

Tvorba a pohyb cukrů při výrobě piva

JOSEF DYR, JOSEF MOŠTEK,
Katedra kvasné chemie a technologie Vysoké školy chemicko-
technologické v Praze

Množství a jakost cukrů, resp. poměr zkvasitelných cukrů k celkovému obsahu glycidů má při výrobě piva základní význam, neboť ve značné míře určuje charakter konečného výrobku. Proto tato otázka stále poutá pozornost mnoha pracovníků.

Dříve se výroba a v podstatě i výzkum spokojily se stanovením redukujících cukrů a jejich poměrem k celkovému extraktu, event. ještě stanovením dextrinové frakce. Redukčním efektem nebylo možno přesněji stanovit kvalitativní stránku celého komplexu redukujících složek. Teprve moderními analytickými metodami lze stanovit kvalitativní a kvantitativní zastoupení glycidové části extraktu mladiny či piva a zjistit biochemický význam jednotlivých cukrů. K řešení tohoto problému významně přispívá zejména papírová chromatografie.

Řada volných dialysovatelných cukrů se nachází v určitých malých množstvích již v ječmenu. Podle Hopkinsa [1] obsahují ječmeny kolem 2 % těchto cukrů, vztaženo na sušinu zrna. Obsah cukrů ječného zrna se mění již při skladování [2]. K větším změnám dochází při máčení, hlavně však intensivnějším dýcháním a začínající amylolysou při sladování [3]. Určitý malý podíl cukrů vzniká při sladování [1] nejen hydrolysou škrobu, ale také hydrolysou jiných polysacharidů (glukosanů, fruktosanů, arabanů a xylanů). Hvozďením se obsah dialysovatelných cukrů upravuje na čtyř- až pětinašobek maximálního obsahu v původním nevzklíčeném ječmeni [4].

Rmutováním se mnohonásobně zvyšuje obsah maltosy, maltotriosy, glukosy, maltotetraosy a vyšších oligosacharidů v důsledku enzymatického štěpení amylosy a amylopektinu sladového škrobu. Ječný amylopektin se podle MacLeod [5] skládá ze 24 až 26 glukosových molekul, kdežto sladový již jen ze 17 až 18 glukosových molekul. Struktura amylopektinu je silně rozvětvena a štěpí se při hydrolyse na dextriny s rovným řetězcem (normální), a na dextriny s rozvětveným řetězcem (anormální) [1]. Otázka konfigurace molekuly amylosy není dnes ještě zcela jasná. Z výsledků starších prací vyplývá nerozvětvenost amylosového molekulárního řetězce. V nedávné době však Hopkins [6] svými pokusy dokázal rozvětvený charakter amylosového řetězce. Podle něho i amylosa dává štěpením dextriny s rovným i rozvětveným řetězcem. Škrob ztekucuje převážně α -amylázou štěpením 1,4 - glukosidických vazeb [7]. Hlavní podíl škrobu je však štěpen β -amylázou za vzniku maltosy, glukosy, maltotriosy a nižších dextrinů. V mladině byly také stanoveny maltopentaosa a pravděpodobně maltohexaosa [8, 9]. Dextriny s rozvětveným řetězcem jsou štěpeny tzv. hraniční dextrináзой [1].

Zkvasitelným podílem mladiny je především maltosa, dále glukosa, maltotriososa, fruktosa a sacharosa. Jejich původní a konečný obsah má pro charakter a jakost piva velký význam. Údaje o zkvasitelnosti těchto cukrů během hlavního kvašení se velmi různí. Významné jsou nepochybně technologické podmínky a typ použitých kvasinek [10]. Phillips [11] a Hopkins [1] uvádějí toto pořadí využitelnosti cukrů mladiny pivovarskými kvasinkami: sacharosa, glukosa, fruktosa, maltosa a maltotriososa.

Na obsah zkvasitelných cukrů v zeleném sudovaném pivě se názory a výsledky prací různých autorů velmi liší. Jedni tvrdí [4, 12, 13], že sacharosa, glukosa, fruktosa a někdy též maltosa během hlavního kvašení úplně vymizí, jiní [8, 14] uvádějí ještě zbytky těchto cukrů v sudovaném pivě. Během dokvašování ubývá především maltosy a maltotriosy a dále klesají malá množství monosacharidů.

Ještě větší rozpory jsou v názorech na obsah snadno zkvasitelných cukrů v dobře vyleželém vystavovaném pivě. Hlavní význam ze snadno zkvasitelných cukrů ve vystavovaném pivě má relativně největší zbytek maltosy a maltotriosy, neboť mohou mít značný vliv na biologickou stálost piva [15].

Stadium konečného (dosažitelného) stupně prokvašení se vyznačuje posledním možným poklesem zkvasitelných cukrů, zejména maltosy a maltotriosy [16].

Pokusili jsme se vyžítím papírové chromatografie blíže analyzovat glycidickou část tvořícího se, zkvasitelného a zbytkového extraktu při výrobě piva za našich technologických podmínek.

Část experimentální

Byly analysovány provozní várky v pivovaru Braník. Údaje této práce se vztahují na várku 10⁰ světlou (v. č. 311).

Suroviny: jako sypání bylo použito 2970 kg sladu plzeňského, 200 kg ječmene a 500 kg rýže, 42 kg žateckého chmele (1956), 8 kg chmele z USA (1955) a 1 kg lupulinu.

Běžným dvourmutovým způsobem s přidavkem rýže a ječmene bylo vyrobeno 305 hl mladiny o stupňovitosti 9,40 % váh. při čerpání.

Analysovalo se sestupnou opakovanou papírovou chromatografií [17] se dvěma promývacími soustavami:

- a) *n*-butanol : kyselina octová : voda = 4 : 1 : 5,
- b) *n*-butanol : ethanol 95 % : voda = 4 : 1,2 : 4,8.

Papír byl převážně Whatman č. 1, v některých případech také Whatman č. 4.

Úprava a množství nanášeného vzorku: vzorky rmutů se ihned po odebrání ochladily ve vodě s ledem, zfiltrovaly a nanášely na papír. Vzorky ze spilkky a hotového piva se před nanášením řádně vytřepaly a zfiltrovaly. Nanášené množství 0,05 až 0,1 ml je u každého chromatogramu zvlášť uvedeno. Současně se u všech vzorků stanovily redukcující cukry podle *Schoorla* [18].

