

Селина И.В., с.н.с.; Созинова М.С., с.н.с., Козлов В.И., инж.
ВНИИПБиВП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
(Россия, г. Москва)

ВЛИЯНИЕ АЗОТИСТЫХ ВЕЩЕСТВ И УГЛЕВОДОВ НА КАЧЕСТВО ПИВА

Аннотация. Рассмотрено влияние содержания азотистых веществ и углеводов на образование высших спиртов и органических кислот, определяющих органолептический профиль готового пива. Содержание азотистых веществ и углеводов в сусле и пиве зависит от их исходного содержания в зерновом сырье, от активности комплекса ферментов, гидролизующих высокомолекулярные белки и крахмал до низкомолекулярных соединений. Продукты гидролиза биополимеров зерна в виде моно- и дисахаридов, а также пептидов и аминокислот в виде растворимых фракций, важны для питания дрожжей в процессе брожения пивного сусла, что в конечном итоге обуславливает органолептический профиль готового пива. Для пивоваров необходимо оптимальное соотношение растворимого белка и сбраживаемых углеводов. Это связано прежде всего с тем, что большинство применяемых в настоящее время добавок приводят к снижению содержания белка и повышению углеводной составляющей, что отражается на образовании побочных продуктов брожения.

Ключевые слова: азотистые вещества, аминокислоты, высшие спирты, органические кислоты, органолептический профиль пива.

I.V. Selina, Senior Researcher, M.S. Sozinova, Senior Researcher, V.I. Kozlov, Engineer
All-Russian Scientific Research Institute of the Brewing, Non-Alcoholic and Wine Industry -
Branch of the V.M. Gorbатов Federal Research Center of Food Systems of RAS, Moscow, Russia

NITROGEN SUBSTANCES AND CARBOHYDRATES INFLUENCE ON BEER QUALITY

Annotation. Considered the influence of the content of nitrogenous substances and carbohydrates on the formation of higher alcohols and organic acids, determining the organoleptic profile of the finished beer. The content of nitrogenous substances and carbohydrates in wort and beer depends on their initial content in the grain raw material, on the activity of the enzyme complex, hydrolyzing high-molecular proteins and starch to low-molecular compounds. Grain biopolymers hydrolysis products in the form of mono- and disaccharides, as well as peptides and amino acids in the form of soluble fractions, are important for feeding yeast during beer wort fermentation, which ultimately determines the organoleptic profile of the finished beer. For brewers, an optimal ratio of soluble protein and fermentable carbohydrates is necessary. This is due primarily to the fact that most of the additives currently used lead to a decrease in the protein content and increase in the carbohydrate component, which effects on the formation of fermentation by-products.

Key words: nitrogenous substances, amino acids, higher alcohols, organic acids, beer organoleptic profile.

Известно, что продукты расщепления белков, которые входят в состав экстрактивных веществ пивного сусла, имеют большое значение для формирования вкусовых и пенистых свойств пива, а также его коллоидной стабильности. Необходимо иметь в виду, что низкомолекулярные продукты распада белков – аминокислоты необходимы для жизнедеятельности пивных дрожжей [1,2,8]. Присутствие низкомолекулярных пептидов в среде способствует

наилучшему усвоению аминокислот. Азотистые вещества составляют 0,8-1,2% от общего содержания сухих веществ пивного суслу, из них 25-45% азота приходится на долю аминокислот, 30-40% – полипептидов и около 10% - на долю пуринов и на долю высокомолекулярных белков с м.м. более 4000 – 16-20%.

Если в пивном сусле содержится менее 200 мг/дм³ аминного азота, происходит ослабление бродильной активности дрожжей и их флокуляционной способности. Отсутствие в среде некоторых аминокислот тормозит размножение дрожжей, а от количественного и качественного состава азотистых веществ зависит процесс образования высших спиртов, эфиров и вицинальных diketонов (влияние оказывает как низкое, так и высокое содержание азота).

По составу суслу и по концентрации свободного α -аминного азота сусло с массовой долей сухих веществ 12%, приготовленное из 100% солода, содержит около 250 мг/дм³ свободного α -аминного азота. Если часть солода (до 30%) заменить мальтозной патокой, его концентрация снижается до 180 мг/дм³.

