Ispitivanje aktivnosti alfa-amilaze u domaćim pivarskim sortama ječma

Dujković, Bojan

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:390905

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Bojan Dujković

ISPITIVANJE AKTIVNOSTI α-AMILAZE U DOMAĆIM PIVARSKIM SORTAMA JEČMA

DIPLOMSKI RAD

Osijek,13. ožujak ,2014.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za procesno inženjerstvo
Katedra za bioprocesno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Biotehnološka proizvodnja hrane
Tema rada je prihvaćena na VI sjednici akademske 2011/2012. Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 29. ožujka 2012. godine.
Mentor: *dr.sc. Vinko Krstanović*, izv.prof.

ISPITIVANJE AKTIVNOSTI α – AMILAZE U DOMAĆIM PIVARSKIM SORTAM JEČMA

Bojan Dujković, 71/DI

Sažetak:U radu je ispitivana aktivnost α-amilaze u domaćim sortama ječma s posebnim osvrtom na preporučene vrijednosti sladarske i pivarske industrije. Uzorci sorti su prikupljeni kao striktno pivarske (B), striktno stočne (F) i kao tzv. kombinirane sorte (BF) koje se mogu koristiti i za slađenje i za druge namjene, sa tri lokacije (Slavonski brod, Tovarnik i Osijek). Ukupno je ispitano 12 sorti. Dobiveni rezultati pokazuju da je većina ispitivanih sorti (s obzirom na aktivnost α-amilaze) bila u okviru preporučenih vrijednosti ili malo iznad. Rezultati također ukazuju da se sorte vrlo jasno razvrstavaju u određene grupe (B, F, BF), te da faktor sorta utječe, dok faktor lokacija ne utječe statistički značajno ($p < 0,05$) na aktivnost α-amilaze. Nadalje, rezultati pokazuju da u ukupnom ispitivanom sortimentu postoje domaće sorte koje imaju odlične ili vrlo dobre vrijednosti za aktivnost α-amilaze (Gazda, Barun, te u manjoj mjeri Maxim i Lukas) u komparaciji sa standardima (njemačke sorte Vanessa i Tiffany). Dobiveni rezultati mogu biti podloga za daljnja istraživanja selekcionarima ječma pri nastavku sortnih pokusa s ciljem oplemenjivanja sorti, ali i tehnolozima u sladarstvu za odabir pogodnih sorti za proizvodnju pivarskog slada.

Ključne riječi: sorte ječma, aktivnost α-amilaze

Rad sadrži: 34 stranicu
10 slika
5 tablica
11 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. *dr. sc. Vedran Slačanac*, izv. prof. — predsjednik
2. *dr. sc. Vinko Krstanović*, izv. prof. — član-mentor
3. *dr. sc. Natalija Velić*, doc. — član
4. *dr. sc. Marko Jukić*, izv. prof. — zamjena člana

Datum obrane: 13. ožujak, 2014.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Process Engineering
Subdepartment of Bioprocess Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Food biotechnology
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. VI held on March 29, 2012
Mentor: *Vinko Krstanović*, PhD, associate prof.

α – AMYLASE ACTIVITIES TESTING IN THE DOMESTIC BREWERS BARLEY VARIETIES

Bojan Dujković, 71/DI

Summary: This paper considers the share of α-amylase activities in domestic barley varieties with special review on malt and brewing industry recommended values. Samples were gathered as a strictly brewing (B), feed (F) and, so called combined (BF) varieties which can be used for malting, but also for some other purpose. Total of 12 varieties were examined. Also, three locations were considered (Slavonski Brod, Tovarnik and Osijek) in this investigation. The obtained results indicate that most of examined varieties (considering the α-amylase activities share) were within recommended values or slightly above them. Results also indicate that varieties are easily classified into aforementioned groups (B, F, BF), and that variety affects the share of α-amylase activities and location does not affect the share of α-amylase activities in a way that is statistically significant ($p < 0.05$). Furthermore, results show that in total examined spectrum of varieties there are domestic varieties which have excellent or very good values for α-amylase activities (Gazda and Barun, and to a lesser extent) in comparison with standard varieties (German varieties Vanessa and Tiffany). Barley breeders can use these results as a basic for future breeding experiments, but also engineers can use this data for selection of suitable varieties for malt production.

Key words: domestic barley varieties, α-amylase activities

Thesis contains: 34 pages
10 figures
5 tables
11 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1.	*Vedran Slačanac*, PhD, associate prof.	chair person
2.	*Vinko Krstanović*, PhD, associate prof.	supervisor
3.	*Natalija Velić*, PhD, assistant prof.	member
4.	*Marko Jukić*, PhD, associate prof.	stand-in

Defense date: March 13, 2014.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem mentoru prof.dr.sc. Vinku Krstanoviću na stručnoj pomoći i savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

Hvala mojoj Ivani koja je uvijek vjerovala u mene i pružala mi bezuvjetni oslonac svih ovih godina.

Hvala mojim prijateljima uz koje je ovaj put bio puno lakši.

Posebno i veliko hvala ide mojim roditeljima, bez kojih nikada ne bih postao ovo što danas jesam.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 3

2.1. JEČAM 4

2.1.1. Građa i sastav ječmenog zrna 6

2.2. ALFA AMILAZE 9

2.2.1. Značaj i svojstva α-amilaza 11

2.2.2. Primjena α-amilaze u industriji 12

2.2.3. Primjena α-amilaza kod ukomljavanja slada i neslađenih žitarica 13

2.3. PROIZVODNJA SLADA 14

3. EKSPERIMENTALNI DIO 17

3.1. ZADATAK 18

3.2. MATERIJALI I METODE 18

3.2.1. Određivanje aktivnosti α-amilaze internacionalnom metodom (EBC) 18

4. REZULTATI 21

5. RASPRAVA 27

6. ZAKLJUČCI 31

7. LITERATURA 33

1. UVOD

Ječam je osnovna sirovina za proizvodnju slada odnosno posredno za proizvodnju piva.Osim što je izvor ekstrakta (fermentabilnih ugljikohidrata) slad je i enzimski pripravak koji ima sposobnost samoošećerenja prilikom ukomljavanja.Ova sposobnost posljedica je enzimske snage (enzimskog potencijala) slada kojeg kolokvijalno nazivamo amiloliza, citoliza i proteoliza. Amiloliza obuhvaća sve enzimeke procese razgradnje ugljikohidrata od kojih je svakako tehnološki najvažnija razgradnja škroba koja je preduvjet za dobivanje fermentabilnih šećera u sladovini. Enzimska hidroliza škroba provodi se kroz faze klajsterizacije, likvefakcije i ošećeranja, a enzim koji omogućuje razgradnju škroba do dekstrina (koji su supstrat za djelovanje α-amilaze i ostalih enzima ošećerenja) je α-amilaza. α-amilaza je enzim koji se sintetizira tijekom klijanja zrna, pa je stoga u najvećoj mjeri genotipski determinirano svojstvo sorte. Sukladno rečenom jedna od osnovnih poželjnih svojstava pojedinih pivarskih sorti ječma je što veća aktivnost α-amilaze u sladu. Kako se radi o genotipski determiniranom svojstvu sorte za selekcionare ječma je vrlo koristan podatak o vrijednostima za ovaj pokazatelj kakvoće u ukupnom sortimentu.Zbog toga je cilj ovog rada bio steći uvid u aktivnost α-amilaze u sortimentu ječma Poljoprivrednog Instituta Osijek radi daljnje selekcije i dobivanja novih sorti pivarskog ječma.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JEČAM

Ječam je jedna od najznačajnijih poljoprivrednih kultura u svijetu. Po površinama na kojima se uzgaja, nalazi se na četvrtom mjestu, iza pšenice, riže i kukuruza. To je relativno otporna biljka, koja može opstati u različitim agroekološkim uvjetima. Koristi se za ishranu stoke, ljudi i industrijsku preradu: u proizvodnji škroba i alkohola. Najznačajnija industrijska prerada ječma je upravo u proizvodnji slada i piva.



Slika 1. Ječam (http://www.zemljani.com)

Ječam spada u porodicu trava *Gramineae*, a kao kultiviran ječam za potrebe proizvodnje slada koristi se ječam iz roda *Hordeum vulgare* i *Hordeum sativum*.

Ječam koji se uzgaja može se podijeliti u 4 različite skupine:

- *Hordeum vulgare*: šestoredi ječam sa svim zrnima približno sličnih dimenzija i oblika,
- *Hordeum intermedium*: šestoredi ječam kod koga su bočna zrna u klasu manja i različitog oblika i zbog toga nije pogodan za sladovanje,
- *Hordeum distichon*: dvoredi ječam krupna zrna istih oblika i dimenzija koji se tradicionalno u Europi koristi za proizvodnju slada,
- *Hordeum deficiens*: dvoredi ječam koji nema veliki značaj za potrebe sladarstva.

