

## SENZORICKÁ STABILITA PIVA

PAVOL NÁDASKÝ  
a DANIELA ŠMOGROVIČOVÁ

*Oddelenie biochemickej technológie, Ústav biotechnológie a potravinárstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika*  
daniela.smogrovicova@stuba.sk

Došlo 24.7.09, prepracované 30.12.09, prijaté 14.1.10.

**Kľúčové slová:** pivo, senzorická stabilita, starnutie piva, polyfenoly, antioxidantná aktivita

### Obsah

1. Úvod
2. Starnutie piva
3. Reakčný mechanizmus procesov starnutia piva
  - 3.1. Radikálové reakcie – reaktívne formy kyslíka (ROS)
  - 3.2. Maillardove reakcie
  - 3.3. Alfa-dikarbonylové zlúčeniny
  - 3.4. Streckerovo odbúravanie aminokyselín
  - 3.5. Aldolová kondenzácia
  - 3.6. Oxidácia nenasýtených mastných kyselín
  - 3.7. Oxidácia vyšších alkoholov
  - 3.8. Degradácia izo-horkých kyselín
4. Antioxidanty významné v pivovarníctve a ich vlastnosti
  - 4.1. Polyfenolové antioxidanty
  - 4.2. Melanoidíny a reduktóny
  - 4.3. Chelatačné činidlá
  - 4.4. Oxid siričitý
5. Záver

### 1. Úvod

Jedným z hlavných problémov pivovarnického priemyslu je dosiahnutie vysokej trvanlivosti piva. Súčasný trend smeruje k predaju piva vo fľašiach a plechovkách, čo je dôsledok zmeny životného štýlu a rozrastajúceho sa exportu. Vo všeobecnosti sa dnes vyžaduje až ročná garantovaná trvanlivosť. Vysoká trvanlivosť neznamena iba zachovanie čisti, ktorá je dnes samozrejmom požiadavkou, ale tiež zachovanie aj ostatných kvalitatívnych vlastností, ako sú chuť, vôňa, farba a penivosť, a to počas transportu i pri následnom skladovaní. Žiaľ ani najlepší systém výroby a kontroly nedokáže jednoznačne zaručiť, že finálny produkt bude mať dobrú senzorickú stabilitu<sup>1</sup>.

Aj v pivách, ktoré sú biologicky a koloidne stabilné, môže dôjsť postupom času k nežiaducim chuťovým zmenám. Tieto zmeny sa môžu prejaviť vo veľmi krátkom čase, alebo – pri dobre chuťovo stabilizovaných pivách – až po niekoľkých mesiacoch<sup>2</sup>.

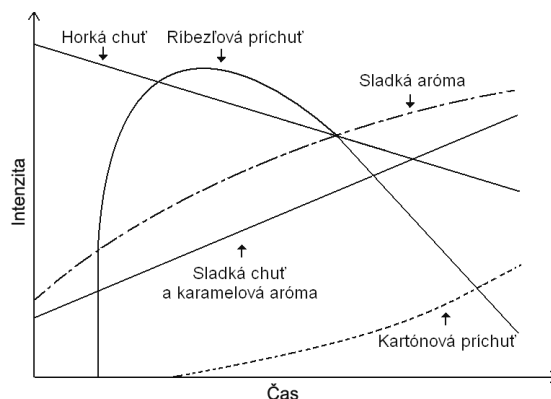
Výskumy na vzorke konzumentov piva poukázali na to, že chute a vône spôsobené starnutím piva sú nie vždy považované za senzoricky nežiaduce. Oveľa dôležitejšie bolo, aby konzumenti v konkrétnej značke piva, ktorú preferovali, rozpoznali jej charakteristickú chuť. Každý presadzoval názor, že chuť danej značky piva by sa nemala meniť, avšak chuť, ktorú očakávali, bola chuť čerstvého piva. V priebehu starnutia piva dochádza k výrazným senzorickým zmenám a práve očakávaná charakteristická chuť sa môže stratiť. Je to jeden z hlavných dôvodov, prečo je starnutie piva považované za nežiaduce<sup>3</sup>.

Nasledujúce kapitoly sa venujú senzorickej charakteristike piva, pojednávajú o chemických zmenách nastávajúcich v priebehu starnutia a o obsahu polyfenolových látok ako účinných antioxidantov.

### 2. Starnutie piva

Vplyvom skladovania (starnutia) stráca pivo svoje charakteristické senzorické vlastnosti a získava skôr či neskôr takzvanú starú chuť. Kvalita piva môže byť poškodená prítomnosťou menej príjemných až vyslovene nepríjemných vôní a chutí, ktoré nazývame cudzie.

Dalgliesh<sup>4</sup> detailnejšie popísal senzorické zmeny, ktoré nastávajú počas starnutia piva (obr. 1). Dochádza ku konštantnému poklesu horkosti a zároveň k postupnému



Obr. 1. Senzorické zmeny počas starnutia piva<sup>4</sup>

zvyšovaniu sa sladkej chuti. Vznik karamelových a pripálených chutí a vôní sa prekrýva so sladkou chuťou. Ďalej dochádza k rapidnému nárastu ríbeľovej príchuti, ktorá však postupom času klesá. Podľa Dalglisha<sup>4</sup> k rozvinutiu kartónovej príchuti dochádza až po poklese intenzity ríbeľovej. Kartónová príchuť konštantne stúpa až kým nedosiahne maximum, následne tiež klesá. Pozitívne sensorické vlastnosti piva, ako sú esterová, ovocná alebo kvetová aróma, majú klesajúcu tendenciu. Pre celkový dojem je pokles sensoricky pozitívnych aróm tak isto dôležitý ako rozvoj starých chutí a vôní.

