

Maltulóza v pivovarských tekutinách

ANNA KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ a MARGITA FISCHEROVÁ, Biochemické laboratórium Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied, Bratislava
663.4.663.54

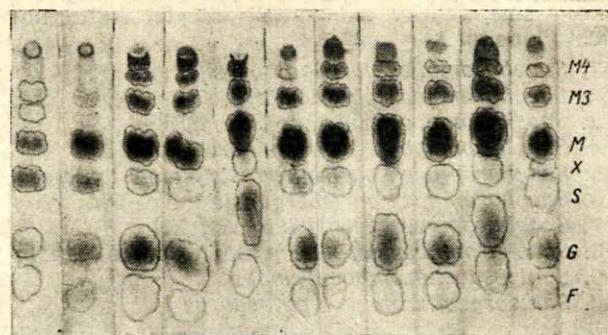
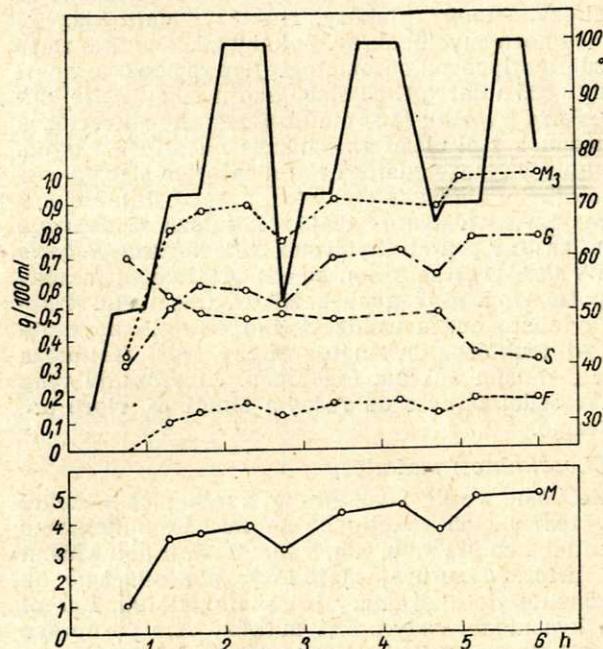
V našich predchádzajúcich prácach s *Vlčkom* a *Winklerom* [1, 2, 3, 4] a neskôr s *Štoffom* [5] sme sa zaoberali podrobňom sledovaním varného procesu analýzou cukrov papierovou chromatografiou. Pri týchto analýzach sme dokázali niektoré škvry, odpovedajúce cukrom, ktorých charakter nám neboli známy. Jeden z nich sme označovali ako *x* [4]. Pri detekcii chromatogramov roztokom difenylamínu, anilinu a kyseliny fosforečnej sa tento cukor objavoval ako zreteľná fialovočervená škvra pod maltózou. Tento cukor sa často objavoval v rmutoch, avšak nie vždy. Objavoval sa pri kvasení a v hotovom pive, ale niekedy v ňom tiež chýbal. Pretože sa vyskytoval nepravidelne a že sa tu javila súvislosť s technologickým postupom, domnievali sme sa pôvodne, že závisí na druhu surogátu, pridávaného do záparu a na spôsobu jeho spracovania. Neskôr sme sa zaobrali otázkou, ako využiť jednoduchú metódu papierovej chromatografie pre asimilačné testy kvasiniek [6, 7] a pripravili sme tiež jednu z asimilačných zmesí s maltózou. Objavila sa nám opäť v hotových chromatogramoch škvra *x*, a to tiež nepravidelne. Pretože sa však neobjavila v zmesi štandardov, zavrhli sme čoskoro názor, že ide o púhu znečisteninu použitej maltózy a zaujali sme názor, že tento cukor vzniká pri sterilizácii. V tejto práci sme sa pokúsili neznámy cukor identifikovať a čiastočne osvetliť jeho vznik.

