

Pivovarství a sladařství

Praktické poznatky o významu sledování obsahu aminokyselin a aminodusíku při výrobě piva

663.41:547.466

Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, CSC., Ing. IVANA ČERNÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Do redakce došlo 24. února 1972

V dříve publikovaném sdělení jsme připomenuli význam obsahu a kvalitativního složení aminokyselin v mladině pro proces výroby piva a jeho senzitivní vlastnosti [1]. Studium aminokyselin je věnována stále větší pozornost vzhledem k jejich mnohostrannému významu v sladařské a pivovarské technologii. Proto se hledají nové účelné metody pro jejich stanovení. Ve VÚPS jsme zhodnotili exaktní, kvalitativní a kvantitativní stanovení aminokyselin na automatickém analyzátoru československé výroby typ AAA 881 [2]. Dále jsme prověřili různé metody pro určení celkového množství aminodusíku. Jde o jednoduchá stanovení, která vzhledem k jejich menší náročnosti na vybavení jsou přístupná i pro běžné kontrolní laboratoře.

V tomto článku, který na uvedené práce úzce navazuje, chceme na základě praktických příkladů a experimentálních výsledků zdůraznit význam sledování skladby a množství aminokyselin při výrobě piva.

Změny aminokyselin při rmutování

V průběhu rmutování přecházejí do roztoku extraktivní látky ze sladu. Přitom se uplatňují jejich fyzikálně chemické vlastnosti, jako je rozpustnost při určité teplotě, pH a enzymové reakce, jimiž se štěpí výšmolekulární látky na nižšmolekulární, které jsou stálejší v roztoku a vhodné pro metabolické přeměny při kvašení.

Hydrolytické štěpení škrobu v dextriny, maltózu a jiné cukry probíhá při rmutování výlučně působením komplexu amyláz. Tyto enzymy vznikají při klíčení ječmene a aktivují se podle koncentrace a podle průběhu zcukření při rmutování. Množství zkvasitelných cukrů a ostatních štěpných produktů škrobu tvoří základní složky extraktu mladiny. Jsou závislé nejen na jejich množství v použitém sladu, ale i na podmínkách rmutování. Na rozdíl k tomu množství rozpustného dusíku a aminokyselin

v mladině odpovídá původnímu obsahu jmenovaných látek v ječmeni, který se použil ke sladování, podmínkám sladování a méně způsobu rmutování. Jinými slovy koncentrace nejjednodušších dusíkatých látek v mladině, tzn. aminokyselin, je v porovnání s cukry méně závislá na průběhu příslušných enzymových reakcí při rmutování.

Změny obsahu dusíkatých látek při rmutování a chmelovaru jsme sledovali u řady dvanáctiprocentních sladových várek připravených ze stejných surovin s různou teplotou vstříčky od 18° do 62 °C. Výsledky analýz jsou v tabulce 1 a 2.

Tabulka 1. Změny množství aminokyselin při rmutování — várka se studenou vstříčkou

Amino- kyselina mg/100 ml	Vstříčka 18 °C	I. rmut	II. rmut	Předek	Horká mladina	Studená mladina
Lysin	7,98	18,42	26,20	28,86	11,35	14,73
Histidin	6,06	11,26	14,04	17,24	5,96	16,49
Arginin	12,12	27,66	28,24	35,39	16,42	16,84
Kyselina cysteová	—	—	—	—	—	—
Kyselina asparagová	6,89	8,88	11,02	11,86	5,43	5,98
Threonin	—	—	—	—	—	—
Serin	17,70	32,92	39,36	34,57	18,61	13,51
Kyselina glutamová	9,15	10,76	13,94	12,85	6,56	6,98
Prolin	58,31	49,80	119,82	85,61	42,75	38,80
Glycin	2,21	4,56	6,05	6,31	2,68	3,27
Alanin	7,26	12,07	24,59	18,32	8,27	9,68
Cystin 1/2	—	—	—	—	—	—
Valin	7,79	15,54	21,80	28,09	9,85	12,71
Methionin	1,92	9,73	11,16	7,40	4,98	4,10
Isoleucin	4,68	15,26	13,19	11,47	6,49	7,21
Leucin	7,43	21,72	24,05	24,28	11,36	12,78
Tyrosin	7,09	9,42	15,71	22,97	7,02	7,69
Fenylalanin	9,49	13,82	20,82	24,22	11,27	11,55
Extrakt %	2,92	14,82	19,72	17,14	12,38	12,49
Maltóza g/100 ml vzorku	1,37	10,77	13,23	11,56	8,26	8,30
Celkový dusík mg/100 ml vzorku	74,34	111,27	142,43	125,63	85,37	84,31

