

# Použití automatického analyzátoru aminokyselin ve sladařsko-pivovarské laboratoři

663.41 : 543.865  
547.466

Doc. Ing. JOSEF MOŠTEK CSc., Ing. HANA ŠOLÍNOVÁ a Ing. JAROSLAV ČEPIČKA, Katedra kvasné chemie a technologie, fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT v Praze

Do redakce došlo 25. 1. 1971

Rozvoj moderních analytických metod a vývoj citlivé a často již automaticky pracující laboratorní měřicí techniky umožňuje sledovat a řídit stále více faktorů ovlivňujících jakost výchozích sladařských a pivovarských surovin, meziproduktů a tím i hotového výrobku. Tak jako místo velmi citlivé, avšak zpravidla časově náročné papírové chromatografie sacharidů, organických kyselin, pryskyřic chmele [2, 3] nastoupila nejprve chromatografie na tenkých vrstvách [7] a později plynová chromatografie, tak i pro aminokyseliny byla kromě těchto metod [1, 6, 9, 14] vyvinuta i metodika dělení na ionexových kolonách [4, 11, 15], event. i s následující automatickou detekcí a registrací, popř. i samočinným výpočtem analytických hodnot. Předmětem této práce je proto jednak stručné pojednání o chemickém charakteru a biochemickém významu jednotlivých aminokyselin, jednak o způsobu jejich stanovení v různých typech vzorků automatickým analyzátozem aminokyselin typu 6020, který je čs. výrobkem.

## Některé systémy klasifikace aminokyselin

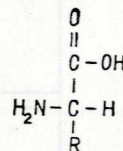
V odborné literatuře je podrobně popsáno několik klasifikačních systémů, které se vzájemně liší sledovaným cílem. Z hlediska zaměření experimentální části této práce považujeme za vhodné zmínit se zde o dvou z nich.

1. Holldorfův a Försterův systém doplněný Mandlem a jeho spolupracovníky [10] dělí aminokyseliny do sedmi tříd, které velmi přehledně rozlišují

jejich chemickou strukturu (obr. 1). Tento systém je také velmi výhodný pro zhodnocení biochemického významu jednotlivých aminokyselin.

2. Karlson [5] naproti tomu využívá ve svém klasifikačním systému odlišnosti acidobazických vlastností jednotlivých aminokyselin. V tabulce 1 je uveden přehled ionizace skupin přítomných v aminokyselinách (a bílkovinách).

Pro rozdělení jednotlivých aminokyselin podle jejich acidobazických vlastností vycházejme z tohoto obecného vzorce aminokyselin:



a) Kyselí reagující aminokyseliny, které ve zbytku R obsahují druhou karboxylovou skupinu: kyselina glutamová, kyselina asparagová.

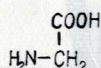
b) „Neutrálně“ reagující aminokyseliny (s nepolárním zbytkem R, nebo s neionizovanými, avšak polárně působícími skupinami, tj. —OH, —SH, —CO.NH<sub>2</sub> a některými heterocykly): glycin, alanin, valin, leucin, izoleucin, prolin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan, serin, threonin, methionin, cystein, cystin; dále také amidy kyselí reagujících aminokyselin, tj. asparagin a glutamin.



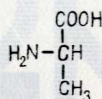
Obr. 1. Jeden z používaných klasifikačních systémů aminokyselin [10].

### I. Kyseliny monoaminomonokarbonové

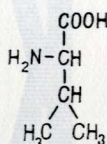
Glycin (Gly)



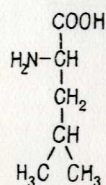
Alanin (Ala)



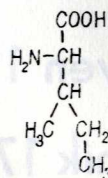
Valin (Val)



Leucin (Leu)

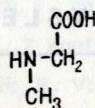


Isoleucin (Ileu)

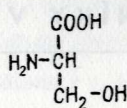


### II. Kyseliny hydroximonoaminomonokarbonové

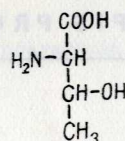
Sarkosin (Sar)



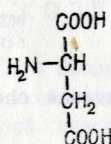
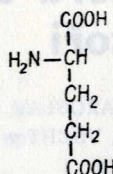
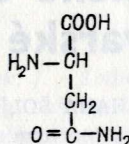
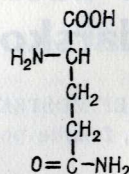
Serin (Ser)



Threonin (Thre)

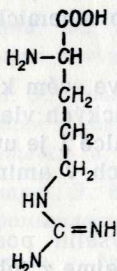


### III. Kyseliny monoaminodikarbonové a jejich $\omega$ -amidy

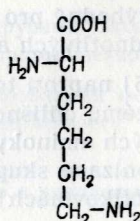
Kyselina  
asparagová (Asp)Kyselina  
glutamová (Glu)Asparagin  
(Asp-NH<sub>2</sub>)Glutamin  
(Glu-NH<sub>2</sub>)

