

# Problematika stanovení $\beta$ – glukanasy ječmene a sladu

Ing. MARIE NETWICHOVÁ, Dr. ALICE DOLEŽALOVÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, pracoviště Brno

**Klíčová slova:** ječmen, slad, glukanas, enzym,  $\beta$ -glukan, aktivita, substrát, viskozita.

663.43 577.15

Přibližně 80 % sušiny ječného zrna tvoří polysacharidy, z nichž většina jsou lineární polymery glukosy. Ty se dělí na dvě skupiny, a to  $\alpha$ -glukany a  $\beta$ -glukany.

$\alpha$ -glukany — škrob — tvoří základní zdroj polysacharidů, potřebný pro vývoj embrya a jsou hlavní složkou pivovarského extraktu.  $\beta$ -glukany jsou složeny z glukosových jednotek, vázaných vazbami  $\beta$ -1,3 a  $\beta$ -1,4. Vzájemný poměr vazeb  $\beta$ -1,3 a  $\beta$ -1,4 je asi 3 : 7.  $\beta$ -glukany sestávají z frakce rozpustné ve vodě (gumovité látky) a z frakce hemicelulosové, ve vodě nerozpustné. Ty se vyskytují jak v endospermu, tak i v pluchách a jsou vázány na bílkoviny a jiné látky, s nimiž tvoří stavební složku buněčných stěn.

Při sladování a při rmutování se  $\beta$ -glukany částečně štěpí působením řady enzymů. Nejdůležitější z nich jsou [1]:

1. endo- $\beta$ -1,4-glukan-4-glukanohydrolasa EC 3.2.1.4,
2. ječná endo- $\beta$ -glukanasa (endo- $\beta$ -1,3-1,4-glukan-4-glukanohydrolasa) EC 3.2.1.7.3,
3. endo- $\beta$ -1,3-glukanasa EC 3.2.1.6,
4.  $\beta$ -glukansolubilasa.

$\beta$ -glukansolubilasa je vlastně kyselá karboxypeptidasa. Je přítomna již v ječmenu, aktivuje se během máčení a klíčení. Působí jako první enzym z tohoto systému, připravuje pole pro činnost ostatních  $\beta$ -glukanas tím, že uvolňuje  $\beta$ -glukany ze sloučenin s proteiny. Je stabilní vůči vysokým teplotám a zachovává si aktivitu i během rmutování a hvozdní.

Endo- $\beta$ -1,4-glukanasa je ve velké míře obsažena v pluchách a snad působí při degradaci celulosy.

Úkolem  $\beta$ -1,3-glukanasy je hydrolyzovat  $\beta$ -glukan uvolněný během sladování.

Ječná endo- $\beta$ -glukanasa ze sladu hraje roli při štěpení smíšených vazeb  $\beta$ -glukanu. V původním nebo máčeném ječmenu je buď nepřítomna nebo není aktivována, její aktivita silně narůstá během klíčení. Ječná endo- $\beta$ -glukanasa je termolabilní a bez patřičné opatrnosti se během hvozdní úplně zničí.

Optimum působení endo- $\beta$ -glukanasy se různí podle různých autorů a pohybuje se v rozmezí pH 4,7–5,8. Vyčištěná má optimální působení při pH 5,4 [2]. Její aktivita se stupňuje kyselinou giberelovou.

Výsledek působení těchto enzymů se jeví jako cytolytické rozluštění sladu, které je důležité pro dobré zpracování sladu ve varně. Umožňuje přechod extraktivních látek v plné míře do roztoku, zajišťuje dobrou filtrovatelnost mladiny i piva. Pro potřeby technologie piva je nutno posuzovat celý komplex těchto faktorů, jak množství  $\beta$ -glukanů v ječmenu a sladu, tak také aktivitu cytolytických enzymů a jejich schopnost štěpit  $\beta$ -glukany v míře potřebné pro výrobu kvalitních pív. Stanovení těchto látek odděleně nemůže poskytnout spolehlivé informace pro pivovarskou výrobu. Například vysoká aktivita solubilasy a nízký obsah  $\beta$ -glukanu ukazují na výborné vlastnosti ječmene po stránce rozluštělnosti, na druhé straně však, vzhledem k vysoké tepelné stabilitě, může solubilasa uvolňovat při rmutování vysokomolekulární  $\beta$ -glukan, který pak již není dále rozštěpován. Tato skutečnost má pak negativní technologický dopad při výrobě piva.

