

VÝZNAM BÍLKOVIN Z HLEDISKA PĚNIVOSTI A STABILITY PĚNY PIVA

HANA ČÍŽKOVÁ, PAVEL DOSTÁLEK,
JAROMÍR FIALA a IRENA KOLOUCHOVÁ

*Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
hana.cizkova@vscht.cz*

Došlo 13.7.05, přijato 16.3.06.

Klíčová slova: pivo, pěna, stabilita pěny, bílkoviny, hydrofobní polypeptidy

Obsah

1. Úvod
2. Pěna piva – spotřebitelské vnímání, tvorba a stabilita pěny
3. Faktory ovlivňující pěnovost
4. Přehled pěnovostních bílkovin a polypeptidů
5. Látky nebílkovinného charakteru pozitivně ovlivňující pěnovost
6. Látky negativně ovlivňující tvorbu pěny
7. Závěr

1. Úvod

Mezi kvalitativní a kvantitativní znaky charakterizující pivo patří bohatá, hustá a dlouhotrvající pěna, která je i jedním z prvních vjemů vnímaných spotřebitelem. Z fyzikálního hlediska se jedná o disperzi plynu v kapalině. K faktorům pozitivně ovlivňujícím tvorbu a stabilitu pивní pěny patří především bílkoviny, resp. bílkoviny s hydrofobním charakterem. Problematika dostatečné hladiny hydrofobních polypeptidů nabývá významu v souvislosti s postupem výroby piva založeném na přípravě vysokokoncentrovaných mladín a označovaném jako „High Gravity Brewing“ (HGB) technologie, který je doprovázen nižší extrakcí pivovarsky cenných látek z hlediska pěnovosti. Ve sdělení jsou uvedeny významné pěnovostní bílkoviny, jejich obsah v pivovarských surovinách a změny v průběhu výroby piva. Se zřetelem k jednotlivým technologickým krokům je zmíněn obsah látek jak pozitivně, tak negativně ovlivňujících pěnu piva a její trvanlivost. Do první skupiny se řadí látky tvorbu pěny pozitivně ovlivňující – určité bílkoviny, hořké chmelové látky, některé kovové ionty (Mn^{2+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} a Cu^{2+}), látky polysacharidové povahy a oxid uhličitý. Do druhé skupiny patří látky působící negativně – lipidy,

bazické aminokyseliny, polyfenoly, proteolytické enzymy, některé kovy (měď v nadměrném obsahu, cín, bismut, molybden, nikl a železo vyvolávající „gushing“ – samovolné přepěňování piva) a do určité míry i ethanol.

Tato práce se zaměřila na roli bílkovin pozitivně ovlivňující pěnovost. Za nejvýznamnější jsou považovány bílkoviny označované jako přenašeče lipidů (Lipid Transfer Proteins – LTP, především LTP1), bílkovina Z (Protein Z), dále bílkoviny vázající lipidy (Lipid Binding Proteins) a další zejména hordeinové frakce. Souhrnně se jedná o bílkoviny vykazující hydrofobní charakter. Problematika pěnovosti a obsahu hydrofobních polypeptidů a bílkovin se dostala do popředí zájmu se zaváděním moderní technologie výroby piva vycházející z výroby koncentrovaných mladín o vysoké hustotě – označované jako „High Gravity Brewing“ (HGB) technologie. Při použití této technologie se ze surovin extrahuje do sladiny méně látek důležitých pro pивní pěnu než při klasickém postupu a během jednotlivých fází výrobního procesu dochází následně k jejich dalším ztrátám. Pro dobrou tvorbu a stabilitu pěny nestačí pouze dostatečná hladina těchto látek bílkovinného charakteru, ale i vyvážený obsah dalších složek piva. Zároveň je třeba brát v úvahu charakteristické vlastnosti výrobku a jednotlivé technologické kroky příslušného výrobního postupu, protože změny zlepšující pěnovost určitým způsobem mohou negativně ovlivnit další kvalitativní parametry produktu. Nezanedbatelným problémem je rovněž fakt, že jednotlivé skupiny konzumentů mají specifické požadavky a pod termínem dobrá pěna si představují do jisté míry odlišnou skutečnost.

2. Pěna piva – spotřebitelské vnímání, tvorba a stabilita pěny

Pro piva českého typu – spodně kvašená – je charakteristické, že po nalití do sklenice vytváří bohatou, stálou pěnu, která ulpívá na skle a zaujímá velký objem¹. Snaha o její dosažení a zlepšení, často spojované s magií a mýty, se datují již od středověku. S rozvojem poznání, vědy a s racionálním přístupem tyto tendence ustávají, ale kompaktní a stabilní pěna je spotřebiteli žádaná stále. Zesílením konkurenčních vztahů zejména v souvislosti s rozšiřujícími se možnostmi exportu roste tlak na výrobce, aby dodávali pivo s dostatečnou chuťovou, koloidní a senzoricou stabilitou. Jedním z prvních faktorů působících na spotřebitele je pěna, zejména u piv točených. Stejně významným pro celkový dojem „po napití“ je pro spotřebitele i prostředí konzumace. S tím souvisí prokázaná skutečnost, že „nespokojenost se šíří mnohem rychleji a snáze než spokojenost“, což je i jedním z důvodů zavádění akreditovaných kontrolních mechanismů, jako jsou HACCP a ISO (cit.²⁻⁴).

Definice pěny a pěnových vlastností

Z fyzikálně chemického hlediska lze pěnu definovat jako disperzi plynu v kapalině, přičemž dispergovanou fází je vždy plyn⁵. Při popisu pěny piva bývají nejčastěji užívány pojmy pěnivost, přilnavost, stabilita, kvantita, hustota pěny a případně charakteristika pěny^{6–9}. Pěnivostí se rozumí schopnost piva vytvářet pěnu při nalití, což je výrazně ovlivněno obsahem oxidu uhličitého v pivu. Schopnost pěny ulpívat po rozpadu nebo poklesu hladiny na stěně sklenice je přilnavost. Tento jev je založen na adhezi a určité „lepivosti“ k materiálu a někdy bývá označován jako kroužkování. Stabilita pěny je dána časem mezi vytvořením pěny a její samovolnou destrukcí, kvantita je množství pěny vytvořené za daných podmínek. Hustota pěny nebo obdobně definovaná charakteristika pěny je objem piva (kapaliny) zadržovaný v pění a její hodnota s rostoucí dobou od nalití klesá. Vzhled pěny a její struktura, tj. krémovitost a jednotnost bublin⁸ jsou dalšími významnými parametry z hlediska spotřebitele, které jsou dány jak fyzikálními faktory, tak chemickým složením piva i tlačného plynu. Bekkers¹⁰ po řadě studií vlastností systému pivo/plyn a na základě moderních měřicích technik uvádí, že jak dynamické povrchové napětí, tak mezipláštní viskozita a elasticita koreluje se stabilitou pěny.

