Hodnocení piva metodami senzorické analýzy a plynové chromatografie*

NGUYEN THI THU HUONG[1], HELENA VALENTOVÁ[1], JAN VELÍŠEK[1], JAROSLAV ČEPIČKA[2], JAN POKORNÝ[1], FRANTIŠEK PUDIL[1]

[1]Institute of Chemical Technology – Department of Food Chemistry and Analysis,
[2]Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering, Prague, Czech Republic

Abstract

NGUYEN THI THU HUONG, VALENTOVÁ H., VELÍŠEK J., ČEPIČKA J., POKORNÝ J., PUDIL F. (2000): **Evaluation of beer by sensory and gas chromatography analysis**. Czech J. Food Sci., **18**: 245–250.

The composition of beer volatiles (105 substances) and their changes caused by pasteurization and storage were determined by dynamic-headspace gas-liquid chromatography. The sensory analysis consisted of combined hedonic evaluation and sensory profiling (31 descriptors) using unstructured graphical scales. The results obtained by either gas chromatography or sensory analysis were evaluated by linear discriminant analysis which enables classification of samples to groups according to intensity of pasteurization and storage time. The two blocks of analytical data were further compared using partial least squares regression analysis which allows prediction of possible relationships between the individual substances and their flavour attributes.

Key words: beer; pasteurization; storage; sensory analysis; gas chromatography; flavour changes; volatiles; linear discriminant analysis; partial least squares analysis

Souhrn

NGUYEN THI THU HUONG, VALENTOVÁ H., VELÍŠEK J., ČEPIČKA J., POKORNÝ J., PUDIL F. (2000): **Hodnocení piva metodami senzorické analýzy a plynové chromatografie**. Czech J. Food Sci., **18**: 245–250.

Metodou plynové chromatografie (dynamické head-space analýzy) bylo sledováno složení těkavých látek piva (105 sloučenin) a jejich změny vyvolané pasterací a skladováním. Senzorická analýza byla prováděna kombinací hedonického hodnocení a profilové metody za použití grafické nestrukturované stupnice s 31 deskriptory. Výsledky analýz plynovou chromatografií byly hodnoceny metodou lineární diskriminační analýzy, která je vhodná pro klasifikaci vzorků do skupin podle stupně pasterace a doby skladování. Oba soubory dat byly dále hodnoceny metodou částečných nejmenších čtverců, která umožňuje předpověď souvislostí mezi individuálními sloučeninami a charakterem jejich aroma.

Klíčová slova: pivo; pasterace; skladování; senzorická analýza; plynová chromatografie; změny aroma; těkavé látky; lineární diskriminační analýza; analýza částečných nejmenších čtverců

Podle dnešních hrubých odhadů se pivu nachází asi 800 různých sloučenin, které mohou žádoucím nebo nežádoucím způsobem ovlivňovat organoleptické vlastnosti piva, zejména jeho vůni a chuť (aroma). Primární aromatické látky mají původ v použitých surovinách (ječmen, chmel, jejich náhražky a také voda). Sekundární aromatické látky vznikají enzymovými a neenzymovými reakcemi v různých fázích výroby piva a také jako důsledek kontaminace cizími mikroorganismy i dalšími reakcemi.

K systematickému studiu aroma piva se dnes přistupuje v zásadě dvojím způsobem. Jedním je popisný systém vůní a chutí piva a druhým je znalost struktury aromatických látek (jejich identifikace) a jejich organoleptických vlastností. K určení významu jednotlivých sloučenin slouží nejčastěji číselný údaj nazývaný specifická jednotka aroma, existují však i další metody (ŠAVEL 1999).

Důležitým problémem pivovarství je tzv. stárnutí piva při skladování a s ním spojené změny chuti a vůně, které vedou ke zhoršení jeho organoleptických vlastností (KAMIMURA, KANEDA 1992; LINSKENS, JACKSON 1988; MEILGAARD *et al.* 1986). Ke zhoršení organoleptických vlastností piva dochází také pasterací (POLLOCK 1981).