U zavisnosti od vremena žetve razlikuju se:

- Jari ječam: sije se u proljeće (ožujak, travanj),
- Ozimi ječam: sije se u jesen (sredinom rujna).

Sve ove različite forme nisu podjednako pogodne za sladovanje i ne daju slad iste kvalitete. Dvorede sorte daju više ekstrakta, dok šestoredi ječam ima i za 30% veći prinos i po pravilu daje veći enzimski potencijal. Tradicionalno se smatra da je za potrebe industrije piva najbolji jari dvoredi ječam. Danas je ovakav stav u mnogome ublaženjer su dobijene nove sorte ozimih šestoredih sorti sa bitno poboljšanim svojstvima (Leškoček -Čukarević, 2002).

Za dobivanje kvalitetnog, jednoličnog slada vrlo je bitno da je zrnje ječma iste sorte. Kao posljedica toga, nužan je uzgoj čistih sorti. Samo na takav način prednost uzgoja čistih sorti

može biti u potpunosti iskorišten. Prilikom uzgoja novih sorti velika se pozornost pridaje parametrima kvalitete, odnosno zahtjeva se:

- otpornost na bolesti i nametnike,
- čvrstoća stabljike,
- velika mogućnost iskorištavanja hranjivih sastojaka iz tla,
- visoki prinos zrna,
- dobar oblik i raspored zrnja u klasu,
- nizak sadržaj dušika u zrnu,
- visoka sposobnost klijanja,
- visoki potencijal biosinteze enzima,
- sposobnost modifikacije zrna,
- visok sadržaj ekstrakta prilikom slađenja (Kunze, 1999).

Usporedba kakvoće slada od sorti ozimog i jarog ječma pokazuje da su sorte jarog ječma u odnosu na ozime imale u prosjeku viši i nepovoljniji udjel proteina u sladu, ali niži viskozitet i veću dijastatsku snagu (Lalić, Kovačević, 1999). Ozime su sorte, s obzirom na udio proteina i udio ekstrakta u zrnu osjetljivije na vremenske uvjete, a u njima ima više neposrednih topljivih sastojaka i daju slad sa povećanim aktivnostima enzima.

Nedostatak vode u tlu utječe na slabiji rast i razvoj, na smanjenje priroda, a pri ekstremnom nedostatku vode biljka propada. Jari ječam osjetljiviji je na sušu od ozimog, posebno ako se kasni sa sjetvom. Ozimi ječam daje veće prirode, ima znatno dulju vegetaciju od jaroga, pa mu treba osigurati više hranjiva. Pivarski ječam može se uzgajati na tlima osrednje plodnosti da bi se uz kontroliranu gnojidbu dušikom moglo oblikovati zrno sa više ugljikohidrata, a manje proteina. Za jari pivarski ječam udio dušika u tlu treba smanjiti, jer veća količina dušika utječe na povećanje udjela bjelančevina u zrnu, što nepovoljno utječe na kvalitetu slada (Divjak, 2005.; Gagro, 1997.).

2.1.1. Građa i sastav ječmenog zrna

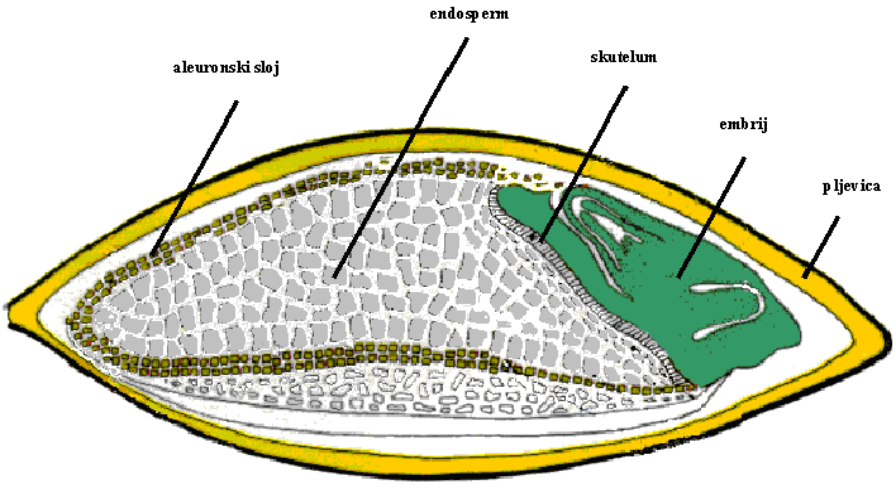
Stražnja (leđna) strana zrna je obavijena pljevicom ili lemom, a unutrašnjost (trbušna) strana paleom. Pljevice ječma uske su i završavaju zupcem. Obično su pljevice srasle sa zrnom, no postoje i goli kultivari ječma (bez pljevice), ali oni nisu osobito važni u proizvodnji pivarskog slada.

Ječmeno zrno čine tri glavna dijela: klica, endosperm i zaštitni omotač. Klica se sastoji od embrija, akrospore i korjenčića. Klica je odvojena od endosperma štitićem. U sastav štitića ulazi i usisni epitel, sloj šupljih duguljastih stanica kroz koje se, pri prirodnom klijanju u zemlji otopljeni sastojci endosperma prenose u embrio.

Endosperm je svojevrsna vreća napunjena mrtvim stanicama koje sadrže velika i mala kristalična škrobna zrnca obavijena hemicelulozom u proteinskoj matrici. Tkivo endosperma nema jedinstvenu građu. Sloj neposredno i ispod zaštitnog sloja sadržava manje škroba, a više proteina. To je osobito izraženo u ječma sa visokim udjelom dušika. Tu je najveća koncentracija vezane α-amilaze. Neki protein su također u granulama, ali su uglavnom raspršeni u endospermu. Endosperm je pokriven tankim slojem što se sastoji od četiriju redova živih stanica, tzv. aleuronskom slojem. Te su stanice važne za biosintezu hidrolitičkih enzima (α-amilaza, β-glukanaza, proteaza) što hidroliziraju endosperm tijekom klijanja i opskrbljuju embrio potrebnim hranjivim sastojcma za rast.

Zaštitni omotač sastoji se od sedam različitih slojeva koji se mogu podjeliti na tri osnovna. Unutarnji omotač koji okružuje aleuronski sloj naziva se sjemenjača ili testa. Ona okružuje čitavo zrno i propušta samo čistu vodu ali ne i soli otopljene u njoj. Slijedeći omotač je oplodnjača ili perikarp koji je u bliskoj vezi sa sjemenjačom.

Vanjski omotač zrna naziva se pljevica. Glavni sastojak pljevice su celuloza i lignin, dok ostatak čine pentozani, manani, uronične kiseline i hemiceluloze. Znatan je i udio silicija zbog kojeg pljevica ima abrazivna svojstva (Divjak, 2005.).



Slika 2. Sastav zrna ječma (Hough i sur., 1976.)

Udjel vode u zrnu ječma tijekom žetve iznosi u prosjeku od 14 do 15%, ali može varirati od 12 do 20% s obzirom na klimatske uvjete žetve. Kemijski sastav ječma prikazuje **Tablica 1.**

Tablica 1. Kemijski sastav ječma (Schuster i sur., 1988.)

Pokazatelj	Zračno suhi	Suha tvar zrna
Škrob	54,0	63,2
Vlaga	14,5	-
Ostale nedušične ekstraktivne tvari	12,0	14,0
Bjelančevine	9,5	11,1
Sirova vlakna	5,0	5,9
Masti	2,5	2,9
Mineralni sastojci	2,5	2,9

Ugljikohidrati su kvantitativno najvažniji sastojci, a vrlo je velika njihova uloga tijekom prerade ječma. Najznačajniji su škrob, šećeri, celuloza i hemiceluloza. Škrob formira 50-63% suhe tvari ječma, a skladišti se u obliku škrobnih zrnaca, u endospermu stanice.Škrobna zrnca se sastoje od dva spoja: amiloze i amilopektina. Amiloza i amilopektin su izgrađeni od lanaca glukoze, ali imaju različitu strukturu i različit način razgradnje tijekom slađenja. Hemiceluloze se sastoje od β-glukana i pentozana i osnovni su sastojak stanične stjenke. Šećer i celuloza se u malom postotku nalaze u ječmenom zrnu i nemaju veliki učinak na produkciju i kvalitetu piva.