Tabulka 2. Změny množství aminokyselin při rmutování — várka s teplou vystírkou

Amino- kyselina mg/100 ml	Vystírka 62 °C	I. rmut	II. rmut	Předek	Horká mladina	Studená mladina
Lysin	8,98	8,67	16,53	9,58	9,51	10,75
Histidin	5,98	6,11	12,60	5,88	8,33	5,76
Arginin	16,36	22,42	31,66	14,61	14,85	14,74
Kyselina cysteová	—	—	—	—	—	—
Kyselina asparagová	5,16	5,94	6,99	7,48	4,78	5,32
Threonin	—	—	—	—	—	—
Serin	20,87	19,31	19,15	22,04	11,87	11,40
Kyselina glutamová	7,90	8,33	5,93	10,68	6,94	7,34
Prolin	55,87	49,39	51,90	55,11	35,70	38,81
Glycin	1,96	2,57	3,68	3,23	2,23	5,34
Alanin	6,92	7,66	5,94	9,11	6,73	7,78
Cystin (1/2)	—	—	—	—	—	—
Valin	9,70	10,65	11,88	13,91	8,72	10,23
Methionin	2,38	4,85	5,60	4,18	3,70	3,91
Isoleucin	5,54	7,43	8,38	7,58	5,70	5,90
Leucin	8,53	10,37	12,57	13,20	9,10	9,99
Tyrosin	5,79	7,45	8,15	16,15	5,85	7,46
Fenylalanin	10,57	9,77	15,88	20,19	7,87	12,78
Extrakt %	11,42	17,17	18,79	16,51	12,41	12,49
Maltóza g/100 ml vzorku	8,39	10,32	12,17	10,83	7,94	8,03
Celkový dusík mg/100 ml vzorku	92,70	103,32	123,99	112,67	78,37	76,79

Zjistili jsme, že při zpracování sladů běžné kvality dekokčním dvourmutovým postupem nelze jednoznačně prokázat příznivý účinek tzv. peptonizační teploty mezi 40 až 50 °C na zvýšení koncentrace rozpustného dusíku a jednotlivých aminokyselin v mladině. Bohatší množství dusíkatých látek v roztoku ve studené vystírce souvisí s jejich fyzikálně chemickými vlastnostmi. Dusíkaté látky se rychleji extrahují ze sladového šrotu než cukry a další složky extraktu, které přecházejí do roztoku až v pozdějším stadiu rmutování při vyšších teplotách. Jak již bylo řečeno, děje se to ve značné závislosti na stupni rozštěpení škrobu enzymy. Z praktického hlediska je důležité, že při rmutování se vyrovnává množství dusíkatých látek u várek s různou teplotou vystírky na stejnou hodnotu. Tuto skutečnost lze vysvětlit tím, že při rmutování působí současně dva faktory na rovnováhu dusíkatých látek v roztoku. V počátcích rmutování při teplotě vystírky do 50 °C proběhne kromě rozpouštění i určité štěpení výšemolekulárních dusíkatých látek, protože se uplatní účinek aktivní peptidázy zbylé ve sladu. Působením tohoto enzymu vznikne určité množství aminokyselin. Do 70 °C působí sladová proteináza, která štěpí bílkoviny za vzniku peptidů a polypeptidů. Současně však od 50 °C koagulují z roztoku termolabilní dusíkaté látky. Rozhodující je, že se v mladině ustaví určitá rovnováha mezi množstvím celkového dusíku a aminodusíku. Při vyšší teplotě vystírky, tzn. nad 50 °C, je prakticky vyloučena účinnost peptidázy. Také doba extrakce a koagulace výšemolekulárních dusíkatých látek v prvním rmutu je kratší.

Je nutno připomenout, že čím je nižší teplota vystírky, tím pomalejší je rozpouštění extraktivních látek sladu a účinek sladové peptidázy není proto ve vzorku prvního rmutu s nízkou hodnotou extraktu zřetelně prokazatelný.

