NAUKI INŻYNIERSKIE I TECHNOLOGIE
ENGINEERING SCIENCES AND TECHNOLOGIES

Nauki Inżynierskie i Technologie
Engineering Sciences and Technologies
Year 2024, No. 40
ISSN 2449-9773
journals.ue.wroc.pl/niit

Piwa górnej i dolnej fermentacji jako naturalne źródło przeciwutleniaczy

Damian Czempiel

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

e-mail: 169034@student.ue.wroc.pl

Mirosława Teleszko

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

e-mail: miroslawa.teleszko@ue.wroc.pl

ORCID: 0000-0002-7939-2005

© 2024 Damian Czempiel, Mirosława Teleszko

Praca opublikowana na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa – Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0). Skrócona treść licencji dostępna jest online na https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.pl

Cytuj jako: Czempiel, D. i Teleszko, M. (2024). Piwa górnej i dolnej fermentacji jako naturalne źródło przeciwutleniaczy. *Nauki Inżynierskie i Technologie*, (40), 32-42.

DOI: 10.15611/nit.2024.40.03

JEL: L66, L78

Streszczenie

Cel: Celem pracy było porównanie wybranych gatunków piw górnej i dolnej fermentacji pod względem ogólnej zawartości związków fenolowych i potencjału przeciwutleniającego.

Metodyka: Oznaczenie fenoli przeprowadzono metodą Folina-Ciocâlteu. Aktywność antyoksydacyjną oceniono przez określenie stopnia zdolności przeciwutleniaczy zawartych w piwie do zmiatania kationorodnika ABTS oraz metodą oznaczania zdolności do redukcji jonów żelaza (FRAP).

Wyniki: Wykazano silną dodatnią korelację między zawartością fenoli ogółem a aktywnością przeciwutleniającą piw. Wraz ze wzrostem zawartości ekstraktu w brzeczce podstawowej wzrastała zawartość tych związków i aktywność przeciwutleniająca w analizowanych napojach. Rodzaj fermentacji nie wpłynął istotnie na badane parametry, w przeciwieństwie do barwy piwa, wynikającej z zastosowanych w jego produkcji słodów (piwa ciemne / piwa jasne).

Implikacje i rekomendacje: Aspektem wartym dalszego rozpoznania jest wpływ dodatku ekstraktów roślinnych na możliwość kształtowania potencjału bioaktywnego piwa.

Oryginalność/wartość: Wykazano, że piwo jest napojem wykazującym właściwości antyoksydacyjne i może być źródłem związków fenolowych.

Słowa kluczowe: piwo, związki fenolowe, ABTS, FRAP, przeciwutleniacze

1. Wstęp

Piwo jest prawdopodobnie najstarszym napojem alkoholowym na świecie, pod względem popularności ustępującym jedynie wodzie i herbacie (Cetó i in., 2013). Powstaje w wyniku warzenia i fermentacji skrobi pochodzącej głównie z ziaren zbóż – najczęściej słodu jęczmiennego, jak również pszenicy, kukurydzy i ryżu. Branża piwowarska oferuje wiele różnych rodzajów piwa. Główna klasyfikacja tych produktów obejmuje dwie grupy asortymentowe: piwa dolnej i górnej fermentacji. Dodatkowo można je podzielić na piwa alkoholowe i bezalkoholowe. Odrębną kategorię stanowią piwa specjalne i funkcjonalne (w tym bezalkoholowe, bezglutenowe, izotoniczne, z podwyższoną zawartością ksantohumolu, probiotyczne, *gruit*) (Stachowiak i Bukowski, 2021). Polski rynek piwowarski w ostatnich latach bardzo rozwinął asortyment piw smakowych i mieszanek piwa z innymi napojami, jak radlery (Salamon, 2016). Najchętniej spożywanymi piwami w Polsce są piwa dolnej fermentacji, szczególnie lagery. Piwa górnej fermentacji mają niski udział w rynku sprzedaży, jakkolwiek cieszą się popularnością wśród domowych piwowarów i małych browarów rzemieślniczych (Sroka i in., 2015).

Różnica między piwami dolnej i górnej fermentacji wiąże się z przebiegiem i warunkami samego procesu fermentacji oraz gatunkiem użytych drożdży. Górna fermentacja trwa zazwyczaj trzy, cztery dni i przebiega w temperaturze 18-22°C. W odróżnieniu od piw dolnej fermentacji, które fermentują kilka dni dłużej w temperaturze około 10°C, piwa górnej fermentacji wytwarzają nawet dwa razy więcej ubocznych produktów (głównie wyższych alkoholi i estrów). Spowodowane jest to szybszym spadkiem pH oraz większą ilością wytworzonego CO_2. W browarnictwie używa się zazwyczaj czystych kultur drożdży do fermentacji, jakkolwiek w wypadku niektórych piw specjalnych stosuje się fermentację spontaniczną lub mieszaną. W tego typu procedurach fermentacyjnych wykorzystuje się układy mieszane różnych gatunków drożdży (oraz bakterii), które działają sekwencyjnie, nadając piwu wysoki stopień złożoności aromatu. Zwykle w produkcji piw stosuje się dwa gatunki drożdży: *Saccharomyces cerevisiae* (górna fermentacja) i *Saccharomyces pastorianus / Saccharomyces carlsbergensis* (dolna fermentacja) (Libkind i in., 2011).