Obsah  $\beta$ -glukanů ječmene je veličina s vysoce genetikým zakódováním. Závisí tedy převážně na odrůdě, avšak i pěstební místo a vegetační podmínky mají vliv. Velký význam má např. doba setí. Při pozdní době setí se zvyšuje obsah gumovitých látek v zrnu. Rovněž ječmeny, které vyrostly za horkého a suchého počasí, obsahují více gumovitých látek než ty, které měly během vegetace převážně chladno a vlhko [3].

Při sladování jde vlastně o tyto základní postupy při cytolyze ječmene:

1. uvolnění vysokomolekulárních  $\beta$ -glukanů z komplexů s bílkovinami a jinými sloučeninami;
2. štěpení  $\beta$ -glukanů s vysokou molekulovou hmotou na  $\beta$ -glukany nízkomolekulární, popř. až na glukosu

Narziß [4] zdůrazňuje dostatečně dlouhou dobu vedení sladu, aby byla umožněna činnost cytolytických enzymů a jako požadavek udává 1 den máčení a 6 dnů klíčení. Tento požadavek je potvrzen i prací autorů Erdala a Gjertsen [5], kteří sledovali závislost úbytku viskozity a  $\beta$ -glukanů ve sladu během klíčení.

Schuster et al. [3] sledovali chování gumovitých látek při klíčení a zjistili, že se zvyšujícím se stupněm domočení a délkou klíčení jejich množství ubývá. Teplota hromad ovlivňuje změny v gumovitých látkách tehdy, pro-



	Dny klíčení				
	5	6	7	8	9
moučka-šrot [%]	3,6	2,9	2,1	2,2	1,7
viskozita [mPa . s]	2,08	1,89	1,78	1,73	1,66
$\beta$ -glukany ve sladu [%]	0,54	0,57	0,45	0,35	0,30

bíhá-li ještě rozlušťování a narůstá enzymová aktivita ve sladu. Pokusy s různými odrůdami ukázaly, že ječmeny bohaté na gumovité látky přes zdánlivě lepší rozluštění sladu mají často neuspokojivou výtěžnost extraktu.

Z uvedených údajů je zřejmé, že  $\beta$ -glukany a s nimi související enzymový komplex jsou důležitou složkou ječmene a sladu a že je nutno se jimi zabývat se zřetelem na jejich význam pro výrobu piva a jeho konečnou kvalitu.

V literatuře existuje řada metod na stanovení aktivity endo- $\beta$ -glukanasy. V metodice EBC však dosud žádná zakotvena není.

Principiálně se většina metod zakládá na stanovení úbytku viskozity  $\beta$ -glukanového substrátu působením endo- $\beta$ -glukanasy. Rozdíl mezi jednotlivými metodami jsou jednak v použitém substrátu, jednak ve způsobu stanovení viskozity. Metodika popsaná a zařazená v MEBAK [6] používá ke stanovení viskozity rotační viskozimetr a jako substrát  $\beta$ -glukan firmy Novo Industri. Použití kapilárního viskozimetru Ubbelohdeho pro stanovení aktivity endo- $\beta$ -glukanasy navrhli Bourne a Pierce [7], kteří jako substrát použili  $\beta$ -glukan připravený z ječmene postupem Prece a Mackenzie [8]. Tento postup přípravy je však zdlouhavý a vyžaduje speciální chemikálie. Analytická komise IoB [9] vypracovala metodu na stejném principu, používá rovněž kapilární viskozimetr. Liší se od předešlé v použitém substrátu, kterým je komerční preparát firmy Biocon. Uvedenou metodu akceptovaly filipínské pivovary a vyžadují hodnocení sladu podle tohoto postupu. Pracovníci Vsesvazového vědeckovýzkumného ústavu pivovarského a nealkoholového průmyslu v Moskvě, pobočka Charkov (VNIIPBP) [10] používají pro stanovení endo- $\beta$ -glukanasy Ubbelohdeho viskozimetr, substrát si však připravují sami originální, velmi jednoduchou metodou. Vodný výluh ječné moučky, předem autoklávované, se sráží alkoholem a vysrážený  $\beta$ -glukan se suší při teplotě místnosti.