Od ukupne količine proteinskih sastojaka zrna samo trećina prelazi u gotovo pivo. Udjel proteina u pivu nije velik, ali oni mogu znatno utjecati na kakvoću piva i njegovu osjetljivost na zamućenje. Udjel ekstrakta slada se smanjuje otprilike za onoliko koliki je udjel proteina u zrnu (od 0.7-1% po postotku proteina).

Proteini čine 92% bjelančevinskih sastojaka u pivu. Prema Osbornu djele se na: gluteline (30%), prolamine (37%), globuline (15%), te albumine (11%).

Od mineralnih tvari nazastupljeniji su fosfati s oko 35% u obliku fosfor-(V)-oksida, silikati s oko 25% u obliku silicij-dioksida i kalijeve soli s 20% u obliku kalij-dioksida. Bez prisustva fosfata nije moguće alkoholno vrenje, jer su zbivanja prilikom vrenja ovisna o reakcijama u kojima sudjeluje fosforna kiselina.

Masti se u najvećem dijelu nalaze u aleuronskom sloju i u klici. Ukupni sadržaj masti u aleuronskom je sloju oko 9 puta veći nego u klici. Ove masti su gotovo isključivo trigliceridi u kojima je glicerol esterificiran sa tri masne kiseline. Pri tome sunajvećim djelom zastupljene masne kiseline s dugačkim lancima (stearinska, oleinska, linolna i linolenska). Masti su netopljive u vodi, pa ne promijenjene ostaju u tropu. Masti razaraju pjenu piva.

U ostale sastojke spadaju taninske tvari ili polifenoli koji se nalaze uglavnom u pljevici. Ako je pljevica deblja njihov udjel raste, a gorak i trpak okus ječma je izraženiji. Najvažniji vitamini u zrnu ječma su B1, B2, C i E. Vitamini su bitni ljudskom organizmu za održavanje životnih funkcija (Kunze, 1999.).

2.2. ALFA AMILAZE

Amilaze su enzimi koji hidroliziraju molekule škroba, dajući pri tom niz produkata, kao što su dekstrini i niži polimeri sastavljeni od glukoznih jedinica. Danas su ti enzimi od velike važnosti u biotehnologiji, a primjena im seže od prehrambene, tekstilne, papirne, pa sve do industrije detergenata, sokova i alkoholnih pića. Amilaze se mogu izolirati iz različitih izvora, uključujući biljke, životinje i mikroorganizme, no enzimi izolirani iz mikroorganizama najviše zadovoljavaju zahtjevima industrijske primjene. Danas je na tržištu prisutan velik broj amilaza iz mikroorganizama i skoro su u cijelosti zamijenile kemijsku hidrolizu škroba u industriji prerade škroba.

Povijest amilaze počela je 1811. godine kad je Kirchhoff otkrio prvi enzim koji razgrađuje škrob, proučavanjem probavnih enzima i amilaze u sladu. Puno je kasnije Ohlsson, 1930, predložio klasifikaciju enzima koji hidroliziraju slad na α- i β-amilaze ovisno o anomernom tipu šećera koji je nastao hidrolizom. Povijest odreñivanja aktivnosti α-amilaze i problemi oko njezine detekcije datiraju već od 1831., kada je Leuchs započeo proučavati hidrolizu škroba pomoću sline. Moderna povijest tog enzima započela je 1833. kada su francuski kemičari Anselme Payen i Jean-François Persoz uspjeli izolirati amilazu iz slada, te su je nazvali dijastaza.

α-amilaza (EC 3.2.1.1.) je enzim koji hidrolizira unutarnje α-1,4-glikozidne veze u škrobu. Osim kao enzim dobiven iz mikroorganizama, α-amilaza široko je zastupljen sekrecijski enzim jer se nalazi u slini, gušterači, krvi i urinu.

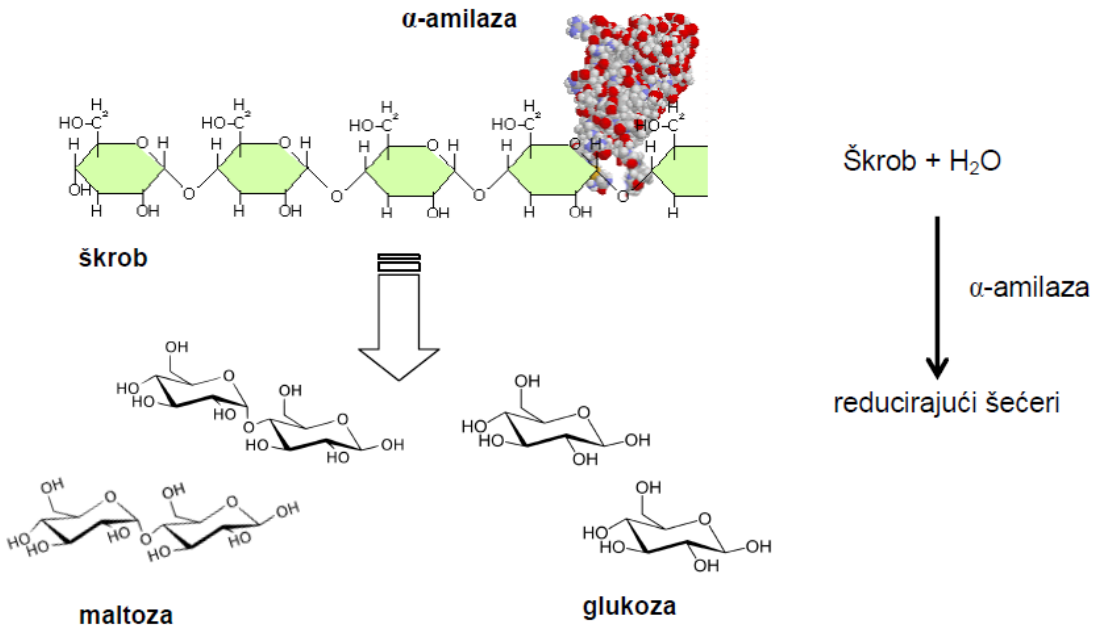
Amilaze su široko rasprostranjene u biljkama, životinjama i mikroorganizmima. Tijekom nekoliko prošlih desetljeća napravljena su značajna istraživanja vezana za produkciju ekstracelularne α-amilaze koju proizvode mikroorganizmi. Veliki kapaciteti i laka manipulacija mikroorganizmima do željenih karakteristika enzima, daju veliku prednost mikroorganizmima za proizvodnju amilaza koje imaju veliku primjenu u industriji. Njihova prisutnost u krvi i urinu pokazatelj je nekih bolesti.

Enzimi koji imaju sposobnost hidrolize škroba nazivaju se amilolitički enzimi, a hidroliziraju α-D-(1-4) O-glikozidne veze i α-D-(1-6) O-glikozidne veze. Amilolitički enzimi su podijeljeni prema svojoj aktivnosti prema škrobu u nekoliko podrazreda. Razdioba je napravljena prema konfiguraciji anomernog ugljikovog atoma u produktu.

Tablica 2. Amilolitički enzimi i njihov način djelovanja na škrob (Sakač N, 2011.)

Ime enzima	Način djelovanja	Napadnute glikozidne veze	Glavni produkti
α-amilaza E.C. 3.2.1.1. [8-10]	Endo	α-D-(1-4)	Smjesa malto-oligosaharida s α-konfiguracijom
β-amilaza E.C. 3.2.1.2. [8-10]	Egzo	α-D-(1-4)	β-maltoza
α-amilaza E.C. 3.2.1.20. [8-10]	Egzo	α-D-(1-4)	α-glukoza
Glukoamilaza E.C. 3.2.1.3. [8-10]	Egzo	α-D-(1-4) i α-D-(1-6)	β-glukoza
Izoamilaza E.C. 3.2.1.68. [8-10]	Endo	α-D-(1-6)	Linearni malto-oligosaharidi do 25 glukoznih jedinica bez bočnih ogranaka
Pululanaza E.C. 3.2.1.41. [8-10]	Endo	α-D-(1-6)	Razni linearni malto-oligosaharidi
Egzo-maltotetrao-hidrolaza E.C. 3.2.1.60. [11,12]	Egzo	α-D-(1-4)	Maltotetraoze
Egzo-maltoheksao-hidrolaza E.C. 3.2.1.98. [12,13]	Egzo	α-D-(1-4)	Maltoheksaoze

α-amilaze su endo-enzimi koji slučajnim odabirom napadaju unutarnje α-D-(1)-O-glikozidne veze u škrobu, osim onih koje su na kraju supstrata ili onih koje se nalaze u blizini točke grananja. Krajnji produkti su α-ograničeni dekstrini (α-limit dextrins), razgranati saharidi koji se ne mogu više hidrolizirati, i malto-oligosaharidi s različitim stupnjem polimerizacije (DP), karakterističnim za pojedini enzim. α-amilaze su kalcijevi metaloenzimi i ne mogu funkcionirati u odsutnosti kalcija. Nasumičnim djelovanjem uzduž škrobnog lanca, α-amilaza kida duge ugljikohidratne lance u maltotriozu i maltozu iz amiloze, ili maltozu, glukozu i dekstrin iz amilopektina. Djelovanje α-amilaze prikazuje **Slika 2.**



Slika 3. Biokatalitička razgradnja škroba (Sakač N., 2011.)