Časť experimentálna

Vplyv pH na tvorbu cukru *x*

Pripravili sme 5% kvasičnú vodu s prísadou 3% maltózy, aby sme napodobili podmienky skúšok asimilovateľnosti cukrov [7]. Roztoky sme upravili NaOH na pH 4, 5, 5, 6, 7, 8, 9, 10. Vzorky sme nanášali na chromatografický papier bez akejkoľvek predchádzajúcej úpravy, potom po intervaloch sterilizovali v prúdiacej pare najskôr 10 minút, potom jednu hodinu a sterilizáciu trikrát opakovali. Chromatogramy vydetegované roztokom difenylamínu, anilinu a kyseliny fosforečnej ukázali, že neznámy cukor sa neobjavil u vzoriek nezahrievaných, zatiaľčo u vzoriek už len 10 minút sterilizovaných sa nachádza pri zvýšení pH nad 5,5. So zvýšením pH stúpala aj intenzita farby škvry. Maltotrióza, ktorá sústav-

ne znečisťuje predajnú maltózu, sa dokazuje už u všetkých vzoriek bez akejkoľvek úpravy a pri zvy-

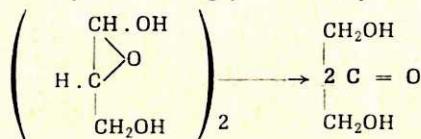


Rozbor cukrov papierovou chromatografiou — neznámy cukor je označený *x*

šovaní pH za varenia sa prevádzka čiastočne v nový cukor, dávajúci škvru níže pôvodného.

Identifikácia škvry x ako maltulózy

Z hore uvedeného pokusu sme vyvodili, že neznámy cukor netvorí znečisteninu predajnej maltózy, ale že vzniká zvyšovaním pH a varením. Z toho usudzujeme, že ide o cukor tvoriaci sa epimeráciou maltózy, podobne ako uvádza Fischer, Traube a Baer [8] vznik dioxyacetónu z glyceroaldehydu:



Názor, že sa takto vytvára tiež maltulóza potvrdzujú aj McWilliam a Phillips [9]. Nakoľko sme nemali čistú maltulózu na porovnanie, pokúsili sme sa ju pripraviť. Podľa uvádzaného predpisu Fischera, Traube a Baera [8] sme varením s pyridinom prípravili surový cukor ako žltastú, snadno tuhnúcu syrupovitú hmotu. Chromatografickou analýzou sa však ukázalo, že tento cukor nie je čistý a výtažnosť nie je veľká. Modifikovali sme túto prípravu na toľko, že sme pôvodnú maltózu rozpúšťali v roztoku NaOH o pH 9 a potom zavarili s pyridinom. Výtažnosť sa tým sice podstatne zvýšila, avšak okrem maltulózy sme dokazovali ešte dosť veľké množstvo maltózy a stopy glukózy, fruktózy, maltotriózy a dvoch neznámych cukrov. Bolo by žiaduce túto zmes rozdeliť stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi Celitu 535 a Darco G-60 alebo ako uvádza White, Eddy, Petty a Hoban [10] maltózu odstrániť invertázou z medu a maltulózu zhromáždiť na stĺpce z uhlia. Maltóza sa môže odstrániť aj niektorým slabšie prekvášajúcim kmeňom kvasiniek, avšak ostatné cukry v malom množstve ostávajú. Maltulóza sa objavuje dosť často v prirodzených substrátoch. Peat, Roberts a Whelan [11] sa s ňou stretli pri štúdiu fruktózy v pečeňovom glykogene králikov. Chemickú štruktúru tohto cukru uvádzajú ako 4-(α -glukopyranosido-) fruktóza. Chromatograficky tvorí maltulóza pári s ďalším cukrom nigerózou. Nigeróza je však tmavošedej farby s detekčným činidlom, ktoré používame.

