

# ALPHA-AMYLASE ENZYME ACTIVITY IN MALT MADE FROM SELECTED SPRING BARLEY VARIETIES INTENDED FOR BEER PRODUCTION

## AKTIVITA ALFA-AMYLÁZY VE SLADU VYBRANÝCH ODRŮD JEČMENE JARNÍHO URČENÉHO PRO VÝROBU PIVA

**Michnová M., Ehrenbergerová J., Cerkal R.**

Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 61300 Brno, Česká Republika

E-mail: michaelamichnova@seznam.cz, radim.cerkal@mendelu.cz,  
jaroslava.ehrenbergerova@mendelu.cz

---

### ABSTRACT

Activity of alpha-amylase enzyme (EC 3.2.1.1) is considered to be primarily essential for barley's (*Hordeum vulgare* L.) seed germination and crucial for malting and beer processing because this enzyme converts starch to soluble sugar in the endosperm of seeds enabling the fermentation by brewery yeasts. The aim of this study was to evaluate: (i) the activity of alpha-amylase enzyme in spring barley varieties recommended for Czech Beer production (Bojos, Malz and Tolar) compared with varieties intended for malt export (Kompakt, Jersey and Sebastian) harvested in 2007-2008; (ii) the effect of pre-harvest zinc foliar application (dose of 0.5 kg/ha Zn in growth stage DC 31 and DC 55) on the activity of alpha-amylase; (iii) relations between alpha-amylase activity and selected qualitative parameters (extract yield, apparent final attenuation, friability, relative extract at 45°C, beta-glucan content, etc.). The enzyme activity was assessed by the colorimetric method (EBC 4.13). The grain was micro-malted and processed for malt analyses in the Research Institute of Brewing and Malting, Plc. Malting Institute in Brno. The lowest activity of alpha-amylase enzyme (expressed by dextrinizing units – DU/g) was found in the Tolar variety, the export varieties Kompakt and Jersey belonged to the group with a high enzyme activity. No significant differences in the enzyme activity were found after zinc foliar application. Positive correlation between alpha-amylase activity and relative extract at 45°C was found. Negative correlations between the alpha-amylase activity and other selected parameters were found.

**Key words:** Czech beer, alpha-amylase, EC 3.2.1.1, barley, malt

**Acknowledgement:** This study was funded by the project No 1M0570 called Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop.

## ÚVOD

Slad jako surovina potřebná pro výrobu piva a jeho kvalita je výsledkem činnosti enzymatického aparátu obilky ječmene [Georg-Kraemer *et al.* 2001]. Při sladování („řízeném klíčení“) hrají nezastupitelnou roli enzymy amylázy a jejich aktivita [Briggs 2002]. Prioritní význam má enzym  $\alpha$ -amyláza ( $\alpha$ -1,4-glukan-4-glukan-hydroláza, EC 3.2.1.1), která hydrolyzuje  $\alpha$ -1-4 glykosidové vazby [Velíšek 2002]. Při tomto iniciačním procesu se škrob obsažený v endospermu obilky částečně rozštěpí na dextriny, které se v dalším kroku zcukřují na maltózu (sladový cukr). Bylo potvrzeno, že produkce enzymů v obilce a jejich aktivita je odrůdově specifická vlastnost, ovlivňovaná zejména podmínkami pěstování (hnojením, průběhem povětrnosti apod.; Lin *et al.* 2008).

Cílem této práce bylo zjistit, zda: 1) existují prokazatelné rozdíly u souboru vybraných odrůd ječmene jarního v aktivitě  $\alpha$ -amylázy; 2) ovlivňuje zinek aplikovaný foliárně ve dvou růstových fázích (DC31 a DC55) aktivitu  $\alpha$ -amylázy; 3) existuje závislost mezi aktivitou  $\alpha$ -amylázy a vybranými ukazateli sladovnické jakosti (USJ).

## MATERIÁL A METODIKA

### Rostlinný materiál

Do pokusu bylo zařazeno šest odrůd ječmene jarního, doporučených pro výrobu Českého piva (ES č. 1014/2008) a sladu (tab. 1).

Tab. 1 Charakteristika odrůd ječmene jarního

Odrůda	Země původu	Rok registrace	USJ*	Původ	České pivo
Bojos	CZ	2005	5	Madonna x Nordus	ano
Malz	CZ	2002	7	Famin x Scarlett	ano
Tolar	CZ	1997	2,5	HE 4710 x HWS 78 267/83	ano
Jersey	NL	2000	5	Apex x Alexis	ne
Kompakt	SK	1995	6.5	Galan x KM-A 10	ne
Sebastian	DK	2005	7	Lux x Viskosa	ne

\* Ukazatel sladovnické jakosti: 9 = vysoká jakost, 1 = nesladovnická jakost.

