

Zmętnienia w piwie – przyczyny powstawania i ich identyfikacja

Haze in beer – causes and their identification

dr Aneta Ciosek

Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Słowa kluczowe: piwo, powstawanie zmętnień, identyfikacja zmętnień, polifenole, białka, analizy mikroskopowe

Keywords: beer, haze formation, haze identification, polyphenols, proteins, microscope analysis

Beer is a complex mixture of over 450 ingredients, which include proteins, polyphenols, polysaccharides, nucleic acids, or fatty acids. Some of these compounds are responsible for the formation of beer haze, which can be a huge quality problem (affects the shelf life and flavor of beer). The most common problem is polyphenol and protein complexes. These components are in equilibrium but appear in the beer as a cloudiness when polyphenols combine into larger particles (polymers). There are known methods to increase the stability of beer, such as PVPP adsorption, silica gel adsorption, tannic acid treatment or papain treatment, but preventing the formation of turbidity seems to be more suitable option. This requires a comprehensive approach on the part of the brewer because all stages of production must be analyzed, and the cause of the problem must be found. This article reviews the factors causes beer haze, and proposes methods to identify haze, including staining methods, microscopic and enzymatic analyzes.

Piwo to złożona mieszanina ponad 450 składników, w których skład wchodzi m.in. białka, polifenole, polisacharydy, kwasy nukleinowe, czy kwasy tłuszczowe. Część z tych związków jest odpowiedzialna za powstawanie zmętnień w piwie, które mogą być poważnym problemem jakościowym (skracać okres przydatności do spożycia, wpływają na ogólny odbiór piwa). Najczęściej spotykanym problemem są kompleksy polifenoli i białek. Składniki te są w pewnej równowadze w piwie i objawiają się jako zmętnienie, gdy polifenole łączą się w większe cząstki (polimery). Są znane metody zwiększające stabilność piwa jak stabilizacja PVPP, żel krzemionkowy, traktowanie kwasem garbnikowym czy papainą, jednak zapobieganie powstawaniu zmętnień wydaje się korzystniejszą opcją. Wymaga to kompleksowego podejścia ze strony piwowara, ponieważ należy przeanalizować wszystkie etapy produkcji i znaleźć przyczynę powstawania problemu. W artykule dokonano przeglądu czynników wpływających na powstawanie zmętnień w piwie oraz zaproponowano metody identyfikacji zmętnień, w tym metody barwienia, analizy mikroskopowe i enzymatyczne.

Wstęp

Piwo jest jednym z najstarszych i najczęściej spożywanych napojów alkoholowych na świecie. Jest rodzajem roztworu koloidalnego o bardzo złożonym składzie i stosunkowo słabej stabilności. Pojawianie się zmętnień w piwie jest poważnym problemem jakościowym, ponieważ wpływa przede wszystkim na trwałość, smak i odbiór piwa przez konsumenta. Zmętnienia są powodowane przez zawieszone w cieczy, nierozpuszczalne cząstki, które najczęściej można dostrzec „gotym okiem”. Cząstki tworzące zmętnienia można podzielić zasadniczo na trzy grupy:

- cząsteczki rodzime, pochodzące z surowców, które naturalnie występują w piwie i mogą pojawiać się w postaci zmętnienia na skutek koagulacji/strącania (białka, polifenole, drożdże)
- cząsteczki procesowe, które mogą przedostać się do piwa w trakcie procesu produkcji (tj. środki pomocnicze używane do filtracji piwa)
- cząsteczki obce, które przypadkowo dostają się do piwa (mikroodłamki szkła, kawałki etykiety).

Pierwszą grupę cząstek można podzielić dodatkowo na biologiczne i niebiologiczne. Biologiczne są to różnego rodzaju mikro-

organizmy stosowane podczas produkcji lub przedostające się do piwa z powodu złej higieny. Ten rodzaj cząstek można łatwo wyeliminować, stosując filtrację, czy zachowując odpowiednią higienę podczas produkcji i przechowywania piwa [2]. Cząstki niebiologiczne są cięższe do wyeliminowania, ponieważ są to wielkocząsteczkowe substancje zawarte w piwie, takie jak: białka, polifenole, dekstryny, α -glukan itp. [5]. Piwo jest klarowne tylko przez pewien czas po wytworzeniu. W czasie transportu i przechowywania piwa substancje w nim zawarte ulegają przemianom, łączą się w większe konglomeraty, powodując powstawanie zmętnień [21].

