

Obsah α -aminodusíku v mladínách v NDR a technologické možnosti jeho ovlivnění

863.41:543.846
863.444:546.17

Dr.-Ing. G. ANNENMÜLLER, Sektion Nahrungsgüterwirtschaft/Lebensmitteltechnologie der Humbolt-Universität zu Berlin, Bereich Gärungstechnologie

Předneseno na Pivovarských dnech v Mariánských lázních 28. a 29. 4. 1977

1. Význam obsahu α -aminodusíku

Aminokyseliny jsou vedle cukrů jako nejjednodušší stavební látky bílkovin kvasničných buněk nejdůležitější živinou kvasinek. Mají aktivní podíl na jejich látkové a stavební přeměně (metabolismu). Aminokyseliny jsou klíčovými substancemi syntézy bílkovin a enzymů, a tak spolurozhodují při průběhu veškeré látkové přeměny kvasinek. Syntéza a štěpení aminokyselin při tom úzce souvisí s tvorbou vedlejších produktů kvašení, jako jsou např. vyšší alkoholy, diketony a estery.

Jaký význam měl obsah α -aminodusíku v mladínách k zakvašení na technologický postup při srovnávacích pokusech s kvašením a dokvašováním ve velkoobjemovém tanku, mohli jsme průkazně ukázat na následujících výsledcích [2].

1.1 Vliv na přírůstek kvasinek

Výsledky jsou zkráceně znázorněny v tab. 1. Je možno předpokládat, že zákvasná dávka 1 litru hustých kvasnic/hl poskytuje koncentraci asi $30 \cdot 10^6$ kvasničných buněk/ml. Průměrné normální trojnásobné množení kvasinek odpovídá při této výchozí koncentraci přírůstku asi $60 \cdot 10^6$ buněk/ml.

Z tab. 1 je patrné, že tohoto normálního pomnožovacího koeficientu lze dosáhnout teprve při vyšší koncentraci α -aminodusíku než 18 mg/100 ml mladiny.

1.2 Vliv na prokvašení

Výsledky jsou zkráceně znázorněny v tab. 2. Lze z nich poznat, že souběžně s pomnožováním kvasinek je zřetelně ovlivněno též prokvašení. Jestliže při obsahu α -aminodusíku 14 mg/100 ml byl zkvasitelný zbytkový extrakt ΔE s pátý den kvašení ještě 3 až 4 %, byl při obsahu α -aminodusíku 18 mg/100 ml pátý den kvašení jen 0,5 %. Zjištěné výsledky průměrného prokvašení potvrzují rov-

Tab. 1. Vliv obsahu α -aminodusíku v mladínách na přírůstek kvasnic ve velkoobjemovém tanku

Obsah α -aminodusíku ¹⁾ v mladíně k zakvašení ($p = 12,5\%$) [mg/100 ml mladiny]	Přírůstek kvasnic ²⁾ ve velkoobjemovém tanku [10^6 buněk/ml]
14,0	30
16,0	40
18,0	55

1) Určeno metodou INBS

2) Určeno z rozdílu mezi maximální koncentrací v homogenním kvasném tanku [asi 3. den kvašení] a koncentrací kvasnic v zakvašené mladíně.

Tab. 2. Vliv obsahu α -aminodusíku v mladínách na prokvašení ve velkoobjemovém tanku

Obsah α -aminodusíku ¹⁾ v mladíně k zakvašení ($p = 12,5\%$) [mg/100 ml mladiny]	Průměrné zakvašení od zakvašení do 5. dne kvašení [kg skuteč. extraktu/100 hl. 24 h]	Zbylý zkvasitelný extrakt 5. dne kvašení [%]
14,0	125	3,0—4,0
16,0	140	1,5—2,0
18,0	160	0,50

1) Určeno metodou TNBS

2) Rozdíl mezi údajem sacharometru v mladém pivu 5. dne kvašení při konečném prokvašení: $\Delta E_{2d} = E_{2d} \text{ 5. den} - E_{kon}$

než značný vliv obsahu α -aminodusíku na průběh zkvašování a tím i na produktivitu celého postupu.

