

Vsebnost kovinskih kationov in sladkorjev v pivu podobnih pijačah iz slajene ajde in kvinoje fermentiranih z različnimi kvasovkami

Metal cation and sugar content of beer-like beverages from malted buckwheat and quinoa fermented with different yeast

Matjaž DEŽELAK^a, Martin ZARNKOW^b, Thomas BECKER^b in Iztok Jože KOŠIR^a

^a*Slovenian Institute of Hop Research and Brewing, Agrochemistry and Brewing Department, Cesta Žalskega tabora 2, SI-SI-3310 Žalec, Slovenia*

^b*Technical University Munich, Center of Life and Food Sciences Weihenstephan, Chair of Brewing and Beverage Technology, Weihenstephaner Steig 20, DE-85354 Freising, Deutschland*

Povzetek: Namen našega raziskovalnega dela je bil preveriti vsebnost kovinskih kationov in sladkorjev v brezglutenskih funkcionalnih pijačah v odvisnosti od uporabljenega slajenega psevdožita ter od vrste kvasovke, uporabljene za fermentacijo. Iz literature je znano, da psevdožita vsebujejo več mineralov kot žita [1], zato smo upravičeno domnevali, da bo enako veljalo tudi za iz njih pripravljene pijače. Osredotočili smo se na katione, ki igrajo ključno vlogo v metabolizmu kvasovke tekom fermentacije, in sicer na železo (sestavina hemoproteinov in citokromov), baker (sestavina redoks pigmentov), cink (kofaktor encimov, strukturni element nekaterih proteinov) in mangan (kofaktor encimov) [2], zato smo pričakovali tudi razlike kot funkcijo vrste kvasovke. Količina fermentabilnih ogljikovih hidratov v fermentiranih pijačah je odvisna predvsem od (i) stopnje razgradnje polimernih ogljikovih hidratov tekom drozganja ter (ii) stopnje in kvalitete kvasne fermentacije [3]. V splošnem smo pričakovali večjo vsebnost di- in trisaharidov v pivini in pijači psevdožit ter manj monomernih sladkorjev. Z rezultati smo potrdili večjo vsebnost kovinskih mineralov v ajdini, predvsem pa v kvinojini pijači v primerjavi z običajnim ječmenovim pivom, opazne pa so tudi razlike v odvisnosti od uporabljene kvasovke. Rezultati glede vsebnosti sladkorjev so delno nasprotni od pričakovanih. Pričakovali smo večjo vsebnost di- in trisaharidov v ajdini in kvinojini pijači, kar tudi drži, to pa ne drži za njuni pivini, kjer prevladuje glukoza. Razlike v vsebnosti fermentabilnih ogljikovih hidratov v odvisnosti od vrste kvasovke so z izjemo enega primera manj očitne.

Ključne besede: ajda, kvinoja, kovinski kationi, sladkorji, brezglutenske pijače

1 Uvod

Večina vrst piva predstavlja vir glutena, alergena proteinskega kompleksa, ki sproži avtoimunsko reakcijo pri osebah z genetskimi predispozicijami [4]. Zaužitje glutena povzroči tipične gastrointestinalne simptome in posledično zmanjšano absorpcijo nekaterih esencialnih nutrientov, kot so železo, folna kislina in vodotopni vitamini [5], nizka pa je tudi mineraliziranost kostnega tkiva [6]. Vse to bolnikom s celiakijo onemogoča pitje piva. Zdravljenja celiakije v pravem pomenu besede (še) ne poznamo, dolgoročno sprejemljivo rešitev pa predstavlja strogo izogibanje zaužitju glutena.

Zrnje navadne ajde (*Fagopyrum esculentum*, Moench) in kvinoje (*Chenopodium quinoa*, Wild.) ne vsebuje glutena in je bogato z mnogimi hranili. Njuna uporaba v brezglutenski dieti tako ne samo poveča prehransko raznolikost ampak tudi izboljša prehranski status [7]. Ajda vsebuje nekaj več mineralov kot žita (z izjemo pšenice), kvinoja pa kar dvakrat več [1, 7, 8]. Pri slednji je še posebej veliko železa in cinka [9]. Železo, baker, cink in mangan so nujno potrebni za metabolizem kvasovke ter posledično za učinkovito fermentacijo in uravnoteženo sintezo organoleptičnih sestavin piva. S tehnološkega vidika prevelike količine mineralov niso zaželeni, saj so lahko za kvasovko toksične, nasprotno pa je njihova čim večja količina v pijači cenjena s prehranskega vidika [3].

