

Přínos polarografické metody v řešení problému bílkovinného rozluštění sladu a stability piva

JAROSLAV HUMMEL, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, pracoviště Plzeň

663.4 : 545.33

Studie *Helma* [1], *Hartonga* [2, 3], *Trolleho* [4] a *wisconsinského* výzkumného ústavu sladařského [5] uvádějí, že bílkovinná stabilita piva může být ovlivněna druhem ječmene. Účinek druhu sladu na bílkovinnou stabilitu zjistil také *Szilvinyi* [6, 7] a *van Veldhuizen* [8]. Další práce [9] upozornila na to, že se vzrůstajícím rozluštěním buněčných stěn sladu se index stability zvýší, resp. bílkovinná stabilita piva se zlepší. Další studie ukázaly, že v hodnocení bílkovinné stability piva je nutno sledovat vliv pluch [10] a polyfenolových látek [11, 12, 13].

Ačkoli nebylo ještě bezpečně prokázáno, že nadprůměrný obsah bílkovin zhoršuje bílkovinnou stabilitu piva, mělo by se při výrobě piva používat sladu s nižším až normálním obsahem bílkovin [14]. Klasifikace druhů ječmene podle jejich vlivu na stabilitu však dosud není možná, protože závisí nejen na druhu ječmene, ale také na jeho předcházejících růstových podmínkách [1, 15, 16].

S ohledem na vyšší bílkovinnou stabilitu piv se požaduje, aby ve varně byly zpracovávány dobře rozluštěné slady, obsahující minimálně 40 % roz-

pustného dusíku [17, 18], s nižším až středním obsahem bílkoviny a s nižším obsahem $\delta + \varepsilon$ — hordeinu [19]. Proti výsledkům autorů [9, 17, 18, 19] se však nezdařilo ani řadě dalších pracovníků [20, 21, 22, 23, 24] u většího počtu provedených laboratorních i provozních pokusných várek zjistit vztahy mezi rozluštěním sladu a bílkovinnou stabilitou piva. Klopfer [25, 26] a Kolbach [27] zdůvodnili malý význam Hartongova čísla pro bílkovinnou stabilitu tím, že toto číslo je, více než se dosud soudilo, závislé na pH sladu a nebylo dosud prokázáno, že bílkovinná stabilita piva je ovlivněna stejnou měrou, jestliže se změní pH sladu.

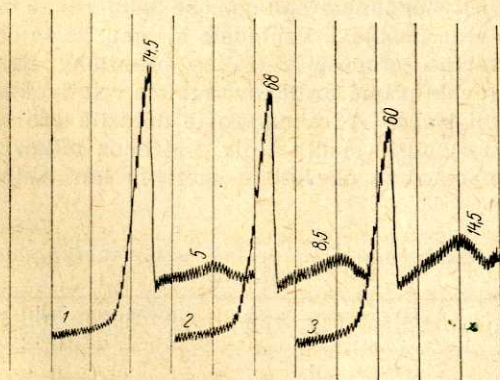
V hodnocení rozluštění bílkovin se ovšem pokládá dosud používané Kolbachovo číslo jen za hrubé měřítko a v reprodukovatelnosti často značně kolísá. Mnohem více však ve vztahu k bílkovinné stabilitě, jak bylo polarograficky zjištěno [28], udává absolutní hodnota bílkovinného podílu $-A$ (Lundin). Jeho obsah je obvykle rozdílný, je-li zelený slad laboratorně usušen, či za různých podmínek provozně hvozden. Jestliže mají být sledovány vztahy rozluštění bílkovin k bílkovinné stabilitě, je zapotřebí nejdříve studovat objektivně bílkovinné rozluštění zeleného sladu. Předpokladem pro vyšší bílkovinnou stabilitu je pak nižší obsah A-fракce a zvýšený obsah nižších dusíkatých složek vstupujících do roztoku.

V současné době se častěji požaduje sledovat, jak probíhá proteolýza při použití různých sladovacích zařízení, i když je známo, že její průběh je závislý nejen na sladovacím postupu, ale také na druhu ječmene, jeho předchozích růstových a klimatických podmínkách aj. Cílem této práce bylo prozkoumat a objektivně zhodnotit stupeň rozluštění bílkovin v několika sladovacích cyklech.