Vzhledem k vysoké ceně dovozního substrátu Biocon a k jeho těžké dosažitelnosti jsme vyzkoušeli a přejali metodu přípravy  $\beta$ -glukanu od sovětských výzkumných pracovníků, která se nám v plné míře osvědčila. Substrát Biocon používáme pouze pro potřeby exportu.

Na jiném principu je založena metoda stanovení aktivity  $\beta$ -glukanasy radiální difúzí [11]. Jedná se o difúzi enzymu agarózovým gelem obsahujícím  $\beta$ -glukanový substrát a kongočerveň. Z velikosti odbarvené plochy se stanovuje aktivita enzymu.

Z přehledu metodik jsme vybrali metodu MEBAK, kterou jsme modifikovali s ohledem na naše současné možnosti.

V podstatě se skládá z pěti částí:

- příprava enzymového výluhu,
- příprava roztoku substrátu,
- inkubace,
- měření změn substrátu,
- výpočet aktivity enzymu.

Největším problémem bylo zajištění substrátu. Vyřešili jsme jej přípravou  $\beta$ -glukanu podle prací VNIIPBP.

## PRINCIP METODY

Působením endo- $\beta$ -glukanasy na roztok  $\beta$ -glukanu se štěpí molekuly substrátu, čímž průběžně ubývá jeho viskozita. Úbytek viskozity se měří rotačním viskozimetrem. Změna převrácené hodnoty specifické viskozity je mírou aktivity endo- $\beta$ -glukanasy.

## Přístroje a zařízení

- analytické váhy s přesností  $\pm 0,1$  mg,
- vodní lázně 50 °C, 98 °C,

- rotační viskozimetr Rheostat 2 z NDR (nebo jiný typ),
- filtrační papír, modrá páska,
- laboratorní sklo,
- rmutovací lázeň,
- autokláv,
- odstředivka.

## Reagencie a roztoky

- $\beta$ -glukan z ječmene (vlastní příprava),
- fosfátový pufr 0,1 M pH 5,7,
- roztok NaCl 0,5 %,
- ethylalkohol 96 %.

## Provedení

### Příprava $\beta$ -glukanového substrátu

Ječmen jemně semeleme a autoklávujeme při 0,1 MPa po dobu 1 h. Vrstva moučky při autoklávování nemá být vyšší než 2 cm. Potom mouku extrahujeme 5 objemy destilované vody při 40 °C 1 h za stálého nebo velmi častého míchání. Extrakt odcentrifugujeme a mouku podruhé extrahujeme polovičním objemem vody po dobu 30 min. Po odstředění přidáme extrakt k prvnímu. Mouku promyjeme malým množstvím vody a po odstředění zbylou kapalinu přidáme k extraktu. Z takto získaného vodného extraktu srazíme  $\beta$ -glukan přidáním stejného objemu 96% ethylalkoholu. Sraženinu oddělíme filtrací přes silonovou tkaninu, několikrát důkladně promyjeme lihem a při tom sraženinu roztíráme na tkanině tyčinkou. Pak sušíme na Petriho miskách při teplotě místnosti. Výtěžek  $\beta$ -glukanu činí asi 3 % váhy ječmene, obsah polysacharidů více než 80 %, bílkovin průměrně 2 %, vláhá okolo 10 %. Specifická viskozita 0,5 % roztoku nemá být nižší než 4. Preparát je bílý prášek.

### Příprava enzymového výluhu

20 g sladové moučky se suspenduje ve 100 ml 0,1 M NaCl a 1 h míchá při 20 °C. Filtruje se přes modrou pásku. Při větší enzymové aktivitě je nutno výluh zředit, aby byl průběh reakce lineární.