Fermentabilni ogljikovi hidrati (FOH) v pivini običajno izvirajo iz škrobnih surovin (slajenih ali neslajenih), lahko pa se dodajo tudi v obliki sirupov in raznih koncentratov [3]. Glavni prednosti slajenih surovin pred neslajenimi sta delno že razgrajen škrob in povečana encimska aktivnost. Slednja je ključnega pomena za dokončno razgradnjo preostalih polisaharidov do FOH tekom drozganja. Če je lastna encimska aktivnost premajhna, je potreben dodatek zunanjih encimskih pripravkov, kar pa je seveda povezano z dodatnimi stroški. Najpomembnejši FOH v pivini so maltotrioza (10 – 15%), maltoza (45 – 60%), saharoza (~ 5%) ter glukoza in fruktoza (~ 10%). Maltotrioza je večinski predstavnik DP3 (ang. "degree of polymerization 3") frakcije, maltoza pa DP2. Začetne koncentracije sladkorjev in njihovo razmerje bistveno vplivata na potek fermentacije in končno količino proizvedenega etanola, sama dinamika asimilacije in preferenca do posameznih FOH pa je značilna za posamezno kvasovko [10]. Na tem mestu je vredno omeniti tudi, da sta obe psevdožiti dober vir tiamina, riboflavina, piridoksina in vitamina E [11], vsebujeta pa tudi nekaj bioaktivnih snovi, kot so fagopiritoli, β -sitosterol, campesterol ter glikozidi kvercetina, apigenina in luteolina [7, 8, 12].

V tej raziskavi smo izvedli celoten tehnološki postopek pilotskega tipa izdelave fermentirane pijače od surovin do končnega proizvoda s sledečo kvantifikacijo štirih mineralov in petih FOH. Njihovo vsebnost v brezglutenskih pivu podobnih pijačah smo primerjali z ječmenovim pivom in opažene podobnosti oz. razlike poskušali razložiti.

2 Metodologija

Materiali

Oluščeno ajdino zrnje (*Fagopyrum esculentum*, Moench) smo naročili pri Trouw B.V. (Rotterdam, Nizozemska), oluščeno kvinojino zrnje organske pridelave (*Chenopodium quinoa*, Wild) pa pri Ziegler Naturprodukte (Wunsiedel, Nemčija). Ječmenov slad tipa "Malt Château Pilsen 2RS" proizvajalca Castle Maltng (Lambermont, Belgija) smo naročili pri Hmezad exim d.d. (Žalec, Slovenija). Komercialne encime Termamyl™ SC DS (α -amilaza), Attenuzyme™ Flex (glukoamilaza, specifična α -amilaza), Ondea™ Pro (pulanaza, α -amilaza, celulaza, endo-1,4-ksilanaza, nevtralna proteaza, lipaza) in Ultraflo™ (β -glukanaza, ksilanaza), uporabljene pri drozganju, smo kupili pri Novozymes A/S (Bagsvaerd, Danska). Hmeljne brikete smo naročili pri Lupex GmbH (Hallertau, Nemčija). Tekoče kulture kvasovk *Saccharomyces pastorianus* sev TUM 34/70, *Saccharomyces cerevisiae* sev TUM 177 in *Saccharomyces ludwigii* sev TUM SL17 so bile pripravljene na Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität (Freising, Nemčija). Proizvajalec polietilenskih filtrov za brizge (premer 25 mm, velikost por 0,45 μ m) je LLG Labware, ZDA.

Kemikalije

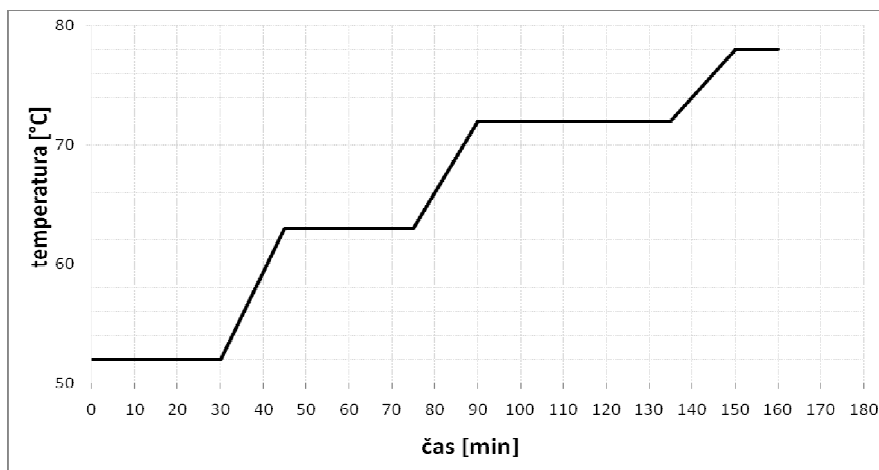
Standardne raztopine železa, bakra, cinka in mangana "Baker Instra-Analyzed", 1 g/L (J.T.Baker, The Netherlands), standardni pripravki maltotrioze, maltoze, saharoze, glukoze in fruktoze (Sigma-Aldrich, Nemčija), metanol (Sigma-Aldrich, Španija), acetonitril (Merck, Nemčija), natrijev tetraborat dekahidrat (Sigma-Aldrich, Španija), dinatrijev hidrogenfosfat dodekahidrat (Fluka, Nemčija), natrijev azid (Aldrich, Japonska), klorovodikova kislina (Sigma-Aldrich, ZDA), fosforna kislina (Merck, Nemčija). Vse kemikalije imajo oznako puriss p.a. ("HPLC grade" oz. "analytical standard").