Metodami senzorické analýzy jsme studovali změny, které negativně ovlivňují chuť a vůni pasterovaného a skla-

*Tato práce byla částečně řešena jako součást výzkumného záměru CEZ: J19/98: 223300004 financovaného MŠMT ČR.

dovaného piva a současně jsme analyzovali těkavé složky piva plynovou chromatografií. Cílem práce bylo hodnocení obou takto získaných souborů dat vícerozměrnými statistickými metodami, které umožňují určit souvislosti mezi výsledky senzorické analýzy (vybranými deskriptory aroma) a výsledky získanými instrumentálními metodami a poskytnout tak informace o možném působení některých látek na chuť a vůni piva.

MATERIÁL

Celkem bylo hodnoceno 120 vzorků čerstvého a po dobu 7 měsíců skladovaného nepasterovaného a v laboratoři pasterovaného piva značky Staropramen (12 %, světlé) a 24 vzorků čerstvého a skladovaného piva pasterovaného v pivovaru. Bližší údaje o pasteraci a skladování piva uvádějí NGUYEN THI THU HUONG *et al.* (2000).

METODY

Metody senzorické analýzy: Piva hodnotila skupina dvanácti školených osob. Pivo bylo analyzováno metodou senzorického profilu, který se skládal z 31 deskriptorů. K hodnocení byly použity nestrukturované grafické stupnice představované úsečkami délky 100 mm, orientované popisem krajních bodů. K statistickému hodnocení byly použity výsledky získané jako aritmetický průměr hodnocení všech posuzovatelů (NGUYEN THI THU HUONG 1998).

Metody plynové chromatografie a přístroje: Stanovení těkavých složek piva bylo prováděno dynamickou headspace metodou. Před analýzou bylo pivo temperováno 1 h při laboratorní teplotě a poté bylo 500 ml piva převedeno do 1000ml Erenmeyerovy baňky. K baňce byla připojena trubice (délky 160 mm o vnitřním průměru 2,5 mm) obsahující 100 mg sorbentu Tenax (TA) a vzorkem piva bylo probubláno 1000 ml dusíku při průtoku 40 ml/min.

Po desorpci vody zachycené na sorbentu 100 ml dusíku při 50 °C (průtok 20 ml/min) byla trubice se sorbovanými sloučeninami přenesena do zařízení pro termickou desorpci (Thermal Desorption Cold Trap Injector firmy Chrompack, Middelburg, Nizozemsko), spojeného s injektorem plynového chromatografu Hewlett-Packard, model 5890A, série II (Palo Alto, USA). Zařízení bylo provozováno takto: chlazení kapiláry na teplotu –90 °C kapalným dusíkem, vyhřívání sorbentu na 225 °C po dobu 10 min a současné chlazení kapiláry na teplotu –90 až –95 °C, vyhřívání kapiláry na 170 °C po dobu 5 min (desorpce sorbovaných sloučenin). Plynový chromatograf byl vybaven plamenovým ionizačním detektorem a křemennou kapilární kolonou HP-Inowax (Hewlett-Packard) (délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, tloušťka filmu 0,50 μm). Teplota injektoru byla 150 °C a teplota detektoru 300 °C. Teplotní režim kolony byl programován od 50 do 60 °C s rychlostí nárůstu 2 °C/min a od 60 do 210 °C s rychlostí nárůstu 5 °C/min. Průtok nosného plynu (dusíku) byl 2 ml/min.

Pro kvantitativní analýzu byla použita metoda vnitřního standardu (roztok 1-hexanolu v diethyletheru o koncentraci 400 mg/l), který byl před desorpcí zachycených sloučenin nastřikován v množství 2 μl do trubice se sorbentem.

