

Fertman, G. I.; Gorinshtein, Sh. B. 1969. Proteins in beer and their influence on the quality of the product. Central Institute of Science Information of Food Industry of the Ministry of Food Industry SSSR. Moscow, Review. pages 3-33. Language: Russian, Database: CAPLUS

In the review was described the characterization of protein substances in beer, which make the beer unstability. There are different methods of beer filtration, shown their comparison data in connection with different amounts of protein substances in beer. Described as well the method of electrophoresis of proteins and the results of spectrochemical analysis of metals in beer. The list of the references can be found in ZINTI pishcheprome.

Циф. 17.566



БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ПИВА
И ИХ ВЛИЯНИЕ НА КАЧЕСТВО
ГОТОВОГО ПРОДУКТА



Минск — 1969

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ
ИНФОРМАЦИИ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
МИНИСТЕРСТВА ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ СССР

Г. И. ФЕРТМАН, И. Б. ГОРИНШТЕЙН

БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ПИВА И ИХ ВЛИЯНИЕ
НА КАЧЕСТВО ГОТОВОГО ПРОДУКТА

Москва — 1969

УДК 663.46.007.1 : 547.96

В обзоре дается краткая характеристика белковых веществ пшеницы, обуславливающих его помутнение. Описаны методы флотации пшеницы, приведены их сравнительные данные в связи с различным содержанием и составом белковых веществ. Описаны методы проведения электрофореза белков пшеницы и результаты его электрохимического анализа.

Список использованной литературы находится в ЦИИПИищепрома.

Ответственный за выпуск *С. А. Михайлов*

Литературный редактор *О. П. Давыдова*

Технический редактор *И. С. Винова*

Корректор *Т. Болотни*

Адрес ЦИИПИищепрома: Москва, Г-09, ул. Варшавского, 22

Подписано в печать 16/III-70 г.

Л141965

Формат 64×90

Объем 2 с. л.

Уч. изд. л. 188

Тираж 2700 экз.

Цена 13 коп.

Изд. № 144

Зак. 40740

Машинно-литературная обработка типографии
Валужского областного управления по печати

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БЕЛКОВ

Белки по своему биологическому значению являются самыми важными составными частями организма.

Амфотерная природа, большая адсорбционная емкость, способность к гидратации и чувствительность к электролитам обуславливают значительную изменчивость поведения белков в зависимости от состава, pH и температуры среды. Кроме того, они обычно встречаются в смеси друг с другом в различных количественных соотношениях и в различных состояниях — в твердом виде и в растворах.

Такие сложные вещества, как пищевые продукты, обычно анализируют на общее содержание белков и белковых фракций.

По своему составу белки отличаются от углеводов и жиров тем, что, кроме углерода, водорода и кислорода, в молекулах белка содержится азот, а иногда и фосфор. Процентное содержание этих элементов в растительном белке при пересчете на сухое вещество следующее: углерода — 55,6—56,0; водорода — 21,5—23,5; кислорода — 6,5—7,3; азота — 15,0—19,3; серы — 0,3—2,5; фосфора — 0,0—0,9.

На основании изучения белков различными физическими и физико-химическими методами установлено отличие их друг от друга по форме молекул. В настоящее время все белки делят на фибриллярные и глобулярные. К группе глобулярных белков относится большинство растительных и животных.

За последние десять лет достигнуты большие успехи в области экспериментального исследования структуры глобулярных белков, которые оказались частично микрокристаллическими системами. Было показано, что кристаллические участки белковых молекул имеют спиральную структуру.

Имеется большое количество различных глобулярных белков сложной конфигурации.

Стабильность глобулярной конформации приписывается в основном гидрофобным взаимодействиям. Степень спиральности белков может быть определена на поляриметрических

данных, если предположить, что все спирали имеют один знак закручивания. Степень спиральности меняется с изменением аминокислотного состава. Такие белки, как сывороточный альбумин, яичный альбумин, β -амилаза, карбоксипептидаза, лактикодегидрогеназа и лизоцим, в значительной мере содержат α -спирали, тогда как α -амилаза, флактоглобулин, α -хитотрипсин и трипсин в основном неспиральны. Неспиральны также пепсин и γ -глобулин.

Установлено, что молекулярный вес белков большой, поэтому их относят к высокомолекулярным соединениям.

При нагревании белков до 100°C или при воздействии на них кислотами, щелочами, мочевиной, солями тяжелых металлов и другими веществами белковые растворы свертываются (коагулируют) и образуются необратимые осадки. При этом в нативном белке происходят внутримолекулярные изменения, ведущие к изменению физических, химических, и биологических свойств белка под влиянием различных возмущений, называемые денатурацией. Раньше считали, что денатурация — процесс необратимый, однако современные данные указывают на то, что первый этап денатурирования не всегда приводит к глубоким изменениям в структуре белков и является обратимым. Соли тяжелых металлов, например меди, свинца, железа, вызывают необратимую денатурацию белка. Соли щелочных металлов вызывают обратимое осаждение белков — высаливание.

Почти все белки подвергаются воздействию ионов H^+ или OH^- при их достаточных концентрациях.

ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ ПИВА

Содержание белка в ячменном зерне колеблется от 7 до 20% на сухое вещество.

При прорастании находящиеся в ячменном зерне белковые вещества гидролизуются протеолитическими ферментами, выделяемыми зародышем, до аминокислот и пептидов.

Содержание азотистых веществ в пивоваренном ячмене колеблется в довольно широких пределах. В оценке белковистости ячменя следует придавать значение качественному составу азотистых веществ. Для оценки качества ячменя необходимо знать содержание общего белка и характеристику отдельных белковых фракций.

На основании работ, проведенных в связи с изучением отдельных фракций ячменного белка, их можно охарактеризовать следующим образом:

ячменный альбумин (ленкозин) — белок, растворимый в воде и разбавленных солевых растворах;

ячменный глобулин (хлестин) — белок, растворимый в разбавленных солевых растворах, но не растворимый в чистой воде.

Глобулин ячменя методом электрофореза и ультрацентрифугированием разделен на четыре фракции — α , β , γ , δ .

Сведбергом установлено, что при соложении β -глобулин не подвергается гидролизу в отличие от α и γ -глобулинов, содержание δ -глобулина в ячмене незначительно. Глотелин — белок, растворимый в слабощелочных растворах. Протамин (горденин) растворим в 60—70% ном этаноле. Горденин состоит из пяти электрофоретических различных компонентов (α , β , γ , δ , ϵ), состав которых отличается по количеству аминокислот. Горденин в процессах приготовления солода и пива участвует в незначительной степени, так как он не растворим и переходит в дробину. По Осборну при соложении в ячмене 10,75% общего белка на долю альбумина приходится сравнительно мало (0,30 или 2,8% общего белка), глобулина значительно больше (1,95 или 18,1% общего белка), протамина большое количество (4,00 или 37,2% общего белка). Количество нерастворимых белков составляет 4,50% или 41,9% общего белка.

Лундин установил, что содержание нерастворимых белков (альбумина и глобулина) ячменя составляет 15,6—19,7% (от общего количества белков), и распределение их между отдельными фракциями следующее: альбумина 6,0—8,7%, глобулина 9,6—11,0%. При этом фракция глобулина делится на α -глобулин (3,5%), β -глобулин (3,6—5,0%) и γ -глобулин (2,5%).

Состав белковых веществ солода зависит от способа его приготовления.

Изменение состава белков светлого солода при термической обработке показало, что при нагревании их до 140°C происходит коагуляция высокомолекулярных фракций растворимых белков и уменьшение их количества вдвое, а также частичное разрушение белковых молекул и обогащение сусле пептидами и пептоном. Повышение температуры до 200°C вызывает более глубокий распад растворимых форм белка. Не растворимые в сусле белки (глотелин и протамин) при нагревании до 140°C частично теряют способность растворяться в специфических растворителях. При 200°C их растворимость несколько повышается. Наибольшей пенообразующей способностью обладают глобулины, способствующие образованию высокой компактной и устойчивой пены. В присутствии альбумина образуется небольшое количество крупноячеистой и быстроразрушающейся пены. Правильность распада белков

вых веществ во время затирания имеет большое значение для получения качественного состава пива.