Priprava vzorcev

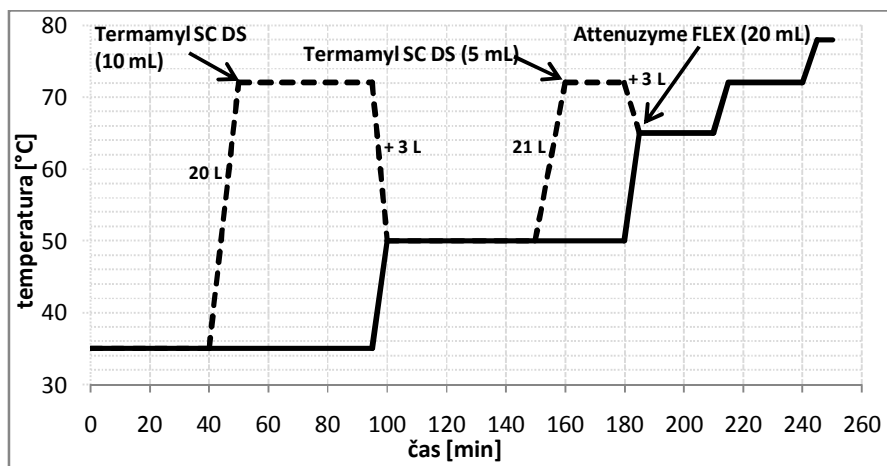
Vsi tehnološki postopki, ki so vključevali ajdo in kvinojo, so potekali na Lehrstuhl für Brau- und Getränke-technologie, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Technische Universität München, Freising, Nemčija. Vsi tehnološki postopki, pri katerih smo uporabljali ječmen, so potekali na Oddelku za agrokemijo in pivovarstvo, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec, Slovenija.

Slajenje: Ajdin in kvinojin slad smo pripravili v sladarni kapacitete 120 kg. Zrnje (kaljivost ajde 88,3 % in kvinoje 73,8 %) smo namakali v vodi, s kratkimi vmesnimi obdobji na zraku, do 47 % vsebnosti vlage, sledilo je petdnevno klitje pri 20 °C (ajda) oz. 15 °C (kvinoja) in na koncu sušenje. Sušenje se je začelo pri temperaturi 50 °C, ki se je v 16-ih urah linearno povečala na 60 °C, nato pa vsako uro za 10 °C do končne temperature 80 °C. Pri tej temperaturi smo sušili še naslednjih 6 ur, nato je sledilo ohlajanje do sobne temperature.

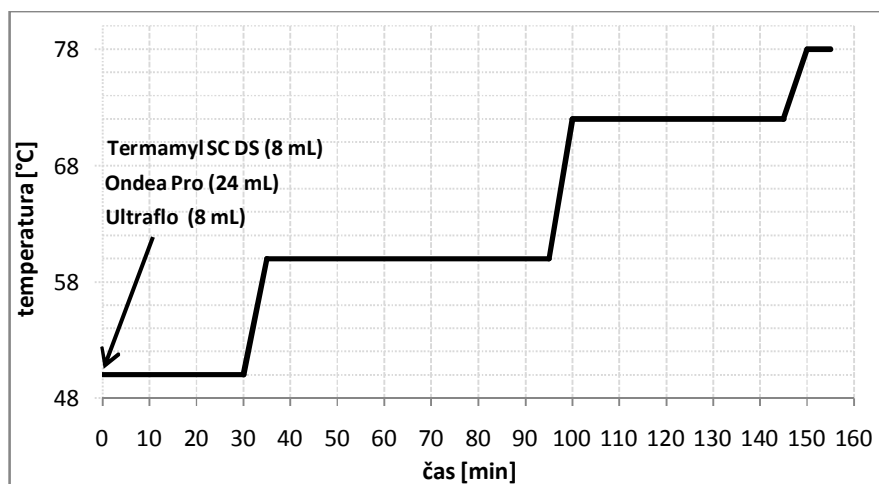
Drozganje: Drozganje je potekalo v varilnici kapacitete 60 L (ajda in kvinoja) oz. 30 L (ječmen). Pri odmerjanju komercialnih encimov smo upoštevali priporočila proizvajalca. Slad smo zmleli z dvovaljnim mlinom z razmikom 0,3 mm (ajda in kvinoja) oz. z rotacijskim mlinom (ječmen). Zmlet slad smo vmešali v vodo, in sicer 5 kg ječmenovega slada v 26 L vode, 13 kg ajdinega slada v 46 L vode in 12 kg kvinojinega slada v 48 L vode. Slike 1 – 3 shematsko prikazujejo potek drozganja ječmenega, ajde in kvinoje.



Slika 1: Shema infuzijskega drozganja ječmenovega slada.