Statistické metody: K statistickému zpracování získaných dat byl použit počítač kompatibilní s IBM/PC. Pro analýzu hlavních komponent – PCA (Principal Components Analysis) a postupnou lineární diskriminační analýzu – SLDA (Stepwise Linear Discrimination Analysis) byl používán program SPSS/PC for Windows, V 7.0, firmy SPSS GmbH (Mnichov, Německo) a program Statistica for Windows, V 4.3, firmy StatSoft Inc. (Tulsa, USA). Analýza dat metodou hlavních nejmenších čtverců – PLS (Partial Least Squares) byla prováděna pomocí programu Unscramber V 5.5, firmy Camo A/S (Trondheim, Norsko).

VÝSLEDKY A DISKUSE

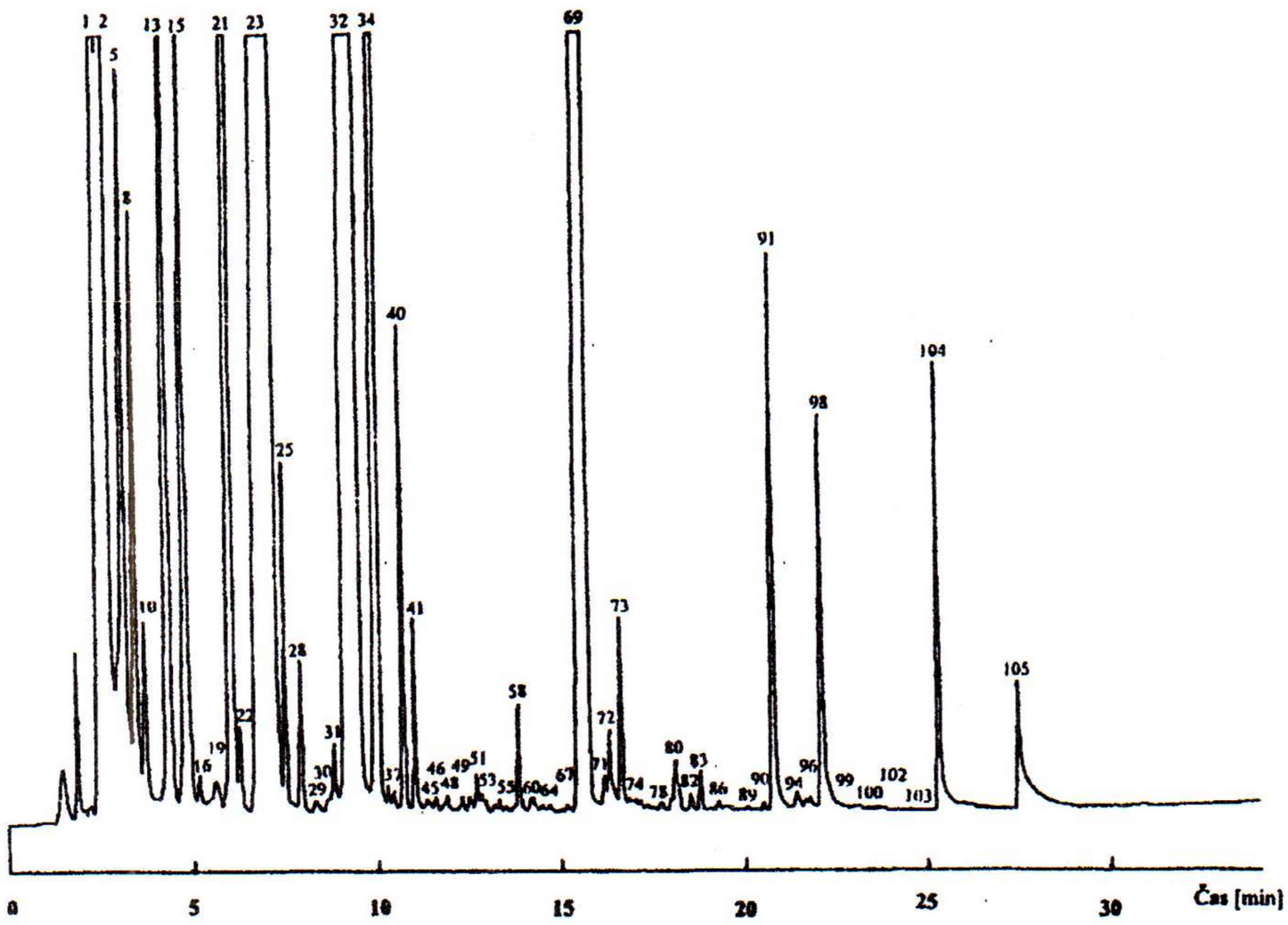
Již dříve bylo prokázáno (NGUYEN THI THU HUONG *et al.* 1999), že některé vícerozměrné statistické metody, jmenovitě PCA a SLDA, jsou vhodné k hodnocení dat získaných senzorickou analýzou, neboť umožňují rozlišit piva podle intenzity pasterace a doby skladování. Senzorická analýza je však poměrně pracná, zdlouhavá a nákladná záležitost. Zajímalo nás proto, zda lze pasterovaná a skladovaná piva analyzovat také instrumentálními metodami a zda lze získané výsledky použít ke klasifikaci vzorků podobně jako tomu bylo u výsledků senzorické analýzy. Zajímali nás i možné souvislosti mezi výsledky senzorické analýzy a jednotlivými těkavými složkami aroma. Pro tyto účely byly použity dvě vícerozměrné statistické metody, metoda SLDA (vhodnější pro tyto účely než metoda PCA) a metoda PLS.

