

ZAWARTOŚĆ RÓŻNYCH FORM AZOTU W SŁODACH NISKOBIAŁKOWYCH A ICH WARTOŚĆ TECHNOLOGICZNA

Dorota Michałowska

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waława Dąbrowskiego

Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych

ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

dorota.michalowska@ibprs.pl

Streszczenie

Celem pracy była charakterystyka sładów o zawartości białka poniżej 10,0% s.m. pod kątem zawartości w nich różnych form azotu.

Materiałem do badań były próbki sładów przemysłowych różnych odmian ze zbiorów z 2009 r. i 2010 r., pochodzące z krajowych słodowni, o zawartości białka: 8,4–9,7% s.m. Badane słody reprezentowały różne odmiany jęczmienia browarnego, przerabiane najczęściej przez polskie słodownie.

Próbki sładów niskobiałkowych wykazywały duże zróżnicowanie pod względem większości badanych parametrów, szczególnie: liczby Kolbacha, zawartości azotu albumozowego i zawartości peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda. Istotne statystycznie różnice pomiędzy sładami niskobiałkowymi a sładami z grupy porównawczej stwierdzono dla zawartości: białka rozpuszczalnego, azotu: ogółem, wysokocząsteczkowego i niskocząsteczkowego oraz peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy wyznaczonymi dla obydwu grup sładów średnimi wartościami dla zawartości: wolnego azotu aminowego, azotu albumozowego i azotu średnicząsteczkowego.

Dla badanej grupy sładów niskobiałkowych stwierdzono dodatnią korelację między poziomem białka ogółem w sładzie a zawartością w brzeczce laboratoryjnej azotu wysokocząsteczkowego i peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda.

Słowa kluczowe: słody niskobiałkowe, wartość technologiczna

THE CONTENT OF VARIOUS FORM OF NITROGEN IN LOW PROTEIN MALTS AND THEIR TECHNOLOGICAL VALUE

Summary

The aim of this study was characterization of malts with a protein content below 10.0% DM for the content different forms of nitrogen.

The experimental material were samples of industrial malts from the harvest of 2009 and 2010, derived from domestic malting plants, with a protein content between 8,4 and 9,7% DM. Studied malts represented different varieties of malt barley.

The samples of low protein malts showed large variation in most of the examined parameters, in particular: the Kolbach index, albumose nitrogen content and total peptide content determined by Bradford. Significant differences between low protein malts and control malts was observed for the content: soluble protein, total nitrogen, high molecular weight nitrogen, low molecular weight nitrogen and total peptides content determined by Bradford method. There were no significant differences between the mean values for two groups malts for the content: the free amino nitrogen, albumose nitrogen and medium molecular weight nitrogen.

For the studied group of low protein malts positive correlation between the level of total protein in the malt and the content of high molecular weight nitrogen in the laboratory wort and total peptides determined by Bradford were observed.

Key words: low protein malt, technological value

WSTĘP

Zawartość białka w jęczmieniu jest cechą odmianową [Michałowska 2002; Bichoński 2003], która jednak może być bardzo silnie modyfikowana przez wpływ warunków klimatyczno-glebowych panujących w rejonie uprawy [Lalic 1998; Anonim 1992] oraz technologię uprawy, zwłaszcza sposób nawożenia azotowego [Pecio, Bichoński 2006; Alam, Haider 2007]. W czasie słodowania jęczmienia, pod wpływem endoproteinaz, zachodzi stopniowa hydroliza białek jęczmienia, w wyniku której powstają białka rozpuszczalne oraz na skutek ich dalszej degradacji peptydy i aminokwasy [Evans, Hejgaard 1999; Hubner, Arendt 2010].

Ilość i rodzaj związków azotowych zawartych w słodzie jest jednym z podstawowych kryteriów jego przydatności browarniczej [Narziss 1992; Kunze 1999]. Uznawany za optymalny poziom białka ogółem to 10,0–11,5% s.m [MEBAK 1993; Moll 1996]. Wysoka

zawartość białka w słodzie zwykle wiąże się z jego niską ekstraktywnością i zbyt dużą ilością związków azotowych w brzeczce, co prowadzi w rezultacie do zmniejszenia wydajności warzelnicy, pojawiania się osadu, tworzenia zmętnień i tym samym pogorszenia trwałości koloidalnej piwa [Kunze 1999]. Z drugiej strony, zbyt niska zawartość białka w słodzie także jest niepożądana, gdyż takie słody może cechować niedostateczna zawartość rozpuszczalnych związków azotowych oraz niższa aktywność enzymatyczna. W procesie produkcyjnym piwa oraz kształtowaniu jego cech biorą udział białka rozpuszczalne ze słodu, które wyekstrahowały się do brzeczki produkcyjnej. Jones i Budde [2005] stwierdzili, że z rozpuszczalnych form azotu obecnych w brzeczce około 43% pochodziło z jęczmienia, 32% zostało wytworzone na etapie słodowania, natomiast pozostałe 25% zostało uwolnione w trakcie zacierania.