Tvorba a rozpad pěny

Vznikem a rozpadem pěny se zabývala řada autorů. Ronteltap a spol.¹¹ podrobně zkoumali pěnu z fyzikálního hlediska. Tvorbu a rozpad pěny rozdělili na čtyři klíčové kroky – tvorbu bublin, odvodňování pěny, její koalescenci a disproporcionaci. Za nejvýznamnější mechanismus tvorby pěny lze považovat heterogenní nukleaci – formování bublin nápoje přesyceného oxidem uhličitým v tzv. nukleačních (katalytických) polohách – to znamená, že bublinky nevznikají samovolně, ale tvoří se již na existující bublince. Nukleační polohou může být např. i plynem vyplněná prasklina či štěrbinová ve stěně nádoby. Pokud je povrch bubliny v této „kapse“ úplně smáčen okolní kapalinou, bude povrch bubliny konkávní jako výsledek její snahy o co nejmenší povrch. Tlak plynu uvnitř bubliny je větší než v dotýkající se kapalině, bublina praskne a plyn se v kapalině postupně rozpouští. Výsledkem je inaktivace nukleační polohy. Pokud však povrch bubliny v nukleační poloze není kapalinou smáčen, její povrch je konvexní a bude docházet k transportu plynu z přesycené kapaliny do plynové „kapsy“ a růstu bubliny^{12,13}. Transport plynu z piva do bubliny probíhá pouze difúzí, protože Laplaceův tlak uvnitř bubliny (800 Pa při poloměru 0,1 mm) je zanedbatelný oproti přesycení piva (0,3–0,4 MPa). Nízká povrchová tenze piva vede k menším a jednotným bublinám, z čehož vyplývá žádoucí krémovitý charakter pěny. Odvodňování pěny je jev, při kterém dochází ke ztrátě kapaliny z piva vlivem gravitace a podtlaku, kdy v hraniční vrstvě vzniká nižší tlak než uvnitř bublin a v kapalinovém filmu a dochází ke ztenčování kapalinových filmů mezi bublinami. Proti tomuto jevu působí složky s hydrofobním

charakterem a složky zvyšující viskozitu. V průběhu ztenčování kapalinových filmů mezi bublinami může dojít až k prasknutí filmu mezi bublinami a ke spojení dvou menších bublin v jednu větší, jevu, který je popisován jako koalescence. Větší bubliny jsou vizuálně méně žádané a navíc způsobují další destrukci pěny. Koalescenci zvyšují látky lipidické povahy, původem především z varního procesu¹⁴. Disproporcionace je jev, při kterém dochází k difuzi plynu z menších bublin do větších^{9,13}. Hnací silou tohoto jevu je menší (Laplaceův) tlak ve větších bublinách (tlak uvnitř bublin je nepřímo úměrný jejich průměru) a z Henryho zákona vyplývající zvyšování rozpustnosti plynu s tlakem. Ve svrchní vrstvě pěny dochází k difuzi oxidu uhličitého do okolní atmosféry a k difuzi kyslíku a dusíku dovnitř bublin. Oba tyto plyny jsou v pivu mnohem méně rozpustné, dochází ke zmenšování bublin ve svrchní části a vzniká prostor pro přítomnost bublin ve spodních vrstvách pěny. To by bylo předpokladem možnosti používání dusíku jako inertního plynu při skladování piva a jako tlačného plynu pro čepování, nedostatečný říz piva^{11,12} je však důvodem pro používání směsi oxidu uhličitého a dusíku.

Modely struktury pивní pěny

Mezi základní modely popisující strukturu pивní pěny patří model Asana a Hashimota¹⁵, model dle Simpsona a jeho rozšíření o vliv hydrofobních interakcí^{16,17}. Model Asana a Hashimota je založen na faktu, že stabilita pěny je výsledkem přitažlivého působení mezi záporně nabitými chmelovými iso- α -kyselinami (podle těchto autorů i α -kyselin) a kladně nabitými aminokupinami v polypeptidech pěny. S tím a s jejich začleněním do uvedeného modelu nesouhlasí Simpson a spol.¹⁶, kteří uvádí, že při pH 4,2 je ionizováno přibližně 90 % molekul iso- α -kyselin, ale jen pouze 13 % α -kyselin, z čehož vyplývá jejich omezení v účasti na zmíněném modelu struktury pивní pěny. Model těchto autorů vychází z představy o vazbě dvou molekul iso- α -kyselin přes stejný dvojmocný kation kovu, čímž se zvyšuje afinita hořkých kyselin k aminokupinám peptidů. Vazebné síly, které reverzibilně spojují pěnové polypeptidy k sobě přes chmelové hořké látky a kationty kovu, nejsou iontové povahy, přesto jsou kladné náboje na aminokupinách polypeptidů nutné. Bez nich dojde k eliminaci iontových dipolových vazeb mezi aminokupinami peptidů a karbonylovými skupinami hořkých kyselin. S názorem o pozitivním vlivu kovových iontů polemizuje Evans⁹, který uvádí pozitivní korelaci mezi koncentrací dvoumocných kovů ve sladu a pěnivostí, ale už ne mezi koncentrací těchto kovů v pivu a pěnivostí. Pro hořčnaté ionty ji studoval Bamforth a spol.¹⁷ a zjistili, že schopnost isomerovaného chmelového extraktu (od určitých koncentrací) zvyšovat pěnivost je hořčnatými ionty potlačována. Roberts¹⁸ a Simpson spolu s Hughesem¹⁶ uvádí existenci dalších interakcí mezi chmelovými hořkými kyselinami a pěnovými polypeptidy – hydrofobních vazeb mezi postranními řetězci chmelových kyselin a hydrofobními aminokyselinovými zbytky v polypep-

tidech, což bylo dokumentováno na přidavku upravených iso- α -kyseliny, jako jsou dihydro-, tetrahydro- a hexahydro iso- α -kyselin na principu zvýšení hydrofobicity těchto řetězců.

3. Faktory ovlivňující pěnovost

Pivo je nápoj obsahující široké spektrum látek pocházejících z použitých surovin, prostředí, technologického zařízení, či které jsou součástí některých přídatných látek. Řada z nich má pozitivní nebo negativní vliv na pěnu piva. Existují látky pro pěnu nezbytné i takové, které nejsou bezpodmínečně nutné, nebo stačí jen v určitých koncentracích. Obdobně je to s látkami s negativním vlivem – zatímco řada z nich škodí vždy, jiné lze v určitém množství tolerovat⁶.

