

# Związki siarki w kształtowaniu stabilności sensorycznej piwa

Sulphur compounds' influence on the sensory stability of beer

dr hab. inż. Aleksander Poreda, prof. URK

Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie  
a.poreda@urk.edu.pl

**Słowa kluczowe:** siarczyny, piwo, stabilność sensoryczna, starzenie piwa  
**Keywords:** sulfites, beer, sensory stability, aging

The article discusses the role of sulfur compounds such as sulfur dioxide (SO<sub>2</sub>), hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S), and glutathione (GSH) in the sensory stability of beer. Both exogenous and endogenous sulfur dioxide, produced by yeast metabolism, serve an antioxidant function, inhibiting beer aging processes. Although hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) has antioxidant properties, it is undesirable due to its unpleasant odor. Sulfites act in a dual manner, as they not only inhibit oxidation reactions but also react with carbonyl compounds, masking the signs of beer aging. Studies show that changes in technological processes, such as protease treatment, can influence the increase in thiol and sulfite concentrations, thereby improving beer stability. Furthermore, the addition of sulfites, applied before the aging processes, is more effective in protecting against oxidation than when added after aging to mask aging carbonyls. An interesting alternative is the development of new yeast strains that produce higher amounts of SO<sub>2</sub> and GSH, while generating lower levels of H<sub>2</sub>S, thus improving beer's resistance against aging. These strategies offer promising prospects for the production of beer with better sensory stability and resistance to aging processes.

W artykule omówiono rolę związków siarki, takich jak: dwutlenek siarki (SO<sub>2</sub>), siarkowodór (H<sub>2</sub>S) oraz glutation (GSH) w stabilności sensorycznej piwa. Dwutlenek siarki, zarówno egzogeny, jak i endogeny, pochodzący z metabolizmu drożdży pełni funkcję przeciwutleniającą, hamując procesy starzenia piwa. Siarkowodór (H<sub>2</sub>S), mimo działania przeciwutleniającego jest niepożądanym ze względu na nieprzyjemny zapach. Siarczyny działają w sposób dualny, oprócz hamowania reakcji utleniania reagują ze związkami karbonylowymi, co maskuje oznaki starzenia piwa. Badania pokazują, że zmiany w procesach technologicznych, jak np. obróbka proteazą, mogą wpływać na wzrost stężenia tioli i siarczynów, poprawiając stabilność piwa. Z kolei dodatek siarczynów, zastosowany przed zachodzeniem procesów starzenia jest bardziej efektywny w ochronie przed utlenianiem niż stosowany już po starzeniu, w celu maskowania karbonyli starzenia. Ciekawą alternatywą jest też wytwarzanie nowych szczepów drożdży, które wytwarzają większe ilości SO<sub>2</sub> i GSH, a mniejsze H<sub>2</sub>S, poprawiając w ten sposób odporność piwa na starzenie. Strategie te oferują perspektywę w produkcji piwa o lepszej stabilności sensorycznej i odporności na procesy starzenia.

## Wstęp – wykorzystanie siarczynów w browarnictwie

Od wieków do żywności dodawane są siarczyny w różnych postaciach. Stosowanie środków siarkujących oraz związków S(IV) w żywności stało się powszechne z uwagi na ich różnorodne funkcje, takie jak: działanie wybielające, przeciwdrobnoustrojowe, wiążące tlen, redukujące oraz inhibitory enzymów. Do środków siarkujących zalicza się dwutlenek siarki oraz kilka form siarczynów, które wytwarzają dwutlenek siarki podczas stosowania w żywności. Należą do nich: dwutlenek siarki (E220), wodorosiarczyn potasu (E228), piro-siarczyn potasu (E224), wodorosiarczyn sodu (E222), piro-siarczyn sodu (E223), siarczyn sodu (E221), siarczyn wapnia (E226) oraz wodorosiarczyn wapnia (E227) (Dyrektywa 95/2/WE (WE, 1995)). Ze

względu na fakt, że wymienione związki mogą przekształcać się w dwutlenek siarki, siarczyny mierzy się i wyraża jako zawartość dwutlenku siarki.

