	2.7	2.2	3.2	2.7	2.4	2.5
Heptanal	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
Oktanal / Octanal	0.7	1.2	0.4	0.9	0.4	0.5
(E)-2-Butenal	2.8	2.4	2.3	1.8	1.3	1.4
(E)-2-Oktenal	5.7	5.8	4.2	1.2	1.3	1.7
(E)-2-Nonenal	7.3	6.3	4.2	11.3	8.7	8.9
Karbonyly / Carbonyls B	19.3	18.0	14.4	18.1	14.2	15.2
3-Methyl-Butan-2-on	1.3	1.3	1.2	2.8	2.3	2.4
2-Furfural	6.7	7.3	6.4	4.6	1.6	1.7

Obr. 6 Vliv stabilizace piva Polyclarem 10 na obsah karbonylů A v pivu po 3 měsících / Fig. 6 Influence of beer stabilization by Polyclar 10 on carbonyls A content in beer after 3 months



Obr. 7 Vliv stabilizace piva Polyclarem 10 na obsah karbonylů B v pivu po 3 měsících / Fig. 7 Influence of beer stabilization by Polyclar 10 on carbonyls B content in beer after 3 months



nylů s dalšími látkami sorbentem Polyclar 10. Obsah karbonylů A byl stabilizací výrazně ovlivněn pouze u várky 2 (obr. 3). Vliv stabilizace na obsah karbonylů B byl průkazný rovněž pouze u várky 2. Rozdíl mezi várkami byl větší nežli rozdíl mezi nestabilizovaným a stabilizovaným pivem (obr. 4). Senzorické hodnocení neukázalo významné rozdíly mezi srovnávacími a stabilizovanými pivy. U várky 2 se po stabilizaci mírně snížila senzorická hořkost a trpkost, u várky 1 nebyl patrný trend ve vztahu ke stabilizaci (tab. 4). Výsledek trojúhelníkového testu byl v obou várkách neprůkazný. Stabilizací se mírně snížila ana-

butenal, hexanal, heptanal, octanal were filled into the Carbonyls B – “carbonyls originated from fatty acids”. Precursors of 2-furfural are saccharides, this marker is an indicator of heat load. 3-methyl butan-2-on is considered as strong general indicator of beer staling.

Trend to content decrease of major part group A and group B carbonyls as well as decrease of 3-methyl butan-2-on, acetaldehyde and acetone content after beer stabilization is apparent from results in Table III. Sorption of carbonyl complexes with other substances by the action of sorbent Polyclar 10 is possible explanation of this fact.

Tab. 5 Vybrané parametry senzorického hodnocení čerstvých piv / Selected parameters of fresh beer sensorial evaluation

Várka / Brew	1 – Rubín			2 – ŽPČ/Saaz		
	0	15	30	0	15	30
<b>Stabilizace / Stabilizing Polyclar 10 (g/hl)</b>						
říz / sharp	2.9	2.4	2.6	3.1	2.9	2.6
plnost / fullness	3.1	2.8	2.9	2.9	2.9	2.9
hořkost / bitterness	2.9	2.9	3.1	3.1	3.0	2.9
doznívání po 20 s / decay after 20s	3.4	3.3	3.7	3.3	3.1	3.1
trpkost / adstringent	1.7	1.4	1.7	1.6	1.4	1.4
sladkost / sweet	1.3	1.2	1.2	0.9	1.0	0.9
kyselost / harsh	0.8	1.0	1.0	0.7	0.7	0.8
chmelová / hoppy	0.7	0.6	0.4	0.6	0.6	0.8
ovocná-esterová / fruity-esters	1.4	1.1	1.0	1.3	1.3	1.3
<b>celkový dojem / overall impression</b>	<b>3.7</b>	<b>3.8</b>	<b>3.8</b>	<b>3.5</b>	<b>3.6</b>	<b>3.4</b>

Tab. 6 Karbonyly v pivu po 3 měsících / Carbonyls in beer after 3 months (µg/l)