Z punktu widzenia prawidłowości procesu fermentacji bardzo ważnym parametrem słodu jest odpowiednio wysoka zawartość w nim aminokwasów i prostych peptydów (tzw. wolny azot aminowy), które stanowią źródło przyswajalnego azotu dla komórek drożdżowych, są więc odpowiedzialne za ich wzrost i żywotność. Badania Ingledewa i in. [1999] oraz Lekkasa i in. [2009] wykazały, że sprawność przebiegu procesu fermentacji na poziomie komórkowym determinowana jest przez i rodzaj związków azotowych zawartych w brzeczce.

Parametrem piwa, na który może mieć wpływ poziom i skład frakcyjny białka w słodzie stosowanym do jego produkcji, jest pienistość. Nie ulega wątpliwości, że piana piwa stabilizowana jest przede wszystkim przez polipeptydy powstające w wyniku rozkładu białek jęczmienia, co potwierdziły liczne badania [Evans i in. 2002; Kordialik, Ambroziak 2004]. Uważa się, że w celu zapewnienia dobrej pienistości piwa należy poszukiwać słodów o niskim rozluźnieniu białkowym, które zapewnia duży udział azotu wysokocząsteczkowego [Kunze 1999]. Zawartość tej frakcji nie powinna jednak przekraczać 20% ogólnej zawartości azotu rozpuszczalnego, ze względu na jej udział w tworzeniu osadów [Narziss 1992]. Zdaniem Bamfortha [2004], z punktu widzenia pienistości najistotniejsza jest proporcja między polipeptydami będącymi produktami rozkładu albumin i hordein. Pozytywne oddziaływanie albumoz (produktów rozkładu albumin) na pienistość piwa potwierdziły badania Gorinsteina i in. [1980], w których wykazano znaczący wpływ azotu albumozowego (obok innych peptydów) na kształtowanie piany w piwie. Siebert i Knudson [1989] zaobserwowali, że istnieje bardzo duża zależność między pienistością piwa a zawartością w nim peptydów ogółem oznaczanych spektrofotometryczną metodą Bradforda.

W ostatnich latach coraz więcej piw jest produkowanych metodą HGB (ang. *high gravity brewing*) [Stewart 2010]. Piwa otrzymane w tej technologii zwykle cechuje gorsza trwałość

piany, głównie ze względu na mniejszy stopień ekstrakcji związków białkowych (zwłaszcza polipeptydów hydrofobowych) na etapie zacierania oraz większe straty substancji białkowych w trakcie fermentacji, co potwierdziły liczne badania [Cooper i in. 1998; Brey i in. 2002].

Celem pracy była charakterystyka wybranych próbek sładów niskobiałkowych pod względem zawartości w nich różnych form azotu ważnych z punktu widzenia jakości technologicznej.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiałem do badań były próbki sładów przemysłowych ze zbioru z 2009 r. i 2010 r., pochodzące z krajowych słodowni. Badaniami objęto 18 próbek sładów o zawartości białka między 8,4% s.m. a 9,7% s.m. Grupę porównawczą stanowiło 9 próbek sładów o zawartości białka mieszczącej się w przedziale 10,0–11,5% s.m., uważanym za optymalny z punktu widzenia potrzeb przemysłu piwowarskiego. Badane słody niskobiałkowe reprezentowały różne odmiany jęczmienia browarnego.

W sładach oznaczono: białko ogółem metodą Kjeldahla wg 4.3.1 Analytica EBC, białko rozpuszczalne metodą Kjeldahla wg 4.9.1 Analytica EBC i obliczono liczbę Kolbacha wg 4.9.1 Analytica EBC. Słody poddano zacieraniu zgodnie z 4.5.1 Analytica EBC w celu otrzymania brzeczek laboratoryjnych. W brzeczkach laboratoryjnych ze sładów oznaczono: azot ogółem metodą Kjeldahla wg 8.9.1 Analytica EBC, frakcje białek Lundina wg 2.9.3 MEBAK t. II 1993, wolny azot aminowy (FAN) metodą spektrofotometryczną z ninhydriną wg 8.10 Analytica EBC, albumozy metodą Böhmera [Chmielewski 1947] i polipeptydy ogółem metodą Bradforda. Wszystkie badania wykonano w 2 równoległych powtórzeniach. W tabelach podano wyniki średnie z ww. powtórzeń wraz z odchyleniem standardowym.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą programu Statistica (wersja 6), wykorzystując jednoczynnikową analizy wariancji (ANOVA) – test Tukeya oraz analizę korelacji.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zawartość białka w badanej grupie sładów mieściła się w przedziale 8,4–9,7% s.m. (tabela 1).