Slika 2: Shema dekokcijskega drozganja ajdinega slada. Opomba: Volumen + 3 L označuje količino vode, s katero smo sprali drozgalno posodo.



Slika 3: Shema infuzijskega drozganja kvinojinega slada.

V primeru ječmena in ajde smo drozgo prenesli v precejvalno posodo in počakali, da se je pod vplivom gravitacije sladica ločila od preostankov zrnja, pri čemer sama lupina zrn igra vlogo sita. Ta metoda pa ni delovala pri kvinojinem sladu, saj je kvinojino zrnje relativno majhno, zato smo uporabili drozgalni filter s povišanim tlakom.

Hmeljenje: Sladico smo kuhali 90 min in hmeljili v dveh obrokih, pri čemer smo količino dodanega hmelja izračunali glede na željeno končno grenčico 18 EBC enot in z upoštevanjem 4,5 % vsebnost α -kislina v uporabljenem hmelju Hallertau Hallertauer Tradition. Skladno s tem smo dodali 1,73 g hmeljnih briketov/L sladice na začetku kuhanja ter 0,43 g hmeljnih briketov/L sladice 10 min pred koncem. Na koncu smo s še vročo pivino (zagotovitev sterilnosti) napolnili 19,5 L aluminijaste cisterne tipa NC Cornelius dobavitelja Candirect (Duisburg, Nemčija) in jih shranili v hladno sobo.

Fermentacija: Fermentacija 10 L pивine z dodatkom 100 mL tekoče kvasne kulture z gostoto 200×10^6 celic/mL je potekala pri 14 °C v stožčastih fermentorjih (ajda in kvinoja) oz. v aluminijastih cisternah tipa NC Cornelius (ječmen). Isto pivino smo fermentirali v dveh ponovitvah in izračunali povprečje. Ko je osmi dan nastopila atenuacija smo temperaturo za dva dni dvignili na 16 °C in nato za deset dni na 0 °C.

Ustekleničenje: S filtracijo skozi plošče diatomejske zemlje (kieselguhr) smo odstranili kvasovke, pijačo napolnili v komercialne 0,5 L steklenice, katere smo zaprli s kronskimi zamaški.

Analiza mineralov

Vsebnost železa, bakra in cinka v vzorcih pивine in pijače smo določili po metodah Analytica-EBC (9.13.3, 9.14.3, 9.20), vsebnost mangana pa po protokolu Hoenig and Hoeyweghen (2010). Uporabili smo Perkin Elmer AAnalyst 200 atomski absorpcijski spektrometer (Perkin Elmer, USA) opremljen s Perkin Elmer Lumina™ votlo katodno žarnico (Cu-Fe-Mn-Zn). Določili smo vsak element posebej, in sicer z merjenjem absorbance pri valovnih dolžinah 248.3 nm (železo), 324.7 nm (baker), 213.9 nm (cink) in 279.5 nm (mangan). Aparat smo upravljali s pomočjo računalniškega programa WinLab32 for AA (v. 6.2.0.0079) (Perkin Elmer, USA).

Analiza fermentabilnih ogljikovih hidratov

Pri določevanju FOH smo sledili napotkom metode Analytica-EBC (9.27). Uporabili smo HPLC aparat (Agilent 1200 Series) opremljen z razplinjevalcem mobilne faze, štiri-kanalno črpalko, termostatiranim avtomatskim vzorčevalnikom, termostatirano ionsko-izmenjevalno kolono (Bio-Rad Aminex HPX-87H, 300 x 7.8 mm) in detektorjem lomnega količnika (RID) (Agilent 1100 Series). Kromatografski pogoji so bili sledeči: volumen vbrizga 5 μ L, mobilna faza 5 mM H₂SO₄, izokratsko izpiranje s pretokom 0.5 mL/min, temperatura optične celice 40 °C, pozitivna polarnost, širina vrha 0.2 – 0.4 min, odzivni čas 4 s. Čeprav s to metodo v osnovi ni mogoče ločiti med posameznimi sladkorji enake stopnje polimerizacije, smo razvili preprost način za določitev saharoze. Le-ta namreč pri 65 °C in danih kromatografskih pogojih celoti hidrolizira do glukoze in fruktoze. Iz razlik v koncentracijah DP2, glukoze in fruktoze [g/100 mL] v istih vzorcih pri dveh različnih temperaturah kolone (25 °C or 65 °C) smo izračunali koncentracijo saharoze s pomočjo naslednje formule

$$\text{koncentracija saharoze [g/100 mL]} = \frac{(A - B) + \frac{(C-D) + (E-F)}{2}}{2}$$

$A = c(DP2, 25\text{ }^{\circ}\text{C})$, $B = c(DP2, 65\text{ }^{\circ}\text{C})$, $C = c(Glc, 65\text{ }^{\circ}\text{C})$, $D = c(Glc, 25\text{ }^{\circ}\text{C})$, $E = c(Fru, 65\text{ }^{\circ}\text{C})$, $F = c(Fru, 25\text{ }^{\circ}\text{C})$.