2.2.1. Značaj i svojstva α-amilaza

Specifični supstrat

Općenito, α-amilaze pokazuju najveću specifičnost prema škrobu, pa ga slijede amiloza, amilopektin, ciklodekstrin, glikogen i maltotrioza.

Optimalni pH i stabilnost

Optimalni pH za α-amilaze varira od 2-12. α-amilaze iz većine bakterija i gljiva imaju optimalni pH od kiselog do neutralnog područja. α-amilaze su općenito stabilne kroz široko područje pH=4-11, međutim nađene su i α-amilaze koje imaju usko područje stabilnosti.

Temperaturni optimum i stabilnost

Temperaturni optimum vezan za aktivnost α-amilaze povezan je s rastom mikroorganizama. Mnogi faktori utječu na termostabilnost. Oni uključuju prisutnost kalcija, supstrata i drugih stabilizatora.

Inhibitori

Mnogi metalni kationi, posebice ioni teških metala, reagensi sa sulfhidrilnim grupama, N-bromosukcinimidi, p-hidroksil merkuri benzojeva kiselina, BSA, EDTA i EGTA inhibiraju α-amilazu.

Kalcij i stabilnost α-amilaze

α-amilaza je metaloenzim, koji sadrži najmanje jedan kalcijev ion17. Afinitet Ca2+ prema α-amilazi puno je jači od drugih iona. Količina vezanog kalcija varira od jedan do deset. U prisustvu kalcija α-amilaze su termostabilnije nego bez kalcija.

2.2.2. Primjena α-amilaze u industriji

Amilaze spadaju u najvažnije hidrolitičke enzime vezane za industriju baziranu na škrobu. Komercijalizacija amilaza započela je 1984. kao farmaceutski pripravak za liječenje probavnih tegoba. Danas amilaze nalaze primjenu za hidrolizu škroba u mnogim industrijskim procesima, kao što su prehrambena, tekstilna, papirna i industrija detergenata. Amilaze su u potpunosti zamijenile kemijsku hidrolizu u procesnoj industriji hidrolize škroba. Danas amilaze zauzimaju najveći dio svjetskog tržišta enzima. Dostupno je nekoliko različitih pripravaka amilaza različitih proizvođača enzima za specifičnu primjenu u različitim industrijama.

Industrija proizvodnje kruha i peciva i kao dodatak protiv zgušnjavanja

Amilaze se koriste u pekarstvu. Vrlo često koristi se amilaza iz plijesni, koja izaziva djelomičnu razgradnju škroba. Treba posebno istaknuti skraćivanje vremena pripravljanja tijesta za 30-50% pri upotrebi amilaza. Pekarski proizvodi ostaju duže svježi ako im se dodaju amilaze. Također se upotrebljava pri likvefakciji i saharifikaciji škroba.

Upotreba amilaza u proizvodnji piva alkohola i vina

Pri upotrebi enzima u pivovarskoj industriji proces proizvodnje piva se ubrzava, a konačni proizvod je bistriji i stabilniji. Za ošećerenje škrobnih sirovina u proizvodnji alkohola svi moderni procesi koriste amilaze. Rezultat njihovog korištenja očituje se i u povećanju iskorištenja sirovine.

Industrija detergenata

Enzimi su danas sastavni dio detergenata. Oni čine 25-30% u globalnoj potrošnji enzima (Sakač, 2011.)

2.2.3. Primjena α-amilaza kod ukomljavanja slada i neslađenih žitarica

Ukomljavanje je postupak miješanja sladne prekrupe i usitnjenih neslađenih žitarica s toplom vodom u cilju prevođenja njihovih netopljivih sastojaka u topljiv oblik enzimskom hidrolizom s pomoću enzima sintetiziranih tijekom klijanja ječma (slađenja). Aktivnost tih, kao i svih drugih enzima, ovisi o pH vrijednosti komine i temperature. Stoga tijekom hidrolize za svaki enzim treba osigurati vrijednost pH i temperature za njihovo optimalno djelovanje. S obzirom na kemijski sastav sladne prekrupe i usitnjenih neslađenih žitarica najvažnije su: enzimska razgradnja škroba, β-glukana (gumastih sastojaka) i proteina.

Proces enzimske hidrolize škroba odvija se u tri faze koje se međusobno preklapaju:

- klajsterizacija ili prevođenje škroba u škrobni lijepak,
- likvefakcija ili otapanje škrobnog lijepka u vodi,
- šećerenje ili razgradnja otopljenog lijepka do gradbenih šećernih jedinica.

Nakon prevođenja škroba u škrobni lijepak započinje njegovo otapanje kao posljedica hidrolize pomoću enzima α-amilaze koji razgrađuje duge lance amiloze i amilopektina do dekstrina (7-12 glukoznih jedinica). Iz molekula amilopektina nastaju razgranate dekstrinske molekule, tzv. granični dekstrini, jer se hidroliza zaustavlja na udaljenosti od 2-3 glukozne jedinice ispred 1,6-veze, koju α-amilaza ne može ni razgraditi, niti preskočiti. Zbog toga se viskoznost klajsterizirane komine smanjuje. Ako se komina ohladi, odnosno zagrije na optimalnu temperaturu za djelovanje enzima α-amilaza, započinje razgradnja dekstrina s nereducirajućeg kraja molekule uz odcjepljivanje po dvije glukozne jedinice (maltoza). Zbog neparnog broja glukoznih molekula u dekstrinskim lancima osim maltoze nastaju i drugi šećeri (npr. glukoza i maltotrioza).

Ukratko, hidroliza škroba pomoću amilolitičkih enzima slada može se ovako sumirati:

1. Amilopektin + α-amilaza (temp.: 72-75°C; pH: 5,6-5,8) ---> Dekstrini (manje M.m.)

2. Dekstrini + β-amilaza (temp.: 60-65°C; pH 5,4-5,5) ---> Glukoza; Maltoza; Maltotrioza;

Naravno, oba enzima su aktivna i pri nižm temperaturama od njihova optimuma, ali je njihovo djelovanje usporeno. Temperature inaktivacije su im različite, pa se β-amilaza inaktivira pri 70°C, a α-amilaza pri 80°C.

Stoga se komina zadržava duže pri 62-64°C (optimalno za β-amilazu), kada se želi dobiti sladovina sa puno maltoze, koja ima visok stupanj prevrenja. Naravno, ako se želi u sladovini dobiti više dekstrina, koji pivu daju punoću, preferira se duže zadržavanje komine pri 72-75°C (optimalno za α-amilazu). To znači da se tijekom hidrolize škroba mogu koristiti

različite temperature i različita vremena zadržavanja. Ta se vremena nazivaju temperaturne stanke. Završna temperatura hidrolize škroba u pivarskoj praksi je 76-78°C, jer je to nešto niža temperatura od toplinske inaktivacije α-amilaze, pa ona može nastaviti hidrolizu škroba i tijekom cijeđenja sladovine iz komine. Tako se sprječava tzv. klajsterizacijska mutnoća gotovog proizvoda – piva (Štefanič, Marić, 1990.).

2.3. PROIZVODNJA SLADA

Slad predstavlja zrnje žitarica, koje je tijekom tehnološkog procesa proklijalo i zatim osušeno.Svrha reguliranog postupka vođenja klijanja u proizvodnji slada je:

-sinteza ili aktivacija čitavog niza enzima,

-djelovanje ovih enzima na različite grupe sastojaka zrna žitarica,

-maksimalna sinteza enzima uz minimalni utrošak (gubitak) sastojaka zrna.

Ove tri pojave međusobno su povezane. Sintezom enzima pojačava se i produbljuje njihovo djelovanje na pojedine sastojke zrna. Ova zbivanja ovise od 4 faktora tijekom klijanja: vlažnosti zrna, temperaturi, sastavu zraka i vremenu. Djelovanje enzima tijekom klijanja iskazuje se kroz razgradnju staničnih stjenki i povećanje brašnavosti endosperma, te razgradnju makromolekularnih sastojaka zrna. Proizvod dobiven klijanjem naziva se zeleni slad, a nakon sušenja osušeni ili suhi slad, odnosno jednostavno slad.