Tabela 1. Parametry chemiczne sładów niskobiałkowych (cz. 1)
Chemical parameters of low protein malts (part 1)

Słód nr	Białko ogółem [% s.m.] ± SD (n = 2)	Białko rozpuszczalne [% s.m.] ± SD (n = 2)	Liczba Kolbacha [%]
1	9,7 ± 0,01 ^h	4,0 ± 0,04 ^{hi}	42
2	8,5 ± 0,04 ^a	3,7 ± 0,06 ^{def}	44
3	9,5 ± 0,01 ^{gh}	3,5 ± 0,06 ^{abc}	37
4	8,4 ± 0,01 ^a	3,4 ± 0,03 ^a	40
5	8,8 ± 0,05 ^{bc}	3,6 ± 0,04 ^{bcd}	41
6	8,6 ± 0,05 ^{ab}	3,7 ± 0,01 ^{cde}	42
7	9,0 ± 0,07 ^{cde}	3,5 ± 0,04 ^{abc}	39
8	9,7 ± 0,07 ^h	4,1 ± 0,02 ^{ij}	42
9	9,3 ± 0,11 ^{fg}	3,8 ± 0,06 ^{efg}	40
10	9,0 ± 0,05 ^{cde}	3,8 ± 0,02 ^{fg}	42
11	9,7 ± 0,00 ^h	3,9 ± 0,04 ^{gh}	40
12	8,9 ± 0,03 ^{cde}	4,4 ± 0,01 ^l	49
13	8,6 ± 0,07 ^a	4,3 ± 0,01 ^{kl}	50
14	8,9 ± 0,00 ^{cd}	4,0 ± 0,04 ^{hi}	45
15	9,7 ± 0,00 ^h	4,2 ± 0,04 ^{ik}	43
16	9,7 ± 0,08 ^h	4,1 ± 0,02 ^{ij}	42
17	9,2 ± 0,06 ^{ef}	3,5 ± 0,03 ^{ab}	38
18	9,2 ± 0,12 ^{def}	3,8 ± 0,04 ^{fg}	42
Średnia (n = 18)	9,1 ± 0,45	3,8 ± 0,29	42 ± 3,3
Minimum	8,4	3,5	38
Maksimum	9,7	4,4	50

Wielkości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie przy poziomie ufności 95%.

Są to wartości poniżej poziomu (10,0–11,5% s.m.) podawanego przez większość źródeł jako optymalny [MEBAK 1993; Moll 1996], co było powodem zakwalifikowania omawianych próbek do badań. Zawartość białka rozpuszczalnego (a więc ekstrahowanego do brzezki słodowej na etapie zacierania) dla wszystkich badanych sładów mieściła się w przedziale 3,5–4,4% s.m. Spełniała zatem wymagania dla sładów browarnego, które dla białka rozpuszczalnego wynoszą między 3,4% a 4,7% s.m. [MEBAK 1993].

Na jakość piwa ma wpływ nie tylko ogólna zawartość białka w sładzie, lecz przede wszystkim stopień rozkładu tego białka, najczęściej określany za pomocą liczby Kolbacha, który to parametr określa odsetek związków białkowych ze sładów przechodzących do

brzezki, a więc jest on miarą stopnia hydrolizy enzymatycznej białek siodu. Uważa się, że liczba Kolbacha większa od 41% świadczy o bardzo dobrym rozluźnieniu siodu [Moll 1996]. W praktyce większość browarów akceptuje siody o liczbie Kolbacha w przedziale 38–45%. Wartość liczby Kolbacha w omawianej grupie siodów kształtowała się w bardzo szerokim przedziale (38–50%), co świadczy o dużym zróżnicowaniu poszczególnych próbek, jeżeli chodzi o stopień rozluźnienia białkowego i zawartość rozpuszczalnych form azotu w stosunku do ogólnej jego zawartości. Szczególnie dotyczyło to 2 próbek (nr 12 i 13) o liczbie Kolbacha odpowiednio 49% i 50%.