### Příprava roztoku $\beta$ -glukanu

2 g  $\beta$ -glukanu se dá do 100 ml kádinky a přidá se asi 40 ml fosfátového pufru. Suspenze se převede kvantitativně do 100 ml odměrné baňky, přidá se fosfátový pufr až do asi 90 ml. Baňka se nechá stát 20 min ve vodní lázni při 98 °C, pak se roztok ochladí na 20 °C a doplní fosfátovým puforem po značku.

## Inkubace a viskozimetrické měření

20 ml roztoku substrátu se vytemperuje na 50 °C a napipetuje do 150 ml Erlenmeyerovy baňky. Přidá se 2 ml sladového výluhu, dobře se promíchá a rychle se dá do měřicího válce rotačního viskozimetru. Pak se odečítá v intervalech 2 min viskozita po dobu 20 min. První měření se má provést nejdříve 6 min, lépe 10 min po přidání enzymového výluhu.

Výpočet aktivity enzymu

$$\eta_s = \frac{Re}{Ro} - 1$$

$\eta_s$  = specifická viskozita

$\eta_{Re}$  = viskozita reakční směsi

$\eta_{Ro}$  = viskozita rozpouštědla

$$A = \frac{\Delta 1/\eta_s}{G_v} \times 1000 \text{ pro slad vztaženo na 1000 g sladu a 1 min}$$

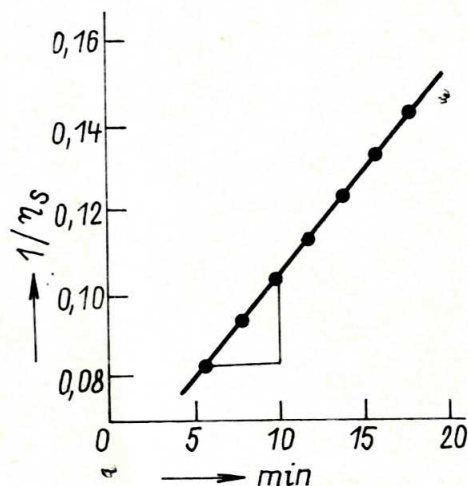
$A$  = aktivita  $\beta$ -glukanasy ve vzorku  
 $\Delta 1/\eta_s$  = změna převrácené hodnoty specifické viskozity reakčního roztoku za 1 minutu

$G_v$  = hmotnost vzorku v reakční směsi v g.

Z naměřených hodnot na rotačním viskozimetru se vypočte násobením faktorem příslušného válce a rychlostního stupně (z tabulek) odpovídající viskozita  $\eta_{Re}$ , z ní se vypočte specifická viskozita  $\eta_s$  a její reciproční hodnota  $1/\eta_s$  se nanese v závislosti na čase do grafu (obr. 1). Směrnice přímky odpovídá aktivitě endo- $\beta$ -glukanasy vzorku po přepočtení na 1 kg za minutu.

Výsledky se udávají v jednotkách  $1/\eta_s$  na jedno desetinné místo. Normální hodnoty u plzeňských sladů 6–14 jednotek.





Obr. 1. Reciproční hodnoty specifické viskozity v závislosti na čase

## II. ČÁST

### Zhodnocení metody

Analyzovali jsme touto metodou sérii sladů a použili jsme vedle sebe substrát firmy Novo Industri a  $\beta$ -glukan připravený v naší laboratoři. V tabulce 1 jsou uvedeny výsledky těchto analýz.

Tabulka 1. Hodnoty  $\beta$ -glukanasy stanovené viskozimetrickou metodou za použití dvou různých substrátů

Číslo vzorku	Substrát Novo j.	Substrát VÚPS j.
1	23,1	26,4
2	27,8	30,9
3	27,4	31,5
4	24,4	27,3
5	25,5	28,4
6	23,0	25,8
7	26,4	28,5
8	35,2	43,1
9	38,4	46,3
10	18,8	32,9
11	29,1	38,0
12	32,5	38,9
13	31,5	47,6
14	21,1	24,5
15	22,1	26,4

Hodnoty stanovení u metod zjišťujících enzymovou aktivitu jsou velmi závislé na použitém substrátu. Jeho specifikace je obtížná a také jeho příprava je závislá na mnoha okolnostech, takže každá šarže je jiná a dává jiné výsledky.