V súčasnosti sa využívajú na určenie zmien sensorického profilu piva počas starnutia aj chromatografické prístroje, headspace analýza s tzv. elektronickým nosom, čo vyvoláva diskusie o úlohe profesionálnych degustátorov na jednej strane a inštrumentálnych prístrojoch na strane druhej. McKellar a spol.<sup>5</sup> pri štúdiu vplyvu starnutia piva na profil jeho sensoricky aktívnych látok zistili, že elektronický nos bol schopný zachytiť oveľa jemnejšie zmeny ako degustačná komisia. Bamforth<sup>6</sup> prišiel k záveru, že určenie sensorických vlastností piva je veľmi komplikovaná záležitosť, pričom záleží na cieľi, pre ktorý sa to robí. Aj keď neexistujú chodiace chromatografy – ľudské bytosti schopné určovať koncentráciu určitých látok, školení degustátori sú dostatočne schopní relatívne objektívne posúdiť sensorické vlastnosti piva aj pri istých obmedzeniach, ktoré sú dané psychologickými aspektmi celého procesu. Je dôležité si uvedomiť, že ich vkus nemusí byť v súlade s vkusom zákazníka<sup>7</sup>.

Na starnutie piva vplyva veľa rozličných faktorov a môžu byť jednoducho rozdelené na vnútorné faktory (napr. zloženie piva) a vonkajšie faktory (napr. podmienky, ktorým je pivo vystavené počas skladovania a transportu). Kyslík je v dnešnej dobe jedným z najštudovanejších vnútorných faktorov<sup>8</sup>.

Kontakt piva s kyslíkom spôsobuje veľmi rýchle zhoršenie chuti a vône a sensorická zmena závisí od obsahu kyslíka vo fľaši. Zistilo sa však, že starnutie prebieha aj keď je koncentrácia kyslíka znížená na minimum, čo naznačuje, že starnutie piva môže byť čiastočne aj neoxidačný proces.

Okrem koncentrácie kyslíka výrazne ovplyvňuje starnutie piva teplota, pretože je od nej závislá rýchlosť chemických reakcií. Zvýšenie reakčnej rýchlosti pre určité zvýšenie teploty závisí od aktivačnej energie danej reakcie. Táto aktivačná energia je rozdielna pre rôzne typy reakcií čo znamená, že rýchlosť rozdielnych reakcií sa nezvyší rovnako so zvýšením teploty. Preto v pive skladovanom pri rôznych teplotách nedochádza k rovnakému nárastu sensoricky nežiaducich zlúčenín. Kaneda, Kobayashi, Furusho, Sahara a Koshino<sup>9</sup> to potvrdili svojimi meraniami a zistili, že v pive skladovanom pri 25 °C prevládala karamelová aróma, zatiaľ čo pri 30–37 °C bola dominantná príchuť po kartóne.

Sensorické zmeny, ku ktorým dochádza počas starnutia, sú veľmi komplexným problémom a závisia hlavne od typu piva, koncentrácie kyslíka a teploty skladovania.

### 3. Reakčný mechanizmus procesov starnutia piva

Počas skladovania piva môže dochádzať k zmene koncentrácie mnohých sensoricky aktívnych látok nachádzajúcich sa v pive, a to k:

- zníženiu koncentrácie sensoricky aktívnych látok, ktoré vedie k zhoršeniu arómy stratou požadovaného sensorického charakteru piva,
- zvýšeniu koncentrácie sensoricky aktívnych látok, ktoré vedie k zhoršeniu arómy zvýšením nežiaduceho sensorického charakteru piva.

Z chemického hľadiska je pivo vodno-etanolovým roztokom s pH okolo 4,2, v ktorom sú rozpustené stovky rôznych molekúl. Z hľadiska sensorickej kvality piva sú dôležité karbonylové zlúčeniny a ich prekursori, ktorým sa pripisuje zásadný vplyv na sensorické vlastnosti.

Starnutie piva je zložitý komplexný proces, ktorý zahŕňa niekoľko rôznych mechanizmov. Jednotlivé mechanizmy sa nevyklúčujú a môžu pôsobiť súčasne. Reakcie vytvárajúce látky, ktoré narušujú sensorickú stabilitu piva, môžeme rozdeliť do nasledujúcich skupín:

- radikálové reakcie – reaktívne formy kyslíka a dusíka (RONS),
- Maillardove reakcie,
- tvorba  $\alpha$ -dikarbonylových zlúčenín,
- Streckerovo odbúravanie aminokyselín,
- aldolové kondenzácie nižších karbonylov,
- oxidácia nenasýtených mastných kyselín,
- oxidácia vyšších alkoholov,
- oxidačná degradácia izo-horkých kyselín,
- sekundárne oxidácie vyšších aldehydov,
- fotooxidačné reakcie piva.

