

Pokusy s giberelinem ve sladařském a pivovarském průmyslu

MAŠTOVSKÝ JIŘÍ a KAREL VLADIMÍR, VÚPS, Praha

663.42

První naše práce [1] o použití kyseliny gibberelové při výrobě sladu byla uveřejněna v r. 1959. Od té doby přinesly zahraniční časopisy mnoho zpráv o použití této nové látky, a to jak samotné, tak i v kombinaci s jinými růstovými regulátory.

Urychlit klíčení zeleného sladu se stalo v celosvětovém měřítku středem zájmu již nejen sladařského výzkumu, ale i praxe. Kyselina gibberelová, čili giberelin GA_3 , byl podle posledních výzkumných prací [2] zařazen mezi přirozené růstové hormony; jeho aplikací na slad se tedy toliko zvyšuje hladina obsahu hormonu, který se v ječných zrnech vyskytuje přirozeně. V 1 kg ječmene bylo zjištěno množství 2 až 3 μg látek typu giberelinů [3]. Zvýšením obsahu GA_3 v zrnech dochází k urychlení enzymatických pochodů, takže se dříve dosáhne potřebného rozluštění.

Úspěch použití giberelinu (GA_3) spočívá v podmínkách jeho aplikace. V současné době je známo několik způsobů, při nichž se kyselina gibberelová přidává do máčecích vod, popř. se jejím roztokem prolívá ječmen bezprostředně po vymočení nebo i později, 48 hod po vymočení v pukavce. Dávky GA_3 na 1 kg ječmene se pohybují od 8 mg po 60 $\mu g/kg$ ječmene. Jde o práce anglické, švédské, německé, americké, nejnověji i sovětské [4-8].

Výsledkem naší práce je zjištění podmínek, na jejichž základě je možno vyrobit pětidenní gibberelinové slady, které se plně vyrovnají sladům sedmidenním a v jednotlivých znacích sedmidenní slady předčí. Při jednotlivých pokusech jsme vycházeli z účinnosti koncentrace roztoku stimulující látky a nikoli z prosté dávky, vyjádřené v množství, které připadá na 1 kg ječmene. Toto východisko se později ukázalo správným.

Z množství GA_3 , použitého pro stimulaci klíčení, se uplatní především podíl, který přijde v aktivní formě do styku s právě vyražejícími kořínky, jež v této době soustřeďují i ostatní látky — auxiny [9]. Tato skutečnost byla ve dvou případech ověřena fluorescenční chromatografií [10], kde u výluhu extirpátů embryí ječných zrn v prvotním sta-

diu pukání byla zjištěna mnohem intenzivnější fluorescence kyseliny indolyloctové než u extirpátů zrn třetího dne klíčení. Mechanismus účinku giberelinů není doposud ještě zcela objasněn, avšak z jednotlivých experimentálních zjištění vyplývá, že GA_3 působí pravděpodobně přes oxydazu indolyloctové kyseliny [11, 12], a tím dochází ke zvýšení hladiny auxinů. Rovněž byl vysloven názor, že se v inhibici oxydace auxinů uplatňují na prvním místě polyfenoloxydázy, přičemž polyfenolové látky byly označeny jako antioxydants [13]. Zjištěné skutečnosti poukazují na to, že se kyselina gibberelová uplatňuje v ječném zrnech biochemickou reakcí a je nejvhodněji aplikovat aktivní roztok GA_3 právě v tom stadiu klíčení, kdy jsou optimální podmínky pro její styk s látkami, s nimiž reaguje. Mnoha pokusy se ověřilo, že optimální stadium pro postřik ječmene je tehdy, když jsou po jeho vymočení z náduvníku prakticky všechna zrna puklá a kořínky nepřesahují délku 1 mm. Pozdější postřiky již mají stále menší účinek.

Poznání a ověření optimálního stadia pro aplikaci GA_3 vedlo ještě s dalšími poznatky k postřiku touto látkou. Galstone [14] zjistil, že např. rostlině postačí méně než 3 vteřiny, aby přijala giberelin z roztoku o koncentraci 10^{-4} M. Podle Bruce a Yamaki [15] se giberelin nevyznačuje polárním pohybem uvnitř rostliny, který je charakteristický pro auxin. Giberelin působí stejně na celou rostlinu i když je různě aplikován, např. jako jednotlivá kapka v lanolinové pastě, postřikem nebo v roztoku pro kořeny.