Dwutlenek siarki występujący w piwie powstaje nie tylko w wyniku dodatku środków siarkujących (egzogenny SO<sub>2</sub>), ale także pochodzi z surowców, będąc efektem metabolizmu drożdży (endogeny SO<sub>2</sub>). Drożdże mają zdolność wytwarzania dwutlenku siarki w wyniku redukcji siarczanów pochodzących z wody i słoju. Wybrane badania wykazały, że praktycznie cała pula siarczynów powstająca podczas fermentacji pochodzi z siarczanu obecnego w brzeczce. Intensyfikację wytwarzania SO<sub>2</sub> można osiągnąć poprzez zwiększenie poziomu siarczanów w brzeczce, poprawę klarowności brzeczki, obniżenie natleniania brzeczki oraz obniżenie temperatury fermentacji [2]. W tab. podsumowano możliwości zastosowania dwutlenku siarki w przemyśle piwowarskim.

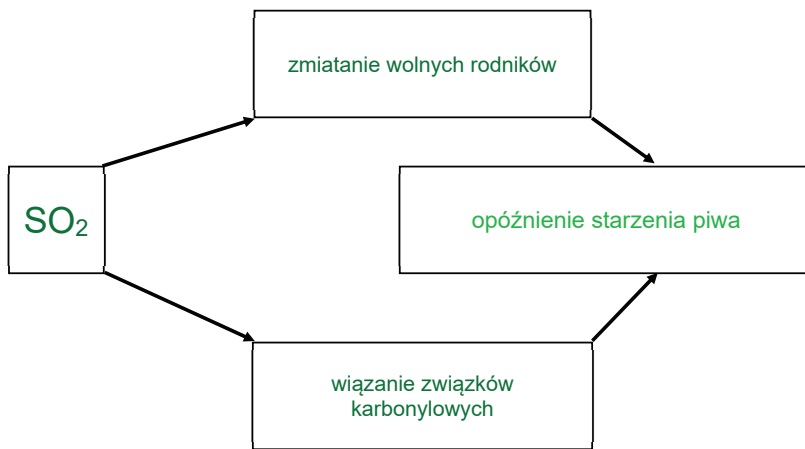
Tab. Wykorzystanie siarczynów w przemyśle browarniczym [2]

Etap produkcyjny	Wykorzystanie i rola siarczynów
Kielkowanie i suszenie słoju	ograniczenie strat, wzrost ekstraktywności słoju, kontrola wytwarzania nitroaminy, obniżenie barwy, wzrost ilości rozpuszczalnego azotu
Suszenie chmielu	działanie rozjaśniające, konserwant
Przechowywanie syropów	działanie konserwujące
Przechowywanie materiałów klarujących	działanie konserwujące
Tank fermentacyjny	ograniczenie wzrostu mikroorganizmów
Enzymy proteolityczne	działanie konserwujące
Dodatek do piwa	antyutleniacz, działanie konserwujące

## Siarczyny w kształtowaniu stabilności sensorycznej piwa

Stabilność sensoryczna piwa jest istotnym parametrem, ponieważ piwo przez cały okres przechowywania powinno spełniać oczekiwania konsumentów oraz utrzymywać swoje pierwotne cechy. Podczas przechowywania piwa świeże nuty smakowe, takie jak goryczka czy charakter estrowy, ulegają osłabieniu, podczas gdy intensywność bodźców związanych ze starzeniem piwa wzrasta. Zmiany te zachodzą w wyniku utleniania, które jest inicjowane przez obecność światła, tlenu oraz temperatury. Istotną rolę w stabilności smaku odgrywają również reakcje Maillarda, które prowadzą do powstawania niepożądanych związków smakowo-zapachowych, takich jak aldehydy Streckera czy furfural.

W browarnictwie stosuje się różne przeciwutleniacze (zgodnie z przepisami prawa obowiązującymi w danym kraju), z których najważniejsze są **dwutlenek siarki** i kwas askorbinowy. Substancje te



Rys. Modelowe przedstawienie sposobu działania siarczynów na stabilność sensoryczną piwa

mogą jedynie chronić piwo przed utlenianiem, ale nie są w stanie naprawić żadnych zmian, które pogarszają jakość piwa, a które wystąpiły wcześniej.

#### Opis mechanizmu wiązania związków karbonylowych

Jeśli chodzi o rolę siarczynów w kształtowaniu stabilności sensorycznej piwa, zaproponowano dualistyczny sposób działania (rys.).

