

Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, CSc., Dr. OLGA BENDOŮVÁ, CSc. a kolektiv pracovníků, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Do redakce došlo 2. 7. 1971

Úvod

V dřívějším článku [1] jsme popsali různé technologické postupy při zpracování surogátů upravených enzymovými přípravky. V tomto sdělení uvádíme bližší specifikaci enzymových preparátů, které se v současné době vyrábějí a doporučují pro aplikaci v pivovarském průmyslu při vysoké náhradě sladu nesladovanými obilovinami. Současně předkládáme výsledky laboratorních zkoušek s 50% surogací ječným šrotem při přípravě sladin, upravených enzymovými přípravky.

V práci použité analytické metody

1. Běžné analytické metody se prováděly podle analytiky EBC [2].

2. Volné aminokyseliny se stanovily na automatickém analyzátoru československé výroby typ AAA881. Rozdělení aminokyselin probíhá na sloupcích iontoměničů, detekce je kolorimetrická po předchozí barevné reakci s ninhydrinem [3]. Zápis na registrační papír s dělením v jednotkách absorbance je úměrný okamžité koncentraci jednotlivých komponent v původní směsi.

Provedení jedné kompletní analýzy trvá asi 2 hodiny a lze kvalitativně i kvantitativně stanovit 19 aminokyselin. Úprava vzorků sladin pro analýzu se prováděla lyofilizací na československém přístroji UZBL 1 [4].

3. α -aminodusík se stanovil spektrofotometricky po předchozí barevné reakci s kyselinou 2,4,6-trinitrobenzen-sulfonovou.

Extinkce se měřila při 340 nm a k sestrojení kalibrační křivky se použil alanin [5].

4. Antokyanogeny se stanovily přímým spektrofotometrickým měřením při 400 nm, kdy extinkce je přímou mírou koncentrace antokyanogenů v roztoku [6].

5. Stanovení amylolytické aktivity se provedlo podle *Sandstędta*, *Kneena* a *Blishe* [7]. Jednotkou dextrinační aktivity (DA) je množství enzymu přeměňující 1 mg škrobu na vysokomolekulární dextriny za 1 minutu reakce. Počet jednotek DA v g zkoušeného preparátu udává aktivitu enzymu.

6. Stanovení proteolytické aktivity se provedlo podle metody modifikované *Slavíkem* a *Smetanou* [8]. Jednotkou proteolytické aktivity je množství enzymu, které při rozkladu kaseinu za standardních podmínek uvolní za 60 minut takové množství produktů, rozpustných v kyselině trichloroctové, které dají s biuretovým reagens totéž zabarvení jako 1 mg kaseinu. Reakce pufrovaného roztoku s roztokem zkoušeného preparátu probíhá ve vodní lázni po dobu 60 minut při 30 °C. Po zastavení reakce kyselinou trichloroctovou a odfiltrování vzniklé sraženiny se ve filtrátu stanovují látky, dávající barevnou reakci s biuretovým reagens, které se změří fotokolorimetricky.

Specifikace enzymových preparátů

K experimentálním účelům bylo k dispozici celkem 10 preparátů, a to především zahraničního původu. Z tuzemských preparátů se zkoušela účinnost bakteriálního amylolytického přípravku — preparát č. 1 — a proteolytického přípravku plísňového původu — preparát č. 10. Preparáty č. 2 až č. 9 jsou zahraniční výrobky bakteriálního původu.

Producenty bakteriálních amylolytických a proteolytických enzymů obsažených v preparátech jsou různé kmeny *Bacillus subtilis*, v případě proteolytického plísňového přípravku jde o produkční kmen *Aspergillus flavus*. Tuzemský preparát s α -amylolytickou účinností je přípravek určený k odstranění škrobových šlicet z tkanin. Jde o zahuštěnou te-

kutinu s enzymem, vytvořeným během kultivace produkčního kmene ve vhodné živné půdě, a separaci zbaivenou biomasy. K našim účelům se použilo tohoto preparátu stabilizovaného chloridem sodným a vápenatým. Ostatní zkoušené preparáty byly k dispozici v práškovité formě.

V preparátu zahraniční výroby č. 3 a č. 5 je amylolytická aktivita kombinována s proteolytickou. U ostatních amylolytických přípravků je proteolytická účinnost zanedbatelná a případně neprokazatelná. V tabulce 1 a 2 jsou uvedeny výsledky porovnání amylolytické a proteolytické aktivity zahraničních a tuzemských preparátů.

