

Scukrovací proces a jeho vplyv na aktivitu amylázy

IMRICH STEIN

Ú v o d.

Enzymatická hydrolyza škrobu a jeho premena v skvasiteľné cukry je jednou z najdôležitejších operácií výroby liehu zo škrobnatých surovín (zemiaky, obilniny). Enzymatické preparáty, ktoré sa k tomuto účelu používajú, sú najčastejšie z jačmeňa vypestovaný liehovarský slad, zriedkavejšie slad pivovarský alebo diastatické preparáty prichádzajúce do obehu pod rôznym označením; v poslednej dobe diastatické preparáty bakteriálneho pôvodu (pliešňové otruby, submerzná amyláza a iné).

Biologicky scukrujúce látky sú obyčajne o veľa drahšie ako surovina. Ich účelné a hospodárne využitie vyžaduje presné vyčíslenie ich hodnoty z hľadiska výroby. Doterajšie stanovenie diastatického katalyzátora, najmä v relácii k iným výrobkom, neposkytovaly však priemyslu dostatočný podklad pre ich praktické zhodnotenie.

Pretože medzi takzvanou diastatickou mohutnosťou (amylolytickou schopnosťou) scukrujúcej látky a medzi skutočným alkoholovým výťažkom získaným z scukrených zápar nebolo možné nájsť presný vzťah, výsledky neposkytovaly podklad pre vypočítanie množstva „enzymu“, resp. enzymatického preparátu, potrebného pre výrobu liehu.

Účelom tejto práce je poukázať na príčinu zlyhania doterajších skúšobných metód.

Metody stanovenia enzymatickej účinnosti diastatických preparátov v liehovarskom priemysle.

Spôsoby stanovenia scukrujúcej hodnoty enzymatických preparátov možno zatriediť v podstate do dvoch skupín podľa toho, či podkladom zistenia enzymatickej hodnoty je

1. skúmanie úbytku substrátu t. j. škrobu, alebo
2. meranie prírastku redukujúcich látok, vzniklých hydrolyzou škrobu.

Do prvej skupiny metód môžeme zaradiť stanovenia zmeny viskozity substrátu (stekujúcej schopnosti preparátu) ako napr. metódu Lintner-Sollied¹), modifikovanú Chrzaszcz a Janickým²), metódu U. Olssona³) a iné. Ďalej metódy zakladajúce sa na zistení zmeny zafarbenia substrátu jódomým roztokom, ako stanovenia erytrobodu (metóda Wolgemuthova⁴), achroobodu, metóda Samecova⁵), Sabalitschka-Weidlichova⁶), J. Blom, A. Back a B. Braeova¹⁰ a iné⁷). Z metód používaných v liehovarskej prevádzke sú to metódy Bücheler-Rüdigerova, Ellrodtova, Effrontova⁸) a Mache-rova⁹).

Z metód stanovujúcich enzymatickú účinnosť meraním vzniklého množstva redukujúcich substancií sú v liehovarskom priemysle najznámejšie a najpoužívamejšie: metóda Lintner-Wirthova¹¹), metóda Euler-Swanbergova¹²) a Lüers-Wasmundova¹³, resp. na týchto metódach zakladajúce a v rôznych obmenách sa vyskytujúce spôsoby ako metóda Windish-Kolbachova²³)¹¹), Ducháček-Žilova²⁴), Eglöfstein-Poláková¹¹), Effrontova⁸), Blom-Back Braeova¹⁰), Shermann, Kendall a Clarkova a iné¹⁴).

Veľký počet metód, ktorými sa stanovuje enzymatická účinnosť diastatických preparátov, líši sa od seba v podstate malými nuancami ako: pokusnou teplotou, spôsobom prípravy enzymatického preparátu, metódou stanovenia redukujúcich substancií (metódou Fehlingovou, Bertrandovou, Hagedorn-Jensenovou, Willstätter-Schudelovou¹⁷) atď.). Spoločným rysom všetkých metód je, že ako substrátu používajú rozpustný škrob zemiakový (prípadne arrowrotový) hlavne Lintnerov a to v koncentrácii 1—3 roztoku.

Substrát a pozorovacia doba pri stanovení enzymatického účinku diastatických preparátov.