Poměr aminodusíku k celkovému dusíku ve vzorcích z druhého rmutu je u várek s různou teplotou vystírky již prakticky stejný. Z tabulek 1 a 2 je patrné, že rozdílná teplota vystírky od 18° do 62 °C neovlivní množství některých aminokyselin v mladině. Koncentrace v pivovarských meziproduktech převládající aminokyseliny — prolinu — je při nízké teplotě vystírky vysoká. Při rmutování se všeobecně snižuje obsah této aminokyseliny v poměru k ostatním aminokyselinám. Stupeň snížení závisí na původním obsahu prolinu ve vystírce. V mladině se potom ustálí rovnováha koncentrace prolinu a ostatních aminokyselin na určité obdobné hodnotě.

Na snížení obsahu výšemolekulárních dusíkatých látek při rmutování a zvláště při chmelovaru má spíše vliv stupeň jejich koagulace než štěpení katalyzované proteolytickými enzymy sladu. O změně poměru nízkomolekulárních dusíkatých látek při rmutování a vaření mladiny z hlediska kvalitativního složení informuje množství volných aminokyselin a jejich celkový obsah ve vzorku po kyselé hydrolyze.

V tabulce 3 jsou uvedeny výsledky analýz aminokyselin v původních a hydrolyzovaných vzorcích odebíraných při rmutování a chmelovaru 12% mladiny. Z těchto údajů lze sledovat zastoupení jednotlivých aminokyselin ve výšemolekulárních dusíkatých látkách při rmutování. Ze změny poměru volných aminokyselin k jejich celkovému množství hydrolyzátu je patrný stupeň štěpení a koagulace výšemolekulárních dusíkatých látek.

Ve vzorku povařeného rmutu volné báze aminokyselin (lysin, histidin, arginin) odpovídají přibližně 50 % z celkového jejich množství v hydrolyzátu.

Podíl volných kyselých aminokyselin (Asp, Thr, Ser, Glu, Pro) k celkovému jejich množství po kyselé hydrolyze vzorku není jednoznačný. Například kyselina glutamová se vyskytuje ve značné míře ve výšemolekulárních dusíkatých látkách. Svědčí o tom její vysoká hodnota v hydrolyzátu a malé množství jako volné aminokyseliny v původním vzorku. Pravděpodobně se odštěpuje jen velmi málo této aminokyseliny při sladování a rmutování z výšemolekulárních dusíkatých látek, ačkoliv kyselina glutamová tvoří základní stavební jednotku bílkovin kvasinek [4].

Volné neutrální aminokyseliny (Gly, Ala, Val, Met, Leu, Ileu, Tyr, Phe) v prvním rmutu představují přibližně 40 až 60 % z celkového jejich množství v hydrolyzátu, ovšem s menšími výjimkami.

V průběhu rmutování v souvislosti s rozpouštěním extraktivních látek ze sladu se zvyšuje jak celkové množ-

Tabulka 3. Analýza volných aminokyselin a celkových aminokyselin po kyselé hydrolyze vzorků

Aminokyselina mg/100 ml vzorku	I. rmut			II. rmut			Mladina		
	Hydrolyzát	Původní stav	% ×	Hydrolyzát	Původní stav	% ×	Hydrolyzát	Původní stav	% ×
Lysin	36,61	18,42	50,31	45,36	26,20	57,76	26,85	14,73	54,87
Histidin	21,49	11,26	52,40	29,38	14,04	47,78	16,99	16,49	97,05
Arginin	46,53	27,66	59,44	—	28,24	—	30,85	16,84	54,58
Asparagová kyselina	58,24	8,88	15,25	79,29	11,02	13,90	45,84	5,98	13,04
Serin	43,57	32,92	75,56	60,55	39,36	65,00	31,22	13,51	—
Glutamová kyselina	111,20	10,76	9,67	143,80	13,94	9,69	70,82	6,98	9,57
Prolin	76,93	49,80	64,73	101,67	119,62	117,65	53,48	8,80	72,55
Glycin	30,23	4,56	15,09	40,62	6,05	14,89	22,73	3,27	14,21
Alanin	32,16	12,07	37,53	40,23	24,59	61,12	23,86	9,88	40,56
Cystin	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Valin	27,12	15,54	57,30	41,41	21,80	52,64	18,98	12,21	64,33
Methionin	23,00	9,73	42,31	7,65	11,16	145,88	—	4,10	—
Isoleucin	36,31	15,26	42,02	26,23	13,19	50,28	14,11	7,21	51,09
Leucin	28,23	21,72	82,81	46,34	24,05	51,90	—	14,78	—
Tyrosin	36,31	9,46	26,05	58,96	15,71	26,64	25,23	7,69	30,47
Fenylalanin	27,71	13,82	50,42	37,86	20,82	55,00	17,49	11,55	66,03