Tabulka 1. Amylolytická aktivita zkoušených preparátů

Preparát číslo	Deklarovaná účinnost enzymové složky	Amylolytická aktivita j./g
1	α -amylolytická	2 460
2	α -amylolytická	11 090
3	amylolytická + proteolytická	14 540
4	α -amylolytická	17 780
5	amylolytická + proteolytická	37 470
6	α -amylolytická	1 450

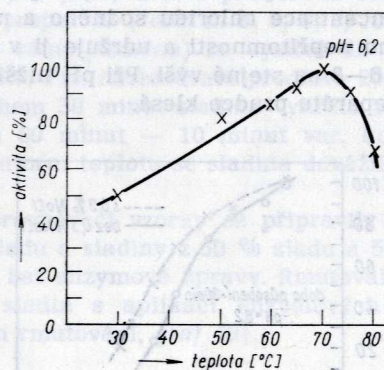
Tabulka 2. Proteolytická aktivita zkoušených preparátů

Preparát číslo	Deklarovaná účinnost enzymové složky	Proteolytická aktivita j./g
1	α -amylolytická	0
2	α -amylolytická	80
3	α -amylolytická + proteolytická	1800
5	α -amylolytická + proteolytická	2630
7	proteolytická	880
8	proteolytická	2500
9	proteolytická	1450
10	proteolytická	620

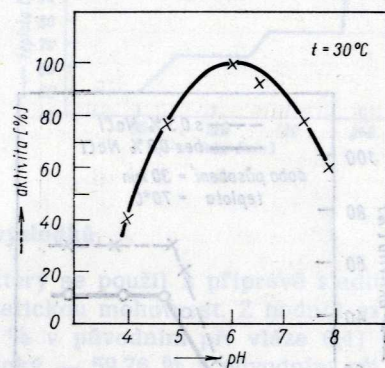
Z tabulky 1 je vidět, že nejvyšší amylolytickou účinnost vykazuje preparát č. 5, na druhém místě přípravek č. 4, zatímco československý preparát č. 1 je na předposledním místě před dalším zahraničním preparátem č. 6. Je zřejmé, že u zahraničních přípravků jde většinou o vysoce aktivní koncentrované výrobky.

Pokud jde o proteolytickou aktivitu, je opět preparát č. 5 se sdruženým amylolytickým a proteolytickým účinkem nejúčinnější rovněž jako proteolytický preparát č. 8. Z tabulky 2 je zřejmé, že přípravek č. 2 obsahuje velmi málo proteolytických enzymů a že tedy v něm převažuje složka amylolytická, zatímco u československého výrobku — preparát č. 1 — nebyla proteolytická aktivita uvedenou metodou zaznamenána. Pro vlastní účinnost enzymových preparátů je důležitá závislost jejich aktivity a stability na teplotě a pH prostředí. Závislost aktivity preparátu č. 1 na teplotě byla změřena při pH 6,2 a je znázorněna v grafu 1. V gra-

fu 2 jsou zaznamenány aktivity tohoto přípravku v rozmezí hodnot pH 4—8. Z obou grafů je patrné, že za uvedených podmínek má preparát nejvyšší aktivitu při hodnotách pH asi 6 a teploty asi 70 °C. Tato závislost platí prakticky pro všechny preparáty bakteriální amylázy, produkované kmeny *Bacillus subtilis*. Optimální podmínky pro proteolytickou aktivitu bakteriálních preparátů, používaných k uvedenému účelu, se pohybují v rozmezí hodnot pH 5—6,5 a teploty asi 50 až 57 °C. Pro vysoce aktivní proteolytickou složku směsného preparátu č. 5 je deklarována optimální hodnota pH asi 6 a teplota 50 °C, pro přípravek s proteolytickou účinností č. 9 optimum pH asi 6,5 a teplota 50 °C a pro preparát č. 8 rovněž pH přibližně 6,5, avšak vyšší teplota, a to 57 °C.



Obr. 1



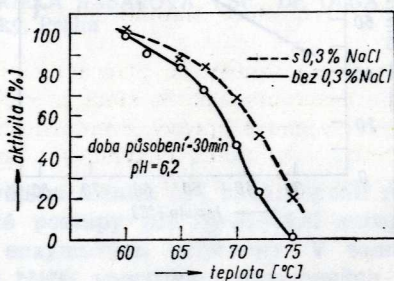
Obr. 2

Závislost aktivity přípravku č. 7 (proteináza) na pH je znázorněna v grafu 9, z něhož je zřejmé optimum pH asi 5. Nejvhodnější teplota pro proteolytickou účinnost tohoto přípravku byla stanovena 50 °C (tab. 3).

