

Produkcia hnedých farebných látok enzýmovou hydrolýzou sladového kvetu

ALEXANDER PRÍBELA—ELENA PAVLOVIČOVÁ

Súhrn. Sledovali sme účinok enzýmovej hydrolýzy na tvorbu vo vode rozpustných hnedých farbív v tmavom sladovom kvete. Optimálne výsledky sa dosiahli pri obsahu 0,275 % enzýmového preparátu celulózy, ktorou sa inkubovala vzorka pri 50 °C, pH 5,5 počas 3 hodín. Následným zahriatím vzorky na 150 °C počas 4 h sa zvýšila produkcia hnedých farbív o 83 % oproti pôvodnej vzorke tmavého sladového kvetu.

Kombinovanou kyslou hydrolýzou (0,1 % H_3PO_4) a enzýmovou hydrolýzou celulózy sa dosiahlo zvýšenie farebných produktov o 67 % oproti pôvodnej vzorke tmavého sladového kvetu. Senzorické testy ukázali, že touto úpravou sa chuťové vlastnosti a ani vôňa nezmenili oproti pôvodnej surovine. Získané extrakty sa hodnotili ako mierne nahorklé a kyslasté, porovnateľné s podobným zahraničným výrobkom.

Sladový kvet je jedným z vedľajších produktov pri výrobe sladu, ktorý sa doteraz v potravinárstve nepoužíval. Celý rad látok, vznikajúcich pri hvozdení sladu sa v značnej miere zúčastňujú na tvorbe prekursorov. Z nich vplyvom technologických, najmä však termických operácií vznikajú hnedé, vo vode dobre rozpustné farebné látky [1]. Z chemického zloženia sladového kvetu vyplýva, že sú v ňom bohato zastúpené jednoduché cukry (16,3 %, z toho 74 % redukujúce), polysacharidy (29 %) a dusíkaté látky (26,9 %), počítané ako hrubý proteín [2]. Z dusíkatých látok je 35 až 50 % v rozpustnej forme. Bohato zastúpené sú najmä voľné aminokyseliny, prchavé amíny, napr. metylamín, etylamín, butylamín, amylamín a dimetylamín. Z aromatických dusíkatých látok Moštek [3] v sladovom kvete identifikoval alkaloidy tyramín a hordeín.

Množstvo jednoduchých zlúčenín, ktoré sa v procese technológie sladovania jačmeňa tvoria, závisí od množstva a aktivity enzýmového komplexu počas klíčenia zrna. Cielene možno zvýšiť podiel týchto zlúčenín kyslou hydrolýzou sladového kvetu [4] alebo aplikáciou hydrolytických enzýmov.

Cukorné a dusíkaté látky, ktoré vznikli hydrolýzou, potom tvoria dobrý

Prof. Ing. Alexander Príbel, DrSc., Ing. Elena Pavlovičová, Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

základ pre Maillardové i ďalšie reakcie, ktoré vedú k tvorbe hnedých farebných produktov [5, 6].

V predloženej práci sme sledovali možnosti zvýšenia tvorby farebných látok vplyvom enzýmovej hydrolýzy a následnou tepelnou úpravou sladového kvetu.

Experimentálna časť

Ako materiál na experimenty sme použili tmavý sladový kvet vyrobený v Slovenských sladovniach Trnava. Na analýzu sme vzorky rozdrvili na vibračnom mlyne VM 4 386 (výrobca: Okresní podnik služeb Přerov, prevádzka Hranice na Morave).

Na hydrolýzu sladového kvetu sme použili technické enzýmové preparáty celulázy (výrobca ZD Kestřany, Bioprovoz Kolín, aktivita $C_x = 2950 \text{ mg RL} \cdot \text{g}^{-1}$, optimálne pH 4,0—5,5, teplota 40—50 °C. Postupovalo sa tak, že do teflónových nádobiek o obsahu asi 100 ml sa odvážilo po 2 g vzorky a dávkovali odstupňované množstvá enzýmov 0, 2, 4, 6 a 10 mg rozmiešané v 20 ml vody. Po dôkladnom premiešaní obsahu sa nádobka vložila do ocelového autoklávu, uzatvorila a zahrievala 3 h pri 50 °C v termostate. Po skončení enzýmovej hydrolýzy sa vzorky temperovali 1,5 h pri 150 °C. Po tomto čase sa dosiahla požadovaná teplota vnútri nádobiek. Autoklávy sa potom vyhrievali ešte 2,5 h pri 150 °C.