Dawniej warzono piwa wyłącznie metodą górnej fermentacji, podczas gdy piwa dolnej fermentacji zaczęto produkować na większą skalę dopiero w połowie XIX wieku (Kunze, 1999). Przyczynił się do tego browar Urquell w Pilznie, w którym zaczęto produkować pierwsze piwa typu pilzner. Piwo to jest klasycznym przykładem piw dolnej fermentacji, ma wielowiekowe tradycje warzenia z użyciem wody pilzneńskiej, która jest uważana za wzorcową. Pilsner Urquell stanowi oryginalną wersję wszystkich piw typu pils i pilzner (Tuszyński i Poreda, 2003). Lagerami nazywa się większość piw dolnej fermentacji, w tym piwa typu pilzner, które są produkowane w skali przemysłowej. Charakteryzuje je jasna barwa i duża pienistość. Są to piwa przeważnie lekkie o zawartości alkoholu około 5%, wyróżniające się charakterystyczną goryczką chmielową o ziołowym aromacie. Innym piwem dolnej fermentacji jest bock (koźlak). Charakteryzuje się wysokim stężeniem ekstraktu brzeczki podstawowej (16-17%) oraz objętością alkoholu w granicach 6-7%. Koźlaki mogą być wytwarzane w wersji ciemnej i jasnej, a tradycja ich warzenia sięga XVI wieku. Podobnym piwem do bocka, popularnym w Polsce, jest porter bałtycki. Do piw dolnej fermentacji należą także takie gatunki, jak: marcowe, export, doppelbock czy piwa lodowe.

Głównym reprezentantem piw górnej fermentacji są piwa typu ale. Są to ciemne piwa angielskie, warzone z rozluźnionych słodów, z dodatkami surowców niesłodowanych, jak miód i imbir. Zawartość alkoholu w piwach typu ale wynosi 3-10%. Najbardziej znanym piwem tego typu jest IPA (Indian Pale Ale), które wyróżnia się wysoką zawartością alkoholu i mocnym nachmieleniem. Innym piwem górnej fermentacji jest piwo pszeniczne (*Weizenbier*). Zawartość słodu pszenicznego wynosi w nim co najmniej 50%, a brzeczka podstawowa zawiera 11% ekstraktu. Piwo pszeniczne może być klarowne lub z drożdżami. Typowy aromat zapewnia mu obecność 4-winylo-gwajakolu, który powstaje między innymi dzięki wczesnemu zbiorowi drożdży i niskiej początkowej temperaturze zacierania. Jednym z najciemniejszych piw, nie tylko górnej fermentacji, jest porter. Jest on mocno chmielony i zawiera

objętościowo 4,5-5% alkoholu. Dawne portery miały nawet dwa razy więcej alkoholu. Obecnie nie wytwarza się dużej ilości porterów, ponieważ zostały one wyparte przez piwa typu stout, które są do nich bardzo podobne. Najsłynniejszym producentem piw typu stout jest irlandzki Guinness, którego piwa charakteryzują się wytrawnym smakiem oraz dodatkiem azotu do puszek i kegów, zapewniającym gęstą pianę. Innymi piwami górnej fermentacji, oprócz omówionych powyżej, są między innymi kölsch, witbier, altbier i duvel (Kunze, 1999).

W skład piwa wchodzi wiele związków wykazujących aktywność biologiczną, w tym związki fenolowe. Szacuje się, że około 80% tych przeciwutleniaczy zawartych w piwie pochodzi z jęczmienia, a około 20% – z chmielu. Głównymi związkami fenolowymi piwa są taniny, kwasy fenolowe, flawony i flawonole (Habschied i in., 2020). Wpływają one bezpośrednio na smak, mętność, goryczkę oraz pełnię piwa. Zawartość związków fenolowych zależy od czynników genetycznych surowców, warunków ich uprawy oraz od parametrów technologicznych podczas warzenia piwa (de Gaetano i in., 2016). We współczesnej technologii piwowarskiej dąży się do zmniejszenia ilości tych związków, które w połączeniu z białkami powodują zmętnienia. Konsumenci preferują bowiem produkty o wysokiej trwałości koloidalnej i smakowej, przy jednoczesnym długim okresie przydatności. Z drugiej strony w produkcji żywności i napojów coraz silniejszy jest trend zwiększania ilości przeciwutleniaczy, co jest podyktowane względami zdrowotnymi. Dzięki modyfikacji parametrów niektórych etapów technologicznych w produkcji piwa jest możliwe uzyskanie w nim wyższej zawartości związków fenolowych, nie tracąc jednocześnie na walorach sensorycznych i trwałości napoju (Szwajgier i Targoński, 2005).

Jednym z głównych i najlepiej opisanych związków fenolowych piwa jest ksantohumol, flawonoid pochodzący z szyszek chmielu. Podczas warzenia brzeczki w większości przechodzi w izoksantohumol w trakcie termicznej reakcji izomeryzacji (Arczewska i in., 2017). Z tego powodu piwa komercyjne charakteryzują się niską zawartością ksantohumolu (maksymalnie 0,15 mg/l) i wysoką izoksantohumolu (od 0,04 do 3,44 mg/l), który jest lepiej rozpuszczalny, ale jednocześnie wykazuje niższą aktywność biologiczną niż ksantohumol. Browary zaczęły produkować i wykorzystywać ekstrakty z chmielu wzbogacone w ksantohumol w celu zwiększenia jego zawartości w piwie (Magalhães i in., 2009). Ksantohumol wykazuje między innymi właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne i antykancerogenne. Wykazano, że jest znacznie silniejszym przeciwutleniaczem niż witaminy C i E (Bańcyr i Żyromski, 2014). Aktywność ksantohumolu polega między innymi na neutralizowaniu wolnych rodników oraz zapobieganiu powstawania anionorodników ponadtlenkowych tworzonych przez oksydazę ksantynową, przez co chroni przed uszkodzeniami struktur serca i naczyń krwionośnych (Szyguła-Jurkiewicz i in., 2012). Ponadto ksantohumol spowalnia utlenianie lipidów i działa ochronnie na lipoproteiny o niskiej gęstości (Gołąbczak i Gendaszewska-Darmach, 2010). Pod względem właściwości antynowotworowych wykazuje działanie zarówno podczas inicjacji, promocji, jak i progresji w procesie powstawania nowotworów. Podczas inicjacji chroni materiał genetyczny (DNA) przed reaktywnymi formami tlenu i jego mutacją, a w fazie promocji zatrzymuje wytwarzanie tlenku azotu. Te dwa mechanizmy powstrzymują rozwój onkogenezy i stanu zapalnego. W ostatnim etapie tworzenia nowotworu ksantohumol między innymi blokuje cykl komórkowy i zatrzymuje syntezę DNA (Iwaniuk i Terlecka, 2019).

