

Stanovenie enzýmovej aktivity v múkach amylografickými metódami

NATAŠA MATYÁŠOVÁ—JOZEF POPRAC—EVA MÓROVÁ

Súhrn. Overili sa amylografické metódy na stanovenie aktivity fungálnej α -amylázy po jej pridaní k pšeničnej a ražnej múke. Za účelom zníženia množstva použitého substrátu a času stanovenia sa použil rýchly amylografický postup. Účinok α -amylázy na vlastnosti škrobu po vypečení sa sledoval metódou chlebového amylogramu využitím rýchleho amylografického postupu. Všetky overené metódy sú pomerne jednoduché, presné a správne, využiteľné v pekárskkej praxi na sledovanie aktivity pridávaných enzýmov.

V súčasnej pekárskej technológii nadobúda veľký význam používanie enzýmových preparátov na intenzifikáciu fermentačných procesov. Tradične sa používajú amylázy z rôznych zdrojov, najčastejšie zo sladového jačmeňa a pšenice, plesní a baktérií [1, 2, 5]. Amylázy z rôznych zdrojov sa líšia navzájom niektorými vlastnosťami, napríklad optimom pH, termostabilitou, rezistenciou a inaktiváciou pri rôznej kyslosti [1, 5].

Pre vhodné ovplyvnenie technologického procesu i kvality finálneho výrobku je dôležité sledovať amylolytickú aktivitu múk, ako i múk po pridaní amylolytických preparátov. Na tento účel sú najvhodnejšie amylografické metódy s rôznymi modifikáciami, založené na princípe merania poklesu viskozity škrovej suspenzie rotačným reometrom — amylografom [3, 4]. Prítomnosť enzýmu je ľahko a rýchlo určená znížením viskozitného píku pri teplote mazovania škrobu.

Táto metóda nie je vhodná na sledovanie aktivity pridanej fungálnej α -amylázy, pretože táto stráca aktivitu pod teplotou mazovania škrobu. Preto sa používa metóda modifikovaného amylogramu, využívajúca ako substrát zmes

Ing. Nataša Matyášová, Ing. Eva Mórová, CSc., Katedra chémie a technológie sacharidov a potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Ing. Jozef Poprac, CSc., Výskumno-vývojové oddelenie MPK, Polianky 5, 841 02 Bratislava.

múky a predželatinovaného škrobu v tlmivom roztoku s pH optimálnym pre činnosť daného enzýmu [4, 6]. Na sledovanie amylolytickej aktivity sú výhodne využiteľné aj rýchle amylografické postupy, ktoré šetria čas a množstvo substrátu, a metóda chlebového amylogramu [7].

Materiál a metódy

V práci sa použila pšeničná múka hladká pekárska špeciál, ražná múka chlebová, obe bežne používané v pekárňach a tepelne modifikovaný predželatinovaný pšeničný škrob zo Škrobárni, š. p., Trnava. Amylytickým preparátom bol prípravok GRINDAMYL S-100 dánskej fy. GRINSTEAD so stanovenou aktivitou 1000 SKB/g preparátu. Meralo sa na amylografe fy. BRABENDER so sústavou meracích nádob pre rýchly amylogram.

1. *Modifikovaná amylografická metóda* [6]. Viskozita suspenzie škrobu sa meria priebežne počas zahrievania a mazovatenia suspenzie. Použitý modifikovaný pšeničný škrob je skvapalnený α -amylázou a čiastočne účinkom vzrastajúcej teploty. Počiatočná vysoká viskozita rapídne klesá a v prípade múky obohatenej α -amylázou sa nevracia späť.

Múka a modifikovaný pšeničný škrob sa zmieša vo vhodnom pomere a suspenduje v 450 cm³ tlmivého roztoku pH 5,3 (37,34 g dodekahydrátu hydrogénfosforečnanu disodného a 10,3 g monohydrátu kyseliny citrónovej do 977 cm³ destilovanej vody 10-násobne zriediť). Suspenzia sa čo najrýchlejšie preniesie do meracej nádoby, registračný papier sa nastaví na 0 a od teploty 29 °C sa počas 40 minút registruje priebeh zmeny viskozity.

2. *Rýchla amylografická modifikovaná metóda* [7]. Metóda je založená na rovnakom princípe ako predchádzajúca, ale jej výhodou je krátky čas a nízky návažok škrobu i múky. Používa sa sústava nádob na rýchle amylografické metódy a výmenou ozubených koliesok sa zrýchli posun papiera na 1 cm · min⁻¹.