Pozitivně působící látky se při tvorbě pěny kumulují v mezifázovém prostředí a zpevňují povrchovou blanku bubliny mezi kapalinou a pěnou. Jde o látky amfifilní podstaty, jejichž hydrofobní část směřuje do plynu a hydrofilní do kapaliny, které interagují s dalšími a společně tvoří vnitřní kostru pěny, látky snižující povrchové napětí a zvyšující viskozitu piva^{6,9}. Podle Ronteltapa¹¹ nižší teploty působí zvýšení viskozity piva a zpomalování odvodňování pěny. Nejčastěji sem jsou řazeny určité bílkoviny a polypeptidy, hořké chmelové látky, uvedené kovové ionty (Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} a Al^{3+}), polysacharidy, produkty reakcí sacharidů a bílkovin a oxid uhličitý. Mezi látky negativně ovlivňující pěnovost patří především ty, které zabraňují pozitivně působícím látkám jejich přechodu do pěny a svou povrchovou aktivitou vytěšňují pěnotvorné látky z povrchového filmu bubliny. Výsledkem je jeho zeslabení, zrychlení odvodňování pěny a spojování bublin. Jedná se zejména o lipidy, bazické aminokyseliny, proteolytické enzymy, uvedené kovové ionty (měď v nadměrném obsahu, cín, bismut, molybden, nikl a železo), ethanol a polyfenoly^{6,9}.

Látky bílkovinného charakteru v pivu

Bílkoviny, které jsou hlavní komponentou stabilizující pěnu (pěnovostně pozitivní bílkoviny), mají hydrofobní strukturu, která usnadňuje přechod bílkovin do pěny a umožňuje v mezifázovém rozhraní orientaci bílkoviny do bubliny plynu^{19–21}. Obsah dusíkatých látek je důležitou technologickou hodnotou ječmene určeného ke sladování – slad obsahuje 7 až 16 % bílkovin, přičemž 80 % proměnlivosti znaku je dáno agroekologickými podmínkami daného ročníku²². Některé nově zaváděné (s odlišnými genetickými znaky) zahraniční odrůdy se nehodí pro výrobu českého piva. Pivo z nich má vyšší stupeň prokvašení a horší pěnovost²³. Vývoj a použití nových odrůd ječmene, které pozitivně ovlivňují stabilitu pěny piva a jeho vůni, uvádí Hirota a spol.²⁴, a to na základě sníženého obsahu enzymu lipoxygenasy (lipoxygenase-1-less variants – označované LOX-less odrůdy) a inkorporaci LOX-less znaku do vybraných odrůd. Chmelové bílkoviny tvoří 15

až 20 % sušiny²². Obsah dusíkatých látek ve sladince a mladince vyrobené v procesu rmutování a chmelovaru má rozhodující vliv na růst a aktivitu kvasinek, pěnovost, chuť a stabilitu piva. Stejně významný je obsah dusíkatých látek u surogátů přidávajících se místo části sladu do rmutu^{9,25}.

Bílkoviny jsou v průběhu výrobního procesu štěpeny různou měrou podle struktury, konfigurace a obsahu nebílkovinných částí. Některé typy bílkovin, obsažených v pivovarských surovinách, do piva vůbec nepřechází. Je to způsobeno jejich vlastní nerozpustností ve vodě a rovněž odolností k štěpné aktivitě enzymů. Mezi tyto látky patří např. gluteliny, které odcházejí z výroby s mlátem²³. Během sladování jsou bílkoviny využívány k výstavbě základů rostlinných těl – ke tvorbě kořínků a stříčky zrna. Proto je obsah ve sladu nižší přibližně o 0,3 % oproti obsahu bílkovin v ječmeni. Do rozpustné formy je převedeno během klíčení asi 35 až 40 % bílkovin. Působením hydrolytických enzymů (peptidas) vznikají látky s nižší až velmi nízkou molekulovou hmotností ve srovnání s původními bílkoviny. Obsah pěnotvorných bílkovin během sladování roste a jejich štěpné produkty jsou esenciálními faktory pro kvasničné buňky, nízký obsah štěpných produktů v mladince negativně ovlivňuje průběh kvašení. Vysoká aktivita těchto enzymů představuje opačný extrém, kdy výsledný nízký obsah bílkovin, jako přirozených stabilizátorů piva, způsobuje zhoršení kvality pěny²⁶. Během rmutování pokračuje enzymové štěpení bílkovin na jednodušší frakce, často lépe rozpustné v mladince než původní bílkoviny a dochází k vysrážení většiny vysokomolekulárních bílkovin. Během dalšího technologického procesu dochází k jejich adsorpci na povrchu kvasinek, či k vynášení bublinkami oxidu uhličitého do kvasných dek.

Vliv technologického postupu na obsah bílkovin v pivu

Znakem doprovázejícím technologii výroby piva z vysoko koncentrovaných (High Gravity – HG) mladinců (původní koncentrace mladinců 15–25 % hm.) je ve srovnání s pivem vyrobeným standardním způsobem z mladinců s původní koncentrací 10–15 % hm. (Low Gravity – LG) mladinců nižší obsah bílkovin a jejich fragmentů účastnících se tvorby pěny v pivu²⁷. Faktorem, způsobujícím u piv vyrobených z vysoko koncentrovaných mladinců problémy s pěnovostí, je nízký obsah hydrofobních bílkovin. Ten je ovlivněn především nižší extrakcí těchto sloučenin do vysoce koncentrovaných sladů a mladinců již ve fázi rmutování a chmelovaru, kde je pak obsah pěnotvorných bílkovin jen nepatrně vyšší než u sladů a mladinců níže koncentrovaných, a dále naředěním hotového piva vodou, ke kterému dochází při úpravě na požadovanou původní koncentraci mladince²⁸. Jedním z důvodů zhoršení extrakce během rmutování je zvýšení teploty procesu, které katalyzuje jejich srážení a vylučování ve formě polyfenol-polypeptidových komplexů, dalším je vysoký obsah polyfenolů – při HGB technologii pro dostatečný obsah hořkých látek je nutná zvýšená dávka chmele²⁹. K podstatné ztrátě hydrofobních polypeptidů dochází při HGB techno-