Из общего количества белка, содержащегося в солоде, в среднем 35% переходит в сусло; более 50% его находится в солоде в растворимом состоянии, оставшиеся 15% переходят при катализе протеолитических ферментов. При затирании образуется много солей, что создает значительную концентрацию электролитов, способных растворить такие белковые вещества, как глобулины, а также альбумины. Образовавшиеся при сложении продукты распада белков — полипептиды и аминокислоты не выделяются из раствора во время кипячения «стойко растворимые белки».

Настоящие белки при кипячении их раствором коагулируют. Фракции белковых веществ, составляющие коагулируемый белок, стойко растворимый белок и настоящие растворимые белковые вещества, а также продукты белкового расщепления называют «растворимыми белками».

Стойко растворимыми белковыми веществами являются первые продукты распада: дипептиды, трипептиды и полипептиды. В состав полипептидов входят протеозы и пептины. Эти вещества обуславливают вкус и цвет пива. При нагревании они не коагулируют, но представляют собой характерную коллоидную систему. При затирании белковые вещества расщепляются только на $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$, но продукты их разложения очень сложны.

Если при соложении не достигается нужная величина распада белковых веществ, то при затирании нельзя добиться этого распада, так как получаемые продукты распада на этих стадиях различны.

При затирании белковые вещества в результате кипячения подвергаются частичному свертыванию. Из четырех фракций глобулина при повышении температуры до 70°C частично или полностью осаждаются только три фракции (α , γ и δ), а β -глобулиновая фракция остается в растворе и является источником помутнения.

Расщепление белковых веществ в заторе происходит ферментативным путем, денатурированные белки обладают большей атакуемостью, чем недеенатурированные.

Денатурация в пивоваренном производстве происходит в процессе кипячения.

Протеиназы солода гидролизуют все настоящие белки, т.е. не только лейколин и элестин, но и гордени и глютелин, превращая их в некоагулирующие — протеозы и сложные полипептиды. Гидролиз этих продуктов распада до аминокислот осуществляется пептидазами. Протеиназы гидролизуют пептидные связи не только в белках, но и в полипептидах и ди-

же дипептидах, что сопровождается накоплением аминокислот.

При затирании белковые вещества начинают распадаться при 45—50°C, а максимальный распад белков происходит при 60°C. Оптимальное действие протеиназ в чистых растворах белков отмечается при pH 4,5—5,5, а пептидаз, обладающих optimumом гидролиза, — при pH 7,0.

Для качества пива имеют значение те белковые вещества сусла, которые остаются в растворенном состоянии и после кипячения. Важны стойко растворимые белки, высшие продукты распада, высаливаемые сернокислым магнием, аминокислоты, а также аминокислоты и низшие полипептиды, определяемые формальным титрованием.

РОЛЬ БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОМУТНЕНИИ ПИВА

Различают несколько видов помутнения пива: коллоидное (белковое и металло-белковое), биологическое, химическое (оксалатное), декстриновое и антисептическое. Наиболее опасным для качества пива является белковое помутнение, связанное с большим содержанием в пиве нерасщепленных белков высокомолекулярной фракции. Современными методами анализа (ультрацентрифугированием, электрофорезом, хроматографией) установлено, что белковая часть мутн состоит из растворимых и нерастворимых в спирте фракций, которые по аминокислотному составу подобны горденну и β -глобулину ячменя. Белковое помутнение может быть обратимым и необратимым. Обратимое помутнение или помутнение от охлаждения образуется при снижении температуры пива до нуля. При повышении температуры до 20°C помутнение в большинстве случаев исчезает. Необратимое — окислительное помутнение — образуется медленно и при нагревании не исчезает. Оно характерно для пастеризованного пива.

Установлено, что белковое помутнение пива связано с составом исходного продукта — ячменя, в котором содержатся белки различного молекулярного веса и растворимости. В пиве в небольшом количестве остается альбумин, который при кипячении отварок и сусла коагулирует не полностью, так как его изoeлектрическая точка находится при более высоком значении pH, чем pH обычного сусла.

Помимо белков и белковоподобных веществ, в состав мутн входят также углеводы и полифенолы. Последние, обладая отрицательным зарядом, способствуют выпадению белковой мутн при определенных значениях pH, температуры и наличии поверхностно-активных веществ. Содержание полифено-

ловых соединений в муте охлаждения и постоянной муте составляет 20—35%. Углеводов и белков в муте пива значительно меньше, чем белковых и полифенольных соединений. Углеводы с высоким молекулярным весом отсутствуют, но постоянно содержится около 3—12% остатков гексоз, пентоз, а также глюкозы, маннозы, рибозы, арабинозы, ксиллозы. Кроме органических соединений, в постоянной муте пива установлено наличие химикатов и металлов (меди и железа).

В результате затирания и кипячения в сусле остается β-глобулин, содержащий серу. При окислении этих веществ образуются высокомолекулярные соединения. Дегидратация их приводит к образованию муты, что объясняют образованием сложных соединений путем взаимодействия белковых и дубильных веществ.

При высоком содержании меди, железа, олова в готовом продукте образуются комплексные соединения этих металлов с белками, которые называют так называемое металл-белковое помутнение. Готовое пиво содержит также редуцирующие вещества, обладающие способностью связывать кислород, и предохраняя белки от окисления, препятствуют выпадению муты.

Культурные дрожжи при неполном ображивании или малом содержании углекислоты могут быть причиной муты (биологическое помутнение).

Степень осветления пива естественным путем при дображивании и выдержке не достигается — пиво остается мутным и требует фильтрации. В настоящее время существует три способа осветления пива: фильтрация через фильтрационную массу, фильтркартон или фильтровальные порошки (диатомит); добавление осадителей (бентонит, полиакриламид, полиамидные смолы) и сепарирование.

ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ПИВА В ПРОЦЕССЕ СЕПАРИРОВАНИЯ И ФИЛЬТРАЦИИ

Положительной стороной сепарирования пива является полная механизация процесса и, как следствие, большой экономический эффект. Однако пиво, полученное сепарацией, обладает пониженной коллоидно-белковой стойкостью по сравнению с фильтрованным. Фильтрация пива обеспечивает его белковую стойкость, но экономически менее выгодна.

Если увеличить коллоидно-белковую стойкость пива путем введения защитных коллоидов органического происхождения, то метод сепарации будет более эффективным, чем другие.

Для выяснения изменений состава пива в процессе осветления в нем определяли цветность, рН, наличие дрожжевых

клеток, содержание мальтозы, общего азота, азотистых веществ (по Лундину) и предел осаднения.

Содержание коллоидов находили путем их осаждения смесью этилового спирта и эфира с последующим промыванием той же смесью, высушиванием и взвешиванием осадка, общий азот — методом Кьельдаля, фракции — по Лундину.

Цветность пива устанавливали фотоэлектроколориметрическим методом Г. Д. Ратушного на ФЭК-11-57, а мутность — по коэффициенту светопоглощения. Поверхностное натяжение определяли с помощью прибора Ребиндера, коллоидно-белковую стойкость пива устанавливали по пределу осаждения насыщенного раствора сульфата аммония.

Исследования по сепарированию и фильтрации Жигулевского пива проводили на Львовском пивоваренном заводе. Пробы сепарированного пива отбирали непосредственно с сепараторов «Де Лаваль» производительностью 900 дал/ч и ВСП (завод «Смычка») производительностью 600 дал/ч через определенные интервалы: до сепарирования, первые порции после сепарирования 100, 250, 1000, 2500 дал и по окончании сепарирования. Полученные данные представлены в табл. 1.

В процессе сепарирования в пиве происходит незначительное снижение цветности и содержания общего азота. Наибольшая коллоидно-белковая стойкость пива, лучшее осветление и наименьшее содержание дрожжевых клеток достигаются при сепарировании на сепараторе ВСП.

Следовательно, осветляющий эффект пива при сепарировании обратно пропорционален производительности сепаратора.

Были также проведены опыты по фильтрации пива через улучшенный образец фильтрационной массы, изготовленный из смеси сырья 60% лигита и 40% пуха Евлаховского хлопкозавода (образец 1). Сырье для этого образца содержало наименьшее количество воскообразных веществ. Микроструктура такого хлопкового волокна имеет наименьшее количество пустот, заполненных воздухом, препятствующих проникновению при обработке лигита и пуха в пустоты водных растворов.