Veľká nádoba sa naplní vodou po značku, teplomer sa nastaví na 85 °C a regulátor teploty zostane na značke 0. Po zahriatí vody sa do nej vloží malá nádoba so suspenziou múky, modifikovaného škrobu a vody, ktorá už 10 min stála pri laboratórnej teplote. Meranie sa robí 10—15 min pri teplote 85 °C.

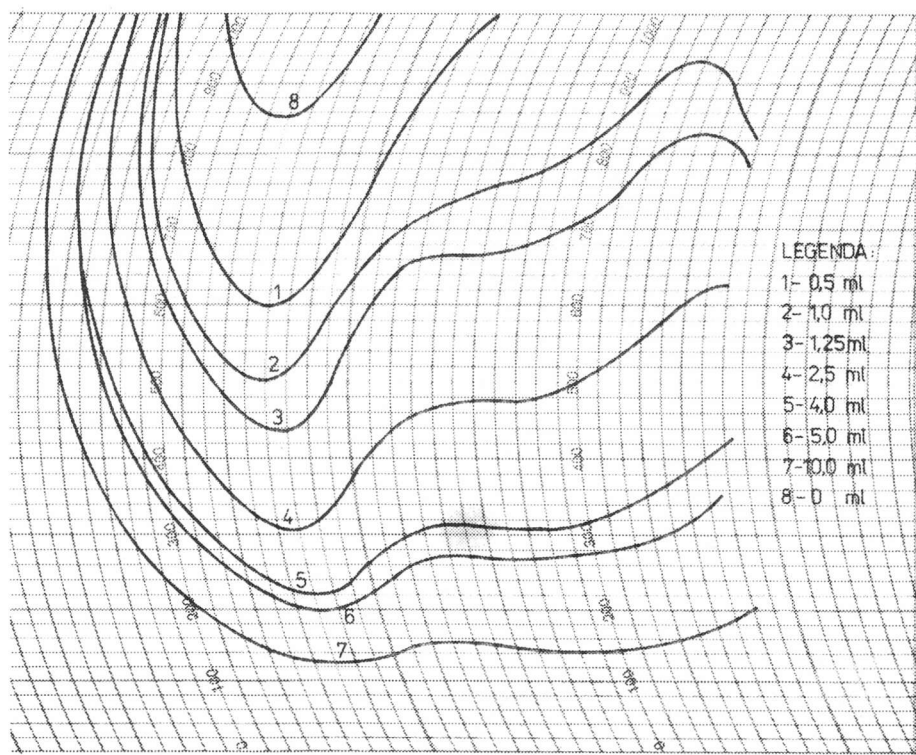
3. *Metóda chlebového amylogramu* [7]. Amylogram ukazuje do akej miery bol škrob narušený prídavkom enzýmov. Mazovanie tá časť škrobu, ktorá nebola pri pečení narušená a má významnú úlohu pri udržaní čerstvosti chleba.

Z výrobku získaného pekárskym pokusom sa vyberie striedka a nechá sa vysušiť pri laboratórnej teplote. Na jemno sa zmixuje. Pri použití rýchleho

amylografického postupu sa 26 g šrotu suspenduje v 100 cm³ destilovanej vody a po prenesení do malej amylografickej nádoby sa meria pri konštantnej teplote 85 °C do ustálenia krivky na určitej hodnote viskozity.

Výsledky a diskusia

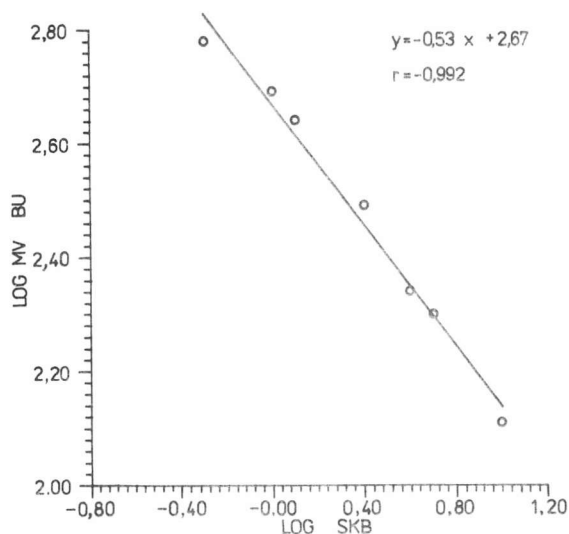
Na začiatku práce je potrebné zistiť optimálny pomer múky a modifikovaného škrobu, aby minimum viskozity krivky bolo dostatočne vysoko a mohol sa prejavíť účinok pridaného enzýmu. Ako optimálny sa určil návažok 80 g modifikovaného škrobu a 30 g múky. Minimum viskozity sa pohybovalo v rozmedzí od 800 do 840 BJ (Brabenderových jednotiek).



