

10

říjen 1964 - ročník 10

VÝZKUMNÝ ÚSTAV
PIVOVARSKÝ A SLADAŘSKÝ V PRAZE
Pracoviště BRNO, Mostecká 7KVASNÝ
PRŮMYSL

ODBORNÝ ČASOPIS PRO PRACOVNÍKY V KVASNÝCH PRŮMYSELECH

Dělení pivovarských bílkovin obsahujících síru

JAROSLAV HUMMEL, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha, pracoviště Plzeň

543.865

V analytice pivovarských dusíkatých látek je snaha objektivně sledovat bílkoviny obsahující síru, poněvadž v různých fázích výroby podléhají chemickým změnám různě citlivě a ve výrobě je třeba tyto procesy zkoumat. Sulfhydrylové a disulfidické skupiny jsou u většiny bílkovin a v analytickém zkoumání se projevují specificky. Při přeměnách, hlavně enzymatických, se aktivita těchto skupin obvykle mění, z chemických pochodů působí zde rozklad, oxydace, z fyzikálně chemických vliv světla a záření vůbec [1].

V pivovarské praxi se musí sledovat bílkoviny v surovinách a během výroby; úsek hodnocení bílkovin sladu je však nejcitlivější, přichází zde několik problematik i potíží analytického charakteru. Bílkoviny sladu a sladů mají co do projevu sirných látek vysokou polarografickou aktivitu a jejich -SH skupiny jsou velmi reaktivní. Obsah rozpuštěných proteinů je závislý i na vzorkování, jemnosti mletí sladu, homogenizaci sladové moučky i způsobu provedení rmutovacího postupu. Výsledek rmutovacího procesu v rozpustných bílkovinách může též značně kolísat podle aktivity nebo inhibice enzymatické účinnosti (stopové prvky, sole z vody apod.).

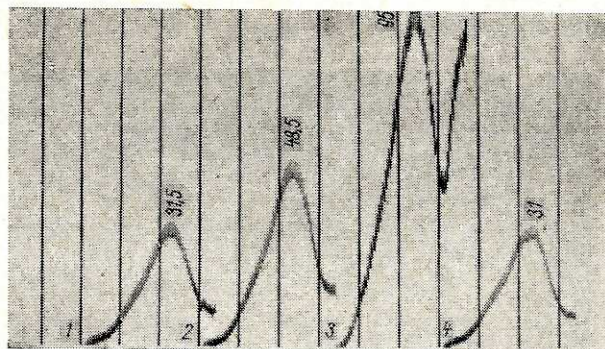
Jiné obtíže mohou spočívat v metodice a vyskytují se nejčastěji u metod, kde výsledná kontrola vyplývá ze dvou různých chemických stanovení, tj. u postupů diferenčních.

Naproti tomu v prostředcích obsahujících převážně již bílkoviny denaturované, jako je tomu v pivu, jsou analytická posuzování bílkovin toho druhu obvykle již snazší, přestože jejich poměry proti předcházejícímu stavu jsou již změněné a z kvalitativního hlediska se pak bílkovina liší jiným počtem aminoskupin nebo sulfhydrylových skupin.

Vývoj moderních technik zkoumání pivovarských bílkovin je v současné době živý a směřuje k využívání speciálních fyzikálně chemických metod, zejména gelové filtrace [2], imunoelektroforézy [3], chromatografie [4, 5]. Jde hlavně o postupy, v nichž není možno spokojit se jen s hlediskem kvantitativním, nýbrž je třeba bílkoviny dělit a sledovat jejich odlišnou kvalitu. Do tohoto úseku patří též způsob hodnocení bílkovin podle Homolky [6], v němž po jejich rozdělení na papíře se proužky

papíru vhodným způsobem rozstříhnou, eluují fyziologickým roztokem a získané výluhy se přímo zkráceně polarografují zjednodušenou technikou.

