

ZMIANY WYSOKOCZĄSTECZKOWYCH β -GLUKANÓW I AKTYWNOŚCI β -GLUKANAZY W PROCESIE SŁODOWANIA JĘCZMIENIA BROWARNEGO

Zbigniew Czarnecki, Maria Czarnecka, Agata Śpiewak
Akademia Rolnicza w Poznaniu

Streszczenie. W pracy badano zmiany zawartości β -glukanów oraz aktywności β -glukanazy podczas słodowania w dziesięciu odmianach jęczmienia browarnego. Określono również zawartość β -glukanów w brzezkach sporządzonych z otrzymanych słodów. Stwierdzono, że poziom β -glukanów w badanych jęczmieniach wahał się w granicach 2,5-4,5% s.s., a najwyższy był w odmianach 'Cooper' i 'Rudzik'. Proces słodowania powodował redukcję tych związków nawet o ok. 80%. Zawartość β -glukanów w brzezkach doświadczalnych była skorelowana z ich zawartością w jęczmieniach. Podczas słodowania obserwowano znaczący wzrost aktywności β -glukanazy, chociaż nie stwierdzono istotnej korelacji między aktywnością enzymu a zawartością β -glukanów w brzezce kongresowej.

Słowa kluczowe: jęczmień browarny, sól, β -glukan, β -glukanaza

WSTĘP

β -glukan, podobnie jak celuloza, jest polimerem β -D-glukozy i charakteryzuje się występowaniem w cząsteczce wiązań β -1,3 obok dominujących, identycznych jak w celulozie wiązań β -1,4. β -glukan obok takich związków jak ksylany czy mannany należy do hemiceluloz. W ziarnach jęczmienia szczególnie bogate w hemicelulozy są łupina i bielmo [Sieliwanowicz i Hałasińska 2000]. Jęczmień zawiera β -glukany, w których wiązania β -1,4 między cząsteczkami glukozy występują w ilości 70-74%, a wiązania β -1,3 – w ilości 26-30%. Masa cząsteczkowa β -glukanów ziarna jęczmienia przekracza 2000 kDa. W nienaruszonej ścianie komórkowej β -glukan jest kowalencyjnie związany z białkami [Anderson 1990, Brudzyński 1997]. Zawartość β -glukanów jest ważnym wskaźnikiem selekcyjnym w hodowli nowych odmian jęczmienia browarnego. Zawartość ich w jęczmieniu browarnym nie powinna przekraczać 4,5% s.s. Czynniki, które mają istotny wpływ na zawartość tych związków w ziarnie to przede wszystkim odmia-

na, czyli czynnik genetyczny i warunki uprawy, w tym klimat. Długotrwałe opady w okresie dojrzewanania i zbioru powodują wzrost zawartości β -glukanów w ziarnie jęczmienia. Zawartość rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych β -glukanów zależy między innymi od wielkości cząsteczek glukanu, aktywności enzymów i temperatury w czasie wegetacji roślin. Na poziom β -glukanów w sposób istotny wpływa także proces suszenia słoðu a przede wszystkim warunki początkowej fazy tego procesu [Baca i in. 1998 a, b, Brudzyński 1997, Kato i Sasaki 1995].