Viskozita jednaprocentního substrátu připravovaného ve VÚPS autoklávováním je 4,59 mPa . s, u substrátu Novo byla naměřena 2,04 mPa . s.

Stanovili jsme reprodukovatelnost u analýz s  $\beta$ -glukanem Novo a se substrátem VÚPS. Míra přesnosti  $M'$  u preparátu VÚPS byla  $\pm 8,9\%$ , u substrátu Novo  $\pm 13,3\%$ . Přesnost stanovení a absolutní hodnota výsledků souvisí zřejmě, kromě jiného, s výchozí viskozitou použitého substrátu. Bathgate [9] v práci prováděné pro analytickou komisi IoB se zabýval metodikou stanovení endo- $\beta$ -glukanasy a mezi jiným i výběrem vhodného substrátu. Z jeho výsledků vyplývá, že dánský preparát Novo se ukázal nevhodný pro viskozimetrické stanovení pro svou nízkou specifickou viskozitu ( $4,4 \pm 0,4$  cSt). Jako nejvhodnější doporučuje  $\beta$ -glukan vyrobený firmou Biocon, se specifickou viskozitou 21,4 cSt. V této práci je publikována tabulka s výsledky stanovení  $\beta$ -glukanasy

Tabulka 2. Aktivita  $\beta$ -glukanasy s použitím různých substrátů v jednotkách IRV\*

Vzorek A	Biocon glukan	Laboratorní glukan I*	Laboratorní glukan II
lab. 1	1992	1788	3918
2	1364	1478	2520
3	1295	1280	2590
4	1710	1545	3168
5	1375	1385	2434

\* Increase in reciprocal viscosity

v různých laboratořích a s různými preparáty. Z ní je patrné, že i při použití stejného substrátu jsou mezi laboratořemi velké rozdíly. Při použití různě připravených  $\beta$ -glukanů se výsledky nedají prakticky srovnávat.

I naše práce potvrzuje zjištění uvedeného autora. Stejným způsobem za použití autoklávování, vyrobený  $\beta$ -glukan z jedné šarže poskytoval diametrálně rozdílné výsledky oproti druhé šarži.

Vzorek	Aktivita $\beta$ -glukanasy	
	$\beta$ -glukan I	$\beta$ -glukan II
1	19,31	42,8
2	28,9	60,9
3	22,7	37,5

Baghate [9] doporučuje používání univerzálního standardního substrátu a každé stanovení srovnávat se standardním kontrolním sladem. Mimoto se musí věnovat velká péče přípravě roztoku substrátu, aby se dosáhlo shodných výsledků.

Metodicky je pro nás důležitá varianta stanovení  $\beta$ -glukanů podle IoB, kterou požadují jako kontrolní metodu Filipíny. Používá standardní substrát od firmy Biocon, výsledky každé série stanovení se korigují vzhledem ke standardnímu sladu IoB, který se bere současně k analýze aktivity. Tento standard se připravuje vždy pro 1 rok.

Popsanou metodou jsme zpracovali sérii exportních sladů s  $\beta$ -glukanem firmy Novo. Výsledky jsou uvedeny v tab. 3. Vedle hodnot aktivity  $\beta$ -glukanasy jsou v tabulce zachyceny i hodnoty jiných analytických znaků, vyjadřujících cytolytické rozluštění sladu a rovněž hodnoty extraktu, jehož uvolnění je podmíněno dobrou cytolýzou. Matematickým zpracováním údajů z tabulky docházíme k závěru, že viskozita je vysoce průkazně negativně závislá na aktivitě  $\beta$ -glukanasy,  $R = 0,9081++$  ( $r = 0,6226$  pro  $p = 0,01$ ). Stejná, vysoce průkazně negativní závislost byla nalezena i mezi hodnotami rozdílu extraktů moučka-šrot a aktivitou  $\beta$ -glukanasy,  $R = 0,8507++$  ( $r = 0,6226$  pro  $p = 0,01$ ). Hodnoty extraktu se pohybu-