Dla zapewnienia wystarczającej pożywki azotowej dla drożdży brzezka nastawna (12%) powinna zawierać około 200–230 mg·L⁻¹ azotu w postaci aminokwasów i prostych peptydów, czyli tzw. wolnego azotu aminowego [Kunze 1999]. Biorąc pod uwagę, że brzezki laboratoryjne z badanych siodów cechowały się ekstraktem w przedziale 8,8–9,1% (dane nieprezentowane), powinny one zawierać minimum 130–140 mg·L⁻¹ FAN. Poziom wolnego azotu aminowego w brzezkach laboratoryjnych ze siodów niskobiałkowych (tabela 2) wykazywał bardzo duże zróżnicowanie (od 116 do 164 mg·L⁻¹), przy czym aż 6 z 18 badanych brzezek zawierało go w ilości poniżej 130 mg·L⁻¹. Natomiast próbki siodów nr 12 i 13 (czyli te o szczególnie wysokiej liczbie Kolbacha) charakteryzowały się najwyższą zawartością wolnego azotu aminowego w ilości 164 mg·L⁻¹, co potwierdza wysoki stopień proteolizy w tych próbkach.

Tabela 2. Parametry chemiczne sładów niskobiałkowych (cz. 2)
Chemical parameters of low protein malts (part 2)

Słód nr	Wolny azot aminowy [mg·L ⁻¹] ± SD (n = 2)	Azot albumozowy [mg·L ⁻¹] ± SD (n = 2)	Peptydy ogółem metodą Bradforda [mg·L ⁻¹] ± SD (n = 2)
1	145 ± 0,7 ^{gh}	144 ± 6 ^{efg}	414 ± 17 ^{cde}
2	133 ^c ± 0,7 ^{def}	115 ± 8 ^{abcd}	335 ± 6 ^{ab}
3	122 ± 0,0 ^{abc}	148 ± 4 ^{efgh}	442 ± 16 ^{ef}
4	116 ± 1,4 ^a	131 ± 0 ^{cdef}	394 ± 1 ^{cd}
5	125 ± 0,0 ^{abc}	124 ± 9 ^{cde}	387 ± 14 ^{cd}
6	128 ± 4,2 ^{bcd}	111 ± 7 ^{abc}	312 ± 11 ^a
7	121 ± 0,7 ^{ab}	156 ± 6 ^{fgh}	491 ± 13 ^g
8	137 ± 0,7 ^{defg}	134 ± 6 ^{cdef}	430 ± 5 ^{def}
9	141 ± 2,8 ^{efg}	145 ± 7 ^{efg}	448 ± 21 ^{efg}
10	143 ± 2,1 ^{fgh}	148 ± 7 ^{efgh}	417 ± 4 ^{cdef}
11	139 ± 3,5 ^{defg}	175 ± 6 ^h	432 ± 11 ^{def}
12	164 ± 2,1 ^j	170 ± 7 ^{gh}	380 ± 8 ^{bc}
13	164 ± 2,8 ^j	93 ± 10 ^a	341 ± 13 ^{ab}
14	140 ± 3,5 ^{efg}	122 ± 6 ^{bcde}	415 ± 3 ^{cdef}
15	159 ± 2,8 ^{ij}	95 ± 7 ^{ab}	406 ± 1 ^{cde}
16	153 ± 11 ^{hi}	143 ± 8 ^{defg}	461 ± 18 ^{fg}
17	125 ± 2,1 ^{abc}	123 ± 7 ^{bcde}	303 ± 11 ^a
18	132 ± 6,4 ^{cde}	143 ± 8 ^{defg}	390 ± 4 ^{cd}
Średnia (n = 18)	138 ± 14,0	134 ± 23	400 ± 51
Minimum	116	93	303
Maksimum	164	175	491

Wielkości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie przy poziomie ufności 95%.

Zawartość azotu albumozowego (pochodzącego z rozkładu albumin) w brzeczках laboratoryjnych ze sładów niskobiałkowych wahała się w przedziale 93–175 mg·L⁻¹, była więc bardzo zróżnicowana (tabela 2). Frakcji tej przypisuje się istotne znaczenie w tworzeniu piany w piwie, o czym wspomniano we wstępie niniejszej pracy [Gorinstein i in.1980]. Zatem tak duże różnice między próbkami, w odniesieniu do tego parametru, mogą wskazywać na różny potencjał pianotwórczy poszczególnych sładów.