Použitie Lintnerovho rozpustného škrobu pre stanovenie enzymatického účinku diastických preparátov nie je nahodilé. Odôvodňuje sa hlavne tým, že sa pomerne veľmi ľahko dá — napriek tomu, že jeho zloženie presne dodnes nepoznáme — pripraviť z neho roztok konvencionálne konštantných vlastností. Za rovnakých podmienok prípravy roztoku rozpustného škrobu pri jeho používaní v čerstvom stave, dá sa enzymatická účinnosť amy-lázy pomerne presne reprodukovať.

Svojim zložením zdá sa byť veľmi blízky škrobu zemiakovému, ktorý bol po parení pod tlakom v paráku liehovaru stekutený pri vysokej teplote výluhom zo sladu.

Použitie 1—3% roztoku rozpustného škrobu je odôvodnené tiež tým, že pri tejto koncentrácii roztoku bolo možné zistiť určité zákonitosti účinku amylázy na škrob, ktoré — pretože podstatu enzemu dodnes nepoznáme — umožnily študovať, reprodukovať a poznať biologický katalyzátor, ktorý v prírode a v priemysle hrá významnú úlohu.

Zákonitost priebehu enzymatickej hydrolýzy trvá len po určitú dobu. Po prekročení tejto vybočuje reakcia z rámca, do ktorého sa podarilo účinnok amylázy vtesniť. Pozorovacia doba pre stanovenie enzymatického účinku pohybuje sa medzi 30—60 min.

Keďže metódy, ktorých sa používa pre stanovenie diastatickej hodnoty scukrujúcich látok používaných v liehovarskom priemysle, zakladajú sa väčšinou na zistení prírastku redukujúcich látok, obmedzíme sa v ďalšej úvahe na kritiku týchto metód.

Z á k o n y p ô s o b e n i a a m y l á z y.

Metódy stanovenia scukrujúcej schopnosti diastatických preparátov na základe prírastku redukujúcich látok, zakladajú sa na tzv. Kjeldahlovom zákone¹⁸⁾ o proporcionalite medzi množstvom amylázy a množstvom vzniklých redukujúcich substancií a na zákonoch platných pre typické katalyzátory.

Jeden z nich popisuje empirickú skutočnosť, že pri scukrení škrobového roztoku množstvo vytvoreného cukru je úmerné množstvu prítomnej amylázy tak dlho, kým sa nevytvorilo zo 100 častí škrobu viac ako 40 dielov maltózy.

Že pri použití nie príliš veľkého množstva enzýmov, krátkej doby účinku a relatívne veľkého množstva substrátu medzi účinkom enzýmu a množstvom amylázy panuje lineárny vzťah vo smysle Kjeldahlovho zákona, bolo z rôznych strán, rôznymi autormi potvrdené. Platnosť tohto pre rozpustný škrob bolo potvrdené Lintner-Eckartom¹⁹⁾. Modernou metódikou preskúmali a potvrdili platnosť zákona Lüers a Wasmund(l. c.), ktorí našli, že medzi reakčnou rýchlosťou a množstvom enzýmu pri optimálnom pH a teplote 20°, a keď počiatočná hodnota koeficientu reakčnej rýchlosti k neprevyšuje hodnotu 0.002—0.04, proporcionalita jestvuje.

Po mnohých pokusoch podarilo sa vypracovať pokusné podmienky, za ktorých hydrolýza škrobového roztoku sladovou amylázou prebeháva ako reakcia monomolekulárna. Za týchto podmienok hydrolýzy množstvo v roztoku prítomných hydrolyzovaných molekúl škrobu je proporcionálne koncentrácii nerozložených škrobových molekúl. Tento vzťah platný len v zriedených roztokoch vyjadruje sa diferenciálnou rovnicou.

$$(1) \quad \frac{dx}{dt} = k(a-x)$$

v ktorej x rovná sa množstvu maltózy vzniklej za dobu t , a a rovná sa počiatočnej koncentrácii maltózy, k rovná sa monomolekulárnej konstante reakcie znázorňujúcej scukrenie. Integrovaním diferenciálnej rovnice môže sa vyčísliť hodnota k a obdrží sa matematický popis reakčného mechanizmu hydrolýzy škrobu.

$$(2) \quad k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

v ktorom x rovná sa množstvu maltózy, ktoré vzniklo za dobu t

Tento popis hydrolýzy škrobu je platný len pre počiatočný štádium reakcie. Po dosiahnutí určitej hranice (40% maltózy) objavujú sa reakčnú rýchlosť spomalujúce faktory, vplyvom ktorých priebeh reakcie vybočuje z rámca monomolekulárneho priebehu.