logii během kvašení. Snižování koncentrace pěnivostních bílkovin bylo podrobně zkoumáno Breyem a spol.³⁰, kteří se zaměřili kromě procesu kvašení i na dokvašování a studovali faktory způsobující snížení koncentrace pěnivostních bílkovinných frakcí v této fázi výroby piva. Jako první popsali ztráty adheze na stěny kvasných nádob a adsorpci na kvasinky. Při této adsorpci ale nedochází k zásadnímu poklesu a lze předpokládat, že adsorpce má malý význam ve srovnání se ztrátou způsobenou chladovým srážením a aktivitou proteinasy A. Při kvašení dochází obecně ke vzniku koncentračního gradientu hydrofobních polypeptidů v kvasné nádobě, protože na povrchu je výsledná koncentrace několikanásobně vyšší než na dně. Příčinou nejsou fluidně-mechanické vlastnosti kvasných nádob, protože stejný gradient nebyl zjištěn u dalších látek, jako jsou volný aminodisík a polyfenoly. Jev lze podle autorů vysvětlit interakcí hydrofobní části polypeptidu s plynnou fází bubliny oxidu uhličitého a jejich následnému vynášení k povrchu. K poklesu dochází během transportu piva z kvasných do ležáckých nádob, kdy se obvykle čerpá ode dna, a tak složky obsažené na povrchu se postupně dostanou ke kontaktu s celými stěnami nádob a mohou na nich ulpívat. Dominantním faktorem způsobujícím ztrátu polypeptidů je chladové srážení a vznik chladového zákalu při chlazení mladiny na požadovanou zákvasnou teplotu po chmelovaru. Zákál je tvořen malými částicemi o průměru 0,5 μm , pomalu sedimentujícími, které obsahují přibližně 50 % bílkovin, 15 až 25 % polyfenolů a 20 až 30 % sacharidů. Výsledkem je snížení dostupnosti substrátu pro proteinasu A a vzhledem k tomu, že jde o endoproteasu, tak i v nízké koncentraci může způsobit snížení stability pěny^{27,30}. Její množství a především aktivita závisí na použitém kmenu kvasinek a jeho citlivosti na stresové podmínky (vyšší osmotický tlak, vyšší obsah ethanolu). Proteinasa A je vylučována kvasinkami ve větší míře při kvašení vysoce koncentrovaných (High Gravity – HG) mladin než nízk koncentrovaných (Low Gravity – LG) mladin – zákvasná dávka je zde vyšší, aby došlo k přiměřenému prokvašení za optimálně dlouhou dobu. Část hydrofobních polypeptidů je vůči proteinase A rezistentní, zejména pěnivostní bílkovina LTP. Působení proteinasy A v dalších fázích skladování lze eliminovat pasterací produktu.

4. Přehled pěnivostních bílkovin a polypeptidů

Jak již bylo uvedeno, významné bílkoviny z hlediska pěnivosti piva mají hydrofobní strukturu. Podle rostoucí hydrofobicity byly rozděleny pomocí hydrofobní interakční chromatografie na řadu frakcí na základě jejich přesné specifické hmotnosti. V devadesátých letech sem autoři přiřadili látky s molekulovou hmotností v rozsahu přibližně 9 až 18 kDa, 40 kDa a hmotností vyšší než 90 kDa (cit.^{27,28}). Evans a spol.⁹ vytvořili nový přehled bílkovin pozitivně působících na pěnu. Dělí je na dvě významné skupiny podle molekulové hmotnosti – na HMW (High Molecular Weight) a LMW (Low Molecular Weight)

bílkoviny. Do HMW frakce zařadili převážně bílkoviny v rozsahu molekulových hmotností 35 až 50 kDa a do frakce LMW řadí bílkoviny s molekulovou hmotností 5 až 15 kDa. Pouze malá skupina bílkovin má vyšší molekulovou hmotnost než 50 kDa. LMW a HMW bílkoviny pochází především ze sladu. Studie Hughese a Wildeho¹⁹ připisují části bílkovin s velmi vysokou molekulovou hmotností (cca 200 kDa) původ v kvasnicích. Další autoři pomocí imunochemických metod používajících monoklonální protilátky prokázali, že většina hydrofobních bílkovin má původ ve sladu. HMW frakce obsahuje převážně protein Z a LMW frakci tvoří LTP1 (Lipid Transfer Protein 1) a směs hordeinových a glutelinových fragmentů^{31–33}. Společnou vlastností uvedených složek je jejich stabilita v průběhu sladařského a pivovarského procesu a odolnost především k vyšším teplotám, extrémním hodnotám pH a proteolýze. Leisegang a Stahl³⁴ izolovali pěnu stabilizující bílkoviny (LTP1, protein Z) z různých surovin, meziproductů a produktů výroby (ječmen, slad, mladina a pivo) a potvrdili negativní korelaci mezi aktivitou proteinasy A a stabilitou pěny piva. Stabilitu pěny mohou negativním způsobem ovlivnit karboxyl proteinasy (proteinasa A a pepsin) i serin proteinasa (karboxypeptidasa Y). Podle těchto autorů protein LTP1 v pivu je substrátem pro proteinasu A, zatímco protein Z degradaci nepodléhá, i když k proteinasové inhibici jsou LTP1 a protein Z částečně homologní. Citlivost LTP1 k proteinase A během sladování a varního procesu vzrůstá. Za významný faktor označili typ proteinové modifikace indukované změnou sekundární struktury proteinu vlivem teploty (denaturace, glykosylace, Maillardovy reakce). Zlepšení pěnivosti může být zvýšeno glykosylací bílkovin za vzniku glykoproteinů. Tyto glykoproteiny lze zařadit mezi produkty Maillardových reakcí, ke kterým dochází při vysokých teplotách v průběhu sladování a varního procesu^{3,4}.