Tyto hodnoty, které ovšem platí konkrétně jen pro do-
tyčný pokusný provoz, potvrzují význam obsahu α -aminodusíku v mladíně pro normální pomnožování kvasnic

a pro plynulé kvašení; oba tyto znaky jsou opět předpokladem normálního dokvašování. Je tu nutno ještě zdůraznit, že dostatečně vysoký obsah α -aminodusíku v mladíně k zakvašení je jediným předpokladem plynulého normálního kvašení.

Podle našich vlastních pokusů je nutno považovat za správné tyto hodnoty u normální mladiny

formolový dusík > 30 mg/l a

obsah α -aminodusíku (FAN) > 20 mg/100 ml (určené podle EBC ninhydrinem) [1].

Tyto směrné hodnoty zcela odpovídají výsledkům známým z mezinárodní literatury. Je-li obsah FAN nižší než 15 mg/100 ml, je třeba vždy očekávat značné potíže při kvašení.

Hladina α -aminodusíku v mladínách v NDR je v současné době při průměrném podílu sladu v sypání 50 až 55 % mezi 14 až 16,0 mg α -aminodusíku/100 ml 11% mladiny. Slad se nahrazuje asi 35 % ječmene a asi 10 až 15 % cukru. Z toho je patrné, že jsme v několika případech již jasně nedosáhli spodní hranice FAN 15,0 mg/100 ml (EBC-ninhydrin). Konstatovali jsme pak známý negativní vliv na chování kvasnic a jakost konečného výrobku.

Tab. 3. Experimentální podmínky

- Podíl surogátu ve rmutu
35 %, popř. 60 % sladovnického ječmene vztaženo na ekvivalent sladu (MGW); MGW pro neodpluštěný sladovnický ječmen: 100 kg sladu \triangleq 125 kg ječmene
- Dávka enzymu
DDR-Brauerenzym podle DDR-Standard TGL 29 166/01 s aktivitou β -glukanázy 1,0 je/mg s celkovou proteolytickou aktivitou 0,5 Te_{Hb}/mg
Enzym se dával s přihlédnutím k viskozitě laboratorní sladové sladiny podle DDR-Standard TGL 29 976 „Rohrfruchtverarbeitung“
- Koncentrace sladiny (pokud není uvedeno jinak)

kg MGW : kg vody = 1 : 4,25
koncentrace předku = 15 %

- Postup rmutování: výhradně infúzní

M I: 20° (30 min) — 35° (60 min) — 50° (60 min) — 63° (60 min) — 74° — 78°
 $\Sigma = 280$ min

M II A: $\downarrow E$
35° (60 min) — 50° (60 min) — 63° (60 min) — 74° — 78°
 $\Sigma = 240$ min

M II B: $\downarrow E$
35° (60 min) — 50° (60 min) — 63° (60 min) — 74° — 78°
 $\Sigma = 240$ min

M III: $\downarrow E$
50° (60 min) — 63° (60 min) — 74° — 78°
 $\Sigma = 180$ min

$\downarrow E$ = dávkování enzymu

- Určení α -aminodusíku: ninhydrinovou metodou podle EBC [1];
Zjištěná standardní (směrodatná) odchylka $S = 0,52$ mg/100 ml

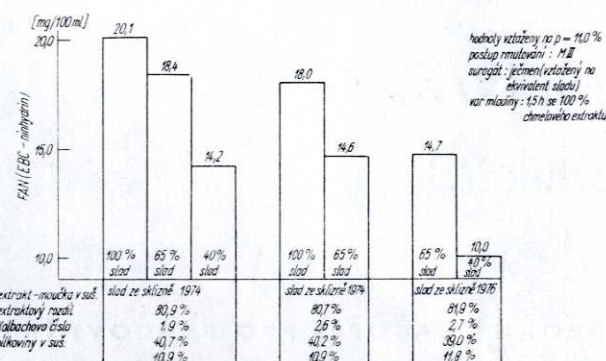
V další části budou sledovány technologické možnosti ovlivnění obsahu α -aminodusíku v mladíně k zakvašení se zřetelem na složení sypání v NDR. Tabulka 3 znázorňuje použité pokusné podmínky.