Tablica3. Faze slađenja; od ječma do slada (Schuster i sur., 1988.)

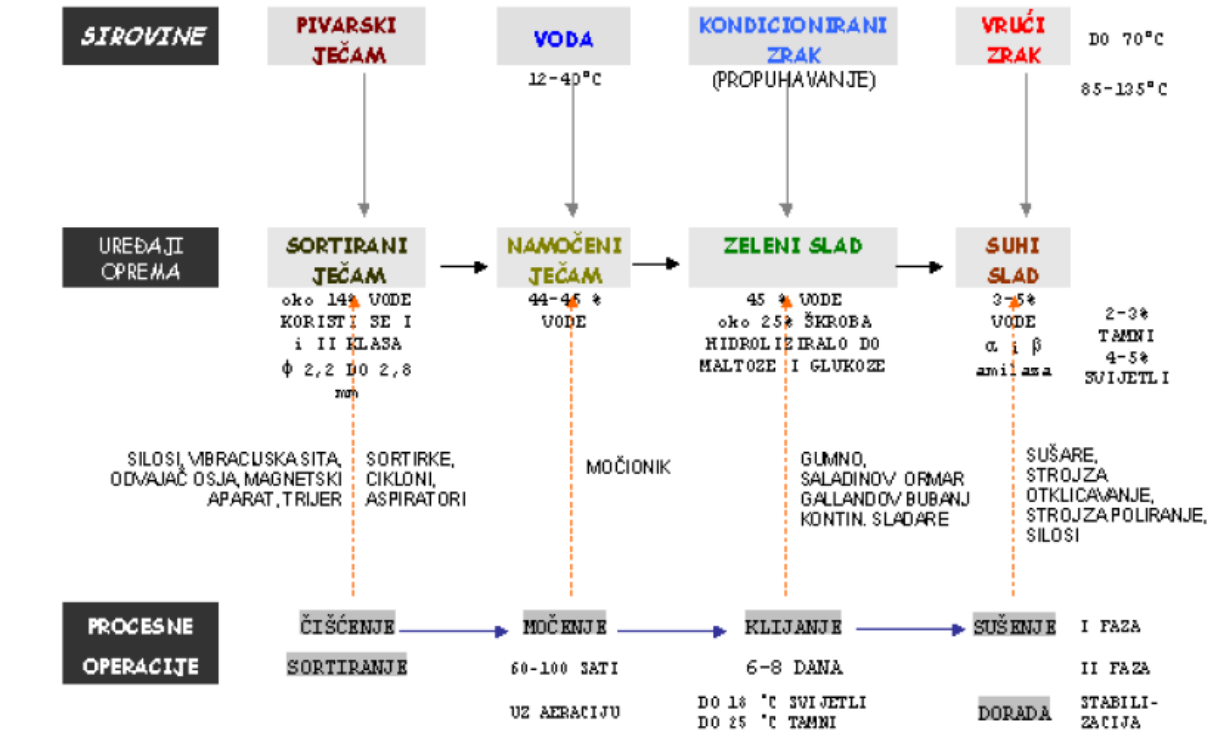
JEČAM	**Skladištenje**	**Vlaga temperatura**	**12-14% 12 °C**
	Močenje	Udjel vode	45%
	Klijanje	Vrijeme Temperatura	5 dana 12-16 °C
SLAD	Uklanjanje korjenčića i klice, uskladištenje		

Prva je faza tehnološkog postupka slađenja močenje kako bi ječmeno zrno upilo vodu, te iz stanja anabioze prešlo u stanje bioze tj. počelo klijati. Tijekom klijanja u zrnu se nakupljaju hidrolitički enzimi (α-amilaze, β-glukanaza i proteaze), kako bi se razgradile stanične stjenke i endosperm i tako dobili hranjivi sastojci potrebni za rast embrija, odnosno rast korjenčića i lisne klice buduće biljke. Djelovanjem α-amilaze nastaju topivi dekstrini što ih, u ječmenom zrnu prisutna, β-amilaza hidrolizira do šećera. Proteaze, istodobno, hidroliziraju proteine do aminokiselina i malih peptida. Zeleni slad, koji nastaje klijanjem, je zbog velikog udjela vode

nestabilan. Zato mu se uklanja voda sušenjem. Pošto je zeleni slad zapravo enzimski pripravak, sušenje treba obaviti tako da se spriječi toplinska inaktivacija enzima. Osušenom se sladu uklanjaju korjenčići (sladne klice), jer su higroskopni i imaju gorak okus.

Tehnološki proces slađenja ječma se sastoji od pet odjeljenih tehnoloških faza:

1) Čišćenje i sortiranje ječma,
2) Močenje sortiranog ječmenog zrna,
3) Klijanje namočenog zrna,
4) Sušenje zelenog slada,
5) Dorada osušenog slada (Schuster i sur. 1988)



1

Slika 4. Opća shema proizvodnje pivarskog slada (V. Krstanović, 2008.)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovoga rada bio je internacionalnom metodom (EBC) odrediti udjele α – amilaze u 3 sorte ječma – pivarskoj, pivarsko – stočnoj i stočnoj sorti na području Osijeka, Slavonskog Broda i Tovarnika.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Određivanje aktivnosti α-amilaze internacionalnom metodom (EBC)

Pod utjecajem α-amilaze prvenstveno se obavlja razgradnja škroba do dekstrina, pa komina postaje tekuća. Kod ječma se na osnovu njene aktivnosti može zaključiti u kojoj je mjeri on isklijao, a kod slada ona daje uvid u procjenu vremena koje će tijekom komljenja biti potrebno za postizanje normalne reakcije sa jodom i samim tim pokazatelj je kvalitete slada. Uz aktivnost α-amilaze mogu se ocijenjivati i odgovarajući enzimski preparati mikrobiološkog porijekla.

Princip

Dodatkom β-amilaze u suvišku u standardnu otopinu škroba dobija se otopina graničnih dekstrina kao supstrat. U ovaj se supstrat unosi ekstrakt slada čija α-amilaza razgrađuje granične dekstrine. Vrijeme koje je potrebno da se nakon dodatka otopine joda uspostavi standardno obojenje škroba i joda naziva se *jedinica nastajanja dekstrina.* Ona predstavlja mjeru za praćenje aktivnosti α-amilaze.

Uređaji

- Neo – komparator Hellige
- Hellige disk sa obojenim staklom za α-amilazu
- Kivete 13 mm
- Analitička vaga, točnost mjerenja 0,01 g
- DLFU mlin
- Naborani filter – papir
- Vodena kupelj

Reagensi

- Specijalni škrob
- β-amilaza iz ječmenog slada. Čuvati u hladnjaku u dobro zatvorenoj ambalaži. Prije otvaranja čekati da se temperira na sobnu temperaturu
- Otopina joda: 5,5 g joda i 11 g kalij – jodida otopiti u vodi i dopuniti do 250 ml. Ova otopina čuva se u tamnoj boci, a održivost joj je mjesec dana.
- Razblažena otopina joda: otopiti 20 gkalij – jodida u vodi, dodati 1 ml otopine joda i vodom dopuniti do 500 ml
- Natrij – klorid; NaCl
- Pufer, pH 4,7: 270 g natrijacetat – trihidrata otopiti u vodi, dodati 120 ml hladne octene kiseline i dopuniti do 1 l sa vodom. Provjeriti je li pH = 4,7
- Puferirana otopina graničnih dekstrina (α-amilodekstrinski supstrat)
- U visokoj laboratorijskoj čaši od 600 ml umiješati 10 g SM specijalnog škroba s hladnom vodom
- Uz stalno miješanje dodati 300 ml ključale vode
- Uz miješanje kuhati 1-2 minute
- Suspenziju ohladiti na oko 20°C i kvantitativno prebaciti u odmjernu tikvicu od 500 ml
- Dodati 25 ml pufera i 250 g β- amilaze otopljene u malo vode
- Otopinu škroba dopuniti do 500 ml s vodom koja je zasićena toluolom
- Ostaviti da stoji na 20°C; koristiti nakon 18 do najviše 72 h

Dobivanje ekstrakta slada

- 25 g fino mljevenog slada suspendirati u 500 ml 0,5%-tne otopine NaCl
- Ekstrahirati 2,5 h na 20°C; promiješati svakih 20 min
- Ekstrakt slada odvojiti filtracijom preko naboranog filter-papira; prvih 50 ml filtrata vratiti na filter
- 20 ml filtrata razblažiti sa 0,5%-tnim NaCl do 100 ml

Prilikom točnih mjerenja vrijeme dekstriniranja treba biti između 15 i 25 minuta. Ako je ono kraće, umjesto 10 ml razblaženog ekstrakta slada upotrijebiti samo 5 ml i 5 ml otopine natrij klorida. Ako je vrijeme dekstriniranja duže, odabrati odgovarajuće razblaženje.