Várka / Brew	1 – Rubín			2 – ŽPČ/Saaz		
	0	15	30	0	15	30
<b>Stabilizace / Stabilizing Polyclar 10 (g/hl)</b>						
Acetaldehyd / Acetaldehyde	3983	3786	3652	3450	3410	3568
Aceton / Acetone	161	165	149	202	206	215
2-Methyl-Propanal	15.4	14.7	14.5	11.0	10.0	11.1
2-Methyl-Butanal	3.1	3.1	3.0	2.4	2.1	2.4
3-Methyl-Butanal	10.4	10.2	9.8	9.0	8.3	8.8
Benzaldehyd / Benzaldehyde	0.8	0.8	0.7	0.9	0.5	0.9
Fenylacetaldehyd / Phenylacetaldehyde	27.4	25.6	20.4	20.6	17.1	19.2
<b>Karbonyly / Carbonyls A</b>	<b>57.1</b>	<b>54.3</b>	<b>48.3</b>	<b>43.9</b>	<b>37.9</b>	<b>42.4</b>
Hexanal	2.7	3.3	3.0	3.9	4.0	4.4
Heptanal	0.5	0.5	0.4	0.5	0.6	0.4
Oktanal / Octanal	1.6	1.7	1.0	1.4	2.1	0.9
(E)-2-Butenal	4.0	4.1	3.8	3.8	3.7	4.0
(E)-2-Oktenal	4.7	4.5	4.0	3.7	3.6	3.8
(E)-2-Nonenal	8.2	7.7	6.5	8.6	8.9	9.9
<b>Karbonyly / Carbonyls B</b>	<b>21.6</b>	<b>21.8</b>	<b>18.7</b>	<b>21.9</b>	<b>22.9</b>	<b>23.4</b>
3-Methyl-Butan-2-on	1.8	1.4	1.6	2.5	2.6	2.7
2-Furfural	83.9	79.6	72.8	44.2	42.5	60.0

Tab. 7 Vybrané parametry senzorického hodnocení pív po 3 měsících / *Selected parameters of beer sensorial evaluation after 3 months*

Várka / <i>Brew</i>	1 – Rubín			2 – ŽPČ/Saaz		
	0	15	30	0	15	30
<b>Stabilizace / <i>Stabilizing Polyclar 10 (g/hl)</i></b>						
říz / <i>sharp</i>	2.8	2.9	2.9	2.7	2.6	2.7
plnost / <i>fullness</i>	2.7	2.7	2.8	2.9	2.9	2.8
hořkost / <i>bitterness</i>	2.5	2.7	2.9	3.0	2.9	2.9
doznívání po 20 s / <i>decay after 20s</i>	2.8	2.9	3.1	2.9	3.2	3.2
trpkost / <i>adstringent</i>	1.7	1.4	1.4	1.2	1.2	1.4
sladkost / <i>sweet</i>	1.3	1.0	1.1	1.1	1.0	0.8
kyselost / <i>harsh</i>	1.3	1.2	1.1	1.0	1.1	1.2
chmelová / <i>hoppy</i>	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.3
ovocná-esterová / <i>fruity-esters</i>	1.4	1.3	1.3	1.1	1.1	1.1
oxidační / <i>oxidized</i>	0.3	0.5	0.5	1.5	0.4	0.3
stará / <i>age</i>	1.6	1.1	1.2	1.2	0.6	0.8
<b>celkový dojem / <i>overall impression</i></b>	<b>5.4</b>	<b>4.9</b>	<b>4.8</b>	<b>5.1</b>	<b>4.6</b>	<b>4.8</b>

lytická hořkost (tab. 2), poměr stereoisomerů iso-alfa hořkých kyselin se nezměnil. Průběh doznívání senzorické hořkosti se po stabilizaci piva nezměnil (obr. 5). Některým polyfenolům je připisována silnější trpkost a drsnější charakter hořkosti [32].

Po třech měsících skladování piva obsah karbonylů A závisel hlavně na várce, variantě chmelení a měl slabý trend k nižším hodnotám u stabilizovaných pív oproti pivu srovnávacímu (tab. 6, obr. 6). U karbonylů B byl rovněž zjištěn rozdíl mezi várkami a byl zřetelný i rozdíl ve vztahu ke stabilizaci piva (obr. 7). Trend u piva 1 a 2 byl přitom opačný, k nižším hodnotám u stabilizovaných pív várky 1 a vyšším hodnotám u várky 2 (tab. 6). Nárůst obsahu karbonylů B v průběhu skladování byl vyšší u stabilizovaných pív, a to zejména u várky 2 chmelené Žateckým červeňákem. Senzorická analýza ukázala rozdíly mezi skladovanými stabilizovanými a nestabilizovanými pivy. Stabilizovaná piva měla lepší skóre v celkovém dojmu a měla nižší intenzitu staré a oxidační chuti a vůně (tab. 7).

## 4 ZÁVĚR

Provedené pokusy prokázaly, že koloidní stabilizací sorbentem polyfenolů Polyclar 10 je snížen jak obsah složitějších polyfenolů, tak i některých volných fenolických látek, flavanoidů a derivátů kyseliny p-hydroxybenzoové. Po odstranění 15–40 % polyfenolových látek sledovaných skupin polyfenolů byl zaznamenán pokles antioxidační aktivity ESR-DPPH pouze o 5–15 %.