Za upravljanje HPLC aparata in analizo rezultatov smo uporabili računalniški program ChemStation 32 (Agilent Technologies, USA).

3 Rezultati

Vsebnost mineralov

Za kvasovko so železo, baker, cink in mangan esencialni nutrienti potrebni v mikromolarnih koncentracijah. Tekom alkoholne fermentacije vplivajo ti minerali na rast in metabolizem kvasovke, predvsem v smislu hitrosti nastajanja etanola in njegove končne koncentracije, količine nastale biomase, vitalnosti in viabilnosti, stresne tolerance in flokulacije [2]. Razlike med vsebnostjo mineralov v pivini in pijači so posledica njihovega privzema s strani kvasovke.

Pivini obeh psevdohit imata večjo skupno količino železa, bakra, cinka in mangana kot ječmenova pivina, in sicer ajda 3-krat in kvinoja kar 10-krat več (Tabela 1), kar je v skladu z našimi pričakovanju. Očitno so ti minerali ali pretežno v ionizirani obliki (torej vodotopni) ali pretežno vezani na vodotopne sestavine slada, ali pa kombinacija obojega. Razlike med ječmenovimi in ajdinimi pijačami so podobne oz. rahlo nižje kot razlike med njunima pivinama, medtem ko so te razlike v primeru ječmena in kvinoje v pijačah večje. To opažanje je pričakovano, saj ne glede na vsenost mineralov v pivini, kvasovka privzame le njej potrebno optimalno količino le-teh. Sicer se minerali lahko na kvasovko vežejo tudi pasivno na površino (biosorpcija) [13], vendar je tudi ta mehanizem omejen s skupno površino biomase. Poleg tega smo z uporabo atomske absorpcijske spektrometrije določili skupno količino posameznega minerala, kvasovka pa je sposobna asimilirati le minerale v ionizirani obliki. V kateri kemijski obliki bo konkreten mineral je odvisno predvsem od pH, temperature, redoks potenciala in prisotnosti snovi s kelatorsko sposobnostjo [2].

Za pivovarsko fermentacijo so običajne vsebnosti železa v pivini 0,055 and 0,165 mg/L [2]. V našem primeru je bilo železo v tem pogledu najbolj kritično, saj je v ječmenovi in ajdini pivini pod to mejo, v kvinojini pa nad, in to kar 12-krat (Tabela 1). Vendar zmerno nižje koncentracije niso preveč problematične, saj v takem primeru izloča nizkomolekularne snovi (siderofore) z veliko afiniteto do železa [2]. Po drugi strani železo tudi v zelo velikih koncentracijah ne velja za toksično v pravem pomenu besede [2], čeprav bolj ali manj opazno oslabi aktivnost kvasovke [14]. To je bilo opazno tudi v našem primeru, saj so vse kvinojine pijače imele najnižjo stopnjo fermentabilnosti. A ne glede na zelo različne vsebnosti v pivinah so deleži asimiliranega železa precej podobni tako za kvasovke znotraj posamezne pivine kot tudi za posamezne kvasovke pri različnih pivinah. Morda še najbolj izstopa visoka asimilacija kvasovke SL17 pri ječmenu in kvasovke 177 pri ajdi in kvinoji. Pri vseh ječmenovih in ajdinih pijačah je železa manj kot 0,030 mg/L, kar je s prehranskega vidika izjemno malo. Nasprotno pa je v kvinojinah pijačah železa okrog 1 mg/L, kar vsekakor predstavlja dober prehranski vir.

Običajne vrednosti bakra v pivini so okrog 0,1 mg/L, mnogo višje pa so lahko tudi toksične [2]. V naših vzorcih pivine je ta vrednost presežena pri ajdi za približno 2,5-krat in pri kvinoji za približno 3-krat (Tabela 1). Kakorkoli, kvasovka ima več homeostatskih mehanizmov za uravnavanje presežnih količin bakra, npr. vezava na metalotienine, redukcija iz Cu^{2+} v Cu^+ in izločanje iz celice z aktivnim transportom [2]. Torej so v praksi dobesedno toksične le koncentracije nad 10 mg/L [14]. V pijačah je pričakovano najmanj bakra v ječmenovem pivu, največ pa v ajdinem, čeprav je njena pivina imela manj bakra kot ajdina. Opazna je tudi različna stopnja asimilacije bakra posamezne kvasovke glede na pivino. Kvasovka TUM 34/70 asimilira približno 80% bakra pri fermentaciji ječmenove in kvinojine pivine in več kot 2-krat manj pri ajdini. Kvasovka TUM 177 se pri fermentaciji različnih pivin obnaša zelo različno. Pri ječmenovi namreč asimilira približno 90%, pri ajdini 35% in pri kvinojini 70% bakra. Kvasovka TUM SL17 je najbolj konsistentna saj v vseh primerih asimilira med 50 in 60% bakra. Skratka, glede na ječmenovo pivo vsebuje ajdina pijača povprečno 6-krat, kvinojina pa 4-krat več bakra. Njegova večja vsebnost pa je poleg prehranskih prednosti ugodna tudi za organoleptične lastnosti. Pokazano je namreč bilo, da baker veže žveplove spojine in tako zmanjša njihovo običajno nezaželeno aromo [15].