Nastajanje dekstrina

- Na 20 ± 0,05°C temperirati puferirani supstrat graničnog dekstrina, razblaženi ekstrakt slada i niz sa po 10 ml razblažene otopine joda
- 10 ml razblaženog ekstrakta slada temperirati 5 min u vodenoj kupelji na 20 ± 0,05°C u pogodnoj epruveti
- Dodati 20 ml graničnog dekstrina i uključiti štopericu
- Nakon 10 min po prvi puta uzeti 2 ml hidrolizirane otopine i unijeti ju u 10 ml razblažene otopine joda temperirane na 20°C
- Odmah promiješati, prebaciti u kivetu i usporediti boju u komparatoru sa bojom diska za α-amilazu
- Na identičan način raditi sve dok se ne utvrdi da su boje jednake i zabilježiti za to neophodno vrijeme (pri kraju reakcije mjeriti svakih 30 s, završnu točku zaokružiti na najbližu četvrtinu minute)
- Za uspoređivanje boja uvijek koristiti istu kivetu koju je potrebno samo ocijediti između uzastopnih mjerenja

Proračun

$DU = \frac{24}{G \times \tau} \times \frac{100}{100 - W}$ jedinica po 100 g SM slada, gdje je:

- DU = jedinica nastajanja dekstrina, tj. ona količina α-amilaze koja razgrađuje 1 g škroba na sat na 20°C u prisustvu viška β-amilaze
- 24 = broj dobiven množenjem 0,4 (što odgovara sadržaju škroba u 20 ml otopine graničnih dekstrina, g) i 60 (preračunavanje min na h)
- G = masa slada u 10 ml razblaženog ekstrakta (tj. u 5 ml) u gramima (što odgovara 0,1 tj. 0,05 g)
- τ = vrijeme proteklo do izjednačavanja boja, min
- W = vlaga slada

Izražavanje rezultata, točnost i standardne vrijednosti

Rezultati se izražavaju u DU jedinicama bez decimala (na SM slada). Standardne vrijednosti su od 30 – 50 DU.

$r = 0{,}067 \times s$ R = 10 s = srednja vrijednost

4. REZULTATI

Tablica 4. Aktivnost α-amilaze u pivarskim, pivarsko-stočnim i stočnim sortama ječma

Lokacija	Sorta	Namjena	α-amilaza (DU/suh. tv.)	SD
OSIJEK	**Rex**	P/S	**32,70**	± **1,56**
	Barun	P/S	**39,50**	± **1,63**
	Bingo	S	**30,10**	± **0,14**
	Bravo	S	**32,20**	± **1,13**
	Vanesa	P	**41,80**	± **1,27**
	Tiffany	P	**36,10**	± **1,27**
	Maxim	P/S	**31,80**	± **1,70**
	Premium	P/S	**33,60**	± **1,98**
	Lukas	P/S	**33,90**	± **1,77**
SLAVONSKI BROD	**Rex**	P/S	**29,10**	± **0,14**
	Barun	P/S	**34,30**	± **1,13**
	Trenk	P/S	**35,60**	± **1,06**
	Gazda	P/S	**39,90**	± **0,92**
	Bingo	S	**28,80**	± **1,34**
	Merkur	P/S	**33,60**	± **1,27**
	Bravo	S	**30,80**	± **0,71**
	Vanesa	P	**40,10**	± **1,48**
	Tiffany	P	**38,80**	± **1,06**
	Maxim	P/S	**36,80**	± **0,99**
	Premium	P/S	**33,70**	± **0,99**
	Lukas	P/S	**39,60**	± **1,48**
TOVARNIK	**Rex**	P/S	**28,70**	± **1,20**
	Barun	P/S	**39,50**	± **5,87**
	Trenk	P/S	**30,60**	± **1,34**
	Gazda	P/S	**39,90**	± **0,57**
	Bingo	S	**31,80**	± **0,35**
	Merkur	P/S	**34,70**	± **1,20**
	Bravo	S	**30,80**	± **0,78**
	Vanesa	P	**45,10**	± **1,48**
	Tiffany	P	**40,30**	± **1,20**
	Maxim	P/S	**36,10**	± **1,13**
	Premium	P/S	**32,30**	± **1,20**
	Lukas	P/S	**33,40**	± **1,56**

Prikazani podaci su srednja vrijednost za α -amilazu ± standardna devijacija

P = pivarski ječam

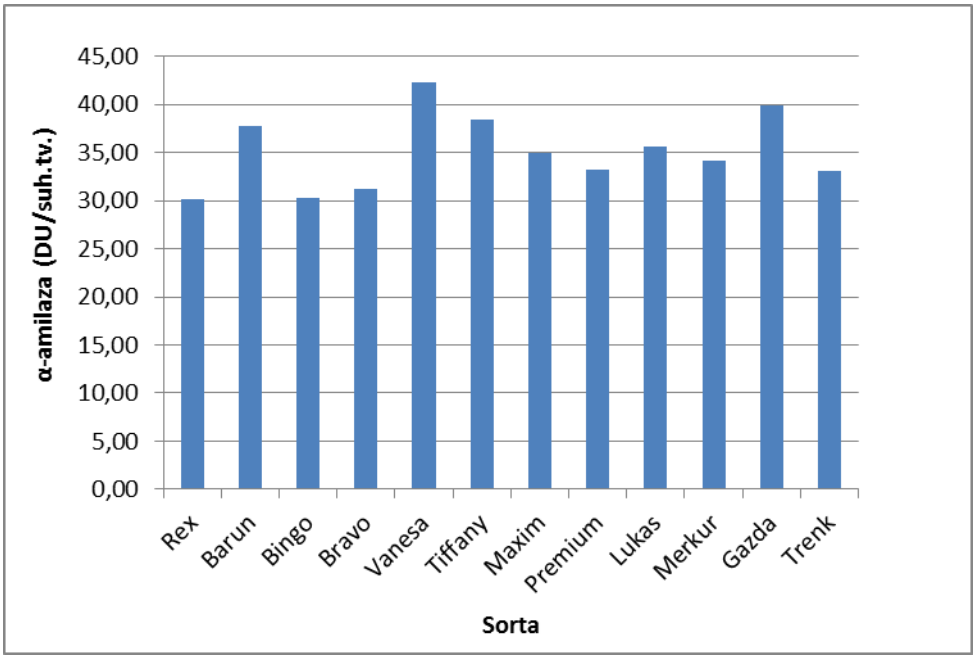
P/S = pivarsko-stočni ječam

S = stočni

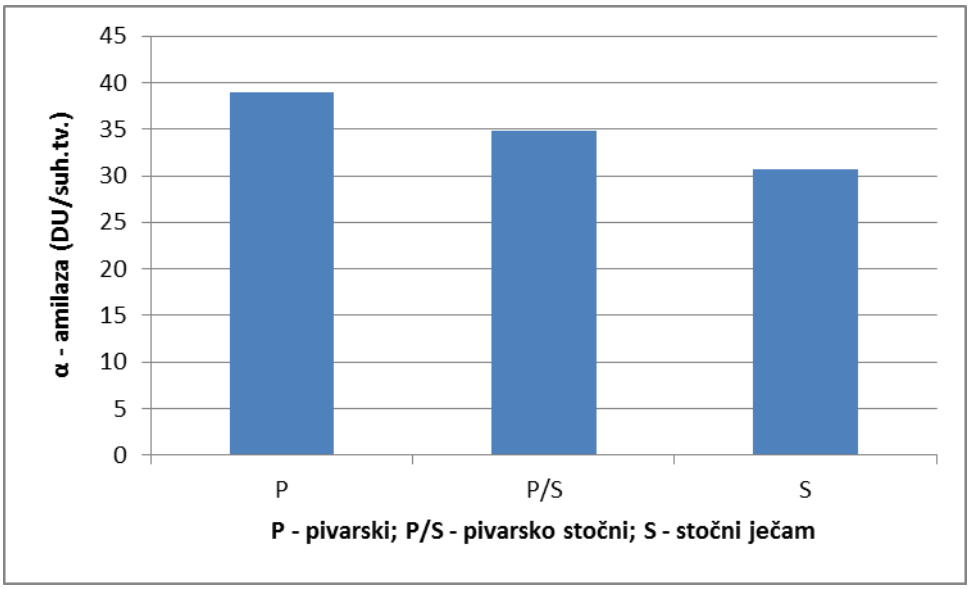
		α-amilaza (DU/suh. tv.)			
SORTA	**NAMJENA**	**OSIJEK**	**SLAVONSKI BROD**	**TOVARNIK**	**PROSJEK**
Rex	P/S	32,7	29,1	28,7	30,17
Barun	P/S	39,5	34,3	39,5	37,77
Bingo	S	30,1	28,8	31,8	30,23
Bravo	S	32,2	30,8	30,8	31,27
Vanesa	P	41,8	40,1	45,1	42,33
Tiffany	P	36,1	38,8	40,3	38,40
Maxim	P/S	31,8	36,8	36,1	34,90
Premium	P/S	33,6	33,7	32,3	33,20
Lukas	P/S	33,9	39,6	33,4	35,63
Merkur	P/S		33,6	34,7	34,15
Gazda	P/S		39,9	39,9	39,90
Trenk	P/S		35,6	30,6	33,10