2. Složení sypání a jakost surovin

2.1 Podíl sladu v sypání

Podíl sladu v sypání má významný vliv na obsah α -aminodusíku v mladínách. Zvýší-li se surogace sladu nesladovaným obilím nebo cukrem, sníží se obsah α -aminodusíku v mladíně. V zásadě stejné výsledky poskytly naše laboratorní a poloprovozní pokusy za reprodukovatelných podmínek; výsledky těchto pokusů jsou znázorněny v tab. 4. Vyplývá z nich dále, že technologicky ještě přijatelné hodnoty α -aminodusíku byly zjištěny jen u velmi dobře rozluštěných sladů (extraktivní rozdíl < 2,0 %) a při surogaci 35 %. Při použití normálně rozluštěných sladů a surogaci 35 % a zvláště při surogaci 60 % nebylo více nebo méně zřetelně dosaženo spodní hranice

Tab. 4. Vliv podílu sladu v sypání na obsah α -aminodusíku v mladíně k zakvašení



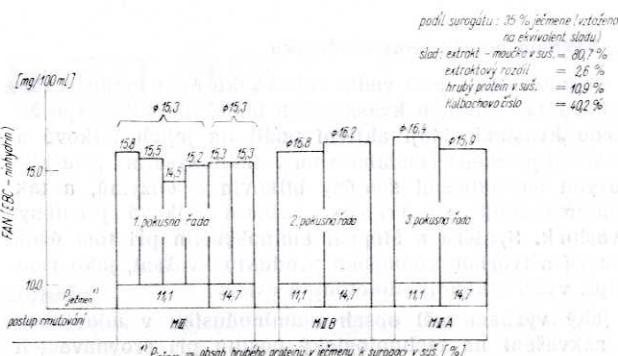
15 mg ve 100 ml. Při těchto pokusech se pracovalo bez přídavku cukru, který by ještě dále snížil podíl α -aminodusíku.

Uvedené výsledky potvrzují dávno známou skutečnost, že nízkomolekulární produkty štěpení bílkovin se tvoří především při sladování a již jen nepatrně při rmutování.

2.2 Obsah původních bílkovin v nesladovaných surovinách

Výsledky pokusů o vlivu původních bílkovin v ječmenech použitých jako náhražky na obsah α -aminodusíku v mladíně jsou uvedeny v tab. 5.

Tab. 5. Vliv obsahu hrubého proteinu v surogátu na obsah α -aminodusíku v laboratorních sladinách ($p = 11,0$ %).



Vzájemně byly porovnány dva ječmeny s obsahem bílkovin 11,1 a 14,7 % v suš. s použitím různých infúzních postupů rmutování. Srovnají-li se průměrné hodnoty pokusných řad a přihlédne-li se k možnému kolísání uvnitř pokusných řad (viz jednotlivé výsledky 1. série) a zjištěným standardním odchylkám analytické metody, je nutno pohlížet na zjištěné rozdíly jako na náhodné a nikoli jako na rozdíly způsobené obsahem bílkovin použitého ječmene jako surogátu.

Toto konstatování platí pro všechny rmutovací postupy, jichž se použilo, tj. při použití enzymového preparátu vyrobeného v NDR nemá obsah bílkovin v surovině vliv na obsah nižších produktů štěpení bílkovin.

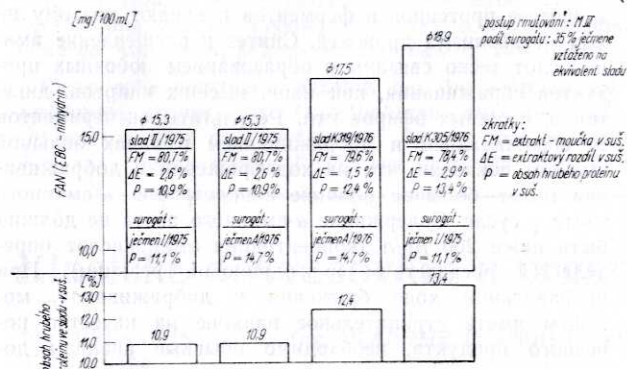
2.3 Vliv jakosti sladu

V tab. 6 jsou znázorněny průměrné výsledky pokusů se slady různé jakosti. Z těchto srovnatelných výsledků je patrné, že s růstem obsahu bílkovin ve sladu zřetelně stoupá obsah α -aminodusíku v mladíně. Z předložených výsledků a s přihlédnutím k dalším výsledkům pokusů, které jsou k dispozici, je jasně patrný též vliv znaku jakosti sladu „extraktivní rozdíl“ na obsah α -aminodusíku