Metodika a základní aplikace

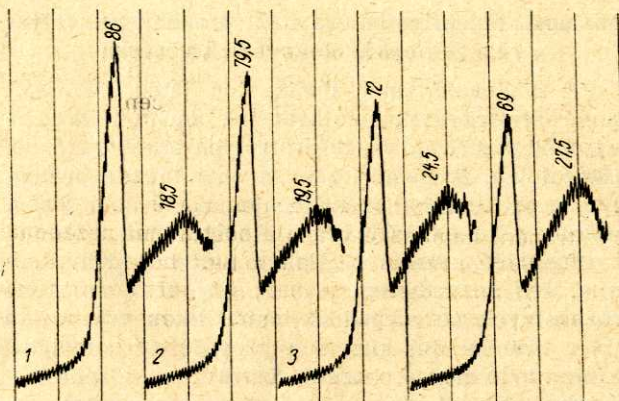
Při práci se použilo polarografické aparatury a konstant, uvedených v dřívějších sděleních [28, 29]. Vzorky odebírané během klíčení byly odsušeny laboratorně stejným způsobem.

V prosévači se vytrídil sladový šrot (90 % moučky), přičemž 200 g sladu se třídilo 15 minut. Podíly 4+5+propad (popř. jen moučka z propadu, pokud



Obr. 1. Maximum kobaltu a bílkovinná reakce výluhů z vytríděných podílů ječmeneho šrotu

Křivka: 1 — podíl druhý; 2 — podíl třetí; 3 — podíl čtvrtý. V Brdičkově kobaltité soluci bylo obsaženo 25/9 % vzorku. Od 0,8 V, citl. 1:70, 200 mV/absc



Obr. 2. Maximum kobaltu a bílkovinná reakce výluhů z klíčícího ječmene

Křivka: 1 — dva dny; 2 — tři dny; 3 — čtyři dny; 4 — pět dnů. V Brdičkově kobaltité soluci bylo obsaženo 25/9 % vzorku. Od 0,8 V, citl. 1:70, 200 mV/absc

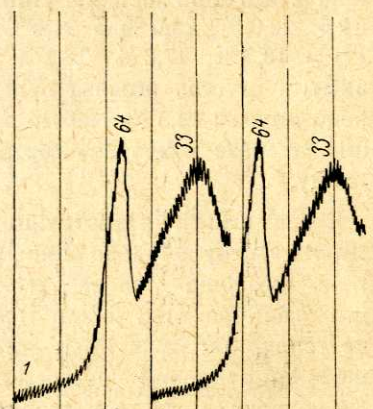
byly k dispozici jen 3 síta) se promíchaly, oddělilo se asi 60 g moučky a tato se homogenizovala 5 minut v třecí misce. Extrahovalo se vodou za mírného míchání po dobu 20 minut při 20 °C v poměru 2:100 dílům vody za přísady 2 dílů 96 % etanolu. Filtrovalo se 2krát skládaným filtrem průměru 17,5 cm. Polarograficky se hodnotilo negativní maximum kobaltu a bílkovinná vlna.

Obr. 1 ukazuje, jak se ve výluzech, z vytríděných podílů ječmeneho šrotu, maximum kobaltu snižuje a bílkovinná vlna zvyšuje. To značí, že v analýze je zapotřebí věnovat pozornost již třídění šrotu a volbě vhodných podílů. Bylo zjištěno, že je účelné používat směsných podílů moučky 4 + 5 + 6. Výluhy z pluch (podíl 1) maximum kobaltu nepotlačovaly.

Z obr. 2 a 3 je patrné, že se v polarografii proteolýza při klíčení ječmene projevuje snižováním maxima kobaltu a zvyšováním katalytické bílkovinné vlny. Jsou zaznamenány větší změny mezi druhým až pátým dnem a sotva znatelné změny mezi šestým a sedmým dnem. Podobně jako z průběhu změn Kolbachova čísla lze z průběhu maxima kobaltu usoudit, že po pátém dni klíčení, následkem resyntézy dusíku, se obsah bílkovin prakticky nezvyšuje. Avšak často lze pozorovat snížení maxima kobaltu i po šestém dnu procesu, což ukazuje na přesnější klasifikaci průběhu proteolýzy při použití polarografie.