Spożywanie produktów zasobnych w związki fenolowe uważa się za istotny element prewencji wielu współczesnych chorób, u podłoża których leży stres oksydacyjny (Jawhara, 2024). Biorąc pod uwagę mnogość asortymentu piw i ciągły jego rozwój, uzasadnione jest pytanie o różnice w zawartości przeciwutleniaczy w tej grupie napojów, wynikające zarówno z natury surowców używanych w produkcji piw, jak i z samych parametrów procesowych. Stąd celem niniejszej pracy było porównanie wybranych piw górnej i dolnej fermentacji pod względem zawartości fenoli ogółem oraz potencjału przeciwutleniającego.

2. Materiał i metodyka doświadczeń

2.1. Materiał badawczy

Materiał do badań stanowiło pięć piw fermentacji dolnej i pięć piw fermentacji górnej, dostępnych w sprzedaży detalicznej na terenie Wrocławia (tab. 1). Przygotowanie napojów do analiz obejmowało pobranie 20 ml każdego rodzaju piwa do szklanych zlewek o pojemności 25 ml, odgazowanie próbek (mieszanie 10 minut) i ich wirowanie przez 5 minut przy prędkości 10 tysięcy rpm (MPW 350R; MPW Med. Instruments, Warszawa, Polska). Próbki przechowywano w lodówce w temperaturze około 4°C do momentu rozpoczęcia analiz (jeden dzień).

Tabela 1. Charakterystyka badanych piw

Gatunek	Nazwa handlowa, browar	Rodzaj fermentacji	Alkohol* (% obj.)	Ekstrakt brzeczki* podstawowej (% wag.)
Lager	Tyskie Gronie, Tyskie Browary Książęce	dolna	5,2	11,6
Pilzner	Poutnik, Browar Poutnik		5	12
Koźlak	Bock, Browar Trzech Kumpli		6,7	16,5
Porter Bałtycki	Komes Porter Bałtycki, Browar Fortuna		9	21
Marcowe	Löwenbräu, Browar Löwenbräu		6,1	13,8
Pszeniczne	Paulaner, Browar Paulaner	górna	5,5	13,6
Sour Saison	Nepomucen Acido, Browar Nepomucen		5,6	12
Dark Stout	Guinness, Browar St. Jame's Gate		4,2	9,8
Indian Pale Ale	Książęce IPA, Tyskie Browary Książęce		5,4	13
Witbier	Podróże Kormorana, Browar Kormoran		4,6	12,5

* Wartości deklarowane przez producenta.

Źródło: opracowanie własne.

2.2. Metodyka doświadczeń

2.2.1. Oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych metodą Folina-Ciocâlteu (Gao i in., 2000)

Do kuwet spektrofotometrycznych o pojemności 4 ml pobierano 0,1 ml odgazowanego piwa, następnie dodawano 0,2 ml odczynnika Folina-Ciocâlteu (Chempur, Piekary Śląskie, Polska), 2 ml wody redestylowanej i 1 ml dwudziestoprocentowego roztworu węglanu sodu (Merck, Darmstadt, Niemcy). Po wymieszaniu kuwety z mieszaniną reakcyjną przetrzymywano bez dostępu światła w szafce laboratoryjnej w temperaturze ±20°C przez 60 minut. Po upływie czasu przewidzianego na inkubację próbek odczytywano ich absorbancję wobec wody redestylowanej przy długości fali 765 nm (UV-1900I, Shimadzu, Japonia). Do przygotowania krzywej standardowej wykorzystano kwas galusowy (Sigma Aldrich Production GmbH, Szwajcaria). Wyniki oznaczenia przeliczono na miligramy kwasu galusowego (kg)/l napoju. Oznaczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

2.2.2. Ocena aktywności przeciwutleniającej piw metodą ABTS (Re i in., 1999)

Roztwór wyjściowy kationorodnika ABTS, zawierający 7 mmol $ABTS^{\cdot+}$ i 2,45 mmol peroksodisiarczanu (VI) potasu (Sigma-Aldrich, Steinheim, Niemcy), pozostawiono na 16 godzin bez dostępu światła w celu wytworzenia barwnych rodników $ABTS^{\cdot+}$. Bezpośrednio przed analizą przygotowany roztwór kationorodnika rozcieńczono wodą redestylowaną tak, aby przy długości fali λ = 734 nm jego absorbancja wynosiła ~0,700. Do kuwet spektrofotometrycznych pobrano 0,03 ml odgazowanego piwa (lub wody

destylowanej – próba odniesienia), które wymieszano z 3 ml roztworu $ABTS^{\cdot+}$. Po upływie 6 minut zmierzono absorbancję próbek (λ = 734 nm; UV-1900I, Shimadzu, Japonia) wobec wody redestylowanej.