Pri kombinovanej enzýmovej a kyslej hydrolýze sme postupovali podobne ako v predchádzajúcom pokuse. Na 2 g sladového kvetu sme pridali do teflónových nádobiek 0, 4, 5, 6 a 7 mg enzýmu a po 5 ml destilovanej vody (pH 5,5). Nádobky sme vložili do autoklávov a vyhrievali 3 h pri 50 °C. Za 15 min sa vzorka zohriala na 50 °C a potom udržiavala do 3 h. Potom sme upravili obsah nádobiek tak, aby v každej vzorke bolo 20 ml 0,1 % H_3PO_4 . Po uzatvorení nádobiek do autoklávov sme ich zahrievali pri 150 °C ako pri prvom pokuse.

Na senzorické hodnotenie sme pripravili zahustený extrakt tmavého sladového kvetu. Celkom sme použili 75 g rozdrvenej vzorky tmavého sladového kvetu, na ktorý sme pridali 750 ml vodného roztoku s 225 mg enzýmu celulázy. Vzorku sme zahrievali 3 h pri 50 °C vo vodnom kúpeli v kónických bankách. Po ochladení sme upravili kyslosť na 0,1 % kyselinou fosforečnou. Takto upravenú vzorku sme zahrievali v autokláve pri 150 °C ako pri prvom pokuse.

Hydrolýzované vzorky sme chladili 1 h pri laboratórnej teplote a potom ešte prúdom studenej vody. Obsah nádobiek sme premývali na Büchnerovom lieviku destilovanou vodou zahriatou na 60 °C do odfarbenia vzorky. Filtrát sme doplnili do 100 ml v odmernej banke po značku vodou a prefiltrovali cez fritu č. 4. Z tohto filtrátu sme pipetovali 10 ml do 50 ml odmernej banky a po doplnení po značku sme odmerali absorbanciu pri 450 nm v 10 mm kyvete.

Nárast farebnej intenzity sme vyjadrili v percentách oproti pôvodnej vzorke.

Zvyšok hydrolyzátu zo 75 g sladového kvetu sme neutralizovali na pH 4,4 hydroxidom sodným a zahustili na rotačnej vákuovej odparke na 24,5 % sušiny.

Na senzorické hodnotenie sme použili vodné roztoky extraktov našej vzorky a vzorky prírodného farbiva Bonsanté (vyrába fa Bush Boake Allen — Anglicko), ktoré sme zriedili do rovnakej farebnej intenzity. Hodnotila sa chuť a vôňa zriedených vzoriek párovým testom.

Výsledky a diskusia

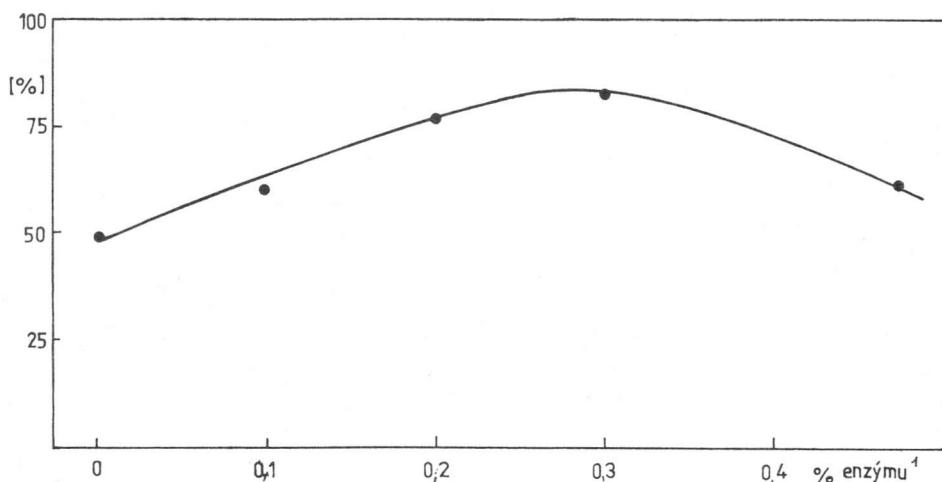
Pri spracovaní sladu vznikajúci kvet obsahuje rad prekursorov, ktoré v procese sušenia reagujú medzi sebou za vzniku senzoricky aktívnych látok. Okrem farebných zlúčenín sa pri sušení tvoria aj chuťovo a vôňovo účinné zlúčeniny, ktoré obohacujú produkt o tieto významné zložky. Preto je snaha cieľenými technologickými operáciami regulovať tvorbu senzoricky aktívnych látok tak, aby bolo možné získať koncentráty, ktoré by slúžili ako aditívne látky na úpravu potravín.