Równie korzystna z punktu widzenia pienistości piwa jest wysoka zawartość peptydów

ogółem oznaczanych metodą Bradforda, gdyż stosowany w tej metodzie barwnik (Coomassie Brilliant Blue) ma szczególne powinowactwo do peptydów wchodzących w skład piany piwa. Współczynnik korelacji liniowej (przy poziomie ufności 99,9%) dla $n = 87$ próbek piwa pomiędzy zawartością peptydów oznaczanych metodą Bradforda a pienistością piwa mierzoną metodą NIBEM wyniósł 0,563, a dla pomiaru pienistości metodą Rudina aż 0,776 [Siebert i Knudson 1989].

Dla omawianej grupy sładów stwierdzono zawartość tej frakcji azotu w zakresie między 303 a 491 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; średnio 400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (tabela 2). Współczynnik zmienności dla tego parametru wyniósł 12,8%, co świadczy o dużym zróżnicowaniu w tej grupie sładów, jeśli chodzi o poziom peptydów odpowiedzialnych za pienistość piwa.

Zawartość azotu ogółem w brzeczkiach laboratoryjnych ze sładów kształtowała się w przedziale 607–782 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; średnio 683 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (tabela 3).

Tabela 3. Parametry chemiczne słołów niskobiałkowych (cz. 3)
Chemical parameters of low protein malts (part 3)

Słód nr	Azot ogółem (N) [mg·L ⁻¹] ± SD (n = 2)	Azot wysoko- cząsteczkowy		Azot średnio- cząsteczkowy		Azot nisko- cząsteczkowy	
		[mg·L ⁻¹] ± SD (n = 2)	[% N]	[mg·L ⁻¹]	[% N]	mg·L ⁻¹ ± SD (n = 2)	[% N]
1	720 ± 6 ^{gh}	137 ± 4 ^b	19,0	100	13,8	483 ± 0 ^{fg}	67,1
2	667 ± 12 ^{de}	122 ± 5 ^a	18,2	92	13,7	454 ± 11 ^{ef}	68,0
3	628 ± 11 ^{abc}	146 ± 1 ^{bcde}	23,2	76	12,1	406 ± 6 ^{abcd}	64,6
4	608 ± 6 ^a	136 ± 0 ^b	22,4	94	15,5	378 ± 14 ^{ab}	62,2
5	645 ± 7 ^{bcd}	138 ± 3 ^b	21,3	87	13,4	421 ± 8 ^{bcde}	65,3
6	653 ± 1 ^{cde}	143 ± 5 ^{bcd}	21,8	76	11,6	435 ± 1 ^{cde}	66,6
7	623 ± 8 ^{ab}	164 ± 1 ^{fg}	26,2	89	14,3	371 ± 13 ^a	59,5
8	731 ± 5 ^h	159 ± 1 ^{ef}	21,7	111	15,2	461 ± 7 ^{ef}	63,1
9	672 ± 11 ^{ef}	158 ± 1 ^{ef}	23,5	64	9,5	450 ± 1 ^{def}	67,0
10	671 ± 4 ^{def}	155 ± 3 ^{def}	23,1	83	12,3	433 ± 1 ^{cde}	64,6
11	694 ± 7 ^{fg}	159 ± 1 ^{ef}	22,8	76	10,9	460 ± 13 ^{ef}	66,3
12	782 ± 2 ⁱ	144 ± 6 ^{bcd}	18,4	107	13,6	531 ± 6 ^h	67,9
13	770 ± 1 ⁱ	142 ± 4 ^{bc}	18,4	97	12,5	532 ± 7 ^h	69,1
14	708 ± 3 ^{gh}	144 ± 2 ^{bcd}	20,3	123	17,4	442 ± 18 ^{cdef}	62,4
15	734 ± 6 ^h	152 ± 1 ^{cdef}	20,7	76	10,3	507 ± 26 ^{gh}	69,1
16	733 ± 3 ^h	173 ± 5 ^g	23,5	103	14,1	458 ± 5 ^{ef}	62,4
17	607 ± 5 ^a	142 ± 4 ^{bc}	23,3	65	10,7	400 ± 7 ^{abc}	66,0
18	655 ± 6 ^{de}	147 ± 1 ^{bcde}	22,4	67	10,2	442 ± 18 ^{cdef}	67,4
Średnia (n = 18)	683 ± 54	148 ± 12	21,7	88	12,8	448 ± 46	65,5
Minimum	607	122	18,2	64	9,5	371	59,5
Maksimum	782	173	26,2	123	17,4	531	69,1

Wielkości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie przy poziomie ufności 95%.