K postupům ve zkoumání bílkovin může však praktik namítnout, že většinou se koagulačních a technologických adsorpčních procesů neúčastní jeden typ bílkoviny, nýbrž více typů nebo všechny typy. Potom, pokud nejde o práce s charakterem základního výzkumu, je možno zaměřit se na užší počet metodik, přičemž nelze opomenout ani chemické způsoby dělení bílkovin; tyto způsoby lze pak kombinovat s některou objektivní metodou kvantitativní. V pivovarství sledoval autor tohoto sdělení bílkoviny polarograficky z hlediska frakcionace síranem amonným a podle účinku prostředků srážecích, enzymatických a sorpčních, jakož i během výroby sladu a piva [7, 8, 9]. Uvedl, že použitá Brdičkova reakce je toho charakteru, že reprodukuje v podstatě bílkovinný podíl — A podle Lundina, ovšem z hlediska projevu -SH a -S-S skupin, protože po úpravě mladiny nebo piva tání, zbývá ve filtrátu jen zcela malá polarografická bílkovinná vlna, která náleží podílu — B. Mluvíme-li tudíž v chemické frakcionaci o sirných



Obr. 1. Katalytická bílkovinná reakce podílů z rozpěňovací analýzy piva

Přímá bílkovinná reakce, křivka 1 — podíl 3 min; 2—3 až 10 min; 3 — po 10 minutách; 4 — pivo původní. V Brdičkově kobaltické soluci bylo obsaženo 15/9 % vzorku; od 1,2 V, 200 mV/abs., citlivost 1 : 70

bílkovinách, máme na mysli podíl — A. Jeho podstatnou částí jsou bílkoviny s vysolovací schopností.

Tato, v pořadí čtvrtá dílčí studie, vedla k výsledku, že existuje v pivovarských kapalinách relace mezi bílkovinou celkovou (A+B frakcí) a srazitelnou etylalkoholem, přitom etanolový bílkovinný podíl není závislý na obsahu glycidů. To značí, že kvantitativní změny celkové bílkoviny (prakticky A-podílu) se nejčastěji kvantitativně mění v relaci s bílkovinou, srazitelnou etanolem, kterou můžeme nazvat glycidickým bílkovinným podílem.

Bílkovinná celková reakce, jakož i reakce glycidického podílu byly sledovány v pěně, u různých druhů pív přímo i ve vztazích k jejich povrchové aktivitě pomocí polarografických maxim. Dále byl studován účinek některých enzymatických preparátů z *Aspergillů* na pивní bílkoviny a na povrchovou aktivitu jimi upravených pív.

Ukázalo se, že podíly pěny piva, vyznačující se nejvyšší trvanlivostí, obsahovaly nejvíce bílkovin celkových a současně i bílkovin srazitelných etylalkoholem. Z toho vyplývá celkový význam vysokomolekulárních bílkovin pro pěnivost. Na obr. 1 a 2 jsou zaznamenány katalytické bílkovinné reakce podílů z rozpěňovací analýzy piva. Na obr. 1 jsou zaregistrovány pouze vlastní bílkovinné vlny bez maxim kobaltu, aby při stejné citlivosti byla zachycena celá bílkovinná vlna třetí rozpěňovací frakce. Bílkovinné podíly glycidické sraženiny etanolové se při rozpěňovací analýze pohybovaly v rozsahu 24–38 % celkové bílkoviny. Maximum náleželo třetímu podílu, tj. pivu z pěny o nejvyšší trvanlivosti.