Protein Z

Protein Z představuje 10 až 25 % všech nedialyzovatelných bílkovin piva a je přibližně z jedné třetiny glykosylován. Je to ječná albuminová bílkovina o molekulové hmotnosti přibližně 40 kDa, která patří do HMW frakce, mezi ječné serpiny (Serine Proteinase Inhibitors) a je tvořena několika homologními proteiny. Kaersgaard a Hejgaard³⁵ ho jako první bílkovinu spojili se stabilitou pивní pěny, ve stabilitě pивní pěny mu přisuzuje určitou roli i Curioni³⁶. Maeda³⁷ potvrdil její význam (na základě isoelektrického bodu ($\text{pI} = 4,0\text{--}5,5$) blízkého hodnotám pH piva) při tvorbě pevné konformace v povrchovém filmu a minimální hodnoty povrchového napětí v isoelektrickém bodě, což vede ke stabilizaci pěny. Naopak Evans³⁸ při odstranění frakce o molekulové hmotnosti 40 kDa na imunoafinitní koloně zjistil, že důsledkem je jen minoritní ztráta pěnivé stability (asi 10 %). Z toho vyplývá, že účast proteinu Z na stabilitě pěny je pravděpodobně závislá na charakteru sladu. Evans prokázal, že účast proteinu Z4 na stabilitě pěny je významná převážně u sladů s nižším Kolbachovým číslem (30 až 37 %). Vaag a spol.³² zjistili, že

imunoafinitní odstranění proteinu Z má malý vliv na pěnovost u sladů s nízkým proteolytickým rozluštěním (nedoluštěných) sladů a naopak velký vliv u hlouběji proteolyticky rozluštěných (přelouštěných) sladů. Protein Z4 (BSZ4) je kódován jedním z mnoha genů na chromosomu 4 a je částečně homologní (asi ze 70 %) k proteinu Z7 (BSZ7), který je kódován na posledních dvou genech chromosomu 7. BSZ4 je dominantní formou a tvoří cca 80 % proteinu. V zrně je přítomen ve třech formách – volné, vázané a skryté³³. Část vázané a skryté formy se transformuje během klíčení do formy volné, která snáze přechází do sladiny během rmutování. Interakcemi mezi serpiny a proteasami dochází k nedisociačnímu štěpení v reaktivní smyčce označované RSL, při kterém dojde k odštěpení přibližně 40 aminokyselin z karboxylového konce bílkoviny. Štěpení je doprovázeno konformačními změnami a formováním proteolyticky a tepelně stabilních forem proteinu Z. V ječmeni je BSZ7 v neštěpené formě, zatímco protein BSZ4 je už z významné části takto rozštěpen. V průběhu klíčení a hvozdní přechází do stabilní formy především vázaný BSZ7 a nerozštěpený BSZ4.

Lipid Transfer Protein 1

Lipid Transfer Protein (LTP1) – polypeptid – intracelulární přenašeč lipidů – je na základě své hmotnosti 9660 Da řazen do LMW frakce. Jedná se o albuminovou bílkovinu, u které byla prokázána schopnost inhibovat sladové cysteinové endoproteasy^{9,25}. Během procesu sladování je přeměňován v minimálním rozsahu. Mezi obsahem LTP1 v ječných zrnech a zeleném sladu nejsou významné rozdíly, vzhledem k tomu, že se tvoří během klíčení a až v průběhu hvozdní dochází k určité ztrátě (7 až 37 %). K výrazným změnám nedochází ani během rmutování. Této stabilitě pravděpodobně napomáhají čtyři disulfidické můstky, které spojují čtyři α -helikální části této bílkoviny. Charakteristická je u této bílkoviny její téměř okamžitá extrakce při rmutování, a proto nezávislost na použité technologii sladování a rmutování. Ke změnám ve struktuře LTP1, tj. k oxidaci methioninového zbytku na methioninsulfoxid, dochází během chmelovaru, kdy vzniká více forem modifikované LTP1. Tyto formy mají stejnou sekvenci aminokyselin, vykazují převážně lepší pěnovostní vlastnosti a liší se ve struktuře, isoelektrickém bodě a v molekulové hmotnosti (9600 až 9900 Da)^{39,40}. Během modifikací dochází k irreverzibilní denaturaci a ke změnám v imunoreaktivitě. Evans a spol.⁴¹ uvádí, že obsah LTP1 koreluje především s množstvím vytvořené pěny, méně s její stabilitou. Podle těchto autorů má LTP1 vynikající schopnost pěnu generovat, ale slabší ji stabilizovat. Spojením LTP1 s izolovanou LMW hordein-glutelinovou pěnovou frakcí nebo s HMW frakcí se ale dosáhne dobré kvantitativní i stability pěny. Lusk a spol.⁴², kteří použili k měření pěnovosti odlišnou metodu, naopak uvádí, že LTP1 pěnovou stabilitu významně podporuje. Transformací LTP1 z ječmene do pěnotvorných proteinů v průběhu rmutování a chmelovaru a vazbou mezi biochemickým a fyzikálně-chemickým schématem se zabývali Perrocheau

a spol.⁴³, kteří poukázali na vliv Maillardových reakcí na změnu povrchové aktivity proteinů a jako jeden z možných mechanismů zvýšení jejich stability označili acylaci, které se účastní lipidy a enzymy zárodku.

Bílkoviny vázající lipidy

V ječmeni a sladu jsou dále obsaženy bílkoviny vázající lipidy (Lipid Binding Proteins – LBP), bílkoviny o hmotnosti přibližně 13 kDa. Jsou vázané na buněčné membráně a extrahovatelné detergenty. Jejich společnou vlastností je inhibice destabilizačních vlivů lipidů^{44–46}. Hlavní skupinou těchto proteinů jsou hordeindoliny (HIN) v ječmeni a puroindoliny (PIN) v pšenici. Jsou silně hydrofobní a tudíž mají potenciálně pozitivní vliv na pěnu. Během rmutování jsou však hordeindoliny z podstatné části štěpeny proteolytickými enzymy na štěpy o nižší molekulové hmotnosti, (podobně jsou štěpeny i puroindoliny) a pěnovost piva významně neovlivňují. Bílkoviny vázající lipidy byly v imobilizované formě jako náplň kolon použity ke studiu látek s negativním vlivem na pěnovost piva a zlepšení pěnovosti piv s nadměrným obsahem lipidů⁴⁷.

Hordeiny

Hordeiny – hlavní zásobní bílkoviny ječmene – se skládají z polymorfní směsi několika složek oddělitelných např. elektroforézou na polyakrylovém gelu. Základní skupiny jsou značeny B, C, D a γ a představují vysokomolekulární (> 51 kDa), středněmolekulární (29 až 51 kDa) a nízkomolekulární (< 29 kDa) látky. Významná skupina hordeinových derivátů má hmotnost nižší než 5 kDa (cit.^{9,48}). Jsou relativně bohaté na prolin a glutamin. V negativním smyslu se podílí na vzniku koloidních zákalů piva. Z hlediska vlivu na pěnovost nejsou zatím zcela prozkoumány. Jedním z identifikovaných hordeinových štěpů je polypeptid o hmotnosti cca 23 kDa. Koncentrace tohoto peptidu v pění je 2,7× vyšší než v pivu, má lepší povrchově aktivní vlastnosti než celkové proteiny nebo jiné hordeinové fragmenty a pozitivně ovlivňuje pěnovostní vlastnosti piva. Vaag a spol.⁴⁹ identifikovali další LMW hordeinový fragment o molekulové hmotnosti 17 kDa. Tento polypeptid je extrémně bohatý na glutamin a obsahuje šest disulfidických můstků. Byl klasifikován jako nový typ hordeinu (ϵ -1-hordein). Jeho sekvence od konce s volnou aminoskupinou je podobná hordeinovému fragmentu o molekulové hmotnosti 23 kDa. Izolaci a existenci dalších hordeinů o hmotnosti 18 kDa až 33 kDa uvádí např. Bamforth a spol.⁵⁰.