Для оценки качества фильтрующих материалов определяли в них содержание воскообразных веществ, зольность, а также адсорбционную и фильтрующую способность.

Адсорбционную способность фильтрующих материалов устанавливали по методу Де Клерка, фильтрующую — оценивали в заводских условиях путем фильтрации пива на 48-рамном фильтре.

Полученный образец имел следующие показатели: содержание воскообразных веществ 0,2%; зольность 0,4% (на абс. сухое вещество); адсорбционная способность — 6% мутности

Пробы пива	Львенть, мг мл в растворе	рН	Содержание дрожжевых клеток в 1 мл	Содержание малтозы в 100 мл	Содержание азота, мг/100 мл			Предел освет- нения пивом по стандарту в мм/100 мл		
					общего	Фракции по Лундону				
						A	B		C	
До сепарирования Первые партии	1,31	4,58	61400	2,42	57,96	15,09	5,20	37,87	7,0	
	1,26	4,58	900	2,42	57,24	14,41	3,17	37,46		
	После сепарирования:	1,26	4,59	900	2,42	57,24	14,40	5,18		37,66
		1,26	4,59	900	2,42	57,24	14,40	5,18		37,66
		1,26	4,59	900	2,42	57,24	14,39	5,20		37,65
		1,26	4,59	900	2,42	57,24	14,39	5,20		37,65
До сепарирования Первые партии	1,24	4,58	61400	2,42	57,96	15,09	5,20	37,67	8,0	
	1,24	4,58	800	2,41	55,40	12,59	5,15	37,65		
	После сепарирования:	1,24	4,59	600	2,40	55,47	12,98	5,15		37,66
		1,24	4,59	600	2,40	55,47	12,68	5,15		37,66
		1,24	4,59	600	2,40	55,47	12,68	5,15		37,66
		1,24	4,60	680	2,40	55,47	12,98	5,15		37,66
После осветления сепарированно	1,23	4,60	680	2,40	55,47	12,68	5,15	37,66	8,0	

стандартного раствора, фильтрующая способность 13,21 $\text{дл}/\text{л}^2 \cdot \text{ч}$

Анализ проведенных опытов показывает, что в процессе фильтрации через фильтрационную массу цветность и содержание дрожжевых клеток снижаются (табл. 2). Количество общего азота уменьшается за счет высокомолекулярных белков фракции А. Содержание мальтозы во всех перечисленных образцах в процессе фильтрации изменялось мало.

Вследствие повышенной адсорбции величина рН при фильтрации через фильтрационную массу незначительно увеличивается.

Пиво, отфильтрованное через фильтрационную массу, имело большой предел оседания (12 мл аммония на 100 мл пива). Сравнивая данные табл. 1 и табл. 2 видим, что при фильтрации и сепарировании одного сорта пива достигаются различные конечные показатели. При фильтрации более резко понижаются цветность, общий азот, азотистые соединения фракции Лундона, чем при сепарировании, в результате чего пиво после фильтрации имеет более высокую коллоидно-белковую стойкость.

Наибольшее изменение азотистого состава пива достигается фильтрацией через фильтрационную массу, наименьшее — сепарированием.

Для суждения о качестве диатомита как фильтрующего материала исследование диатомитов начинали с микроскопирования. Чем больше в нем имеется расширен диатомей игольчатой формы, тем волокнистее его структура, а чем меньше содержится кристаллов кварца, тем больше и лучше фильтрующая поверхность диатомита. Сорта, не имеющие волокнистой структуры, не пригодны для пивоварения, так как они не образуют равномерного толстого слоя на полотне фильтра.

Микроскопические исследования показали, что ахалтхский диатомит имеет волокнистую пористую структуру, основу которой составляют мелкие игольчатые цилиндрические и округлые панцири и их обломки. Американский диатомит представлен крупными ячейками сетчатой формы с включением крупных цилиндрических диатомей.

В готовых образцах диатомита (ахалтхском и американском) определяли адсорбционную способность и скорость фильтрации.

Показатели Жигулевского пива, отобранного на Львовском пивоваренном заводе, отфильтрованного через диатомитовый фильтр на лабораторной установке, определяли по общепринятым методикам.

Проба пива	Чистота, мг/100 мл в растворе 0,1 н растворе	рН	Содержание рроективных пор в 1 мл	Содержание мальтозы, г/100 мл	Содержание азота, мг/100 мл			Предел осадка при нагревании до кипения	
					Фракций по Лундону				
					А	В	С		
До фильтрации	1,31	4,56	61100	2,42	57,96	15,09	5,2	37,67	—
Первые 10 мин	1,15	4,67	1720	2,41	56,25	13,40	5,2	37,65	12,0
После фильтрации:									
100 сек	1,21	4,61	1720	2,42	56,15	13,30	5,2	37,65	12,0
250 сек	1,20	4,63	1760	2,42	55,84	12,69	5,2	37,65	10,0
1000 сек	1,20	4,67	1780	2,42	55,08	12,33	5,1	37,65	11,0
2500 сек	1,19	4,69	1800	2,41	54,71	12,06	5,0	37,65	12,0
После осветления фракции	1,19	4,71	1820	2,41	54,24	11,59	5,0	37,65	12,0

Полученные данные представлены ниже.

	Диатомит	
	ахалцихский Д1	американский Д11
Адсорбционная способность, % мутности стандартного раствора	6	6,1
Фильтрующая способность (продолжительность фильтрации 100 мл воды), мин.	25	26,0
Предел осаждения насыщенного раствора сульфата аммония, мг/100 мл пива	10	10,0
Биологическая стойкость пива, сутки	10	10,0
Появление холодной муты при температуре 0°C через, час.	38	38,0

Анализ данных показывает, что образцы ахалцихского и американского диатомита по своей адсорбционной способности, продолжительности фильтрации, пределу осаждения, биологической стойкости и холодной муты отфильтрованного пива почти одинаковы. Предел осаждения пива достаточно высок, поэтому при прочих хороших показателях (наименьшее содержание окиси железа) эти образцы диатомита могут быть рекомендованы для фильтрации пива.

За рубежом ведутся поиски заменителей диатомита. В качестве фильтрующего материала предложен Decalite-Perlite — стекловидная порода вулканического происхождения, применяемая после измельчения и прокалывания. Высокопористый Decalite-Perlite (80—95% его объема занимают пустоты) способен задерживать частицы муты размерами меньше 1 мк.

Представляло интерес определить параметры, характеризующие процесс фильтрации пива.

Скорость фильтрации C ($м^3/м^2 \text{ сек}$) рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{V}{F \cdot \tau},$$

где V — объем отфильтрованной жидкости (пива), $м^3$;

F — площадь фильтрующей поверхности, $м^2$;

τ — продолжительность фильтрации, $сек$.

На основании проведенных опытов выведена критериальная зависимость, характеризующая процесс осветления пива:

$$C = f(P, \mu, G, r, R, V'),$$

где P — давление при фильтрации, $н/м^2$;

μ — динамическая вязкость пива, $н \cdot сек/м^2$;

- G — масса твердой фазы, отлагающейся при получении единицы объема фильтрата, $г/мл^3$;
 r — среднее удельное сопротивление осадка, $м/г$;
 R — сопротивление фильтрующей перегородки, отнесенное к единице вязкости, $м^{-1}$;
 V^* — объем фильтрата, полученного с единицы фильтрующей поверхности, $мл^3/м^2$.

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ПИВА МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА НА АГАРОВОМ ГЕЛЕ

Для разделения белков в пиве использовали метод зонального электрофореза (движение заряженных частиц в жидкости под действием электрического поля).

В этом случае раствор исследуемых веществ помещали изначально в виде более или менее узкого слоя (зоны) между двумя слоями растворителя. За достаточно большое время вещества с различной подвижностью расходились на такое расстояние, что занимаемые ими зоны не перекрывались и могли быть выделены отдельно. При этом необходимо принимать меры к предотвращению конвекционного перемещения зон, что достигается применением поддерживающих пористых сред: разрыхленных гелей, порошков, бумаги.