### IV. Kyseliny diaminomonokarbonové

Arginin (Arg)

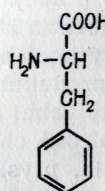


Lysin (Lys)

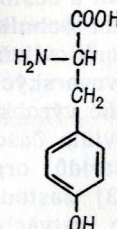


### V. Aromatické aminokyseliny

Fenylalanin (Phe)

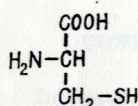


Tyrosin (Tyr)

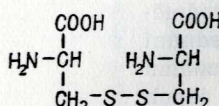


### VI. Aminokyseliny obsahující síru

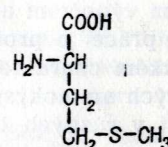
Cystein (Cyst-SH)



Cystin (Cyst-S-S-Cyst)

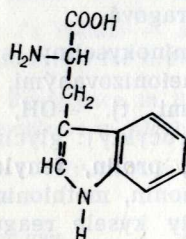


Methionin (Meth)

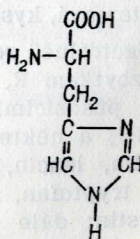


### VII. Heterocyklické aminokyseliny

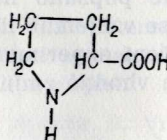
Tryptofan (Try)



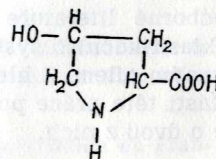
Histidin (His)



Prolin (Pro)



Hydroxyprolin (OH-Pro)





c) Bazické aminokyseliny, které ve zbytku R obsahují ještě další bazickou skupinu: lysin, arginin a histidin.

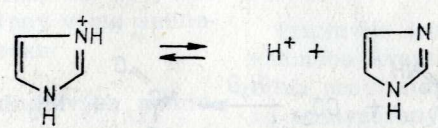
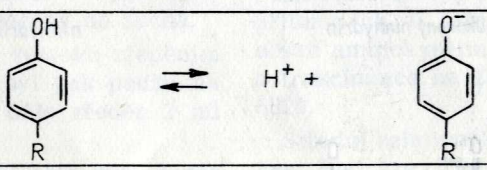
Tento klasifikační systém je pro nás z hlediska zaměření této práce velmi instruktivní, neboť na jeho principu je založena metodika automatického analyzátoru aminokyselin.

Automatické analyzátoru aminokyselin (dále jen AAA) se v ČSSR nejprve vyvíjely a vyráběly ve Vývojových dílnách ČSAV. Později převzala výrobu Mikrotechna, n. p., Praha-Modřany. Nezávisle na těchto institucích vyvíjejí a vyrábějí obdobné AAA ve vývojovém pracovišti závodů Slovenského národního povstání, Hliníkareň, Žiar nad Hronom. Nami používaný a zde charakterizovaný přístroj „Amino Acid Analyzer“ typ 6020 je ještě výrobkem Vývojových dílen ČSAV Praha.

#### Popis použitého automatického analyzátoru aminokyselin typu 6020

AAA typ 6020 (obr. 2 a 3) provádí zrychlené chromatografické analýzy aminokyselin na ionexech upravenou metodou Speckmanna, Steina a Moora [16]. Použitým ionexem je silně bazický kateks Amberlite IR 120, zrnění 23  $\mu\text{m}$ . Rozdělení běžných směsí 17 aminokyselin probíhá vždy na jedné ze dvou tzv. velkých kolon s ionexovým sloupcem

8X525 mm a na tzv. malé koloně se sloupcem 7X45 mm při teplotě 53 °C. Na velké koloně se dělí kyselé aminokyseliny (Asp, Thr, Ser, Glu, Pro) a neutrální aminokyseliny (Gly, Ala, Val, Met, Leu, Ile, Tyr, Phe) citrát-sodnými pufrů o pH postupně 3,25, 4,25 a 5,28 (toto dělení aminokyselin je vlivem použitých ionexů a pufrů poněkud odlišné od dělení podle Karlsona). Pufr 5,28 se nám navíc podařilo v oblasti neutrálních aminokyselin rozdělit a stanovit i kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou. Bazické aminokyseliny (Lys, His, Arg) se rozdělují na malé koloně citrát-sodným pufr 5,28; tato analýza se zařazuje automaticky před začátek analýzy na velké koloně, takže celková doba trvání jedné analýzy vzorku je 120 až 140 min. Eluáty z ionexových kolon se automaticky mísí s 2 % roztokem ninhydrinu, s nímž protékají kapilárním reaktorem k vyvolání barevné reakce (obr. 2 a 4); intenzita zbarvení reakční směsi se automaticky měří ve dvoukvetovém průtokovém fotometru při vlnových délkách 570 nm a 440 nm a graficky se registruje. Bodový záznam extinkce umožňuje snadný a rychlý výpočet ploch registračních vrcholů (peaků) jednotlivých aminokyselin, z nichž se podle kalibračního chromatogramu a ředění počítá vlastní obsah aminokyselin ve vzorku, vyjadřovaný obvykle v mg aminokyselin ve 100 ml vzorku. Přesnost stanovení

