

## MAŁGORZATA DŻUGAN, ANNA PASTERNAKIEWICZ

Katedra Chemii i Toksykologii Żywności, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski,  
e-mail: [mdzugan@univ.rzeszow.pl](mailto:mdzugan@univ.rzeszow.pl)

### BADANIA PORÓWNAWCZE SŁODÓW Z JĘCZMIENIA OZIMEGO I JAREGO

*Wysoka aktywność  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy w słodzie jest głównym czynnikiem decydującym o jego przydatności w technologicznym procesie scukrzania skrobi. Badano aktywność amylolityczną słodu z jęczmienia ozimego (odmiana Esterel) i jarego (Barke). Sumaryczna aktywność  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy, mierzona siłą diastatyczną, była wyższa w słodzie z jęczmienia ozimego niż jarego. Słód z jęczmienia jarego charakteryzował się dwukrotnie wyższą siłą dekstrynującą (aktywność  $\alpha$ -amylazy) niż słód z jęczmienia ozimego. Zdolność słodu z jęczmienia jarego do hydrolitycznego rozkładu skrobi była większa niż słodu ozimego (krótszy czas scukrzania). Uzyskane wyniki wskazują, że aktywność  $\alpha$ -amylazy istotnie wpływa na przydatność słodu w technologicznym procesie scukrzania skrobi.*

**Słowa kluczowe:** słód jęczmienny, siła diastatyczna,  $\alpha$ -amylaza,  $\beta$ -amylaza

#### I. WSTĘP

Jednym z warunków uzyskania dobrego piwa jest wysoka jakość słodu zastosowanego w procesie produkcji piwa. Na jakość słodu browarnego wpływa przede wszystkim jakość jęczmienia oraz proces jego słodowania. Do najważniejszych kryteriów jakości ziarna jęczmienia jako surowca do słodowania należą: zawartość białka, skrobi,  $\beta$ -glukanów, aktywność enzymów oraz zdolność kiełkowania [8].

Spośród wielu enzymów, które są zawarte w jęczmieniu do najważniejszych należą: enzymy rozkładające skrobię (głównie  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylaza), enzymy cytolityczne (głównie  $\beta$ -glukanaza), enzymy rozkładające tłuszcze (lipazy) oraz enzymy rozkładające estry kwasu fosforowego (fosfatazy), [7]. Ziarno jęczmienia w stanie spoczynku zawiera bardzo niską aktywność enzymów, dopiero proces kiełkowania powoduje ich uwolnienie lub wytworzenie nowych [10]. Najważniejsze enzymy w słodzie to  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylaza. W procesie zacierania z ich pomocą skrobia rozkładana jest do cukrów prostszych- dekstryn i ostatecznie maltozy.  $\alpha$ -Amylaza (4-glukanohydrolaza  $\alpha$ -1,4-glukanu) jest endoamylazą odpowiada za rozkład łańcuchów amylozy i amylopektyny na mniejsze fragmenty w miejscu wiązań 1,4-glikozydowych wewnątrz łańcucha. Z kolei  $\beta$ -amylaza (maltohydrolaza  $\alpha$ -1,4-glukanu) odszczepia, z nieredukujących końców łańcuchów poliglikozydowych, cząsteczki maltozy w miejscu wiązania 1,4-glikozydowego, jest więc egzoamylazą [13].

O wyborze piwa przez konsumenta coraz częściej decydują nie tylko jego walory

\* *Pracę recenzował:* prof. dr hab. inż. Tadeusz Tuszyński, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

organoleptyczne (są one coraz bardziej podobne w każdej grupie piw), ale również cena produktu, związana pośrednio z kosztem produkcji brzezki słodowej. W Polsce, podobnie jak i w innych krajach, koniecznością staje się poszukiwanie nowych surowców do produkcji piw specjalnych. Wśród uprawianych odmian jęczmienia browarnego, obok najbardziej rozpowszechnionych dwurzędowych jarych, zaczynają również pojawiać się odmiany ozime dwu- i sześciorzędowe [10]. Prowadzone są prace w kierunku wykorzystania w piwowarstwie pszenżyta [1] oraz ziarna jęczmienia nagiego odmiany 'Rastik' [4].

Celem pracy było porównanie aktywności  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy występujących w słodzie browarnym typu pilzneńskiego wyprodukowanego z jęczmienia jarego i ozimego.

## II. MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były słody jasne pilzneńskie stosowane w browarze Van Pur w Rakszawie:

- 'jary' - z jęczmienia jarego dwurzędowego odmiany *Barke*, produkcji krajowej,
- 'ozimy' - z jęczmienia ozimego sześciorzędowego odmiany *Esterel*, importowany z Austrii.