5. Látky nebílkovinného charakteru pozitivně ovlivňující tvorbu pěny piva

Jak již bylo uvedeno, hořké chmelové látky patří spolu s bílkoviny k nejdůležitějším složkám podporujícím pěnovost piva. V pění se vyskytují převážně iso- α -hořké

kyseliny – především *cis*- a *trans*- formy isohumulonu, isokohumulonu a isoadhumulonu, vznikající isomerací α -kyselin při chmelovaru^{16,25}. Dalšími hořkými látkami jsou produkty přeměn iso- α -hořkých kyselin – oxidované formy označované abeo-iso- α -kyseliny, hydrogenované (redukované) dihydro-, tetrahydro- a hexahydro-iso- α -hořké kyseliny, či hydrolyzované formy (např. kyselina humulinová). Oxidované formy vznikají především při chlazení horké mladiny, mají slabší hořkost, ale příznivě ovlivňují zejména přilnavost pěny. Účinek hydrogenovaných forem je založen na zvýšení hydrofobicity, v případě jejich nadměrného výskytu však Bamforth⁵¹ uvádí tvorbu atypických a vizuálně nevzhledných pěn. Pozitivní vliv iso- α -hořkých kyselin na hydrofobní proteiny klesá podle něho s rostoucí hydrofobicitou a od určitých hodnot i s koncentracemi těchto kyselin. Účinek hořkých látek spočívá převážně v křížových interakcích s bílkovinami pěny, čímž je vytvářen základ kostry pěny, dále ve snižování povrchového napětí a zvyšování viskozity⁹. Rozsahem vlivu koncentrace hydrofobních polypeptidů v pění, složení iso- α -kyselin a obsahu maltosových oligosacharidů v pívu na stabilitu pěny se v současnosti zabývá řada pracovišť⁵².

Účinek kovových iontů byl zmíněn při popisu struktury pěny, jako významná součást modelu struktury pění podle Simpsona¹⁶, ve kterém jsou bílkoviny propojeny přes hořké chmelové látky a dvoumocné kationty, které mají vyšší afinitu k iso- α -hořkým kyselinám, než jednomocné. Uvedena byla polemika Bamforth a spol.¹⁷ o pozitivním účinku dvoumocných iontů na pěnívost a poznatky Evance a spol.⁹, kteří poukázali na pozitivní korelaci mezi obsahem iontů (Cu, Zn, Ca, Mg a Al) ve sladu a pěnívostí piva, ale ne mezi obsahem v pívu a pěnívostí. Účinek kovových iontů nemusí spočívat přímo v jejich účasti, ale v možnosti ovlivnit sekreci kvasinkových proteas. V souvislosti s některými ionty těžkých kovů je třeba uvést, že již v koncentraci několika $\mu\text{g l}^{-1}$ vyvolávají „gushing“ – samovolné přepěňování piva. Mezi tyto kovy jsou řazeny cín, bismut, molybden, nikl a železo^{53,54}.

K látkám polysacharidové povahy významným z hlediska pěnívosti patří β -glukany, pentosany, gumovité látky a melanoidiny. Zvyšují plnost chuti a viskozitu²², zpomalují odvodňování pěny a zlepšují její stabilitu^{22,33}. Evans a spol.⁹ uvádí pozitivní korelaci mezi viskozitou a stabilitou pěny, vyjádřenou jako RHRV (Rudin Head Retention Value), stejně jako mezi obsahem neštěpitelných polysacharidů (β -glukanů a pentosanů) a hodnotou pěnívosti. Zvyšování obsahu těchto látek není však vhodné z hlediska negativního vlivu na rychlost procesu scezování a filtrace piva. Melanoidiny a glykosylované bílkoviny vznikající při hvozdní sladu během Maillardových reakcí zvyšují viskozitu^{8,9} a podporují pěnívost na základě iontové vazby s bílkovinami při tvorbě kostry pěny⁵³. Obdobný vliv – zvyšování viskozity – má i polysacharid propylen-glykolalginát (PGA). Vazbou s bílkovinami ve stěnách bublin omezuje kontakt s nežádoucími lipidy, snižuje odvodňování a zvyšuje hydrofobicitu proteinů piva, jeho přídavek však není v souladu se zákonem o čistotě piva^{9,19}.