× — % volných aminokyselin z celkového množství v hydrolyzátu vzorku

ství aminokyselin v hydrolyzátu, tak i ve volné formě. Na změně poměru volných aminokyselin k celkovému jejich množství se podílí koagulace výšemolekulárních látek při povarování rmutů. V mladině připadá větší podíl na volné aminokyseliny než na vázané aminokyseliny. Snížení obsahu celkových aminokyselin je způsobeno vysrážením tříslovlkovinových komplexů při chmelovaru.

Na základě zjištěných poznatků přikládáme se k názoru, že tzv. peptonizační teplota mezi 40 až 50 °C má menší význam pro zvýšení rozpustného dusíku, a to zvláště aminokyselin při zpracování sladů běžné kvality a klasickém způsobu rmutování, než jaký se jí připisoval dříve. Totéž lze konstatovat o vlivu studené vystírky, pokud se působení nízké teploty značně neprodlouží. Teploty mezi 45—55 °C jsou však optimální i pro jiné enzymy než proteolytické. Peptonizační teplota stimuluje aktivitu fosfatáz při štěpení organických sloučenin obsahujících fosfor a podporuje rozklad viskózních látek glukánázou. Proto všeobecně používaný dvourmutový postup s teplotou vystírky maximálně 50 °C vyhovuje všem požadavkům, zvláště při zpracování sladů s nižším stupněm rozluštění. Naopak pro velmi dobře rozluštěné slady může být vhodné tzv. „krátké“ rmutování s výběrem odpovídajících vysokých počátečních teplot, čímž se omezí aktivita většího komplexu sladových enzymů, nejen proteolytických. Obvykle se pro tento případ doporučuje počáteční teplota mezi 58 až 65 °C. Poměr nízkomolekulárních a vysokomolekulárních dusíkatých látek je dán jejich složením v použité surovině a lze ho do určité míry vhodně upravit intenzitou povarování rmutů a chmelovaru. Působení proteolytických enzymů při rmutování má již druhořadý význam.

Význam aminokyselin a aminodusíku při výrobě surogovaných pív

Význam sledování množství aminokyselin a aminodusíku v mladině se potvrzuje zvláště v současné době, kdy se značně uvolňuje používání surogátů, ať již z nedostatku surovin, nebo pro zajištění ekonomičtější výroby. Přitom eventuelní potíže při kvašení se připisují změně vlastností várečných kultur, zatímco je nutno hledat příčiny především v dlouhodobě pozměněném složení mladiny.

Jako náhražky za slad se nejčastěji používají cukr a nesladované obilniny, které samy o sobě nepřispívají k zajištění optimálního obsahu aminodusíku, potřebného pro kvasinky při hlavním kvašení. Při nedostatku aminodusíku se může stát, že kvasinky vzhledem ke změněným podmínkám jejich reprodukce a metabolických procesů ztrácejí za určitou dobu základní technologické vlastnosti, jako je schopnost prokvašovat dostatečně mladinu nebo sedimentovat. Platí zásadní vztah mezi množstvím aminokyselin v mladině, její zkvasitelností a výtěžností kvasinek. Jak jsme již uvedli [1. c. 1], japonský autor Yoshida zjistil, že obsah volných aminokyselin v mladině by měl být vyšší než 140 mg/1000 ml mladiny jako celkového α -aminodusíku k zajištění absorbovaného množství 100 mg/1000 ml. Ovšem uplatňuje se vliv složení mladiny, druhu kvasnic a podmínek kvašení. Němečtí autoři uvádějí požadavek, že mladina má mít 60 mg dusíku a 20 mg α -aminodusíku na 1 % extraktu a 1 litr. Pro 12% mladiny je to 720 mg dusíku a 240 mg α -aminodusíku na 1 litr.