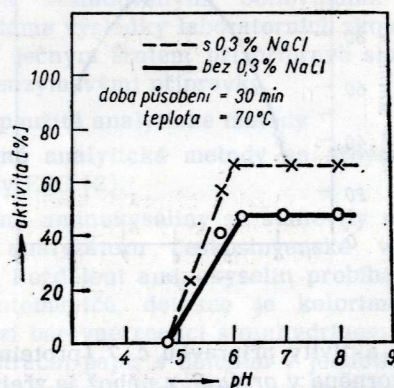
Tabulka 3. Vliv teploty na proteolytickou aktivitu preparátů

Teplota °C	Proteolytická aktivita j./g	
	preparát č. 7 bakteriální	preparát č. 10 plísňový
45	1320	1270
50	1350	1750
55	1220	1600
60	1020	800

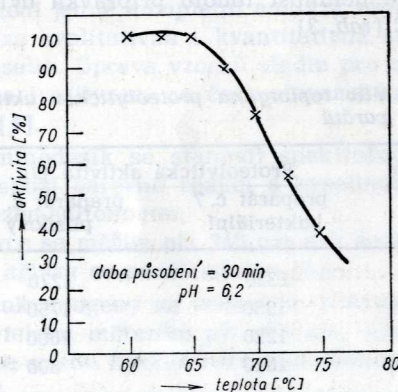
Stálost roztoku amylolytického preparátu ovlivňuje jeho teplota, pH, doba působení obou faktorů a přítomnost koncentrace stabilizátorů. Stabilita československého přípravku č. 1 byla sledována v rozmezí teplot 60 až 70 °C (pH 6,2) a pH 5 až 8 při teplotě 70 °C po dobu 30 minut (graf 3 a 4). Roztok preparátu byl připraven vždy v 0,25% koncentraci. Protože preparát obsahuje 5 % CaCl_2 a 10 % NaCl , byly tyto přísady přítomny ve 100 ml roztoku vždy v množství 0,0125 g CaCl_2 a 0,025 g NaCl . Zkoušky stability preparátu byly provedeny jednak s tímto obsahem uvedených solí v roztoku a jednak se zvýšenou přísadou chloridu sodného na celkovou koncentraci 0,3 g/100 ml. Z grafů 3 a 4 je patrné, že roztok preparátu č. 1 snižuje svou aktivitu po 30minutovém působení teploty 70 °C na 65 až 68 % své původní aktivity v přítomnosti zvýšené koncentrace chloridu sodného a na 45 až 47 % v jeho nepřítomnosti a udržuje ji v rozmezí hodnot pH 6—8 na stejné výši. Při pH nižším než 6 stabilita preparátu prudce klesá.



Obr. 3

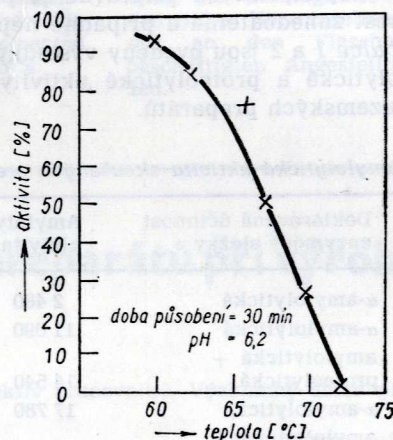


Obr. 4

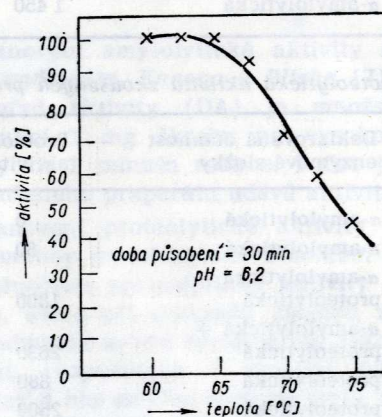


Obr. 5

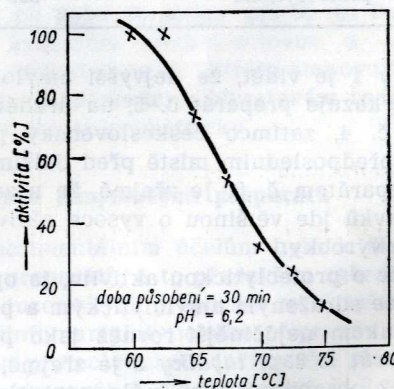
Dále je patrné, že roztok amylolytického preparátu č. 1 se zvýšenou dávkou stabilizační přísady zachovává při působení teploty 60 °C po dobu 30 minut 100 % své aktivity, která postupně se zvyšující se teplotou klesá, a to rychleji po dosažení 70 °C. Roztok preparátu bez vyššího obsahu chloridu sodného za uvedených podmínek ztrácí zcela svou aktivitu při 75 °C.



Obr. 6



Obr. 7



Obr. 8

Pokud jde o skladovatelnost československého preparátu č. 1, zaručuje výrobce u tekutého produktu tříměsíční dobu beze ztráty enzymové aktivity.

Výsledky zkoušek stability zahraničních amylolytických preparátů jsou znázorněny v grafech 5 až 8. Z grafů je patrné, že poměrně nejlépe je sta-

bilizován přípravek č. 2 a č. 4, poté následuje č. 5 a č. 3. Výsledky zkoušky s preparátem č. 6 nebylo možno graficky vyjádřit pro jeho velmi nízkou tepelnou stabilitu.