Wyniki analizy wyrażono w mmol Trolox (TE)/l piwa. Oznaczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

2.2.3. Oznaczanie zdolności do redukcji jonów żelaza FRAP (Benzie i Strain, 1996)

Odczynnik roboczy do analizy FRAP przygotowano, mieszając bufor octanowy (300 µmol, pH 3,6), TPTZ (10 µmol w 40 µmol HCl) oraz $FeCl_3*6H_2O$ (20 µmol) w stosunku 10:1:1 (v/v/v). Do kuwet spektrofotometrycznych pobrano 0,1 ml piwa, dodano 0,9 ml wody redestylowanej oraz 3 ml roztworu roboczego, dokładnie mieszając wszystkie reagenty. Absorbancję roztworu zmierzono po 10 minutach reakcji przy λ = 593 nm (UV-1900I, Shimadzu, Japonia). Wyniki analizy wyrażono w mmol TE/l piwa. Oznaczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

2.2.4. Statystyczne opracowanie wyników

Wyniki oznaczeń zawartości związków fenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej piw poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statistica 13.1 (StatSoft, Kraków, Polska). Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) przy poziomie istotności $p < 0,05$. Na podstawie testu Duncana wyznaczono grupy jednorodne. Obliczono współczynnik korelacji Pearsona między badanymi zmiennymi.

3. Rezultaty badań

Piwa, w zależności od gatunku, były istotnie zróżnicowane pod względem zawartości fenoli ogółem (tab. 2). Najwięcej tych związków oznaczono w piwie Komes Porter Bałtycki (279,46 mg kg/l), a najmniej w piwach typu Witbier i Tyskie Gronie (odpowiednio 83,95 mg kg/l i 86,85 mg kg/l; $p < 0,05$). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między piwami fermentacji dolnej (średnia zawartość fenoli 153,32 mg kg/l) i górnej (113,45 mg kg/l).

Tabela 2. Zawartość związków fenolowych w badanych piwach

Gatunek	Nazwa handlowa	Fenole ogółem (mg kg/l)	Rodzaj fermentacji	Fenole ogółem (mg kg/l)
Lager	Tyskie Gronie	86,85 g*	dolna	153,32 ± 84,37 a
Pilzner	Poutnik	104,22 de		
Koźlak	Bock	201,30 b		
Porter Bałtycki	Komes Porter Bałtycki	279,46 a		
Marcowe	Löwenbräu	94,76 f		
Pszeniczne	Paulaner	100,36 e	górna	113,45 ± 34,99 a
Sour Saison	Nepomucen Acido	174,09 c		
Dark Stout	Guinness	101,71 de		
Indian Pale Ale	Książęce IPA	107,12 d		
Witbier	Podróże Kormorana	83,96 g		

* a-f – te same litery w kolumnie trzeciej oznaczają brak istotnych różnic między średnimi w teście Duncana w odniesieniu do wszystkich badanych prób piw ($p < 0,05$), a-a – te same litery w kolumnie piątej oznaczają brak istotnych różnic między średnimi w teście Duncana w odniesieniu do piw górnej i dolnej fermentacji.

Źródło: opracowanie własne.

Zaobserwowano jednak, że wśród piw dolnej fermentacji wysoką zawartością związków fenolowych odznaczały się piwa ciemne – wspomniany wcześniej Porter Bałtycki oraz Bock z Browaru Lotnego Trzech Kumpli (201,30 mg kg/l; $p < 0,05$). W pozostałych piwach, będących klasycznymi jasnymi lagerami, zawartość wspomnianych związków nie przekroczyła 105 mg kg/l i była najniższa w produkowanym przez Kompanię Piwowarską piwie Tyskie Gronie. Z kolei w grupie piw produkowanych metodą górnej fermentacji wyróżniał się przede wszystkim Nepomucen Acido – jasne piwo typu belgijskiego – zawierający wyciągi z aronii i czarnej porzeczki, w którym zawartość badanych przeciwutleniaczy wynosiła 174,086 mg kg/l. Piwa Książęce IPA, Guinness i Paulaner charakteryzowały się zbliżoną, jakkolwiek statystycznie różną zawartością fenoli, mieszczącą się w zakresie od 100,36 do 107,115 mg kg/l.

Piwo o najwyższej zawartości związków fenolowych ogółem (Komes Porter Bałtycki) zawierało, na co wskazują informacje podane przez producenta, najwięcej alkoholu etylowego (9% obj.) oraz charakteryzowało się najwyższą zawartością ekstraktu w brzeczce podstawowej (21% wag.) spośród wszystkich badanych piw. W celu zweryfikowania istotności tej obserwacji i potwierdzenia wspomnianej zależności w badanych produktach przeprowadzono analizę korelacji Pearsona. Obliczone współczynniki korelacji między zawartością związków fenolowych i alkoholu w piwach oraz ekstraktywnością brzeczki wskazały bardzo silną współzależność wymienionych czynników ($r > 0,8$), której przyczyny należy upatrywać w specyfice surowców browarniczych i samym procesie fermentacji (tab. 3).

Tabela 3. Współczynnik korelacji Pearsona między badanymi zmiennymi

Korelacja	Wartość współczynnika korelacji *r*
fenole – zawartość alkoholu	0,88
fenole – ekstrakt brzeczki	0,85
ekstrakt brzeczki – zawartość alkoholu	0,97
fenole – ABTS	0,96
fenole – FRAP	0,92
ABTS – FRAP	0,99
ABTS – zawartość alkoholu	0,76
FRAP – zawartość alkoholu	0,71
ABTS – ekstrakt brzeczki	0,70
FRAP – ekstrakt brzeczki	0,64

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 4. Aktywność przeciwutleniająca badanych piw – metoda ABTS

Gatunek	Nazwa handlowa	ABTS (mmol TE/l)	Rodzaj fermentacji	ABTS (mmol TE/l)
Lager	Tyskie Gronie	1,93 de*	dolna	2,86 ± 1,11 a
Pilzner	Poutnik	2,35 c		
Koźlak	Bock	3,69 b		
Porter Bałtycki	Komes Porter Bałtycki	4,37 a		
Marcowe	Löwenbräu	1,94 de		
Pszeniczne	Paulaner	2,18 cd	górna	2,47 ± 0,83 a
Sour Saison	Nepomucen Acido	3,93 b		
Dark Stout	Guinness	2,11 cde		
Indian Pale Ale	Książęce IPA	2,28 c		
Witbier	Podróże Kormorana	1,84 e		

* a-e – te same litery w kolumnie trzeciej oznaczają brak istotnych różnic między średnimi w teście Duncana w odniesieniu do wszystkich badanych prób piw ($p < 0,05$), a-a – te same litery w kolumnie piątej oznaczają brak istotnych różnic między średnimi w teście Duncana w odniesieniu do piw górnej i dolnej fermentacji.