Po pierwsze, siarczyny hamują utlenianie piwa podczas przechowywania, działając jako przeciwutleniacz: wychwytyują rodniki i zapobiegają reakcjom łańcuchowym wolnych rodników. Badania naukowe wykazały, że dodanie do piwa jonów żelaza i  $H_2O_2$  powoduje zwiększenie tempa utleniania, mierzone szybkością zużycia tlenu i tworzenia rodników, w porównaniu z próbami, w których dodano jedynie żelazo lub tylko  $H_2O_2$ . Jest to kluczowy mechanizm utleniania wg reakcji Fentona, prowadzący do utleniania etanolu i tworzenia rodników 1-hydroksyetylowych. W badaniach tych potwierdzono, że pierwotny mechanizm antyoksydacyjny siarczynów polega na konkurowaniu o cząsteczki nadtlenu wodoru, w wyniku czego zachodzi reakcja siarczyny- $H_2O_2$ . Tiole (inna klasa związków zawierających siarkę) również mają właściwości antyoksydacyjne, ale odgrywają drugorzędą rolę jako przeciwutleniacze w piwie, usuwając powstałe rodniki 1-hydroksyetylowe.

Po drugie, siarczyny mogą reagować ze związkami karbonylowymi, tworząc addukty poprzez odwracalne łączenie się z aldehydami i ketonami (w tym cukrami redukującymi, aldehydem octowym, chinonami i ketokwasami), czy resztami cysteiny w białkach. Utworzone addukty są nielotne i dlatego mają znacznie wyższe progi wyczuwalności niż wolne karbonyle, w ten sposób maskowane są oznaki starzenia piwa.

Dzięki działaniu antyutleniającemu dwutlenek siarki jest stopniowo tracony z piwa podczas przechowywania, a szybkość tej reakcji wzrasta wraz ze wzrostem temperatury przechowywania i zależy od początkowego stężenia  $SO_2$ . Przechowywanie piwa w temperaturze  $0^\circ C$  znacznie zmniejsza szybkość utraty  $SO_2$ , ale nie hamuje jej całkowicie, co wykazali już w 1995 r. Ilett i Simpson [2]. Obniżenie temperatury jest zatem głównym środkiem, który można zastosować, aby zminimalizować utratę  $SO_2$  i skutecznie zachować jakość sensoryczną produktu końcowego.

### Sterowanie procesem ukierunkowane na poprawę stabilności sensorycznej piwa dzięki związkom zawierającym siarkę

Z uwagi na fakt, że związki zawierające siarkę wykazują działanie antyoksydacyjne, w wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania ukierunkowane na optymalizację procesów technologicznych, w celu uzyskania odpowiedniego stężenia siarczynów i/lub tioli, i w konsekwencji poprawienia stabilności sensorycznej piwa. Poniżej przedstawione zostanie kilka kluczowych doniesień z ostatnich lat w tej dziedzinie, by wskazać obszary, w których można kontrolować ilość omawianych związków siarki.

#### Enzymy proteolityczne – wzrost ilości białka rozpuszczalnego

Jednym z pierwszych procesów technologicznych jest zacieranie, podczas którego związki wielkocząsteczkowe (głównie skrobia i białka) są hydrolizowane do związków rozpuszczalnych w wodzie. W badaniach Lund i in. (2015) [4] sprawdzono możliwości poprawy stabilności smakowej piwa w wyniku działania dodanej podczas zacierania proteazy, która uwalnia z białek tiole będące przeciwutleniaczami.

Obróbka proteazą spowodowała zwiększenie stężenia tioli pochodzących z białek w świeżym piwie wyprodukowanym w skali pilotażowej, w porównaniu z piwem kontrolnym, które nie było poddane obróbce proteazą. Stabilność oksydacyjna piwa poddanego obróbce proteazą też poprawiła się. Jednak rozkład białka spowodowany zastosowaniem preparatu enzymatycznego doprowadził również do wzrostu ilości siarczynów, co uniemożliwiło jednoznaczne stwierdzenie, czy poprawa stabilności oksydacyjnej była wyłącznie efektem zwiększonego stężenia tioli pochodzących z białek. Rozwój aromatu mokrego kartonu i tworzenie lotnych aldehydów zostało zahamowane, gdy piwo poddane działaniu proteazy było przechowywane w temperaturze  $35^\circ C$ , jednak wynikiem działania proteazy był także wzrost stężenia wolnych aminokwasów w piwie. Skutkowało to bardziej owocowym lub winnym charakterem przechowywanego piwa, na skutek intensywniejszego tworzenia się produktów reakcji Maillarda. Stwierdzono też, że tiole ulegają nieodwracalnemu utlenianiu podczas przechowywania. Aby ograniczyć odczuwalną zmianę aromatu piwa spowodowaną zużyciem tioli jako antyoksydantów należy zadbać o większe stężenie tioli w świeżym piwie.