Europejska Konwencja Browarnicza (EBC) dzieli zmętnienie niebiologiczne na dwa typy: zmętnienie zimne (chill haze) i zmętnienie trwałe (permanent haze). Zmętnienie zimne tworzy się, gdy piwo jest schłodzone do 0 °C i jest odwracalne, czyli rozpuszcza się w wyższych temperaturach. Powstaje, gdy białka i polifenole są połączone wiązaniem niekowalencyjnym. Cząstki zmętnienia zimnego małe i mają rozmiar od 0,1 do 1,0 μ m. Natomiast trwałe zmętnienie to takie, które jest obecne w piwie ciepłym. Początkowo tworzy się w ten sam sposób co zmętnienie zimne, ale z czasem pomiędzy cząsteczkami tworzą się wiązania kowalencyjne, przez co powstają nierozpuszczalne kompleksy [1, 17]. Cząstki zmętnienia trwałego są większe, mają średnicę od 1 do 10 μ m. Ogólnie rzecz biorąc, zmętnienie zimne jest prekursorem zmętnienia trwałego, a trwałe zmętnienie jest produktem dalszej polimeryzacji zmętnienia zimnego [1].

Składniki powodujące zmętnienia w piwie

Białka

Źródłem białek w piwie jest główny surowiec używany do produkcji, czyli sód jęczmienny. Białka stanowią ok. 10% suchej masy siodu, z czego tylko 40% są to białka rozpuszczalne, czyli takie, które przechodzą ze siodu do brzezki w trakcie zacierania [7]. Tak więc w 100 g siodu, jest około 10 g białka, z czego tylko 4 g rozpuszcza się w brzezce (rys. 1). Z tych 4 g, tylko 2% są białkami koagulującymi, czyli takimi, które piwowar jest w stanie usunąć w trakcie gotowania brzezki. Białka wysokocząsteczkowe (>40 kDa)

Rozmiar białka, udział w piwie	metoda wytrącania / frakcja białek	
>40 tys.	2,2%	głównie koagulujące M ₂ SO ₄ wysokocząsteczkowe 33%
30-60 tys.	0,6%	
12-30 tys.	0,6%	
4,6-12 tys.	12%	
2,6-4,6 tys.	18%	
150-2600	50%	średnicząsteczkowy 14%
		niskocząsteczkowy 36%
<150	17%	wolny azot aminowy (FAN) 17%
SUMA	100%	

Rys. 1. Frakcje białek i ich procentowy udział w piwie. Tabela przygotowana na podstawie [8]

stanowią około 31% białek w piwie i odpowiadają za otrzymanie stabilnej piany, natomiast te, które determinują powstawanie zmętnień w piwie, to średnio (15–40 kDa) i niskocząsteczkowe białka (<15 kDa), których jest ilościowo najwięcej: 50% [6, 9, 22]. Proces zacierania ma największy wpływ na ilość białka w piwie. Jeżeli proces prowadzi się w temperaturze 48–52 °C piwo może zawierać mniej białka całkowitego, ale więcej białek HA (ang. haze active) [13]. Białkami aktywnymi (HA) pochodzącymi z jęczmienia są: hordeina, albumina i globulina [22].

Rozpuszczone w brzeczce białka można częściowo usunąć na różnych etapach produkcji: podczas gotowania (osady gorące), fermentacji (osady zimne) lub podczas dojrzewania (usunięcie razem z drożdżami). Jeżeli któryś z etapów jest niewłaściwie poprowadzony, to w piwie uzyskamy większą ilość białek, które z czasem będą powodowały zmętnienia. Wykazano, że już 2 mg/l białka wystarcza do wzrostu zmętnienia piwa o 1 jednostkę EBC [12].