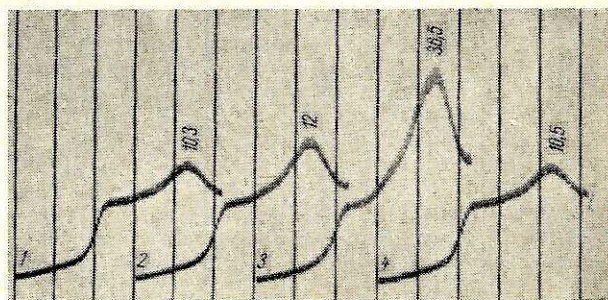
Význam rozpěňovací analýzy spočívá v tom, že umožňuje bílkoviny koncentrovat. Nakoncentrované proteiny jsme dělili chemicky a analyzovali polarograficky. Pěnотvorné vlastnosti jsme sledovali podle vztahů s kvantitativními poměry bílkovin, podle celkové povrchové aktivity a podle povrchové aktivity podílu glycidického. Potvrdilo se, že pro stálost pěn jsou důležité tři činitele:

1. Jak působí mechanické vlivy na koncentrační poměry okolo částic disperzní fáze v pěnových filmech.

2. Jaká je povrchová aktivita pěnотvorného čidla.

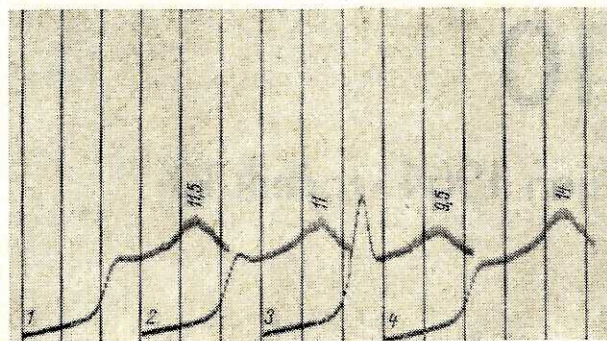
3. Jaké je složení stabilizujících filmů.

V analýze různých druhů pív má polarografické hodnocení glycidického podílu ještě jiný význam. Autor této práce zjistil, že některé druhy preparátů z *Aspergillů* katalyzují kromě štěpení bílkovin



Obr. 2. Katalytická bílkovinná reakce podílů z rozpěňovací analýzy piva

Etylalkoholem srazitelné bílkoviny, křivka 1 — podíl 3 min; 2–3 až 10 min; 4 — po 10 min; 4 — pivo původní. V Brdičkově kobaltické soluci bylo obsaženo 15/9 % vzorku; od 0,8 V, 200 mV/abs., citl. 7:70



Obr. 3. Bílkoviny glycidického podílu pokusných pív upravených proteolytickými preparáty tuzemské pokusné výroby

Křivka 1 — preparát Ao/25 000 Akj; 2 — Ao/50 000 Akj; 3 — Ao/100 000 Akj; 4 — Af25 000 Akj. V Brdičkově kobaltické soluci analyzováno 15/9 % vzorku; od 0,8 V, 200 mV/abs., citl. 1:70

těž rozklad glycidického podílu, a to se při provozních pokusech projevilo hlubším prokvášením a narušením pěnivosti. Vzhledem k tomu, že rozklad glycidického podílu značí ztrátu povrchové aktivity, musí se tento jev projevit na maximu kobaltu. To je reprodukováno na obr. 3, kde na křivce 1 je maximum kobaltu normální při koncentraci preparátu Ao/25 000 Akj, kdežto na křivce 2 se jeví již méně potlačené maximum při koncentraci Ao/50 000 Akj a na křivce 3 v důsledku většího rozkladu glycidického podílu vzniklo málo potlačené maximum špičaté.

Schopnost potlačovat maxima byla dále měřena u etylalkoholových centrifugátů různých druhů pív stejné stupňovitosti. Také byly provedeny pokusy s cílem charakterizovat podíl bílkovin vzdorující účinku tepla a oxydace. Výsledky bylo možno shrnout takto: nejnižší povrchovou aktivitu měly glycidické podíly pív vyrobených s vyšší přísadou surovin nesladových nebo nezesladovaných. Za tepla a přítomnosti manganistanu draselného při pH 4,5–4,9 byla zjištěna maximální destrukce bílkovin až do snížení bílkovinné vlny o $\frac{1}{3}$. To, že téměř $\frac{2}{3}$ obsahu bílkovin zůstalo v roztoku za extrémních podmínek pokusů zachováno, upozornilo na značnou odolnost některých typů bílkovin, co ovšem mohlo být ovlivněno i účinkem ochranných koloidů nebo vazbou bílkovin na glycidy nebo spolupůsobením všech těchto vlivů.