Za fermentacijo pivine je najbolje, če vsebuje med 0,275 in 0,550 mg/L cinka [2]. V našem primeru je znotraj tega območja le ječmenova pivina, ostali dve pa vsebujeta presežne vrednosti cinka, in sicer ajdina približno 2-krat in kvinojina približno 3,5-krat več (Tabela 1). V obeh primerih sta koncentraciji večji od 1 mg/L, pri katerih cink inhibirno vpliva na encime kvasovke [14]. In res, če primerjamo vrednosti koncentracij cinka v pivini in povprečne vrednosti etanola v pijačah iz iste pivine (ječmenovo pivo, fermentirano s kvasovko TUM SL17 smo izločili iz računa, saj ima zelo nizko koncentracijo etanola zaradi drugih razlogov), lahko ugotovimo močno negativno korelacijo ($R^2 = 0.996$). Stopnja asimilacije cinka med fermentacijo je bila zelo podobna za vse ječmenove in ajdine pijače (92 – 98%), pri kvinojinah pa je bila nižja (60 – 80%). Očitno je kvasovka sposobna privzeti relativno velike količine cinka, pri čemer zgornjo mejo vezave kot kaže

predstavljajo koncentracije 1,3 – 1,5 mg/L. Iz literature je znano, da kvasovka že v začetku fermentacije hitro privzema cink in kot kaže se ga večji delež preprosto veže na celično steno (biosorpcija) [16]. Slednje lahko deloma potrdimo z rahlo negativno korelacijo ($R^2 = \sim 0,80$) med deležem asimilirane cinka in razmerjem med tvorjenim etanolom in porabljenim ekstraktom, ki predstavlja grobo posredno oceno biomase. S prehranskega vidika samo kvinojine pijače predstavljajo omembe vreden vir cinka.

Pričakovane koncentracije mangana v pivini so med 0,11 in 0,22 mg/L [2]. Tako ječmenova kot ajdina pivina ustrežeta temu območju, kvinojina pa, kot v vseh ostalih primerih, običajne vrednosti presega in to kar za 7-krat (Tabela 1). Za približno 3-krat presega tudi mejo toksičnosti za kvasovko, ki je 0,5 mg/L, vendar je vprašanje, kolikšen delež mangana je pravzaprav biodostopen. Na splošno se v primerjavi z ostalimi minerali mangana asimilira malo. Glede deleža asimilirane mangana sta kvasovki TUM 34/70 in TUM 177 najmanj odvisni od pivine ($SD = \sim 10$), vendar prva v povprečju asimilira približno 30%, druga pa 15% mangana. Kvasovka TUM SL17 pa je bolj odvisna od vrste pivine ($SD = \sim 25$), po povprečni vrednosti asimilirane mangana pa je nekje vmes med vrednostima drugih dveh kvasovk (25%).

Tabela 1: Vsebnosti železa, bakra, cinka in mangana v vzorcih pivine in pijače.

mineral [mg/L]	ječmen				ajda				kvinoja			
	pivina	TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17	pivina	TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17	pivina	TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17
železo	0,028	0,016	0,020	0,009	0,043	0,029	0,016	0,029	1,954	1,238	0,847	1,176
baker	0,094	0,018	0,009	0,045	0,267	0,171	0,137	0,106	0,325	0,075	0,101	0,132
cink	0,354	0,025	0,022	0,012	1,248	0,041	0,020	0,057	1,934	0,601	0,405	0,718
mangan	0,128	0,070	0,095	0,127	0,215	0,160	0,196	0,146	1,508	1,060	1,353	0,793
SKUPAJ	0,604	0,129	0,146	0,193	1,773	0,401	0,369	0,338	5,721	2,974	2,706	2,819

Vsebnost fermentabilnih ogljikovih hidratov

Produkcije etanola tekom fermentacije ne more biti brez rasti kvasnih celic in posledično prirasta biomase, saj nerastoče celice metabolizirajo le tisto količino hranil, ki zadostuje za osnovne življenske procese [2]. Ogljikovi hidrati so za pivovarsko kvasovko najpomembnejši vir energije in ogljika.

V našem primeru je skupna količina FOH primerljiva v ječmenovi in ajdini pivini, medtem ko je v kvinojini za tretjino nižja (Tabela 2). Razmerje posameznih je v ječmenovi pivini blizu običajnega, z izjemo visoke vsebnosti maltoze (Slika 2). Nasprotno, ajdina in kvinojina pivina imata zelo malo maltoze in kar 5-krat več glukoze. To je neposreden dokaz, da je bil dodatek encimskih pripravkov uspešen. Glukoza je preferenčni FOH katere asimilacija nastopi najprej in z izjemo fruktoze inhibira privzem ostalih [10]. Vendar kljub visokim deležem glukoze v ajdini in kvinojini pivini, fermentacija ne poteče nič hitreje ali intenzivneje, ravno nasprotno (podatki niso prikazani). To je še ena potrditev že znanega dejstva, da odstopanje od zgoraj predstavljenega razmerja negativno vpliva na potek fermentacije [10] saj so kvasne celice vitalnejše v maltoznih medijih [17].