Stabilizací byl mírně snížen obsah většiny markerů karbonylových látek v čerstvém pivu. Možným vysvětlením je částečné odstranění komplexů karbonylových látek vázaných s oxidem siřičitým.

Po třech měsících skladování piva nebyl zjištěn markantní vliv stabilizace na změny obsahu karbonylů tvořených z aminokyselin a vyšších alkoholů. Naproti tomu vliv stabilizace na obsah karbonylů tvořených z mastných kyselin byl zjevný. Nárůst obsahu v průběhu tří měsíců skladování byl vyšší u stabilizovaných pív, a to zejména u várky chmelené aromatickým chmelem.

Senzoricky byla stabilizovaná piva po skladování hodnocena markantně lépe nežli pivo srovnávací a měla nižší intenzitu staré i oxidační chuti a vůně. Z výsledků je zřejmé, že stabilizací sorbentem polyfenolů Polyclar 10 jsou odstraněny především nežádoucí polyfenolové sloučeniny. Stabilizace má z hlediska zpomalení senzorického stárnutí piva příznivý efekt.

## Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem 1M0570 „Výzkumné centrum pro studium obsahových látek ječmene a chmele“ Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

*Recenzovaný článek / Reviewed paper*

*Do redakce došlo / Manuscript received: 10. 1. 2010*

*Přijato k publikování / Accepted for publication: 5. 2. 2010*

Content of carbonyls A was markedly influenced by stabilization in brew 2 only (Fig. 3). Also influence of stabilization on carbonyls B content was decisive only in brew 2 (Fig. 4). Sensorial evaluation did not show significant differences between stabilized and non stabilized beers. Sensorial bitterness and astringency of beer from brew 2 slightly decreased after stabilization, not any trend was observed by brew 1 (Tab. 4). Results of triangle test of both brews were unconvincing. Analytical bitterness was slightly decreased by stabilization, ratio of iso-alpha bitter acids stereo isomers was not changed (Tab. 2). The slope of bitter taste decay was not changed after beer stabilization (Fig. 5). Strongly astringency and more rough character of bitter taste have been described to some polyphenols [32].

After three months storage the content of carbonyls A depended mainly on brew, hopping variant, weak trend to lower values of stabilized beers in comparison with non stabilized beers was observed (Tab. 6, Fig. 6). Also in case of carbonyls B difference between brews was determined and the difference relate to beer stabilization was perceptible (Fig. 7). There were found out contradictory trends for brew 1 and brew 2, trend to lower values of stabilized beers of brew 1 and higher values of stabilized beers of brew 2 (Tab. 6). In the course of beer storage carbonyls B content increase was higher in stabilized beers, especially in brew 2 hopped by Saaz hops. Sensorial analyze showed differences between stored stabilized and non stabilized beers. Stabilized ones had better score of overall impression and were lower in age and oxidized flavor intensity (Tab. 6).

## CONCLUSION

Trials carried out proved that content of both complex polyphenols and content of some free phenol compounds, flavanoids and p-hydroxybenzoic acid derivatives decreased by stabilizing action. It was found out ESR-DPPH antioxidant activity decrease only in 5–15 % after 15–40 % polyphenols of investigated groups removing by stabilization.

Content of major part of carbonyl markers present in fresh beer was slightly decreased by polyphenols sorbent Polyclar 10 stabilizing action. Possible explanation is particular removing of complexes of carbonyl compounds bonded with sulfur dioxide.

After three months beer storage markedly influence of stabilization on content of carbonyls formed from amino acids and higher alcohols. On the other hand the influence of stabilization on content of carbonyls formed from fatty acids was apparent. In the course of three months beer storage increase of the content was higher in stabilized beers, especially in the brew hopped by aroma hops.

After beer storage stabilized beers were sensorial evaluated to be better compared to non stabilized beers, they had low age and oxidized off flavors intensity. It is evident from the results, especially undesirable polyphenol compounds have been removed by beer colloidal stabilizing by polyphenols sorbent Polyclar 10. This technology has positive effect from the point of view both colloidal haze formation and beer flavor staling deceleration.

## Acknowledgements

This work was supported by grant MSM 1M0570 „Research Centre of Extract Compounds of Barley and Hops“ of Ministry of Education, Youth and Sports of Czech Republic.