Skvasiteľnosť maltulózy

Ked sme zistili, že škvra x, vznikajúca v rmutu i v testovacích tekutinách je na chromatograme identická so škvrou, ktorú sme dostali ako hlavnú pri príprave surovej maltulózy, pokúsili sme sa o zistenie, do akej miery je asimilovateľná. 100 ml 5% kvasničnej vody s 5% maltózy sme po úprave na pH 7, rozdelili do skúmaviek a frakcionovane sterilizovali po 1 hodine pri 100°C v prúdiacej pare. Potom sme vzorky zaočkovali čistými kultúrami týchto kmeňov.*)

1. *Saccharomyces cartilaginosus*
2. *Saccharomyces paradoxus*
3. *Saccharomyces vini* kmeň *Činuri*
4. *Saccharomyces vini* kmeň *Bratislava 2*
5. *Saccharomyces carlsbergensis* kmeň *Budvar*
6. *Saccharomyces carlsbergensis* kmeň *Ottakring*
7. *Saccharomyces cerevisiae rasa XII*
8. *Saccharomyces cerevisiae* kmeň *Boinot Trenčín*
9. *Schizosaccharomyces pombe*
10. *Schizosaccharomyces octosporus*

Kmene sa pestovali pri 28°C po 10 dní a potom sa od kvasnej tekutiny odstredili a tekutina sa na-

nášala na chromatografický papier. Papiere sa vyvolali a detegovali [7]. Ukázalo sa, že maltulóza je skvasovaná celým radom kvasiniek, napríklad *Saccharomyces cartilaginosus*, *Saccharomyces cerevisiae rasa XII*, vinnymi kvasinkami *Bratislava 2* a *Činuri*, *Schizosaccharomyces octosporus* a *Schizosaccharomyces pombe*. Naproti tomu pivovárske kvasinky za týchto podmienok maltulózu neasimilovali. Na chromatogramoch sme dokázali tiež purpurofialovú škvru nad maltotriózou ako aj niektoré škvry nad maltotriózou. Domnievame sa, že škvra pod maltotriózou, tej istej farby ako maltulóza, vzniká tiež epimeráciou pri zvýšení alkality prostredia a po sterilizácii, zatiaľčo škvra nad maltotriózou prináležia cukrom vzniklý biosyntézou. *Schizosaccharomyces octosporus* asimiloval všetky cukry, aj cukry vytvorené epimeráciou a preto po detekcii chromatogramu jeho kvasnej tekutiny neostali na papieri žiadne škvry.

Záver

1. Pri rmutovaní sladového šrotu a surogátov vo varne pivovarov vznikajú niektoré dosiaľ neidentifikované cukry. Najnápadnejší je z nich ten, ktorý pri chromatografickej detekcii roztokom difenilamínu, anilinu a kyseliny fosforečnej dáva purpurofialovú škvru pod maltulózu. Tento cukor vzniká z maltózy tiež pri testovaní asimilovateľnosti cukrov a pri sterilizácii vtedy, ak pripravovaný roztok alebo agar má pH vyšie ako 5,5.

2. Porovnaním s pripravenou surovou maltulózou sme identifikovali tento cukor, ktorého škvru sme v predchádzajúcich práciach označili x, ako maltulózu. Predpokladame, že maltulóza vzniká z maltózy epimeráciou pri zvýšanom pH a za varu. Tak tiež z maltotriózy sa za tých istých podmienok vytvára nový cukor, ktorý sa pri uvedenej detekcii farbou podobá maltulóze a leží níže maltotriózy.

3. Pokusom sme ukázali, že maltulóza môže byť niektorými kmeňmi kvasiniek využitá. Pivovarské kvasinky nevyužívajú maltulózu všeobecne. Záleží asi na tom, ako sú schopné hlboko prekvásť. Preto sme v niektorých pivách maltulózu dokázali, v iných nie. Najnáležie sa zdál využívať cukry *Schizosaccharomyces pombe*, ktorého kvasná tekutina nezanechala po detekcii na chromatograme žiadnu škvru.