K charakteristice enzymových preparátů patří posouzení jejich cytolytické aktivity. Během rmutování při 40 °C uvolňují enzymy do roztoku redukující látky, jejichž množství je vyjádřeno v mg glukózy na 100 ml výluhu. Postupuje se tak, že se k navážce 25 g ječného šrotu přidá 0,5 % preparátu (z navážky ječného šrotu) a suspenduje se ve 100 ml vody 40 °C. Rmutovací zkouška probíhá po dobu 2 hodin při uvedené teplotě. Poté se obsah kádinky dováží do 250 g a zfiltruje. Ve filtrátu se stanoví obsah redukujících látek.

Tabulka 4. Porovnání cytolytické aktivity zkoušených preparátů

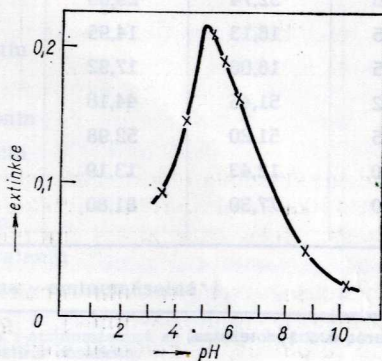
Preparát číslo	mg glukózy/100 ml výluhu
1	444
2	444
3	568
4	506
5	630
6	444
kontrolní vzorek (bez enzymového preparátu)	224

Z tabulky 4 je patrný pozitivní účinek všech zkoušených enzymových přípravků. Přestože přípravek č. 5 a č. 3 vykazuje nejvyšší účinek, má toto hodnocení pouze relativní význam, protože jde o preparáty vysoce koncentrované (včetně přípravků č. 4 a č. 2), jichž se zpravidla používá v nižších koncentracích, než jak je tomu u preparátu č. 6 a č. 1. Z tohoto hlediska lze tyto výrobky hodnotit jako poměrně cytolyticky účinné ve srovnání s ostatními testovanými přípravky.

Výběr preparátů pro zkoušky s vysokou náhradou sladu ječným šrotem se uskutečňoval se zřetelem k dostupnosti preparátu, zejména k jeho potřebnému množství a k zjištěným vlastnostem jednotlivých vzorků.

Laboratorní zkoušky s aplikací enzymových preparátů

Účinnost enzymových preparátů při 50 % náhradě sladu ječným šrotem (v přepočtu na standardní slad) se nejdříve zkoušela v laboratorním měřítku.



Obr. 9

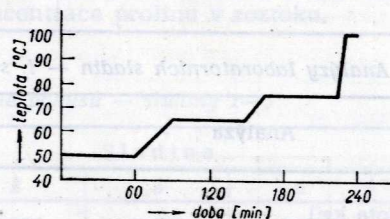
Připravily se sladiny s náhradou sladu ječným šrotem, a to jak ze sladovnického, tak i průmyslového ječmene. Ve třech sériích laboratorních várek (16 sladin) se zkoušely různé dávky čtyř enzymových preparátů:

- a) preparát č. 5 — sdružený α -amylolytický a proteolytický účinek,
- b) preparát č. 1 — α -amyláza,
- c) preparát č. 7 — proteolytický enzymový přípravek,
- d) preparát č. 10 — proteolytický přípravek plísňového původu.

Technologický postup přípravy laboratorních sladin

Sladový a ječný šrot s příslušnou dávkou enzymového preparátu (tabulka 6, 7, 8, 9, 10) — dávka v % na váhu ječmene) se vystřel do pitné vody 50 °C teplé. Pak následovala prodleva 20 minut; dále se během 30 minut sladina vyhřála na 65 °C — prodleva 60 minut — 10 minut var. Po ochlazení na laboratorní teplotu se sladina dovážila a zfiltrovala.

Jako srovnávací vzorky se připravily sladiny ze 100 % sladu a sladiny z 50 % sladu a 50 % ječného šrotu bez enzymové úpravy. Rmutovalo se stejně jako u sladin s aplikací enzymových preparátů (diagram rmutování, graf 10).



Obr. 10

Diskuse výsledků

Slad, který se použil k přípravě sladin, měl nízkou diastatickou mohutnost. Z hodnot extraktu sladu (76,2 % v původním při vláze 6,4) a ječmene (sladovnický — 59,76 % v původním při vláze 12,1 a průmyslový 57,96 % při vláze 10,4 %) vyplývá, že je 1 kg sladu ekvivalentní 1,27 kg sladovnického ječmene a 1,31 kg průmyslového ječmene.

Sladiny s 50 % náhradou sladu ječným šrotem (sladiny 2 a 6) bez enzymové úpravy mají v porovnání se sladovou sladinou nižší barvu. Projevuje se u nich nedostatek redukujících látek pro tvorbu barevných komponent. Obtížná filtrace těchto sladin byla způsobena nedostatečným účinkem cytolytických enzymů. Dále měly tyto sladiny nepříznivé složení dusíkatých látek (zvláště sladina 2 — sladovnický ječmen).