### Polní pokusy

Maloparcelní blokové pokusy byly realizovány (ve třech opakováních) na lokalitě Žabčice (49°01' N, 16°36' E, 179 m n. m.) v letech 2007 a 2008. Během vegetace byl aplikován zinek (0,5 kg.ha<sup>-1</sup>) formou postřiku hnojivem Zinran (oxid zinečnatý 52,3 % a síran zinečnatý 19,8 %, 4,7 % síra) ve dvou růstových fázích – DC31 (Zn1) a DC55 (Zn2). Průběh povětrnostních podmínek v jednotlivých letech ukazuje obr. 1.

### Mikrosladování a měření aktivity $\alpha$ -amylázy

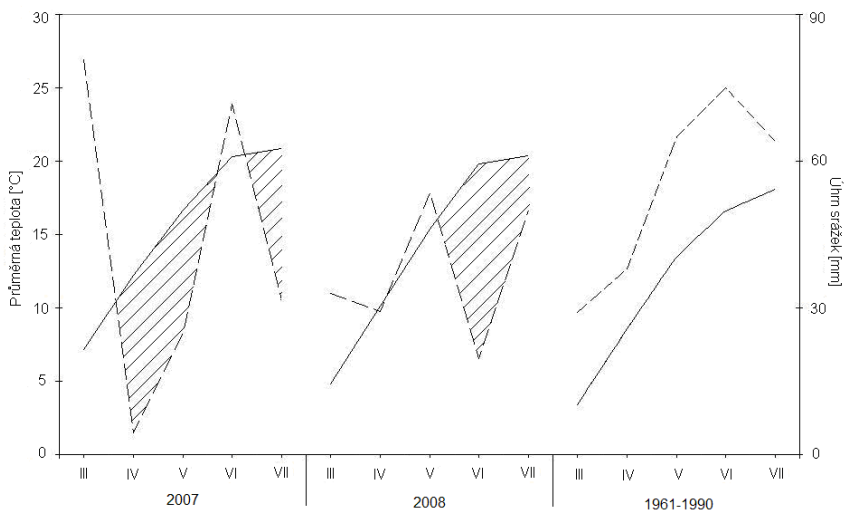
Pro mikrosladovací zkoušky (tab. 2), následné analýzy jakosti sladu a stanovení aktivity  $\alpha$ -amylázy bylo použito 1000 g zrna z přeřadu nad sítím 2,5 mm. Stanovení probíhalo dle metodik EBC ve

Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském, a.s. Sladařském ústavu v Brně. Aktivita  $\alpha$ -amylázy byla stanovena kolorimetricky (EBC 4.13).

### Statistické zhodnocení

Získaná data byla zhodnocena analýzou variance a následně pomocí Tukeyova testu ( $P=0,05$ ) v programu STATISTICA 8. Vztahy mezi aktivitou  $\alpha$ -amylázy a vybranými parametry jakosti sladu byly vyjádřeny Pearsonovým korelačním koeficientem ( $r$ ).

Obr. 1 Průměrné měsíční teploty a úhrny srážek na lokalitě Žabčice v letech 2007-2008 a v normálovém období 1961-1990 (na způsob klimadiagramu dle Waltera a Lietha, 1960).



Pozn. Šrafovaná plocha značí srážkově deficitní období.

Tab. 2 Průběh mikroskladování

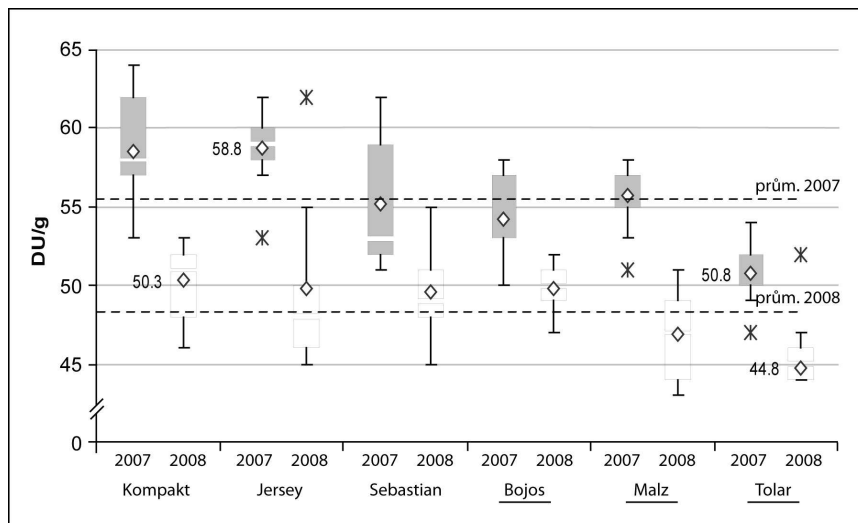
Fáze	Podmínky
Máčení	Tři cykly voda/vzduch (4 h/20 h; 6 h/18 h; domočení na vlhkost 45 %)
Klíčení	14°C (6 dní celkem má čení + klíčení)
Hvozďení	Předsušení 12 h/55°C, dotahování 4 h/80°C