#### 3.1. Radikálové reakcie – reaktívne formy kyslíka (ROS) a dusíka (RNS)

Aj napriek snahe pivovarníckych technológov minimalizovať kontakt všetkých surovín, medziproduktov výroby a hotového piva s kyslíkom, môže i z nepatrného množstva tohto prvku v stabilnom stave vznikajú dodaním energie vo forme svetla alebo tepla, prípadne katalytickým účinkom kovových iónov veľké množstvo reaktívnych foriem (obr. 2), ktoré sa súhrnne označujú skratkou ROS (Reactive Oxygen Species)<sup>11</sup>.

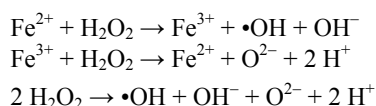
Kyslík v základnom stave ( $^3O_2$ ) je stabilný a nevstupuje ľahko do reakcie s organickými molekulami. V prítomnosti železných iónov ( $Fe^{2+}$ ) v pive, kyslík môže prijať elektrón a vznikne superoxidový anión ( $O_2^-$ ) a  $Fe^{3+}$ . Ióny medi môžu vystupovať v procese oxidácie podobne ako ióny železa a  $Cu^+$  sa oxiduje na  $Cu^{2+}$ . Má sa za to, že  $Cu^+/Cu^{2+}$  a  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  ióny sú súčasťou oxidačného systému v ktorom polyfenoly, cukry, izo- $\alpha$ -horké kyseliny a alkoholy vystupujú ako donory elektrónov<sup>12</sup>. Superoxidový anión môže prijať protón za vzniku perhydroxylového radikálu ( $OOH\cdot$ ), ktorý je oveľa reaktívnejší. pKa tejto

Tabuľka I  
Zlúčeniny vznikajúce počas skladovania piva<sup>11</sup>

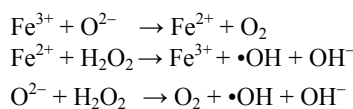
Skupina látok	Zlúčenina	
Aldehydy	acetaldehyd ( <i>E</i> )-non-2-enál ( <i>E</i> )-okt-2-enál ( <i>E,E</i> )-deka-2,4-dienál ( <i>E,E</i> )-nona-2,6-dienál	2-metylbutanál 3-metylbutanál benzaldehyd 2-fenylacetaldehyd 3-(metylsulfanyl)propanál
Ketóny	<i>E</i> -β-damascenón biacetyl 3-metylbutan-2-ón	4-metylbutan-2-ón 4-metylpentan-2-ón pentan-2,4-dión
Cyklické acetály	2,4,5-trimetyl-1,3-dioxolán 2-izopropyl-4,5-dimetyl-1,3-dioxolán	2-izobutyl-4,5-dimetyl-1,3-dioxolán 2- <i>sek</i> -butyl-4,5-dimetyl-1,3-dioxolán
Heterocyklické zlúčeniny	furaldehyd 5-(hydroxymetyl)furaldehyd 5-metylfuraldehyd 2-acetylfurán 2-acetyl-5-metylfurán 2-propionylfurán furán (2-furyl)metanol etyl(2-furfurylmetyl)éter 5-(etoxymetyl)furaldehyd	2-etoxy-2,5-dihydrofurán maltol 5,5-dietylfuran-2(5 <i>H</i> )-ón 5,5-dimetylfuran-2(5 <i>H</i> )-ón 2-acetylpyrazín 2-metoxypyrazín 2,6-dimetylpyrazín trimetylpyrazín tetrametylpyrazín
Etyl estery	etyl-3-metylbutanoát etyl-2-metylbutanoát etyl-2-metylpropanoát etyl-nikotinát dietyl-sukcinát	etyl-laktát etyl-fenylacetát etyl-formát etyl-cinnamát
Laktóny	nonano-4-laktón hexano-4-laktón	
Sírne zlúčeniny	dimetyltrisulfid 3-metyl-3-sulfanylbutyl-formát	

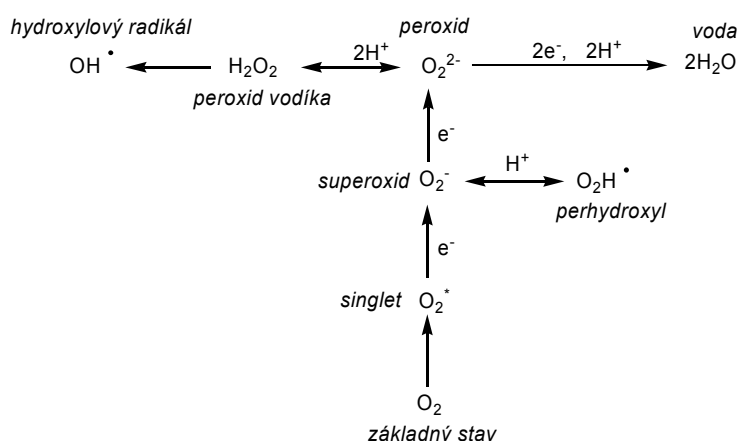
reakcie je 4,8 čo znamená, že pri pH piva bude najväčšia časť superoxidu vo forme perhydroxyly. Superoxidový anión môže byť ďalej redukovaný iónmi  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Cu}^+$  na peroxidový anión ( $\text{O}_2^{2-}$ ). V pive je tento anión ľahko protonizovaný za vzniku peroxidu vodíka ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Hydroxylový radikál ( $\text{OH}\cdot$ ) môže byť následne vytvorený z  $\text{H}_2\text{O}_2$  alebo zo superoxidového aniónu  $\text{O}_2^-$  reakciami, ktoré sú katalyzované iónmi kovov, ako sú Fentonova a Haber-Weissova reakcia:

#### Fentonova reakcia



#### Haber-Weissova reakcia





Obr. 2. Premeny reaktívnych zlúčenín kyslíka

Hydroxylové radikály sú jedny z najreaktívnejších radikálov vôbec, ktoré boli identifikované. Hydroxylový radikál veľmi často neselektívne reaguje s etanolom. Etanol je hneď po vode druhá najzastúpenejšia zložka piva a je dobrý vychytávač voľných radikálov. Zistenia Anderse- na a Skibsteda<sup>13</sup> dokazujú, že takto vzniknutý 1-hydroxy-etylový radikál je jedným z najčastejšie sa vyskytujúcim radikálom v pive. Konečným degradačným produktom tejto reakcie je acetaldehyd.