Polifenole

Kiedy mówimy o polifenolach w piwie, to kojarzą się one głównie z chmielem, jednak aż 80% z nich pochodzi ze słodu, a tylko 20% z chmielu [4]. Powszechnie wiadomo, że polifenole odgrywają ważną rolę w piwowarstwie, są związkami ściśle wpływającymi na aromat i smak piwa [10]. Związki te mają również duży wpływ na stabilność koloidalną, zmiatają wolne rodniki, co wpływa na wydłużenie trwałości piwa [20]. Ze względu na ich masę cząsteczkową, można je podzielić na związki garbnikowe (500–3000 Da) i niegarbnikowe (<500 Da lub >3000 Da). Pierwsze z nich – taniny powodują charakterystyczną goryczkę w piwie i są głównymi substratami do tworzenia zmętnień. Związki o masie poniżej 500 Da to głównie: kwasy fenolowe, flawanole i flawonole. Korzystanie wpływają one na stabilność piwa, jednak utleniając się łączą się w większe formacje powodując zmętnienie. Natomiast polifenole o masie cząsteczkowej powyżej 3000 Da łatwo się wytrącają i większość zostaje usunięta podczas gotowania brzeczki (4, 19).

Polifenole są bardzo atrakcyjne dla białek HA, mogą one łączyć się, tworząc rozpuszczalne kompleksy. Wzajemny stosunek białek i polifenoli

ma duży wpływ na ilość i trwałość powstałych cząstek. Gdy liczba końców wiązań polifenoli jest równa ilości miejsc wiązania w białkach, wówczas powstaje najwięcej kompleksów białko-polifenol [3,16, 21].

Glukany

Glukany są to związki należące do polisacharydów obecne w jęczmieniu i słodzie. Złożone są z cząsteczek D-glukozy połączonych wiązaniami glikozydowymi. Jeżeli glukoza (od 3 do 14 cząstek) jest połączona wiązaniami α -1,4-glikozydowymi, to wtedy mówimy o dekstrynach, natomiast jeżeli cząsteczki monomeru połączone są wiązaniami β -1,3 i β -1,6 glikozydowymi, to wówczas mówimy o β -glukanie [14]. Glukany

Kraków School of Brewing
est. 2016

Brewing ideas.

Skorzystaj z promocji EARLY BIRD* (rabat -20%)

szkolenia piwowskie
Zarejestruj się!

Investuj w siebie i rozwijaj swoją karierę.

Szkolenia

- Woda w browarnictwie **8.07.2022**
- Fermentacja i dojrzewanie piwa **15.07.2022**
- Ocena organoleptyczna piwa **21-22.07.2022**
- Analiza jakości słodu (szkolenie laboratoryjne) **29.07.2022**

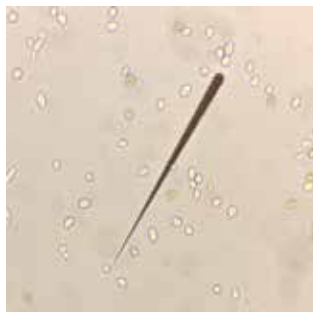
DYPLOWANY PIWOWAR

- 200h zajęć
- Kurs sensoryczny
- Jakość surowców
- Jakość piwa

Aktualnie prowadzimy też nabór na studia podyplomowe. Szczegóły na dyplomowanypiwowar.edu.pl

* Wczesna rejestracja się opłaca! Zarejestruj się najpóźniej 7 dni przed terminem szkolenia i skorzystaj z 20% rabatu od ceny regularnej.

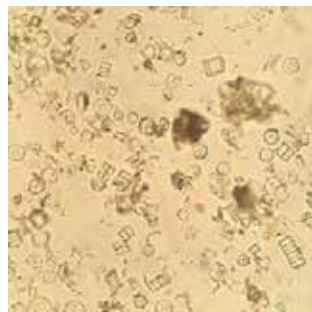
ksb.edu.pl



Rys. 2. Drożdże w osadzie piwnym. Zdjęcie własne



Rys. 3. Kryształki szczawianu wapnia (zielone). Zdjęcie własne



Rys. 4. Ziemia okrzemkowa w osadzie piwnym. Zdjęcie własne

Zanieczyszczenia nieorganiczne

Wszystkie cząstki, które nie pochodzą z surowców używanych do produkcji, stanowią zanieczyszczenia nieorganiczne. Mogą to być: drobiny kurzu, mikroodłamki szkła, pozostałości etykiet czy środków pomocniczych stosowanych do filtracji [18]. Najczęściej spotykanymi cząstkami nieorganicznymi są ziemia okrzemkowa i PVPP – środki stosowane do filtracji i stabilizacji koloidalnej piwa. Mogą one przedostać się