Tablica 5. Prosječna aktivnost α- amilaze u pivarskim, pivarsko-stočnim i stočnim sortama ječma na sve tri lokacije

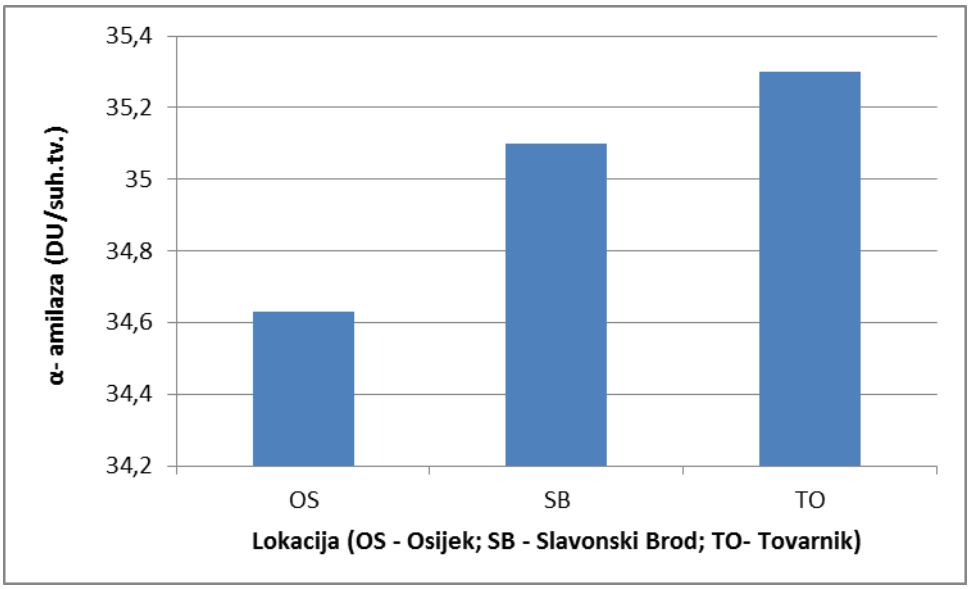
Na **Slikama 5 do 10** prikazani su udjeli α-amilaze u ispitivanim sortama s obzirom na sortu, lokaciju, te međusobne razlike između lokacija. Nadalje, prikazane su razlike u udjelu α-amilazeizmeđu grupa sorti (pivarske, pivarsko stočne i stočne).



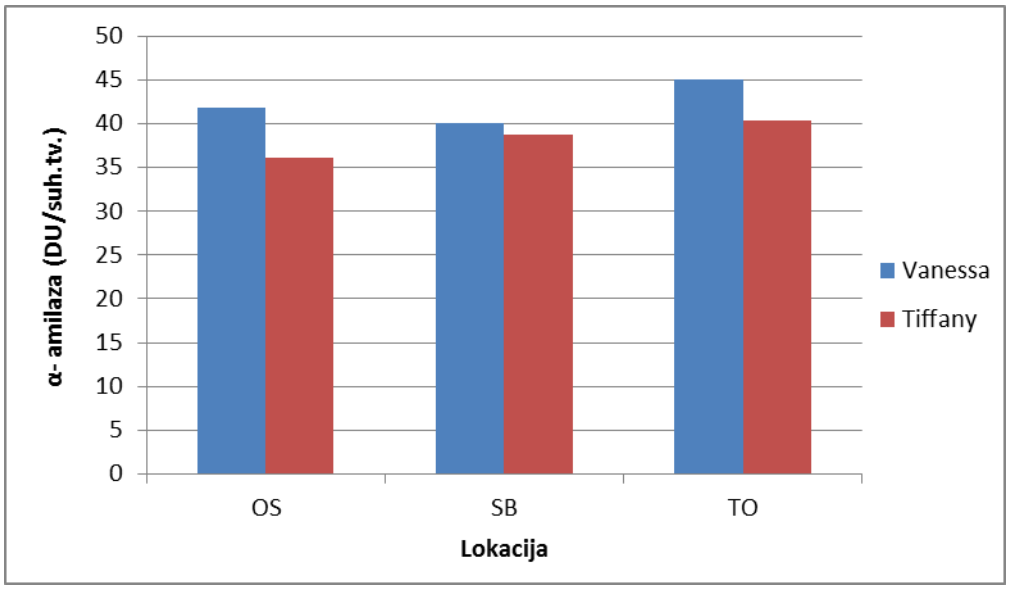
Slika 5. Prosječni udjeli α- amilaze u pojedinim pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma na svim lokacijama



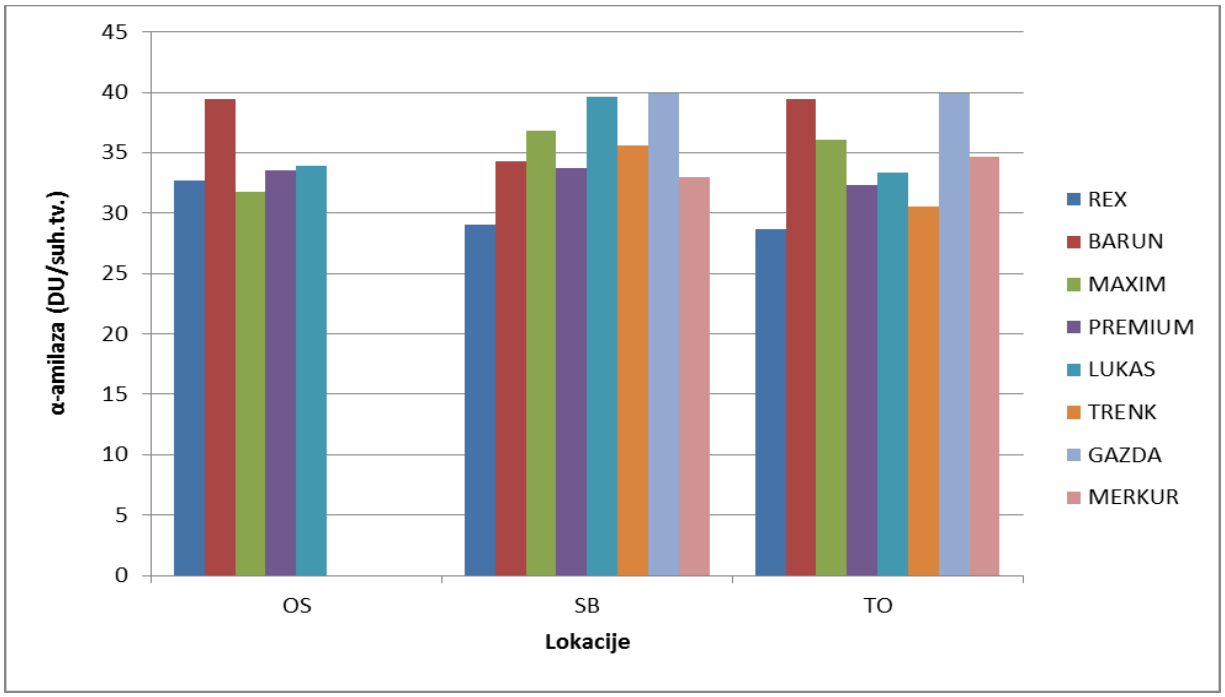
Slika 6. Prosječni udjeli α- amilaze u pivarskim, pivarsko – stočnim i stočnim sortama ječma