Biorąc pod uwagę wymagania MEBAK [1993], wg których brzeczka 12% wag. powinna zawierać 900–1100 mg·L⁻¹ azotu (i pamiętając, że ekstrakt brzeczki laboratoryjnych mieścił się w przedziale 8,8–9,1% wag.), należy powiedzieć, że dla większości próbek zawartość azotu ogółem w brzeczce laboratoryjnej była zbyt niska. Jedynie słody o zawartości azotu ogółem w brzeczce laboratoryjnej powyżej 700 mg·L⁻¹ (7 z 18 próbek) spełniały ww. wymagania.

Aby zapewnić prawidłowy przebieg procesu fermentacji i właściwe cechy organoleptyczne piwa, poszczególne frakcje białkowe azotu (wysoko-, średnio- i niskocząsteczkowa) powinny występować w odpowiednich proporcjach ilościowych; optymalnie: 20% frakcji wysokocząsteczkowej, 20% frakcji średnicząsteczkowej i 60% frakcji niskocząsteczkowej [Narziss 1992]. MEBAK [1993] podaje, że optymalna zawartość poszczególnych frakcji azotu, w mg·L⁻¹ brzeczki 12,0%, powinna zawierać się w przedziale: frakcji wysokocząsteczkowej: 200–240, frakcji średnicząsteczkowej: 160–200 i frakcji niskocząsteczkowej: 660–720. Biorąc pod uwagę powyższe wymagania, należy stwierdzić, że brzeczki laboratoryjne ze słodów niskobiałkowych generalnie cechowała (biorąc pod uwagę ich stężenie i wymagania MEBAK [1993] odnośnie optymalnego poziomu azotu z poszczególnych frakcji białkowych) niedostateczna zawartość wszystkich frakcji azotu (tabela 3). Szczególnie duże niedobory odnotowano dla frakcji wysokocząsteczkowej (odpowiedzialnej za pienistość piwa). Żadna z badanych 18 próbek nie osiągnęła minimalnego zalecanego poziomu azotu wysokocząsteczkowego (około 266 mg·L⁻¹ brzeczki laboratoryjnej), a kilka próbek zawierało tej frakcji azotu w ilości poniżej 50% tego poziomu. Także zawartość azotu niskocząsteczkowego we wszystkich badanych słodach (wynosząca między 371 a 531 mg·L⁻¹) kształtowała się poniżej zalecanych wartości. Dla wszystkich próbek analizowanych słodów odnotowano też obniżoną zawartość azotu średnicząsteczkowego. Jest on odpowiedzialny za pełnię smakową piwa, przy czym należy zwrócić uwagę, że jego niedostateczny poziom nie musi skutkować pogorszeniem smakowości piwa, gdyż cecha też zależy od bardzo wielu czynników, m.in. zawartości dekstryn w piwie.

Przeprowadzenie jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) miało na celu określenie, czy różnice pomiędzy średnimi wartościami dla poszczególnych parametrów jakości dla badanej grupy słodów niskobiałkowych i grupy porównawczej słodów o normatywnej zawartości białka (dane czastkowe nieprezentowane) są istotne statystycznie. Wyniki porównania zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Porównanie średnich wartości parametrów dla grup sładów o normatywnej zawartości białka i sładów niskobiałkowych
Comparison of average parameters for normal malts and low protein malts

Parametr	Słody normatywne (n = 9)	Słody niskobiałkowe (n = 18)
Białko ogółem [% s.m.] ± SD	10,7 ± 0,36 ^b	9,1 ± 0,45 ^a
Białko rozpuszczalne [% s.m.] ± SD	4,2 ± 0,27 ^b	3,8 ± 0,29 ^a
Wolny azot aminowy [mg·L ⁻¹] ± SD	136 ± 17,0 ^a	138 ± 14,0 ^a
Azot albumozowy [mg·L ⁻¹] ± SD	150 ± 22 ^a	134 ± 23 ^a
Peptydy ogółem metodą Bradforda [mg·L ⁻¹] ± SD	468 ± 17 ^b	400 ± 51 ^a
Azot ogółem; mg·L ⁻¹] ± SD	749 ± 55 ^b	683 ± 54 ^a
Azot wysokocząsteczkowy [mg·L ⁻¹] ± SD	183 ± 10 ^b	148 ± 12 ^a
Azot średnicząsteczkowy [mg·L ⁻¹] ± SD	84 ^a	88 ^a
Azot niskocząsteczkowy [mg·L ⁻¹] ± SD	482 ± 43 ^b	448 ± 46 ^a

Wielkości w rzędach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie przy poziomie ufności 95%.