Reaktivita rôznych foriem kyslíka vzrastá v smere superoxidový anión < perhydroxylový radikál < hydroxylový radikál. Množstvo voľných radikálov počas starnutia piva rastie s rastúcou koncentráciou iónov meďi a železa, s rastúcou koncentráciou kyslíka vo fľaši a so vzrastajúcou teplotou skladovania. Reakcie voľných radikálov prebiehajú pri nízkych teplotách len veľmi pomaly.

Podobne ako v pive vznikajú rôzne reaktívne formy kyslíka, dôležitú úlohu pri procesoch starnutia piva majú aj reaktívne formy dusíka (RNS). Tieto reaktívne formy sa často nazývajú súhrnným názvom RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species). Medzi RONS patria okrem voľných radikálov aj také zlúčeniny, ktoré ľahko oxidujú iné látky alebo sa na radikály menia. Významným dusíkatým radikálom je oxid dusnatý •NO, ktorý prednostne reaguje s inými paramagnetickými látkami. Do reakcie vstupuje aj s iónmi železa, s molekulárnym kyslíkom (vzniká dusitanový anión NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) a inými radikálmi ako napríklad so superoxidovým aniónom. Pri reakcii so superoxidovým aniónom dochádza k vzniku peroxyinitritu (ONOO<sup>-</sup>). Peroxyinitrit ako aj jeho konjugovaná kyselina sú veľmi silné oxidačné činidlá, preto môžu ľahko oxidovať ostatné látky nachádzajúce sa v pive.

### 3.2. Maillardove reakcie

Maillardove reakcie prebiehajú väčšinou počas prípravy mladiny (rmutovania) z dôvodu vyšších teplôt používaných pri týchto procesoch, niektoré reakcie však prebiehajú aj pri oveľa nižších teplotách počas skladovania.

Maillardove reakcie, iniciované reakciou redukujúceho sacharidu a animokyseliny vedú ku vzniku komplexnej siete rôznych reakčných mechanizmov, ktoré do dnes nie sú úplne objasnené. Neenzymatické reakcie hneďnutia prebiehajú takmer vo všetkých spracovávaných potravinárskych produktoch a preto prebiehajú aj počas prípravy mladiny a pokračujú pri skladovaní piva<sup>14</sup>.

Po ukončení rmutovania obsahuje mladina 10 % glukózy, 60–70 % maltózy a 20–30 % maltotriózy. V dôsledku vysokej koncentrácie týchto sacharidov a prítomnosti rôznych aminozlúčenín dochádza veľmi rýchlo k Maillardovým reakciám počas chmeľovaru. Z kvantitatívneho hľadiska sú 5-hydroxymetylfurfural (HMF, pochádzajúci z hexózy) a furfural (pochádzajúci z pentózy) jedny z najzaujímavejších Maillardových monomérov v mladine. Vznikom monomérových zlúčenín však Maillardove reakcie nekončia a ďalšími reakciami (kondenzácia, cyklizácia, dehydratácia, izomerizácia) vznikajú vysokofarebné melanoidíny. Hoci bolo navrhnutých niekoľko modelov štruktúry melanoidínov, väčšina z nich zostáva do dnes neobjasnená<sup>15–17</sup>.

Maltóza, maltotrióza a iné malto-oligosacharidy patria podobne ako glukóza medzi redukujúce cukry a vstupujú do reakcií s aminozlúčeninami za vzniku α-dikarbonylových zlúčenín mechanizmom, ktorý navrhol Hollnagel a Kroh<sup>18</sup>.

### 3.3. Alfa-dikarbonylové zlúčeniny

Aj počas skladovania piva pri izbovej teplote dochádza k Maillardovým reakciám. Počas tohto procesu bol pozorovaný vznik desiatich rôznych  $\alpha$ -dikarbonylových zlúčenín<sup>14</sup>. Vznik a akumulácia týchto zlúčenín v pive naznačuje, že Streckerova degradácia ako aj degradácia Amadoriho medziproduktov prebieha počas starnutia piva aj pri skladovaní pri nižších teplotách. Vzhľadom na centrálnu úlohu  $\alpha$ -dikarbonylových zlúčenín v procese Maillardových reakcií môže blokovanie týchto medziproduktov zabrániť vzniku typických zlúčenín zodpovedajúcich za starú príchuť piva. Použitím tzv. "vychytávacích" činidiel, ako napr. aminoguanidinu, dochádza k rýchlej a irreverzibilnej reakcii s dikarbonylovými zlúčeninami za vzniku 3-aminotriazínu a tým sa zabráni vstupu dikarbonylových zlúčenín do ďalších reakcií, ktoré by viedli ku vzniku konečných produktov, napr. HMF.