Po fermentaciji sta v pivini prisotni predvsem maltotriosa in maltoza, malo je saharoze, koncentraciji glukoze in fruktoze pa sta pod mejo detekcije (Tabela 2). Skupni delež asimiliranih FOH je za kvasovki TUM 34/70 in TUM 177 enak pri posamezni pivini, in sicer pri ječmenovi približno 95%, pri ajdini približno 85% in pri kvinoji približno 75%. Kvasovka TUM SL17 se močno razlikuje, saj je fermentirala zgolj 10% ječmenovih, kar 80% ajdinih in 65% kvinojinih FOH. To je seveda povsem pričakovano, saj je njena bistvena lastnost, da ni sposobna asimilirati maltoze in maltotriose.

Vsebnost saharoze je največja v ječmenovi pivini, izredno majhna pa v kvinojini (Tabela 2). Slednje je verjetno posledica njene hidrolize tekom kuhanja sladice in hmeljenja zaradi nizkega pH kvinojine pивine. Pri njeni fermentaciji je v vseh primerih najučinkovitejša kvasovka TUM 177, vse do koncentracije < 0,1 g/100 mL. Sledi ji kvasovka TUM 34/70, kvasovka TUM SL17 pa se zopet vede zelo različno. Po eni strani v primeru ječmenovega piva saharoze skoraj ne asimilira, po drugi strani pa jo pri kvinojini porabi skoraj v celoti. Sama asimilacija je odvisna od ekspresije invertaznega gena in same aktivnosti invertaze, na oboje pa seveda vplivata tako genotip kvasovke kot tudi kemijske lastnosti medija [10].

Zaradi glukozne inaktivacije maltoznega metabolizma se le-ta začne šele po popolni asimilaciji glukoze. Pri fermentaciji ječmenove pивine se to zelo hitro zgodi, zato se tudi maltoza posledično skoraj v celoti porabi, razen v primeru kvasovke TUM SL17, ki maltoze ni sposobna asimilirati. (Tabela 2). Vendar zanimivo, ta kvasovka asimilira približno 50% DP2 frakcije ajdine in kvinojine pивine. Verjetno ta delež predstavlja kateri drug disaharid in ne maltoza, ki ga je kvasovka sposobna asimilirati. Poraba DP2 frakcije drugih dveh kvasovk je pri fermentaciji ajdine in kvinojine pивine podobna.

Maltotrioza je največji FOH, ki ga je pivovarska kvasovka sposobna asimilirati, vendar to se zgodi šele povsem na koncu, ko koncentracija maltoze pade pod določeno kritično vrednost. Ozko grlo njene asimilacije je njen transport v celico s pospešeno difuzijo, ko pa je v celici, se razgradi do glukoze z istimi encimi kot maltoza [17]. Absolutne koncentracije v naših vzorcih pивine so običajnev pivovarstvu in med sabo primerljive, bistvene razlike pa so v asimiliranih deležih. Pri vseh fermentacijah ajdine in kvinojine pивine se je asimiliralo zgolj približno 40% maltotrioze, pri fermentaciji ječmenove pa kar 80%, vendar je tu zopet izjema kvasovka TUM SL 17. Le-ta je pustila maltotrioza v celoti nedotaknjeno.

Tabela 2: Vsebnosti fermentabilnih ogljikovih hidratov v vzorcih pивine in pijače.

ogljikov hidrat [g/100 mL]	ječmen				ajda				kvinoja			
	pivina	TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17	pivina	TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17	pivina	TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17
DP3	0,92	0,19	0,14	0,97	0,75	0,44	0,41	0,46	0,98	0,62	0,64	0,76
DP2	5,13	0,11	0,09	5,21	2,24	0,79	0,77	0,93	1,60	0,64	0,70	1,02
Sah	0,41	0,05	0,01	0,35	0,30	0,07	0,02	0,10	0,12	0,10	0,01	0,03
Glu	0,71	0,00	0,00	0,00	4,29	0,00	0,00	0,00	2,31	0,00	0,00	0,00
Fru	0,17	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00
SKUPAJ	7,33	0,35	0,24	6,53	7,78	1,30	1,20	1,49	5,11	1,37	1,34	1,80

4 Zaključki

Na osnovi dobljenih rezultatov in njihove interpretacije smo na koncu lahko zaključili, da sta tako ajda kot kvinoja v osnovi primerni za proizvodnjo brezglutenskih pивu podobnih pijač. Pri tem so ajdine pijače zelo podobne ječmenovemu pivu in bi lahko predstavljale njegov nadomestek, predvsem za ljudi s celiakijo. Po drugi strani so kvinojine pijače zelo specifične in praktično bolj malo spominjajo na pivo, zato bi bile primernejše za posebne priložnosti, zaradi njihovih dobrih prehranskih lastnosti bi bile uporabne tudi pri dietnih jedilnikih, seveda upoštevajoč njihovo vsebnost etanola.