Электрофорез в агаровом геле введен в практику приблизительно 15 лет назад и с тех пор находит все более широкое применение, так как он обладает некоторыми преимуществами по сравнению с методом электрофореза на бумаге. Основным положительным качеством электрофореза в агаровом геле следует считать возможность проведения анализа в условиях близких к «свободной фазе». Гомогенная структура агарового геля обеспечивает получение четких электрофореграмм, а возможность наносить для разделения большие количества материала позволяет изучать также сравнительно мало концентрированные растворы.

Методика электрофореза в агаре Э. Гордона и других была модифицирована и удачно связана П. Грабарем и сотрудниками с иммунопреципитационной техникой. В результате был создан метод иммуноэлектрофореза. Но в случае применения рекомендованного П. Грабарем метода электрофореза в агаре с проточным буфером нельзя избежать сильных температурных колебаний и изменения концентрации геля во время электрофореза вследствие испарения. Этого недостатка лишена модифицированная методика электрофореза в агаре, в котором устранены испарение и смена буфера, для чего агаровую пластинку помещают в камеру необходимого размера и формы. В другой модификации поверхность геля покрывают

замазками из нейтральных материалов (поливинилхлорид). К. Гири предложил проводить электрофорез в агаре на целлофиновых пластинках. А. Илков и Т. Николов в аппаратах для электрофореза на агаре применили оригинальную методику охлаждения. В нижней части лотка, где помещается агар, располагается смоченная водой фильтровальная бумага, обдуваемая вентилятором. Благодаря испарению создается необходимое охлаждение, что позволяет более свободно выбирать силу тока и напряжение. Ими также улучшена техника нанесения стартового желобка, что благоприятно отражается на отчетливости полученных электрофореграмм.

Результаты исследований разных авторов позволяют оценить этот метод как перспективный для исследования белков. Предложенные разновидности электрофореза на агаре дают возможность одновременно проводить несколько исследований в равнозначных условиях.

В пивоварении электрофорезом белков занимались сравнительно мало. Были проведены работы по электрофорезу белков ячменя на крахмальном геле, по разделению белков с применением полиакриламида, иммуноэлектрофоретические исследования растворимых белков, а также разделение белков многоклеточной гелевой фильтрацией на сефадексе.

Как известно, на стойкость пива оказывают влияние те белковые вещества, которые остаются в нем после осветления. Поэтому более глубоко методом электрофореза был изучен белковый состав пива, осветленного разными способами.

Метод разделения белков пива электрофорезом на агаре дает возможность определить высокомолекулярные белки по фракциям. В основу применяемой методики взят метод И. Илкова и Т. Николова с некоторым изменением.

Для приготовления агарового геля промакали взвешенную порцию отечественного агара в течение суток в проточной воде и 2—4 раза (3—4 час) в дистиллированной. К набухшему агару добавляли дистиллированную воду до концентрации 2%, и смесь нагревали в течение нескольких часов на водяной бане.

Учитывая, что концентрация геля отражается на четкости электрофореграмм, она должна быть в пределах 1,5—2,0%. При более высоких концентрациях значительно увеличивается задержка белков на месте нанесения, при низких — наблюдается плохое застывание геля и разделение белков. К горячему раствору агара доливали дистиллированную воду до 2% концентрации, раствор фильтровали через слой ваты и разливали в пробирки в количествах, необходимых для одного электрофореза (50 мл). Перед работой гель растапливали нагреванием, предварительно добавив веронал-медонилоний

буфер рН 8,6 (10,32 г медивала и 1,84 г веронала на 0,5 л дистиллированной воды).

1) Стеклоянную пластинку для агара подготавливали, как лабораторную химически чистую посуду. Агаровый слой готовили на специальном столике, устанавливаемом строго горизонтально. На оба конца стеклянной пластинки размером 16×22 см помещали по полоске фильтровальной бумаги размером 5×16 см так, чтобы 1 см находил на стекло. При помощи этих полосок в дальнейшем осуществляли контакт между агаровой пластинкой и электродными кюветами. Для уменьшения сопротивления между агаровой пластинкой и буферным раствором их покрывали агаровым гелем. Металлической рамкой столика к стеклянной пластинке и полоске бумаги плотно прижимали пластмассовую рамку толщиной 2 мм. Во внутреннюю край образовавшейся ванночки наливали небольшое количество горячего раствора агара, который, застыв, закреплял рамку. Ванночку устанавливали горизонтально и в нее наливали растопленный агар для получения слоя толщиной 2 мм. После застывания агара гель вокруг пластинки и бумажных полосок обрезают шпателем и нарезают по границе стекла и бумаги.

Затем поднимали стеклянную пластинку, сгибали бумагу под прямым углом и заливали агаром разрез на стыке так, чтобы сохранить непрерывность слоя геля. После застывания агара в середине пластинки специальным ножом вырезали желобки 1,5×0,2 см (шесть-восемь штук на каждой пластинке). Желобки вырезали в направлении, перпендикулярном оси миграции, положив пластинку на миллиметровую бумагу с нанесенным рисунком. Желобки микрошпателькой заполняли пивом в количестве 0,04 мл.

Ввиду того, что содержание белков в пиве незначительное, для четкого разделения их требуется или анализировать его в больших количествах, или проводить концентрирование белков под вакуумом, или осаждением солями с последующим диализом. Последний способ очень трудоемкий и требует много времени. Поэтому в исследованиях применяли концентрирование белков пива с помощью танина и кофеина. Танин, вступая в комплекс с белком, осаждает его, а под действием кофеина белок переходит в растворенное состояние. Этим методом польские исследователи успешно концентрировали белки спинномозговой жидкости, мочи и плодовых вод.

Для исследования брали 500 мл пива и освобождали его от углекислоты путем встряхивания в колбе, затем разделяли на две равные части, осаждая белки в пиве 15 мл 4% раствора танина. При этом выпадали желтоватые хлопья осажденного белка. Анализируемую пробу переносили в специ-

альные пластмассовые стаканчики, которые помещали в универсальную лабораторную центрифугу и проводили центрифугирование (2500 об/мин) в течение 15 мин. После осветления пива проверяли полноту осаждения белков путем добавления нескольких капель танина той же концентрации. Затем повторно центрифугировали весь раствор в течение 15 мин, после чего жидкую часть раствора сливали, а осадок, содержащий осажденный белок, помещали в пробирку, которую устанавливали в центрифуге (17000 об/мин.) и к полученному осадку добавляли кофеин в количестве, превышающем вдвое количество осажденного белка (200 мг). Содержимое смешивали стеклянной палочкой и после отстаивания в течение 0,5 часа центрифугировали (2500 об/мин.) 20 мин. Полученную жидкость со сравнительно большой концентрацией белка наносили в желобок агаровой пластинки.

Исследуя полученный концентрированный белок пива, достигали четкого разделения его на фракции. В опытах был использован аппарат для электрофореза ЭФА-1, рассчитанный на одновременную работу в двух отдельных камерах.

Электрофорезную камеру с угольными электродами изготовляли самостоятельно. В нее помещали две пластинки с агаровым гелем так, чтобы в электродные сосуды погрузились соединители — фильтровальные полоски, покрытые агаром. Для лучшего контакта между агаровой пластинкой и буферным раствором сверху на полоски фильтровальной бумаги клали еще по одной полоске. Электродные сосуды заполняли веронал-медиваловым буфером. На протяжении всего времени разделения белков наблюдали за режимом разгонки (при напряжении 40—80 в в течение 5 час). Режим разгонки белков при напряжении на электродах 40; 60; 70; 80 в был равен соответственно 1; 2; 1; 1 час.

После окончания электрофореза снимали верхнее стекло и отрезали свисающие части электродных фильтровальных бумажек. Пластинку очень осторожно погружали на 12 час. в ванну с 0,2 н. раствором уксусной кислоты, а затем ее переносили в ванну с уксусной кислотой еще на 4 часа, после чего высушивали в термостате при 37°C в течение 18 час.

Высушенные пластинки окрашивали в течение 45 мин. в растворе красителя — амидошварца 10 В¹ (0,25 г амидошварца 10 В¹ растворяли в 120 мл раствора уксусной кислоты и 10 мл глицерина). Для обесцвечивания фона пластинки ее погружали на 1—2 мин. в 0,2 н. раствор уксусной кислоты, содержащий 2,5% глицерина. Высушенная электрофорезграмма на стекле была совершенно прозрачной и ее обрабатывали на регистрирующем микрофотометре МФ-4.