### 3.4. Streckerovo odbúravanie aminokyselín

Je nazvaná podľa Adolfa Streckera, ktorý už v roku 1862 publikoval, že  $\alpha$ -alanín môže byť alloxanom rozkladaný na acetaldehyd a oxid uhličitý. Tento typ reakcie je súčasťou Maillardových reakcií, ktoré vedú k rozkladu  $\alpha$ -aminokyseliny za vzniku aldehydu, obsahujúceho o jeden atóm uhlíka menej ako pôvodná aminokyselina. Pri reakcii sa predpokladá prítomnosť  $\alpha$ -dikarbonylových zlúčenín, ktoré predtým vznikajú oxidáciou aromatických alebo alifatických zlúčenín so susednými hydroxylovými skupinami, poprípade Amadoriho prešmykom v priebehu Maillardových reakcií.

Z najbežnejších látok, ktoré sa zúčastňujú na odbúrání aminokyselín, možno uviesť kyselinu pyrohroznovú, diacetyl a kyselinu dehydroaskorbovú<sup>19</sup>. Napríklad z aminokyseliny leucín vzniká 3-metylbutanal, z valínu 2-metylpropanal, z metionínu metanal, z fenylalanínu fenylacetaldehyd a za prítomnosti maltózy a meďnatých iónov aj benzaldehyd<sup>20,21</sup>.

### 3.5. Aldolová kondenzácia

Aldolová kondenzácia nižších aldehydov, vzniknutých najčastejšie Streckerovou degradáciou má za následok vznik aldehydov s dlhším reťazcom. Kondenzáciou acetaldehydu a *n*-heptanal vzniká napr. aj (*E*)-non-2-enál dodávajúci pivu nepríjemnú kartónovú arómou. Katalytickú funkciu aldolovej kondenzácie plnia aminokyseliny, tvoriace s aldehydmi iminový medziprodukt<sup>22</sup>. Touto cestou dochádza k tvorbe karbonylových zlúčenín s nižším prahovým vnemom z karbonylových zlúčenín nachádzajúcich sa v pive, ktoré sú menej senzoricke aktívne a ktoré môžu vzniknúť inými reakciami.

### 3.6. Oxidácia nenasýtených mastných kyselín

Cesta, ktorou sa oxidačne degradujú nenasýtené mastné kyseliny za vzniku rôznych senzoricke významných

karbonylových zlúčenín môže byť dvojaká: enzymatická a neenzymatická.

Enzymatická oxidácia kyseliny linolénovej na (*E*)-non-2-enál vyvolá typickú vôňu piva po kartóne, papieri<sup>23,24</sup>. Lipoxygenázy (spoločný termín pre enzýmy jačmeňa), ktorých koncentrácia sa pri rmutovaní zvyšuje, oxidujú kyselinu linolénovú na hydroxykyselinu. Táto je ďalej štiepená na kratšie reťazce aldehydov. Pri oxidácii lipidov sa generujú aj lipidové hydroperoxydy, ktoré sú bez chuti a vône (napr. kyselina linolénová – linoleový hydroperoxid). Tieto hydroperoxydy sú veľmi nestabilné a rozpadajú sa sekundárne na reakčné produkty ako karbonyly, kyseliny a estery<sup>25</sup>.

Konkrétne (*E*)-non-2-enál vzniká z kyseliny linolénovej pôsobením lipoxygenázy 1 za vzniku 9-hydroperoxidu, ktorého rozkladom vzniká (*Z*)-non-3-enál a ten okamžite izomerizuje na (*E*)-non-2-enál.

Neenzymatická oxidácia vedie k vzniku podobných hydroperoxidov, resp. peroxyradikálov ako cesta enzymatická, pričom katalytický účinok enzýmov je nahradený oxidáciou prostredníctvom aktívnych foriem kyslíka. Reakcia je autokatalytická, oxidačné produkty sami katalyzujú a urýchľujú reakciu<sup>22</sup>. V reakcii vystupuje voľný radikál kyslíka, prijíma elektróny a stáva sa z neho superoxidový, peroxidový a nakoniec najtoxický hydroxylový radikál, ktorý je schopný spustiť veľmi nebezpečnú reťazovú reakciu voľných radikálov, končiacu až úplnou deštrukciou mastných kyselín.

### 3.7. Oxidácia vyšších alkoholov

Pôvod vyšších alkoholov vznikajúcich počas kvasenia spočíva v prevažnej miere v premene aminokyselín, pričom sa primárne vznikajúce aldehydy redukujú na alkoholy. Pri starnutí piva sa môžu alkoholy opäť oxidovať na aldehydy, ktoré slúžia ako indikátory starnutia<sup>26</sup>. Hashimoto<sup>27</sup> sa presvedčil, že vyššie alkoholy prítomné v pive sú oxidované melanoidínmi vo väčšej miere, ako molekulárnym kyslíkom. Tak počas skladovania vznikajú prchavé aldehydy. Transport elektrónov z vyšších alkoholov prechádza na karbonylovú skupinu melanoidínov. Hoci molekulárny kyslík neoxiduje alkoholy priamo, jeho prítomnosť urýchľuje oxidáciu spôsobenú melanoidínmi<sup>27</sup>.