## LITERATURA / REFERENCES

- Boivin, P., Malanda, M., Maillard, M. N., Berset, C., Richard, H., Hughes, M., Richard-Forget, F., Nicolas, J.: Role of natural antioxidants of malt in the organoleptic stability of beer. *Proc. Eur. Brew. Congr., Brussels, IRL Press 1995*, 159–168.
- Dostálek, P., Karabín, M.: Impact of hop polyphenols and antioxidant properties of wort on formation carbonyl compounds during boiling process and storage of beer. *Proc. Eur. Brew. Congr., Venice 2007, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, CD-ROM, 2007*, 923–930.
- Kaneda, H., Kobayashi, N., Furusho, S., Sahara, H., Koshino, S.: Reducing activity and flavor stability of beer. *Technical Quarterly MBAA 32*, 199, 90–94.
- Lermusieau, G., Liégeois, C., Collin, S.: Reducing power of different hop variants. *Cerevisia 26*, 2001, 33–41.
- Maillard, M. N., Berset, C.: Evolution of antioxidant activity during kilning: Role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 1995, 1789–1793.
- Mikyška, A., Hrabák, M., Hašková, D., Šrogl, J.: The role of malt and hop polyphenols in beer quality, flavour and haze stability. *J. Inst. Brew.* **108**, 2002, 78–85.
- Mikyška, A., Hašková, D., Prokeš, J.: Antiradical properties of malt accessed by EPR methods. *Proc. Eur. Brew. Congr., Prague, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, CD-ROM, 2005*, 764–773.
- Irwin, A. J., Barker, R. L., Pipats, P.: The role of copper, oxygen, and polyphenols in beer flavour instability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **49**, 1991, 140–149.
- Wackenbauer, K., Hardt, R.: Radikalreaktionen und die Geschmacksstabilität des Bieres. *Brauwelt 136*, 1996, 1880–1889.
- Andersen, M., Outrop, H., Skibsted, L.: Potential antioxidants in beer assessed by spin trapping. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2000, 3106–3111.
- Back, W., Franz, O., Nakamura, T.: Das Antioxidative Potenzial von Beer. *Brauwelt 141*, 2001, 209–215.
- Franz, O., Back, W.: Stability index – a new approach to measure the flavor stability of beer. *Technical Quarterly MBAA 40*, 2003, 20–24.
- Kautovirta-Noira, A., Virtanen, H., Poyri, S., Lehtinen, P., Nurmi, T., Hartwaal, P., Reinikainen, P., Siirila, J., Home, S.: The increase of antioxidant activity during mashing – does it improve beer flavor stability? *Proc. Eur. Brew. Congr., Prague, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, CD-ROM, 2005*, 709–720.
- Nakamura, T., Franz, O., Back, W.: pH dependence of radical scavenging activity of polyphenols, phenolic acid and sulfite. *Proc. Eur. Brew. Congr., Budapest, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, CD-ROM, 2001*, 612–620.
- Araki, S., Kimura, T., Shimizu, Ch., Furusho, S., Takashio, M., Shintotsuka, K.: Estimation of antioxidative activity and its relationship to beer flavor stability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **57**, 1999, 34–37.
- Liégeois, C., Lermusieau, G., Collin, S.: Measuring antioxidant efficiency of wort, malt and hops against AAPH induced oxidation of an aqueous dispersion of linoleic acid. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2000, 1129–1134.
- Walters, M. T., Heasman, A. P., Hughes, P. S.: Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impact on beer flavor stability. Part 1: Forced-aging. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **55**, 1997, 83–89.
- Walters, M. T., Heasman, A. P., Hughes, P. S.: Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impact on beer flavor stability. Part 2: Extended storage trials. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **55**, 1997, 91–98.
- Analytica EBC, 5<sup>th</sup> edition, European Brewery Convention, Carl-Hans Verlag, Nürnberg, 1998.
- Basařová, G.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha 1994.
- Kellner, V., Jurková, M., Čulík, J., Horák, T., Čejka, P.: Some phenolic compounds in Czech hops and beer of Pilsner type. *Brewing Science, Jan./Feb.*, 2007, 5–10.
- Mikyška, A., Krofta, K., Hašková, D.: Evaluation of antioxidant properties of hop and hop products. *Kvasný Prům.* **52**, 2006, 214–218.
- Mikyška, A., Hašková, D., Prokeš, J.: Antiradical properties of malt accessed by EPR methods. *Proc. Eur. Brew. Congr., Prague, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, CD-ROM, 2005*, 764–773.
- Ushida, M., Ono, M.: Improvement of oxidative flavor stability of beer – Role of OH-radicals in beer oxidation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **54**, 1996, 198–204.
- Ushida, M., Suga, S., Ono, M.: Improvement of oxidative flavor stability of beer – Rapid prediction method for beer flavor stability by electron spin resonance spectroscopy. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **54**, 1996, 205–211.
- Čejka, P., Kellner, V., Čulík, J., Horák, T., Jurková, M.: Modern methods of sensorial analysis results evaluation. *Kvasný Prům.* **48**, 2002, 114–119.
- Ojala, M., Kotiaho, T., Siirila, J., Sihvonen, M.-L.: Analysis of aldehydes and ketones from beer as PFBOA derivatives. *Talanta 41*, 1994, 1297–1309.
- Čulík, J., Jurková, M., Horák, T., Kellner, V.: Zkušenosti s využitím nových technik plynové chromatografie při analýze senzoričny aktivních látek. Část II. Stanovení karbonylových sloučenin pomocí derivatizace nebo detekce detektorem GC-ECD a GC-MS. Využití HPLC při stanovení 2-furfuralu. *Kvasný Prům.* **44**, 1998, 7–11.
- Čepička, J., Strejček, F., Pokorný, J.: Entwicklung der sensorischen Bittere während der Verkostung von Bier. *Monatsschrift für Brauwissenschaft 45*, 1992, 329–331.
- Siebert, K. J., Lynn, P. Y.: Mechanism of beer colloidal stabilization. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **55**, 1997, 73–78.
- Hughes, P. S., Menneer, I. D., Walter, M. T., Marinova, G.: Differential behavior of cis- and trans-iso-alpha-acids. *Proc. Eur. Brew. Congr., Maastricht, IRL Press, 1997*, 231–238.
- Callemien, D., Bennani, M., Counet, C., Collin, S.: Which polyphenols are involved in aged beer adstringency? Assessment by HPLC and time-intensity method. *Proc. Eur. Brew. Congr., Prague, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, CD-ROM, 2005*, 809–814.