Sladiny vyrobené s 50 % náhradou sladu ječmene a upravené enzymovými preparáty měly rovněž netypickou světlou nazelenalou barvu.

Vliv α -amylolytické složky preparátu č. 1 a č. 3 (vářky 3, 4, 7, 8, 9) se v analýze sladin promítl ve vyšších hodnotách dextrinů. Nejvyšší hodnotu redukujících látek vyjádřených v g maltózy na 100 g

extraktu měla sladová sladina (sladina 1). Rovněž dosažitelný stupeň prokvašení tohoto vzorku byl velmi příznivý.

Dávka 0,05 % preparátu č. 5 na váhu ječmene (dávka, kterou doporučují výrobci preparátu) se již v laboratorních podmínkách ukázala pro československé suroviny nedostačující. Nižší hodnota viskozit surogovaných sladin upravených tímto preparátem (sladiny 3 a 7) naznačuje, že přípravek má při této nižší dávce i značný cytolytický účinek. Působení jeho proteolytické složky je nespecifické, protože příslušné sladiny v porovnání s ostatními vzorky mají vyšší množství nízkomolekulárních dusíkatých látek.

Při aplikaci preparátu č. 1 — československý výrobek s amylolytickou účinností — bylo nejpriznivější složení sacharidických látek u sladin s dávkou 0,5 % enzymu na váhu ječmene (sladina 16) dávka 0,3 % (sladina 14) je nedostačující a při dávce 0,75 % (sladina 15) se nezjistilo podstatné zlepšení ani v hodnotě redukujících látek ani v dosažitelném stupni prokvašení.

V sladinách upravených tímto bakteriálním amylolytickým preparátem a současně i proteolytickým přípravkem (sladiny 8, 11, 13, 16 viz příslušné tabulky) se příznivě zvýšily hodnoty nízkomolekulárních dusíkatých látek v roztoku (frakce C podle Lundina) a současně se zjistily nižší hodnoty va-

Tabulka 5. Analýza surovin použitých pro přípravu laboratorních sladin

Analýza sladu		Analýza ječného šrotu		Průmyslový ječmen	Sladovnický ječmen
Vlaha %	6,4	Vlaha %		10,4	12,1
Extrakt v pův. %	76,2	Extrakt v pův. %		57,96	59,76
Extrakt v suš. %	81,4	Extrakt v suš. %		64,70	67,99
Barva ml 0,1 N J ₂ /100 ml	0,21—0,23	Třídění: pluchy %		43,0	52,7
Stírka zcukřila	15—20	krupice %		33,5	33,0
Diastatická mohutnost W-K		jemná krupice %		18,0	9,9
j. v. suš.	224	mouka %		5,5	4,4
Kolbachovo číslo	44,64				

Tabulka 6. Analýzy laboratorních sladin — I. série pokusů sladin 1—5

Analýza	Sladina				
	1	2	3	4	5
Měrná hmota kg/l	1,04407	1,04517	1,04695	1,04673	1,04489
Extrakt %	10,97	11,23	11,66	11,61	11,17
Redukující látky					
Maltóza g/100 g	7,80	7,32	7,77	7,92	8,60
Dextriny g/100 g	0,68	2,31	2,12	2,42	2,17
Barva ml 0,1 N J ₂ /100 ml	0,30—0,35	0,24—0,26	0,27—0,29	0,28—0,30	0,29—0,31
Viskozita cP	1,74	1,94	1,85	1,94	1,84
pH	6,10	6,16	5,85	5,79	5,76
Třísloviny mg/1000 g	84,20	95,00	111,70	96,20	125,20
Antokyanogeny nm	0,230	0,194	0,233	0,235	0,244
Celkový dusík mg/100 g	89,91	71,26	100,48	83,35	97,09
Lundinova frakce A mg	26,01	23,09	32,90	24,25	31,79
%	28,92	32,40	32,74	29,09	32,74
B mg	11,85	16,35	16,13	14,95	13,34
%	13,17	22,95	16,06	17,92	13,74
C mg	52,08	31,82	51,45	44,16	51,96
%	57,91	44,65	51,20	52,98	53,52
Varem koagulovatelný dusík mg/100 g	10,23	8,40	12,43	13,19	15,03
Dosažitelné prokvašení %	82,50	79,70	77,30	81,80	83,30

Sladina 1 — 100 % slad

Sladina 2 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (sladovnický ječmen)

Sladina 3 — 50 % slad a 50 % ječný šrot a 0,05 % preparát č. 5 (amyláza, proteináza)

Sladina 4 — 50 % slad a 50 % ječný šrot a 0,5 % preparát č. 1 (amyláza) 0,5 % preparát č. 7 (proteináza)

Sladina 5 — 50 % slad a 50 % ječný šrot a 0,05 % preparát č. 1.

rem koagulovatelného dusíku. Při stejné dávce 0,5 % na váhu ječmene byl účinnější proteolytický preparát č. 7 bakteriálního původu (sladina 13) než československý preparát č. 10 plísňového původu (sladina 16).