Detekce se prováděla buď námi modifikovanou [19] metodou *Greena a Stonea* [10] nebo benzidinem podle *Harrise a Mac Williama* [20]. Rozlišení detekce a použití promývací soustavy je u každého chromatogramu uvedeno.

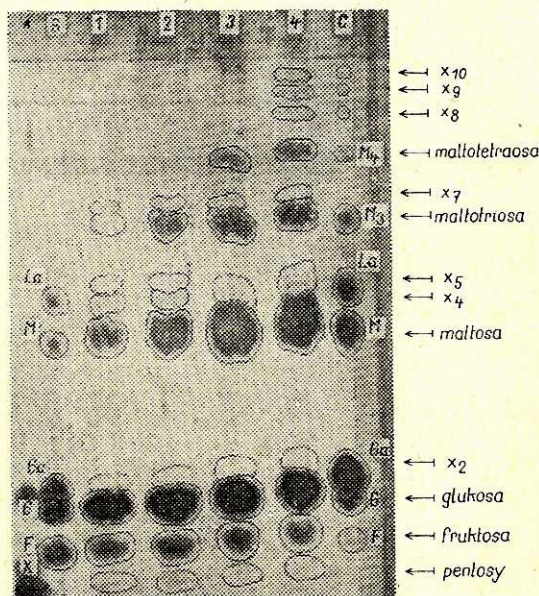
Celou metodickou část jsme blíže popsali v dřívější práci [19].

Přehled a diskuse výsledků

a) Rmutovací proces a chmelovar.

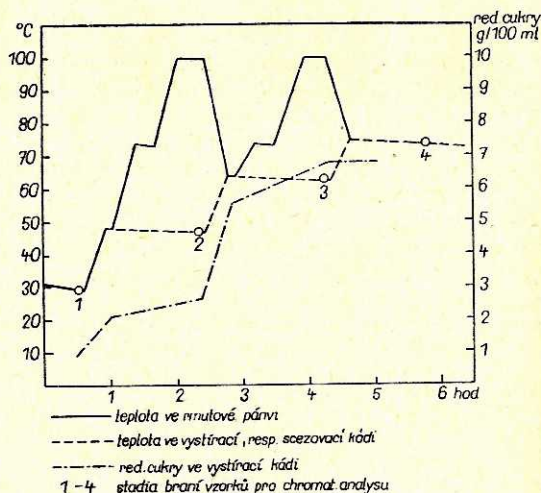
Při rmutování dochází kombinovaným ztekucujícím, dextrinotvorným a zcukrujícím účinkem celého komplexu sladových enzymů k hlubokým proporčním změnám původně zastoupených glycidů sladu. Z hlediska zaměření naší práce jsou nejdůležitější α - a β -amyláza a tzv. hraniční dextrináza [1, 21]. α -amyláza je proti β -amyláze termotabilnější. Po dvouhodinovém varu jí podle *Hopkinse* [1] zbývá ještě asi třetina původní aktivity. β -amyláza je podle téhož autora varem zcela zničena již za půl hodiny. *Hopkins* dále uvádí, že účinkem α -amylázy na amylosu vzniká maltotriosa a maltosa. Amylopektin se α -amylázou štěpí na stejné složky a kromě toho ještě na dextriny s různě rozvětvenými molekulami. Dále však uvádí, že hlavní podíl škrobu je hydrolysován β -amylázou na dextriny a maltosu. Mechanismem účinku β -amylázy se blíže zabývali *Hopkins* a *Jelinek* [22] a *Bird* a *Hopkins* [23]. Uvádějí, že hexasacharid vytvořený štěpením amylosy byl vlivem β -amylázy v převážné míře štěpen nejprve na maltotetraosu a maltosu. Teprve po jeho úplném rozštěpení byla rychle štěpena také maltotetraosa, zatím co současně vzniklá maltotriosa byla štěpena již jenom nepatrně. Hraniční dextriny s 1,6-glukosidickými vazbami jsou štěpeny enzymem zvaným hraniční dextrináza, který však není totožný [14] s dříve popsaným podobným R-enzymem [24].

Z chromatogramu rmutovacího procesu (obr. 1), detekovaném AgNO_3 , jsou v různých stadiích rmutování patrné tyto cukry: ve vystírce je zřetelně zachycena fruktosa, glukosa, maltosa a maltotriosa. Nad glukosou je jeden (X_2), nad maltosou dva (X_4 , X_5) a nad maltotriosou jeden (X_7) blíže neurčený cukr. Během pokusů se zjistilo, že obsah pentos od vystírky až do konce rmutování se téměř nemění. Proto byla na chromatogramech rmutovacího procesu co nejzřetelněji zachycena amylo-lysa. Obsah pentos je patrný na obr. 3. Detekcí benzidinem byla ve vystírce indikována ještě sacharosa. Z druhého vzorku na obr. 1 je patrné, že amylolysa postupuje i při teplotách nižších — zapařovacích. Zřetelný je zejména přírůstek maltosy. Rovněž glukosy, fruktosy a maltotriosy přibýlo. Podstatný přírůstek maltosy a maltotriosy však nastal u vzorku 3 na obr. 1, tedy při cukrotvorné prodlevě (ve vystírací kádi). Byla již zřetelně zachycena i maltotetraosa. Dva blíže neurčené cukry nad maltosou (X_4 a X_5) jsou zčásti překryty velkou skvrnou maltosy a tak splynuly v jedinou skvrnu. Po dormutování (před odpočinkem) se u vzorku 4 na obr. 1 zvýšil obsah maltotetraosy a nad ní byly již zachyceny další zplodiny pokračující amylolysy (X_8 , X_9 , X_{10}). Podle *Harrise a spolu-pracov.* [8] a *Peata* [9] jde o maltopentaosu (X_8) a maltohexaosu (X_9). Třetí oligosacharid nad maltotetraosou