**Zbyněk Likovský – Bohumil Kuchař – Iva Světlá-Dubská:****Známky pražských pohostinských podniků.**

*Jako svou první publikaci vydala pobočka České numismatické společnosti v Havířově 2010*

Téměř do konce devatenáctého století byla naprostá většina vyrobeného piva expedována v sudech, lahvové pivo patřilo k výjimkám. Teprve zavedení pivních lahví prolomilo monopol hostinců na prodej piva – pivo v láhvi začaly prodávat i potravinářské obchody. Čepované pivo ovšem zůstalo výsadou hostinců, restaurací, pivnic, výčepů, které pro domácí konzumaci prodávaly pivo „přes ulici“.

Velký počet drobných pohostinských podniků vedl ke tvrdému konkurenčnímu boji, ke snaze udržet si stálý okruh zákazníků – a získat další. Tomu sloužily účelové známky, převážně kovové. Host, kterému byly při placení „vráceny“, přicházel znovu, aby je další konzumací zhodnotil. Pohostinské podniky nejčastěji zaváděly známky pivní (se slovním vyjádřením „1 PIVO“, údajem v objemové míře, vyobrazením pivní sklenice apod.) – ostatně ne každý hostinec měl teplou kuchyni. Vesměs byly určeny pro zákazníky jako poukázky na pivo, při zakoupení většího počtu namnoze s poskytnutím slevy; jejich hlavním úkolem bylo zajištění odbytu piva. Občas sloužily i k průčtování od-

běru piva mezi výčepním a obsluhujícím personálem – zpravidla však byly k tomuto účelu užívány skleněné korálky.

Tato práce vznikala ve druhé polovině osmdesátých let minulého století. Vždy, kdy ze známky samé nebylo možné jednoznačně stanovit, že ji vydalo a užívalo určité pohostinské zařízení, oba pražští autoři tuto skutečnost ověřovali – vždyť mnohé ražby se jménem či názvem firmy, případně označením místa mohly zavést i jiné místní podniky, obchodníci apod. Vyhledávali pamětníky, získávali doklady toho, že ražby používal právě určitý pohostinský podnik. Kromě pamětníků jim byly přínosem i odpovědi čtenářů časopisu *Kvasný průmysl* na tehdy tam uveřejňované neurčené pivní známky. Pokud se nepodařilo vydavatele a místo užívání jednoznačně určit, nebyla známka do soupisu zařazena.

Zvláštní pozornosti zasluhují ilustrace, zhotovené panem Kuchařem – jde o velice pečlivě provedené kresby všech 258 druhů v soupisu uvedených známek.