Na základě sledování průběhu hlavního kvašení, stupně prokvašení, výtěžnosti kvasnic a jejich technologických vlastností znovu po nasazení do provozu jsme ve VÚPS zjistili, že při výrobě českých pív jsou tyto požadavky na množství aminodusíku v mladině:

1. 10% mladiny sladové — minimálně 150—180 mg aminodusíku na 1 litr,
2. 10% mladiny surogované — minimálně 130—150 mg aminodusíku na 1 litr,

3. 12% mladiny — minimálně 220—250 mg aminodusíku na 1 litr. Určené hranice platí pro metodiku stanovení aminodusíku kyselinou 2,4,6-trinitrobenzensulfonovou [1.c.2]. Při použití jiných metod, které dávají vzhledem k větší chybě stanovení vyšší výsledky, musí být požadované hranice na aminodusík přiměřeně upraveny.

Je třeba zdůraznit, že normální průběh hlavního kvašení při zajištění uvedených hranic aminodusíku lze zajistit pouze je-li v mladině odpovídající množství zkvasitelných cukrů. Důležitý význam má i množství jednotlivých aminokyselin. Byla vypracována řada klasifikačních systémů pro rozdělení aminokyselin podle množství v mladině a podle míry a rychlosti jejich asimilace pivovarskými kvasinkami svrchními nebo spodními [dříve popsané 1. c. 1]. Zatím nejpodrobnější rozdělení vypracoval Yoshida, který dělí aminokyseliny obsažené v mladině do 9 skupin. Nejdůležitější pro činnost kvasnic jsou aminokyseliny první skupiny — serin, asparagin, glutamin, lysin, threonin, leucin a druhé skupiny B — arginin a izoleucin.

Zjistili jsme, že lze v technologických podmínkách výroby našich pív akceptovat Yoshidův klasifikační systém v plném rozsahu. Dále jsme potvrdili, že stupeň absorpce aminokyselin je v zásadě úměrný původní koncentraci jednotlivých aminokyselin v mladině a není podstatný rozdíl mezi várkami surogovanými a várkami sladovými. Znamená to, že nedosáhne-li se v mladině určitého množství a složení aminokyselin, nedosáhne se změnou druhu kvasnic podstatných rozdílů v průběhu a výsledku kvašení.

Aby se zajistilo obdobné složení mladiny při vysoké surogaci nesladovanými obilovinami, dávkuje se ve varné enzymové preparáty plísňového nebo bakteriálního původu s α -amylolytickým, proteolytickým, popř. cytolytickým účinkem [5]. Tyto přípravky mají zajistit obdobné štěpení vysokomolekulárních látek ječmene jako při sladování. Vychází se z předpokladu, že není možno nahradit rozluštění sladu kvalitativně stejně hodnotným rozluštěním bílkovin ječmene při rmutování. Je známo, že u sladových várek 70 % dusíkatých látek mladiny vzniklo enzymovým štěpením v ječném zrně při sladování. Uprávněno dále, 40 % formolového dusíku v mladině pochází ze sladu a pouze 20 % se může vytvořit při rmutování.

Některými preparáty s proteolytickým účinkem jsme dosáhli u várek s 50 % surogací ječmenem prakticky shodného obsahu jednotlivých aminokyselin a aminodusíku. Při studiu specifického účinku enzymových přípravků jsme zjistili, že se jejich působením celkově zvýší obsah aminodusíku, ale koncentrace nejvíce zastoupené aminokyseliny, prolinu, se v roztoku nezvyšuje. Prolin má výjimečné postavení mezi aminokyselinami v pivovarské technologii. Není za normálních podmínek kvašení pivovarskými kvasinkami asimilována a lze podle jejího obsahu v mladině nebo i v pivě usuzovat na kvalitu použitého sladu, popř. na stupeň surogace cukrem a nesladovanými obilninami.

Z průměrů řady výsledků analýz z várek s různou kvalitou sladu a s odlišným stupněm surogace jsme zjistili tyto hraniční hodnoty pro množství prolinu v mladině:

1. 10% sladové mladiny: 30 mg a více na 100 ml,
2. 12% sladové mladiny 35—45 mg/100 ml.

Jsou-li např. v 10 % mladinách hodnoty — prolinu pod 30 mg/100 ml, znamená to, že se použil slad horší kvality. Při hodnotách ještě nižších, lze usuzovat surogací mladiny. Totéž platí v příslušné relaci k hraniční hodnotě i u 12% mladiny.