Iz analize mineralov je razvidno, da za učinkovito fermentacijo zadostujejo že zelo nizke koncentracije železa (0,01 mg/L). Njegove presežne vrednosti skupaj s presežnimi vrednostmi ostalih mineralov, predvsem cinka, očitno negativno vplivajo na učinkovitost fermentacije kvinojine pивine. Po drugi strani pa so ravno zaradi tega kvinojine pijače zelo dober vir vseh obravnavanih mineralov. Čeprav vsebuje ajdina pivina relativno

veliko cinka in bakra, je v njenih pijačah presenetljivo malo cinka, bakra pa je v povprečju celo več kot pri kvinoji. Kvasovki TUM 34/70 in TUM 177 se vedeta presenetljivo podobno, ne glede na vrsto pивine, nasprotno pa velja za kvasovko TUM SL17.

Skupna količina FOH v ajdini pivini je primerljiva z ječmenovo, v kvinojini pa jih je manj. Ječmenova pivina ima visoko vsebnost disaharidov, verjetno maltoze, ajdina in kvinojina pa veliko glukoze. Kvasovka TUM SL17 ni porabila nič DP3 in DP2 frakcije v ječmenovi pivini, je pa asimilirala polovico DP2 frakcije in petino DP3 frakcije v ajdini in kvinojini pivini. Kvasovki TUM 34/70 in TUM 177 se tudi tukaj vedeta presenetljivo podobno, ne glede na vrsto pивine, nasprotno pa velja za kvasovko TUM SL17.

5 Reference

- [01] E.K.Arendt, F. Dal Bello, (2008), Pseudocereals, V: Gluten-free cereal products and beverages, 1st ed. Elsevier Academic Press, Cork, Ireland, pp. 149-190.
- [02] G.M. Walker, (2004), Metals in yeast fermentation process, *Advances in Applied Microbiology*, 54, 197-229.
- [03] H.M. EBlinger (ed.), (2009), *Handbook of Brewing*, Wiley-VCH Verlag GmbH & KGaA, Weinheim, Germany.
- [04] L. Shan, S.W. Qiao, H. Arentz-Hansen, Ř. Molberg, G.M. Gray, L.M. Sollid, C. Khosla, (2005), Identification and analysis of multivalent proteolytically resistant peptides from gluten: implications for celiac sprue, *Journal of Proteome Research*, 4, 1732–41.
- [05] P.H.R. Green, C. Cellier, (2007), Celiac disease, *New England Journal of Medicine*, 357, 1731–1743.
- [06] Š. Blazina, N. Bratanič, A. Širca Čampa, (2010), Bone mineral density and importance of strict gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease, *Bone*, 47, 598–603.
- [07] L. Alvarez-Jubete, E.K. Arendt, E. Gallagher, (2010), Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients, *Trends in Food Science and Technology*, 21, 106–113.
- [08] L. Alvarez-Jubete, E.K. Arendt, E. Gallagher, (2009), Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients, *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60 (Suppl. 4), 240–257.
- [09] Y. Konishi, S. Hirano, H. Tsuboi, M. Wada, (2004), Distribution of minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Bioscience and Biotechnology Biochemistry*, 68, 231–234.
- [10] D.E. Briggs, C.A. Boulton, P.A. Brookes, R. Stevens, (2004), *Brewing: Science and practice*, Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cornwall, England.
- [11] G. Bonafaccia, M. Marocchini, I. Kreft, (2003) Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat, *Food Chemistry*, 80, 9–15.
- [12] N. Fabjan, J. Rode, I.J. Kosir, Z.H. Wang, Z. Zhang, I. Kreft, (2003), Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6452–6455.
- [13] K.J. Blackwell, I. Singleton, J.M. Tobin, (1995), Metal cation uptake by yeast: a review, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43, 579–584.
- [14] S. Buiatti, (2009), Beer composition: An overview, V: Beer in Health and Disease Prevention, Elsevier Academic Press, London, UK, p. 213–225.
- [15] E.M. Richter, M.A. Augelli, S. Margarotto, L. Angnes, (2001). Compact disks, a new source for gold electrodes. Application to the quantitation of copper by PSA, *Electroanalysis*, 13, 760–764.
- [16] N. Hall, (2001), The influence of zinc on the physiology of industrial strains of *Saccharomyces cerevisiae*, PhD Thesis, University of Abertay Dundee, VB.
- [17] G.G. Stewart, (2006), Studies on the uptake and metabolism of wort sugars during brewing fermentations, *Technical Quarterly Master Brewers Association of Americas*, 43, 265–269.