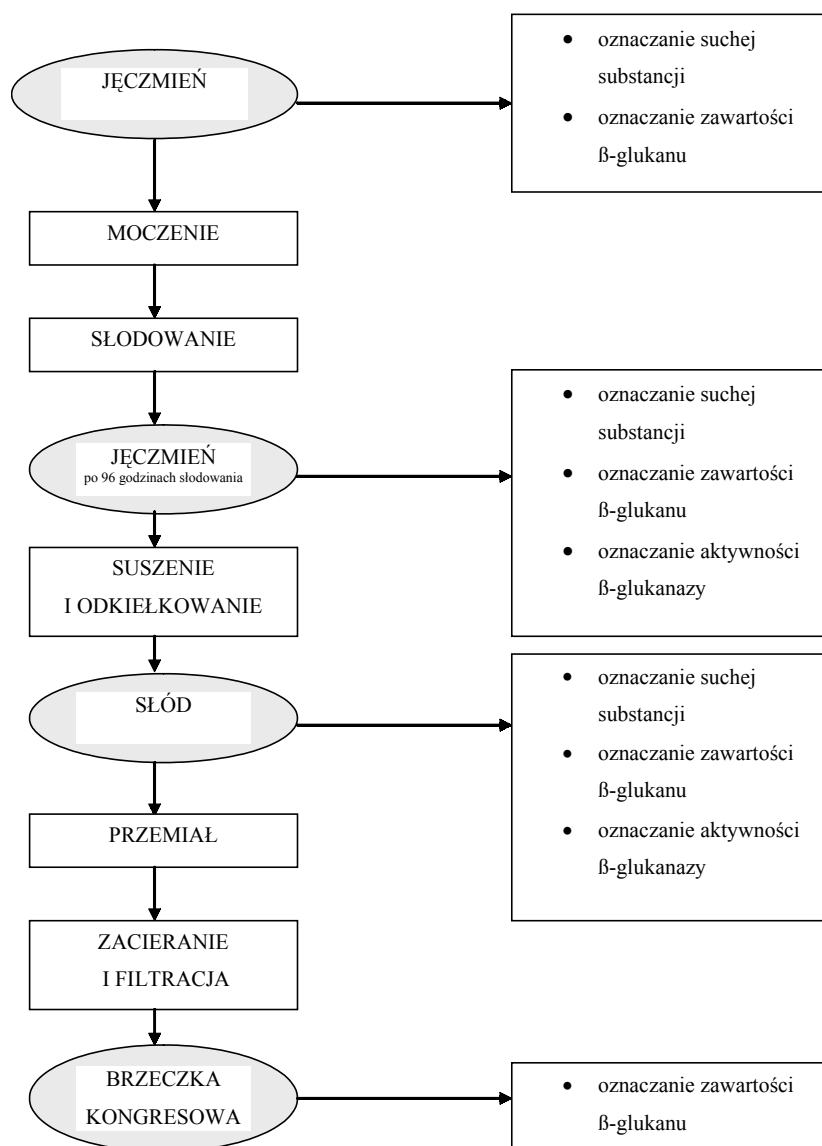
Obecność 1,3-1,4- β -D-glukanów może prowadzić do powstawania problemów podczas filtrowania brzezki lub piwa. Problemy te wynikają z dwóch podstawowych właściwości β -glukanu: rozpuszczalności w wodzie i zdolności do tworzenia roztworów charakteryzujących się wysoką lepkością. β -glukan występujący w słoðzie wpływa także na powstawanie zmętnień, osadów lub żelu w gotowym piwie. Problemy te mogą występować często wtedy, gdy użyjemy złej jakości słoðu – źle kielkującego, nierówno wyrośniętego, a także słoðu z jęczmion ozimych. W słabo słoðującym jęczmieniu ilość rozpuszczalnego β -glukanu w stosunku do jego ogólnej ilości wynosi do 67%, podczas gdy w dobrze słoðującym – do 25%. W zasadzie zarówno jęczmień, jak i każde ogniwo procesu technologicznego produkcji piwa może mieć wpływ na zawartość β -glukanów. β -glukany pozostające w słoðzie przechodzą następnie do brzezki i dalej do piwa. Powodują one wolną separację brzezki oraz słabą filtrację piwa a także powstawanie osadów w czasie jego przechowywania [Anderson 1990, Baca i Gołębiwski 1997, Baca i in. 1998 a, b, Brudzyński 1997, Ednej i in. 1991].