Wilgotność słodów oznaczono metodą suszarkową wg PN-67/A-79083, zawartość azotu ogólnego - metodą Kjeldahla [14], z wykorzystaniem aparatu Kjeltec Analzyer. Do obliczenia procentowej zawartości białka zastosowano przelicznik 6,25.

Wyciąg enzymatyczny ze słodu (1g:50 ml H<sub>2</sub>O) sporządzano wg PN-A-79083-10. Ekstrakcję enzymów prowadzono w temp. 37°C przez 60 min, otrzymany przesącz używano do oznaczeń aktywności obu amylaz. Do oznaczenia zawartości białka w wyciągu słodowym zastosowano metodę Bradforda [5], używając jako wzorca albuminy wołowej.

Wpływ pH na aktywność amylaz słodowych badano w buforze cytrynianowo-fosforanowym, w przedziale pH 3,5-8 (w temp. 37°C). Miarą połączonej aktywności obydwu amylaz był czas scukrzenia 0,3% roztworu skrobi do stadium maltodekstryn (nie barwiące się z jodem) [9].

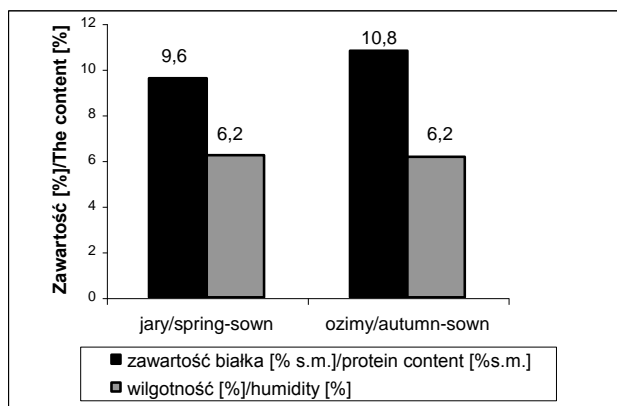
Oznaczanie siły diastatycznej słodów, w jednostkach Windisch-Kolbacha (j. W-K), przeprowadzono wg PN-A-79083-10.

Do oznaczenia siły dekstrynuującej zastosowano metodę Graesera i Daxa [12]. W celu zahamowania aktywności  $\beta$ -amylazy, wyciąg słodowy inkubowano w temperaturze 70°C, w obecności 0,2% octanu wapnia. Oznaczenie siły redukującej roztworu przeprowadzono tak jak oznaczenie siły diastatycznej wg PN-A-79083-10, a wyniki wyrażano w jednostkach Windisch-Kolbacha [9]. Do statystycznej oceny wyników zastosowano test Studenta, obliczenia wykonano w programie Excel 5,0.

## III. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

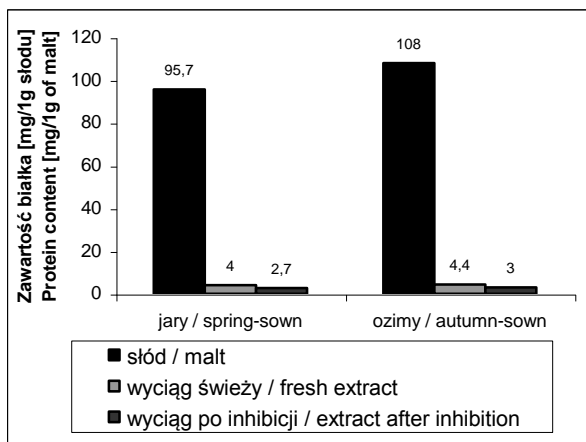
Badane słody wykazywały duże zróżnicowanie pod kątem zawartości białka oznaczonego metodą Kjeldahla (rys.1). Poziom białka w słodzie 'jarym' i 'ozimym' spełnia wymagane kryterium jego jakości (< niż 11.5%), przy czym ilość białka w słodzie z jęczmienia jarego była o 12% niższa. Uzyskane wyniki były zbieżne z określonymi danymi zamieszczonymi w specyfikacjach tych słodów (10.7% i > 11.5% odpowiednio dla jęczmienia jarego i ozimego). Wyznaczona wilgotność badanych słodów była wyższa od podanej w specyfikacjach słodów (rys.1). Wzrost wilgotności obu słodów (w specyfikacji 4.5-5.5%), mogły być spowodowany sposobem ich przechowywania (torebki foliowe).