Obr. 1. Amylografické krivky pšeničných múk s rôznym prídavkom fungálnej α -amylázy získané modifikovanou amylografickou metódou.

Fig. 1. Amylographic curves of wheat flours with various addition of fungal α -amylase. The curves were obtained by modified amylographic method.

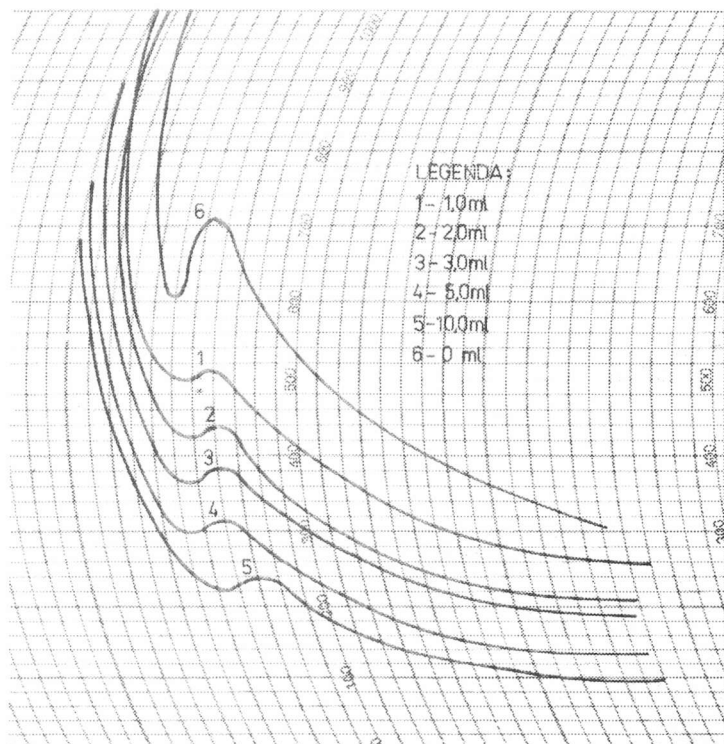
Aby bolo možné stanoviť aktivitu pridaného enzýmu v jednotkách SKB, je potrebné zostrojiť kalibračnú krivku. Kalibračná krivka je závislosť logaritmu minima viskozity (MV) od logaritmu množstva pridaného enzýmu. Roztok α -amylázy s aktivitou 1 SKB $\cdot \text{cm}^{-3}$ sa pridával v množstve 1 až 20 cm^3 . Získané amylografické krivky sú na obr. 1 a kalibračná krivka na obr. 2.



Obr. 2. Kalibračná krivka modifikovanej amylografickej metódy.
Fig. 2. The calibration curve of the modified amylographic method.

Rovnaký princíp, ale menšie množstvo substrátu sa použilo pri rýchlej amylografickej metóde. Ako substrát sa použila ražná múka a pre optimálnu krivku sa našiel pomer 20 g modifikovaného pšeničného škrobu a 10 g ražnej múky. Krivka má iný priebeh ako pri prvej metóde, určujúcim je tentoraz maximum viskozity, ktoré sa pri múke bez prídavku enzýmov pohybovalo v rozmedzí od 710 do 750 BJ. Opäť boli namerané hodnoty pre kalibračnú krivku (obr. 4) odčítané z amylografických kriviek na obr. 3.