Tabulka 3. Závislost hodnot  $\beta$ -glukanasy na jiných analytických hodnotách sladu

Č. vz.	Viskozita [mPa . s]	Extrakt [%]	Bílkoviny [%]	Rozdíl m - š [%]	$\beta$ -glukanasa j.
1	1,62	80,9	11,0	2,2	22,6
2	1,62	81,2	11,0	2,5	23,1
3	1,54	81,7	11,1	1,9	29,2
4	1,54	81,7	11,0	2,1	27,8
5	1,54	81,4	11,2	2,4	27,4
6	1,62	81,3	11,0	2,1	23,5
7	1,62	80,9	11,2	2,3	25,5
8	1,65	81,6	9,5	3,1	23,0
9	1,55	81,9	9,6	1,9	26,4
10	1,51	82,5	9,7	1,8	35,2
11	1,49	82,1	9,8	1,2	38,4
12	1,68	79,8	11,5	3,1	18,8
13	1,56	80,5	11,4	2,1	29,1
14	1,51	80,9	11,6	1,8	32,5
15	1,50	80,5	11,5	1,2	31,5
16	1,59	80,8	11,0	2,3	21,1



jí těsně pod hranici průkaznosti pro  $p = 0,05$ ,  $R = 0,4513$ , kritická hodnota  $r = 0,4973$ .

Uvedené výsledky dokazují užitečnost a zajímavost stanovení aktivity  $\beta$ -glukanasy pro vyjádření kvality sladu a jeho chování v pivovaru. Ještě podstatnější pro orientaci však bude současné vyhodnocení obsahu  $\beta$ -glukanů a obě tyto hodnoty ve vzájemném poměru mohou sloužit pro potřeby technologie sladu a piva i pro informace a usměrnění šlechtitelů při výběru vhodných sladovnických odrůd ječmenů.

### Literatura

- [1] BAMFORTH, C. W.: *Brewers Digest*, **6**, 1982, s. 23—28.
- [2] NARZISS, L., LITZENBURGER, K.: *Brauwiss.* **30**, 1977, č. 5, s. 138—143.
- [3] SCHUSTER, K., NARZISS, L., KUMADA, J.: *Brauwiss.* **20**, 1967 č. 5, s. 185—206.
- [4] Autor neuveden: *Brauwelt*, **121**, 1981, č. 19, s. 675—676.
- [5] ERDAL, K., GJERTSEN, P.: *EBC Proc. Congr. Estoril*, 1971, s. 49—57.
- [6] *Brautechnische Analysenmethoden (MEBAK) Band I*, 1979.
- [7] BOURNE, D. T., PIERCE, J.: *J. Inst. Brew.*, **76**, 1970, č. 4, s. 328—335.
- [8] PREECE, I. A., MACKENZIE, K. G.: *J. Inst. Brew.* **58**, 1952, s. 353—362.
- [9] BATHGATE, G. N.: *J. Inst. Brew.* **85**, 1979, č. 3—4, s. 92—94.
- [10] Metoda opredělenije endo- $\beta$ -glukanaznoj aktivnosti VNIIPBP Moskva, Charkov.
- [11] MARTIN, H. L., BAMFORTH, C. W.: *J. Inst. Brew.* **89**, 1983, s. 34.
- [12] NENTWICHOVÁ, M., DOLEŽALOVÁ, A.: Závěrečná zpráva 7b, VÚPS Brno, 1982.
- [13] NENTWICHOVÁ, M., DOLEŽALOVÁ, A.: Závěrečná zpráva ÚÚ 202, VÚPS Brno, 1983.

**Netwichová, M. - Doležalová, A.: Problematika stanovení  $\beta$ -glukanasy ječmene a sladu.** *Kvas. prům.*, **32**, 1986, č. 6, s. 121—124.

Ve stručném literárním přehledu byly probány způsoby stanovení aktivity endo- $\beta$ -glukanasy. Pro zpracování a ověření byla vybrána metoda MEBAK s použitím substrátu Novo i  $\beta$ -glukanu výroby VÚPS. Metoda je podrobně popsána.