U 144 čerstvých, skladovaných, pasterovaných a nepasterovaných piv byl stanoven obsah celkem 105 těkavých složek. Typický chromatogram získaný analýzou čerstvého nepasterovaného piva je uveden na obr. 1. Po pasteraci a zejména během skladování piv se obsah řady aromatických látek měnil, u mnoha původně minoritních složek docházelo k nárůstu jejich koncentrací, u řady složek se koncentrace snižovaly. Původní data uvádí NGUYEN THI THU HUONG (1998).

Lineární diskriminační analýza: Analyzovaných 120 druhů piv bylo předem rozděleno do čtyř skupin (čerstvá a skladovaná 1 týden, skladovaná 2 měsíce, skladovaná 4 měsíce a skladovaná 6 měsíců). Účelem bylo určení těkavých látek, které mají největší význam pro rozdělení piv do skupin podle zvoleného atributu (doby skladování).

Metoda SLDA prokázala, že pro rozlišení vzorků do čtyř skupin bylo zapotřebí pouze sedm těkavých složek ze 105 celkově analyzovaných. V sestupném pořadí podle významu pro tuto klasifikaci se jednalo o minoritní složky aroma, látky s pořadovým číslem 7, 97, 84, 37, 18, 6 a 64 (obr. 1).

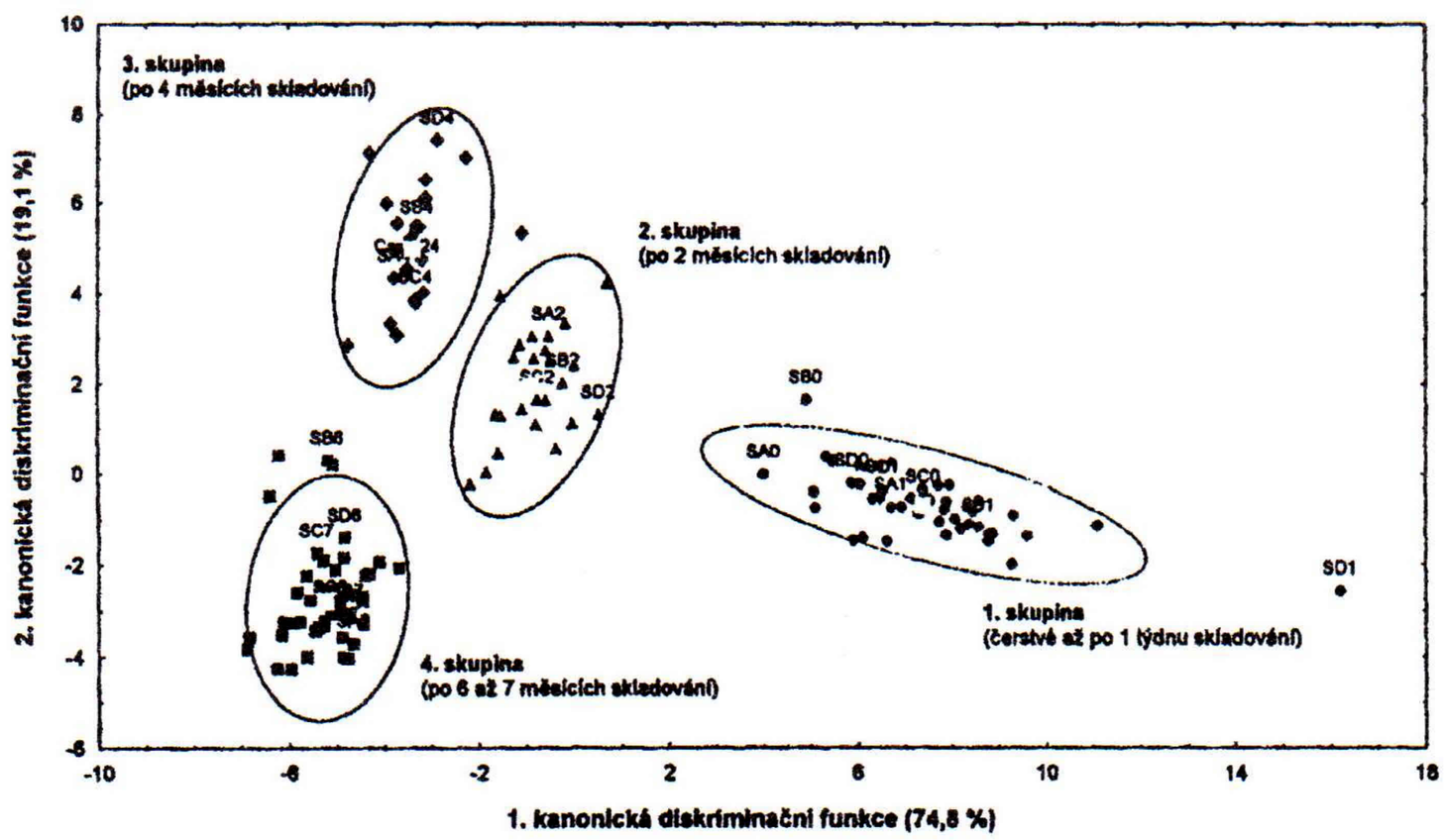
V kalibračním souboru bylo 100 % správně zařazených vzorků. Pomocí kalibračního souboru byly rovněž ze