Zawartość frakcji białek rozpuszczalnych w słodzie szacowano na podstawie ilości białek ekstrahowanych podczas sporządzania wyciągu słodowego. Ilość białka określano w świeżym, standardowo przygotowanym wyciągu oraz po inkubacji w temp. 70°C przez 15 min (warunki inhibicji  $\beta$ -amylazy) (rys. 2).



**Rys.1.** Parametry technologiczne badanych słodów jęczmiennych  
**Fig.1.** Technical parameters of studied barley malts

W warunkach ekstrakcji (60 min, 37°C) zaledwie 9,4-9,5% białek przeszło do wyciągu. Podgrzewanie wyciągu w temp. 70°C powodowało wyraźne wytrącanie się białek, a ich zawartość zmniejszyła się o 30% (słód z jęczmienia ozimego) oraz o 45% w słodzie z jęczmienia jarego.

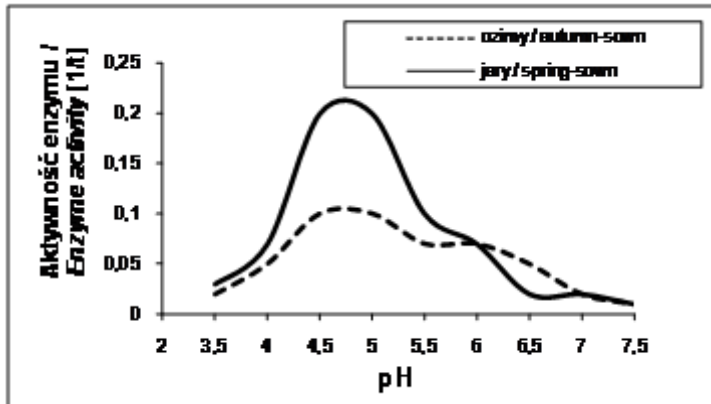


**Rys.2.** Zawartość białka ogólnego w badanych słodach i frakcji białek rozpuszczalnych w wyciągach słodowych: świeżym (wyciąg) i po inhibicji β-amylazy (inkubowany w temp. 70°C przez 15 min)  
**Fig. 2.** Concentrations of general protein in studied malts and soluble protein fraction in malt extracts: fresh and after inhibition of β-amylase ( incubated at the temperature of 70 °C for 15 min)

Podobnie w przemysłowym procesie zacierania azotowe związki rozpuszczalne przechodzące do roztworu (składniki ekstraktowe) stanowią 10-15% ich zawartości w słodzie. Reszta powstaje w wyniku procesów enzymatycznych. Występują przy tym znaczne różnice ilościowe pod względem stopnia ekstrakcji [11]. Wyższe temperatury, inaktywują proteazy, które powodują rozpuszczenie większej ilości białka tzn. zachodzi silniejsza przemiana białkowa.

Optymalne pH amylaz z obydwu słodów (w temp. 37°C) wynosiło 4,5-5,0 (rys.3). Ponowny wzrost aktywności (ale znacznie słabszy) stwierdzono przy pH 5,8-6,0. Uzyskane

wartości optimum pH są zbieżne z danymi literaturowymi: pH 5-6 dla  $\alpha$ -amylazy w temperaturze 70°C oraz 4,6 dla  $\beta$ -amylazy w temperaturze 40-50°C [6].  $\alpha$ -Amylaza nie jest odporna na działanie środowiska o obniżonym pH, ulega znacznej inaktywacji w pH 3 i temperaturze 0°C lub przy pH 4,2-4,3 i temperaturze 20°C [6]. Czas scukrzania skrobi w optymalnych warunkach pH (rys.3) wynosił 5 min dla słoðu ‘jarego’ i 10 dla ‘ozimego’, co wskazuje na większą aktywność  $\alpha$ -amylazy w pierwszym słoðzie.



**Rys. 3.** Optimum pH amylaz z badanych słoðów jęczmiennych w buforze cytrynianowo-fosforanowym w temperaturze 37°C

**Fig. 3.** Optimum pH of amylases in the studied barley malts in the citric-phosphate buffer in 37°C

Połączony wpływ  $\beta$ - i  $\alpha$ -amylazy wyraża tzw. siła diastatyczna podawana w jednostkach Windisch-Kolbacha (j. W-K). Siła ta uzależniona jest m.in. od: odmiany jęczmienia, warunków słoðowania i suszenia słoðu. Uaktywnienie amylaz w procesie słoðowania następuje pod wpływem enzymów proteolitycznych, stąd też siła diastatyczna jest również miernikiem ogólnego potencjału enzymatycznego [7]. Siła diastatyczna badanego słoðu z jęczmienia jarego była o ok. 20% niższa ( $p < 0,01$ ) niż słoðu ozimego (tab. 1). Słoð z jęczmienia ozimego charakteryzuje się zazwyczaj wyższą siłą diastatyczną (przynajmniej 350 j. W-K), podczas gdy dla słoðu z jęczmion jarych wymagane jest co najmniej 220 j. W-K [10].