pochodzą głównie ze ścian komórkowych bielma jęczmienia. Przechodzą do piwa głównie podczas zacierania, jeżeli skrobia nie zostaje w pełni zdegradowana. Może się to zdarzyć, jeżeli źle dobierzemy profil zacierania (nieodpowiednie temperatury lub zbyt krótkie przerwy) lub gdy sód zostanie nieodpowiednio rozdrobniony i enzymy nie będą mogły dotrzeć do części ziaren skrobiowych. Zmętnienie tzw. skrobiowe może się też pojawić, jeżeli temperatura w trakcie filtracji zaciera jest zbyt wysoka. Dochodzi do kleikowania nierozłożonej podczas zacierania skrobi, ale wysoka temperatura inaktywuje enzymy amylolityczne, które mogłyby ją jeszcze rozłożyć. Wówczas skrobia przedostaje się do brzezki, później do piwa i powoduje problemy ze zmętnieniem [11, 15].

Jeśli chodzi o β -glukan, to jest on obecny w ścianie komórkowej bielma i zostaje częściowo rozłożony podczas procesu słodowania. Niestety niewłaściwie poprowadzone słodowanie może skutkować złym rozluźnieniem słodu i problemami w trakcie filtracji [11].

Szczawian wapnia

Zmętnienie w piwie może być również spowodowane przez kryształki szczawianu wapnia, który powstaje z kwasu szczawowego (zawartego naturalnie w łusce ziarna jęczmienia) i wapnia (głównie z wody) [18]. W słodzie pszenicznym zawartość kwasu szczawowego jest większa niż w słodzie jęczmiennym, dlatego przy warzeniu piw pszenicznych warto szczególnie kontrolować zawartość jonów wapnia. Jeżeli w wodzie technologicznej używanej do produkcji piwa zawartość jonów wapnia jest niewystarczająca, aby umożliwić wytrącenie się szczawianu na różnych etapach procesu, to kryształki szczawianów będą wytrącały się po filtracji i butelkowaniu piwa tworząc osad [2]. W celu zapewnienia odpowiedniego wytrącania kryształów szczawianu wapnia i uniknięcia powstania osadów, należy kontrolować ilość wapnia w wodzie technologicznej.

Mikroorganizmy

Każdego roku na rynku pojawiają się piwa tzw. żywe, które są niefiltrowane i niepasteryzowane, przez co obecne są w nich komórki drożdży. W niektórych stylach osad drożdżowy jest pożądanym (np. w Hefeweizen), jednak w większości piw drożdże na dnie butelki niekoniecznie są atutem. W piwach, w których obserwuje się występowanie nadmiernego zmętnienia, bardzo często powodem są nieodpowiednio usunięte drożdże [18]. Zdarza się, że w czasie przechowywania piwa drożdże nadal „pracują”, powodując jego przegazowanie się i nadmierne wypienianie z butelki. Aby ograniczyć zmętnienie drożdżowe należy zapewnić odpowiednią flokulację i sedymentację drożdży po zakończonej fermentacji. Piwo należy mocno schłodzić, najlepiej do temperatury bliskiej 0 °C [2], co pozwoli na lepsze wytrącenie się cząstek i umożliwi usunięcie je z piwa.

do piwa poprzez uszkodzone filtry pułapkowe, tworząc zmętnienie [21].

Identyfikacja zmętnień

Piwo po wyprodukowaniu jest klarowne tylko przez krótki czas, dlatego koloidalne zmętnienie piwa jest czymś normalnym. Jednak od czasu do czasu mogą pojawiać się problemy z nadmiernym zmętnieniem piwa, dlatego ważne jest, żeby potrafić zidentyfikować źródło problemu i podjąć działania zapobiegające.