Při zachování již popsaného stadia pro postřik se podařilo nejdříve najít 0,01 mg% koncentraci roztoku GA_3 jako právě postačující pro zkrácení klíčení o 2 dny. Vedle toho byla prokázána i účinnost 0,01 % roztoku glukózy, takže se začalo používat směsi giberelinu GA_3 s glukózou. O tom pojednává I. část této práce [1]. Není vyloučeno, že zjištěný účinek slabého roztoku glukózy je v souvislosti s významem jednoduchých sacharidů pro subepidermální houby [6].

V další práci byl stejnou aplikací zkoušen úči-

Tabulka 1

	Vláh v %	% extraktu v suš.		Zcukření v min.	Barva podle Branda	Diastatická mohutnost v suš. v j. {W.—K.}	Kolba- chovo číslo
		moučka	drť (25 %)				
1 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní porovnávací 7 dní	5,2 5,2	80,3 80,3	76,2 75,6	10—15 10—15	— —	209 208	39,8 40,7
1 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní porovnávací 7 dní	5,7 5,4	79,0 78,9	— —	— —	— —	— —	38,6 38,8
1 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní porovnávací 6 dní	5,0 4,7	80,1 79,6	75,5 74,3	10—15 10—15	16—18 20—22	223 190	36,0 35,4
1 η g GA ₃ /1 kg, 4½ dne porovnávací 6½ dne	5,2 5,0	79,7 79,8	74,9 75,1	15—20 15—20	24—26 24—26	— —	36,2 36,4
30 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní*) porovnávací 5 dní*)	7,0 6,7	80,8 80,3	77,7 76,2	10 10	12—14 16—18	331 319	37,6 34,9
30 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní**)	5,3	80,9	77,2	10—15	20—22	222	—
30 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní**)	5,7	80,7	76,8	10—15	18—20	231	—
30 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní**)	4,9	81,0	76,6	10—15	21—23	218	—
porovnávací 7 dní**)	5,0	80,5	75,5	10—15	19—21	202	—
30 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní**)	4,5	81,2	78,4	10—15	16—18	210	—
30 η g GA ₃ /1 kg, 5 dní**)	4,1	80,9	77,9	10—15	21—23	195	—
porovnávací 7 dní**)	4,2	81,0	76,2	15—20	16—18	168	—

*) slady byly odsoušeny laboratorně

**) pro jednotlivé pokusy bylo použito ječmene z téže partie

Poznámka:

Hodnota Kolbachova čísla se nezvyšuje u GA-sladů jednoznačně.

Je-li toto kritérium nízké u porovnávacích sladů, zvyšuje se u GA-sladů. V opačném případě je Kolbachovo číslo GA-sladů často stejné nebo i nižší; nikdy však nedosahuje takovým snížením pivovarsky nepříznivých hodnot.

nek vyšších koncentrací a jako nejvhodnější se projevila 0,3 mg% koncentrace GA₃. Máčení bylo vedeno tak, aby se mohlo postřikovat vždy nejpozději 24 hodin po vymočení ječmene. V sériích pokusů byl sledován způsob i množství postřiku. Z provozních pokusů i přesných mikroaplikací na 5 kg vzorcích vyplynulo, že postřikovat je nutno co nejmeněji — mlžit, aby bylo přímo zasaženo co nejvíce kořínků ječných zrn. Pro hromadu ječmene o 100 q postačuje plně 100 l roztoku, a to pro obě koncentrace. Při postřikování s menším objemem roztoku není dostatečně zaručena aktivace všech zrn. V optimálním stadiu se hromada postříká 50 l směsného roztoku 0,3 mg% GA₃ a 0,01 % glukózy, ponechá se 2 hodiny v klidu, předělá se některým z obvyklých způsobů a postříká se druhými 50 l roztoku. Postříkané kořínky si odebírají aktivní látku ze svého vlastního povrchu a dochází zajisté i k akceptci GA₃ ze zvlhčeného povrchu sousedních zrn. Při dalších předělovkách lze předpokládat ještě přenášení na další kořínky, a to pokud stimulační roztok na povrchu zrn nevyšchl a pokud si kyselina giberelinová zachovala aktivitu. Druhý den klesá aktivita GA₃ ve vodním roztoku asi na 70 %.