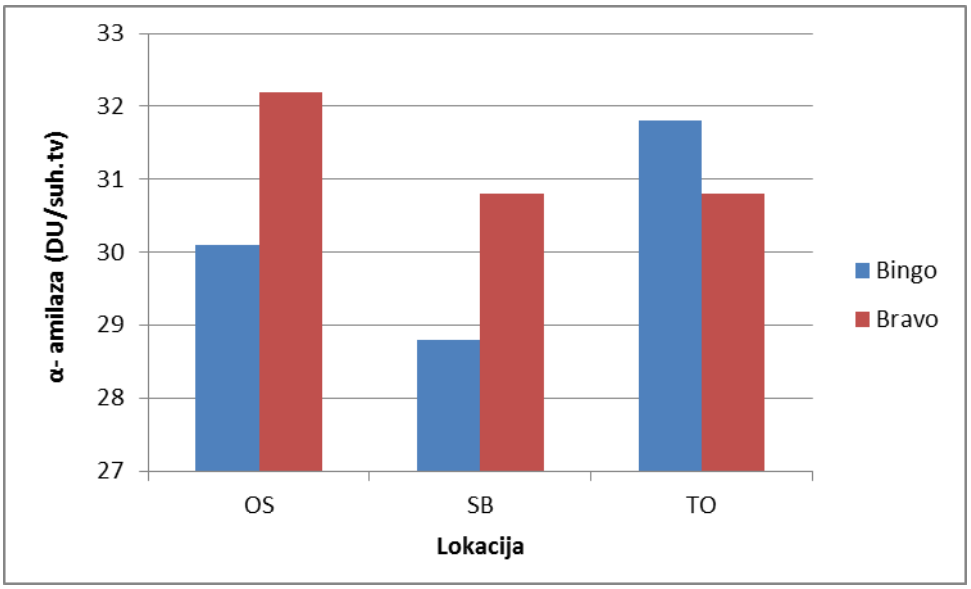
Slika 7. Prosječni udjeli α-amilaze u pivarskim, pivarsko stočnim i stočnim sortama ječma prema lokaciji



Slika 8. Udjeli α – amilaze u pivarskim sortama ječma



Slika 9. Udjeli α-amilaze u pivarsko – stočnim sortama ječma



Slika 10. Udjeli α- amilaze u stočnim sortama ječma

5. RASPRAVA

Rezultati prikazuju udjele α- amilaze u tri sorte ječma: pivarskoj (B - brewing variety); pivarsko-stočnoj (BF - brewing/feed variety) i stočnoj (F -feed variety) iz uroda 2011. godine s tri različite lokacije: Osijek - tip tla eutrični kambisol; Slavonski Brod - tip tla aluvijalni; i Tovarnik - tip tla hipoglej.

Tablica 4.prikazuje aktivnost α- amilaze u pivarskim, pivarsko-stočnim i stočnim sortama ječma na sve tri lokacije, dok **Tablica 5.** prikazuje prosječnu aktivnost α- amilaze u pivarskim, pivarsko-stočnim i stočnim sortama ječma na sve tri lokacije.

Prosječni udjeli α- amilaze u pojedinim pivarskim, stočnim i pivarsko-stočnim sortama ječma na svim lokacijama prikazani su na **Slici 5.** Raspon prosječnih udjela α- amilaze kreće se od 30 do 42 DU/suh.tv. Iako su ovi udjeli između sorti vrlo slični, ipak je vidljivo da pivarska sorta Vanessa ima najveći prosječni udio α- amilaze (42,33 DU/ suh.tv.). Sorte sa najmanjim prosječnim udjelom α-amilaze su Bravo, Bingo i Rex.

Ispitujući razlike u udjelu α-amilaze između pivarskih, stočno-pivarskih i stočnih sorti ječma primijetili smo da pivarske sorte ječma odskaču po udjelu α-amilaza u odnosu na stočne sorte, dok se vrijednost udjela α-amilaza u pivarsko-stočnim sortama nalazi između ove dvije ispitivane sorte. Ove razlike u udjelu α – amilaze između sorti prikazane su na **Slici 6.**

Na **Slici 7.** vidljivi su udjeli α-amilaze u pivarskim, pivarsko stočnim i stočnim sortama ječma prema lokaciji. Proučavajući udio α-amilaza u pivarskim, pivarsko - stočnim i stočnim sortama ječma na tri različite lokacije, kao najpogodnija lokacija pokazala se lokacija Tovarnika (preko 35,3 DU/suh.tv.), dok nju slijedi lokacija Slavonskog Broda (oko 35 DU/suh.tv.), te se najlošijom pokazala lokacija Osijeka, čije sorte imaju najmanji udio α-amilaze (oko 34 DU/suh.tv.).

Promatrajućii dvije pivarske sorte ječma (Vanessa i Tiffany) na različitim lokacijama uočavamo da .pivarska sorta ječma Vanessa, u odnosu na Tiffany, sadrži veći udio α-amilaze (od 40,1 do 45,1 DU/suh.tv.) na sve tri ispitivane lokacije. I jedna i druga sorta su pokazale najbolje rezultate na lokaciji Tovarnik. Ova razlika između pivarskih sorti ječma prikazana je na **Slici 8.**

Udjeli α-amilaze u pivarsko – stočnim sortama ječma (Rex, Barun, Maxim, Premium, Lukas, Trenk, Gazda, Merkur) prema lokacijama promatrani su na **Slici 9.** Na lokaciji Osijek najboljom pivarsko – stočnom sortom pokazala se sorta Barun (39,5 DU/suh.tv.), na lokaciji Slavonski Brod sorte Lukas (39,6 DU/suh.tv.) i Gazda (39,9 DU/ suh.tv.), dok su se na lokaciji Tovarnik najboljim pivarsko – stočnim sortama pokazale sorte Barun (39,5 DU/suh.tv.) i Gazda (39,9 DU/suh.tv.).

Stočne sorte ječma (Bingo i Bravo) promatrane su na **Slici 10.** Sorta Bravo ima veće udjele α-amilaze od sorte Bingo na lokacijama Osijek (32,2 DU/suh.tv.) i Slavonski Brod (30,8 DU/suh.tv.), dok je sorta Bingo pokazala najveći udio α-amilaze na lokaciji Tovarnik (31,8 DU/suh.tv.). Također, treba naglasiti da su udjeli α-amilaze sorte Bravo na lokacijama Slavonskog Broda i Tovarnika podjednake (30,8 DU/suh.tv.).

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Vrijednosti dobivene za aktivnost α-amilaze kod većine su ispitivanih sorti bile na granici preporučenoj za primjenu ječma u sladarstvu,

2. Ustanovljene su sorte koje imaju vrlo dobre vrijednosti za aktivnost α-amilaze sa stanovišta preporučenih vrijednosti za slađenje,

3. Najveću vrijednosti za aktivnost α-amilaze u domaćem sortimentu imaju sorte Gazda i Barun,

4. Sorte pokazuju statistički značajne razlike kad se izdvoje u grupe kao (pivarske, pivarsko-stočne i stočne),

5. Ustanovljeno je da kod najvećeg broja ispitivanih sorti ječma na vrijednosti za aktivnost α-amilaze u zrnu najznačajnije utječe sama sorta, dok lokacija ne utječe statistički značajno,

6. Rezultati dobiveni u ovom ispitivanju mogu poslužiti selekcionarima ječma pri nastavku sortnih pokusa s ciljem oplemenjivanja sorti za proizvodnju slada, ali i tehnolozima u sladarstvu za prilagodbu procesnih paramatara tijekom proizvodnju pivarskog slada.

7. LITERATURA

Divjak T.: Usporedba klasičnih i novih metoda za analizu pivarskog ječma i slada, Diplomski rad, Zagreb, 1-3, 6-7, 9, 2005.

Gagro, M.: Ratarstvo obiteljskog gospodarstva: *žitarice i zrnate mahunarke*, Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb 97 – 110, 1997.

Hough J.S. i sur.: Naučni aspekti sladarstva i pivarstva, Poslovno udruženje industrije pova i slada Jugoslavije, 31, Beograd, 1976.

Krstanović V.: Tehnologija piva, Materijali sa predavanja, 2008.

Kunze W.: *Technology of brewing and malting*, 2nd revised Edition VLB, Berlin 5, 26 - 40, 104 - 105, 196 – 198, 1999.

Lalić A., Kovačević J.: Stanje i budućnost domaće proizvodnje pivarskog ječma i slada. *Svijet piva* 21, 6 – 12, 1999.

Leškoček – Čukarević I: Tehnologija piva I dio. *Slad i nesladovane sirovine* 31 – 55, 2002.

Marić V.: Tehnologija piva, Veleučilište u Karlovcu 39 – 40, 2009.

Sakač N.: Novi potenciometrijski amilazni sensor. *Disertacija*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2011.

Schuster K., Weinfurtner F., Narziss L.: Die Technologie der Wurzebereitung, 1985. Tehnologija proizvodnje sladovine. 15 – 18, 25 – 33, 236 – 243, 1988.

http://www.zemljani.com/forum/viewtopic.php?t=132&sid=4e4a754f25376e0d1a27f42e0bc2196f (20. 02. 2014., 15:50h)