Obr. 1 — Rmutovací proces várky 10° světlé

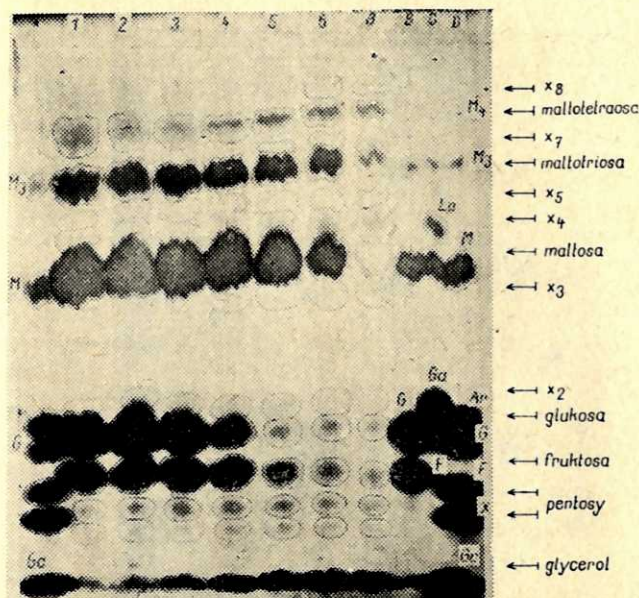
A, B, C = stand. vzorky cukrů + sladina, 1 = vystírka, 2 = kád' před prvním rmutem, 3 = kád' před druhým rmutem, 4 = předeek. Množství analysovaného vzorku: 0,05 ml, papír: Whatman č. 4, promývací soustava: ad a), promývání: 5×12 hod., detekce: AgNO_3 .



Obr. 2 — Diagram rmutování várky č. 311

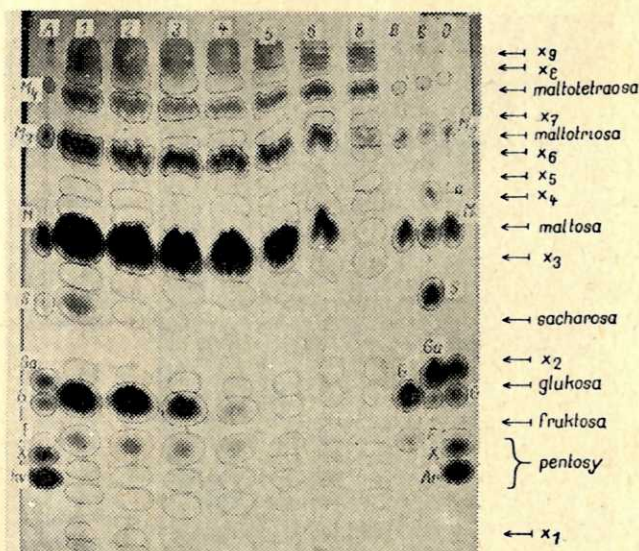
(X_{10}) nebyl dosud u sladiny v literatuře blíže popsán. Není vyloučeno, že jde o heptaosu [25]. Z chromatogramů detekovaných benzidinem bylo patrné, že obsah sacharosy během rmutování klesá, jak také uvádí *Winkler* [26].

Amylolyse při rmutování se věnovalo již mnoho pozornosti. Výsledky jednotlivých studií se však dosti různí, zejména pokud jde o výskyt pentos. *Pan a spol.* [27, 28], *Harris a spol.* [8] a *Stöckli* [12] v infusních sladinách pentosy nezachytili. V dekokční sladině zachytil pentosy (xylosa, arabinosa a ribosa) *Gjertsen* [29], *Green a Stone* [10] a *Winkler* [26]. Bylo dokázáno [30, 31, 32], že pentosy vznikají hydrolysou pentosanů ječného zrna při sladování. V našich pokusech byly pentosy zachyceny vždy, ať šlo o sladiny dekokční či infusní (laboratorní). Jejich indikace je tedy kromě množství analysovaných vzorků závislá zejména na selektivnosti a citlivosti detekčního činidla. Tak byla také snadno na rozdíl od *Winklera* [26] zachycena fruktosa i v laboratorní sladině. Mezi dekokčními (provozními) a infusními (laboratorními) sladinami



Obr. 3 — Hlavní kvašení mladiny 10° světlé (plzeňské kvasnice)

A, B, C, D = stand. vzorky cukrů + mladina, vzorky 1-8 = dny hlavního kvašení; množství analysovaného vzorku: 0,08 ml, papír: Whatman č. 1, promýv. soustava: ad b), promývání: 5×20 hod., detekce: AgNO₃.



Obr. 4 — Hlavní kvašení mladiny 10° světlé (smíchovské kvasnice)

A, B, C, D = standart. vzorky cukrů + mladina, vzorky 1-8 = dny hlavního kvašení; množství analysovaného vzorku: 0,08 ml, papír: Whatman č. 1, promýv. soustava: ad a), promývání: 5×20 hod., detekce: benzidinem.

nebylo co do kvalitativního zastoupení cukrů patrného rozdílu. Gjertsen [25] sledoval složení cukrů u sladiny vyrobených z různých ječmenů, různě sladovaných a rovněž nezjistil podstatných kvalitativních rozdílů.

O neznámém cukru nad maltosou (X₄) se podle jeho polohy a chování při kvašení domníváme, že jde o isomaltosu, kterou v téže poloze našel a určil Gjertsen [25] a potvrdil Stöckli [33]. Druhý blíže neurčený cukr nad maltotriosou (X₇) se svými R_f a stupněm zkvasitelnosti shoduje s isomaltotriosou, kterou tak na základě bližšího studia nazval Stöckli [33]. Oba tyto oligosacharidy jsou založeny na glukosové bási s vazbou 1,6. Další neznámý

cukr nad isomaltosou (X₅) nebyl dosud v literatuře blíže charakterisován. S benzidinem dává hnědou reakci se slabým karminovým nádechem. O maltotriose naše předběžné pokusy rovněž potvrdily [34, 26, 1], že se tvoří již ve sladu. Stadium tvorby maltotetraosy není ještě zcela objasněno. Zachytili jsme ji zřetelně až po zapařovací teplotě. U chromatogramů detekovaných benzidinem byl mezi maltosou a sacharosou ještě jeden neznámý cukr X₃ obr. 4). Reakce s benzidinem byla hnědožlutá. Cukr stejné pohyblivosti a biochemických vlastností vůči pivovarským kvasinkám zachytil i Stöckli [33]. Z obr. 1 lze na největší koncentrační přírůstky fruktosy, glukosy, maltosy a maltotriosy usuzovat ve stadiu mezi zapařovací a cukrotvornou teplotou (vzorek 2-3). To rovněž potvrdilo biokonduktometrické měření přes pivovarské kvasinky [35].