Tvorba senzoricky aktívnych látok sa zvyšuje hydrolytickým štiepením polysacharidov enzýmovými reakciami. Vzhľadom na vysoký obsah polysacharidov v sladovom kvete sme sa zamerali na štiepenie celulózy a hemicelulóz, ktoré sú z polysacharidov najbohatšie zastúpené. Enzýmom celulázou (β -D-1,4(1,3)-glukan-4-glukanhydroláza, EC 3.2.1.4) sa štiepi celulóza na celobiózu, ktorá sa účinkom celobiázy ďalej štiepi až na glukózu. Okrem celuláz sme vyskúšali aj vplyv amyláz a ďalej proteolytický enzýmový preparát „cristallase“.

Pri štúdiu tvorby hnedých farebných produktov vplyvom množstva technického preparátu celulózy na tmavý sladový kvet sme sledovali nárast farebných látok. Výsledky sú na obr. 1.

Z priebehu je zrejmé, že optimálna tvorba hnedých produktov dosahuje maximum pri hodnote 0,275 % pridaného enzýmového preparátu. Ďalším zvyšovaním množstva enzýmu absorbancia farebných produktov klesala. Za optimálnych podmienok enzýmovej hydrolýzy (pH 5,5, teplota 50 °C počas 3 h) sa vytvorili štiepne produkty polysacharidov, ktoré zahriatim na 150 °C vytvorili o 83 % farebných produktov viac ako obsahovala pôvodná vzorka tmavého sladového kvetu. Pri vysokých teplotách okrem polymerizačných a polykondenzačných reakcií môže dochádzať aj k pyrolytickým reakciám, ktoré rezultujú do heterogénnej zmesi hnedých produktov viac či menej rozpustných vo vode. Z hľadiska aplikácie hnedých farebných látok je dôležité, aby ich rozpustnosť bola vo vode čo najvyššia. Tým sa dosahuje vysoký farbiaci efekt, ktorý je dôležitý i z ekonomického hľadiska.

Všeobecne sa predpokladá, že proces tvorby hnedých produktov môže byť



Obr. 1. Závislosť nárastu hnedých produktov od množstva pridaného enzýmu celulózy a zohreву vzorky bez prídavku H_3PO_4 .

Fig. 1. Dependence of brown products increase on the added amount of cellulase and sample heating without H_3PO_4 addition. 1 — Per cent of enzyme.

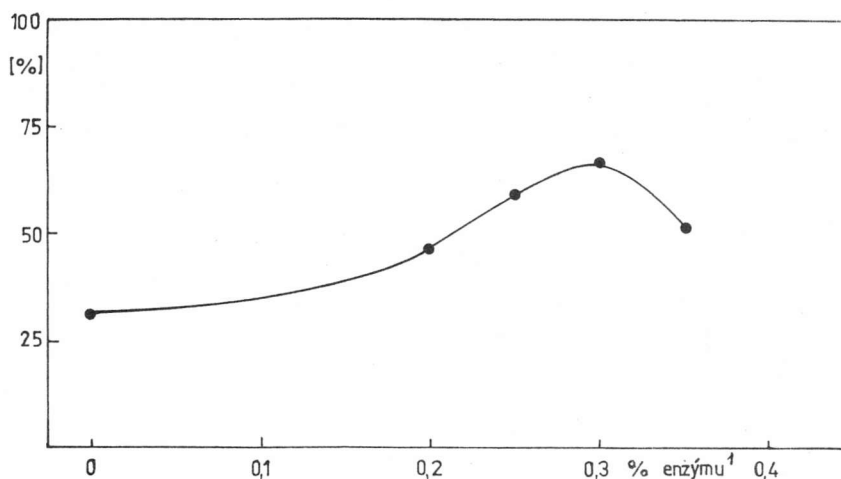
urýchľovaný kyslým, resp. alkalickým prostredím. Z hygienického hľadiska sa však neodporúča alkalická pyrolýza, pretože pri nej môžu vznikať toxické splodiny napr. 4-metyl-imidazol. Preto sa ako katalyzátory tvorby hnedých produktov používajú organické, prípadne aj niektoré anorganické kyseliny.

V našich experimentoch sme na docielenie hnedých farebných látok použili kombináciu enzýmovej a kyslej hydrolýzy. Priebeh nárastu hnedých produktov od množstva pridaného enzýmu celulózy ukazuje obr. 2.

Z obr. 2 vidieť, že obsah farbív s množstvom enzýmu stúpa do určitej hodnoty, podobne ako v prvom prípade. Ďalším zvyšovaním enzýmu klesá tvorba farebných látok. Najvyšší nárast bol pri hodnote 0,3 % enzýmu a dosahoval 67 % oproti pôvodnej vzorke tmavého sladového kvetu.