Závěr

Závěrem je možno shrnout:

1. Z chování pivovarských bílkovin při vysolování, sražení taninem, etylalkoholem a při působení adsorpčních i enzymatických prostředků vyplývá, že polarografická bílkovinná reakce (v podmínkách Brdičkovy reakce) zahrnuje v podstatě vysokomolekulární podíly bílkovin. Podíly vyplývající z chemického dělení se hodnotí proti srovnávacímu vzorku stejným způsobem jako u celkové reakce při stejné stupňovitosti a polarografické citlivosti.

2. Pěna piva vyznačující se nejvyšší trvanlivostí obsahuje koncentrát bílkovin celkových a současně i bílkovin srazitelných etylalkoholem. Z toho vyplývá význam vysokomolekulárních bílkovin pro pěnivost.

3. Narušení glycidického podílu piva se jeví změnou povrchové aktivity a může být sledováno pomocí polarografických maxim; srovnávají se vzorky

stejně stupňovitosti nejlépe za užití maxima kobaltu. Projevují se v nich účinky surogace, účinky některých enzymatických preparátů proteolytických katalyzujících současně rozklad glycidického podílu se současným narušením látek pěnотvorných, jakož i účinky hydrolýzy.

Literatura

[1] Kolektiv autorů: Laboratorní technika biochemie, ČSAV Praha 1959.

[2] Procházka Z.: Chem. listy 47, 1637 (1953).

[3] Ouchterlony O.: Ark. Kemi, Miner. och Geol. B 27, 43, 55 (1950).

[4] Raible K.: Monatschr. f. Brauerei 14, 49 (1961).

[5] Karel V.: Kvasný průmysl 9, 117 (1963).

[6] Homolka J.: Chemische Diagnostik VEB, Volk u. Gesund. Berlin 1961.

[7] Hummel J.: Kvasný průmysl 7, 145 (1961).

[8] Hummel J.: Kvasný průmysl 9, 106 (1963).

[9] Hummel J.: Kvasný průmysl 9, 206 (1963).

Došlo do redakce 8. 7. 1964.

РАЗДЕЛЕНИЕ ПИВНЫХ БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ СОДЕРЖАЩИХ СЕРУ

В статье приводятся дальнейшие результаты изучения белковых веществ находящихся в пиве. При исследовательских работах применялись как методы химического фракционирования, так и полярографическая регистрация. Описывается и анализируется зависимость между ухудшением пенности и разложением глицидных составляющих, изменениями поверхностной активности и изменениями состава присутствующих в пиве белковых веществ.

TEILUNG DER SCHWEFELHALTIGEN BIEREIWEISSTOFFE

Es werden die weiteren Ergebnisse des Studiums der Biereiweisstoffe bei Anwendung der chemischen Fraktionierung und polarographischen Registrierung beschrieben. Die Verhältnisse zwischen der Beeinträchtigung des Bierschaumes und der Degradation des glycidischen Anteils, den Veränderungen seiner Oberflächenaktivität und seiner Eiweisstoffe werden erörtert und diskutiert.

DIVISION OF SULPHUR CONTAINING BEER ALBUMINS

The article deals with the research works studying beer albumins and their influence upon the quality of the product. Chemical fractionation, as also polarographic registration have been employed for classification. Correlations existing between the decomposition of glycidic components, changes of surface activity and composition of albumins on one hand and deterioration of frothing properties on the other hand are analysed and discussed.