Точность данных электрофореза можно проверить различ-

ными способами: по поглощению ультрафиолетовых лучей; химическими методами (для этого агаровую пластинку рассекают на узкие полоски, экируют находящиеся в них вещества, а затем определяют содержание отдельных компонентов в элюатах); прямым фотометрированием агаровой пластинки после окрашивания. Самым простым и удобным методом количественного определения белков после их электрофоретического разделения является фотометрирование окрашенных зон на сухой прозрачной агаровой пленке. Электрофоретическое разделение белков сопровождается свободной диффузией, поэтому к концу электрофореза распределение молярных концентраций отдельных компонентов соответствует кривой нормального распределения или кривой Гаусса. Если допустить, что полученная интенсивность окраски какого-нибудь белка пропорциональна его концентрации, то это будет означать, что кривая распределения оптической плотности в окрашенной полоске также должна иметь вид кривой Гаусса. Площадь, заключенная между этой кривой и осью абсцисс (которая соответствует нулевой оптической плотности), служит мерой общего содержания данного вещества в пробе. Для определения содержания белка подсчитывали площадь, заключенную между соответствующей кривой и осью абсцисс, и полученный результат умножали на поправочный коэффициент k , связанный с наличием боковой свободной диффузии

$$k = \frac{l}{L}$$

где l — длина окрашенной полоски, мм;

L — длина желобка для пробы, мм.

Для выяснения зависимости коллоидно-белковой стойкости пива от содержания в нем высокомолекулярных белков проводили электрофорез белков 12 образцов пива, осветленного различными способами (фильтрующими материалами, фильтровальными порошками, осадителями и сепарированием).

В качестве фильтрующих материалов использовали фильтрационную массу (образец 1), фильтрационный картон, изготовленный из смеси 53% пуха, 40% ланта хлопчатого и 7% хризотилового асбеста (образец Ф1); халцидский диатомит (образец Д1), а также осадители бентонит, полиакриламид и полиамидную смолу «Перлит».

Опыты с Жигулевским пивом проводили на лабораторной установке при соблюдении одинаковых температурных условий, давления, а также в производственных условиях.

Для сравнения полученных фракций белка параллельно с

исследуемыми пробами пива в стартовые желобки наносили сыворотку крови. Режим работы был постоянным. На рис. 1 приведены электрофореграммы белков пива. Разная интенсивность их окраски показывает, что количество белка в пиве зависит от способа его осветления, и каждая полоска электрофореграммы соответствует образцу пива.

При сравнении полученных электрофореграмм с известными фракциями сыворотки крови установлено, что к положительному полюсу перемещаются альбумин, к отрицательному — глобулин. Следовательно, белки пива разделились на две фракции: альбумин и β -глобулин.

Разделение по фракциям подтверждает имеющиеся в литературе данные о том, что в пиве в небольшом количестве остается альбумин, который при кипячении отварок сусле коагулирует не полностью, так как его изоэлектрическая точка находится при более высоком значении pH, чем в обычном сусле, а β -глобулин — в форме продуктов неспецифического распада.

Показатели экстинкции, получаемые на микрофотометре, наносили на миллиметровую бумагу и строили кривую разделения отдельных фракций по длине электрофореграммы. По площадям пиков, соответствующим отдельным фракциям белка, высчитывали соотношения между ними, используя для этого метод взвешивания на торсионных весах типа ВТ и обрабатывали статистически по Ойвину.

На рис. 2 приведены электрофоретические кривые белка. Площадь, заключенная между каждой из кривых и осью абсцисс, характеризует содержание белков по фракциям в пиве, осветленном способом, соответствующим данной кривой.

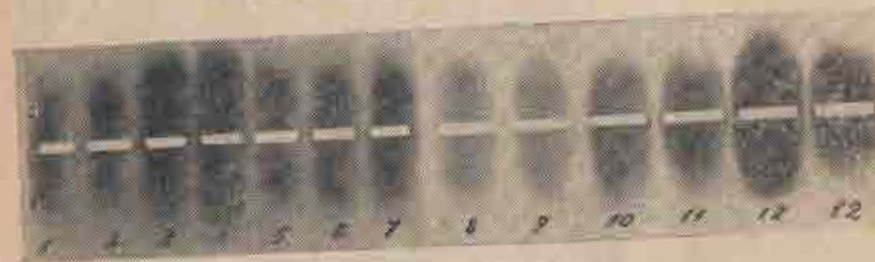


Рис. 1. Электрофореграммы осветленного пива.

1 — контроль; 2 — осветление пива образцом водителем (полиамидная смола «Перлит», бентонит, полиакриламид); 3 — масса фильтрующей массы образца Ф1; 4, 5 — смесь фильтрующей массы, фильтрующей массы образца Ф1 и осадителя бентонита (Ф1); 6, 7 — осветление пива образцом Д1; 8, 9 — осветление пива образцом Д1 и осадителя полиакриламид; 10 — осветление пива образцом Д1 и осадителя полиамидной смолы «Перлит»; 11 — осветление пива образцом Д1 и осадителя бентонита; 12 — до осветления. 1 — стартовый желобок; 2 — глобулин; 3 — альбумин.

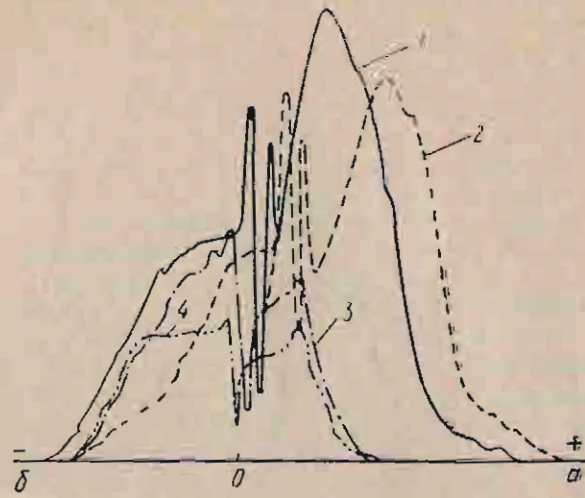


Рис. 2. Электрофоретические кривые белков осветленного пива:

1 — пиво сепарировано на сепараторе De-Laval;
2, 3 — соответственно после фильтрации через фильтровальную массу (контроль, образец № 1); 4 — осветлено эстаблешевским диатомитом.

Из рис. 2 видно, что наименьшее содержание белков имеет пиво, осветленное фильтрующими материалами, затем через диатомит и наибольшее — сепарированием.

Количество белковых фракций А, осажденных по Лундквисту, в исследуемых образцах пива соответствует данным, полученным графическим методом при электрофорезе белка.

В табл. 3 помещены данные, полученные методом электрофореза, о процентном соотношении фракций растворимых белков пива при различных способах его осветления. Соотношение белковых фракций в нефилтрованном пиве существенно несколько отличается от соотношения белковых фракций контрольного образца и остальных проб, осветленных различными способами.

Так, если процентное соотношение фракций белка (альбумина и β-глобулина) в образце неосветленного пива 59,6 и 40,4%, то при двойной фильтрации оно составляет 54,8 и 45,2% и при сепарировании 57,4 и 42,6%. Анализ этих данных свидетельствует о том, что в соотношении белковых фракций существует определенная закономерность.

Изменение соотношения белковых фракций в процессе осветления пива, очевидно, объясняется тем, что содержание альбумина снижается несколько быстрее, чем β-глобулина.