Abý vzorec monomolekulárnej reakcie mohol sa upotrebiť pre stanovenie amylolytickej hodnoty cukrujúcých preparátov, je treba dodržať určité pokusné podmienky.

Podmienky monomolekulárneho priebehu hydrolýzy škrobového roztoku.

Pri stanovení enzymatickej hodnoty diastatických preparátov pomocou koeficientu reakčnej rýchlosti k , je treba dodržať nasledovné podmienky pokusu, aby hydrolýza škrobu prebehla monomolekulárne:

Podľa Euler-Swanberga (1. c.): Pri teplote pokusu 37° a fosfátovým regulátorom na pH: 5,0 upraveného reakčného prostredia koncentrácia substrátu smie sa pohybovať medzi 0,72—2,8% Lintnerovho rozpustného škrobu. Množstvo enzymu je treba tak voliť, aby hodnota konstanty reakčnej rýchlosti pohybovala sa v medziach $k = 0,004—0,08$.

Podľa Lüers-Wasmunda (1. c.): Pri pokusnej teplote 20° a pH:4,9, koncentrácia substrátu môže sa pohybovať medzi 0,75—6% Lintnerovho rozpustného škrobu. Keď konstanta reakčnej rýchlosti k pohybuje sa medzi 0,002 až 0,04 je rýchlosť hydrolýzy škrobu približne priamo úmerná koncentrácii enzymu, takže z viacerých stanovení určená stredná hodnota reakčnej rýchlosti k môže sa použiť pre vyjadrenie amylolytickej schopnosti sladovej amyldázy¹³). Každá zmena pokusných podmienok, — okrem zmeny pH — teda napr. zmena koncentrácie alebo zloženia substrátu, zmena reakčnej teploty, zmena pomeru enzymu k substrátu, má za následok zmenu typu reakcie. Proces hydrolýzy škrobu prestáva byť monomolekulárny a k prestáva byť výrazom aktivity enzymu.

Vyjadrenie enzymatickej schopnosti diastatických preparátov.

Na základe týchto poznatkov navrhli Euler a Swanberg (1. c.) vyjadriť cukrujúcu schopnosť preparátov amyldázy pomerom

$$Sf = \frac{k \cdot g. \text{ maltóza}}{g. \text{ preparátu}}$$

v ktorom cukrujúca schopnosť Sf rovná sa strednej hodnote z viacerých stanovení vypočítanej hodnoty koeficientu reakčnej rýchlosti k , podľa ktorej sa asi polovica škrobu v roztoku cukruje, g maltóza rovná sa množstvu maltózy v gramoch, ktorá sa pri

priebehu reakcie maximálne môže vytvoriť, t. j. 75—80% použitého množstva škrobu, g preparát rovná sa sušine použitého preparátu. k stanovuje sa pri teplote 37° pH: 5,0 (optimum účinku amylázy sladu) v roztoku rozpustného škrobu koncentrovaného 0,72—2,8% za použitia takého množstva enzymatického preparátu že hodnota k pohybuje sa v medziach 0,004—0,08.

Lüers-Wasmund (1. c.) navrhli vyjadriť scukrujúcu schopnosť pomerom.

$$Fz = \frac{k \cdot g \text{ škrobu}}{g \text{ sušiny enz. preparátu}}$$

Tu znamená k strednú hodnotu koeficientu reakčnej rýchlosti

$$k = \frac{l}{t} \ln \frac{a}{a-x}$$

ktorý sa zistil z viacerých stanovení v 3% roztoku rozpustného škrobu pri teplote 20°, g škrobu rovná sa množstvu, ktoré sa maximálne môže scukrovať, t. j. 75% z 3 g = 2.25 g a g enzymatického preparátu je množstvo sušiny, ktoré spôsobilo na 100 cm³ 3% roztoku. Hodnota k musí sa pohybovať v medziach 0,002—0,04.