Skupina	Výskyt	Ionizační rovnováha
$\alpha$ - karboxyl	$\alpha$ - aminokyseliny	$\text{NH}_3^+ \text{RCHCOOH} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{NH}_3^+ \text{RCHCOO}^-$
distální karboxyl	kyselina asparagová a glutamová	$\text{RCOOH} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{RCOO}^-$
imidazol	histidin	
$\alpha$ - amino	$\alpha$ - aminokyseliny	$\text{NH}_3^+ \text{RCHCOO}^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{NH}_2 \text{RCHCOO}^-$
distální amino	lysin	$\text{RNH}_3^+ \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{RNH}_2$
fenolový hydroxyl	tyrosin	
sulfhydrylová	cystein	$\text{RSH} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{RS}^-$
guanidin	arginin	$\text{NH}_2^+ \text{CNHR} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{NH} \text{CNHR}$

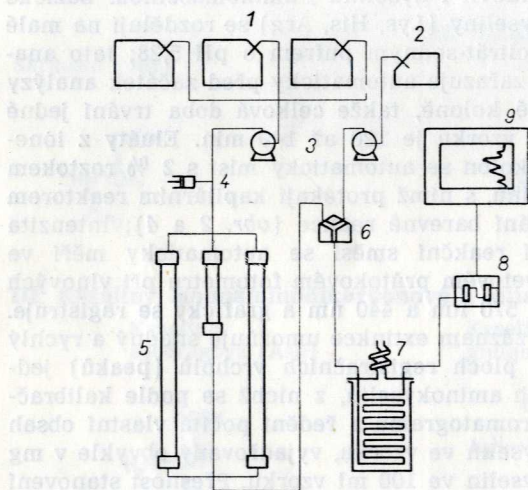
Tab. 1. Ionizace skupin přítomných v aminokyselinách a bílkovinách [13].



aminokyselin pomocí AAA typu 6020 udávají výrobcí  $\pm 3 \%$ .

Obecně lze na AAA typu 6020 provádět dva typy analýz při dvou funkčně pozměněných pracovních režimech:

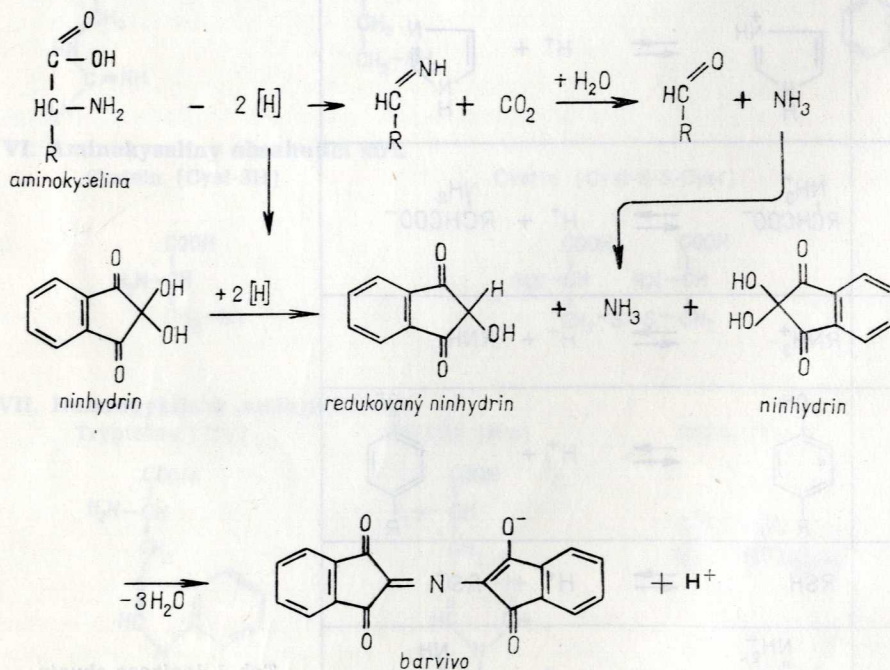
1. typ představují analýzy směsí běžných aminokyselin a hydrolyzátů bílkovin a peptidů; doba analýzy při použití citrát-sodných pufrů a teploty  $53^\circ\text{C}$  je již zmíněných 120 až 140 min,