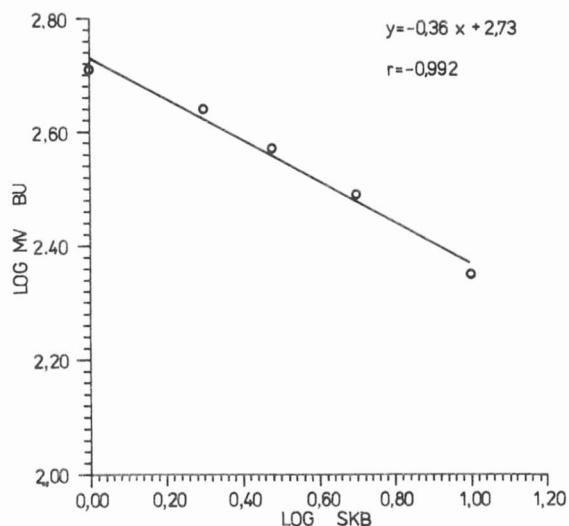
Treťou overovanou metódou je metóda chlebového amylogramu, ktorá neslúži priamo na určenie aktivity pridaného enzýmu, ale názorne dokumentuje jeho účinok na škrob pri výrobe pekárskeho výrobku. Čím viac enzýmu bolo pridané do cesta na pekárskeho pokus, tým nižšiu hodnotu viskozity dosiahne krivka po 30 min merania rýchlou amylografickou metódou. Pri získavaní kriviek bolo použité závažie 125 g, ktoré posúva všetky krivky o 500 BJ nižšie, pretože viskozita suspenzie v priebehu prvých minút od začiatku merania prekročila hodnotu 1000 BJ. Amylografické krivky sú na obr. 5 a získané hodnoty v tab. 1.



Obr. 3. Amylografické krivky ražných múk s rôznym prídavkom fungálnej α -amylázy získané rýchlou amylografickou modifikovanou metódou.

Fig. 3. Amylographic curves of rye flours with various addition of fungal α -amylase. They were obtained by the fast amylographic method.

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že overované amylografické metódy sú vhodné na zisťovanie aktivity pridávanej fungálnej α -amylázy, sú pomerne presné a správne. Pri dostupnosti amylografu sú pomerne jednoduché a vhodné na využitie v pekárenskej praxi. Rýchlou amylografickou metódou sa šetrí čas (meranie trvá asi 20 min) a množstvo substrátu, jej nevýhodou naopak je pomerne náročná príprava suspenzie, pretože v malom množstve substrátu sa aj malá nerovnomernosť prejaví v kôrkatosti krivky. Metóda chlebového amylogramu je vhodná pre pekársky výskum, pri využití rýchleho amylografického postupu stačí pekársky pokus z 300 g múky a metóda umožňuje sledovať vplyv rôznych aditívnych látok na vlastnosti škrobovej zložky múky.



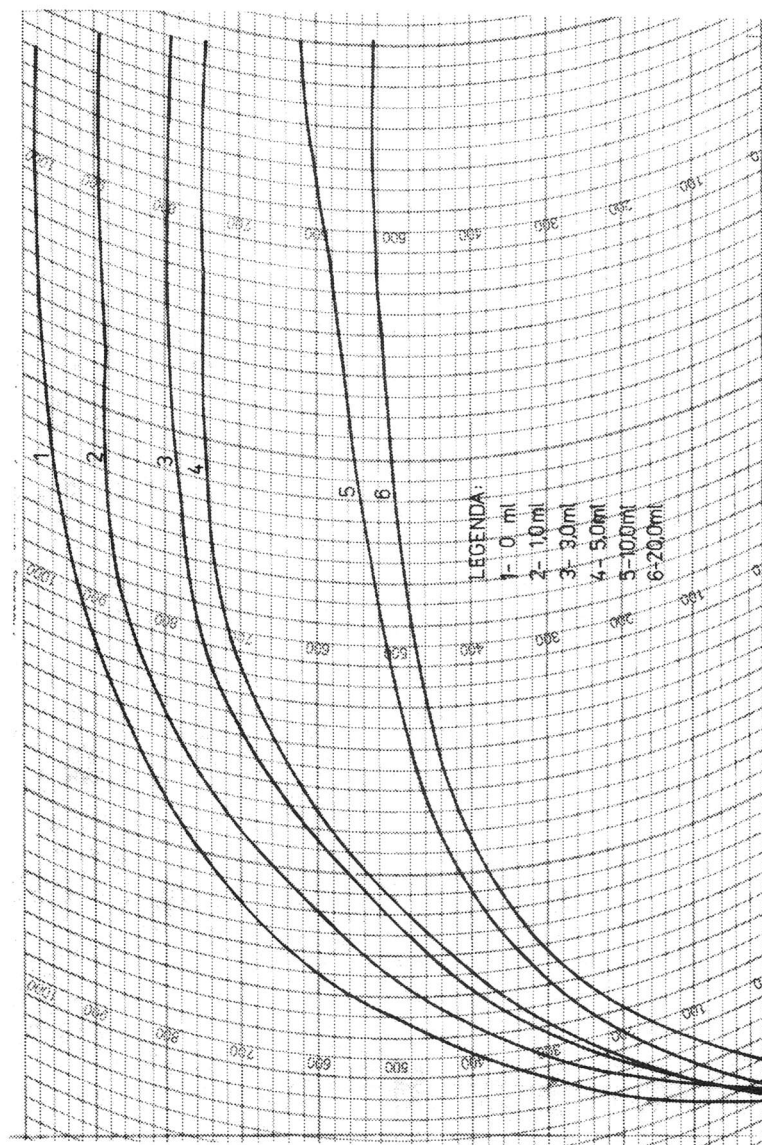
Obr. 4. Kalibračná krivka rýchlej amylografickej modifikovanej metódy.
Fig. 4. The calibration curve of the fast amylographic modified method.