Sladina s 50 % náhradou ječným šrotem upravená přípravkem č. 1, a to 0,5 % dávkou tohoto amylolytického preparátu a současně i proteolytickým preparátem č. 7 (sladina 13) měla prakticky stejné složení jako sladina sladová (sladina 1).

Ostatní sladinu připravené s 50 % náhradou sladu ječným šrotem mají v porovnání se sladovou sladinou nižší množství aminodusíku. Dávkováním proteolytických preparátů současně s amylolytickými se sice zvýšilo množství jednotlivých aminokyselin v roztoku, ale nedosáhlo se stejného složení jako u sladinu ze 100 % sladu. U sladinu připravených s aplikací proteolytického preparátu č. 7 se kvantitativní složení aminokyselin nejvíce přibližuje k hodnotám zjištěným u sladové sladinu.

Aminokyseliny se dělí podle asimilovatelnosti kvasinkami do čtyř základních skupin [9, 10]:

Skupina A — kvasinky asimilují tyto aminokyseliny v prvních hodinách fermentace. Patří sem: kyselina glutamová, kyselina asparagová, glutamin, asparagin, serin, threonin, lysin, arginin.

Skupina B — kvasinky je asimilují pomaleji než aminokyseliny skupiny A: valin, methionin, leucin, izoleucin, histidin.

Skupina C — kvasinky je asimilují prakticky všechny, až jsou aminokyseliny skupiny A ze substrátu vyčerpány: glycin, phenylalanin, tyrosin, tryptofan, alanin, amoniak.

Skupina D — za normálních podmínek kvašení není asimilována: prolin.

Srovnávací sladová sladina (sladina 11) má nejbohatší množství aminokyselin skupiny A, které je téměř shodné u surogované sladinu upravené 0,5 % dávkou preparátu č. 1 s α -amylolytickým účinkem a 0,5 % dávkou přípravku č. 7 s proteolytickou účinností (sladiny 11 a 13). V souvislosti s vysokým množstvím snadno asimilovatelných aminokyselin v roztoku je i zjištěný vysoký stupeň dosažitelného prokvašení těchto sladinu.

Aminokyseliny skupiny B — pomaleji asimilovatelné kvasinkami mají v surogovaných sladinách tendenci k nižším hodnotám.

Aminokyseliny skupiny C jsou v surogovaných sladinách v porovnání k sladovým vyšší.

Pro všechny surogované sladinu (bez enzymové úpravy i s ní) je typická nízká hodnota aminokyselin skupiny D — prolinu. Podle množství prolinu v sladinách lze posuzovat do určité míry i kvalitu použitého sladu. Velmi nízká hodnota této aminokyselinu v surogovaných sladinách dává možnost odhadnout výši surogace, protože ani aplikací enzymových preparátů se nedosáhne podstatného zvýšení koncentrace prolinu v roztoku.

Tabulka 7. Analýza volných aminokyselin laboratorních sladin I. série pokusů — sladinu 1—5

Aminokyselina μmol	skupina	Sladina				
		1	2	3	4	5
Lysin	A	0,063	0,055	0,058	0,046	0,055
Histidin	B	0,030	0,024	0,020	0,018	0,021
NH ₃		—	—	—	—	—
Arginin	A	0,078	0,069	0,063	0,049	0,060
CySO ₃ H		—	—	—	—	—
Kys. asparagová	A	0,041	0,043	0,034	0,031	0,033
MeSO ₂		—	—	—	—	—
Threonin	A	0,043	0,047	0,039	0,027	0,041
Serin	A	0,141	0,151	0,19	0,108	0,125
Kyselina glutamová		0,031	0,033	0,030	0,018	0,023
Prolin	D	0,350	0,228	0,189	0,204	0,208
Glycin	C	0,039	0,040	0,040	0,037	0,036
Alanin	C	0,094	0,103	0,099	0,069	0,086
1/2 Cystin		—	—	—	—	—
Valin	B	0,082	0,080	0,075	0,056	0,068
Methionin	B	0,018	0,020	0,022	0,015	0,020
Izoleucin	B	0,042	0,049	0,042	0,030	0,035
Leucin	B	0,091	0,081	0,00	0,064	0,083
Tyrosin	C	0,041	0,042	0,037	0,027	0,035
Phenylalanin	C	0,061	0,065	0,053	0,035	0,051
Kyselina γ -aminomáselná*)		3,07	3,05	3,02	3,26	3,07

*) Kyselina γ -aminomáselná se uvádí v hodnotě plochy HxW, protože v standardní směsi, které se použilo ke kalibraci přístroje nebyla tato kyselina obsažena.