Zasadniczą rolę w degradacji β -glukanu w warunkach przemysłowych odgrywają bez wątplenia endo- β -glukanazy. Jeden z występujących w słoðzie enzymów – endo- β -1,4-glukanaza – wykrywany jest w jęczmieniu, drugi – endo- β -1,3-glukanaza – syntetyzowany jest w czasie kielkowania ziarna. Zastosowanie optymalnych warunków zacierania, powodujących zachowanie endogennych β -glukanaz lub dodanie ich podczas zacierania lub leżakowania może obniżyć ilość β -glukanu w piwie poniżej dopuszczalnego poziomu. Enzymy te mogą zmniejszać masę cząsteczkową β -glukanów lub je całkowicie degradować. Należy także pamiętać, że dodatek 20-40% jęczmienia nie słoðowanego do produkcji piwa może powodować duży wzrost ogólnej zawartości β -glukanu w brzezce i piwie ale także wzrost ciężaru cząsteczkowego glukanów. W warunkach laboratoryjnych do degradacji wielocząsteczkowego β -glukanu najczęściej jest stosowana lichenaza, która wykazuje zarówno aktywność endo- β -1,3-, jak i endo- β -1,4-glukanazy. W ostatnich latach coraz większe zainteresowanie wzbudza enzym związany z katabolizmem β -glukanu, określanym jako solubilaza. Doświadczenia prowadzone z użyciem enzymów takich jak β -glukanaza, α -amylaza i ksylanaza dowiodły, że lepkość głównie powodowana jest przez β -glukan, dopiero w dalszej kolejności przez pentozany. Skrobia i białka powodują niewielki wzrost lepkości ekstraktu [Bhatty i in. 1991, Carbonell i in. 1990, Komornicki 1990, Sieliwanowicz i Hałasińska 2000, Todo 1989].

Oznaczanie zawartości β -glukanów zarówno w ziarnie, jak i brzezce i piwie jest utrudnione z powodu obecności skrobi (ziarno) i enzymów rozkładających β -glukany. Do oznaczania β -glukanów stosuje się kilka podstawowych metod takich, jak metoda hydrazonowa i calcofluorowa oraz metody enzymatyczne, w tym najczęściej stosowaną metodę enzymatyczną z lichenazą [Aman i Graham 1987, Koliatsou i Palmer-Geoff 2003, Mc Cleary i Nurthen 1986].

Celem naszych badań było określenie wpływu procesu słodowania 10 różnych odmian jęczmienia w warunkach przemysłowych na poziom zawartych w słodzie β -glukanów a także stwierdzenie jak proces ten wpływa na aktywność β -glukanazy słodu. W pracy oznaczano także zawartość β -glukanów w brzezkach kongresowych, wykonanych z badanych słodów w celu stwierdzenia czy istnieje zależność między poziomem β -glukanów w brzezce a aktywnością β -glukanazy.

MATERIAŁ I METODY



W pracy wykorzystano różne odmiany jęczmienia browarnego stosowanego do produkcji siodu na skalę przemysłową przez siodownię Soufflet Polska, pochodzącego ze zbiorów w 2000 roku.

Były to następujące odmiany:

‘Cooper’, ‘Mieszanka czeska’, ‘Sunrise’,
‘Optic 1’ (z upraw duńskich), ‘Optic 2’ i ‘Optic 3’ (z upraw czeskich),
‘Rudzik’, ‘Prisma’, ‘Rasbet’, ‘Regina’.

Proces siodowania jęczmienia oraz rozdrabniania siodu prowadzono w siodowni Soufflet Polska, zgodnie z parametrami technologicznymi obowiązującymi w tym zakładzie. Z poszczególnych otrzymanych siodów sporządzano brzeczkę kongresową.

Oznaczanie zawartości β -glukanu oraz aktywności β -glukanazy wykonywano na różnych etapach produkcji siodu i breczki przedstawionych na schemacie 1.

Dla realizacji założonych badań zastosowano następujące metody analityczne:

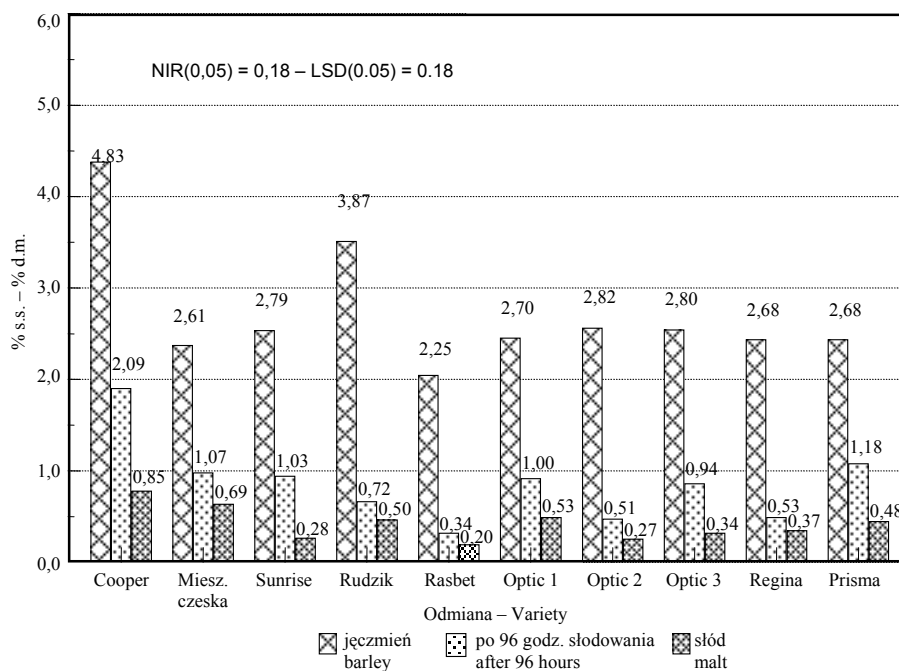
- oznaczanie β -glukanu w jęczmieniu [Mc Cleary i Codd 1991],
- oznaczanie β -glukanu w siodzie [Mc Cleary i Nurthen 1986],
- oznaczanie β -glukanu w breczce kongresowej [Mc Cleary i Nurthen 1986],
- oznaczanie aktywności β -glukanazy [Materiały Megazyme],
- oznaczanie zawartości suchej substancji w ziarnie i siodzie [PN-A-79083-5, PN-R 74110].

Obliczenia statystyczne obejmowały analizę wariancji jednoczynnikową oraz analizę korelacyjną.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zawartość β -glukanu w jęczmieniach odmian użytych do badań była zróżnicowana i wahała się w granicach 2,5-4,5% s.s. (rys. 1). Wyniki te są podobne do uzyskiwanych w badaniach innych autorów [Aman i Graham 1987, Baca i Gołębiowski 1997, Bhatti i in. 1991, Kato i Sasaki 1995, Komornicki 1990]. Różnice w ilości tych związków w poszczególnych odmianach dochodzą nawet do 100%, na co może mieć wpływ wiele czynników, w tym czynnik genetyczny. Dla potwierdzenia tej tezy przeprowadzono oznaczenia dla czeskiego jęczmienia odmiany ‘Optic’. Dwie próbki pochodziły z upraw w Czechach, jedna z Danii. Okazało się, że mimo różnych warunków klimatycznych wystąpiły niewielkie różnice w zawartości β -glukanu. Porównując uzyskane wyniki dla wszystkich badanych jęczmieni można stwierdzić, że różnice między odmianami, z wyjątkiem odmiany ‘Cooper’ i ‘Rudzik’, były niewielkie, choć istotne statystycznie ($\alpha = 0,05$). W odmianach ‘Cooper’ i ‘Rudzik’ poziom β -glukanów był wyższy niż w pozostałych odmianach. Nie przekraczał on jednak norm określonych przez przemysł siodowniczy, dlatego też jęczmień ten może być wykorzystywany do produkcji siodu browarnego.

Po 96 godzinach siodowania, we wszystkich badanych odmianach jęczmienia nastąpiło znaczne obniżenie zawartości β -glukanu (nawet powyżej 50%), a w wypadku odmiany ‘Rasbet’ aż o ok. 80%. Poziom β -glukanu po tym czasie siodowania jęczmienia zawierał się w przedziale 0,5-2,0% s.s. Porównując uzyskane wartości z początkową ilością β -glukanu w jęczmieniu można zaobserwować pewną prawidłowość w zachodzących zmianach. Na przykład jęczmień odmiany ‘Cooper’ charakteryzował się najwyższą zawartością β -glukanu (4,8% s.s.), a po siodowaniu przez 96 h jego ilość zmalała do 2,0% s.s. W wypadku jęczmienia ‘Rasbet’ (najniższa ilość β -glukanu – 2,3% s.s.) po tym samym czasie siodowania poziom β -glukanu był najniższy i wynosił 0,3%.