Obr. 2. Funkční schéma AAA typu 6020

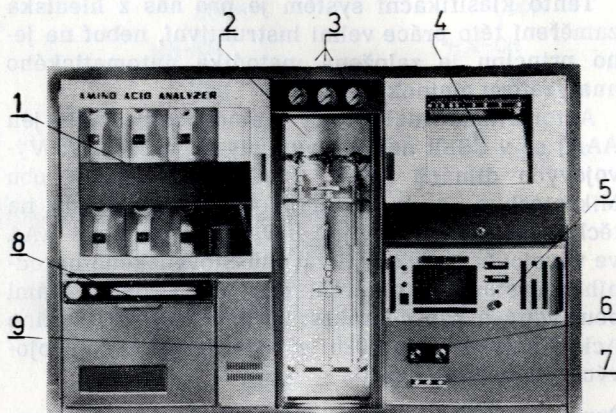
1 — Zásobní nádoby na citrát-sodné pufrů, 2 — Zásobní nádoba na ninhydrinové činidlo, 3 — Čerpadla, 4 — Dávkočiv vzorků, 5 — Chromatografické kolony, 6 — Směšovač eluátu a ninhydrinového činidla, 7 — Reakční lázeň, 8 — Průtokový fotometr, 9 — Automatický bodový zapisovač

2. typem jsou analýzy složitějších materiálů — přirozených směsí aminokyselin, např. v tělních tekutinách a rostlinných extraktech po odbělkování bez hydrolýzy; v tomto případě se doba trvání analýzy prodlužuje nejméně na 240 min, pracuje se při



Obr. 4. Chemismus barevné reakce ninhydrinu s aminokyselinami podle Karlsona [5].

pozměněném pracovním režimu a za použití citrát-sodných nebo citrát-lithiových pufrů. Celkový pohled na AAA typu 6020 je zřejmý z obr. 3.



Obr. 3. Celkový pohled na čelní stranu AAA typu 6020

1 — zásobníky chemikálií, 2 — panel kolon s kolonami a dávkočiv, 3 — kontrolní manometry, 4 — zapisovač, 5 — ústřední programátor, 6 — aripoty, 7 — ovládací tlačítka čerpadel, 8 — průtokoměr 9 — prostor fotometru

#### Separace aminokyselin ze vzorků k analýze na AAA 6020

Přírodní materiál je velmi rozmanitý a proto při analýze obsahu jeho aminokyselin je nutné přihlížet ke složení a vlastnostem zpracovávaného materiálu, jemuž se musí celá pracovní metodika přizpůsobit. Pivovarské suroviny, meziprodukty a výrobky lze analyzovat jak na celkový obsah aminokyselin, tak na obsah volných forem aminokyselin.

Pro stanovení obsahu aminokyselin platí zhruba tyto hlavní zásady: přítomnost sacharidů a lipidů stanovení aminokyselin neruší; přírodní materiály, ale i jejich hydrolyzáty obsahují často ninhydrin-pozitivní látky, které buď interferují s některými aminokyselinami, anebo vytvářejí nové, samostatné vrcholy na elučním grafu. Tyto složky je pak třeba před vlastní analýzou na AAA typu 6020 ze vzorku oddělit vysrážením, extrakcí nebo aminokyselinou ze vzorku separovat ionexy.

K izolaci volných forem aminokyselin z vodných eluátů sladu, ze sladiny, mladiny a piva a také z kyselých hydrolyzátů zákalo-tvorných substancí extraktu piva se nám velmi dobře osvědčila metodika vypracovaná Thompsonem, Gerin-gem a Morrisem [17], pů-vodně pro separaci aminoky-selin z rostlinných materiálů ionexy. Princip metody zá-leží v samostatné vazbě bazic-kých aminokyselin na jed-nom a kyselých a neutrál-ních aminokyselin na dru-hém ze dvou sloupců ionexu Dowex X-50, z nichž první



se upraví do amoniakálního a druhý do vodíkového cyklu [12].

Vzorek sladiny, mladiny a piva určený k analýze se ředí a upravuje na  $\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$  a vede přes výše uvedené dvě ionexové kolony k zachycení aminokyselin, jež se pak z ionexů vymývají zředěným amoniakem a deionizovanou vodou. Takto získané eluáty dvou frakcí aminokyselin se potom jednotlivě zahustí v rotační vakuové odparce, z toho frakce bazických aminokyselin při teplotě  $50^\circ\text{C}$  a frakce kyselých a neutrálních aminokyselin při teplotě  $20^\circ\text{C}$  do tuhé konzistence. Odparek aminokyselin se pro analýzu na AAA 6020 rozpouští v takovém množství citrát-sodného pufru  $\text{pH} = 2,2$ , aby při objemu dávkovací kapiláry  $200\ \mu\text{l}$  se na ionexovou kolonu AAA dávkovalo zhruba 10 až 100 n-molů jednotlivých aminokyselin.

Tato izolace aminokyselin velmi dobře vyhovuje požadavkům kladeným na úpravu vzorku před analýzou na AAA 6020, neboť poskytuje izolát prostý všech interferujících a ninhydrinpozitivních složek, které by vlastní kvantitativní stanovení mohly rušit. Rovněž reprodukovatelnost analýz při použití tohoto způsobu izolace je vyhovující.