Medzi oboma metódami nie je podstatného rozdielu až na použité pokusné teploty scukrenia. Rozdiely v hodnotách k vzniklých následkom odlišných teplôt vyrovnávajú sa tým, že Lüers a Wasmund používajú pre vyjádrenie výrazu k logaritmus naturálny a Euler-Swanberg logaritmus dekadický.

Willstätterom a jeho spolupracovníkmi zavedené merítka a jednotky enzymatického účinku (Enzymmaasse, Enzymeinheiten) v technológii nezdomácnely, preto ich tu ani neuvádzame a odkazujeme čitateľa na príslušnú literatúru¹⁶).

Merítkom enzymatickej aktivity je hodnota koeficientu reakčnej rýchlosti k , ktorá sa stanovila za presne určených pokusných podmienok.

Metódy, ktorými sa v technológii stanovuje amylolytická aktivita diastatických preparátov, u ktorých pokusné podmienky sú tak úpravené, že ako substrátu používajú rozpustný zemiakový škrob v 1—3%-nej koncentrácii pri optimálnom pH a teplote, a pomer enzemu k substrátu je upravený tak, aby reakcia v priebehu jednej hodiny alebo kratšej doby nevybočila z rámca monomolekulárnej reakcie, zakladajú sa alebo na metóde Euler-Swanbergovej alebo Lüers-Wasmundovej.

Vedecké metódy stanovenia scukrujúcej hodnoty enzymatických preparátov, pre technologické účely sa prepracovali do prístupnejšej formy. Ich súvislosť s nimi vyplýva z krátkeho rozboru niektorých v priemysle najčastejšie používaných metód.

V liehovarskom priemysle najčastejšie používané metódy stanovenia hodnoty scukrujúcich látok.

Najstaršia a dnes ešte hojne používaná je metóda Lintnerova²¹⁾ upravená Wirthom²²⁾. Pri tejto metóde pôsobí enzymatický roztok o známej sušine 30 minút pri teplote 20° na 100 cm³ 2%-ného regulovaného roztoku Lintnerovho škrobu. Diastatická mohutnosť vyjadruje sa množstvom maltózy, ktorá vznikla pôsobením 100 g sušiny enzymatického preparátu za uvedených pokusných podmienok a udáva sa v tzv. Lintnerových jednotkách. Pre použitú pokusnú teplotu má táto metóda vzťah k metode Lüers-

Wasmundovej. Konstanta reakčnej rýchlosti $k = \frac{l}{30} \ln \frac{a}{a-x}$ kde a rovná sa 75% z 2.000 mg škrobu (t. j. 1.500 mg maltózy) a x rovná sa množstvu maltózy, ktoré vzniklo za 30 minút.

Pri metóde Windisch-Kolbachovej²³⁾, alebo Ducháček-Žilovej²⁴⁾ používa sa 5—10 cm³ enzymatického roztoku, ktorý sa pripravil polhodinovým rmutovaním z 20 g jemne šrotovaného sladu s 500 cm³ vody pri teplote 50° vo vodnej kúpeli a dovážením obsahu na 525 g. Z takto pripraveného výluhu pôsobí 5 cm³ na 100 cm³ 2%-ného regulovaného roztoku Lintnerovho rozpustného škrobu pri teplote 20° po dobu 30 minút a po zastavení enzymatickej činnosti prísadou 3 cm³ n-NaOH doplní sa obsah na 200 cm³. V 50 cm³ scukreného roztoku stanoví sa maltóza jodometricky metódou Willstätter-Schudelovou. Podmienky pokusu musia byť upravené tak, aby minimálna spotreba jódu obnášala 6 cm³ a maximálna 12 cm³ n/10⁰ jódového roztoku, čo odpovedá 102,6—205,2 mg maltózy z 500 mg škrobu obsaženého v 50 cm³ roztoku. Hydrolýza škrobu musí sa pohybovať v rámci proporcionality zákona Kjeldahlova, v danom prípade v medziach 27,5—54% teoretickej maltózy.