Obr. 3. Maximum kobaltu a bílkovinná reakce výluhů ze zeleného sladu

Křivka: 1 — šest dnů; 2 — sedm dnů. V Brdičkově kobaltité soluci bylo obsaženo 25/9 % vzorku. Od 0,8 V, citl. 1:70, 200 mV/absc



Možnosti objektivního srovnání průběhu proteolýzy různých cyklů sladovacích procesů

Při sledování změn dusíkatých látek lze např. polarograficky dokumentovat, jak použitím stejného výrobního zařízení může proteolýza probíhat různě. Ukázalo se, že nemusí záležet na intenzitě proteolýzy mezi druhým až konečným sladovacím dnem natolik jako na výsledku proteolýzy, resp. obsahu rozpustných koloidů v zeleném sladu před hvozdním. Byl zaznamenán případ, kdy větší množství rozpustných povrchově aktivních látek přecházelo již v druhém dni klíčení a přes další proteolýzu, kterou bylo možno charakterizovat jako mírnou, obsahoval finální zelený slad více rozpustných povrchově aktivních koloidů než slad srovnávací, u něhož proteolýza ve druhém dni byla intenzivnější.

Předpokladem je, že pro výrobu pív s vyšší bílkovinnou stabilitou by se mělo používat sladů, které maximum kobaltu co nejúčinněji potlačují a skýtají sníženou hodnotu polarografické bílkovinné reakce, tj. podílu - A. Ze sledování vztahů výsledků polarografického měření ke Kolbachově číslu obvykle vyplývá, že se v tomto čísle objevuje více nepravděpodobných hodnot (tabulka 1).

Tabulka 1

Proces S ½ až S 7, sledovaný měřením maxima kobaltu, bílkovinné reakce a Kolbachovým číslem

Den	Výška maxima kobaltu (mm)	Výška vlny bílk. reakce (mm)	Kolbachovo číslo
½	91	16,5	—
1	84	14,5	17,3
1½	83	13,0	20,6
2	71	21,5	20,6
2½	65,2	23,0	27,7
3	61,8	23,5	32,5
4	61,2	24,5	37,1
4½	61,0	24,5	35,0
5	59,6	24,5	35,2
6	59,0	26,0	35,8
7	59,0	28,0	33,8

Pro ověření reprodukovatelnosti výsledků byly studovány dva procesy ve stadiu větších změn, tj. od druhého do pátého dne sladování (tabulka 2). Pro přípravu výluhů byly zpracovány různé navážky homogenizovaných vzorků a sledovány výsledky opakovaných měření.

Procentuální snížení maxima kobaltu vzorků výluhu z klíčícího ječmene činila v procesu IP 2 — IP 5: 22,3 %, 23,0 % a 21,4 %; v procesu IH 2 — IH 5: 18,3 %, 17,2 %, 18,1 % a 18,6 %. Průměrná aktivita prvního procesu byla tudíž 22,2 % a druhého procesu 18,3 %. Nebylo pozorováno, že by rozdíly ve vlaze kolem 2 % reprodukovatelnost zkreslovaly.

Kromě průběhu sladovacího procesu lze sledovat finální vzorky zeleného sladu, rovněž odsušené stejným způsobem. Zde se jeví aplikace metody do praxe nejlépe: slad je tím více rozluštěn, čím více povrchově aktivních látek přechází do roztoku. To může být ovlivněno vlastností a sladovatelností druhu ječmene a vlastním technologickým procesem.

Tabulka 2

Reprodukovatelnost výsledků měření povrchové aktivity výluhů z klíčícího ječmene druhého až pátého dne

Proces IP 2 — IP 5			
Navážka	I	II	III
Den	Výška maxima kobaltu (mm)		
2	85	84,5	86,5
3	82,5	81	82
4	68	70	70
5	66	65	68

Proces IH 2 — IH 5				
Navážka	I	I opak.	II	II opak.
Den	Výška maxima kobaltu (mm)			
2	82	84	80	80,5
3	75	75	74,5	75,5
4	68,3	70,8	67	66,5
5	67	69,5	65,5	65,5

Snížená hodnota bílkovinné A-fракce je vhodná pro vyšší bílkovinnou stabilitu. V tabulce 3 jsou zaznamenány výsledky polarografických měření sladin ze čtyř vzorků zelených sladů, laboratorně odsušených stejným způsobem.

Z výsledku je patrné, že vzorky IH 7, II H 7 a II P 8 byly v povrchové aktivitě poměrně vyrovnané, kdežto vzorek IP 8 skýtal méně povrchově aktivních rozpustných látek. Od pátého do osmého dne sladování se snížilo u sladu IP 8 maximum kobaltu ve srovnání s druhým dnem z 21,3 % na 23,8 %. Naproti tomu zelený slad IH 7 s vyšší potlačovací schopností snižoval od pátého do sedmého dne klíčení maximum kobaltu z 18,1 % na 22,5 %, byla-li za základ vzata hodnota maxima rovněž z druhého dne. Z rozboru výsledků vyplynulo, že v cyklu IP 2 — IP 8 se slad rozlušťoval pomaleji než v cyklu IH 2 — IH 7.