#### Niższa temperatura zacierania słodu – wzrost ilości białka rozpuszczalnego

W badaniach Kishimoto i in. (2024) [5] uwarzono piwa z zacierów otrzymanych przy różnych początkowych temperaturach zacierania ( $35^\circ C$ ,  $50^\circ C$  i  $65^\circ C$ ). Następnie badano profile smakowe oraz stabilność sensoryczną piw. Piwa wytworzone ze słodów zatartych w temperaturze  $35^\circ C$  i  $50^\circ C$  charakteryzowały się pełniejszym smakiem i aromatem estrowym. Zastosowanie tych wartości temperatury pozwoliło też otrzymać większe wydajności ekstraktu. Zacieranie w temperaturze  $65^\circ C$  spowodowało, że uzyskane piwo charakteryzowało się mniejszą pełnią smakową oraz aromatami słodowymi i tostowymi. Mimo zwiększonej dostępności aminokwasów nie odnotowano istotnego wpływu niższych temperatur zacierania na drożdże. Odmienne temperatury zacierania wpłynęły natomiast na sposób starzenia się uzyskanych piw. Po miesiącu przechowywania w temperaturze  $30^\circ C$ , aromaty mokrego kartonu przeważały w piwach wytworzonych przy początkowej temperaturze zacierania  $35^\circ C$  i  $50^\circ C$ ,

podczas gdy zapachy miodowe i sherry dominowały w piwach zacieranym od temperatury początkowej 65°C. Publikowane badania były przeprowadzone bardzo wnikliwie, zbadano stężenia 14 składników będących wskaźnikami starzenia się piwa typu pils, w tym aldehydów Streckera. Zawartość każdego wskaźnika starzenia piwa znacząco wzrosła po miesiącu przechowywania w temperaturze 30°C, przyczyniając się do intensyfikacji aromatów miodu i sherry, gdy zacieranie prowadzono od 65°C, natomiast (E)-2-nonenal (mokry karton) znacząco wzrósł powyżej progu wyczuwalności w przypadku zacierania od temperatur 35°C i 50°C, a smak papierowy dominował w tym przypadku nad aromatem miodu i sherry. Można wnioskować, że gdy temperatura zacierania jest obniżana w celu uzyskania piwa o pełnych i estrowych cechach, starzenie piwa przebiega w sposób odmienny od piwa zacieranego w wyższych temperaturach.

Reasumując opisane powyżej wyniki badań naukowych można wnioskować, że zwiększenie poziomu wolnego azotu aminowego może przynieść korzyści polegające na większej ilości uwolnionych antyoksydantów (siarczyny i/lub tiole). Jednak lepiej gdyby ta zwiększona rozpuszczalność związków białkowych była osiągnięta przez zastosowanie słodów o wyższej liczbie Kolbacha niż przez zwiększenie działania enzymów proteolitycznych czy obniżenie temperatury początkowej zacierania, co pozwoli uniknąć intensywnego aromatu mokrego kartonu w piwie podczas przechowywania.

#### Dodatek siarczynów

Dostępne są również wyniki badań naukowych analizujących wpływ dodatków siarczynów do piwa w celu ograniczenia procesów starzenia. Bushnell i in. (2003) [6], angażując do badań przeszkolony panel sensoryczny określili cechy starzenia w piwach typu ale i lager. Zbadali, jakie zalety daje dodawanie SO<sub>2</sub> w ilościach, które byłyby dozwolone bez konieczności wskazywania tego dodatku na etykiecie piwa. Dodatek siarczynów stosowano przed forsowaniem termicznym piwa lub po tym procesie. Wyniki analizy sensorycznej odniesiono do wyników analizy stężenia związków karbonylowych w piwach. Obniżenie stężenia karbonyli starzenia było podobne, niezależnie od tego, czy siarczyny dodano przed forsowaniem termicznym piwa, czy po tym procesie. Natomiast panel sensoryczny stwierdził korzyści dodatku siarczynów jedynie wówczas, kiedy ich dodatek zastosowano przed procesem starzenia piwa. Wnioskuje się zatem, że działanie ochronne SO<sub>2</sub> jest raczej związane z działaniem antyutleniającym (spośród dwóch proponowanych modeli działania siarczynów, rys.) niż z procesami wiązania związków karbonylowych poprzez tworzenie adduktów. Jednocześnie panel degustacyjny wykazał również, że częściowe usunięcie polifenoli przez zastosowanie PVPP (poliwinylpolipirrolidonu) nie miało istotnego wpływu na stabilność sensoryczną badanych piw, co wskazuje na to, że działanie przeciwutleniające siarczynów może być bardziej istotne niż polifenoli.