V tabulce 4 jsou výsledky analýz aminokyselin v mladině sladové a surogované 50 % ječmenem, které potvrzují, že lze dosáhnout téměř shodného složení amino-

kyselin při aplikaci enzymových preparátů, kromě prolinu.

Tabulka 4. Množství aminokyselin v mladině sladové a surgované 50% ječmene s aplikací enzymových preparátů

Aminokyselina mg/100 ml	Mladina sladová	Mladina surgovaná
Lysin	8,99	6,76
Histidin	6,07	2,00
Arginin	14,87	13,91
Kyselina asparagová	3,95	4,12
Treonin	—	—
Serin	11,07	9,84
Kyselina glutamová	5,66	5,34
Prolin	40,77	19,67
Glycin	2,05	1,87
Alanin	7,48	6,99
Valin	9,98	7,57
Methionin	3,53	3,75
Isoleucin	6,90	3,87
Leucin	10,53	7,93
Tyrosin	9,43	8,34
Fenylalanin	10,55	8,63

Tabulka 5. Analýza volných aminokyselin mladiny — surgace ječným šrotem s úpravou a bez úpravy enzymovými preparáty

Aminokyselina mg/100 ml	Mladina			
	1	2	3	4
Lysin	6,42	4,81	5,22	4,88
Histidin	2,57	1,03	1,02	1,44
NH ₃	—	—	—	—
Arginin	12,90	8,69	9,51	8,87
CySO ₃ H	—	—	—	—
Kyselina asparagová	4,95	4,69	3,16	4,56
MeSO ₂	—	—	—	—
Threonin	—	—	—	—
Serin	3,48	8,35	8,66	8,37
Kyselina glutamová	4,92	3,73	4,62	3,62
Prolin	31,28	21,80	15,73	19,01
Glycin	2,26	1,66	2,04	1,99
Alanin	7,77	5,53	6,07	5,70
1/2 cystin	—	—	—	—
Valin	9,00	7,38	6,28	7,63
Methionin	3,17	2,45	2,11	2,52
Isoleucin	5,07	3,44	3,31	3,71
Leucin	9,46	6,26	7,27	7,07
Tyrosin	8,65	3,88	3,61	5,22
Fenylalanin	10,31	5,73	4,20	5,91
α-aminodusík	8,764	6,874	6,876	7,112
Aminodusík	15,822	11,803	11,116	11,536
Aminodusík met. TNBS	28,570	18,840	18,010	20,270
Extrakt %	10,33	10,34	10,22	10,52
Celkový dusík mg/100 ml	76,76	72,28	67,21	80,69

Tabulka 6. Zastoupení těkavých látek v pivech vyrobených z mladiny, jejichž analýza je v tabulce 7

Sloučeniny eluční křivka č.	% zastoupení z celkové plochy			
	Pivo č. 1	Pivo č. 2	Pivo č. 3	Pivo č. 4
Octan etylnatý	1	34,6	29,9	24,5
Mravenčan etylnatý	2	13,0	10,5	5,0
Octan izobutylatý	3	0,8	1,0	0,4
Izobutanol	4	—	0,7	0,4
Octan izoamylatý	5	1,0	1,0	1,8
Neidentifikováno	6	—	—	1,1
Izopentanol	7	6,8	7,2	9,8
Kaproman etylnatý	8	1,8	1,2	4,5
Kaprylan etylnatý	9	0,7	1,5	1,7
Kyselina octová	10	—	—	1,7
Neidentifikováno	11	—	—	2,1
Pravděpodobně nižší	—	—	—	—
mastné kyseliny	12	1,3	1,7	1,5
Kyselina kapronová	13	1,5	2,3	3,1
β - fenylacetát	14	—	—	—
β - fenyletanol	15	9,8	7,5	8,9
Kyselina kaprylová	16	9,9	14,0	8,6
Kyselina kaprinová	17	5,9	4,2	2,6
Neidentifikováno	18	6,0	8,1	4,8
Celková plocha mm ²	7 023,0	9 834,0	10 180,2	13 240,0
Pivo č. 1 — 100% slad	—	—	—	—
Pivo č. 2 — 61 % slad + 39 % ječný šrot	—	—	—	—
Pivo č. 3 — 50 % slad + 50 % ječný šrot + 0,75 % enzymový preparát (α-amyláza)	—	—	—	—
Pivo č. 4 — 50 % slad + 50 % ječný šrot + 0,075 % směsný enzymový preparát (α-amyláza + proteináza)	—	—	—	—