Необходимо отметить, что отношение углерод/азот при этом увеличивается, что ведет к повышению содержания высших спиртов, особенно изоамилового. Концентрация в пивном сусле по отдельным аминокислотам составляет (мг/дм³): аспарагиновая - 25÷105; глутаминовая - 20÷120; серин - 20÷140; аргинин - 10÷60; лизин - 20÷50; треонин - 20÷140; лейцин - 60÷310; изолейцин - 20÷150; валин - 50÷250; метионин - 10÷60; гистидин - 10÷190; глицин - 10÷60; фенилаланин - 50÷220; тирозин - 40÷200; триптофан - 30÷60; аланин - 40÷190; пролин - 150÷700 [4,7].

На процесс протеолиза, во время которого происходит перевод нативных белковых веществ в растворимое состояние, существенную роль оказывают: режим затирания, его начальная температура, продолжительность температурных пауз, значение рН.

Как показали результаты исследований [3], при гидролизе белков при температуре 62°C и времени 20 минут накапливается 104 мг/дм³ пролина, с увеличением продолжительности гидролиза до 40 минут его количество снижается до 84 мг/дм³. Аналогичным образом наблюдается снижение аспарагиновой и глутаминовой кислот, а также серина.

Независимо от длительности выдержки затора остаются неизменными треонин и γ -аминомасляная кислота. Изменение остальных аминокислот в зависимости от времени выдержки не подлежит систематике.

Эти факторы в свою очередь сказываются на содержании диацетила и ацетолактата в готовом пиве.

Так, содержание общего азота в сусле до 122 мг/100 см³ приводит к образованию диацетила до 0,58 мг/дм³, а снижение температуры затирания с 62°C до 50°C и 35°C позволяет снизить содержание диацетила и ацетолактата в 20 раз [6].

Как показали результаты исследований, в присутствии таких аминокислот, как лейцин, изолейцин и валин образование высших спиртов протекает очень быстро и их содержание достигает до 400 мг/дм³ (особенно изоамилового), что в 4 раза превышает количество образовавшихся высших спиртов в присутствии сульфата аммония. Это является косвенным показателем того, что дрожжи в присутствии аминокислот образуют не только высшие спирты, но и другие продукты, и что дрожжи способны усваивать аминокислоты без предварительного дезаминирования. Подобные данные были получены в работе [5], где было показано, что около 50% аминокислот пивными дрожжами ассимилируются без предварительного расщепления.

Недостаток в азотистом питании при снижении уровня общего азота и при значительном содержании сбраживаемых углеводов в среде приводит к увеличению образования высших спиртов на единицу биомассы дрожжей [3].

Если среда обедняется по аминному азоту, происходит изменение в соотношении основных компонентов высших спиртов, а именно повышается содержание n -пропилового спирта и уменьшается - изоамилового [5,6].

При введении аминокислот в сбраживаемую среду в присутствии сахарозы происходит значительное увеличение накопления высших спиртов, особенно изобутилового и изоамилового. Суммарная их концентрация может превышать контрольный вариант (без аминокислоты) от 1,7 до 49 раз (таблица 1).

Таблица 1 – Образование изобутилового и изоамилового спирта (в мг/дм³) в присутствии аминокислот и сахарозы

Состав смеси	Массовая концентрация высших спиртов		
	изобутилового	изоамилового	сумма
Контроль (дрожжи+сахароза)	16,0	14,25	30,25
Дрожжи+сахароза+аминокислоты:			
Гликокол	34,0	20,75	54,75
Метионин	41,50	150,75	192,25
Триптофан	43,25	127,50	170,75
Гистидин	93,75	32,50	126,25
Цистеин	75,00	62,00	137,00
Фенилаланин	85,35	125,00	210,35
Глутаминовая кислота	215,00	162,00	377,00
Лейцин	130,00	1350,00	1480,00
Сусло+пировиноградная кислота	45,50	135,00	180,50

По мнению авторов, это можно объяснить следующим:

1. В результате спиртового брожения из углеводов образуется пировиноградная кислота, далее она вступает в реакцию переаминирования с лейцином с образованием аланина и α -кетоизокапроновой кислоты. Последняя, после декарбоксилирования превращается в изоамиловый спирт.