Miarą aktywności  $\alpha$ -amylazy, enzymu który decyduje o szybkości osiągnięcia w brzeczce scukrzania określanego próbą jodową, jest tzw. siła dekstrynująca [2]. Wg EBC aktywność  $\alpha$ -amylazy, w słoðzie może się mieścić w granicach 30-100 jednostek [12]. Jedną z metod oznaczania aktywności  $\alpha$ -amylazy jest pomiar siły dekstrynującej wg Graesera-Daxa.

W metodzie tej wykorzystuje się nietrwałość  $\beta$ -amylazy w temp. 70°C, w obecności octanu wapnia, podczas gdy inaktywacja  $\alpha$ -amylazy występującej w słoðzie następuje w temperaturze ok. 80°C [6]. Zasada metody polega na inaktywacji  $\beta$ -amylazy i oznaczeniu siły redukcyjnej, podobnie jak siły diastatycznej, a wyniki wyraża się również w jednostkach W-K. Ogrzewanie wyciągu do 70°C prowadzi także do określonej destrukcji  $\alpha$ -amylazy, wynoszącej przeciętnie 6,5% [9]. Wyniki są więc nieznacznie niższe od rzeczywistej zawartości  $\alpha$ -amylazy. Dodatek jonów  $Ca^{2+}$ , aktywatorów aktywności  $\alpha$ -amylazy, ma działanie stabilizujące. Siła dekstrynująca oznaczana wg metody Graesera-Daxa kształtuje się zwykle na poziomie 30 j. W-K [6].

W badanym słoðzie jarym stwierdzono dwukrotnie wyższą wartość siły dekstrynującej niż w słoðzie ozimym (tab. 1), przy czym różnice te były statystycznie istotne ( $p < 0,01$ ).

**Tabela 1 - Table 1**

Wartość siły diastatycznej i dekstrynującej badanych słołów jęczmiennych [j. W-K]. Podano średnią z trzech niezależnych powtórzeń  $\pm$  SD; *a,b*- średnie oznaczone różnymi literami są statystycznie różne ( $p < 0,01$ )

*The value of diastatic power and dextrinase power in studied barley malt [ W-K u.]. Mean $\pm$ SD for 3 independent experiments was shown; a,b-means described by different letters are statistically different ( $p < 0.01$ )*

Cecha/Feature	słód 'jary' 'spring-sown' malt	słód 'ozimy' 'autumn-sown' malt
Siła diastatyczna / Diastatic power	254,4 $\pm$ 16,8 <i>a</i>	306,2 $\pm$ 16,8 <i>b</i>
Siła dekstrynująca / Dextrinase power	54,2 $\pm$ 1,5 <i>a</i>	26,8 $\pm$ 2,0 <i>b</i>

Stosunek wartości siły diastatycznej do dekstrynującej obrazuje proporcje występowania  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy w badanych słołach. Wynosi on ok. 1:5 dla sodu jarego i 1:10 dla słołu ozimego. Zakładając, z dużym uproszczeniem, że siła diastatyczna opisuje łączną aktywność  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy, a siła dekstrynująca aktywność  $\alpha$ -amylazy proporcje występowania obydwu amylaz można przybliżyć udziałem procentowym  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy, który kształtował się na poziomie 17 i 83% oraz 8% i 92% odpowiednio w słołzie 'jarym' i 'ozimym'.

#### IV. PODSUMOWANIE

Badany sód z jęczmienia ozimego odmiany *Esterel* charakteryzował się wyższą zawartością białka ogólnego oraz frakcji białek rozpuszczalnych w wodzie niż sód otrzymany z jęczmienia jarego odmiany *Barke*.

Obydwa badane słoły zawierały wysoką aktywność  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy, o optymalnym pH działania 4,5-5,0 w temp. 37°C. Siła diastatyczna (sumaryczna aktywność  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy), była wyższa dla słołu z jęczmienia ozimego niż jarego, odpowiednio 306 i 254 j. W-K. Jednakże aktywność  $\alpha$ -amylazy, mierzona siłą dekstrynującą, była dwukrotnie wyższa w słołzie z jęczmienia jarego w porównaniu z ozimym. Ze względu na podwyższoną zawartość  $\alpha$ -amylazy zdolność słołu z jęczmienia jarego do hydrolitycznego rozkładu skrobi jest większa niż słołu ozimego. Proces scukrzania skrobi zależy bowiem od współdziałania obydwu enzymów, ale  $\alpha$ -amylaza intensyfikuje działanie  $\beta$ -amylazy, dostarczając nowych miejsc jej katalitycznego oddziaływania. Potwierdzają to czasy scukrzania określone w specyfikacjach: 14 min dla słołu z jęczmienia jarego i 15-20 min dla słołu z jęczmienia ozimego.