1. Typický chromatogram těkavých aromatických látek čerstvých piv – Typical chromatogram of fresh beer volatile

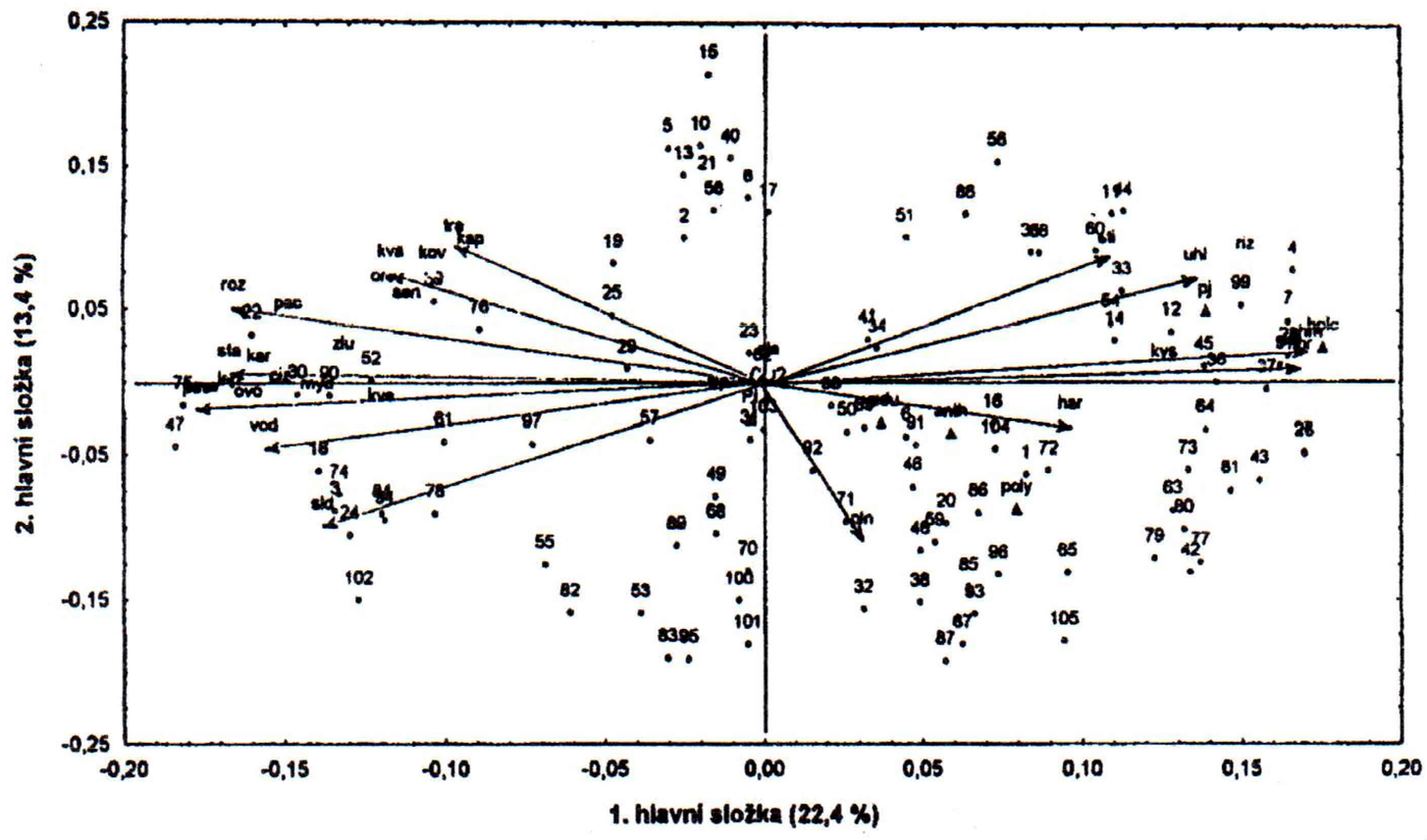
100 % správně zařazeny neznámé vzorky piv (24 piv pasterovaných v pivovaru – obr. 2). Hodnocení tedy prokázalo použitelnost dat získaných metodou plynové chromatografie ke sledování změn aroma piv způsobených pasterací a skladováním.