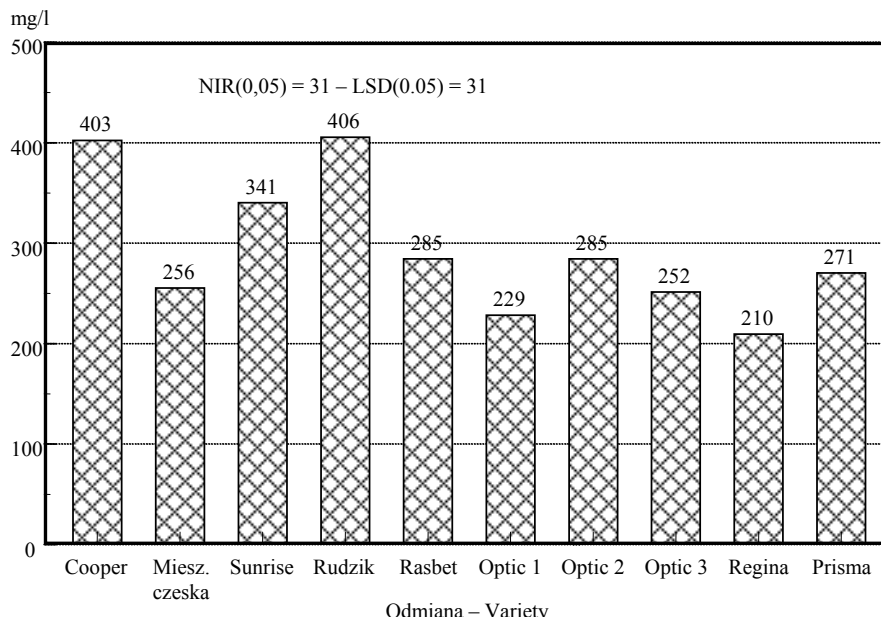


Rys. 1. Zmiany zawartości β -glukanów w czasie słodowania
 Fig. 1. β -glucans changes during malting

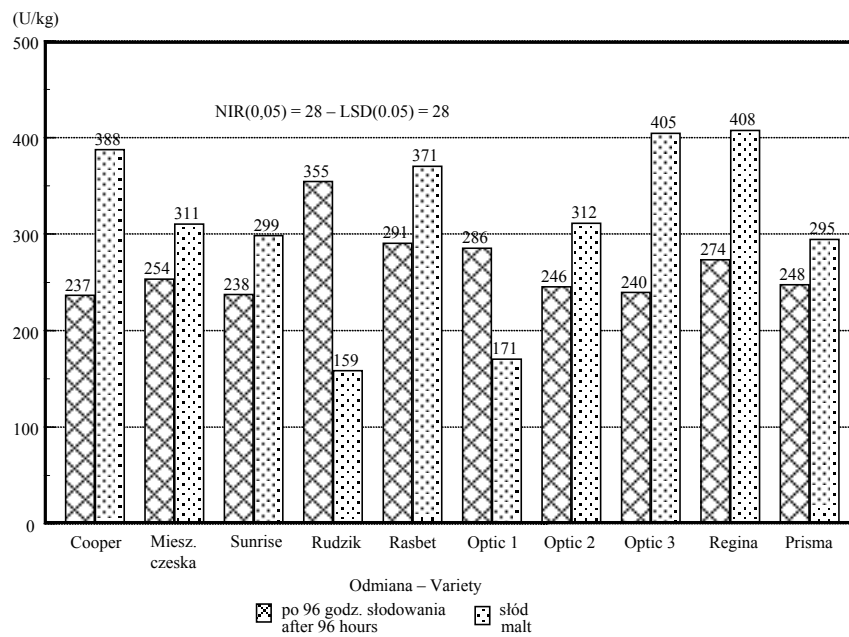
W gotowym słodzie, jak wynika z przeprowadzonych oznaczeń, w wypadku wszystkich odmian jęczmienia browarnego poziom β -glukanów obniżył się proporcjonalnie i wahał się w przedziale 0,2-0,9% s.s. Ogólnie tak znaczną redukcję badanych związków można by interpretować jako efekt wysokiej aktywności enzymatycznej, która charakteryzuje prawie wszystkie badane odmiany jęczmienia [Anderson 1990, Baca i Gołębiwski 1997, Carbonell i in. 1990, Kato i Sasaki 1995].