### 3.8. Degradácia izo-horkých kyselín

Izohumulóny, izokohumulóny a izoadhumulóny majú typickú reaktívnu štruktúru, ktorá má v tautoménej forme tri karbonylové skupiny. Oxidáciou izohumulónov vzniknú odštiepením bočného reťazca karbonyly s krátkym reťazcom (aldehydy). Zistilo sa, že tejto reakcii rýchlejšie podliehajú *trans*-izo- $\alpha$ -horké kyseliny ako *cis* izoméry. Meraniami to potvrdil Araki a spol.<sup>28</sup>. Sledovali pomocou metódy HPLC zmeny obsahu horkých kyselín v pive počas skladovania a našli podstatné rozdiely v rýchlosti a rozsahu redukcie izohumulónu. Obsah *trans*-izoméru klesal, zatiaľ čo *cis*-izomér ostával nezmenený. Pomer izomérov *trans* a *cis* koreloval s intenzitou starej chuti

piva. Následnou aldolovou kondenzáciou krátkych aldehydov vznikajú nenasýtené karbonyly s dlhým reťazcom, napr. *trans*-2-nonenal, izovaleral, izobutanal. Fotooxidácia izohumulónov, katalyzovaná riboflavínom, ktorý sa prirodzene nachádza v pive, môže vyvolať vznik látok, ktoré ovplyvňujú vôňu. Sulfhydrylové skupiny, ktoré vznikli po oxidácii sírnych aminokyselín, reagujú s bočnými reťazcami izo- $\alpha$ -horkých kyselín a H<sub>2</sub>S.

#### 4. Antioxidanty významné v pivovarníctve a ich vlastnosti

Každé pivo podlieha prirodzenému procesu starnutia. Avšak vďaka niektorým látkam, ktoré pivo obsahuje, je možné tieto procesy obmedziť<sup>29</sup>. Z biologického pohľadu významný antioxidant je taká zlúčenina, ktorá v malej koncentrácii v reakcii s reaktívnym metabolitom (prooxidantom) tvorí relatívne stabilné a netoxické produkty. Tým zabráni oxidácii cieľovej molekuly. Produkt reakcie oxidanta s antioxidantom by nemal spúšťať ďalšie radikálové reakcie, pri ktorých by sa tvorili nové voľné radikály alebo reaktívne metabolity kyslíka a oxidované substráty.

Podľa Kochhara a Rossella<sup>30</sup> môžeme antioxidanty rozdeliť do piatich skupín:

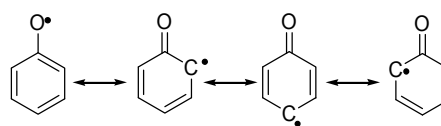
- primárne antioxidanty (polyfenolové zlúčeniny, tokoferoly, butylhydroxyanzol a i.),
- zlúčeniny reagujúce priamo s kyslíkom (kyselina askorbová),
- sekundárne antioxidanty, rozkladajúce hydroperoxydy na stabilné produkty,
- enzymatické antioxidanty,
- chelatačné a maskujúce činidlá (kyselina citrónová, aminokyseliny, EDTA).

##### 4.1. Polyfenolové antioxidanty

Polyfenolové zlúčeniny sú významnými antioxidantmi v rôznych systémoch. Všeobecne 70–80 % polyfenolových látok piva pochádza zo sladu a ostatných 20–30 % z chmeľu. Polyfenoly môžu pôsobiť ako antioxidanty tromi rôznymi spôsobmi:

- ako lapače (scavengery) voľných radikálov<sup>31,32</sup>,
- sú schopné inhibovať aktivitu lipoxygenáz<sup>33</sup>,
- sú schopné pôsobiť ako chelatačné činidlá<sup>34</sup>.

Rozdiel medzi antioxidantami a lapačmi voľných radikálov je ten, že antioxidanty zabraňujú oxidácii nenasýtených mastných kyselín ešte pred vznikom alkylových radikálov, a tým nedochádza k vzniku hydroperoxidov. Na druhej strane scavengery nezabraňujú priamo vzniku alkylových radikálov, ktoré potom reagujú s kyslíkom a vznikajú tak peroxidové radikály, ktoré veľmi rýchlo reagujú s vodíkovým atómom scavengerov za vzniku hydroperoxidov, pričom vzniknutý hydroperoxid je pomerne stabilný a zabraňuje tak reťazovej reakcii<sup>35</sup>. Polyfenoly reagujú s voľnými radikálmi za vzniku fenoxi radikálov,



Obr. 3. Stabilizácia fenoxi radikálu delokalizáciou

ktoré sú relatívne stabilné v dôsledku delokalizácie elektrónu na aromatickom kruhu zlúčeniny (obr. 3). Rovnakým mechanizmom sú najmä flavonoidy schopné pohlcovať aj iné formy kyslíka, konkrétne superoxidový anión.

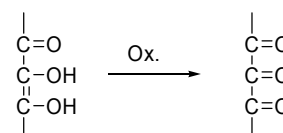
Okrem toho môžu niektoré polyfenoly vystupovať ako inhibítory lipoxygenáz v procese enzymatickej oxidácie mastných kyselín.

##### 4.2. Melanoidíny a reduktóny

Počas hvozdenia sladu (nad 80 °C), praženia sladu (110–250 °C) a chmeľovaru dochádza k tvorbe antioxidantov Maillardovými reakciami<sup>36</sup>. Medzi tieto antioxidanty patria reduktóny a melanoidíny. Redukčná kapacita reduktónov je daná prítomnosťou endiolovej skupiny (obr. 4). Typickým reduktónom je aj kyselina askorbová (vitamín C), ktorá nie je však produktom Maillardových reakcií. V procese výroby piva sa však kyselina askorbová používa skôr ako exogénny antioxidant<sup>37</sup>.