Таблица 3

Содержание фракций белка	До осветления						После осветления			После осветления образцов II			После осветления образцов I			После осветления образцов I и II (вспаривая)		После осветления образцов I и II (фильтрация)		После осветления образцов I и II (сепарирование)	
	альбумин, %	β-глобулин, %	γ-глобулин, %	α-глобулин, %	α ₂ -глобулин, %	α ₁ -глобулин, %	контрольный образец	образец I	образец II	образец I и II (вспаривая)	образец I и II (фильтрация)	образец I и II (сепарирование)	сепаратор De-Laval и De-Laval	сепаратор De-Laval	сепаратор De-Laval и De-Laval	сепаратор De-Laval и De-Laval	сепаратор De-Laval и De-Laval	сепаратор De-Laval и De-Laval	сепаратор De-Laval и De-Laval		
	40,4	43,7	41,9	45,2	45,2	41,0	41,9	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	41,8	
	45,37	12,98	36,81	35,03	35,94	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96	
	59,6	56,3	55,1	54,8	54,8	59,0	58,1	58,2	54,8	54,8	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2	
	60,91	55,4	45,19	42,47	42,47	60,91	60,91	60,91	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	42,47	
Содержание фракций β-глобулина, %	112,31	98,38	82,0	77,50	77,50	112,31	82,31	82,48	79,13	82,06	101,08	81,96	81,96	81,96	81,96	81,96	81,96	81,96	81,96	81,96	

который в дальнейшем вызывает выпадение остаточной белковой мути. Наименьшее содержание β -глобулина имеется в пиве после фильтрации через фильтрующие материалы. Ближе к ним показатели пива, осветленного фильтровальными порожками.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОПРИМЕСЕЙ НЕКОТОРЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПИВЕ МЕТОДОМ ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Для характеристики стабильности пива необходимо иметь данные не только о белковом составе его фракций, но и о содержании микрокомпонентов тяжелых металлов.

Взаимодействие ионов Cu^{+2} , Fe^{+3} , Sn^{+2} с альбумином вызывает конформацию белка. Ионы Cu^{+2} , Fe^{+3} , Sn^{+2} присоединяются к белку в двух или трех местах макромолекулы, в которых находится остаток имидазола и центральный атом азота. Даже при отсутствии многовалентных ионов металлов действие различных солей можно сравнить с денатурацией. Так, например, известно, что молекулярный вес сыровогочного глобулина при pH около 4 увеличивается в 1М-сульфате аммония или в фосфатном буферном растворе.

Аналогичным образом в 1-0,5М аммонийном буферном растворе происходит денатурация иичного албумина: белок выпадает в осадок, не растворимый в 0,1М NaCl. В лиотронных солевых растворах также происходит денатурация. Многие органические соединения различных классов действуют на белки как денатурирующие агенты.

Если в пиве имеются медь, железо и олово, то они при окислении способны образовать комплексы, дающие с белками металло-белковое помутнение.

Железо может вызывать помутнение пива даже при отсутствии кислорода в результате перехода железа с содержащимися в пиве карбонатными ионами в двухвалентное углекислое железо.

При освобождении меди из комплекса ее каталитическая активность повышается. Комплексы, содержащие катионы железа, как катализаторы более активны, чем свободные ионы железа.

В мути от окисления в большом количестве находится кальций. Медь и железо вызывают помутнения при более высокой температуре, вступаю в химическую реакцию с веществами мути, тогда как кальций осаждается в связи с уменьшением растворимости его при высоких температурах на вследствие адсорбции частиц мути.

Определение содержания тяжелых металлов проводили спектрографически после незначительной подготовки анализируемого материала. Для этого отработанный пробу дегазированного пива (50 мл) помещали в платиновую чашку, доведенную до постоянного веса при $t=450-500^\circ\text{C}$ и выпаривали под инфракрасной лампой. Затем осадок высушивали при $t=120^\circ\text{C}$ и охладили в муфельной печи.

Минерализованный остаток доводили до постоянного веса при температуре 500°C и получали пробу для спектрохимического определения. Часть пробы сжигали в дуге постоянного тока 4,5 а (анод—спектрально чистый угольный стержень, заточенный на конус, катод — угольный стержень с углублением в 1 мм для пробы вещества, расстояние между электрода-

Таблица 4

Содержание микрокомпонентов тяжелых металлов, %	Сорт пива	До осветления	Двойная фильтрация через фильтрующие материалы	Сепарирование
Mg, K, Na, Si	Жигулевское	Целые и десятка целых процента		
Ca	"	Целые и десятка целых процента	1-3	10
P	"	1-3	1-3	1-3
Al, Sr	"	0,1	0,1	0,1
Ba, Mo	"	0,01	0,01	0,01
Cu	"	0,01	0,001	0,001
Fe, Ni, Mn, Ag, Cr	"	0,001	0,001	0,001
Pb, Sn	"	Следы	Не обнаружены	Следы
Предел осаждения насыщенного раствора сульфата аммония, мл/100 мл пива	"	—	12,0	7,0
Св	Двойное	Целые и десятка целых процента	1-3	8
P	"	1-2	1-2	1-2
Al, Sr, Cr	"	0,001	0,001	0,001
Ca, Fe	"	0,001	Не обнаружены	Следы
Mn	"	Следы	Следы	"
Предел осаждения насыщенного раствора сульфата аммония, мл/100 мл пива	"	—	12,0	8,0

ми 3 дм). Спектры регистрировали в течение 30 сек. на фотопластинке для научных целей «Спектральная» тип 1, на кварцевом спектрографе ИСП-28 при использовании дугового возбуждения. Спектрограммы расшифровывали при этом на спектропроекторе ДСП, пользуясь атласом спектральных линий.

Данные расшифровки спектрограмм помещены в табл. 4. Анализ данных показывает, что содержание магния, калия, натрия, кремния и фосфора во всех образцах пива одинаково.

Содержание кальция изменяется в зависимости от способа осветления пива. Наименьшее содержание кальция отмечено в пиве, подвергнутом двойной фильтрации через фильтрующие материалы.

Содержание алюминия, стронция, бария, марганца, никеля, молибдена, серебра и хрома не изменялось в зависимости от способов осветления пива.

Количество меди, железа и олова изменилось в образце пива, подвергнутом двойной фильтрации, и было минимальным.

Данные спектрограмм Львовского пива показывают почти такой же состав металлов, как и Жигулевского. Содержание марганца в пробе Львовского пива ниже, чем Жигулевского; олова не обнаружено. Количество кальция, меди и железа резко изменяется в зависимости от способа осветления образца пива, как и в Жигулевском.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ЦЕОЛИТОВ ДЛЯ ОСВЕТЛЕНИЯ ПИВА

Для исследования возможности использования синтетических цеолитов при осветлении пива и их воздействия на белковые вещества и микрокомпоненты тяжелых металлов, обуславливающих коллоидно-белковую стойкость пива, были применены синтетические цеолиты типа X в натриевой форме (NaX), типа эронит, в натрий-калиевой форме (NaKЭ-8), выпускаемые Горьковской опытной базой Всесоюзного научно-исследовательского института нефтяной промышленности.

Для оценки образцов цеолитов и диатомита навеску в 0,5 г разлагали соляной кислотой (1:1) при нагревании, затем обрабатывали концентрированной соляной кислотой и горячей водой. Выделенную кремниевую кислоту отфильтровывали, прокаливали при температуре 1000°C, обрабатывали в платиновом тигле плавиковой кислотой и рассчитывали ее содержание по разности веса. Из фильтрата после отделения крем-

невой кислоты осаждали алюминий аммиаком в виде $Al(OH)_3$ с последующим прокаливанием. Осадок прокаливали при 1000°C и определяли в виде Al_2O_3 .

После выделения алюминия в фильтрате определяли натрий в виде NaCl весовым методом. Для проверки описанного метода был проведен также анализ цеолитов по методике, предложенной институтом силикатов АН СССР.

Для определения содержания кремниевой кислоты навеску цеолита сплавили со щелочью NaOH, затем переводили содержание в растворенное состояние, осаждая кремний хинолином в присутствии молибденовокислого аммония.

Метод основан на образовании кремнемолибденовой кислоты и осаждении ее хинолином в виде хинолиновой соли. Полученный осадок отфильтровывали, промывали и высушивали.

После разложения отдельной навески цеолита смесью серной и плавиковой кислот (удаления кремния), алюминий определяли трилонометрически с индикатором кейленолитовой оранжевой.

Содержание натрия находили методом пламенной фотометрии из навески, предназначенной для определения алюминия.

Результаты представлены ниже.