Zawartość β -glukanów w brzezce kongresowej, w zależności od odmiany z której wyprodukowano słód, wynosiła 200-400 mg/l (rys. 2). Zróżnicowanie tych wyników jest dość znaczne i we wszystkich wypadkach były one wyższe od standardów przyjętych w browarnictwie – na poziomie do 200 mg/l [Baca i Gołębiwski 1997, Baca i in. 1998 a, b]. Jednak zachowując właściwe parametry procesu produkcji piwa ta ilość β -glukanów nie dyskwalifikuje jeszcze badanych sładów. Zawartość β -glukanów w brzezce kongresowej jest skorelowana z ich zawartością w jęczmieniu ($r = 0,796$), natomiast nie stwierdzono istotnej korelacji między zawartością β -glukanów w brzezce kongresowej a jej zawartością w jęczmieniu w czasie słodowania i w słodzie gotowym ($r = 0,445$, $r = 0,333$) (rys. 4). Uzyskane dane sugerują, że na poziom β -glukanów w brzezce istotny wpływ ma przede wszystkim ich zawartość w jęczmieniu. Nie ma natomiast istotnej zależności między procesem słodowania a zawartością β -glukanów w brzezce, pomimo znacznego obniżenia ich poziomu w gotowym słodzie.

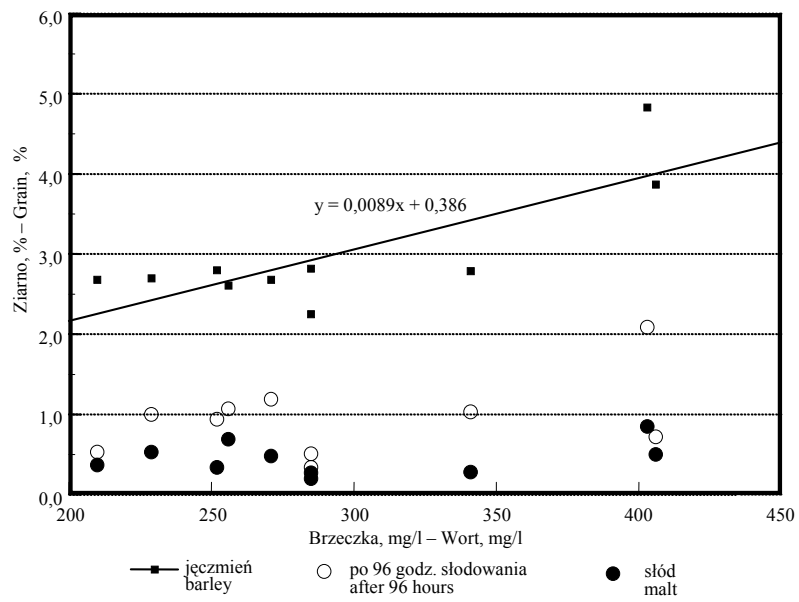
Aktywność β -glukanazy w większości analizowanych odmian wzrastała w czasie prowadzenia procesu słodowania (rys. 3). Najwyższy wzrost aktywności badanych



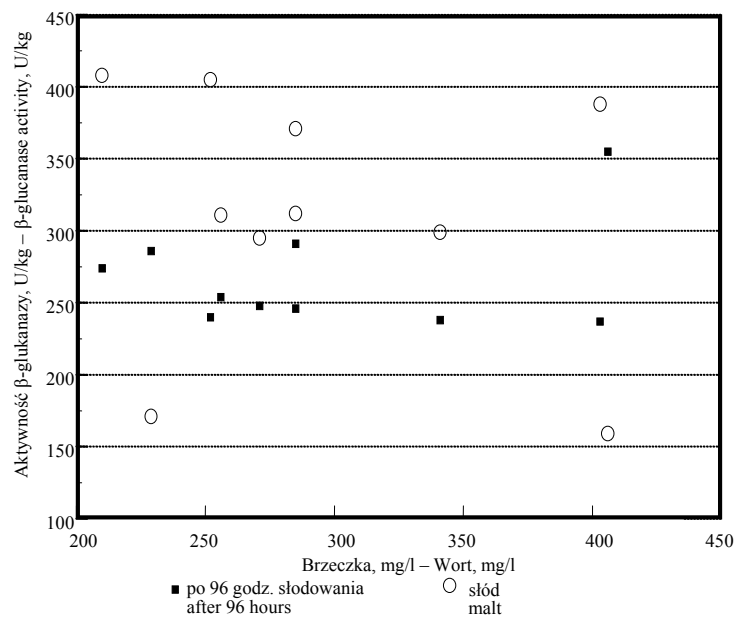
Rys. 2. Zawartość β -glukanów w brzeczce kongresowej
Fig. 2. β -glucans content in wort