Je viacerou mechanizmov ktorými môžu produkty Maillardových reakcií pôsobiť ako antioxidanty<sup>38</sup> a existuje priama závislosť medzi farbou sladu (a tým aj hotového piva) a antioxidačnou aktivitou. Antioxidačná aktivita reduktónov priamo úmerne stúpa s farbou sladu. Do druhej skupiny antioxidantov, ktoré vznikajú Maillardovými reakciami, patria antioxidanty s antiradikálovým účinkom, avšak v tomto prípade nebola zistená závislosť medzi intenzitou hnednutia a efektivitou vychytávania kyslíkových radikálov<sup>39</sup>.

Štúdie<sup>40–42</sup> zaoberajúce sa antioxidačnými vlastnosťami melanoidínov naznačili, že je veľmi ťažké určiť štruktúrne znaky zodpovedné za antioxidačnú aktivitu. Okrem toho, melanoidíny a ich prekursori môžu mať aj prooxidačnú aktivitu<sup>43</sup>.



endiolová skupina

Obr. 4. Oxidácia reduktónu

Množstvo antioxidantov vytvorených Maillardovými reakciami a karamelizáciou sacharidov je nízke vo svetlých sladoch, ale významné v špeciálnych tmavých sladoch. Vyššia redukčná sila mladiny a piva vyrobeného z tmavých sladov môže viesť k lepšej senzorickej stabilite<sup>44</sup>.

#### 4.3. Chelatačné činidlá

Okrem polyfenolov, rôzne iné zlúčeniny v mladine a pive, ako napr. aminokyseliny, kyselina fytová a melanoidíny môžu slúžiť ako chelatačné činidlá pre kovové ióny (najmä medi a železa), čím zabráňujú katalytickej funkcii týchto iónov pri oxidačno-redukčných premenách. V mladine a pive existuje určitá rovnováha medzi voľnými a chelatanými iónmi kovov<sup>34</sup>.

#### 4.4. Oxid siričitý

Premena síranov pomocou kvasiniek je hlavným endogénnym zdrojom oxidu siričitého v pive. Rôzne merania využívajúce metódou ESR dokázali, že oxid siričitý je jedným z najefektívnejších antioxidantov piva. Jeho prítomnosť oddialila tvorbu voľných radikálov (hlavne 1-hydroxyetyl radikálu) meraných pomocou ESR spinového lapača. Jeho účinnosť ako antioxidanta je daná jeho dvomi elektrónmi, pričom pri reakcii s peroxidmi sa netvoria žiadne radikály.

### 5. Záver

Skladovaním piva v spotrebiteľských obaloch sa nepriaznivo menia jeho senzorické vlastnosti. Dochádza k tzv. starnutiu piva, ktoré sa prejavuje najmä tvorbou cudzích chutí a vôní, spôsobených prevažne vznikom karbonylových zlúčenín. Preto zachovanie čo najvyššej senzorickej stability je jedným zo základných cieľov výroby piva.

Na zhoršenie senzorickej stability majú vplyv fyzikálne faktory pri jeho skladovaní, t.j. vyššia teplota, pohyb a svetlo. Dôležitý význam majú aj chemické faktory pri samotnej výrobe piva, ako napr. prítomnosť kyslíka vo varnom procese a hlavne vyšší obsah rozpusteného kyslíka pri stáčaní piva. Priaznivý vplyv má naopak prítomnosť antioxidantov, medzi ktoré patria niektoré polyfenolové látky, oxid siričitý a prípadne kyselina askorbová.

Je zrejmé, že problematika starnutia a senzorickej stability piva je rozsiahla a výskum v danej oblasti ani z ďaleka nie je ukončený. Treba však poznamenať, že procesu starnutia sa nedá úplne zabrániť. Väčšina reakcií, ktoré sú zodpovedné za senzorickejšiu nestabilitu, sa nedá úplne eliminovať, ale ich účinok sa dá v mnohých prípadoch minimalizovať.

*Práca bola vypracovaná vďaka podpore Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva SR a Slovenskej akadémie vied VEGA, reg. č. 1/0786/08.*