Tabuľka 1. Vplyv prídavku α -amylázy na maximum viskozity chlebového amylogramu a objem pečiva

Table 1. The influence of the α -amylase addition on the maximum of the bread amylogram viscosity

Meranie ¹	Prídavok enzýmu ² [cm ³]	Aktivita enzýmu [ŠKB/100 g múky] ³	Maximum po 30 min ⁴ [BJ]	Merný objem pečiva ⁵ [cm ³ /100 g]
1	0	0	990	330,5
2	1	3,3	895	328,3
3	3	10	800	362,8
4	5	16,7	750	374,8
5	10	33,3	620	430,0
6	20	66,7	525	463,0

1 — Measurement, 2 — Addition of enzyme, 3 — Activity of enzyme (SKB/100 g flour), 4 — Maximum after 30 min, 5 — Specific volume of pastry.



Obr. 5. Chlebové amylogramy pšeničného pečiva s rôznym prídavkom fungálnej α -amylázy.
Fig. 5. Bread amylograms of wheat pastry with various addition of fungal α -amylase.

Literatúra

1. REED, G.: Enzymes in Food Processing. New York, Academic Press 1975.
2. KRETOVIČ, V. K. JAROVENKO, V. M.: Fermentnyje preparaty v piščevoj promyšlennosti. Moskva, Piščevaja Promyšlennost' 1975.
3. POMERANZ, Y.: Wheat Chemistry and Technology. New York, Academic Press 1975.
4. POPRAC, J. a kol.: Využitie cereálnych surovín v biotechnologických procesoch a uplatnenie bioproduktov v technológiách mlynsko-pekárenského priemyslu. Priebežná správa úlohy N 05-529-804-06. Bratislava, VVJ MPP 1989.
5. GODFREY, T. REICHEL, J.: Industrial Enzymology. New York, The Nature Press 1983.
6. American Association of Cereal Chemistry: Approved Methods of the AACC, Method 22-12. 8. ed. USA 1983.
7. BRABENDER, M. SIETZ, W.: Mühle und Mischfüttertechnik, 116, 1979, s. 17.

Do redakcie došlo 11. 3. 1991

Определение ферментной активности в муках амилографическими методами

Резюме

Были проверены амилографические методы для определения активности фунгальной α -амилазы после ее добавки в муку пшеничную и ржаную. С целью понижения количества использованного субстрата и времени определения был применен быстроамилографический метод. Действия α -амилазы на свойства крахмала после выпечки исследовались методом хлебного амилограммы с использованием быстроамилографического метода. Все проверенные методы сравнительно просты, точны и правильны, применительные в хлебопекарной практике для исследования активности прибавляемых ферментов.

Determination of enzyme activity in flours using the amylographic methods

Summary

The amylographic methods were verified for the determination of the activity of fungal α -amylase after its addition into wheat or rye flour. The fast amylographic way has been used for the decrease of the used substrate amount, as well as for time saving. The method of bread amylogram has been used for the investigation of α -amylase effect on starch properties after baking using fast amylographic procedure. All these methods which have been verified are relatively simple, precise and correct. They are utilizable for the activity determination of added enzymes in baker's practice.