W pierwszej kolejności należy skontrolować pH piwa. Piwo powinno mieć pH w zakresie 4,2–4,5. Jeżeli jest zbyt niskie (< 4,0) to już może świadczyć o zakażeniu piwa. Zakażenie bakteriami (najczęściej mlekowymi lub octowymi) wynika z niewłaściwej higieny podczas produkcji i może być powodem wzrostu zmętnienia piwa. Jeżeli po zbadaniu pH wykluczy się zakażenie, to można przejść do innych metod identyfikacji.

Zmętnienie w piwie często występuje w bardzo małych ilościach, blisko dna butelki, dlatego aby uzyskać wystarczającą ilość materiału do badań piwo należy zdekantować lub najlepiej odwirować. W zależności od ilości odzyskanego materiału można następnie wybrać rodzaj badania. Najłatwiejszym i najszybszym sposobem identyfikacji osadów jest analiza mikroskopowa. Za pomocą mikroskopu optycznego, pod obiektywem 40x lub 100x można zobaczyć m.in. drożdże (rys. 2), kryształki szczawianu wapnia (rys. 3), czy ziemię okrzemkową (rys. 4). Z uwagi na ich charakterystyczny kształt są łatwe do zidentyfikowania.

Jeżeli mamy problem z identyfikacją danego składnika, możemy wspomóc się odpowiednimi barwnikami. Tak na przykład błękit metylenowy barwi na niebiesko martwe drożdże i kompleksy białkowo-polifenolowe, jod (zawarty w płynie Lugola) tworzy ciemno granatowe kompleksy ze skrobią, eozyna żółtawa barwi białka na kolor różowy, a czerwień Kongo jest specyficznym barwnikiem łączącym się z cząsteczkami β -glukanu.

Jeżeli analiza mikroskopowa jest niewystarczająca, to kolejną metodą identyfikacji osadów może być identyfikacja enzymatyczna. Do piwa dodaje się preparaty enzymatyczne o aktywności konkretnych enzymów: α -amylaza rozkłada zawartą w piwie skrobię, peptydaza powoduje degradację białek, natomiast β -glukanaza rozkłada znajdujący się w piwie β -glukan. Jeżeli po dodaniu danego enzymu do piwa jego zmętnienie zmaleje, to znak, że zmętnienie jest spowodowane właśnie przez ten czynnik.

Metody identyfikacji zmętnień są pomocne w poznaniu przyczyny niepożądanych zmian jakościowych piwa. Znając przyczynę wystąpienia zmętnień możemy wnioskować, czy należy przywrócić kwestii surow-

ców, procesu, czy może metod przechowania piwa zanim trafi do kufła konsumenta. Krakowska Szkoła Browarnicza specjalizuje się w identyfikacji zmętnień i wspieraniu konsultingiem browarów, które borykają się z brakiem stabilności koloidalnej swojego piwa.