	Синтетический цеолит		Ахалинский диатомит
	NaKЭ-8	NaX	

Содержание оксидов в пересчете на дегидратированную навеску, %:

Al_2O_3	20,16	37,07	78,0
SiO_2	65,07	43,46	20,0
Na_2O	0,81	18,08	0,49
K_2O	14,31	—	—

Содержание микропримесей, %:

Fe	Следы	Следы	0,1—0,05
Ca	0,001	0,002	0,01
Cu	0,001	0,001	0,001
Pb	0,001	—	—
Mn	—	—	0,01
Mg	—	—	0,1—0,01
Zn	—	—	0,001
Ni	—	—	0,002
W	—	—	0,01—0,03

С точки зрения наименьшего содержания железа и свинца наиболее подходящим из исследованных образцов цеолитов является NaX.

Для сравнения пиво фильтровали через цеолиты и диатомит по методике, предусматривающей проведение абсорбции. Для этого 5 г исследуемого цеолита или диатомита размещали в 100 мл воды и переносили в воронку Бюхнера с вложенным в нее фильтркартоном. Первые порции (200—300 мл) пива, профильтрованного через слой цеолита или диатомита, не использовали, последующие применяли для определения в них общего азота (по Кьельдаэлю) и для спектрографического исследования микрокомпонентов тяжелых металлов.

Результаты опыта представлены в табл. 5.

Таблица 5

Показатели пива	Пиво Жигулевское до осветления	Осветление пива фильтрацией через		
		диатомит	NaX	NaK5-8
Содержание, мг/100 мл пива:				
ашта	57,78	55,44	46,31	31,02
белка	361,13	340,50	289,41	199,50
Содержание микрокомпонентов тяжелых металлов, обнаруженных методом эмиссионной спектроскопии:				
Fe	0,01	0,01	0,001	0,001
Cu	0,01	0,001	0,001	0,01
Pb	—	—	—	0,001
Sn	—	—	—	—
Mg	0,1—1,0	0,1—1	0,1	—
Al	0,001	Следы	0,1	0,1
Mn	0,001	Следы	0,1—1	0,1—1
Mo	0,001	Следы	Следы	0,001
Ni	Следы	Следы	—	0,001
Шь	0,001	0,001	Следы	0,001
Sr	0,001	0,001	—	—
Ag	—	—	—	—
Bi	—	—	0,001	0,001
P	0,1—1,0	0,1—1	0,1	0,1
Ca	0,1	0,1	0,1	0,1
K	0,1	0,1	0,1	0,1
Na	Много	Много	Много	Много
Сг	—	—	—	0,001
Предел осаждения насыщенного раствора сульфата аммония, мг/100 мл пива	—	10,0	11,0	11,0

Анализ данных табл. 5 показывает, что одинаковые высокие показатели коллоидно-белковой стойкости пива достигаются на всех образцах фильтровальных порошков.

Наиболее подходящим для фильтрации пива является цеолит (образец NaX), воздействием которого создается высокая коллоидно-белковая стойкость пива при незначительном снижении белковых веществ, не оказывающих влияние на полноту вкусовых качеств.

Содержание микрокомпонентов тяжелых металлов железа, меди, олова и свинца обуславливает металлобелковое помутнение пива.

При сравнении образцов пива, осветленных диатомитом и синтетическими цеолитами, следует, что наименьшее содержание этих микрокомпонентов тяжелых металлов в пиве, осветленном цеолитом NaX (рис. 3).

На основании сопоставления свойств изготовленных и исследованных образцов цеолитов лучшим является образец NaX, имеющий минимальное количество железа и свинца.

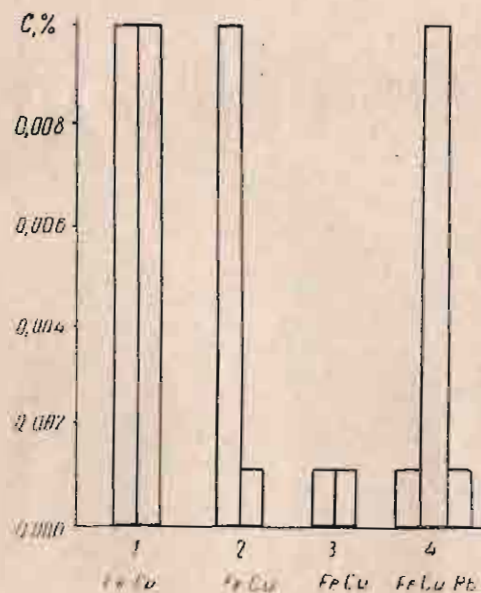


Рис. 3. Диаграмма содержания тяжелых металлов в образцах Жигулевского пива:

1 — образец пива до осветления; 2 — пиво осветленное через диатомит; 3, 4 — пиво осветленное через цеолит NaX.

Содержание микрокомпонентов тяжелых металлов в пиве, обуславливающих его металлы-белковое помутнение, наименьшее при фильтрации через цеолит NaX.

Наиболее высокие показатели коллоидно-белковой стойкости пива при минимальном содержании микрокомпонентов тяжелых металлов достигнуты при фильтрации пива через цеолит NaX при незначительном смывании белковых веществ. Следовательно, образец NaX может быть применен для осветления пива.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НОВЫХ МЕТОДОВ ОСВЕЩЕНИЯ ПИВА

Для сопоставления существующих способов осветления пива последовали: фильтрацию одинарную и двойную с применением разных образцов фильтрующих материалов; сепари-

рование при различной производительности сепараторов, осветление фильтровальными порошками (диатомит) и осадителями (бентонит, полваклизид, полваклизидная смола «Перлон»), а также комбинированные способы (сепарирование с последующей фильтрацией и фильтрация с последующим осветлением диатомитом).

Для оценки способов осветления пива были использованы химические, калориметрические и фотометрические методы. В табл. 6 приведены сравнительные данные качества пива, осветленного различными способами.

Наилучшая степень осветления пива, высокая коллоидно-белковая стойкость и наименьшее содержание дрожжевых клеток достигнуты двойной фильтрацией. Однако при этом происходят значительные физико-химические изменения — уменьшение цветности, коллоидов, вязкости и содержания уг-

Таблица 6

Показатели	До осветления	После фильтрации через фильтр и фильтр			
		образец I (образец)	образец I (образец)	образец I (образец)	образец II (образец)
Содержание азота, мг/100 мл пива:					
общее	59,61	57,37	54,73	54,03	51,00
Фракций по Луддону:					
А	17,97	15,74	13,12	12,43	12,30
В	7,18	7,17	7,17	7,18	7,18
С	34,46	34,46	34,44	34,42	34,42
Цветность, м.д. и. раствора воды на 100 мл пива	1,29	1,18	1,20	1,16	1,16
Мутности:	—	0,023	0,024	0,018	0,020
рН	4,70	4,73	4,75	4,77	4,79
Содержание дрожжевых клеток в 1 мл пива	90010	2104	1630	300	340
Презент-образец насыщенный раствор сульфата аммония, мг на 100 мл пива	—	9	11	12	13
Биологическая стойкость пива, сутки	—	8	9	9	10
Кудлоды, г/100 мл пива	3,387	1,242	1,208	0,896	0,879
Вязкость, ц.сек/мл	1,561	1,544	1,538	1,526	1,524
Пенистость, мин.	—	2,0	4,0	1,5	4,0
Содержание углеводов	0,30	0,30	0,33	0,20	0,20

Исходные массы картона		После осветления образцом III	После обработки			После сепарирования пива		
образец ФК	образец Ф1		бентонитом	полваклизидом	полваклизидной смолой «Перлон»	сепараторе De-Laval (300 образцов)	сепараторе ВСП (600 образцов)	сепараторе De-Laval с фильтром после образцов I
55,16	54,88	54,69	53,70	54,41	54,39	58,39	57,41	54,75
13,54	13,07	13,17	13,18	13,14	13,13	15,75	15,80	13,12
7,18	7,17	7,15	7,17	7,14	7,12	7,18	7,16	7,17
34,44	34,44	34,37	34,35	34,13	34,14	34,46	34,45	34,46
1,29	1,19	1,17	1,19	1,18	1,18	1,25	1,22	1,20
0,024	0,023	0,02	0,03	0,020	0,020	0,034	0,031	0,023
4,71	4,75	4,78	4,76	4,78	4,78	4,74	4,74	4,74
2020	1400	1010	1880	800	830	450	400	280
8	11	10	10	10	10	7	8	11
7	9	10	10	10	10	12	13	10
1,470	1,464	1,279	1,361	1,215	1,208	2,023	2,512	0,957
1,549	1,531	1,534	1,535	1,530	1,527	1,550	1,548	1,527
2,5	4,0	4,0	3,0	4,5	4,5	5,0	5,0	4,5
0,30	0,30	0,33	0,31	0,31	0,31	0,35	0,35	0,34

лексилоты, в результате чего понижается пеноустойчивость пива. Одинарная фильтрация дает также хороший осветляющий эффект и высокую коллоидно-белковую стойкость пива, при этом резкого уменьшения содержания коллоидов и вязкости не наблюдается.