4. Z hore uvedeného súdíme, že doterajší náš úsudok o vzniku cukru x, ako špecifického [4] pre rýzový surogát pri rmutovaní bol mylný. Cukor x ako maltulóza vzniká z maltózy pri rmutovaní zvýšením pH rmutu nad 5,5 a tu môže zotrvať počas celej ďalšej výroby. Do hotového piva prechádza tenkrát, ak mladina kvasí stredne alebo nízko prekvášajúcimi kmeňmi násadových kvasník.

Literatúra

- [1] Winkler R.: Cukry v pivovarskom varnom procese. I. Dipl. práca, Bratislava 1956.
- [2] Vlček J.: Cukry v pivovarskom varnom procese. II. Dipl. práca, Bratislava 1957.
- [3] Winkler R.: Kvasný průmysl **2**, 196 (1956).
- [4] Kocková-Kratochvílová A., Vlček J., Winkler R.: Brauwissenschaft **11**, 2 (1958).
- [5] Stoffa F.: Cukry v pivovarskom varnom procese. III. Dipl. práca, Bratislava 1959.
- [6] Kocková-Kratochvílová A., Vojtková-Lepšíková A.: Naturwissenschaften **45**, 473 (1958).
- [7] Kocková-Kratochvílová A., Vojtková-Lepšíková A., Fischerová M.: Brauwissenschaft **12**, 110 (1959), **12**, 143 (1959).
- [8] Fischer H. O., Traube C., Baer E.: Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 479 (1927).
- [9] McWilliam J. C., Phillips A. W.: Chemistry and Industry, str. 384 (1959).
- [10] White J. W., Eddy C. R., Petty J., Hoban N.: Analytical Chem. **30**, 506 (1958).
- [11] Peat S., Roberts P. J. P., Whelan W. J.: Biochem. Jour. **51**, XVII–XVIII, 1952, ref. v. Chem. Ztbl. **124**, 4.714 (1953).

Došlo do redakcie 28. 7. 1960.

МАЛЬТУЛОЗА В ПИВОВАРЕННЫХ
ЗАТОРАХ

При помощи хроматографических методов изучались все фазы процессов протекающих в пивоваренных заторах. Было установлено, что новый вид обнаруженного при анализах сахара является очевидно мальтулозой. Мальтулоза образуется в процессе застирания из мальтозы вследствие эпимеризации и повышающегося при кипении pH. Полученные пробы мальтулозы подвергли исследованию на способность дрожжей ассимилировать этот сахар. Было испытано 10 штаммов чистых культуры, при чем было установлено, что некоторые виды дрожжей, напр. пивоваренные дрожжи не могут мальтулозу использовать.

DIE MALTULOSE IN BRAUEREI-
FLÜSSIGKEITEN

Mittels chromatographischer Methoden wurde der Maischprozess verfolgt und es wurde bewiesen, dass ein neu festgestellter Zucker als Maltulose identifiziert werden kann, welcher während des Maischens aus der Maltose durch Epimerisation bei Erhöhung des pH und beim Kochen entsteht. Mit der gewonnenen Maltulose wurden Versuche der Assimilierbarkeit bei Benützung von 10 reinen Hefestämmen durchgeführt. Die Ergebnisse der Versuche beweisen, dass die Maltulose von einigen Hefestämmen, z. B. von den Brauereihefen, nicht ausgenutzt wird.

MALTULOSE IN BEER WORT

Chromatographic methods applied for studying the processes taking place in beer wort show, that the recently discovered new sort of sugar can be identified as maltulose. It originates in the wort from maltose through epimerization, boiling temperatures and increasing pH. Several samples of maltulose have been tested to find out whether it can be assimilated by yeast. Ten strains of pure cultures were selected for tests the results of which indicate, that some yeast strains as e. g. brewery yeast fail to utilize maltulose as their nutrient.