Harris a spolupracov. [8] uvádějí, že maltotetraosy je mnohem více ve výstřelku než v předku, zatím co u maltotriosy je tomu naopak. Tento zjev naše analýsy nepotvrdily. Je běžný pravděpodobně jen při infusním rmutování. Téměř u všech pokusů se kvalitativní stránka chromatogramů rmutovacích procesů shodovala. Do určité míry se však vždy lišilo kvantitativní zastoupení jednotlivých cukrů. Stöckli [36] svými pokusy dokázal, že největší vliv zde má diastatická mohutnost sladu a šetření enzymového systému při rmutování (zejména pomalé vyhřívání na rmutové páni). Můžeme jen potvrdit, že prudce vyhřívání rmuty se od pomalu vyhřívání zřetelně lišily kvantitativním zastoupením hydrolyzou vznikajících oligosacharidů.

K cukrům sladiny přistupují při chmelovaru v určitém malém množství ještě některé cukry z chmelu.

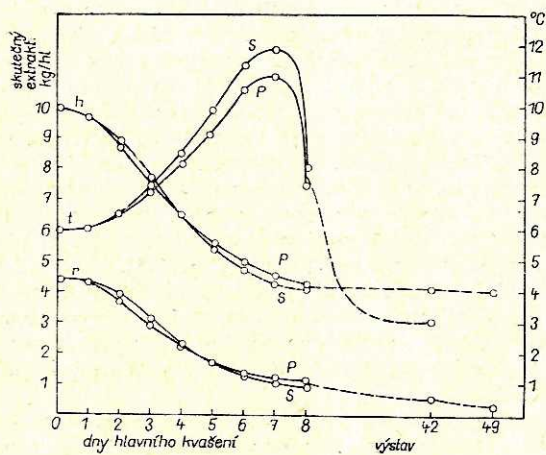
Diagram rmutování analysované várky je na obr. 2. Doplněním k chromatografickému a biokonduktometrickému [19] stanovení cukrů je křivka redukcí cukrů stanovených podle Schoorla [18]. Na diagramu jsou rovněž zaznamenána stadia odebrání vzorků pro chromatografickou analýzu.

b) Hlavní kvašení.

Hlavní kvašení probíhalo ve dvou železobetonových kádích po 140 hl; jedna byla zakvašena po druhé nasazovanými kvasnicemi smíchovskými, druhá po páté nasazovanými kvasnicemi plzeňskými. Stupňovitost mladiny před zakvašením byla 9,98 % váh.

Pivovarskými kvasinkami se z hlavních cukrů mladiny zkvašují maltosa, glukosa, maltotriosa, sacharosa a fruktosa. Do jaké míry tyto cukry zkvašují při hlavním kvašení, nelze zevšeobecnit. Harris a spol. [14] uvádějí zkvasitelnost sladového škrobu štěpeného při infusním rmutování jen ze 70 %. Jestliže však škrob nejprve zmažovatí a pak se štěpí sladovými enzymy při 40° C, lze ve zkvasitelné cukry přeměnit 95 až 97 % škrobu. Blom a Schwarz [37] uvádějí, že během hlavního kvašení zkvasilo 95 % glukosy, 90 % maltosy, ale jen 50 % maltotriosy. Montreuil a Scriban [4] a Stöckli [12] naproti tomu uvádějí, že během hlavního kvašení úplně vymizely fruktosa, glukosa a sacharosa. Vlček [13] zjistil při sledování hlavního kvašení našich piv plzeňského typu různými typy kvasinek, že sacharosa mizí již během prvního dne kvašení, glukosa a fruktosa během třetího až pátého dne. Podstatnou závislost těchto hodnot na technologických podmínkách a typu použitých kvasnic dokázal Green a Stone [10] a po nich znovu potvrdil Stöckli [36]. Harris a spol. [8, 14] a Phillips [11] uvádějí ještě malé stopy mono-, di- a trisacharidů v pivě po hlavním kvašení.

Z obr. 3 a 4 jsou patrné výsledky naší analýsy várky č. 311. Shodou technických okolností jsme hlavní kvašení sledovali při téměř extrémních podmínkách naší technologie, a to ještě dvěma typy kvasinek. Teplotní průběh a pokles redukcí cukrů u obou kádí je na obr. 5.



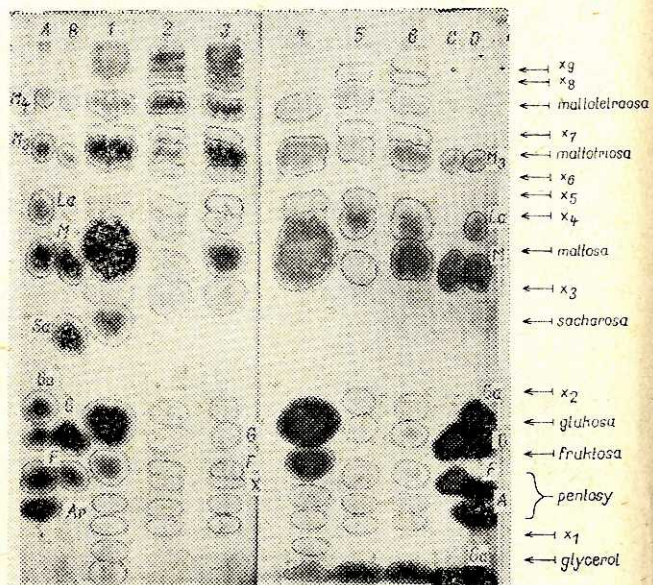
Obr. 5 — Celkový průběh kvašení várky č. 311

h = skutečný extrakt
t = teplota
r = redukující cukry
S = varečné Smíchov
P = varečné Plzeň