Z analizy danych przedstawionych w powyższej tabeli wynika, że istotne różnice między porównywanymi grupami sładów wystąpiły w odniesieniu do następujących parametrów: zawartość białka ogółem (czynnik różnicujący grupy), zawartość białka rozpuszczalnego, zawartość azotu ogółem, zawartość azotu wysokocząsteczkowego, zawartość azotu niskocząsteczkowego i zawartość peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda. Na podstawie przeprowadzonych badań nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy wyznaczonymi dla obydwu grup średnimi wartościami poniższych parametrów jakości: zawartość wolnego azotu aminowego i azotu albumozowego w brzeczce laboratoryjnej ze sładów oraz zawartość azotu średnicząsteczkowego. Uzyskane wyniki wskazują na fakt, że te cechy, których wartości średnie nie wykazywały różnic pomiędzy dwoma badanymi grupami sładów, są niezależne lub mniej zależne od zawartości białka ogółem w sładzie. Być może na kształtowanie ich poziomu największy wpływ mają indywidualne predyspozycje poszczególnych odmian.

W tabeli 5 przedstawiono wyznaczone dla grupy sładów niskobiałkowych współczynniki korelacji liniowej pomiędzy zawartością białka ogółem a pozostałymi badanymi wyróżnikami jakości. Wartości pogrubione i wyróżnione gwiazdką są istotne statystycznie przy poziomie ufności 95%.

Tabela 5. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy zawartością białka ogółem a innymi parametrami sładów niskobiałkowych
Correlation coefficient of Pearson between total protein content and the other low protein malts parameters

Parametr	Słody niskobiałkowe (n = 18)
Białko rozpuszczalne	0,28
Wolny azot aminowy	0,23
Azot albumozowy	0,37
Peptydy ogółem metodą Bradforda	0,56*
Azot ogółem	0,26
Azot wysokocząsteczkowy	0,63*
Azot niskocząsteczkowy	0,17

Wielkości oznaczone * są istotne statystycznie przy poziomie ufności 95%.

Jak wynika z powyższej tabeli, istnieje dodatnia korelacja między poziomem białka ogółem w sładzie a zawartością azotu wysokocząsteczkowego w brzeczce laboratoryjnej i zawartością peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda, czyli frakcji odpowiedzialnych za pienistość piwa. Wskazuje to na fakt, że w przypadku sładów o bardzo niskiej, nienormatywnej zawartości białka trzeba brać pod uwagę potencjalne problemy ze słabą pienistością otrzymanego piwa. Takie same zależności odnośnie związku białka ogółem i rozpuszczalnego otrzymał dla sładów o normatywnej zawartości białka Bichoński [2003].

Trudno jest odnieść stwierdzone w niniejszej pracy zależności do wyników innych badań, gdyż brak jest publikacji na temat charakterystyki sładów niskobiałkowych.

WNIOSKI

1. Próbki sładów niskobiałkowych wykazywały duże zróżnicowanie pod względem większości badanych parametrów, szczególnie: liczby Kolbacha, zawartości azotu albumozowego i zawartości peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda.
2. Istotne statystycznie różnice pomiędzy sładami niskobiałkowymi a sładami z grupy porównawczej stwierdzono dla zawartości: białka rozpuszczalnego, azotu: ogółem, wysokocząsteczkowego i niskocząsteczkowego oraz peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy wyznaczonymi dla obydwu grup sładów średnimi wartościami dla zawartości: wolnego azotu aminowego, azotu albumozowego i azotu średnicząsteczkowego.

3. Dla badanej grupy sładów niskobiałkowych stwierdzono dodatnią korelację między poziomem białka ogółem w słodzie a zawartością w brzeczce laboratoryjnej azotu wysokocząsteczkowego i peptydów ogółem oznaczanych metodą Bradforda.
4. Stosowanie sładów o niskiej, nienormatywnej zawartości białka, szczególnie w technologii HGB, może być przyczyną słabej pienistości otrzymanego piwa.