Źródło: opracowanie własne.

Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą (AP; $p < 0,05$), oznaczoną zarówno metodą ABTS, jak i FRAP, charakteryzował się Komes Porter Bałtycki (odpowiednio 4,37 i 2,98 mmol TE/l), a w dalszej kolejności Nepomucen Acido (3,93 i 2,92 mmol TE/l) oraz Bock (3,69 i 2,41 mmol TE/l). W przypadku metody ABTS aktywność obu wspomnianych rodzajów piwa nie różniła się istotnie. Większych różnic pod względem AP nie stwierdzono także między czeskim pilznerem Poutnik (2,35 mmol TE/l) a Książęcym IPA (2,28 mmol TE/l; $p > 0,05$; metoda ABTS) oraz miedzy Książęcym IPA a Paulanerem (1,44 i i 1,43 mmol TE/l; $p > 0,05$; metoda FRAP). Najniższe wartości aktywności przeciwutleniającej w odniesieniu do analizy FRAP oznaczono w piwie Tyskie (1,04 mmol TE/l), a w wypadku metody ABTS – także w monachijskim, jasnym piwie Löwenbräu (odpowiednio 1,93 i 1,94 mmol TE/l; $p < 0,05$). Stwierdzono bardzo wysoki współczynnik korelacji Pearsona między wynikami obu metod, użytych do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej piw ($r = 0,99$) (tab. 3).

Tabela 5. Potencjał redukujący jony żelaza (FRAP) oznaczony w badanych piwach

Gatunek	Nazwa handlowa	FRAP (mmol TE/l)	Rodzaj fermentacji	FRAP (mmol TE/l)
Lager	Tyskie Gronie	1,04 i*	dolna	1,77 ± 0,87a
Pilzner	Poutnik	1,25 f		
Koźlak	Bock	2,41 c		
Porter Bałtycki	Komes Porter Bałtycki	2,98 a		
Marcowe	Löwenbräu	1,19 g		
Pszeniczne	Paulaner	1,43 d	górna	1,66 ± 0,71a
Sour Saison	Nepomucen Acido	2,92 b		
Dark Stout	Guinness	1,37 e		
Indian Pale Ale	Książęce IPA	1,44 d		
Witbier	Podróże Kormorana	1,14 h		

* a-h – te same litery w kolumnie trzeciej oznaczają brak istotnych różnic między średnimi w teście Duncana w odniesieniu do wszystkich badanych prób piw ($p < 0,05$), a-a – te same litery w kolumnie piątej oznaczają brak istotnych różnic między średnimi w teście Duncana w odniesieniu do piw górnej i dolnej fermentacji.

Źródło: opracowanie własne.

4. Dyskusja i wnioski

Z dostępnych danych literaturowych wynika, że zawartość związków fenolowych w piwie w głównej mierze zależy od specyfiki technologicznej oraz od użytych surowców (Aron i in., 2010). Potwierdzili to także inni badacze (zob. Śledziński i in., 2013), którzy w badaniach stwierdzili, że zawartość polifenoli w piwie zależy od sposobu ich produkcji. W badaniach przeprowadzonych przez Pieszko i Kurek (2011) zbadano zależność między zawartością związków fenolowych a ekstraktem brzeczki podstawowej w piwie. Mimo że piwo o najwyższej zawartości alkoholu i zawierające wagowo największą ilość ekstraktu w brzeczce podstawowej odznaczało się najwyższą zawartością przeciwutleniaczy, nie stwierdzono istotnej współzależności między tymi czynnikami w pozostałych badanych piwach. Przyczyn zróżnicowania piw pod względem zawartości związków fenolowych można upatrywać w specyfice technologii produkcji tego napoju. Pieszko i Kurek (2011) stwierdziły, że im piwo przechodzi przez więcej procesów technologicznych podczas produkcji, tym niższa jest zawartość wspomnianych związków w produkcie końcowym (nawet o 25% względem początkowej brzeczki), co wynika z wrażliwości przeciwutleniaczy zawartych w słodzie i chmielu na działanie tlenu i wysokich temperatur. Zjawisko to jest częściowo pożądane w piwach komercyjnych, ponieważ ułatwia uzyskanie klarownego produktu. Vinson z zespołem (2003) przeprowadzili badania dotyczące zawartości związków fenolowych w różnych piwach, z których wynika, że piwa górnej fermentacji typu ale, porter i stout zawierały średnio trzykrotnie więcej tych przeciwutleniaczy niż lagery, czyli piwa dolnej fermentacji. Autorzy ci nie scharakteryzowali jednak dokładnie gatunków piw, podając jedynie kraj ich pochodzenia.

Nie można zatem jednoznacznie stwierdzić, czy sformułowanie „lagers" dotyczyło wszystkich piw dolnej fermentacji, czy tylko typowych piw komercyjnych o niskiej zawartości alkoholu oraz złocistej barwie z dużą ilością piany.