Z obr. 4 je patrné, že sacharosa byla zinvertována do tří dnů. Její největší úbytek byl během druhého dne, což se projevilo znatelným přírůstkem glukosy a fruktosy (vzorok 2 na obr. 4). Asi 95 % glukosy zkvasilo během 4 dnů a přibližně totéž množství fruktosy během 5 dnů. Teprve pak — čtvrtý až pátý den — byla znatelně zkvašována maltosa a šestý den maltotriosa. Tím bylo zároveň potvrzeno pořadí zkvasitelnosti cukrů pivovarskými kvasinkami, které uvádějí Phillips [11] a Hopkins [1]. Následkem vysokých teplot v poslední třetině hlavního kvašení poklesl obsah maltosy až asi na 3 až 2 % a obsah maltotriosy na 15 až 10 % původního obsahu. Skutečné prokvašení ve spilce bylo 57,92 %. Avšak ani při této vysoké teplotě ke konci hlavního kvašení nevymizel (na rozdíl od Vlčka) obsah monosacharidů (obr. 3). Detekce AgNO_3 byla zde citlivější než benzidinem. Na rozdíl od rmutování byl při hlavním kvašení a v dalších případech volen průběh chromatografie tak, aby se zachytily všechny cukerné složky, byť i na úkor dokonalejšího rozdělení vyšších oligosacharidů při hlavním kvašení. Chromatogramy sladiny a piva však dokazují, že tyto oligosacharidy (nad maltotetraosou) jsou i zde přítomné. Po zkvašení podstatné části cukrů jsou rovněž patrné z obr. 4, 6 a 8.

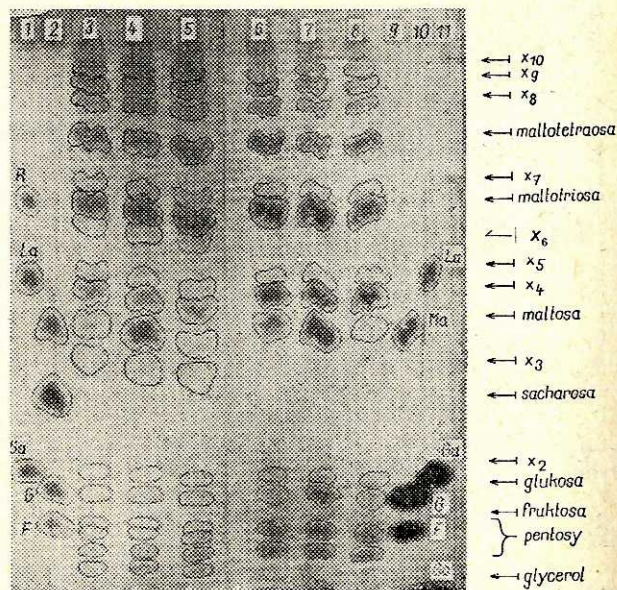
Na nejspodnějším okraji chromatogramu (obr. 3) je u mladiny patrna skvrna velmi pohyblivé látky (X_1), resp. látek. Tato skvrna se během hlavního kvašení podstatně zvětšovala, zesilovala. Glycerolovým standardem se dosáhlo stejné pohyblivosti. Bližším zkoumáním se však zjistilo, že zde nejde o jednu látku, nýbrž asi o 3 až 5 látek. Glycerolovému standardu odpovídala nejvíce se zesilující skvrna z těchto látek. Také literatura glycerol v pívě zaznamenává [38]. Další z těchto látek jsme blíže nezkoumali. Je pravděpodobné, že jsou to kyseliny urované z pektinů [8].

Pod fruktosou jsou patrné dvě pentosy, které se během hlavního kvašení podstatně nezměnily. První pod fruktosou u vzorků 1 až 4 na obr. 4 odpovídá podle standardu arabinose, druhá pravděpodobně ribose (standard nebyl dostupný). Třetí pentosa vystupuje po zkvašení podstatné části fruktosy. Tuto třetí pentosu — xylosu — bylo možno od fruktosy rozlišit jen na základě rozdílného barevného tónu při detekci benzidinem (obr. 4). Na chromatogramech detekovaných AgNO_3 (obr. 1, 3, 6) splývá se stejně barevnou skvrnou fruktosy (důsledek opakovaného vyvíjení). Nad glukosou bylo možno již u rmutovacího procesu spatřit ještě jeden slabě zastoupený cukr (X_2). Gjertsen



Obr. 6 — Mladina, zelené pivo, vystavované pivo 10° světlé

A, B, C, D = stand. vzorky cukrů + mladina, 1 = 4 = mladina, 2 = 5 = zelené pivo, 3 = 6 = vystavované pivo; množství analys. vzorku: 0,08 ml, papír: Whatman č. 1, promývací soustava: ad b), promývání: 5×20 hod., detekce: vzorky A — 3 = benzidinem, vzorky 4 — D = AgNO_3



Obr. 7 — Vystavovaná piva (Plzeň, Smíchov, Holešovice)

Vzorky č. 1, 2, 9, 10, 11 = stand. vzorky cukrů + pivo, vzorek 3 = 6 = Plzeň 12° světlé, 4 = 7 = Smíchov 12° světlé, 5 = 8 = Holešovice 12° světlé; množství analys. vzorku: 0,06 ml, papír: Whatman č. 4, promývací soustava: ad a), promývání: 5×12 hod., detekce: vzorky 1–5 = benzidinem, 6–11 = AgNO_3 .

[29] našel ve spodně prokvašeném carlsbergském pívě z dekokční mladiny galaktosu. Naše skvrna svým R_f a poměrem ke spodním pivovarským kvasinkám rovněž nasvědčuje galaktose. K přesnějšímu určení bude zapotřebí ještě některých speciálních zkoušek.

Neznámého cukru mezi maltosou a sacharosou (X_3) si během hlavního kvašení a dokvašování podrobně všimá Štöckli [33] a uvádí, že během hlavního kvašení jeho obsah klesá na $\frac{1}{2}$ až $\frac{1}{3}$. Určitý úbytek jsme pozorovali

i my. Také Gjertsen [25] se o tomto cukru zmiňuje. Podle obou autorů jde o redukující cukr, avšak na našich chromatogramech byl zřetelněji zachycován benzidinem. Detekcí AgNO_3 byla jeho indikace skoro vždy sporná, jak je patrné u chromatogramu první poloviny hlavního kvašení (obr. 3).

Cukr X_5 se během hlavního kvašení v podstatě nezměnil. Stöckli [33] dokonalejším rozdělením cukrů „maltosové frakce“ (maltosa je ve sladině buď zcela nebo do určité míry překrývá) po zkvašení hlavního podílu maltosy tvrdí, že pozitivní výsledky „na maltosu“ u prokvašených pív dávají vlastně tyto cukry (X_3 a X_4), kdežto maltosu považuje za úplně zkvašenou. Nesprávnost tohoto tvrzení vyplývá z obou chromatogramů hlavního kvašení a také z chromatogramů vystavovaných pív, kde dokonalým rozdělením „maltosové frakce“ ve čtyři cukry (X_3 , maltosa, X_4 a X_5) je jasně patrný zbytek maltosy.