Dále jsme zjistili, že působením proteolytických preparátů bakteriálního původu v porovnání s proteolytickými enzymy sladu se při rmutování zvýší v roztoku více koncentrace aminokyselin pomaleji asimilovatelných kvasinkami, zatímco u sladových mladiny je poněkud vyšší množství aminokyselin rychle zužitkovaných kvasinkami při hlavním kvašení.

Připomínáme-li význam aminokyselin při výrobě piva, je nutno zdůraznit jejich vliv na tvorbu látek působících na chuť a vůni piva. Surované várky, které měly nižší obsah celkového dusíku a aminodusíku v mladině, vyznačovaly se vyšší koncentrací těkavých látek [vyjádřených celkovou plochou jednotlivých vrcholů plynového chromatogramu] v odpovídajících pivech. Tento vztah je patrný z analýz v tabulce 5 a 6. Aminokyseliny leucin, valin, isoleucin a alanin mají souvislost se složením karbonylových sloučenin v pivě. Při nedostatku jmenovaných aminokyselin syntetizují je kvasničné buňky a jako vedlejší produkty mohou vzniknout n-propylalkohol, butylalkohol, izobutylalkohol, oba izoamylalkoholy, acetoin, diacetyl a 2,3-pentadion. Přitom zvýšení koncentrace valinu v mladině způsobuje potlačení tvorby diacetylu, zatímco isoleucin ji stimuluje. Všeobecně se předpokládá, že nízký obsah aminokyselin v mladině může podpořit zvýšenou tvorbu diacetylu. Jeho negativní význam na senzorycké vlastnosti pív není nutno pivovarníkům zdůrazňovat. Proto je třeba při vyšší surogaci zaměřit pozornost nejen na dosahované ekonomické výsledky, techno-

Tabulka 7 Analýza sladové mladiny bez aplikace a s aplikací enzymových preparátů (mladina 2 s přidáním enzymů)

Analýza	Mladina	
	1	2
Měrná hmota kg/l	1,04159	1,04105
Extrakt %	10,38	10,25
Redukující látky:	—	—
Maltóza g/100 g	6,93	6,07
Dextriny g/100 g	1,82	3,02
Barva ml 0,1 N ₁₂ /100 ml	0,55—0,80	0,55—0,80
Viskozita cP	2,15	2,06
pH	5,35	5,45
ITT s	120	90
(NH ₄) ₂ SO ₄ ml	0,40	0,35
Celkový dusík mg/100 g	79,36	94,78
Lundinova frakce A mg	15,15	18,35
%	19,09	17,25
B mg	12,67	17,69
%	15,97	18,66
C mg	51,54	60,72
%	64,94	64,06
Varem koagul. dusík mg/100 g	2,63	2,97
α-aminodusík mg/1 000 g	215,08	272,32
Třísloviny mg/1 000 g	146,51	170,68
Antokyanogeny mg/1 000 g	71,04	80,21
Antokyanogeny nm	0,631	0,683
Hořké látky mg/1 000 g	125,45	115,27
Izosloučeniny mg/1 000 g	45,03	45,10
Dosažitelné prokvašení %	74,83	75,51

Tabulka 8. Množství volných aminokyselin v sladové mladině bez aplikace a s aplikací enzymových preparátů (mladina 2 s přidáním enzymů).

Aminokyselina mg/100 ml	Mladina	
	1	2
Lysin	8,88	22,01
Histidin	6,07	9,10
NH ₃	—	—
Arginin	14,87	37,32
CySO ₃ H	—	—
Kyselina asparagová	3,95	5,33
Me SO ₂	—	—
Threonin	—	7,59
Serin	11,07	19,70
Kyselina glutamová	5,66	9,98
Prolin	40,77	55,80
Glycin	2,05	4,19
Alanin	7,48	15,00
1/2 cystin	—	—
Valin	9,98	16,60
Methionin	3,53	8,57
Isoleucin	6,90	8,98
Leucin	10,53	19,65
Tyrosin	9,43	17,53
Fenylalanin	10,55	19,74

logický průběh, ale volit takové postupy, popř. i s aplikací enzymových preparátů, které obohacují mladinu látkami důležitými pro tvorbu chuťových vlastností pív.