Z uvedených údajů vyplývá množství GA₃ na 1 kg ječmene při použití

0,01 mg% koncentrace	1 μ g
0,3 mg% „	30 μ g.

V porovnání s dosud známými metodami použití GA₃ ve sladařství jsou tyto dávky nejmenší. Jejich uplatnění je umožněno právě způsobem aplikace, který je pro využití aktivity stimulační látky nejvhodnější. Přidáním kyseliny giberelové do máčecích vod dochází zřejmě ke ztrátám jak samotné účinné látky (je těžko říci kolik GA₃ skutečně připadne na 1 kg máčeného ječmene) tak i na aktivitu, protože vymáčí-li se nepuklý ječmen z nádurníku, záleží, za jakou dobu vyrazí ko-

řínky a o jaké aktivitě si odeberou roztok GA₃ ulpělý na povrchu zrn. Je také otázkou, do jaké míry bude biologicky účinná látka ještě ve formě roztoku a do jaké míry zrna oschla a látka přešla již do formy těžce akceptovatelné.

Ze zahraničních pracovníků používají nejnižších dávek němečtí pracovníci Kleber a Lindemann, a to 150 a 60 μ g GA₃ na 1 kg ječmene [6]. První dávku přidávají do třetí máčecí vody, druhou na ječmen po vymočení, jak sami uvádějí před začátkem klíčení. V obou případech dosahují právě zkrácení klíčení o 2 dny „bez poškození jakosti sladů“, tj. pětidenního stimulovaného sladu v porovnání se sladem sedmidenním. Ve shodě s teorií optimálního stadia pro postřik, zjistili tito pracovníci [6], že: potřebné množství kyseliny giberelové při její aplikaci do I., II. a III. máčecí vody a po vymočení klesá.

Obava o nedostatečné rozdělení aktivní látky při aplikaci v pozdějším stadiu [6] není opodstatněná při použití mlžení. Současně zde je na místě připomenout, že se při použití giberelinu na nejrozličnější rostliny neustále zjišťují aktivní účinky menších a menších množství. Dávky 10^{-7} M, 10^{-9} M [14], 0,01 μ g pro celé rostliny nejsou zvláštností [17]. Lze předpokládat, že i při postřiku dojde k využití jen malého podílu použité látky. Tabulka 1 uvádí pokusy v provozním měřítku.

Při pokusech na mikroskladovně (5 kg namáčky), jejímž účelem bylo zjistit vliv různých koncentrací a množství roztoku GA₃ pro postřik se zřetelně projevily význam koncentrace kyseliny giberelové pro vlastnosti sladů (viz tabulku 2).

Ve všech případech byla přidána v 0,01% koncentraci glukóza, aby se tak získaly výsledky směrodatné pro praxi. Jak již bylo popsáno postřikovalo se vždy stejně.

Za nejpodstatnější je nutno považovat skutečnost, že již absolutní dávkou 40 až 60 μ g na 1 kg

Tabulka 2

Pracovalo se s roztoky o koncentraci	Pro postřik bylo použito litrů roztoku (vyjádřeno na 100 q sladu)			Objem postřiku odpovídá absolutní dávce: GA ₃ /kg ječmene v μ g		
0,01 mg% GA ₃	100	200	400	1	2	4
0,02 mg% GA ₃	—	200	—	—	4	—
0,10 mg% GA ₃	100	200	—	10	20	—
0,15 mg% GA ₃	100	200	—	15	30	—
0,20 mg% GA ₃	100	200	—	20	40	—
0,30 mg% GA ₃	100	200	—	30	60	—
0,60 mg% GA ₃	100	—	—	60	—	—

ječmene bylo dosaženo nežádoucích hodnot Kolbachova čísla:

	Pětidenční slad bez postřiku	Sedmidenní slad bez postřiku	Pětidenční GA-slad 40 μ g/kg ječmene	Pětidenční GA-slad 60 μ g/kg ječmene	Pětidenční GA-slad 30 μ g/kg ječmene
Kolbachovo číslo	39,9	40,3	46,8	47,2	43,5

Tím byla potvrzena správnost způsobu použití GA₃ a citlivost ječmene v optimálním stadiu, protože nežádoucně vysokých hodnot uvedeného kritéria se podle zahraničních způsobů dosahuje až několikanásobně vyššími dávkami GA₃. Tento zjev právě zůstává nevýhodou některých zahraničních metod a vede dokonce k úvahám o sladování ječmene méně domočených.