Z obr. 3 a obr. 4 lze soudit, že také isomaltosa (X_4) byla při vysokých konečných teplotách hlavního kvašení do určité míry atakována, nejde-li o úbytek jiného stejně pohyblivého cukru. Stejně pohyblivá jako isomaltosa je laktosa [40], kterou v mladíně uvádí Kocková (41, str. 196). Podle našich pokusů s provozními pivovarskými kvasnicemi byla však laktosa za přídavku $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ atakována během 5 dnů při teplotě místnosti jen ze 7,4 %. Při teplotě hlavního kvašení by byl stupeň napadení ještě menší a takřka nepozorovatelný. Bude zde zapotřebí ještě bližšího studia.

Po zkvašení větší části maltotriosy se postupně objevují překryté oligosacharidy v její blízkosti. U chromatogramů detekovaných benzidinem (obr. 4, 6 a 7) byl kromě již uvedených isomaltotriosy zachycen ještě jeden oligosacharid (X_6) těsně pod maltotriosou. Green a Stone [10] a Phillips [11] určili ve sladině trisacharid panosu. Je to poslední stupeň rozštěpení dextrinů v místech jejich rozvětvení a má proto 1,4- i 1,6- glukosidickou vazbu. Panosa je pivovarskými kvasnicemi nezkvasitelná. Je možné, že i v našem případě jde o panosu. Montreuil a Scriban [42] našli v protikladu jiných pracovníků [1, 34] v dekokční mladíně rafinosu. Rafinosa je však spodními pivovarskými kvasinkami úplně zkvašována [41, 43] a není při jejím malém množství dost pravděpodobné, že by se zde jednalo o ni. Není také vyloučeno, že jde o oligosacharid vzniklý činností transferáz [44] během hlavního kvašení [4, 45, 46, 47, 48].

Green a Stone [10], Phillips [11] a Stöckli [12] uvádějí, že pivovarské kvasinky nezkvašují maltotetraosu a vyšší oligosacharidy. Podle Hopkinse [1] žádná kulturní kvasinka nezkvašuje maltohexaosu. Z obr. 3 a 4 je patrná postupující diferenciace vyšších oligosacharidových molekul ve prospěch maltotetraosy. Tím se potvrzuji amylolytické vlastnosti piva. Není však přesně známo, zda jde jen o zbylou α -amylázu ze sladu [1] či ještě o jiné enzymy.

Názory, zda úprava technologického postupu při sladování a rmutování má vliv na stupeň prokvašení se velmi různí. Gjertsen [25] uvádí, že sladiny vyrobené z různých ječmenů různě sladovaných se v podstatě co do obsahu jednotlivých cukrů nelišily. Stöckli [36] extrémními rmutovacími podmínkami u provozních várek dosáhl v konečném prokvašení rozdíl jen 3,6 % proti normálním várkám. Kneen [49] připravoval laboratorní várky za podobných podmínek jako Stöckli a dosáhl v konečném prokvašení největšího rozdílu 5,8 %. Stöckli i Kneen vysvětlují tuto celkem malou ovlivnitelnost daným sladem. Hummel [50] však naproti tomu dosáhl extrémními rmutovacími podmínkami u laboratorních várek v konečném prokvašení až 16 % rozdílu.

c) Dokvašování a výstav

Dokvašovalo se v kovových 120 hl ležáckých tancích při teplotě 2 až 40 °C po dobu 34 dnů. Dokvašování várky č.

311 bylo do určité míry odlišné od jiných (normálních), u nichž prokvašení ve spilce pro nižší teploty nedosáhlo takové hloubky. U normálních várek klesal během dokvašování zejména obsah maltosy, maltotriosy a také malý obsah hexos se ještě více snížil. U várky č. 311 došlo k některým zajímavým úkazům. Skutečně prokvašení při sudování bylo jen o 0,60 % nižší než při výstavu a přece celý průběh dokvašování se nelišil od várek normálních, Chromatogramy (obr. 6) ukázaly, že došlo k určitým proporcionálním změnám v obsahu vyšších oligosacharidů ve prospěch maltosy a maltotriosy. Ve vystavovaném pivě byl totiž obsah maltosy a maltotriosy větší než v zeleném sudovaném pivě. Zato však obsah maltotetraosy a vyšších oligosacharidů byl nižší. Štěpení vyšších glycidových složek pokračovalo tedy i během dokvašování [1]. Domníváme se, že jde o společný účinek zbytkových enzymů sladu [1] a kvasničných exoenzymů [14, 44]. Podobný zjev byl chromatograficky zachycen ještě u jedné várky, u které hlavní kvašení probíhalo za podobných podmínek. Skutečně prokvašení vystavovaného piva z várky č. 311 činilo 58,52 %.

Toto vystavované pivo se chromatograficky na obsah maltotriosy, maltosy, glukosy a fruktosy nelišilo od piv s normálním průběhem hlavního kvašení. Benzidinem, zejména však AgNO_3 , jsme ve všech pivech zkoušených várek zachytili fruktosu, glukosu a maltosu. Kromě toho byly tyto cukry zachyceny i v dobře vyleželém exportním pilsenském Prazdroji, ve smíchovském 12^o Staropramenu a v holešovickém ležáku (viz obr. 7).

Analytická charakteristika pív 12^o sv.

Druh piva	Skutečný extrakt při výstavu	Skut. prokv. při výstavu	Skut. prokv. konečné
Plzeň 12 ^o sv.	4,90	55,10	56,26
Smíchov 12 ^o sv.	4,73	56,55	58,02
Holešovice 12 ^o sv.	4,53	59,25	60,89

Tím bylo zároveň dokázáno, že všechny naše hlavní typy pivovarských kvasinek nevyužijí i v dobře vyležených pivech určitá malá množství fruktosy, glukosy, maltosy a maltotriosy [14]. Mackay a Evans [51] našli papírovou chromatografií ve vystavovaném pivě ve stopách i sacharosu.