U normálně rozluštěných světlých sladů plzeňského typu nacházíme obvykle jen malé rozdíly v obsahu bílkovinné A-fракce. Rovněž v této práci bylo Brdičkovy polarografické reakce [28] použito na Lundinovu chemickou frakcionaci na základě výsledků dřívější studie [29]. Hodnocení bílkovin A + B frakce vyplývá z poznatku, že po srážení sladin molybdenanem sodným, se katalytická bílkovinná vlna neobjeví. Vzhledem k tomu, že se během sladovacího procesu B-fракce prakticky nemění, představuje přímá Brdičkova reakce relativně kvantitativní změny A-fракce. To je důležité pro bílkovinnou stabilitu sladin i pív. Sníženou bílkovinnou vlnu nacházíme obvykle u světlých karamelových

Tabulka 3

Maxima kobaltu a bílkovinné reakce vzorků sladů z výrobky

Vzorek	Výška maxima kobaltu (mm)		Výška vlny bílk. reakce (mm)
	Navážka: I	II	
I H 7	63,2	61,2	32,5
II H 7	64,0	62,2	33,0
I P 8	66,5	65,5	29,7
II P 8	64,5	63,0	32

sladů a u sladů bavorského typu. To se odráží v bílkovinných poměrech příslušných mladin a piv. Polarograficky bylo zjištěno snížení A-frakce také u staršího odleželého sladu plzeňského typu a u několika vzorků sladu v jejich výrobě byly růstové podmínky uměle upravovány podle [30]. Dosud však není vyšetřeno do jaké míry mají tato snížení podílu -A v praxi obecnou platnost.

Závěr

Cílem práce bylo objektivně stanovit bílkovinné rozluštění při výrobě zeleného sladu v několika výrobních cyklech. Vzorky klíčícího ječmene byly za stejných podmínek laboratorně odsušeny a u výluhů získaných při 20 °C bylo polarograficky sledováno maximum kobaltu a bílkovinná reakce.

Maximum kobaltu se vyznačovalo značnou specifícností na změny v obsahu látek dusíkatých. Proteolýza a další enzymatické děje vedoucí ke zvýšení rozpustnosti povrchově aktivních látek ve sladovacím procesu se jeví v polarografii vždy snižováním maxima kobaltu a zvyšováním katalytické bílkovinné vlny.

Přestože analýza koloidních roztoků, obsahujících nativní bílkoviny, je pro jejich nestálou povahu vždy obtížnější, bylo při věnované pozornosti a výběru optimálních podmínek metody dosaženo vždy toho, že maximum kobaltu klesalo k limitní hodnotě. Tato limitní hodnota je přesnou mírou rozluštění bílkovin.

Při sledování výroby zeleného sladu v několika cyklech bylo možno dokumentovat, že i za použití stejného výrobního zařízení může proteolýza probíhat různě.

V objektivním hodnocení sladovacího procesu byla v podstatě měřena celková povrchová aktivita koloidů vstupujících do roztoku, na něž je maximum kobaltu citlivé. Měření pomocí polarografických maxim je jednou z nejcitlivějších metod hodnocení povrchové aktivity vůbec. Pro posouzení stupně rozluštění zeleného sladu je přesnější než Kolbachovo číslo. Slad je tím více rozluštěn, čím více povrchově aktivních látek přechází do roztoku, a to může být ovlivněno druhem ječmene a vlastním technologickým procesem. U laboratorně odsušených vzorků z provozních sladovacích procesů se maximum ko-

baltu potlačovalo nejvíce mezi druhým až pátým dnem klíčení. Často se zdařilo podchytit malé difference mezi pátým až osmým dnem.

Vzhledem k tomu, že bílkovinná B-frakce (Lundin) vodného výluhu z ječmene a z hotového sladu se za podmínek metody prakticky neliší, tj. výška odpovídající polarografické vlny je prakticky shodná, představuje přímá Brdičkova reakce relativně kvantitativní změny A-frakce. To je důležité pro bílkovinnou stabilitu mladin i piv. Sníženou bílkovinnou vlnu nacházíme obvykle u světlých sladů karamelových a bavorského typu. Dosud málo prostudováno je snížení této frakce u starších odleželých světlých sladů a u sladů, v jejichž výrobě jsou růstové podmínky uměle upravovány.