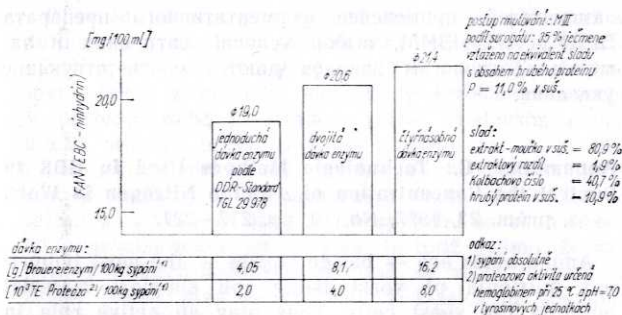
v mladíně. Snížili-li se extraktivní rozdíl sladu, zvýšil se při stejném obsahu bílkovin a při stejném sypání obsah α -aminodusíku v mladíně. Podle dosavadních výsledků se však zdá, že obsah bílkovin ve sladech ovlivňuje zřetelněji obsah α -aminodusíku v mladíně než kritérium jakosti „extraktivní rozdíl“. Tyto vzájemné souvislosti je třeba ještě dále studovat.

Vztahy znázorněné v tab. 6 byly v zásadě potvrzeny též při použití jiných postupů rmutování.

Tab. 6.
Vliv jakosti sladu na obsah α -aminodusíku v laboratorních sladících ($p = 11,0\%$)



Tab. 7.
Vliv výše dávky enzymu na obsah α -aminodusíku v laboratorních sladících ($p = 11,0\%$)
(Výsledky diplomové práce R. Schmiedela, Humboldt-Universität zu Berlin, Bereich Gärung 1976)



2.4 Vliv dávky enzymu

Změny v dávkování enzymu ukázaly, jak je patrné z průměrných hodnot výsledků uvedených v tab. 7, jen nepatrné zvýšení obsahu α -aminodusíku v mladínách zvýšením dávky enzymu. Exopeptidázovou aktivitu enzymu, který se v současné době vyrábí v NDR s názvem Brauerienzym, je nutno hodnotit jako velmi nízkou. Zvýšili-li se obsah α -aminodusíku v mladíně asi o 2 mg/100 ml, lze, např. při hladině α -aminodusíku 15 mg/ml, které jsou v mladíně k dispozici, významně a pozitivně ovlivnit kvašení a dokvašování piva. Nebylo by však reálné chtít dosáhnout tohoto cíle přidáním čtyřnásobného množství enzymu s jakostí, která je k dispozici. Pivovarský průmysl musí spíše požadovat rychlý vývoj nového enzymu, který by vyhovoval všem požadavkům pro zpracování nesladovaných surovin.

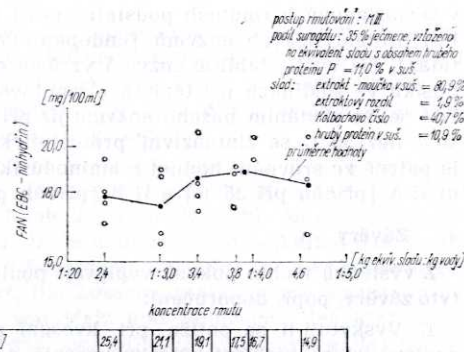
3. Vliv rmutování a hustoty rmutů

Těmito poloprovozními pokusnými řadami by se měly vyzkoušet některé použitelné variace rmutování a jejich vliv na α -aminodusík.