#### Výpočet koncentrace jednotlivých aminokyselin ve vzorku

Poloha jednotlivých vrcholů na elučním chromatogramu, tj. vzdálenost maxima vrcholu od počátku analýzy, je charakteristickou vlastností každé aminokyseliny za konstantního pracovního režimu a podle této polohy a srovnávacího kalibračního chromatogramu se jednotlivé aminokyseliny identifikují. Koncentrace každé aminokyseliny je na elučním chromatogramu určena plochou vrcholu (výška  $\times$  šířka v polovině výšky) a po vydělení plochy odpovídající konstantou se získá obsah určité aminokyseliny vyjádřený v  $\mu\text{molech}$ ; ten se podle ředění přepočítá na obsah vyjádřený v mg aminokyselin ve 100 ml původního vzorku.

#### Příklad výpočtu koncentrace jednotlivých aminokyselin

Údaje společné pro všechny analýzy:

- a) k izolaci aminokyselin v pivu (nebo mladině) se používalo 5 ml vytřepaného vzorku,
- b) po zředění a úpravě  $\text{pH}$  vzorku následovala izolace na dvou sloupcích Dowexu X-50,
- c) eluáty z těchto sloupců zahrnující frakci kyselých a neutrálních aminokyselin a bazických aminokyselin byly jednotlivě odpařeny do sucha,
- d) odparky byly převedeny do roztoku zředěním 2 ml vody; 1 ml tohoto roztoku byl pak použit na papírovou chromatografii, 1 ml dále zředěn 2 ml pufru o  $\text{pH} = 2,2$ ,
- e) z tohoto podílu se pak odebíralo  $200\ \mu\text{l}$  pro vlastní stanovení na AAA 6020.

Pro výpočet koncentrace jednotlivých aminokyselin platí obecný vztah:

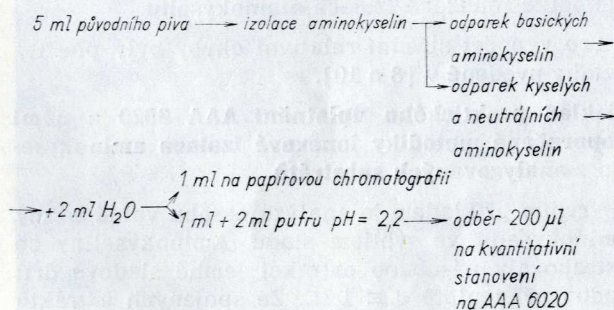
$$\text{koncentrace aminokyseliny } (\mu\text{mol}) = \frac{H \cdot W}{K}$$

kde:  $H$  je čistá výška vrcholu (tj. hodnota výšky vrcholu — blanková linie) vyjádřená v jednotkách extinkce;

$W$  — šířka vrcholu v poloviční výšce vrcholu vyjádřená počtem bodů registračního zápisu;

$K$  — kalibrační konstanta příslušné aminokyseliny.

Příklad výpočtu koncentrace valinu v mladém pivu:



Pro výpočet koncentrace aminokyselin platí:

$$\text{mg aminokyseliny/100 ml piva} = \mu\text{mol} \cdot \text{MV} \cdot 10^{-3} \cdot 5 \cdot 3 \cdot 2 \cdot 20 = \mu\text{mol} \cdot \text{MV} \cdot 0,6$$

$$K_{\text{Val}} = 60,76$$

$$W_{\text{Val}} = 24,5$$

$$H_{\text{Val}} = 0,41$$

$$\text{MV}_{\text{Val}} = 117,15$$

$$\frac{H \cdot W}{K} = \frac{0,41 \cdot 24,5}{60,76} = 16,532 \cdot 10^{-2} \mu\text{mol}$$

$$\text{Koncentrace valinu v mg/100 ml piva} = 16,532 \cdot 10^{-2} \cdot 117,15 \cdot 0,6 = 11,62$$

#### Stanovení střední relativní chyby AAA 6020 a metody izolace aminokyselin

Připravili jsme standardní směs aminokyselin známého kvantitativního složení, kterou jsme nechali projít stejným cyklem operací jako každý jiný analyzovaný vzorek mladiny nebo piva; tzn., že ze standardní směsi byly aminokyseliny nejdříve „vyizolovány“ na sloupcích Dowexu X-50, vylučovány a eluáty zahuštěny; po rozpuštění odparků v pufru  $\text{pH} = 2,2$  se v nich stanovil obsah aminokyselin pomocí AAA 6020. Standardní směs představovala dosud všechny námi zjištěné aminokyseliny piva — tj. Ala, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Try, Val, Tyr, Arg, Lys, Thr, kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou, a to v množství v pivě obvykle přítomných. V téže směsi jsme paralelně stanovili obsah aminokyselin bez předchozí ionexové izolace a frakcionace na Dowexu přímo měřením na AAA 6020.