2. Пировиноградная кислота вступает в реакцию конденсации с ацетил - КоА, и, таким образом, происходит наращивание углеродной цепочки. Это подтверждает тот факт, что процессы образования сивушных масел и дистилляции углеводов взаимосвязаны.

Известны данные, описанные в литературе, в которых аминокислоты подразделяются на хорошо усваиваемые (I) и плохо усваиваемые (II). К первой группе следует отнести следующие: аспарагиновая кислота, аргинин, валин, гистидин, изолейцин, триптофан; ко второй - лейцин, метионин, тирозин, треонин, серин и лизин [2].

Как было установлено в работе [1], уровень синтеза высших спиртов снижается в 1,3-1,6 раза на средах, сбалансированных по аминному составу в результате гидролиза белков пшеничного сусла ферментами (таблица 2). Это связано, вероятно, с повышением бродильной активности дрожжей и продуктивности клеток.

Таблица 2 – Содержание метаболитов, синтезируемых дрожжами *S. cerevisiae* при сбраживании пшеничного сусла, обработанного протеазами

Продукты брожения	С протеазами	Без протеаз
Количество дрожжевых клеток, млн/дм ³	138	71
Выход этанола из 100 г крахмала, см ³	68,0	66,2
Побочные метаболиты, мг/дм ³		
Высшие спирты		
1-пропанол	1092,66	904,50
2-пропанол	0	0

1-бутанол	8,35	8,19
2-бутанол	0	0
Изобутанол	882,0	1024,59
1-пентанол	0	0
Гексанол	15,83	17,44
Изоамилол	1217,14	3041,22
Метанол, % об.	0,153	0,167

Следует иметь в виду, что если содержание аминокислот превышает потребность дрожжей в них, они трансаминируются с образованием α -оксикислот, далее происходит декарбоксилирование и восстановление их до высших спиртов.

Синтез высших спиртов интенсифицируется (практически, в 2 раза) в присутствии α -аланина, α -аминомасляной кислоты, глицина, валина, лейцина и изолейцина, а при введении аланина – уменьшается [5].

В последние годы работами многих исследователей утвердилось мнение и убедительно показана тесная взаимосвязь углеводного и азотистого обмена при образовании высших спиртов. Дрожжи в процессе метаболизма продуцируют 2-оксикислоты, которые переаминируются до аминокислот или декарбоксилируются до альдегидов, а затем происходит образование спиртов.

В таблице 3 представлено участие различных аминокислот в образовании высших спиртов [1].

Таблица 3 – Участие аминокислот в образовании высших спиртов

Аминокислота	2-оксикислота	высший спирт
Треонин	2-оксобутират	н-пропанол
Валин	2-оксоизовалерат	изобутанол (2-метилпропанол)
Лейцин	2-оксоизокапронат	изоамиловый спирт (3-метилбутанол)
Изолейцин	2-оксо-3-метилвалерат	оптически активный изоамиловый спирт (2-метилбутанол)
Фенилаланин	2-оксофенилпируват	фенилэтанол
Тирозин	2-оксо-р-гидроксифенилпируват	тирозол

Таким образом, важными факторами в регулировании синтеза высших спиртов из 2-оксикислот являются форма азотистых веществ и скорость роста дрожжевых клеток.

Необходимо отметить, что многие исследователи считают наиболее значимым фактором соотношение сбраживаемых углеводов с ассимилируемыми азотистыми соединениями. Это соотношение и определяет скорость сбраживания сусла и продуцируемые летучие вкусовые компоненты пива [5,6].

Органические кислоты участвуют в снижении величины рН в процессе брожения и придают пиву не только кислый, но и специфический вкус и запах [2,7]. В таблице 4 показано влияние присутствия уксусной и молочной кислот на органолептику пива.

Янтарная кислота, образующаяся в результате дегидрирования и конденсации уксусной кислоты, придает продукту горько-соленый привкус.

Помимо пути дегидрирования и конденсации существует другой путь образования янтарной кислоты – это дезаминирование глутаминовой кислоты. Есть ссылки, указывающие на образование янтарной кислоты из сахара и из уксусной кислоты [7].