O przydatności słołu w technologicznym procesie scukrzania skrobi decyduje nie tylko wartość siły diastatycznej, ale przede wszystkim proporcje występowania  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazy. Do głównych czynników ograniczających przydatność jęczmienia ozimego na cele browarne należy, oprócz podwyższonej zawartości białka, niska zawartość  $\alpha$ -amylazy. Nie oznacza to jednak, że należy zrezygnować ze stosowania odmian jęczmienia ozimego w browarnictwie. Tym bardziej, że piwo produkowane ze słołu z odmian ozimych wykazuje korzystniejsze właściwości organoleptyczne charakteryzuje się m. in. jaśniejszą barwą, wyższym stopniem odfermentowania, wyższą zawartością polifenoli, lepszą pienistością lecz gorszą stabilnością koloidalną [3]. Znajomość podstawowych parametrów technologicznych słołu pozwala jednak na odpowiednią modyfikację procesu warzenia, zmierzających do zwiększenia jego wydajności.

## V. LITERATURA

1. Annemüller G., Mietła B., Creydt G., Rath F., Schildbach R. und Tuszyński T.: Triticale und Triticale-Malz, Erste Brauversuche mit Triticale-Malzen. Brauwissenschaft. 52 (7/8). pp. 131-135. 1999.
2. Baca E., Gołębiowski T.: Nowe spojrzenie na wskaźniki warunkujące wartość technologiczną jęczmienia i słodu. Przem. Ferm. Owoc. Warz. 10. s.18-22. 1997.
3. Bednarski W., Tomasik J.: Wybrane procesy technologiczne oraz ich wpływ na składniki żywieniowe piwa. Przem. Ferm. Owoc. Warz. 3. s. 7-9. 1998.
4. Błażewicz J., Liszewski M.: Ziarno jęczmienia nagiego jako surowiec do produkcji sładów typu pilznieńskiego. Acta Sci. Pol. Technologia Alimentaria. 2. s. 63-74. 2003.
5. Bradford M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72. s. 248-254. 1976.
6. Dylkowski W.: Browarnictwo. WSiP Warszawa. s. 50-84. 1994.
7. Gąsiorowski H.: Jęczmień-chemia i technologia. PWRiL Poznań. s. 70-112. 1997.
8. Gołębiowski T.: Jęczmień browarny-wymagania słodowni i aktualne problemy jego uprawy. Przem. Ferm. Owoc. Warz. 10. s. 26-30. 1998.
9. Jakubczyk T.: Ćwiczenia z technologii zbóż. AR Warszawa. s. 330-379. 1974.
10. Kunze W.: Technologia piwa i słodu. Piwochmiel Warszawa. s. 13-170. 1999.
11. Lempka A.: Towaroznawstwo produktów spożywczych. PWE Warszawa. s. 685-715. 1975.
12. Pfenniger H.: Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK). pp. 261-267. 1997.
13. Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A.: Ogólna technologia żywności. WNT Warszawa. s. 280-285. 1966
14. PN-75/A-04018. Oznaczanie azotu ogólnego.
15. PN-A-79083-10. Słód browarny

## COMPARATIVE STUDIES OF MALTS FROM AUTUMN-SOWN AND SPRING SOWN BARLEYS

### Summary

*High activity of  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylases in the malt is a crucial factor in assessing its technical use in the process of converting starch into fermentable sugars. The amylolytic activity of malt from autumn-sown barley (variety Esterel) and spring-sown (variety Barke) was studied. The joint activity of the  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase, measured by diastatic power, was higher in the autumn-sown barley malt than the spring-sown one. However the dextrinase power ( $\alpha$ -amylase activity) was twice as high in the spring-sown barley malt compared to the autumn-sown one. The ability of spring-sown barley malt for the hydrolytic breakdown of starch was higher than that of autumn-sown barley (shorter time of conversion into fermentable sugars). Presented results indicated that the activity of  $\alpha$ -amylase significantly influences the suitability of malt for the technological processes of producing fermentable sugars.*

**Key words:** barley malt, diastatic power,  $\alpha$ - amylase,  $\beta$ -amylase