W badaniach własnych typowym komercyjnym lagerem było piwo Tyskie. Na tle piw typu ale (Książęce IPA) oraz stout (Guinness), które to gatunki były uwzględnione również w badaniach Vinsona (Vinson i in., 2003), Tyskie zawierało istotnie mniej fenoli ogółem w stosunku do piwa typu ale i stout. Nie była to jednak wartość trzykrotnie mniejsza, jak to stwierdzono przywołanych badaniach zespołu Vinsona (2003). Uwzględnione w badaniach własnych piwo Komes Porter Bałtycki jest piwem dolnej fermentacji, ale pochodzi od wytwarzanego metodą górnej fermentacji angielskiego portera, od którego różni się głównie drożdżami użytymi w procesie fermentacji. Jednakże oba te gatunki wykazują wiele podobieństw, takich jak barwa, użyte surowce oraz zawartość ekstraktu w brzeczce podstawowej. Porównując ze sobą zawartość fenoli w badanym Porterze Bałtyckim oraz piwie Tyskie, należy zauważyć, że ilość przeciwutleniaczy oznaczonych w Porterze przewyższa piwo typu lager ponadtrzykrotnie. Analogiczne wyniki otrzymał zespół Vinsona (2003) w wypadku angielskiego portera górnej fermentacji i lagerów. Gąsior z zespołem (2020) określiła wpływ słodów na zawartości fenoli w brzeczce podstawowej. Jako próbę kontrolną przyjęto brzeczkę wytworzoną w całości z jasnego słodu pilzneńskiego. Następnie, w pierwszej serii badań, utworzono pięć brzeczek, które w 10% składały się z pięciu różnych ciemnych słodów dodanych do próby kontrolnej. W prawie wszystkich tak utworzonych brzeczkach zauważono wzrost zawartości fenoli ogółem. Wyjątkiem była brzeczka z dodatkiem słodu z jęczmienia brązowego, w której zawartość fenoli nieznacznie spadła. W brzeczce z dodatkiem ciemnego słodu czekoladowego zauważono ponaddwukrotny wzrost zawartości badanych związków. Słód ten został użyty także do drugiej serii pomiarów, gdzie utworzono pięć brzeczek z dodatkiem odpowiednio: 20%, 25%, 30%, 35% oraz 40% ciemnego słodu czekoladowego. Autorzy stwierdzili, że wraz ze wzrostem zawartości ciemnego słodu w brzeczce rosła również zawartość fenoli ogółem. Próbka, która zawierała 40% ciemnego słodu, miała prawie pięciokrotnie więcej fenoli ogółem niż próba kontrolna wytworzona wyłącznie z jasnego słodu pilzneńskiego. Według autorów tych badań, zawartość fenoli w piwie zależy w głównej mierze od użytych surowców, barwy piwa oraz technologii jego produkcji. W badaniach własnych wykazano, że piwa ciemne zawierały istotnie więcej tych związków (średnio 194,16 mg kg/l) niż piwa jasne (średnio 107,34 mg kg/l; $p < 0,05$) (Gąsior i in., 2020).

Uwzględniając jednak podział badanych piw na piwa dolnej i górnej fermentacji, trzeba zauważyć, że wspomniana zależność nie była jednoznaczna. Mimo że piwo Guinness (fermentacja górna) było najciemniejszym z badanych piw, to oznaczona w nim zawartość fenoli była dwukrotnie niższa niż w piwie ciemnym dolnej fermentacji Bock i blisko trzykrotnie niższa, niż to oznaczono w Porterze Bałtyckim (również piwo ciemne dolnej fermentacji). Co ciekawe, zawartość związków fenolowych w piwie Guinness była niekiedy niższa niż w piwach jasnych, w tym wytworzonym tą samą metodą fermentacji Książęcym IPA. Według Gąsior i in. (2020) mimo spadku zawartości związków bioaktywnych z każdym kolejnym procesem produkcji piwa ich końcowa ilość w gotowym produkcie jest proporcjonalna do ich zawartości w brzeczce podstawowej. Skłania to do dbałości o technologię i surowce użyte do wytworzenia brzeczki, ponieważ już początkowy etap produkcji piwa wpływa na finalną zawartość związków fenolowych.

Zależność między zawartością związków fenolowych a barwą piwa opisali inni badacze (zob. Martinez-Gomez i in., 2020). W ich badaniu stwierdzono, że najwięcej tych przeciwutleniaczy zawierają ciemne piwa i piwa typu ale, na co wpływ mają ciemne słody użyte do produkcji brzeczki. Najmniej fenoli spośród wszystkich piw alkoholowych zawierały lagery (Martinez-Gomez i in., 2020). Ponadto przywoływani badacze zwrócili uwagę, że oprócz piw ciemnych wysoką zawartością fenoli charakteryzują się piwa owocowe. Tłumaczyłoby to wysoką zawartość fenoli stwierdzoną w piwie Nepomucen Acido w badaniach własnych (174,086 mg kg/l). W skład tego piwa wchodzi bowiem ekstrakt z czarnej porzeczki i aronii.