Таблица 4 – Влияние уксусной и молочной кислот на сенсорный профиль пива

Органическая кислота	Номер термина 1-го и 2-го уровней	Влияние на пиво	Ассоциативный термин (привкус и запах)
Уксусная	0910	Присутствует во всех сортах пива Off-flavour при высоких концентрациях	Уксусный запах и кислый вкус
Молочная	0920	Присутствует во всех сортах пива Off-flavour при высоких концентрациях	Запах и привкус скисшего молока

Однако, сама по себе уксусная кислота метаболически инертна и только после «активирования» за счет фосфатных связей посредством коэнзима А через ацетил-КоА, она конденсируется в янтарную кислоту [5, 6].

Известно, что спектр органических кислот, являющихся естественными продуктами жизнедеятельности дрожжей, зависит от состава сусле, режимов брожения и от штаммовых характеристик дрожжей. Центральную роль в их синтезе выполняют пируват и ацетил-КоА, принимающие участие в цикле трикарбоновых кислот. Концентрация ионов органических кислот в пиве представлена в таблице 5 [2].

Таблица 5 – Концентрация ионов органических кислот в пиве

Наименование иона органической кислоты	Концентрация, мг/дм ³
Пируват (пировиноградная)	37-60
Кислоты из цикла трикарбоновых кислот:	
- цитрат (лимонная)	90-390
- малат (яблочная)	30-50
- сукцинат (янтарная)	50-150
- 2-оксоглутарат (кетоглутаровая)	0-60
- лактат (молочная)	30-530
- ацетат (уксусная)	10-130

Практически, количество всех органических кислот (за исключением уксусной и лимонной), содержащихся в пиве, значительно ниже порога ощущения (таблица 6).

Таблица 6 – Концентрация ионов органических кислот в пиве и факторы, определяющие их синтез

Ион органической кислоты	Концентрация в пиве, мг/ дм ³	Порог ощущения, мг/ дм ³	Факторы, определяющие синтез
Ацетат	30-200	130	Физиологическое состояние дрожжей Контаминация пива уксусно-кислыми бактериями Плохой санитарный контроль
Цитрат	90-300	170	Физиологическое состояние дрожжей Контаминация пива бактериями Плохой санитарный контроль

Пируват	37-60	250-300	Физиологическое состояние дрожжей
Лактат	7-60 (до 500 при биологическом подкислении)	400	Физиологическое состояние дрожжей Биологическое подкисление

Следует иметь в виду, что дрожжи различаются по способности образовывать те или иные продукты брожения, однако, по определенным соотношениям основных из них (высших спиртов, эфиров, альдегидов, органических кислот) можно судить о благоприятном течении процесса брожения.

Анализируя литературные данные, можно сделать вывод, что физико-химический состав и органолептический профиль готового пива определяется содержанием высших спиртов, эфиров, карбонильных соединений, органических кислот, углеводов, глицерина и других соединений, образующихся в процессе брожения, синтез которых, в свою очередь, зависит от качественного и количественного состава используемого зернового (солод, несоложеное сырье) и сахаросодержащего сырья; технологии получения пивного сусла; расы дрожжей и режимов брожения и созревания пива.

Список литературы

1. Кунце В., Мит Г. Технология солода. – СПб.: Профессия, 2003. – 912с.
2. Главачек Ф., Лхотский А. Пивоварение. - пер. с чеш. – М.: Пищевая промышленность, 1997. – 624 с.
3. Булгаков Н.И. Биохимия солода и пива. - М.: Пищевая промышленность, 1976. - 358 с.
4. Меледина Т.В. Сырье и вспомогательные материалы в пивоварении. – СПб.: Профессия, 2003 – 304с.
5. Коновалов С.А. основы физиологии питания дрожжей. – М.:Пищевая промышленность, 1972 – 162с.
6. Прист Ф.Дж., Кемпбелл Й. Микробиология пива. – СПб.: Профессия, 2005. – 368с.
7. Меледина Т.В., Дедегкаев А.Т., Афонин Д.В. Качество пива: стабильность вкуса и аромата, коллоидная стойкость, дегустация – СПб.: ИД «Профессия», 2011 – 220с.
8. Гернет М.В., Кобелев К.В., Грибкова И.Н., Данилян А.В. Исследование влияния состава сырья на качество и безопасность готового пива // Пиво и напитки. -2015. - №3. – С. 34-37.