PIŚMIENNICTWO

1. Anonim (1992). *Advances in malting barley*. Wyd. EBC
2. Anonim (1997). *Analytica EBC*. Wyd. Verlag Hans Carl. Getränke-Fachverlag
3. Anonim (1993). *Brautechnische Analysenmethoden (MEBAK) Band II*. Wyd. Weihenstephan
4. Anonim. *Protein Assayby Bradford*. BIO-RAD
http://labs.fhrc.org/fero/Protocols/BioRad_Bradford.pdf
5. Alam M. Z., Haider S. A. (2007). Accumulation of protein, chlorophyll and relative leaf water content in barley (*hordeum vulgare* L.) in relation to sowing time and nitrogen fertilizer. *Res. J. Agric. Biol. Sci.*, 3 (3), 149-152
6. Bamforth C. W. (2004). The relative significance of physics and chemistry for beer foam excellence: theory and practice. *J. Inst. Brew.*, 110, 259-266
7. Bichoński A. (2003). Zmienność i współzależność wybranych cech technologicznych jęczmienia jarego browarnego. *Biuletyn IHAR*, 228, 105-109
8. Brey S. E., Bryce J. H., Stewart G. G. (2002). The loss of hydrophobic polypeptides during fermentation and conditioning of high gravity and low gravity brewed beer. *J. Inst. Brew.*, 108, 424-433
9. Chmielewski M. W. (1947). *Chemiczno-techniczna kontrola fabrykacji piwa*. Bydgoszcz: Wyd. Centralny Zarząd Państwowego Przemysłu Fermentacyjnego
10. Cooper D. J., Stewart G. G., Bryce J. H. (1998). Hydrophobic polypeptide extraction during high gravity mashing – experimental approaches for its improvement. *J. Inst. Brew.*, 104, 283-287
11. Evans D. E., Sheehan M. C. (2002). Don't be fobbed off: The substance of beer foam – A Review. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 60 (2), 47-57
12. Evans D. E., Hejgaard J. (1999). The impact of malt derived proteins on beer foam quality. Part I. The effect of germination and kilning on the level of protein Z4, protein Z7 and LTP1. *J. Inst. Brew.*, 105 (1), 159-169 (part I), 105(2), 171-177 (part II)

13. Gorinstein S., Xitov S., Sarel S. (1980). Changes in the chemical composition of beer during the brewing process as a result of added enzymes. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 38 (1), 23-26
14. Hubner F., Arendt E. K. (2010). Comparison of protein degradation as a consequence of germination time and temperature in rye and barley malts. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 68 (4), 195-203
15. Ingledew W. M., Patterson C. A. (1999). Effect of nitrogen source and concentration on the uptake of peptides by a lager yeast in continuous culture. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 57 (1), 9-17
16. Jones B. L., Budde A. D. (2005). How various malt endoproteinase classes affect wort soluble protein levels. *J. Cereal Swci.*, 41, 95-106
17. Kordialik-Bogacka E., Ambroziak W. (2004). Investigation of the foam-active polypeptides during beer fermentation. *J. Sci. Food Agric.*, 84, 1960-1968
18. Kunze W. (1999). *Technologia piwa i słodu*. Warszawa: Wyd. Piwochmiel
19. Lalic A., Kovacevic J., Simi G., Drezner G., Guberac V. (1998). Environmental effect on grain yield and malting quality parameters of winter barley.
www.bib.irb.hr/datoteka/335862.lalic20073.doc
20. Lekkas C., Hill A. E., Taidi B., Hodgson J., Steward G. G. (2009). The role of small wort peptides in brewing fermentations. *J. Inst. Brew.*, 115 (2), 134-139
21. Michałowska D. (2002). Charakterystyka browarniczych właściwości jęczmienia browarnego proponowanych do uprawy w Polsce. Sprawozdanie z tematu badawczego, Warszawa: Wyd. IBPRS
22. Moll M. (1996). An update of analytical procedures for the determination of malt modification and malt homogeneity. *Mo. f. Brauwiss.*, 49, Part I – nr 3/4: 92-97; Part II – nr 5/6: 171-177; Part III – nr 9/10, 283-296, Part IV – 1997. 50, nr 1/2, 12-57
23. Narziss L. (1992). *Die bierbrauerei*. Vol. 2 *Technologie der Wurzebereitung*. 7th ed. Stuttgart: Enke
24. Pecio A., Bichoński A. (2006). Reakcja wybranych odmian jęczmienia browarnego na różnicowane nawożenie azotem. *Pam. Puł.*, 142, 333-348
25. Siebert K. J., Knudson E. J. (1989). The relationship of beer high molecular weight protein and foam. *Tech. Quart. Master Brew. Ass. Am.*, 26 (4), 80-85
26. Stewart G. G. (2010). High-gravity brewing and distilling – past experiences and future prospects. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 68 (1), 1-9