3.1 Koncentrace rmutu

Výsledky poloprovozních pokusů s různou koncentrací rmutu jsou uvedeny v tab. 8. Byly přezkoušeny koncentrace rmutů, jichž se používá v praxi a prověřeny při-

Tab. 8.
Vliv koncentrace rmutu na obsah α -aminodusíku ve vyražených mladínách ($p = 11,0\%$)
(Výsledky diplomové práce G. Merenyiho a W. Medweda, Humboldt-Universität zu Berlin, Gärung 1976)



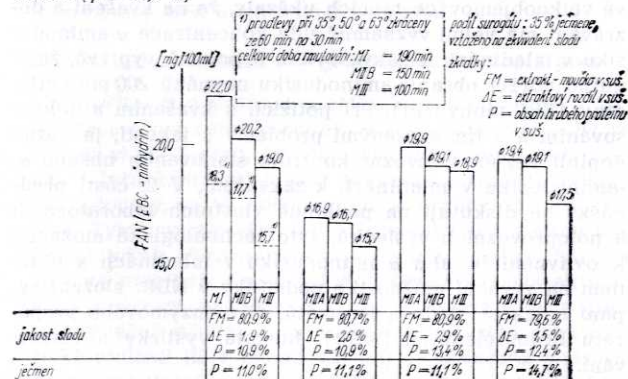
slušné koncentrace předků. Z pokusů je patrné, že rozptýl jednotlivých hodnot v jednotlivých pokusných řadách je větší než rozdíly mezi středními hodnotami obsahu α -aminodusíku v mladínách při různě upravených koncentracích rmutů.

Souběžné pokusy v laboratorním měřítku, provedené se stejnými surovinami a stejným poměrem sypání ukazují, že při intenzivnějším a tedy delším rmutování je třeba hustšího rmutu, aby se vytvořilo více α -aminodusíku; kratší rmutování vyžaduje řidší rmuty. Příčina je ve dvojím působení koncentrace rmutu: nižší koncentrace jednak působí pozitivně na procesy enzymového štěpení a na rozpuštění výchozích látek a reakčních produktů, jednak snižuje působení ochranných koloidů na přítomné enzymy, což má při intenzivnějším a delším rmutování za následek silnější inaktivaci enzymů. Změny koncentrace rmutů nelze tedy považovat za účinný prostředek ke korigování obsahu α -aminodusíku v mladíně k zalkvašení. Koncentraci rmutů je tedy třeba stanovit před tím, než se určí optimální extraktivní a časová bilance výroby mladiny.

3.2 Rmutování

Tabulka 9 ukazuje průměrné obsahy α -aminodusíku v laboratorních sladících vyrobených ze surovin rozdílných jakostí a za použití různých způsobů rmutování. Prodloužené rmutování vedlo ve všech případech k silnější proteolýze, prokazatelně zvýšením obsahem rozpustného a formolového dusíku i α -aminodusíku. V první sérii pokusů se zjistilo při extrémně krátkém rmutování (prodlou- 30 min při 35°, 50°, 63°) velmi významné zvýšení obsahu α -aminodusíku ve srovnání s normálním rmutováním (prodlou 60 min). Zdá se, že lze pozitivně ovlivnit obsah nižších produktů štěpení bílkovin zvláště použitím nižší

Tab. 9.
Vliv postupu rmutování na obsah α -aminodusíku v laboratorních sladících ($p = 11,0\%$)



teploty vystírky mezi 20 a 50 °C se současným předřazením prodlevy při teplotě štěpení bílkovin.

Tyto výsledky potvrzují též v zásadě Narziß a Lintz [3], kteří zjistili při nižších vystíracích teplotách (35 °C) v samosladových rmutech podstatně vyšší tepelnou stabilitu proteolytických enzymů (endopeptidáz, karboxypeptidáz). Při vyšší stabilitě enzymů vzrůstá obsah α -aminodusíku ve sladínách při teplotách rmutování až do 70 °C. Zdá se, že přidáním našeho enzymu již při teplotách nižších než 50 °C se zintenzivní proteolytické štěpení, jak je patrné ze srovnání hodnot α -aminodusíku při rmutování II A (přidán při 35 °C) a II B (přidán při 50 °C).

4. Závěry

Z výsledků těchto pokusů vyplývají podle mého názoru tyto závěry, popř. doporučení:

1. Vyskytují-li se potíže při kvašení a dokvašování, projevující se nízkými výtěžky kvasnic a velkým rozdílem mezi prokvašením při výstavu a dosažitelným stupněm prokvašení, měla by se při pátrání po možných provozních příčinách věnovat zvláštní pozornost obsahu α -aminodusíku v mladínách k zakvašení.