Rys. 3. Zmiany aktywności β -glukanazy w czasie słodowania
Fig. 3. β -glucanase activity changes during malting



Rys. 4. Zawartość β -glukanów w brzeczce w porównaniu z jęczmieniem i słodem
 Fig. 4. Wort β -glucans compared to barley and malt



Rys. 5. Zawartość β -glukanów w brzeczce w porównaniu z aktywnością β -glukanazy
 Fig. 5. Wort β -glucans compared to β -glucanase activity

enzymów w czasie słodowania wystąpił u odmian 'Cooper' (237-388 U/kg w słodzie), 'Optic 3' (240-405 U/kg w słodzie) i 'Regina' (274-408 U/kg w słodzie), co stanowiło średnio wzrost aktywności enzymów o ok. 60%. W dwóch wypadkach, w odmianach 'Rudzik' i 'Optic 1' obserwowano dość znaczne obniżenie się aktywności badanego enzymu w słodzie (odpowiednio nawet do 59 i 71 U/kg) w stosunku do jego aktywności w czasie słodowania. Można próbować tłumaczyć to źle prowadzonym procesem suszenia siodu. Nie wpłynęło to jednak istotnie na poziom β -glukanu w obu siodach, który był porównywalny z innymi odmianami (0,5% s.s.). Świadczyłoby to o wystarczającej, nawet w takim wypadku, aktywności β -glukanazy.

Nie stwierdzono istotnej zależności między aktywnością β -glukanazy siodu a zawartością beta-glukanów w brzezce kongresowej ($r = 0,23$) (rys. 5). Ten brak zależności może być również potwierdzeniem wcześniejszego spostrzeżenia dotyczącego przede wszystkim związku między zawartością β -glukanów w brzezce a ich zawartością w jęczmieniu.

PODSUMOWANIE

Z analizy wyników dotyczących zmian poziomu β -glukanów uzyskanych w trzech różnych etapach produkcji siodu można wnioskować, że proces słodowania powodował redukcję tych związków nawet o 80% w stosunku do ich ilości wyjściowej. Przebieg tych zmian był zróżnicowany i charakterystyczny dla poszczególnych odmian, zależał jednak od kilku czynników – w tym początkowej zawartości β -glukanów w jęczmieniu, która w badanych odmianach wahała się w granicach 2,5-4,5% s.s. Spośród badanych odmian najwięcej β -glukanów występowało w odmianach 'Cooper' i 'Rudzik', chociaż i tu ich ilość nie przekroczyła granicy dopuszczalnej.

Zawartość β -glukanów w brzezce kongresowej otrzymywanej z badanych odmian jęczmienia wahała się w granicach 200-400 mg/l. Ilość tych związków w brzezce kongresowej była skorelowana z ich zawartością w jęczmieniu, z którego była otrzymana, natomiast nie stwierdzono istotnej korelacji między zawartością β -glukanów w brzezce a ich zawartością w siodzie.

Dużą rolę odgrywała w czasie słodowania aktywność β -glukanazy, która jest odpowiedzialna za redukcję β -glukanów podczas tego procesu. Jednak nie stwierdzono bezpośredniego związku pomiędzy aktywnością tego enzymu w siodzie a zawartością β -glukanów w brzezce kongresowej.

Uzyskane wyniki raz jeszcze potwierdzają konieczność klasyfikacji odmian jęczmienia browarnego pod kątem zawartości β -glukanów i enzymów odpowiedzialnych za ich degradację, jak również określania aktywności β -glukanaz w siodzie i na dalszych etapach produkcji piwa.