#### Rozwój szczepów wytwarzających większą ilość związków siarki

Związki siarki, takie jak wspomniany już siarczyn (SO<sub>2</sub>), ale też siarkowodór (H<sub>2</sub>S) czy glutation (GSH), odgrywają rolę w kształtowaniu stabilności smaku piwa. SO<sub>2</sub> i GSH mają działanie przeciwstarzeniowe, które pomaga poprawić stabilność smaku piwa, podczas gdy H<sub>2</sub>S jest niepożądany ze względu na swój nieprzyjemny aromat. W artykule Chen i in. (2012) [7] przedstawiono metodę uzyskania nowego szczepu *Saccharomyces cerevisiae*, który wytwarza wyż-

sze poziomy SO<sub>2</sub> i GSH, ale niższy poziom H<sub>2</sub>S, w celu poprawy stabilności smaku piwa (bez angażowania metod modyfikacji genetycznych). Po dwóch mutagenezach za pomocą światła UV połączone ze specyficznymi metodami przesiewowymi na płytkach uzyskano zmutowany szczep o nazwie MV16. W porównaniu z oryginalnym szczepem, produkcja SO<sub>2</sub> i GSH przez MV16 w fermentującym napoju wzrosła odpowiednio o 31% i 30,2%, podczas gdy zawartość H<sub>2</sub>S spadła o 74,9%. W konsekwencji poprawiła się odporność piwa na starzenie, przez znaczny wzrost aktywności antyoksydacyjnej uzyskanego piwa. Tego typu strategię mogą być obiecującym sposobem do uzyskiwania szczepów *S. cerevisiae* o ulepszonych właściwościach, dających piwo bardziej odporne na procesy starzenia.

#### Podsumowanie

Zagadnienia dotyczące metabolizmu siarki, wpływu związków siarki na walory sensoryczne piwa, ich działania antyutleniającego to temat bardzo obszerny. Dodatkowo istnieje wiele obszarów technologii browarniczej, którymi można kontrolować lub zmieniać stężenia poszczególnych związków, czy dynamikę zmian starzenia piwa w trakcie przechowywania. Począwszy od doboru siodu o odpowiednich parametrach, korekcie składu jonowego wody, przez prowadzenie procesów na warzelni, dobór szczepu drożdży czy warunków fermentacji, a skończywszy na stosowaniu odpowiednich dodatków stabilizujących piwa - istnieje wiele możliwości poprawy, czy (w niektórych przypadkach) pogorszenia stabilności sensorycznej piwa. Z uwagi na ograniczenia w tym krótkim artykule poruszono jedynie pewne najważniejsze kwestie i wskazano obszary, które czasami w sposób nieoczywisty są związane z procesami starzenia (czy ograniczania starzenia piwa).

#### Literatura

- [1] Hysert, D. W., & Morrison, N. M. 1976. "Sulfate metabolism during fermentation". *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 34(1), 25–31. <https://doi.org/10.1080/03610470.1976.12006180>.
- [2] Ilett, D. R. 1995. "Aspects of the analysis, role, and fate of sulphur dioxide in beer: A review". *MBAA Technical Quarterly*, 32, 213–221. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2015-0602-01>.
- [3] Lund, M. N., Krämer, A. C., & Andersen, M. L. 2015. "Development of *Saccharomyces cerevisiae* producing higher levels of sulfur dioxide and glutathione to improve beer flavor stability". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(37), 8254–8261. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02617>.
- [4] Lund, M. N., Petersen, M. A., Andersen, M. L., & Lunde, C. 2015. "Effect of protease treatment during mashing on protein-derived thiol content and flavor stability of beer during storage". *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 73(3), 287–295. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2015-0602-01>.
- [5] Kishimoto, T., Hisatsune, Y., & Yamada, O. 2024. "The effect of mash-in temperature on the characteristics and flavor stability of Pilsner-type beer". *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 82(1), 32–38. <https://doi.org/10.1080/03610470.2023.2193919>.
- [6] Bushnell, S. E., Guinard, J. X., & Bamforth, C. W. 2003. "Effects of sulfur dioxide and polyvinylpyrrolidone on the flavor stability of beer as measured by sensory and chemical analysis". *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 61(3), 133–141. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-61-0133>.
- [7] Chen, Y., Yang, X., Zhang, S., et al. 2012. "Development of *Saccharomyces cerevisiae* producing higher levels of sulfur dioxide and glutathione to improve beer flavor stability". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 166(2), 402–413. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9436-3>.