Metoda částečných nejmenších čtverců: Souvislosti mezi deskriptory senzorické analýzy a výsledky analýzy chemického složení aroma lze nejlépe řešit metodou PLS, která souvisí s metodou analýzy hlavních komponent a vícenásobnou regresní analýzou. Metoda PLS ukázala, že k popisu rozptylu dat bylo zapotřebí alespoň 8 hlavních složek, které popisovaly rozptyl dat instrumentální analýzy téměř z 68,3 % a senzorických dat z 64,7 %. Vztahy mezi proměnnými obou souborů dat (senzorická analýza verzus plynová chromatografie) jsou nejlépe patrné po vynesení příslušných saturací v osách prvních dvou hlavních složek (PC). Jako vektory jsou vyneseny deskriptory senzorické analýzy a jako body výsledky stanovení těkavých látek metodou plynové chromatografie. Souvislosti proměnných obou souborů dat jsou jako příklad uve-



neoznačené vzorky = 120 čerstvých nebo skladovaných nepasterovaných a v laboratoři pasterovaných piv – unlabeled samples = 120 fresh or stored, nonpasteurized and laboratory pasteurized beers
SA–SD = 24 paralelně analyzovaných piv pasterovaných v pivovaru (0 za písmenem = čerstvá piva, 1 za písmenem = skladování 1 týden, 2–7 za písmenem = skladování 2–7 měsíců) – SA–SD = 24 parallelly analyzed beers pasteurized in a brewery (0 after the letter = fresh beers, 1 after the letter = 1-week storage, 2–7 after the letter = 2–7 month storage)

2. Klasifikace 144 piv na 4 skupiny podle doby skladování – Classification of 144 beers to 4 groups according to storage time



čísla = č. píku na chromatogramu (obr. 1), zkratka = deskriptor (NGUYEN THI THU HUONG *et al.* 2000) – figures = peak number in chromatogram (Fig. 1), abbreviation = descriptor (NGUYEN THI THU HUONG *et al.* 2000)

3. Relations between the descriptors of sensory analysis and aromatic components – Vztahy mezi deskriptory senzorické analýzy a složkami aroma

deny na obr. 3. Proměnné z obou souborů, které jsou obecně situovány blízko sebe a mají navíc vysoké hodnoty saturací, by spolu mohly souviset.

Z obrázku je patrná těsná korelace mezi deskriptory senzorické analýzy jako jsou chuť po oxidu uhličitém (uhličitá), řízná a štiplavá. Z porovnání poloh proměnných vyplývá, že by mohla existovat např. závislost mezi chutí štiplavou a obsahem těkavých látek č. 11, 35, 44, 60 a 66. Podobně by mohla existovat souvislost mezi chutí hořkou, chmelovým aroma, stejně i celkovým dojmem (celkovou chutností) a sloučeninami, které reprezentují látky č. 12, 14, 28, 36, 37, 45, 4, 7, 64 a 99.

Harmoničnost piva by mohla souviset s látkami č. 26, 27, 42, 43, 63, 64, 72, 73, 77, 79, 80 a 81. Plnost chuti by mohly ovlivňovat i některé těkavé látky, jako jsou č. 32, 38, 48, 67, 70, 87, 93 a 105. Je rovněž vidět souvislost mezi chutí a vůní trávovou, po vařené kapustě, kovovou, kvasnicovou, ořechovou, po senu a obsahem některých látek, jako látky č. 39 a 76. Ukazatele stárnutí piva jako stařinná, lepenková, karamelová, zvětralá chuť a vůně a další nežádoucí deskriptory, v neposlední řadě pasterační příchuť, jsou v možné souvislosti s látkami č. 22, 30, 47, 52, 75 a 90. U sladké, medové chuti a vůně by se mohly uplatnit látky č. 3, 18, 24, 74, 78, 84, 94 a 102. Chuť po rozpouštědlech by mohla spíše souviset s těkavými látkami č. 22, 39 a 76. K vodové chuti by mohly přispívat látky 3, 18, 47, 61 a 97.