Pro vysvětlení teorie účinku giberelinu uvádíme informativně výsledek série celkem 16 pokusů na mikroskladovně, při nichž bylo měněno množství postřiku, jeho koncentrace a dávky GA₃ na kg ječmene.

Při použití dávky 30 μ g na 1 kg ječmene v 0,3 mg% koncentraci, tj. dávky připadající v úvahu pro provoz, se urychlí činnost komplexu enzymů natolik, že pochody, které probíhaly 7 dní, proběhnou za 5 dní. Kromě toho dochází ke zjevu, že se činnosti některého z celku enzymů urychlí více. Činnost kterého enzymu se urychlí více nebo, v kterém směru se projeví vyšší aktivita komplexu enzymů nelze s jistotou říci, avšak lze předpokládat, že tento zjev závisí jak na odrůdě ječmene, tak na podmínkách při sladování. V uvedeném smyslu má pak svoji důležitost i koncentrace roztoku GA₃ pro postřik. A zde je vysvětlení, proč se u giberelinových sladů dosahuje někdy značně vyššího extraktu, zatímco diastatická mohutnost se zvyšuje jen málo nebo zůstává prakticky stejná, jindy je diastatická mohutnost i Kolbachovo číslo vyšší, zatímco extrakt vykazuje zvýšení malé. Tento poznatek vyplynul nejen z našich mikropokusů a mnoha pokusů v provozním měřítku, ale lze jej snadno ověřit i na výsledcích uveřejněných pracovníky, kteří použili GA₃ o daleko vyšších dávkách (1, 2, 3, 5 mg na kg ječmene), bez zřetele na koncentraci roztoků [6, 18, aj.].

Jedno zůstává u GA-sladů jisté: mají příznivější frakcionaci bílkovin, mají příznivě zvýšenou kyselost, což usnadňuje činnost enzymů ve varně, jsou křehčí, protože giberelinem se zvyšuje činnost cytás. Dochází tedy k celkovému zvýšení jakosti, ke zlepšení zpracovatelnosti, zvyšuje se celková enzymatická mohutnost sladu. To se potvrdilo nejen provozními pokusy, ale i v patnácti reproduk-

cích provozních postřiků na mikroskladovně, kdy hodnoty Hartongova čísla vykazaly bez výjimky vyšší hodnoty u pětidenčních GA-sladů než u sladu sedmidenního porovnávacího.

Význam samotné koncentrace roztoku GA₃ pro postřik se projevil tak, že se při použití určité koncentrace kyseliny giberelové např. podstatně zvyšoval extrakt a diastatická mohutnost, zatímco Kolbachovo číslo se zvýšilo jen nepatrně; k uvedenému zjevu došlo souhlasně při použití 100 i 200 l postřiku, tj. kdy se zdvojnásobila absolutní dávka GA₃/l kg ječmene, ale koncentrace zůstala. U jiné koncentrace a téhož ječmene se za stejných podmínek projevilo souhlasně především zvýšení Kolbachova a Hartongova čísla, zatímco ostatní jakostní kritéria pětidenčního GA-sladu právě dosáhla nebo jen v malé míře předstihla slad sedmidenní. Rozhodující pro výsledek účinku GA₃ zůstává však zřejmě množství látky, které přejde do zrna a snad i rychlost, kterou je stimulator zrnem přijímán. V obou těchto faktorech se asi uplatňuje vliv koncentrace roztoku. Konečnému účinku stimulace, který se projeví ve vlastnostech hotového GA-sladu, je možno přisuzovat souvislost s prvním i druhým uvedeným faktorem: kvantita mění kvalitu. Zde je zapotřebí poukázat na způsob účinnu enzymů a různé specifity zachytných míst na bílkovinném nosiči enzymů pro různé koenzymy a substráty [9].

V současné době probíhají pokusy o uplatnění uvedené teorie pro výrobu speciálních sladů. Podle laboratorních, mikroprovozních i provozních pokusů lze říci, že použití giberelinu GA₃ ve sladařství lze doporučit. Při použití způsobu, popsaném v článku, lze vyrobit pětidenční GA-slady, které se jakostně plně vyrovnají sladům sedmidenním a v jednotlivých kritériích tyto předčí. Ani barvou ani hodnotou Kolbachova čísla se tyto GA-slady neodchylují od charakteru světlých sladů. Při použití 0,3 mg% koncentrace GA₃ bylo dosaženo zvýšení extraktu až o 1,2 % v sušině sladu, diastatická mohutnost se zvýšila až o 40 j. v sušině sladu. V zeleném sladu bylo zjištěno zvýšení až o 60 j. DM vyjádřeno na sušinu. Při soustavném provádění postřiku v provozním měřítku lze při výrobě pětidenčních sladů očekávat v průměru asi 0,5% zvýšení extraktu sladu v sušině i celkové zlepšení jeho jakosti, jak již bylo dříve vysvětleno.