Tabulka 8. Analýzy laboratorních sladů II. série pokusů — sladiny 6—9

Analýza	Sladina			
	6	7	8	9
Měrná hmota kg/l	1,04460	1,04665	1,04537	1,04647
Extrakt %	11,10	11,59	11,28	11,54
Redukující látky				
Maltóza g/100 g	7,52	7,85	7,06	8,00
Dextriny g/100 g	2,08	2,16	2,49	1,83
Barva ml 0,1 N I ₂ /100 ml	0,26—0,28	0,40—0,45	0,30—0,35	0,35—0,40
Viskozita cP	1,51	2,15	2,23	2,23
pH	6,00	6,09	6,00	5,84
Třísloviny mg/1000 g	100,1	90,3	109,6	129,3
Antokyanogeny nm	0,232	0,173	0,170	0,184
Celkový dusík mg/100 g	89,16	112,43	92,21	114,53
Lundinova frakce A mg	32,14	36,40	32,92	37,01
%	36,04	32,38	35,70	32,32
B mg	10,30	19,58	12,52	22,68
%	11,56	17,41	13,58	19,80
C mg	46,72	56,45	46,77	54,84
%	52,40	50,21	50,72	47,88
Varem koagulovatelný dusík mg/100 g	11,15	12,96	11,02	12,40
Dosažitelné prokvašení %	78,90	78,1	77,7	83,4

Sladina 6 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (průmyslový ječmen), Sladina 7 — 50 % slad a 50 % ječný šrot a 0,05 % preparát č. 5
Sladina 8 — 50 % slad a 50 % ječný šrot a 0,5 % č. 1 a 0,5 % preparát č. 7, Sladina 9 — 50 % slad a 50 %
ječný šrot a 0,5 % preparát č. 1.

Tabulka 9. Analýzy laboratorních sladů III. série pokusů — sladiny 10—16

Analýza	Sladina						
	10	11	12	13	14	15	16
Měrná hmota kg/l	1,04570	1,04645	1,04518	1,04580	1,04550	1,04560	1,04551
Extrakt %	11,36	11,54	11,24	11,39	11,31	11,34	11,32
Redukující látky —							
Maltóza g/100 g	7,75	7,98	7,52	7,85	7,70	7,66	7,77
Dextriny g/100 g	1,44	2,18	2,15	1,89	2,02	2,11	1,82
Barva ml 0,1 N I ₂ /100 ml	0,26—0,28		0,28—0,30	0,26—0,28	0,26	0,26—0,28	0,28—0,30
Viskozita cP	2,34	2,11	2,27	2,22	2,30	2,23	2,25
pH	6,15	6,10	6,00	6,00	6,15	6,15	6,00
Třísloviny mg/1000 g	86,8	116,7	84,6	92,4	101,5	109,7	97,1
Antokyanogeny nm	0,156	0,217	0,152	0,218	0,229	0,211	0,234
Celkový dusík mg/100 g	78,48	97,81	90,88	115,39	81,15	82,82	85,16
Lundinova frakce A mg	25,84	27,39	—	37,88	27,69	28,42	29,30
%	32,93	28,00	—	32,83	34,12	34,32	34,40
B mg	13,09	15,72	—	18,44	11,45	11,55	11,66
%	16,68	16,07	—	15,98	14,11	13,94	13,69
C mg	39,55	54,70	—	59,07	42,01	42,85	44,20
%	50,39	55,93	—	51,19	51,77	51,74	51,91
Varem koagulovatelný dusík mg/100 g	11,28	—	—	13,13	8,83	11,51	9,67
Dosažitelné prokvašení %	82,1	83,3	79,2	82,0	80,6	79,0	79,3

Sladina 10 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (sladovnický ječmen a 0,5 % preparát č. 1
Sladina 11 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (sladovnický ječmen a 0,5 % preparát č. 1 a 0,5 % preparát č. 7
Sladina 12 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (průmyslový ječmen) a 0,5 % preparát č. 1
Sladina 13 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (průmyslový ječmen) a 0,5 % preparát č. 1 a 0,5 % preparát č. 7
Sladina 14 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (sladovnický ječmen) a 0,3 % preparát č. 1, Sladina 15 — 50 % slad a 50 % ječný šrot
(sladovnický ječmen) a 0,7 % preparát č. 1, Sladina 16 — 50 % slad a 50 % ječný šrot (sladovnický ječmen) a 0,5 % preparát č. 1
a 0,5 % preparát č. 10

Tabulka 10. Analýza volných aminokyselin laboratorních sladů III. série pokusů — sladiny 10—16