Je patrné, že uvedené potenciální souvislosti jsou navíc souvislosti předpokládající pouze pozitivní korelace mezi proměnnými (tzn. čím více látky, tím vyšší hodnota daného deskriptoru). Budou-li se uvažovat i negativní korelace mezi proměnnými, bude situace složitější. O to složitější jsou vztahy mezi jednotlivými dílčími chutěmi a dalšími chemickými složkami piva (těkavé, méně těkavé i netěkavé složky), neboť ve složitém prostředí, jakým pivo bezesporu je, dochází k tzv. antagonismu a synergismu chutí a vůní neboli k interakcím, které souvislosti mezi chemickým složením a výsledným senzorickým vjemem komplikují. V některých případech však mohou být vypočtené vztahy mezi oběma bloky dat alespoň vodítkem pro další studium organoleptických vlastností určitých chemických složek piv. Vzhledem k nízkým hodnotám saturací jsou často popsané souvislosti spíše potenciální než reálné a to platí konečně zcela obecně i v případě vysokých hodnot saturací proměnných. Ověření toho, zda daná těkavá látka skutečně ovlivňuje danou chuť a vůni, může přinést až experiment.

Získané výsledky mohou samozřejmě sloužit pouze jako podklad pro další hlubší studium, ve kterém je nutné významné sloučeniny identifikovat a ověřit jejich organoleptické vlastnosti experimentálně. Celá řada deskriptorů souvisí např. s těkavými látkami, které se z různých důvodů nesledovaly (např. vzhledem k nízké koncentraci), které však vykazovaly nízké prahové hodnoty chuti nebo vůně, nebo méně těkavými látkami, jejichž stanovení neumožní dynamická head-space metoda, přestože tyto látky nepochybně přispívají k celkovému vjemu i dílčím chutím v kombinaci s dalšími složkami piva. Řadu dílčích chutí a vůní lze také připsat netěkavým složkám vzorků, které danou metodou nelze stanovit. Podrobné zkoumání těchto látek by bylo námětem pro další studium.

Literatura

KAMIMURA M., KANEDA H. (1992): Analysis of stored beer. In: CHARLAMBOUS G. (Ed.): Off-flavor in Food and Beverages. Elsevier, Amsterdam: 433–472.

LINSKENS H. F., JACKSON J. F. (1988): Beer Analysis. Vol. 7. Springer, Berlin.

MEILGAARD M. C., PEPPARD T. L., MORTON I. D., MACLEOD M. J. (1986): Food Flavours. Part B. The Flavour of Beverages. Elsevier, Amsterdam, 1986.

NGUYEN THI THU HUONG (1998): Vztahy mezi chemickým složením a senzorickým hodnocením piva. [Disertační práce.] VŠCHT, Praha.

NGUYEN THI THU HUONG, VALENTOVÁ H., VELÍŠEK J., ČEPIČKA J., POKORNÝ J. (2000): Hodnocení kvality piva metodami senzorické analýza. Czech J. Food Sci., **18**: 137–142.

POLLOCK J. R. A. (Ed.) (1981): Brewing Science. Vol. 2. Academic Press, London.

SMITH G. L. (1984): In: PIGGOTT J. R. (Ed.): Sensory Analysis of Foods. Elsevier, London: 305–349.

ŠAVEL J. (1999): In: VELÍŠEK J. (Ed.): Chemie potravin. Ossis, Tábor.

Došlo 18. 11. 1999
Přijato k publikaci 20. 12. 1999

Kontaktní adresa:

Prof. Ing. JAN VELÍŠEK, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav chemie a analýzy potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika, tel.: + 420 2 31 15 217, fax: + 420 2 31 19 990, e-mail: Jan.Velisek@vscht.cz

Změna publikačního jazyka ve vědeckých časopisech České akademie zemědělských věd

Na základě doporučení Vydavatelské rady ČAZV budou od 1. 1. 2001 v časopisu Czech Journal of Food Sciences publikovány všechny příspěvky **pouze v angličtině**.

A change of publication language in Scientific Journals of the Czech Academy of Agricultural Sciences

As recommended by Board of Publishers of the Czech Academy of Agricultural Sciences all papers in Czech Journal of Food Sciences will be published **solety in English** since 1st January 2001.