### VÝSLEDKY A DISKUZE

Aktivita  $\alpha$ -amylázy ve sladu se v jednotlivých letech zejména v důsledku odlišného průběhu povětrnosti v době dozrávání zrna značně lišila. Vyšší průměrnou aktivitu  $\alpha$ -amylázy měl slad vyrobený v roce 2007 (55,6 DU/g). Odrůdy doporučené pro výrobu Českého piva patřily obecně do skupiny s nižší aktivitou  $\alpha$ -amylázy – jejich průměrná aktivita dosahovala 96-97 % hodnot průměru souboru odrůd. Tyto odrůdy měly zároveň menší variabilitu hodnot aktivity enzymu, což je z hlediska

technologie zpracování na slad velmi příznivou vlastností. Nejvyšší aktivita  $\alpha$ -amylázy byla v obou letech zjištěna u odrůd Jersey a Kompakt, nejnižší aktivitu enzymu vykazovala odrůda doporučená pro výrobu Českého piva Tolar (50,8 a 44,8 DU/g; obr. 2). Značné odrůdové rozdíly ve variabilitě především jakostních parametrů zrna i sladu popisují např. Ehrenbergerová *et al.* (2008).

Obr. 2 Aktivita  $\alpha$ -amylázy ve sladu jednotlivých odrůd ječmene jarního pěstovaného na lokalitě Žabčice v letech 2007 a 2008.

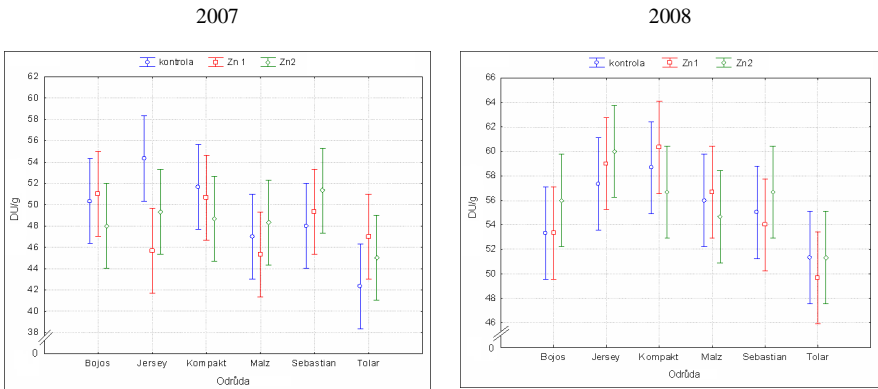


Pozn. Boxy jsou 0,25–0,75 kvartily obsahující medián (bílá čára) a průměr (kosočtverec). Úsečky vymezují maximální a minimální hodnoty vyskytující se v souboru, křížky představují extrémy. Uvedená čísla jsou maximální a minimální hodnoty aktivity enzymu v každém roce. Odrůdy doporučené pro výrobu Českého piva jsou podtrženy.

Aktivita  $\alpha$ -amylázy závisí nejen na genetických predispozicích jednotlivých odrůd, ale také na technologii pěstování a průběhu počasí v době dozrávání [Lin *et al.* 2008]. Ve sledovaném období nebyl zjištěn průkazný vliv zinku na aktivitu  $\alpha$ -amylázy ve sladu. Reakci odrůd na aplikaci zinku v jednotlivých fázích růstu znázorňují obr. 3a a 3b. Sledováním závislosti mezi vybranými prvky a aktivitou  $\alpha$ -amylázy se zabývali např. Muralikrishna a Nirmala (2005), kteří zjistili částečně deaktivující vliv iontů  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  na aktivitu enzymu.