### LITERATÚRA

- Čepička J., Karabín M.: Chem. Listy 96, 90 (2002).
- Kosař K., Procházka S. (ed.): *Technologie výroby sladu a piva*. Výskumný ústav pivovarský a sladařský a.s., Praha 2000.
- Stephenson W. H., Bamforth C. W.: J. Inst Brew. 108, 406 (2002).
- Dalgliesh C. E.: *16th European Brewery Convention Congress, Amsterdam, 1977*, Proc. Eur. Brew. Conv. Cong., str. 623, 1977.
- McKellar R. C., Young J. C., Johnson A., Knight K. P., Lu X., Bottenham S.: Techn. Q. Master Brew. Assoc. Am. 39, 99 (2002).
- Bamforth Ch.: Brew. Distill Int. 32, 20 (2001).
- Simpson W. J., Canteranne E.: Brauwelt Int. 19, 280 (2001).
- Victor R. Preedy: *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier, London 2009.
- Kaneda H., Kobayashi M., Furusho S., Sahara H., Koshino S.: Techn. Q. Master Brew. Assoc. Am. 32, 90 (1995).
- Vanderhaegen B., Neven H., Verachtert H., Derdelinckx G.: Food Chem. 95, 357 (2006).
- Šavel J., Zdvihalová D.: Kvasny Prum. 44, 171 (1998).
- Kaneda H., Kano Y., Koshino S., Ohyanishiguchi H.: J. Agric. Food Chem. 40, 2102 (1992).
- Andersen M. L., Skibsted L. H.: J. Agric. Food Chem. 46, 1272 (1998).
- Bravo A., Sanchez B., Scherer E., Herrera J., Rangel-Aldao R.: Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am. 39, 13 (2002).
- Tressl R., Wondrak G. T., Garbe L. A., Kruger R. P., Rewicki D.: J. Agric. Food Chem. 46, 1765 (1998).
- Cammerer B., Jalyschkov V., Kroh L. W.: Int. Congr. Ser. 1245, 269 (2002).
- Adams A., Tehrani K. A., Kersiene M., Venskutonis R., DeKimpe N.: J. Agric. Food Chem. 51, 4338 (2003).
- Hollnagel A., Kroh L. W.: J. Agric. Food Chem. 48, 6219 (2000).
- Takácsová M., Pribela A.: *Chémia potravín*. STU, Bratislava 1996.
- Basařová G., Janoušek J.: Kvasny Prum. 46, 233 (2000).
- Vesely P., Boháč J., Basařová G.: Kvasny Prum. 47, 276 (2001).
- Hashimoto N., Kuroiwa Y.: Proc. Am. Soc. Brew. Chem. 33, 104 (1975).
- Drost B. W., Van Eerde P., Hoekstra S. F., Strating J.: *13th European Brewery Convection Congress, Estoril, 1971*, Proc. Eur. Brew. Conv. Cong., str. 451, 1971.
- Jamieson A.M., Van Gheluwe J. E. A.: Proc. Am. Soc. Brew. Chem. 29, 192 (1970).
- De Bruck A., De Rouck G., Aerts G., Bonte S.: Cerevisia 23, 25 (1998).

26. Šavel J., Zdvihalová D.: *Kvasny Prum.* 45, 67 (1999).
27. Hashimoto N.: *Rep. Res. Lab. Kirin. Brew.* 31, 19 (1988).
28. Araki S., Takashio M., Shinotsuka K.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 60, 26 (2002).
29. Back W., Franz O., Nakamura T.: *Brauwelt Int.* 141, 209 (2001).
30. Kochhar S. P., Rossell J. B.: *Food Antioxidant*. Elsevier, Londýn 1990.
31. Hussain S. R., Cillard J., Cillard P.: *Phytochemistry* 26, 2489 (1987).
32. Torel J., Cillard J., Cillard P.: *Phytochemistry* 25, 283 (1986).
33. Boivin P., Malanda M., Maillard M. N., Berset C., Hugues M., Forget-Richard F., Nicolas J.: *25th European Brewery Convection Congress, Brussels, 1995*, Proc. Eur. Brew. Conv. Cong., str. 159, 1995.
34. Bamforth C. W.: *Brauwelt Int.* 48, 98 (1999).
35. Lacan F., Soulet S., Arnaudinaud V., Nay B., Verge S., Castagnino C., Delaunay J. C., Chèze C., Vercauteren J.: *Cerevisia* 25, 35 (2000).
36. Boivin P., Allain D., Clamagirant V., Maillard M. N., Cuvelier M. E., Berset C., Richard H., Nicolas J., Forget-Richard F.: *24th European Brewery Convection Congress, Oslo, 1993*, Proc. Eur. Brew. Conv. Cong., str. 397, 1993.
37. Andersen M. L., Outtrup H., Skibsted L. H.: *J. Agric. Food. Chem.* 48, 3106 (2000).
38. Ames J. M.: *Cerevisia* 26, 210 (2001).
39. Morales F. J.: *Anal. Chim. Acta* 534, 171 (2005).
40. Wijewickreme A. N., Kitts D. D., Durance T. D.: *J. Agric. Food. Chem.* 45, 4577 (1997).
41. Wijewickreme A. N., Kitts D. D.: *J. Food Sci.* 63, 466 (1998).
42. Wijewickreme A. N., Krejpcio Z., Kitts D. D.: *J. Food Sci.* 64, 457 (1999).
43. Hashimoto, N.: *J. Inst. Brew.* 78, 43 (1972).
44. Griffiths D. J., Maule A. P.: *26th European Brewery Convection Congress, Maastricht, 1997*, Proc. Eur. Brew. Conv. Cong., str. 267, 1997.

**P. Nádaský and D. Šmogrovičová** (*Department of Biochemical Technology, Institute of Biotechnology and Food Science, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava*): **Sensory Stability of Beer**

This review summarises current data on chemical origin of various aging flavours and the reaction mechanisms responsible for their formation. The formation of typical flavours during beer storage could be linked to the Maillard reactions, formation of straight-chain aldehydes, ester formation, ester degradation, acetal formation, etherification and degradation of hop bitter compounds. Most of the reactions cannot be avoided, but they can be minimized. In addition to the storage temperature and conditions, the characteristics of aging beer are affected mainly by its chemical composition. Polyphenols present in beer act as antioxidants, which are involved in maintaining physical and chemical stability of beer by elimination of free radicals.