2. Se zřetelem na požadavek, aby mladiny obsahovaly nižší štěpné produkty bílkovin, se zdá, že by bylo vhodné používat ke sladování partií ječmene bohatších na bílkoviny a méně dusíkatých ječmenů jako surogátů pro výrobu piva. Měly by se nově definovat požadavky na jakost takto vyrobených sladů se zřetelem na ječmeny, které jsou k dispozici nebo se vyvíjejí.

3. Vzhledem k současné kapacitě varen a k nynější energetické situaci by se měly vyčerpat všechny provozní možnosti ke zvýšení intenzity rmutování. Zvláště by se měla dát přednost vystíracím teplotám nižším než 50 °C (zvláště 35 °C) a kratším prodlevám, s výjimkou prodlevy při 50 °C, která by se měla prodloužit.

4. Proteolytická účinnost Brauereienzymu (NDR) by se měla zvýšit přidáním jiných proteolytických preparátů.

[1] EBC—Analytica, III. Ausgabe. Zürich 1975

[2] ANNEMÜLLER, G.: Dissertation, Humboldt-Universität, Berlin 1975

[3] NARZIß, L. - LINTZ, B.: Brauwissenschaft, 28, 1975, s. 253, 305,

Annemüller, G.: Obsah α -aminodusíku v mladínách v NDR a technologické možnosti jeho ovlivnění. Kvas. prům., 23, 1977, č. 10, s. 217—221.

Aminokyseliny jsou vedle cukrů jako nejjednodušší stavební látky bílkovin kvasničných buněk nejdůležitější živinou kvasinek. Mají aktivní podíl na jejich látkové přeměně. Aminokyseliny jsou klíčovými substancemi syntézy bílkovin a enzymů, a tak spolurozhodují o průběhu veškeré látkové přeměny kvasinek. Syntéza a štěpení aminokyselin při tom úzce souvisí s tvorbou vedlejších produktů kvašení, např. vyšších alkoholů, diketonů a esterů.

Vlastní výsledky pokusů s kvašením a dokvašováním ve velkoobjemových tancích ukázaly, že na kvašení a dozrávání má velmi významný vliv koncentrace α -aminodusíku v mladínách k zakvašování. Z pokusů vyplývá, že je nutno udržet obsah α -aminodusíku nejméně 200 mg/l mladiny (EBC-ninhydrin). Při potížích s kvašením a dokvašováním a s tím spojenými problémy s jakostí, je nutno doplnit běžnou provozní kontrolu stanovením obsahu α -aminodusíku v mladínách k zakvašení. V 2. části přednášky se diskutují na podkladě vlastních laboratorních a poloprovozních výsledků, tyto technologické možnosti k ovlivnění obsahu α -aminodusíku v mladínách s ohledem na výrobní možnosti a podmínky v NDR: složení sypaní a jakost sladu a surogátů, vliv enzymového preparátu Brauereienzym (NDR), hustota vystírky a rmutování.

Z toho byly odvozeny první závěry pro technologii pivovarů.

Annemüller, G.: Содержание α -аминного азота в пивном сусле и технологические методы, применяемые в ГДР для его регулирования Квас. прум. 23, 1977, № 10, стр. 217—221.

Аминокислоты наряду с сахарами, будучи элементарными составляющими белковых веществ в клетках дрожжей, являются их главными питательными веществами и принимают активное участие в метаболизме дрожжей. Аминокислоты имеют решающее значение в синтезе протеинов и ферментов и влияют поэтому на ход метаболизма дрожжей. Синтез и расщепление аминокислот тесно связаны с образованием побочных продуктов сбраживания, как напр. высших спиртов, diketон, сложных эфиров итп. Результаты экспериментов со сбраживанием и дображиванием в чанах большой емкости показали, что на ход брожения и дображивания имеет большое влияние концентрация α -аминного азота в сусле. Содержание α -аминного азота не должно быть ниже 200 мг/л (концентрация аминокислот определяется посредством нингидриновой реакции). При неправильном ходе брожения и дображивания, могущем иметь отрицательное влияние на качество конечного продукта, необходимо обычные анализы дополнить определением концентрации α -аминного азота в броющем сусле. В дальнейшей части статьи автор перечисляет меры технологического характера, применяемые в ГДР для регулирования содержания α -аминного азота, т. е. состав и качество солода или заменителей, применение ферментативного препарата БРАУЭРАЙЭНЗИМ, выбор условий затирания и замочки. Технологам заводов даются соответствующие указания.