PIŚMIENNICTWO

- Aman P., Graham H., 1987. Analysis of total and insoluble mixed-linked (1-3)(1-4) β -D-glucans in barley and oats. *J. Agric. Food Chem.* 35, 704-709.
- Anderson I.W. 1990. The effect of β -glucan molecular weight on the sensitivity of dye binding assay procedures for β -glucan estimation. *J. Inst. Brew.* 96, 323-326.
- Baca E., Gołębiewski T., 1997. Nowe spojrzenie na wskaźniki warunkujące wartość technologiczną jęczmienia i słodu browarnego. *Przem. Ferm. Ow. Warz.* 10, 18-22.
- Baca E., Pawlikowska B., Michałowska D., Gołębiewski T., 1998 a. Jakość jęczmienia, warunki słodowania a zawartość β -glukanu w brzeczce (1). *Przem. Ferm. Ow. Warz.* 8, 24-26.
- Baca E., Pawlikowska B., Michałowska D., Gołębiewski T., 1998 b. Jakość jęczmienia, warunki słodowania a zawartość β -glukanu w brzeczce (2). *Przem. Ferm. Ow. Warz.* 9, 34-36.
- Bhatty R.S., Mc Gregor A.W., Rossnagel B.G., 1991. Total and acid-soluble β -glucan content of hulles barley and its relationship to acid-extract viscosity. *Cereal Chem.* 68 (3), 221-227.
- Brudzyński A., 1997. Beta glukan i problemy filtracji piwa. *Przem. Ferm. Ow. Warz.* 2, 7-8.
- Carbonell J.V., Sendra J.M., Todo V., 1990. Kinetics of β -glucan degradation in beer by exogenous β -glucanase treatment. *J. Inst. Brew.* 96, 81-84.
- Ednej M.J., Marchylo B.A., Mc Gregor A.W., 1991. Structure of total barley beta-glucan. *J. Inst. Brew.* 97, 39-44.
- Kato T., Sasaki A., 1995. Genetic variation of beta-glucan contents and beta-glucanase activities in barley and their relationships to malting quality. *Jap. J. Breed.* 4, 471-477.
- Komornicki J., 1990. Kontrola β -glukanów w browarze. *Przem. Ferm. Ow. Warz.* 7, 23.
- Koliatsou M., Palmer-Geoff H., 2003. A new method to assess mealiness and steeliness of barley varieties and relationship of mealiness with malting parameters. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 61 (3), 114-118.
- Mc Cleary B.V., Codd R., 1991. Measurement of (1-3), (1-4)- β -D-glucan in barley and oats: a streamlined enzymic procedure. *J. Sci. Food Agric.* 55, 303-312.
- Mc Cleary B.V., Nurthen E., 1986. Measurement of (1-3), (1-4)- β -glucan in malt, wort and beer. *J. Inst. Brew.* 92, 168-173.
- Megazyme – Malt and bacterial beta-glucanase and cellulase- Assay procedure. Azo-barley glucan method, KMBGL 01/03.
- PN-R 74110. Jęczmień. Metody badań.
- PN-A-79083-5. 1998. Słód browarny. Metody badań – Oznaczanie wilgotności.
- Sieliwanowicz B., Hałasińska A., 2000. Aktywności enzymatyczne słodu wpływające na poziom beta-glukanu brzeczki. *Przem. Ferm. Ow. Warz.* 12, 21-24.
- Todo V., 1989. Kinetics of β -glucan degradation in wort by exogenous β -glucanases treatment. *J. Inst. Brew.* 95, 419-422.

CHANGES OF HIGH MOLECULAR WEIGHT β -GLUCANS AND β -GLUCANASE ACTIVITY DURING GERMINATION OF BARLEY

Abstract. Changes in beta-glucan content and beta-glucanase activity during malting process were investigated in ten varieties of barley grain. Beta-glucans in standard wort obtained from experimental malts were also determined. Beta-glucan content range in barley varieties was 2.5-4.5% dm. Maximum amount of β -glucan was in Cooper and Rudzik varieties. Malting process reduced beta-glucan amount even to 80%. There was evident correlation between beta-glucan content in barley grain and in malt wort. Significant increase of beta-glucanase activity was observed as a effect of malting process. No correlation between beta-glucanase activity in malt and beta-glucan level in wort was found.

Key words: barley, malt, β -glucans, β -glucanase

Zaakceptowano do druku – Accepted: 20.09.2004 r.

Do cytowania - For citation: Czarnecki Zb., Czarnecka M., Śpiewak A., 2004. Zmiany wysokocząsteczkowych B-glukanów i aktywności B-glukanazy w procesie słodowania jęczmienia browarnego. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 3(2), 137-146.