Według Kordialik-Bogackiej (2011) aktywność antyoksydacyjna piw jest tym większa, im ciemniejsza jest barwa napoju. Także w badaniach zespołu Patrycji Stachury (2020) stwierdzono, że ciemne piwo

charakteryzuje się wyższą aktywnością (mierzoną w teście FRAP) w stosunku do jasnych piw w typie lager. Obserwacje te potwierdzają wyniki badań własnych. W piwach ciemnych oznaczono AP na poziomie 2,25 i 3,39 mmol TE/l (wartości średnie odpowiednio w metodzie FRAP i ABTS), podczas gdy w piwach jasnych wartości te były istotnie niższe. Obserwacje te znajdują potwierdzenie w literaturze. W badaniu zespołu Gąsior (2020) dotyczącym wpływu dodatku ciemnych słodów na zawartość związków bioaktywnych w brzeczce podstawowej stwierdzono współzależność między zawartością fenoli a aktywnością przeciwutleniającą. Wraz ze wzrostem zawartości związków fenolowych zwiększała się aktywność antyoksydacyjna badanych brzeczek. Kawa-Rygielska i in. (2019) również stwierdzili zależność między aktywnością przeciwutleniającą i zawartością fenoli w piwie. Do badanych próbek piw dodawano soki z różnych odmian wiśni. Zawarte w tych owocach antocyjany i flawonole wpłynęły jednocześnie na wzrost aktywności przeciwutleniającej badanych napojów. Aktywność antyoksydacyjna wyciągów z szyszek i granulatów chmielowych nie wykazuje zależności liniowej w porównaniu z zawartymi w nich związkami fenolowymi (Jamroz i in., 2006). Powodem tego są między innymi jakość surowca i obecność innych związków, które mogły przedostać się do roztworu podczas ekstrakcji. Zdaniem Kordialik-Bogackiej (2011) wpływ na aktywność przeciwutleniającą piwa ma nie tylko stężenie związków fenolowych w napoju, lecz również ich biodostępność. Na przykład kwas ferulowy zawarty w piwie jest przyswajany w 100% przez organizm człowieka. Ten sam związek występujący w większej ilości w pomidorach jest z nich przyswajany w zaledwie 11-25%. Zespół Śledzińskiego (2013), badając różne rodzaje piwa pod względem ich aktywności antyoksydacyjnej oraz zawartości fenoli, nie stwierdził korelacji między tymi cechami. Był to rezultat odmienny względem badań własnych, w których stwierdzono niemal pełną zależność między zawartością wspomnianych przeciwutleniaczy a aktywnością przeciwutleniającą. W badaniach przeprowadzonych przez Kawę-Rygielską (2019) zauważono znaczny wzrost aktywności przeciwutleniającej piw w wyniku zastosowania w ich recepturze dodatku owoców.

Piwo, mimo że kojarzone jest głównie z napojem alkoholowym, wykazuje właściwości antyoksydacyjne i może być źródłem związków fenolowych. Różnorodność gatunkowa piw i otwartość browarników na testowanie nowych surowców oraz dodatków sprzyja personalizacji produktów i zwiększaniu ich prozdrowotnego potencjału. Badania własne potwierdzają, że związki fenolowe wpływają na przeciwutleniający potencjał analizowanych piw. Szczególnie wartościowe są pod tym względem piwa ciemne. Nie stwierdzono istotnych różnic w wartościach analizowanych parametrów jakościowych między piwami dolnej i górnej fermentacji. Warty dalszego rozpoznania jest wpływ dodatku ekstraktów roślinnych na możliwość kształtowania potencjału bioaktywnego piwa. Poza ekstraktami owocowymi, w tym cytrusowymi, ciekawym dodatkiem mogą okazać się zioła, przyprawy oraz propolis, stanowiący nie tylko cenne źródło fenolokwasów i flawonoidów, ale także terpenów czy stilbenów (Ulloa i in., 2017).

Bibliografia

Arczewska, M., Kamiński, D. M., Gieroba, B. i Gagoś, M. (2017). Acid-Base Properties of Xanthohumol: A Computational and Experimental Investigation. *Journal of Natural Products*, *80*(12), 3194-3202.

Aron, P. M. i Shellhammer, T. H. (2010). A Discussion of Polyphenols in Beer Physical and Flavour Stability. *Journal of the Institute od Brewing*, *116*(4), 369-380.

Bańcyr, E. i Żyromski, M. (2014). Kwas ferulowy, beta-glukan i ksantohumol – bioaktywne składniki o potencjalnym wykorzystaniu prozdrowotnym. *Acta Mygenica*, *5*, 47-50.

Benzie, I. F. F. i Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducting Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, *239*, 70-76.

Cetó, X., Gutiérrez-Capitán, M., Calvo, D. i Del Valle, M. (2013). Beer Classification by Means of a Potentiometric Electronic Tongue. *Food Chemistry*, *141*(3), 2533-2540.

De Gaetano, G., Costanzo, S., Di Castelnuovo, A., Badimon, L., Bejko, D., Alkerwi, A., Chiva-Blanch, G., Estruch, R., La Vecchia, C., Panico, S., Pounis, G., Sofi, F., Stranges, S., Trevisan, M., Ursini, F., Cerletti, C., Donati, M. B. i Iacoviello, L. (2016). Effects of Moderate Beer Consumption on Health and Disease: A Consensus Document. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, *26*, 443-467.

Gao, X., Björk, L., Trajkovski, V. i Uggla, M. (2000). Evaluation of Antioxidant Activities of Rosehip Ethanol Extracts in Different Test Systems. *Journal of Science of Food and Agriculture*, *80*(14), 2021-2027.

Gąsior, J., Kawa-Rygielska, J. i Kucharska, A. Z. (2020). Carbohydrates Profile, Polyphenols Content and Antioxidative Properties of Beer Worts Produced with Different Dark Malts Varieties or Roasted Barley Grains. *Molecules*, *25*(17), 3882.

Gołąbczak, J. i Gendaszewska-Darmach, E. (2010). Ksantohumol i inne prenyloflowonoidy szyszek chmielu – aspekty biologiczne i technologiczne. *Biotechnologia*, *1*(88), 82-96.

Habschied, K., Lončarić, A. i Mastanjević, K. (2020). Screening of Polyphenols and Antioxidative Activity in Industrial Beers. *Foods*, *9*(2), 238.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. (2010). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. WHO Press.