Literatura

- [1] Bamforth C. W. Beer haze. 1999. In: *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. Taylor & Francis, Vol.57pp.81–90.
- [2] Bamforth C. W. 2009. *Handbook of alcoholic beverages series: beer a quality perspective*.
- [3] Baxter N. J., T. H. Lilley, E. Haslam, and M. P. Williamson. 1997. Multiple interactions between polyphenols and a salivary proline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. *Biochemistry* (online). 10.1021/bi9700328.
- [4] Biendl M. Hops and Health. 2009 (online). 10.1094/TQ-46-2-0416-01.
- [5] Cai G., X. Li, C. Zhang, M. Zhang, and J. Lu. 2016. Dextrin as the main turbidity components in wort produced from major malting barley cultivars of Jiangsu province in China. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 10.1002/jib.356.
- [6] Djurtoft R. 1965. COMPOSITION OF THE PROTEIN AND POLYPEPTIDE FRACTION OF EBC BEER HAZE PREPARATIONS. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 10.1002/j.2050-0416.1965.tb02062.x.
- [7] Faltermaier A., D. Waters, T. Becker, E. Arendt, and M. Gastl. 2013. Protein modifications and metabolic changes taking place during the malting of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of the American Society of Brewing Chemists* (online). 10.1094/ASBCJ-2013-0613-01.
- [8] Gorinstein S., M. Zemser, F. Vargas-Albores, J. L. Ochoa, O. Paredes-Lopez, C. Scheler, et al. 1999. Proteins and amino acids in beers, their contents and relationships with other analytical data. *Food Chemistry* (online). 10.1016/S0308-8146(99)00071-0.
- [9] Iimure T., N. Nankaku, M. Watanabe-Sugimoto, N. Hirota, Z. Tiansu, M. Kihara, et al. 2009. Identification of novel haze-active beer proteins by proteome analysis. *Journal of Cereal Science* (online). 10.1016/j.jcs.2008.08.004.
- [10] Iyuke S. E., E. M. Madigoe, and R. Maponya. 2008. The effect of hydroxycinnamic acids and volatile phenols on beer quality. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 10.1002/j.2050-0416.2008.tb00773.x.
- [11] Jin Y. L., R. A. Speers, A. T. Paulson, and R. J. Stewart. 2004. Effects of α -glucans, shearing, and environmental factors on wort filtration performance. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* (online). 10.1094/asbcj-62-0155.
- [12] Kaersgaard P., and J. Hejgaard. 1979. ANTIGENIC BEER MACROMOLECULES AN EXPERIMENTAL SURVEY OF PURIFICATION METHODS. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 10.1002/j.2050-0416.1979.tb06836.x.
- [13] Leiper K. A., G. G. Stewart, and I. P. McKeown. 2003. Beer polypeptides and silica gel: Part I. Polypeptides involved in haze formation. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 10.1002/j.2050-0416.2003.tb00594.x.
- [14] MacLeod A., C. Adam, A. Budde, T. Chicos, K. Churchill, S. Jenson, et al. 2011. Determination of α -glucan in wort by segmented flow analysis. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* (online). 10.1094/ASBCJ-2011-1021-02.
- [15] Mastanjević K., V. Krstanović, J. Lukinac, M. Jukić, Z. Vulin, and K. Mastanjević. 2018. Beer—the importance of colloidal stability (non-biological haze). 4 (4) :91.
- [16] McMurrough I., D. Madigan, R. J. Kelly, and M. R. Smyth. 1996. The role of flavanoid polyphenols in beer stability. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* (online). 10.1094/asbj-54-0141.
- [17] Siebert K. J., L. E. Stenroos, and D. S. Reid. 1981. Characterization of Amorphous-Particle Haze. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* (online). 10.1094/asbcj-39-0001.
- [18] Steiner E., T. Becker, and M. Gastl. 2010. Turbidity and haze formation in beer – insights and overview. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 10.1002/j.2050-0416.2010.tb00787.x.
- [19] Stevens J. F., M. Ivancic, V. L. Hsu, and M. L. Deinzer. 1997. Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*. *Phytochemistry* (online). 10.1016/S0031-9422(96)00744-3.
- [20] Uchida M., and M. Ono. 1996. Improvement for oxidative flavor stability of beer – Role of OH-radical in beer oxidation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* (online). 10.1094/asbj-54-0198.
- [21] Wang Y., and L. Ye. 2021. Haze in beer: Its formation and alleviating strategies, from a protein–polyphenol complex angle. *Foods* (online). 10.3390/foods10123114.
- [22] Ye L., Y. Huang, M. Li, C. Li, and G. Zhang. 2016. The chemical components in malt associated with haze formation in beer. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 10.1002/jib.353.

www.cku.upwr.edu.pl/technologie-piwowarstwa

STUDIA
PODYPLOMOWE

Technologia piwowarstwa



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

W programie zajęcia praktyczne realizowane w laboratoriach i lokalnych browarach.

Studia prowadzone przez naukowców i praktyków – specjalistów w zakresie technologii produkcji piwa, analizy instrumentalnej i sensorycznej, projektowania, ekonomii i prawa.

Kontakt: piwowarstwo@upwr.edu.pl

Z nami poznasz:

- » surowce stosowane w browarnictwie
- » technologię produkcji piw górnej i dolnej fermentacji
- » sposoby oceny jakości surowców oraz produktów finalnych
- » prawne i ekonomiczne aspekty produkcji piwa w Polsce i krajach UE
- » podstawy projektowania, organizacji i funkcjonowania minibrowaru

Studia trwają 2 semestry.

Nabór od maja 2022 r.
Liczba miejsc ograniczona!

Opłata za studia: **5 800 zł**