Kromě pív uvedených na chromatogramech byla zkoušena ještě piva z těchto pivovarů: České Budějovice 12^osv., 10^osv.; Přerov 12^osv., 10^osv.; Brno 14^osv., 12^osv., 10^osv.; Litovel 12^osv.; Jarošov 14^osv. a 12^osv. Také ve všech těchto pivech, která se jistě vyráběla z různých surovin, za odlišných technologických podmínek s různými typy kvasnic či jejich směsí, byly kromě vyšších oligosacharidů nalezeny dobře patrné stopy fruktosy, glukosy a maltosy. Přítomnost hexos potvrzovala i pozitivní biokonduktometrická zkouška s pekařským droždím, které na maltosu reagovalo velmi slabě a nepravdělně [35].

d) Konečný (dosažitelný) stupeň prokvašení

Pivo z várky č. 311 bylo zakvašeno lisovanými smíchovskými kvasnicemi. Po 7 dnech dokvašování při teplotě místnosti bylo analysováno. Skutečně prokvašení postoupilo o 0,90 %. Chromatograficky byla ještě nalezena maltosa, maltotriosa, vyšší oligosacharidy, pentosy a v místech hexos se objevila pozitivní reakce na AgNO_3 , skvrna však od standardu galaktosy až po xylosu splyvala. V některých jiných zkoušených pivech se podařilo zachytit i diferencované hexosy, ovšem jen v ojedinělých případech.

Závěr

1. Opakovanou sestupnou papírovou chromatografií za paralelního použití dvou detekčních činidel byla rozdělena a detekčně zachycena široká oblast glycidických složek rmutů, mladiny a piva. Již ve výstírce byly zřetelně zachyceny všechny hlavní cukry sladinu a další blíže neurčené cukry nad maltosou (X_4 a X_5) a maltotriosou (X_7). Nad glukosou byl zachycen ještě jeden blíže neznámý cukr (X_2), pravděpodobně galaktosa. Ve sladině byly nad maltotetraosou zachyceny další tři vyšší oligosacharidy, pravděpodobně maltopentaosa (X_8), maltohexaosa (X_9) a maltoheptaosa (X_{10}). Sacharosy, na rozdíl od jiných hlavních cukrů, během rmutování ubývalo. Pentosy byly zachyceny již ve výstírce a během rmutování se zřetelně neměnily. Rozdíly v kvantitativním zastoupení cukrů sladinu závisely na použitém sladu a intenzitě vyhřívání rmutu.

2. Během hlavního kvašení byla nejdříve zinvrtována sacharosa, pak byla zkvašována glukosa, fruktosa, maltosa a maltotriosa. Obsah pentos se v podstatě nezměnil. Ani při vysoké teplotě ke konci hlavního kvašení nevymizely úplně hexosy a maltosa. Byla patrná diferenciace vyšších oligosacharidů ve prospěch maltotetraosy. Po zkvašení podstatné části maltotriosy byl těsně pod ní patrný ještě jeden oligosacharid (X_6). Jako zplodina kvašení byl zachycen glycerol.

3. Při dokvašování u várky č. 311 došlo ke značným proporčním změnám vyšších oligosacharidů ve prospěch maltosy a maltotriosy, zejména na úkor maltotetraosy. Tím byl obsah maltosy a maltotriosy ve vystavovaném pivě vyšší než u hluboko prokvašeného zeleného piva. Všechny složky glycidické části extraktu mladiny (kromě sacharosy) byly v dobře patrných stopách nalezeny ve všech pivech analysovaných várek i v jiných dlouho dokvašovaných ležících. Tím bylo zároveň dokázáno, že všechny hlavní typy našich pivovarských kvasinek nevyužívají určitou malou část snadno zkvasitelných cukrů.

Literatura

- [1] HOPKINS R. H.: Brasserie et Malterie de Belgique 6 (1956) 57
- [2] HARRIS G., MACWILLIAM I. C.: J. Inst. Brew. 60 (1954) 387
- [3] HARRIS G., MACWILLIAM I. C.: J. Inst. Brew. 60 (1954) 149
- [4] MONTREUIL J., SCRIBAN R.: Bull. Soc. Chim. biol. 34 (1952) 674
- [5] MACLEOD A. M.: Brewers Guild J. 41 (1955) 430
- [6] HOPKINS R. H.: Wall Lab. Comm 17 (1954) 299
- [7] REDFERN S.: Wall. Lab. Comm 13 (1950) 89
- [8] HARRIS G., BARTON-WRIGHT E., CURTIS N.: J. Inst. Brew. 57 (1951) 264
- [9] FEAT: J. Chem. Soc. (1952) 3692
- [10] GREEN R. S., STONE J.: Wall. Lab. Comm. XV (1952) 347
- [11] PHILLIPS A. W.: J. Inst. Brew. 61 (1955) 122
- [12] STÖCKLI A.: SBR 67 (1956) 1
- [13] VLČEK J.: Kvas. prům. 3 (1957) 169
- [14] HARRIS G., MACWILLIAM I. C., PHILLIPS A. W.: Kongres EBC, Kodaň, 1957
- [15] STÖCKLI A.: SBR 67 (1956) 51
- [16] STÖCKLI A.: Kongres EBC, Kodaň, 1957
- [17] HAIŠ I. M., MACEK K.: Papirová chromatografie, Praha, 1954
- [18] JUREČEK M.: Organická analýza, Praha, 1950
- [19] DYR J., MOŠTEK J.: Kvas. prům. 4 (1958) 50
- [20] HARRIS G., MACWILLIAM I. C.: ref. Sugar. Ind. Abstr. 16 (1954) 85
- [21] HOPKINS R. H., WIENER A.: J. Inst. Brew. 61 (1955) 493
- [22] HOPKINS R. H., JELINEK R.: Biochem. J. 56 (1954) 136
- [23] BIRD R., HOPKINS R. H.: Biochem. J. 56 (1954) 140
- [24] HOPSON, WHELAN, PEAT: J. Chem. Soc., 1951, 1451
- [25] GJERTSEN P.: J. Inst. Brew. 59 (1953) 296
- [26] WINKLER R.: Kvas. prům. 2 (1956) 196
- [27] PAN, ANDREASON, KOLACHOV: Science, 1950, 115
- [28] PAN, NICHOLSON, KOLACHOV: J. Amer. Chem. Soc. 73 (1951) 4093
- [29] GJERTSEN P.: ref. SBR 66 (1955) 149
- [30] MEREDITH W., WATTS T. A., ANDERSEN J. A.: Canad. J. Chem. 31 (1954) 653
- [31] PREECE J. A.: Wall. Lab. Comm. 69 (1957) 147
- [32] PREECE J. A., HOGGAM I.: Kongres EBC, Kodaň, 1957
- [33] STÖCKLI A.: SBR, 67 (1956) 62
- [34] MACLEOD A. M., TRAVIS D. C., WREAY D. G.: J. Inst. Brew. 59 (1953) 154
- [35] DYR J. A. MOŠTEK J.: Kvas. prům., 4 (1958) 121
- [36] STÖCKLI A.: SBR 66 (1957) 251
- [37] BLOM J., SCHWARZ B.: J. Inst. Brew. 53 (1947) 302
- [38] BULGAKOV N.: Chimija pivovarenija, Moskva, 1954