Annemüller, G.: Technologic Methods Used in GDR to Control the Concentration of α -amino Nitrogen in Wort. Kvas. prům. 23, 1977, No. 10, pp. 217—221.

Amino acids are — beside sugars — the most important nutrients of yeast being the simplest material building the yeast cells. They play an active role in metabolism of yeast and are also principal substances in the synthesis of proteins and enzymes. Consequently they determine the course of metabolism in yeast. Synthesis and fission of amino acids are closely connected with the formation of fermentation by-products as e. g. higher alcohols, diketones and esters.

Results of experiments carried out with fermentation and after-fermentation in large capacity tuns show, that both fermentation and maturing processes depend largely upon the concentration of α -amino nitrogen in wort. It has been found that the concentration of α -amino nitrogen must be kept at least at 200 mg per 1 l (EBC-ninhydrin). If some problems related to fermentation, after-fermentation and quality of final product arise, it is necessary to supplement routine checks with the determination of α -amino nitrogen concentration in wort. Evaluating his own laboratory experiments and the results achieved in a pilot plant the author — taking into account conditions in breweries in GDR and their equipment — suggests some measures, which could be taken to control the concentration of α -amino nitrogen in wort. Generally it depends on the following factors: composition of ingredients, quality of malt as well as of surrogates, efficiency of enzymatic preparation (Brauereienzyme, GDR) and intensity of mashing processes. Breweries have been given appropriate instructions.

Annemüller, G.: Der α -Aminostickstoffgehalt der Brauereiwürzen in der DDR und die technologischen Möglichkeiten seiner Beeinflussung. Kvas. prům. **23**, 1977, No. 10, S. 217—221.

Die Aminosäuren sind als die einfachsten Bausteine für das zelleigene Eiweiß der Hefe neben den Zuckern für sie die wertvollsten Nährstoffe. Sie haben aktiven Anteil am Bau- und Betriebsstoffwechsel der Hefe. Die Aminosäuren sind als Schlüsselsubstanzen für die Protein- und Enzymsynthese mitbestimmend für den Verlauf des gesamten Hefestoffwechsels. Die Synthese und der Abbau von Aminosäuren sind dabei eng mit der Bildung von Gärungsnebenprodukten, wie z. B. den höheren Alkoholen, Diketonen und Estern, verbunden.

Einen sehr deutlichen Einfluß hat die α -Aminostickstoffkonzentration der Anstellwürzen auf die Hefevermehrung und den Verlauf der Gärung und Reifung, wie auch durch eigene Ergebnisse mit Gär- und Rei-

fungsversuchen in Großtanks nachgewiesen werden konnte. Daraus ableitend ist ein α -Aminostickstoffgehalt von mindestens 200 mg/l Würze (EBC-Ninhydrin) anzustreben.

Bei Gär- und Reifungsschwierigkeiten und damit verbundenen Qualitätsproblemen sollte deshalb in die laufende Betriebskontrolle auch die Bestimmung des α -Aminostickstoffgehaltes des Anstellwürzen grundsätzlich mit einbezogen werden.

Im 2. Teil des Vortrages werden unter Verwendung von eigenen Labor- und kleintechnischen Versuchsergebnissen folgende technologische Möglichkeiten zur Beeinflussung des α -Aminostickstoffgehaltes des Anstellwürzen unter Beachtung der DDR-Produktionsbedingungen diskutiert. Die Zusammensetzung der Schüttung und die Qualität von Malz und Rohfrucht, der Einfluß des „Brauereienzyms“ der DDR, die Gußführung, das Maischverfahren. Daraus werden erste Schlußfolgerungen für den Brauereitechnologen abgeleitet.