Z uvedených výsledků vyplývá, že pro porovnání hodnot mezi laboratořemi je nutno bezpodmínečně používat jednotnou metodu a stejný substrát, přísně dodržovat předepsané podmínky metodiky a korigovat výsledky vzhledem ke standardnímu kontrolnímu sladu. Pro potřeby výzkumu je možno použít substrát vlastní výroby, ovšem pro celou sérii pokusů jednotný, tzn. stejnou šarži se stejnou specifickou viskozitou.

Z výsledků byla vypočtena vysoce průkazná negativní závislost aktivity  $\beta$ -glukanasy na viskozitě a na rozdílu extraktů moučka-šrot.

**Нентвихова, М. - Долежалова, А.: Проблематика определения  $\beta$ -глюкаказы ячменя и солода.** *Квас. прум.* **32**, 1986, № 6, стр. 121—124.

В кратком литературном обзоре были рассмотрены способы определения активности эндо- $\beta$ -глюкаказы. После обработки и испытания был избран метод МЕБАК

с применением как субстрата Ново, так и  $\beta$ -глюкана производства ВУПС. Метод подробно описан.

Из приведенных результатов вытекает, что в целях сопоставления величин разных лабораторий необходимо использовать единый метод и одинаковый субстрат, строго соблюдать установленные условия и провести коррекцию результатов в отношении к стандартному контрольному солоду. Для целей исследования можно применить субстрат собственного производства, однако единый для целой серии опытов, т. е. тот же шарж с одинаковой удельной вязкостью.

Из результатов была вычислена высоко доказательная отрицательная зависимость активности  $\beta$ -глюкаказы от вязкости и от отличия экстрактов муки-помол.

**Nentwichová, M. - Doležalová, A.: The Methods for  $\beta$ -Glucanase Determination of Barley and Malt.** *Kvas. prům.* **32**, 1986, No. 6, pp. 121—124.

Various methods for the determination of endo- $\beta$ -glucanase activity are described in a brief literature review. For the use and verification the MEBAK method, using both the Novo substrate as well as  $\beta$ -glucane prepared in Research Institute of Brewing and Malting, was chosen. The method is described in details. The results showed that for a comparison of the values among laboratories it is necessary to use the same method, the same substrate, to keep strictly the conditions of the method and the results must be correlated with respect to the standard malt. For the research needs it is possible to use substrate of its own production, however of the same batch with the same specific viscosity for a whole group of experiments. From the results it was calculated the very high negative activity dependence of  $\beta$ -glucanase on viscosity and on the flour-grist difference.

**Nentwichová, M. - Doležalová, A.: Problematik der Bestimmung der  $\beta$ -Glukanase in Gerste und Malz.** *Kvas. prům.* **32**, 1986, Nr. 6, S. 121—124.

Die Methoden der Bestimmung der Aktivität der Endo- $\beta$ -Glukanase werden zuerst in einer zusammenfassenden Literaturübersicht behandelt. Zur Bearbeitung und Prüfung wurde die MEBAK-Methode mit Anwendung sowie des Substrats Novo, als auch des im Forschungsinstitut für Brauerei und Mälzerei hergestellten  $\beta$ -Glukans. Die Methode ist ausführlich beschrieben.

Aus den angeführten Ergebnissen ergibt sich, daß für die Vergleichbarkeit der Werte zwischen Laboratorien unbedingt die folgenden Bedingungen gesichert werden müssen: einheitliche Methode, das gleiche Substrat, strenge Einhaltung der vorgeschriebenen Methodik, Korrektur der Ergebnisse in Beziehung zu dem Standard-Kontrollmalz. Für Forschungs- und Versuchszwecke kann das Substrat eigener Herstellung angewendet werden, jedoch einheitlich für die ganze Versuchsserie, d. h. die gleiche Charge mit der gleichen spezifischen Viskosität.

Aus den Ergebnissen wurde eine beweiskräftige negative Abhängigkeit der Aktivität der  $\beta$ -Glukanase von der Viskosität und der Extrakt Differenz Mehl-Schrot errechnet.