- [39] BERAN K., BURGER M., ZELENKA S.: Čs. mikrobiologie 1 (1956) 193
- [40] BURGER M., BERAN K.: Čs. mikrobiologie 1 (1956) 26
- [41] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A.: Kvasinky, SVTL Bratislava 1957
- [42] MONTREUIL J., SCRIBAN R.: Pet. J. Brasseur (1951) 373
- [43] KOLEKTIV: Technologie sladu a piva, Praha 1954
- [44] STEIN E.: Chemia a technologia enzymov, Bratislava 1956
- [45] WHITE W. J.: Arch. Biochem. Biophys. 42 (1953) 360
- [46] PYKE M.: The Brewer's Digest 1956, 55
- [47] PAVLINOVA O. A., KURSANOV A. L.: Fiziologija rostenij 3 (1956) 539
- [48] KOCKOVÁ A.: Kvas. prům. 3 (1957), 3
- [49] KNEEN E.: The Brewer's Digest, 1955, 53
- [50] HUMMEL J.: Prům. potr. 4 (1953) 227
- [51] MacKay D. A. W., Evans R. L.: Agr. & Food Chem. 1957, 298

J. Hanzarovi, prom. chem. děkujeme za zájem o práci a věcné připomínky, a výše uvedeným pivovarům za poskytnutí vzorků piva.

Выводы

1. Повторяемой нисходящей хроматографией на бумаге с параллельным применением двух детекционных реактивов была разделена и фиксирована широкая область глицидических составных частей заторов, сусла и пива. Уже в заторе были ясно обнаружены все главные сахара, сусла и другие ближе не установленные сахара над мальтозой (X_4 и X_5) и мальтотризой (X_7). Над глюкозой был обнаружен еще один неизвестный сахар (X_2), вернее всего галактоза. В сусле были над мальтотетраозой обнаружены еще три высшие олигосахариды, вернее мальтопентаоза (X_8), мальтогексаоза (X_9) и мальтогептаоза (X_{10}). Содержание сахарозы, в отличие от других главных сахаров, в течение затирания уменьшалось. Пентозы были обнаружены уже в заторе и в течение затирания заметно не уменьшились.

2. В течение главного брожения инверсия прежде всего протекала у сахарозы, потом сбраживалась глюкоза, фруктоза, мальтоза и мальтотриоза. Содержание пентоз в основном не изменялось. Даже при высокой температуре в конце главного брожения полностью не исчезли текосы и мальтоза. Заметно было дифференцирование высших олигосахаридов в пользу мальтотетраозы. После сбраживания основной части мальтотриозы были тесно под ней замечены еще олигосахарид (X_6). В качестве продукта брожения был обнаружен глицерол.

3. При дображивании у варки № 311 имело место заметное пропорциональное изменение высших олигосахаридов в пользу мальтозы и мальтотриозы, в особенности за счет мальтотетраозы. Поэтому содержание мальтозы и мальтотриозы в выпускаемом пиве выше чем у глубоко сброженного зеленого пива. Этим было одновременно доказано, что все главные типы наших пивоваренных дрожжей не используют определенную малую часть легко сбраживаемых сахаров.

Zusammenfassung

1. Mittels wiederholter absteigender Papierchromatographie bei paralleler Benützung zweier Detektionsmittel wurde das umfangreiche Gebiet der glycidischen Maische-, Würze- und Bierbestandteile verteilt und detektiert. Bereits in dem Einmischgut wurden deutlich alle Hauptzuckerarten der Würze und weitere näher nicht bestimmte Zucker oberhalb der Maltose (x_4 und x_5) und Maltotriose (x_7) festgestellt. Oberhalb der Glukose wurde ein näher unbekannter Zucker (x_2) detektiert, wahrscheinlich Galaktose. In der Würze wurden oberhalb der Maltotetraose weitere drei höhere Oligosaccharide festgestellt, wahrscheinlich Maltopentaose (x_8), Maltohexaose (x_9) und Maltoheptaose (x_{10}). Im Gegenteil zu den anderen Zuckerarten wurde während des Maischens die Abnahme der Saccharose beobachtet. Die Pentosen wurden bereits im Einmischgut detektiert und während des Maischens unterlagen sie keiner deutlichen Veränderung.

2. Während der Hauptgärung wurde in erster Reihe die Saccharose invertiert, im weiteren wurden Glukose, Fruktose, Maltose und Maltotriose vergärt. Der Pentosengehalt blieb im wesentlichen unverändert. Auch bei der hohen Temperatur am Ende der Hauptgärung sind Hexosen und Maltose nicht ganz verschwunden. Es wurde eine Differentiation der höheren Oligosaccharide zugunsten der Maltotetraose sichtbar. Nach der Abgärung des wesentlichen Maltotrioseanteils war dicht unterhalb derselben noch ein Oligosaccharid sichtbar. (x_6) Als Gärungsprodukt wurde Glycerol detektiert.

3. Während der Nachgärung bei dem Sud No 311 kam es zu deutlichen proportionellen Veränderungen der Oligosaccharide zugunsten der Maltose und Maltotriose, namentlich zum Nachteil der Maltotetraose. Dadurch wurde der Maltose- und Maltotriosegehalt im Ausstoßbier höher als bei dem hochvergärten Jungbier. Dadurch wurde zugleich bestätigt, daß alle Haupttypen unserer Brauereihfen einen bestimmten kleinen Teil der leichtvergärbaren Zucker nicht ausnützen.