Эффект осветления и коллоидно-белковая стойкость пива, профильтрованного через фильтркартон Ф1 лучше, чем пива, очищенного через фильтркартон Косинской бумажной фабрики ФК. Образец фильтркартона Ф1 дает большее снижение содержания дрожжевых клеток в 1 мл. коллоидов и вязкости, чем фильтрационная масса образца 1.

Однако в процессе фильтрации пива через этот фильтрующий материал происходит незначительное снижение пеноустойчивости, но достигается хороший эффект осветления.

При фильтрации через диатомит уменьшается содержание общего азота в пиве на 5,22 мг/100 мл и повышается фракция высокомолекулярных белков по сравнению с осветлением через фильтрационную массу на 4,88 мг/100 мл. Этим объясняется более высокая коллоидно-белковая стойкость пива, профильтрованного через фильтрационную массу.

При осветлении пива осадителями наилучший эффект осветления был достигнут при добавлении в пиво полиакриламид и полнамидной смолы «Перлон». Осадители задавали непосредственно в пиво: порошок полнамидной смолы в количестве 1 г/л, бентонит — 3 г/л, полиакриламид — 7 мг/л. После этого пиво выдерживали 2 - 2,5 часа при частом встряхивании.

Однако ввиду того, что эти осадители являются синтетическими, при использовании их в промышленных масштабах должен быть решен вопрос об их токсичности, так же, как и о неолитах.

При осветлении пива на сепараторе содержание общего азота снижалось на 2,20 - 1,22 мг/100 мл. Это значительно меньше, чем при фильтрации через фильтрационную массу. Содержание азота фракции А было повышенным. Наименьшая коллоидно-белковая стойкость пива достигалась сепарированием при производительности 900 дал/ч.

При сепарировании в отличие от фильтрации не происходило уменьшения цветности, содержания углекислоты и снижения вязкости.

При осветлении пива комбинированным способом достигается его высокая коллоидно-белковая стойкость (12,0 мл; контроль 9,0 мл), уменьшенное содержание дрожжевых клеток, биологическая стойкость также выше, чем у контрольного образца.

Из сравнения двух комбинированных способов осветления пива следует, что фильтрация через фильтрующие материалы с последующим осветлением диатомитом дает несколько лучшие результаты, чем осветление сепарированием с последующей фильтрацией.

Лучшее осветление (прозрачность пива и содержание дрожжевых клеток) достигнуто двойной фильтрацией через улучшенный образец фильтрационной массы и фильтровальный порошок (мутность 0,016 - 0,020).

Наибольшая коллоидно-белковая стойкость пива была при двойной фильтрации через фильтрационную массу 1 (предел осаждения 12 мл), а также при фильтрации через фильтрационную массу 1, а затем диатомит или при сепарировании с последующей фильтрацией через фильтрационную массу. Более низкая коллоидно-белковая стойкость пива наблюдалась при его фильтрации через фильтркартон ФК.

Можно считать, что биологическая стойкость пива достигнута — наибольшая: при сепарировании, средняя — при фильтрации через фильтровальный порошок, наименьшая — при фильтрации через различные фильтрационные материалы.

При осветлении пива потеря красящих веществ (понижение цветности) наблюдалась при фильтрации через образцы фильтрационных масс. При сепарировании цветность пива не изменялась.

При охлаждении сепарированного пива муть в нем выделялась быстрее, чем у пива, отфильтрованного через фильтрующие материалы.

Наилучшая пенообразовательная способность была у пива сепарированного, наименьшая — у профильтрованного через образцы фильтрационной массы, имеющей низкие качественные показатели, и через многократно регенерированную массу. Это объясняется тем, что при сепарировании не наблюдается особых изменений качества пива. В течение всего процесса оно имеет постоянный состав — нет потери коллоидов, не меняется вязкость, в результате чего сохраняется его пеноустойчивость.

При фильтрации пива через фильтрационную массу происходят небольшие изменения в его составе: несколько снижается пеноустойчивость.

Наиболее высокие показатели коллоидно-белковой стойкости пива, осветленного различными способами, получены при фильтрации его через улучшенные образцы фильтрационной массы.

Несколько ниже показатели у пива, осветленного фильтровальными порошками, самые низкие — у сепарированного.

Биологическая стойкость пива наибольшая — у сепариро-

панности пива, наименьшая — у фильтрованного через фильтрационную массу.

Наилучший эффект осветления пива (показатель мутности, прозрачность, блеск) получен при двойной фильтрации через фильтрационную массу, затем через диатомит, полиакриламид и поливиниловую смолу. Менее осветленное пиво получалось при сепарировании. Величина осветляющего эффекта сепарированного пива обратно пропорциональна производительности сепаратора.

В пиве, отфильтрованном через улучшенные образцы фильтрационной массы, холодная муть нарастала медленнее, чем в сепарированном. При двойной фильтрации пива через фильтрационную массу и многократно регенерированную наблюдается большая потеря коллоидов, понижение цветности, что является крайне нежелательным.

Из сравнения исследуемых образцов пива по их коллоидно-белковой стойкости следует, что она обратно пропорциональна содержанию в нем β -глобулина.

На основании приведенных исследований можно сделать следующие выводы:

на стойкость пива оказывают влияние те белковые вещества сусле, которые остаются в нем после осветления (β -глобулиновая фракция);

изучение динамики изменений физико-химических свойств пива в процессе фильтрации при использовании различных образцов фильтрующих материалов и сепарировании показало, что при фильтрации пива происходит более резкие изменения показателей, характеризующих его качество (ослабление цветности, потеря коллоидов и углекислоты), чем при сепарировании;

в результате обработки экспериментальных данных выявлена критерильная зависимость, характеризующая процесс фильтрации пива. Наличие ее позволяет моделировать процесс фильтрации пива и оценивать применяемый фильтрующий материал;

методом электрофореза на агаровом геле белки пива делят на две фракции: альбумин и β -глобулин. Выведено их соотношение и установлен показатель этого соотношения в пиве. Выявлено, что коллоидно-белковая стойкость пива обратно пропорциональна содержанию в нем β -глобулина. Наименьшее содержание β -глобулина имеется в пиве после фильтрации, наибольшее — после сепарирования;

высокое содержание меди, железа, олова с белковыми веществами обуславливают металло-белковое помутнение;

полученные экспериментальные данные дают возможность определить содержание микрокомпонентов тяжелых металлов

(меди и железа) и кальция, обуславливающих металло-белковое помутнение пива;

коллоидно-белковая стойкость пива обратно пропорциональна содержанию микрокомпонентов тяжелых металлов;

считают, что наиболее высокие показатели коллоидно-белковой стойкости пива достигаются при фильтрации его через улучшенные образцы фильтрационной массы, несколько ниже — у пива, осветленного диатомитом, и самые низкие — у пива сепарированного. Наиболее экономически выгодным способом, однако, является сепарирование;

дана оценка существующим методам осветления пива, обобщены параметры процесса осветления. Показана возможность повышения коллоидно-белковой стойкости пива путем применения осадителей, фильтровальных порошков и фильтрующих материалов.

СОДЕРЖАНИЕ

Биологическое значение белков	3
Характеристика белковых веществ пива	4
Роль белковых веществ в помутнении пива	7
Изменения состава пива в процессе сепарирования и фильтрации	8
Фракционирование белков пива методом электрофореза на агаровом геле	11
Исследование содержания микропримесей некоторых тяжелых металлов в пиве методом эмиссионной спектроскопии	22
Исследование возможности использования синтетических цеолитов для осветления пива	24
Сравнительная оценка разных методов осветления пива	28