Aminokyseliny μmol	Sladina							
	skupina	10	11	12	13	14	15	16
Lysin	A	0,051	0,068	0,055	0,072	0,048	0,051	0,053
Histidin	B	0,020	0,026	0,021	0,026	0,021	0,021	0,019
NH ₃		—	—	—	—	—	—	—
Arginin	A	0,054	0,075	0,058	0,075	0,052	0,054	0,056
CySO ₃ H		—	—	—	—	—	—	—
Kyselina asparagová	A	0,033	0,038	0,037	0,043	0,033	0,032	0,031
MeSO ₂		—	—	—	—	—	—	—
Threonin	A	0,032	0,043	0,032	0,046	0,030	0,031	0,031
Serin	A	0,112	0,145	0,124	0,172	0,107	0,103	0,106
Kyselina glutamová	A	0,024	0,030	0,028	0,039	0,023	0,022	0,021
Prolin	D	0,187	0,225	0,207	0,222	0,214	0,214	0,183
Glycin	C	0,032	0,043	0,034	0,049	0,031	0,029	0,030
Alanin	C	0,078	0,098	0,085	0,117	0,071	0,068	0,072
½ Cystin		—	—	—	—	—	—	—
Valin	B	0,057	0,079	0,065	0,085	0,056	0,055	0,061
Methionin	B	0,015	0,025	0,016	0,026	0,014	0,015	0,017
Izoleucin	B	0,033	0,043	0,036	0,050	0,030	0,029	0,031
Leucin	B	0,071	0,104	0,081	0,121	0,066	0,064	0,074
Tyrosin	C	0,028	0,042	0,030	0,046	0,026	0,028	0,030
Phenylalanin	C	0,043	0,055	0,047	0,065	0,038	0,042	0,043
Kyselina γ -aminomáselná HxW		3,40	3,248	3,50	3,46	3,23	3,22	3,13

Preparát č. 5 se sdruženým α -amylolytickým a proteolytickým účinkem při dávce 0,05 % na váhu ječmene (dávka doporučená výrobcem preparátu) není dostatečně účinný na degradaci bílkovin ječmene. Jeho proteolytická složka je ve specifitě účinku odlišná od proteolytického preparátu č. 7 a od proteolytických enzymů, které jsou obsaženy ve sladce. Působení tohoto preparátu se projevuje více ve zvýšení hodnot aminokyselin skupiny B než A.

Československý amylolytický preparát — č. 1 — má při dávce 0,5 % na váhu ječmene dostatečný amylolytický účinek, avšak bude nutno při vysoké surogaci jako je 50 % náhrada sladce ječným šrotem současně přidávat i vhodný proteolytický preparát, aby se dosáhlo dostatečného štěpení bílkovin.

Závěr

Při testování enzymových preparátů, které se doporučují v pivovarském průmyslu k aplikaci při zpracování vysokého podílu nesladovaných obilovin, se zjistilo, že se tyto přípravky značně liší v hodnotách příslušných aktivit. Skutečná účinnost preparátů na degradaci vysokomolekulárních látek ječmene při rmutování nemusí být v plné relaci s aktivitou určenou u preparátů příslušnou metodikou stanovení. Některé preparáty, které vykazují vysokou α -amylolytickou a proteolytickou aktivitu, působí při aplikaci v nízkých dávkách spíše jako preparáty cytolytické.

Z výsledků laboratorních zkoušek vyplývá, že lze počítat i při 50 % surogaci ječným šrotem, a to jak ze sladovnického, tak i průmyslového ječmene a aplikací vhodných enzymů, dobře zvoleného technologického postupu rmutování a vhodného složení surovin s výrobou sladce, které se svým složením podobají sladčinám vyrobeným ze sladce.

Rozhodující pro dosažení dobré kvality příslušných sladce v provozních podmínkách má kromě účinnosti enzymového preparátu a jakosti zpracovaných surovin i technologický postup rmutování a vybavení varen. Proto jsme v další práci sledovali vliv surogace s aplikací enzymů v čtvrtprovozních a poloprovozních podmínkách, a to jak na průběh výroby, tak i na kvalitu hotového piva. Výsledky těchto zkoušek budou publikovány v dalších číslech časopisu Kvasný průmysl.

Literatura

- [1] BASAŘOVÁ, G.: Kvasný průmysl, 17, 1971: 78—81
- [2] Analytica EBC, 2. vydání, Verlag Hans Carl Nürnberg, 1933
- [3] MOORE, S., - STEIN, W. H.: J. Biol. Chem., 176, 1968: 367
- [4] BASAŘOVÁ, G., - ČERNÁ, I.: Kvasný průmysl, 16, 1970: 257—262
- [5] SATAKE, K., - OKUYAMA, T., - OHASHI, M., - SHINODA, T.: Journal of Biochemistry, 47, 1960: 654
- [6] FRANKEN - LUYKK, J. M. M.: Int. Tijdschrift Brouw. en Mout., 51, 1937/1968: 1
- [7] SANDSTEDT, J., - KNEEN, E., - BLISH, H.: Cereal Chemistry, 16, 1939: 752
- [8] SLAVÍK, K., - SMETANA, R.: Chemické listy, 46, 1952: 649
- [9] PIERCE, J. S.: Tech. Quart. MBAA, 3, 1966: 231—236
- [10] JONES, M., - PIERCE, J. S.: J. Inst. Brew., 70, 1934: 307