Střední relativní chyba přístroje AAA 6020 se pro Lys, His, Arg, Thr, Gly, Ala, Val, Asp a kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou pohybovala v rozmezí 2–4 %, u Leu, Tyr, Pro, Ser pouze 1–2 % a u Glu a Phe činila 4 až 5 %. Výraznější nepřesnost se projevila u Met a Ile. Již v prospektu k AAA 6020 je však pro Met uváděna poloviční přesnost stanovení vzhledem k ostatním aminokyselinám.



Po zjištění obsahu aminokyselin při přímém stanovení na AAA 6020 a celkové střední relativní chyby metody bylo možno vyčíslit i střední relativní chybu při izolaci aminokyselin na Dowexech předcházející jejich měření na AAA 6020. Tato střední relativní chyba ionexové izolace aminokyselin dosáhla u Ser hodnoty 0,3 %, u Ala 0,4 %, u Gly 1,4 %, u Glu 1,7 %, u Asp 1,8 %, u Lys 1,0 %, u His 1,2 % a u Arg 0,9 %. U zbylých aminokyselin se pohybovala v mezích 3 až 4 %. Jde tedy o prakticky kvantitativní a velmi dobře reprodukovatelnou metodiku ionexové izolace aminokyselin.

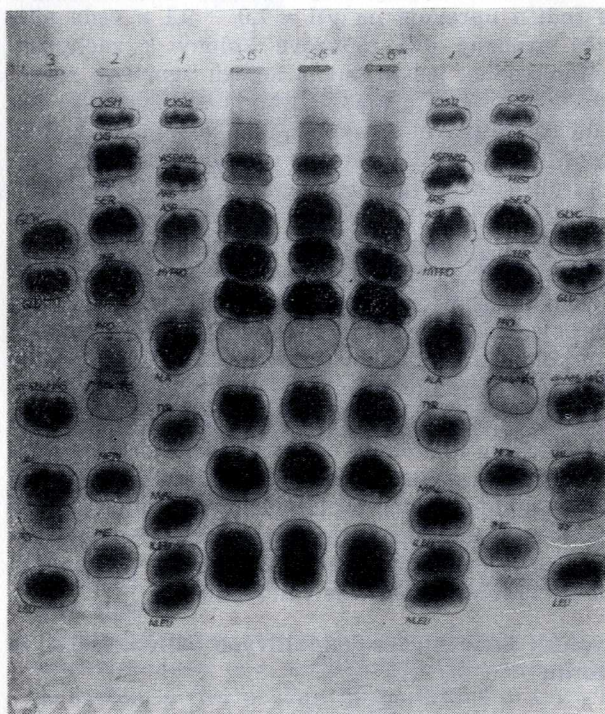
Pro výpočet střední relativní chyby byly použity vztahy uvedené v [8 a 10].

#### Příklad praktického uplatnění AAA 6020 a námi doporučené metodiky ionexové izolace aminokyselin z analyzovaných substrátů

Prvním příkladem je analýza obsahu volné formy aminokyselin ve světlém sladu. Aminokyseliny se extrahovaly násobnou extrakcí jemné sladové drti vodou při teplotě  $6 \pm 1^\circ\text{C}$ . Ze spojených extraktů se aminokyseliny izolovaly popsanou ionexovou metodikou. Získané výsledky jsou uvedeny v tab. 2.

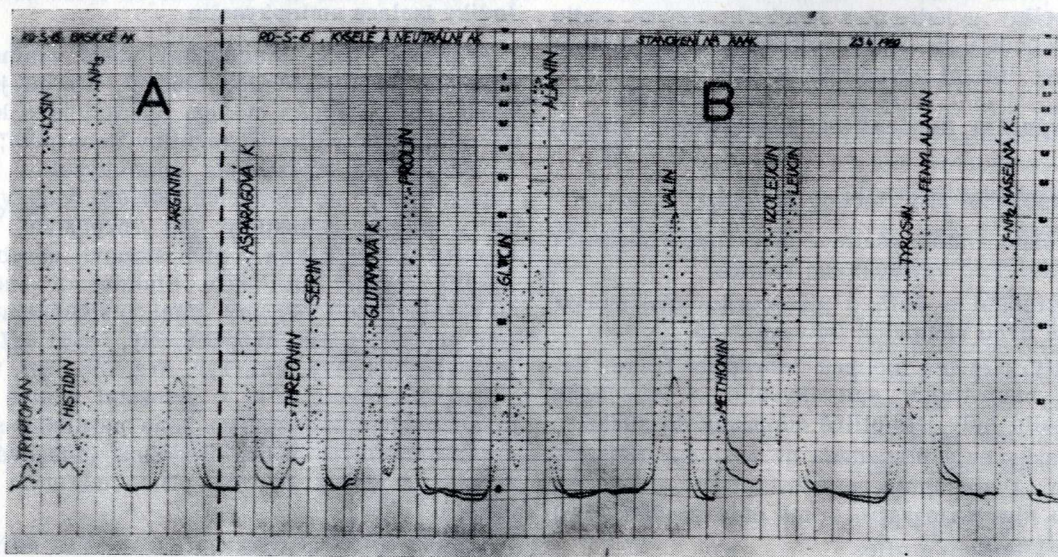
Druhým příkladem je stanovení zbytkových aminokyselin v  $10^\circ$  světlém pivu po 15 dnech kvašení při teplotě  $6 \pm 1^\circ\text{C}$ . Aminokyseliny se z piva izolovaly výše doporučenou metodikou. Část izolátu frakce kyselých a neutrálních aminokyselin a část izolátu frakce bazických aminokyselin se v kvalitativním smyslu samostatně paralelně analyzovala jednak papírovou chromatografií (obr. 6 a 7), jednak kvalitativně i kvantitativně v AAA 6020 (obr. 5). Srovnáním obr. 6 a 7 na jedné a obr. 5 na druhé straně se získá objektivní obraz o citlivosti každé z obou metod. Hodnoty obsahu jednotlivých