Jsou-li k dispozici levné enzymové přípravky, je možné jejich dávkováním ve varně zlepšit průběh zcukření, scezování a celkové složení mladiny při zpracování sladů horší kvality. V tomto případě se používají nižší dávky enzymů než u várek surogovaných.

Z výsledků analýz v tabulce 7 a 8 je patrný vliv α -amylolytického a proteolytického preparátu bakteriálního původu na zvýšení množství aminokyselin v sladové mladině.

Souhrn

Autorky článku zdůrazňují na základě experimentálních výsledků mnohostranný význam aminokyselin jak pro vlastní technologický postup výroby, tak i pro kvalitu piva. Zásadní množství aminokyselin v mladině pochází ze sladu a nelze proto potvrdit význam tzv. „peptonizační teploty“ pro zvýšení množství rozpuštěného dusíku a ani aminokyselin v mladině. Při rmutování se ustavuje určitá rovnováha mezi celkovým dusíkem a aminodusíkem. Vliv teploty vystírky na složení dusíkatých látek při zpracování sladů běžné kvality není podstatný. Určité změny poměru výšemolekulárních látek k nížemolekulárním se dosahuje spíše koagulací při povařování rmutů a při chmelovaru než působením proteolytických enzymů sladu při rmutování. Při zvýšené surogaci nesladovými obilninami lze dosáhnout potřebného množství aminodusíku v mladině dávkováním vhodných enzymových preparátů ve varně. Má-li kvašení probíhat rovnoměrně, je nutné, aby mladina pro výrobu 10% výčepních pív měla minimálně 130 až 180 mg aminodusíku a 12 % mladiny 220 až 250 mg v 1 litru. Tyto údaje platí za předpokladu, že je v mladině dostatečné množství zkvasitel-

ných cukrů a odpovídající kvalitativní složení aminokyselin. Při nízké koncentraci aminodusíku v mladině se vytváří více vedlejších produktů kvašení, které mohou nepříjemně ovlivnit chuť a vůni piva. Naopak však při nadbytku některých aminokyselin mohou rovněž vznikat nežádoucí produkty kvašení. Je tedy nutné, aby koncentrace mnoha aminokyselin v mladině byla v určitých mezích. Výjimečné postavení mezi aminokyselinami, které se uplatňují při výrobě piva, má prolin. Tato aminokyselina se v zásadě nezúčastňuje metabolismu kvašení. Podle jejího obsahu v mladině, popř. pivě, lze usuzovat na kvalitu použitého sladu nebo na stupeň surogace. Autorky zjistily, že je-li ve sladové 10% mladině prolinu méně než 30 mg a 12 % mladiny méně než 35 až 48 mg/100 ml, lze předpokládat, že se použil slad horší kvality. Obsahuje-li mladina prolinu ještě méně, lze usuzovat na použití vysoké surogace cukrem nebo nesladovanými obilninami.

Ukazuje se, že stanovením aminodusíku v mladině lze blíže určit některé příčiny závad při kvašení, které se často vyskytují u surogovaných várek a nesprávně se přičítají pouze kvalitě použitých kvasnic.

Literatura

- [1] BASAŘOVÁ G. - ČERNÁ I.: Význam a změny obsahu aminokyselin při výrobě piva. Kvasný průmysl, **18**, 1972, s. 55.
- [2] BASAŘOVÁ G. - ČERNÁ I.: Výběr a aplikace fyzikálně-chemických a biochemických metod pro hodnocení meziproductů a piva, Závěrečná zpráva VÚPS, č. 9/15, 1971
- [3] BASAŘOVÁ G. - ČERNÁ I.: Metody stanovení volných aminokyselin a aminodusíku v pivovarství. Kvasný průmysl **18**, 1972, s. 78.
- [4] JONES M. - PRAGNELL M., PIERCE J. S.: Absorption of Amino Acids by Yeast from a Semi-defined Medium Simulating Wort. Journ. Inst. Brewing, **75**, 1969, s. 520
- [5] BASAŘOVÁ G.: Používání surogátů a enzymových preparátů při výrobě piva I. část. Kvasný prům. **17**, 1971, s. 78—81.