Souhrn

V článku je popsán způsob aplikace kyseliny giberelové ve směsi s glukózou na ječmen ve stadiu pukavky. Jemným postřikem je možno dávkou 1 μ g na kg ječmene vyrobit pětidenční slady, které dosahují jakostních sladů sedmidenních; dávkou 30 μ g na kg ječmene předčí GA-slady v jednotlivých kritériích slady sedmidenní. Autoři přikládají význam nejen dávce GA₃ na kg ječmene, ale i koncentraci jejího roztoku pro postřik.

Literatura

- [1] J. Maštovský, V. Karel, M. Kahler. Kvasný průmysl 5, 81 (1959).
- [2] P. W. Brian, J. F. Grove, J. Mac Millan: The Gibberelins, London (1960).
- [3] M. Radley: Chemistry and Industry 7, 4 (1959).
- [4] Technical Data Sheet, Gibberelic Acid, Surrey (1959); Brian P. W., Radley M.: British Pat. App. No 19390/56.
- [5] Sandegren E., Belling H.: Wissenschaftliche Beilage 11, 231 (1958); Sandegren E.: Proceedings of the EBC Conv., Rim 1959.
- [6] E. Kleber, M. Lindemann, P. Schmidt, Brauwelt 99, 1781 (1959).
- [7] G. Linke: Brauwelt 100, 1881 (1960).
- [8] S. P. Staško, V. E. Samoljova, Trudy 61, 67 (1961).
- [9] V. Šicho: Biochemie I, Praha 1956.
- [10] Wain and Wightman: The Chemistry and Mode of action of Growth Substances, London 1956.

- [11] J. Kato, K. Mashayushi: Die Naturwissenschaften 344 [1958];
P. W. Brian, Hemming: Ann. Bot. 22, 1 [1958].
[12] Japan Gibberelin Research Assoc. Rep., Tokyo 1957.
[13] Archives of Bioch. and Biophysics 87, 19 [1960].
[14] Galston A. W.: Plant Physiology 32, Suppl. XXI [1957].
[15] Bruce B. Stove, Tosio Yamaki: Annual Review of Plant Physiology 8, 181 [1957].
[16] J. Maštovský, V. Karel: Kvasný průmysl 7, 169 [1961].
[17] Knapp R.: Naturwissenschaften 408 [1958].
[18] H. Kringstadt, H. Busengdal, S. Rasch: Jour. Inst. Brew. 66, 477 [1960].

Došlo do redakce 16. 8. 1961.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ГИБЕРЕЛИНА В ПИВОВАРЕННОЙ И СОЛОДИЛЬНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

В статье приводятся новейшие теоретические и практические сведения о гиберелевой кислоте с точки зрения возможности ее применения в пивоваренной и солодильной промышленности. Показываются условия, при которых можно при помощи комбинации этой кислоты и глюкозы ускорить процесс соложения, так что в течении пяти дней получается солод тако-же качества как через семь дней при обычной технологии.

VERSUCHE MIT GIBERELIN IN DER BRAU- UND MALZINDUSTRIE

Der Artikel bringt weitere theoretische und praktische Erkenntnisse über die Anwendung der Gibberelinsäure. Die Autoren befassen sich mit den Bedingungen für die Verkürzung der Keimungsdauer bei der Malzfabrikation von 7 auf 5 Tage ohne Nachteil für die Malzqualität, was durch die Anwendung einer Kombination von Gibberelinsäure- und Glukose-lösung erreicht werden kann.

EXPERIMENTS WITH GIBERELINE IN MALTING AND BREWING INDUSTRIES

The article brings new theoretical and practical contributions to the research works on giberele acid and its applications. Conditions are specified, under which a combination of giberele acid solution and glucose can accelerate the malting process, so that in five days the same quality of malt can be obtained as in seven days by conventional technology.