aminokyselin v analyzovaném pivě jsou uvedeny v tab. 2.



Obr. 6. Srovnávací papírový chromatogram ionexové frakce kyselých a neutrálních reagujících aminokyselin zakvašené  $10^\circ$  světlé mladiny v 5., 10. a 15. dnu kvašení při teplotě  $6 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Popis: 1, 2, 3 — standardy aminokyselin; S 15', S 15'', S 15''' — vzorky z 5., 10. a 15. dne kvašení. Použitý chromatografický papír Whatman č. 1, promývací soustava n-butanol: kyselina octová (ledová): voda = 4:1:5 (obj.), promývání chromatogramů sestupným způsobem, detekce 0,25% roztokem ninhydrinu v acetonu, stabilizace zbarvení  $\text{Cu}/\text{NO}_3/2$  a plyným  $\text{NH}_3$  (blíže viz citace 12).



Obr. 5. Chromatogram ionexové frakce bazických (část A) a ionexové frakce směsi kyselých a neutrálních aminokyselin (část B)  $10^\circ$  světlého mladého piva z 15. dne kvašení při teplotě  $6 \pm 1^\circ\text{C}$  získaný z automatického analyzátoru aminokyselin typu 6020.

Popis: E — extinkce ninhydrinového zbarvení jednotlivých amino kyselin, H — čas postupující eluce aminokyselin z ionexových kolon AAA 6020, jejich zbarvování a grafické registrace jednotlivých aminokyselin.



Tabulka 2. Příklad analýzy obsahu aminokyselin ověřenou metodikou ionexové izolace a automatického analyzátoru aminokyselin ve třech různých typech vzorků

Amino- kyselina	Vodný výluh světlého sladu	Mladé 10°svět. pivo z 15. dne kvašení	Kyselý hydrolyzát varem koagu- lovatelných látek 12° světlého piva
	Koncentrace aminokyselin		
	mg/100 g suš. sladu	mg/100 ml	mg/g suš. hydrol.
Lys	12,52	6,85	17,23
His	stopy	stopy	stopy
Arg	24,22	10,20	8,51
Asp	14,01	4,01	23,15
Thr	5,35	1,47	7,93
Ser	25,09	2,57	7,19
Glu	22,40	4,52	34,85
Pro	50,19	25,08	11,91
Gly	4,98	3,17	10,17
Ala	16,56	15,87	16,49
Val	26,13	11,62	21,90
Met	stopy	stopy	1,35
Ile	7,24	6,33	13,62
Leu	16,00	10,02	33,46
Tyr	11,68	7,60	5,28
Phe	15,33	11,23	18,82
γ-Amk	5,91	10,93	0,55
Try*	stopy	stopy	stopy
NH <sub>3</sub> **	—	—	—
Celk. AK***	257,61	131,01	232,41
Celkový α-amino N	22,05	10,60	24,12
Celkový α-amino N + ProN + γ-Amk N	28,99	15,13	25,64
Celkový N v AK	36,04	18,25	29,33

\* Použitá pracovní metoda není vhodná na kvantitativní vyhodnocování obsahu Try; AAA je takto pouze schopen zachytit jeho přítomnost na chromatogramu ve formě zápisu stopového množství.

\*\* NH<sub>3</sub> se běžně na AAA 6020 kvantitativně nevyhodnocuje.