Mezi znaky jakosti zrna/sladu a aktivitou  $\alpha$ -amylázy byly zjištěny převážně středně silné až velmi silné závislosti (tab. 3). V případě obsahu bílkovin, relativního extraktu při 45°C, diastatické mohutnosti a obsahu  $\beta$ -glukanů se jednalo o vztahy pozitivní, ostatní vztahy byly negativní. Obecně nejsilnější vztahy byly stanoveny u odrůdy Malz ( $r=-0,85$  až  $0,9$ ), naopak relativně nejslabší u odrůdy Sebastian ( $r=-0,66$  až  $0,69$ ).

Obr. 3a, 3b Průměrná aktivita  $\alpha$ -amylázy ve sladu jednotlivých odrůd v závislosti na době aplikace zinku.



Pozn.: Intervaly představují minimální průkazné difference na hladině  $\alpha = 0,05$ .

Vztahy mezi aktivitou amylolytických enzymů a parametry sladu (koncentrací cukrů) studovali např. Duke a Henson [2009].

Tab. 3 Závislosti ( $r$ ) mezi aktivitou  $\alpha$ -amylázy a vybranými znaky jakosti zrna/sladu.

Odrůda	Obs. bílk. [%]	Extr. v moučce [%]	Rel. extrakt 45°C [%]	Diast. moh. [JWK]	Stupeň prokvaš. [%]	Kolbach. číslo	Fria-bilita [%]	Obsah $\beta$ -glukanů [mg/l]	USJ
Bojos	0,71	-0,73	0,54	0,73	-0,70	-0,48	-0,66	0,56	-0,72
Jersey	0,75	-0,71	0,52	0,81	-0,78	-0,72	-0,68	0,56	-0,74
Kompakt	0,81	-0,81	0,69	0,82	-0,78	-0,76	-0,8	-0,08	-0,82
Malz	0,88	-0,84	0,61	0,9	-0,8	-0,80	-0,81	0,56	-0,85
Sebastian	0,61	-0,53	0,09	0,56	-0,61	-0,58	-0,66	0,69	-0,66
Tolar	0,71	-0,66	0,66	0,71	-0,67	-0,69	-0,73	0,64	-0,68

## ZÁVĚR

Nejnižší aktivita  $\alpha$ -amylázy ve sladu byla zjištěna u odrůdy ječmene Tolar, odrůdy Kompakt a Jersey určené na výrobu převážně exportního sladu patřily do skupiny s vysokou enzymatickou aktivitou. Nebyly zjištěny průkazné rozdíly mezi kontrolními vzorky a vzorky sladu, které pocházely z porostů foliárně ošetřených zinečnatým hnojivem. Mezi aktivitou  $\alpha$ -amylázy a vybranými znaky sladovnické jakosti (USJ) byly zjištěny středně silné až velmi silné pozitivní i negativní závislosti. Obecně nejsilnější vztahy byly stanoveny u odrůdy Malz, naopak relativně nejslabší u odrůdy Sebastian.

## LITERATURA

- Briggs D.E. (2002): *Malts and Malting*. 1<sup>st</sup> edn. Aspen Publishers, London, UK.
- Duke S.H., Henson C.A. (2009): A Comparison of Barley Malt Amyolytic Enzyme Activities as Indicators of Malt Sugar Concentrations. *Journal of the American Society Brewing Chemists*, 67: 99-111.
- Ehrenbergerová J., Březinová Belcredi N., Psota V., Hrstková P., Cerkal R., Newman C.W. (2008): Changes caused by genotype and environmental conditions in beta-glucan content of spring barley for dietetically beneficial human nutrition. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63: 111–117.
- European Brewery Convention (EBC) (1998): *Analytica-EBC*. Getränke-Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany.
- Georg-Kraemer J.E., Mundstock E.C., Cavalli-Molina S. (2001): Developmental expression of amylases during barley malting. *Journal of Cereal Science*, 33: 279-288.
- Lin R., Horsley R.D., Schwarz P.B. (2008): Associations between caryopsis dormancy, alpha-amylase activity, and pre-harvest sprouting in barley. *Journal of Cereal Science*, 48(2): 446-456.
- Muralikrishna, G., Nirmala, M. (2005): Cereal  $\alpha$ -amylases: an overview. 60:163-173.
- NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1014/2008 ze dne 16. října 2008 o zápisu určitých názvů do Rejstříku chráněných označení původu a chráněných zeměpisných označení (České pivo (CHZO), Cebreiro (CHOP)).
- Velíšek J. (2002): *Chemie potravin 1*. 2. upr. vyd. Tábor : OSSIS. 344 s. ISBN 80-86659-00-3.
- Walter H., Lieth H. (1960): *Klimadiagramm Weltatlas 1*. Lieferung mit 12 Karten. Fischer Verlag, Jena.