6. Látky negativně ovlivňující tvorbu pěny piva

Přítomnost látek negativně ovlivňujících tvorbu pěny piva má za důsledek vznik nestabilní, nevzhledné, nerovnoměrné, či nedostatečné pěny. Tyto látky interagují se stavebními složkami kostry pěny a tak jim zabraňují v její tvorbě, nebo tuto strukturu destrukují, snižují viskozitu a zvyšují povrchové napětí. Patří sem lipidy, bazické aminokyseliny, proteasy, polyfenoly, ethanol a některé kovové ionty, které zároveň působí toxicky na kvasinky (Cu, Ni, Cd, Pb). Lipidy představují nesourodou skupinu látek, které jsou charakteristické špatnou rozpustností ve vodě, ale naopak dobrou rozpustností v nepolárních rozpouštědlech. Za hlavní zdroje lipidů jsou považovány suroviny (chmel, slad a kvasnice), ze kterých přecházejí během varného procesu do mladiny⁴⁷. Možným zdrojem lipidů je i nápojové sklo (kontaminace skla látkami lipidové povahy) a zbytky mycích prostředků, které negativně ovlivňují stabilitu pěny obsaženými detergenty. Během výrobního procesu dochází k podstatnému snížení hladiny lipidů – kromě účasti při výživě kvasnic jsou vázány na sladové a chmelové mláto, hrubý a jemný kal, povrch kvasnic a mohou být zachyceny při filtraci. Účinek lipidů spočívá v interferenci s hydrofobními regiony bílkovin obklopujících bubliny pěny, čímž se stávají bubliny nestabilní a dochází k urychlení rozpadu pěny^{4,9}. Wilde a spol.⁵⁵ uvádí, že lipidy destabilizují pěnu nepřímo úměrně stupni hydrofobicity, přičemž pěnívost směsi nejhydrofobnějších skupin proteinů snižují minimálně. Negativní účinek na přilnavost pěny je přisuzován rovněž částí nízkomolekulárních dusíkatých látek, především bazickým aminokyselinám⁵⁶. Tento účinek roste od histidinu přes lysin k argininu, což pravděpodobně souvisí se zvyšujícím se isoelektrickým bodem těchto aminokyselin a jejich interakcí s iso- α -hořkými kyselinami. Ethanol nemá jednoznačný vliv na pěnívost piva, zároveň je to ale jedna ze základních složek z hlediska charakteru výrobku a požadavků konzumenta, jejíž obsah je dán typem piva a není vhodné ji výrazným způsobem měnit. V nižších koncentracích (1 až 3 % hm.) příznivě ovlivňuje stabilitu a přilnavost pěny tím, že zvyšuje viskozitu piva a snižuje povrchové napětí. V koncentracích do 10 % hm. se jeho negativní vliv neprojevuje^{3,8}. Podle Bamforth a spol.⁵¹ a Brierleyho a spol.⁵⁷ ethanol není schopen spojit přiléhající hydrofobní polypeptidy v pěnovém filmu a podporovat souvislou kostru pěny. Z proteolytických enzymů negativně ovlivňujících pěnívost je nejvýznamnější proteinasa A, která především štěpí pěnívostní bílkoviny při hodnotě pH 4–5. Zdrojem proteas jsou jak autolyzované kvasinky, tak jsou proteasy zároveň vylučovány živými buňkami do mladiny během kvašení. Intenzita se zvyšuje při stresových podmínkách kvašení, s rostoucí teplotou a zákvasnou dávkou^{58,59}. Nedostatek kyslíku v mladině vyvolává rovněž zvýšené vylučování proteinasy A do mladiny. Důležitým faktorem je proto použitý kmen kvasinek a zvolená technologie výroby⁶⁰. Polyfenoly jsou látky rovněž ovlivňující pěnu piva a její stabilitu²². Evans⁹ uvádí negativní korelaci mezi obsahem polyfenolů a pěnívostí piv, Bam-

forth⁶¹ ale předpokládá tvorbu křížové vazby polymerizovaných polyfenolů s pěnovostními proteiny, což by umožnilo stabilizaci pěny.

7. Závěr

Pěna piva představuje významnou složku podílející se na výsledném vizuálním dojmu, přitažlivosti a jedinečnosti tohoto nápoje. Přes rozsáhlé studie není dosud problematika stability pивní pěny zcela objasněna. Existuje řada fyzikálních a chemických faktorů, vzájemně interagujících, které ovlivňují pěnové vlastnosti piva – schopnost tvorby pěny a její výslednou stabilitu. Dosažení stabilní pěny závisí na přítomnosti komponent stabilizujících pěnu, zejména amfifilních polypeptidů, ale zároveň je podmíněno fyzikálním stavem bublin pěny, především fenoménem jejich disproporcionace. Suroviny představují rizikový faktor z hlediska zachování kvality piva, který však lze minimalizovat zvýšenou pozorností při jejich výběru a volbou technologických parametrů procesu⁶².

Mezi poznané a experimentálně prokázané látky, které pozitivně působí na tvorbu pěny, patří především bílkoviny s určitou molekulovou hmotností a hydrofobním charakterem – bílkovina Z (Protein Z), bílkoviny umožňující intracelulární přenos lipidů (Lipid Transfer Protein 1), bílkoviny vázající lipidy (Lipid Binding Proteins) a zásobní bílkoviny ječmene hordeiny. Významným faktorem negativně ovlivňujícím stabilitu pěny jsou látky lipidového charakteru a intracelulární proteinasa A vylučovaná kvasinkami, která štěpí pěnotvorné bílkoviny v rozsahu daném jejich sensitivitou.

LITERATURA

1. Basařová G.: *České pivo*, NUGA. Praha 1998.
2. Bamforth C. W.: J. Inst. Brew. 110, 259 (2004).
3. Baxter E., D., Hughes P., S.: *Beer: Quality, Safety and Nutritional Aspects*. Pub. Royal Soc. Chem., Cambridge 2001.
4. Cooper D. J., Stewart G., G., Bryce J. H.: J. Inst. Brew. 104, 283 (1998).
5. Bureš M., Černý Č., Chuchvalec P.: *Fyzikální chemie II*. VŠCHT, Praha 1994.
6. Bamforth C.W.: J. Inst. Brew. 91, 370 (1985).
7. Lusk L. T., Goldstein H., Ryder D.: J. Am. Soc. Brew. Chem. 53, 93 (1995).
8. Ťopka P., Čejka P.: Kvasný Prům. 33, 3 (1987).
9. Evans D. E., Sheehan M. C., Stewart, D. C.J.: J. Inst. Brew. 105, 171 (1999).
10. Bekkers A, Cornelissen W.: *EBC Proceedings of the 30th Congress, Prague, 14–19 May 2005, 74/1-74/4*, Praha 2005.
11. Ronteltap A. D., Damste B. R., De Gee M., Prins, A.: *Colloids Surf.* 47, 269 (1990).
12. Princ J., Marle J. T.: *EBC Proceedings of the 26th Congress, Maastricht, 24–29 May 1997*, str. 26, Maastricht 1997.
13. Lynch D. M.; Bamforth C. W.: J. Food Sci. 67, 2696 (2002).
14. Hollemans M., Tonies T., R., J., M., Bisperink Ch., G. J., Ronteltap, A.D.: *Tech. Q. – Master Brew. Assoc. Am.* 28, 168 (1991).
15. Asano K., Hashimoto N.: *Rep. Res. Lab. Kirin Brewery Comp.* 23, 1 (1980).
16. Simpson W. J., Hughes P. S.: *Cerevisia Biotechnol.* 19, 39 (1994).
17. Bamforth C. W., Canteranne E., Chandley P., Onishi A.: *EBC Proceedings of the 24th Congress, Oslo, 1993*, str. 331, Oslo 1993.
18. Roberts R. T.: J. Inst. Brew. 82, 38 (1976).
19. Hughes P., Wilde P. J.: *EBC Proceedings of the 26th Congress, Maastricht, 24–29 May 1997*, str. 525, Maastricht 1997.
20. Lusk L. T., Cronan Ch. L., Ting P. L., Seabrooks J., Ryder D.: *EBC Proceedings of the 29th Congress, Dublin, 17–22 May 2003, 79/1-79/10*, Dublin 2003.
21. Lewis M. J., Lewis A. S.: *Tech. Q. MBAA Commun.* 40, 114 (2003).
22. Basařová G., Čepička, J.: *Sladařství a pivovarství*. SNTL, Praha 1985.
23. Prokeš J.: *Kvasný Prům.* 46, 277 (2000).
24. Hirota N., Kuroda H., Takoi K., Kaneko T., Kaneda H., Yoshida I., Takashio M., Ito K., Takeda K.: *EBC Proceedings of the 30th Congress, Prague, 14–19 May 2005, 3/1-3/7*, Praha 2005.
25. Takahashi S., Yoshioka K., Hashimoto N., Kimura Y.: *Techn. Q. – Master Brew. Assoc. Am.* 34, 156 (1997).
26. Haukeli A. D., Wulff T. O., Lie S.: *EBC Proceedings of the 25th Congress, Oslo, 1993*, str. 365, Oslo 1993.
27. Bryce J. H., Cooper D.M, Stewart G.G.: *EBC Proceedings of the 26th Congress, Maastricht, 24–29 May 1997*, str. 357, Maastricht 1997.
28. Kano Y., Kamimura M.: J. Am. Soc. Brew. Chem. 51, 21 (1993).
29. Mohan S. B., Smith L., Kemp W., Lyddiat A.: J. Inst. Brew. 98, 187 (1992).
30. Brey S. E., Bryce J. H., Stewart G. G.: J. Inst. Brew. 108, 424 (2002).
31. Sørensen S. B., Bech L. M.: Muldbjerg M., Beenfeldt T., Breddam K.: *Tech. Q. – Master Brew. Assoc. Am.* 30, 136 (1993).
32. Vaag P., Bech L. M., Cameron-Mills V., Svendsen I.: *EBC Proceedings of the 27th Congress, Cannes, 1999*, str. 157, Cannes 1999.
33. Evans D. E., Hejgaard J.: J. Inst. Brew. 105, 159 (1999).
34. Leisegang R., Stahl U.: *EBC Proceedings of the 30th Congress, Prague, 14–19 May 2005, 7/1-7/4*, Praha 2005.
35. Kaersgaard P., Hejgaard J.: J. Inst. Brew. 85, 103 (1979).
36. Curioni A., Pressi G., Furegon L., Peruffo A. D. B.: J. Agric. Food Chem. 43, 2620 (1995).