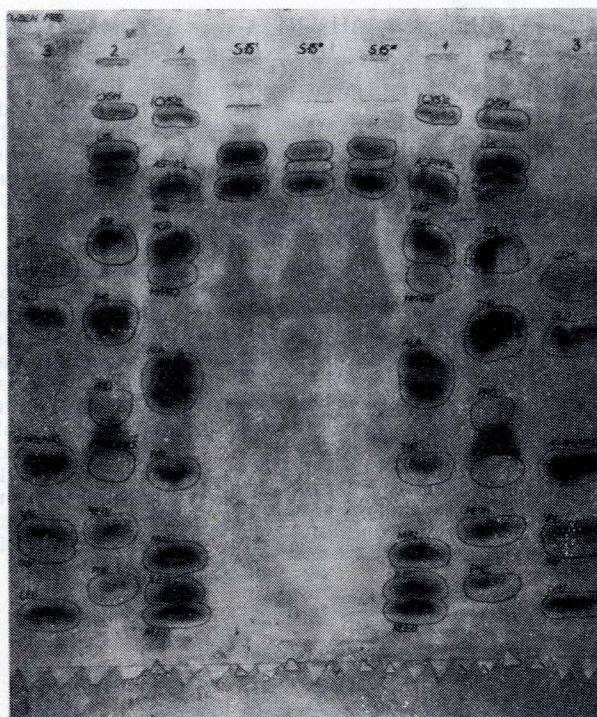
\*\*\* Aminokyseliny

Třetím příkladem je stanovení aminokyselin v kyselém hydrolyzátu varem koagulovatelných látek extraktu 12° světlého piva Staropramen. Rovněž zde jsme použili výše popsané metodiky izolace aminokyselin. Získané výsledky jsou uvedeny v tab. 2.

Toto jsou podle mechanické a fyzikálně chemické odlišnosti vzorků tři typické analýzy aminokyselin při praktickém použití AAA 6020. Ve sladařském a pivovarském výzkumu je možností metodicky výhodného a ekonomicky efektivního použití AAA 6020 a jemu podobných typů mnoho, rovněž tak v jiných odvětvích průmyslu fermentačních výrob a potravinářství vůbec.

#### Souhrn

V předložené práci je technicky a funkčně charakterizován automatický analyzátor aminokyselin čs. výroby typ 6020 a ověřena jeho přesnost stano-



Obr. 7. Srovnávací papírový chromatogram ionexové frakce bazických aminokyselin zakvašené 10° světla mladiny v 5., 10. a 15. dnu kvašení při teplotě 6 ± 1°C.

Význam symbolu a podmínky chromatografie stejné jako u obr. 6.

vení jednotlivých ze 17 aminokyselin standardní směsi. V různých typech vzorků je použita a doporučena metodika ionexové izolace a frakcionace volných forem aminokyselin ze tří typově odlišných vzorků, tj. ze sladu, dále ze sladiny, mladiny a piva a konečně z kyselých hydrolyzátů potenciálních zákalotvorných komponent extraktu piva, a ověřena jejich přesnost. Použitím této metodiky se dosahuje u uvedeného analyzátoru vysoké reprodukovatelnosti analytických hodnot.

Lektoroval Doc. Ing. J. Davídek, DrSc.

#### Literatura

- [1] CLARK, M. E.: Analyst **93**, 1967, 810
- [2] HAIS, I. M. - MACEK, K.: Papírová chromatografie, NČSAV, Praha 1954
- [3] HAIS, I. M. - MACEK, K.: Papírová chromatografie, NČSAV, Praha 1959
- [4] HANNIG, K.: Clinica Chimica Acta **4**, 1959, 51
- [5] KARLSON, P.: Základy biochemie, Academia Praha 1965
- [6] KUROSOKY, A. - BARS, A.: J. Inst. Brew. **74**, 1968, 200
- [7] LÄBLER, L. - SCHWARZ, V. a kol.: Chromatografie na tenké vrstvě, Praha ČSAV, 1935
- [8] LÍKAŘ, O.: Statistické metody v laboratorní práci, SNTL Praha 1957
- [9] MARINELLI, L. - HECKEL, M. - WHITNEY, D.: Proc. ASBC 1967 : 37
- [10] MÄNDL, B. - WULLINGER, F. - WAGNER, D. - PIENDL, A.: Brauwissenschaft **23**, 1970 : 142
- [11] MÄNDL, B. - WULLINGER, F. - WAGNER, D. - PIENDL, A.: Brauwelt **109**, 1939 : 824
- [12] MOŠTEK, J.: Analytické metody ke cvičení z kvasné chemie a technologie, I. Sladařství a pivovarství, SNTL Praha 1966
- [13] NEILANDS, J. B. - STUMPF, P. K.: Úvod do enzymologie, NČSAV Praha 1961
- [14] OLSEN, A.: Wall. Lab. Commun. XXXIII, 1970 : 19
- [15] PIERCE, J. S.: Proc. Biochem. **1**, 1963 : 412
- [16] SPECKMANN, D. - STEIN, W. - MOORE, S.: Anal. Chem. **30**, 1958 : 1190
- [17] THOMPSON, I. F. - GERING, R. K. - MORRIS, C. I.: Anal. Chem. **31**, 1959 : 1028