Literatura

- [1] Helm E.: Woch. f. Br. 54, 241 (1937).
- [2] Hartong B. D.: Woch. f. Br. 54, 321 (1937).
- [3] Hartong B. D.: Brauwiss. 4, 193 (1937).
- [4] Trolle B.: EBC Congress Nice 1953; Sborník 180.
- [5] Malt Research Inst. Madison Wisconsin, Public. XI., 1952, ref. Brauwiss. 23 (1953).
- [6] Szilvinyi A.: Mitteilungen Versuchst. für Gärgev., Wien 100 (1954).
- [7] Szilvinyi A.: Mitteilungen Versuchst. für Gärgev., Wien 32 (1955).
- [8] van Veldhuizen H.: EBC Congress Baden-Baden 1955; Sborník 232.
- [9] Fitzimons J. W., Kneen E.: Proc. ASBC 37 (1954).
- [10] Martin E. G., Sfat M. R.: Proc. ASBC 10 (1959).
- [11] Schuster K., Raab H.: Brauwiss. 14, 246 (1961).
- [12] Pollock J. R. A., Pool A. A.: J. Inst. Brew. 65, 483 (1959).
- [13] Pollock J. R. A., Pool A. A., Reynolds T.: Inst. Brew. 66, 389 (1960).
- [14] Schilfarth H.: Monatschrift f. Br. 15, 159 (1962).
- [15] Szilvinyi A.: EBC Congress Baden-Baden 1955; Sborník 223.
- [16] Waldschmidt-Leitz E.: EBC Congress Rim 1959; Sborník 37.
- [17] Helm E.: J. Inst. Brew. 57, 28 (1951).
- [18] Mendlik F.: J. Inst. Brew., 56, 134 (1950).
- [19] Krauss G.: Brauwelt 99, 153 (1959).
- [20] Tombeur F., De Clerck J.: Bull. Ass. Et. Brass. Univ. Louvain 180 (1939).
- [21] Kraus G.: EBC Congress Nice 1953, Sborník 170.
- [22] van Cauwenberge A., Eyben D.: Bull. Anc. Et. Brass. Univ. Louvain 89 (1959).
- [23] Hartong B. D.: EBC Congress Nice 1953; Sborník 172.
- [24] Trolle B.: EBC Congress Nice 1953; Sborník 180.
- [25] Kloppe W. J.: Brauwiss. 11, 154 (1958).
- [26] Kloppe W. J.: Brauwiss. 14, 363 (1961).
- [27] Kolbach P.: Monatschrift f. Br. 15, 41 (1962).
- [28] Hummel J.: Disertace VŠCHT Praha, 1962.
- [29] Hummel J.: Kvasný průmysl 7, 145 (1961).
- [30] Maštovský J., Karel V.: Závěrečná zpráva č. 2 VÚPS Praha 1961.

Došlo do redakce 3. 4. 1963.

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ПРИ АНАЛИЗАХ СОСТАВА БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ В СОЛОДЕ И ИЗУЧЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ПИВА

В статье описывается первый случай применения полярографических методов для определения степени протеолиза в зеленом солоде. При испытании разных проб пророщеного ячменя, подвергнутого обработке т. е. сушке, измельчению и экстракции по сходной технологии разницы в их составе и степени протеолиза проявляются изменениям значения полярографического максимума кобальта.

BEITRAG DER POLAROGRAPHISCHEN APPLICATION OF POLAROGRAPHIC METHODE ZUR LÖSUNG DES PROBLEMS DER EIWIEBAUFLÖSUNG DES MALZES UND DER BIERSTABILITÄT TION OF THEIR EFFECT UPON THE BEER STABILITY

In der Arbeit wurde zum erstenmal die Polarographie zur Bewertung der Proteolyse in Grünmalz angewendet. Die auf gleiche Art abgetrockneten Muster keimender Gerste zeigen nach mechanischer Vorbereitung und Auslaugung in Wasser unter den Bedingungen der beschriebenen Methode einen charakteristischen Verlauf der Veränderungen in der Höhe des polarographischen Kobaltmaximums.

The article deals with the first so far known example of new application of polarographic methods, viz. for ascertaining the stage of proteolysis in green malt. Various samples of germinating barley processed, i. e. dried, crushed and extracted in the same way, have been studied. Different stages of proteolysis are reflected in the polarographic maximum of cobalt.