37. Maeda K., Yokoi S., Kamada K., Kamimura M.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 49, 14 (1991).
38. Evans D. E.: *EBC Proceedings of the 25th Congress Brussels, 14–18 May 1995*, str. 225, Brussels 1995.
39. Bech L. M., Vaag P., Heinemann B., Breddam K.: *EBC Proceedings of the 25th Congress Brussels, 14–18 May 1995*, str. 561, Brussels 1995.
40. Jones B. L., Marinac L. A., Fontanini D.: *J. Agric. Food. Chem. Soc.* 48, 3898 (2000).
41. Evans D. E., Sheenan M. C., Stewart D. C.: *J. Inst. Brew.* 105, 171 (1999).
42. Lusk L. T., Ting Pat., Goldstein H., Ryder D., Navarro A. L.: *Eur. Brew. Conv. 1998, 27 (EBC-Symposium Beer Foam Quality, 1998)*, Monograph, 166, (1998).
43. Perrocheau L., Bakan B., Boivin P., Marion D.: *EBC Proceedings of the 30th Congress, Prague, 14–19 May 2005*, 72/1-72/7, Praha 2005.
44. Lusk L. T., Navarro A. L., Goldstein H., Wagner R. J., Randall J., Ryder D. S.: *PCT Int. Appl.* 3 pp (2002).
45. Cooper D. J., Husband F. A., Mills, E. N. C., Wilde, P. J.: *J. Agric. Food Chem.* 5/26, 7645 (2002).
46. Onishi A., Canterranne E., Clarke D. J., Proudlove M. O.: *EBC Proceedings of the 25th Congress, Brussels, 14–18 May 1995*, str. 553, Brussels 1995.
47. Dickie K.H., Cann C., Norman E. C., Bamforth C. W., Muller R. E.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 59, 17 (2001).
48. Kauffman J. A., Mills E. N. C., Brett G. M., Fido R. J., Tatam A. S., Shewry P. R., Onishi A., Proudlove M. O., Morgan M. R. A.: *J. Sci. Food Agric.* 66, 345 (1994).
49. Vaag P., Bech L. M., Cameron-Mills V., Sorensen M. B.: *PCT Int. Appl.* 82 pp. (2000).
50. Bamforth, C. W., Milani C.: *J. Sci. Food Agric.* 84, 1001(2004).
51. Bamforth C. W., Kanauchi M.: *J. Sci. Food Agric.* 8, 1045 (2003).
52. Ferreira I. M. P. L. V. O., Jorge K., Nogueira L. C., Silva F., Trugo L. C.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 4976 (2005).
53. Gray P., Stone I.: *Am. Soc. Brew. Chem. Proc.* 1956, 83.
54. Anon. *Brauwelt* 141, 2037 (2001).
55. Wilde P. J., Husband F. A., Cooper D., Ridout M. J.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 61, 196 (2003).
56. Furukubo S., Shobayashi M., Fukui N., Isoe A., Nakatani K.: *Tech. Q. – Master Brew. Assoc. Am.* 30, 155 (1993).
57. Brierley Ewen R., Wilde Peter J., Onishi Akiko, Hughes Paul S., Simpson William J., Clark David C.: *J. Sci. Food Agric.* 70, 531 (1996).
58. Perpete P., Maudoux M., Devreux A., Collin S.: *Cerevisia* 22, 36 (1997).
59. Brey S. E., de Costa S., Rogers P. J., Bryce J. H., Morris P.C., Mitchell W. J., Stewart G. G.: *J. Inst. Brew.* 109, 194 (2003).
60. Kogin A., Fukui N., Furukubo S.: *Tech. Q. – Master Brew. Assoc. Am.* 36, 67 (1999).
61. Bamforth C. W.: *Cerevisia Biotechnol.* 18, 49 (1993).
62. Bamforth C. W.: *J. Sci. Food Agric.* 80, 1371 (2000).

H. Čížková, P. Dostálek, J. Fiala, and I. Kolouchová (*Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Importance of Proteins from the Viewpoint of Stability of the Beer Foam**

A rich, dense and long-tasting head is one of the first perceptions of beer consumers. The most significant factors influencing the stability of the beer foam are generally considered to be hop substances, carbohydrates, carbon dioxide and proteins, in particular hydrophobic proteins.