Iwaniuk, P. i Terlecka, P. (2019). Ksantohumol – przeciwnowotworowy prenyloflawonoid zawarty w chmielu zwyczajnym (*Humulus lupulus* L.). W: M. Chwil i M. M. Skoczylas (red.), *Współczesne badania nad stanem środowiska i leczniczym wykorzystaniem roślin* (s. 81-88). Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Jamroz, J., Mazurek, A., Góra, M. i Kargul, K. (2006). Właściwości przeciwutleniające wyciągów otrzymywanych z goryczkowych odmian chmielu. *Acta Agrophysica*, *7*(1), 81-85.

Jawhara, S. (2024). How Do Polyphenol-Rich Foods Prevent Oxidative Stress and Maintain Gut Healt? *Microorganisms*, *12*(8), 1570.

Kaplan, N. M., Palmer, B. F. i Denke, M. A. (2000). Nutritional and Health Benefits of Beer. *The American Journal of the Medical Sciences*, *320*(5), 320-326.

Kawa-Rygielska, J., Adamenko, K., Kucharska, A. Z., Prorok, P. i Piórecki, N. (2019). Physicochemical and Antioxidative Properties of Cornelian Cherry Beer. *Food Chemistry*, *281*, 147-153.

Kordialik-Bogacka, E. (2011). Wartość żywieniowa piwa. *Żywność Projektowana*, *1*, 124-134.

Kunze, W. (1999). *Technologia piwa i słodu*. Wydawnictwo Piwochmiel.

Libkind, D., Hittinger, C. T., Valério, E., Gonçalves, C., Dover, J., Johnston, M., Gonçalves, P. i Sampaio, J. P. (2011). Microbe Domestication and the Identification of the Wild Genetic Stock of Lager-Brewing Yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*, 14539-14544.

Magalhães, P. J., Carvalho, D. O., Cruz, J. M., Guido, L. F. i Barros, A. A. (2009). Fundamentals and Health Benefits of Xanthohumol, a Natural Product Derived from Hops and Beer. *Natural Product Communications*, *4*(5), 591-610.

Martinez-Gomez, A., Caballero, I. i Blanco, C.A. (2020). Phenols and Melanoidins as Natural Antioxidants in Beer. Structure, Reactivity and Antioxidant Activity. *Biomolecules*, *10*(400), 1-18.

Pieszko, C. i Kurek, T. (2011). Wpływ procesów przetwórczych na zawartość polifenoli w piwach. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, *2*, 199-203.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. i Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9-10), 1231-1239.

Salamon, A. (2016). Ocena wartości energetycznej piwa i napojów piwnych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, *585*, 141-148.

Sroka, W., Wiśniewski, R. i Lachowicz, S. (2015). Otrzymywanie piwa górnej fermentacji typu ale w skali mikrotechnicznej. *Zagadnienia Aktualnie Poruszane Przez Młodych Naukowców*, *2*(1), 162-167.

Stachowiak, B. i Bukowski, K. (2021). Nowe trendy w branży browarniczej. Piwa funkcjonalne – surowcowe i technologiczne aspekty ich otrzymywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, *28*(1), 5-27.

Stachura, P., Piotrowska, A. i Czerwińska-Ledwig, O. (2020). Badanie aktywności antyoksydacyjnej piwa kąpielowego metodą FRAP. *Kosmetologia Estetyczna*, *9*, 29-34.

Szwajgier, D. i Targoński, Z. (2005). Arabinoksylany ze słodu źródłem naturalnego przeciwutleniacza – kwasu ferulowego i błonnika pokarmowego w piwie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, *4*(45), 27-41.

Szyguła-Jurkiewicz, B., Bartoszek, B., Mościński, M., Rzepecka, M. i Cogiel, M. (2012). Znaczenie kwasu moczowego w niewydolności serca. *Choroby Serca i Naczyń*, *9*(1), 7-12.

Śledziński, T., Kwaśniewska, D. i Zieliński, R. (2013). Aktywność przeciwrodnikowa piwa. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, *94*(3), 648-652.

Tuszyński, T. i Poreda, A. (2003). Narodowe i regionalne napoje alkoholowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. *3*(36), 141-159 (suplement).

Ulloa, P. A., Vidal, J., Ávila, M. I., Labbe, M., Cohen, S. i Salazar, F. N. (2017). Effect of the Addition of Propolis Extract on Bioactivecompounds and Antioxidantactivity of Craftbeer. *Journal of Chemistry*, *1*, 6716053.

Vinson, J. A., Mandarano, M., Hirst, M., Trevithick, J. R. i Bose, P. (2003). Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Beers and the Effect of Two Types of Beer on an Animal Model of Atherosclerosis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *51*, 5528-5533.

Top- and bottom-fermented beers as a natural source of antioxidants

Abstract

Aim: The study aimed to compare various types of top- and bottom-fermented beers regarding their total polyphenolic content and antioxidant potential.

Methodology: The determination of polyphenols was carried out using the Folin-Ciocalteu method, while antioxidant activity was evaluated based on the ability of beer antioxidants to scavenge the ABTS cation radical and through the ferric reducing ability of plasma (FRAP) method.

Results: The findings revealed a strong positive correlation between total polyphenol content and antioxidant activity in the beers. As the extract content in the initial wort increased, resulting in a higher final volume of alcohol, both the polyphenol content and antioxidant activity of the beverages showed a corresponding increase. Notably, the type of fermentation did not significantly influence these parameters. In contrast, the color of the beer, which is determined by the malts used in its production, had a significant impact, with darker beers demonstrating greater health-promoting potential than their lighter counterparts.

Implications and recommendations: An aspect worthy of further investigation is the influence of the addition of plant extracts on the possibility of shaping the bioactive potential of beer.

Originality/value: It has been shown that beer is a beverage with antioxidant properties and can be a source of phenolic compounds.

Keywords: beer, phenolics, ABTS, FRAP, antioxidants