Z uvedeného vyplýva, že kombinovanou hydrolýzou enzýmom celúla a 0,1 % H_3PO_4 , sa dosiahla o 16 % vyššia výťažnosť farebných látok ako pri kyslej hydrolýze [4], avšak oproti predchádzajúcemu pokusu je to hodnota nižšia o 16 %.

Získané vzorky sme senzorickou analýzou zhodnotili najmä z hľadiska horkých látok, celkovej chuti, vône a obsahu farebných látok. Na základe senzorických testov sme zistili, že extrakty získané po kyslej a kombinovanej hydrolýze sa vyznačovali príjemnou nahorklou chuťou, ktorá bola na úrovni pôvodnej suroviny. Rovnako ostatné chuťové vlastnosti boli charakterizované ako: chlebová až medová, mierne kávovo-nahorklá chuť, vôňa príjemná karamelová.



Obr. 2. Závislosť tvorby hnedých farbív od množstva pridaného enzýmu celulózy a zahrevu vzorky s prídavkom 0,1% H_3PO_4 .

Fig. 2. Dependence of brown dyes formation on the added amount of cellulase and sample heating with 0.1% H_3PO_4 addition. 1 — Per cent of enzyme.

Vzhľadom na konečnú úpravu získaného extraktu neutralizáciou kyseliny fosforečnej do prvého stupňa (pH 4,4), boli vzorky hodnotené ako nakyslé. Porovnávaná vzorka Bonsanté bola len o niečo menej horká a menej kyslá. Získané vzorky možno použiť na prípravu nealkoholických, alkoholických nápojov i ako aditívum pre iné potravinárske produkty.

Literatúra

1. PRÍBELA, A.—DANIŠOVÁ, C.—DUBAY, J.—KRAJČOVIČ, S., AO 264155 (10. 10. 1990).
2. PRÍBELA, A.—DUBAYOVÁ, K.—LISÁ, L., Potrav. Vědy, 9, 1991, s. 295
3. MOŠTEK, J., Sladařství, Praha, SNTL 1975.
4. PRÍBELA, A.—PAVLOVIČOVÁ, E., Bulletin PV, 30, (10), 1991, s. 317.
5. NAMIKI, M., Food Res., 32, 1988, s. 115.
6. RENDLEMAN, J. A., J. Food Sci., 56, 1987, s. 1699.
7. YAYLAYAN, V.—SPORNS, P., J. Agric. Food Chem., 37, 1989, s. 978.
8. AMES, J. M., Trend Food Sci. Technol., 1, 1990, s. 150.

Do redakcie došlo 15. 8. 1991

Formation of brown-coloured substances by enzymatic hydrolysis of malting germs

Summary

Effect of enzymatic hydrolysis on the formation of water soluble brown dyestuffs in dark malting germs was investigated. Optimum results were achieved at the content of 0.275% enzymatic preparate cellulase, having incubated the sample at 50°C, pH 5.5, during 3 hours. Subsequent sample heating up to 150°C during four hours caused increase in the production of brown dyes by 83% in comparison with the original sample of dark malting germs.

By help of combined acid hydrolysis (0.1% H_3PO_4) and enzymatic hydrolysis of cellulase, increase in coloured products by 67%, referring to the original sample of dark malting germs, was accomplished. Sensory tests proved, that this treatment did not change either tasty properties, or smell, if comparing these attributes to the original raw material. Obtained extracts were evaluated as slightly bitterish and sour, when compared with similar foreign products.

Продукция коричневых цветных веществ ферментным гидролизом солодового ростка

Резюме

Наблюдалось действие ферментного гидролиза на образование в воде растворимых коричневых цветных веществ в темном солодовом ростке. Оптимальные результаты были достигнуты при доле 0.275 % ферментного препарата целлюлазы, с которой была инкубирована проба при 50°C, pH 5.5 во время 3 часов. Последующим подогревом пробы на 150°C во время 4 часов повысилось образование коричневых цветных веществ на 83 % в сравнении с первоначальной пробой темного солодового ростка.

Комбинированным кислым гидролизом (0.1 % H_3PO_4) и ферментным гидролизом целлюлазой было достигнуто повышение образования цветных веществ на 67 % в сравнении с первоначальной пробой темного солодового ростка.

Сенсорические испытания показали, что этой обработкой неизменились ни вкусовые свойства, ни запах против первоначальному сырью. Полученные экстракты были оценены как слабо горькие и кислые, сравнимые с аналогичными зарубежными препаратами.