Podľa tejto metódy je amylolytická aktivita preparátu vyjadrená hodnotou koeficientu monomolekulárnej reakcie pre dobu 30 minút: $k = \frac{l}{30} \ln \frac{a}{a-x}$ násobená stupňom zriedenia a prepočítaná na 100 g sušiny. V technológii udáva sa ako diastatická mohutnosť v jednotkách Windisch-Kolbachových alebo Ducháček-Žilových.

Podobne dajú sa explikovať aj iné metódy stanovujúce amylolytickú schopnosť v 2% škrobovom roztoku.

Kritika doterajších metód

Nedostatky dnešných metód stanovenia enzymatického účinku diastatických preparátov pociťovali sa hlavne v technológii výroby liehu. Hodnoty amylolytickej schopnosti akýmkoľvek dnes známym spôsobom stanovené neposkytovaly liehovarskej praxi

možnosť určiť potrebu sladu alebo iného preparátu pre scukrenie známeho množstva spracovať sa majúceho škrobu, lebo medzi zistenou scukrujúcou schopnosťou a skutočným alkoholovým výťažkom neexistoval presný vzťah. V akejkolvek forme vyjadrená scukrujúca schopnosť (jednotky diastatickej mohutnosti) umožnila jedine porovnať enzymaticko-chemické vlastnosti jednotlivých preparátov medzi sebou bez ohľadu na ich skutočnú hodnotu.

Ďalším citeľným nedostatkom dnešných metód je tá skutočnosť, že keď scukrujúca schopnosť (aktivita) enzymatického preparátu nespĺňa predpoklady zákonitého priebehu hydrolýzy, ktoré sú základom pre výpočet diastatickej hodnoty (napr. roztok enzymatického preparátu spotrebuje menej ako $6 \text{ cm}^3 \text{ n}/10$ roztoku jódu, čiže $k < 0,002$, amylytickú schopnosť je veľmi ťažko stanoviť.

Na nedostatky metód stanovenia enzymatického účinku a ich vzťahu k alkoholovej výťažnosti upozornili už Thorne, Emerson, Olson a Peterson²⁵⁾ u sladov a H. D. Rease, J. D. Fulmer a L. A. Underkofler²⁶⁾, u pliesňových amyláz.

V nasledovnej tabuľke zostavené údaje vlastných pokusov dopĺňujú a potvrdzujú, že nejedná sa o dosiaľ početne ovládateľný

Tabuľka 1.

Súvislosť diastatického účinku a alkoholového výťažku z scukrenej záparty kukuričnej.

Preparát	diastatická mohutnosť 100 g. látky podľa metódy Windish- Kolbacha	Množstvo diast. jednotiek použitých pre scukrenie 14,55 g kukurič- ného šrotu d. j.	Alkoholový výťažok zo škrobu po odčítaní korekcií	Liehová výťaž. diast. jednotky
	d. j.	d. j.	1%	
Svetlý hvozdený slad pivovarský	232,56	2,79	57,73	20,69
Svetlý hvozdený slad pivovarský	232,56	1,39	50,30	36,18
Svetlý hvozdený slad pivovarský	232,56	0,69	36,90	53,48
Svetlý hvozdený slad pivovarský	232,56	0,35	38,48	109,94
Pšeničný šrot	248,63	2,98	25,50	8,55
Ražný šrot	243,11	2,92	29,85	10,22
Jačmenný šrot	207,87	2,49	23,06	9,26
Ovosný šrot	33,10	0,40	25,04	62,60
Scukrovací preparát I.	204,86	2,46	50,17	20,39
Scukrovací preparát II.	230,0	2,76	52,37	18,97
Scukrovací preparát III	54,21	0,65	47,90	73,69
Scukrovací preparát IV.	169,13	2,03	58,75	28,94
Scukrovací preparát V.	226,92	2,72	45,59	16,76

vzťah medzi enzymatickým účinkom a alkoholovými výťažkami, získanými zo scukrenej zápary kukuričnej diastatickými preparátmi.

Príčiny zlyhania doterajších metód.

Stanovenie hodnoty enzymatických preparátov dnešnými skúšobnými metódami v podstate predstavuje pokus z aktivity amylázy zistenej za pokusných podmienok panujúcich v určitom reakčnom prostredí usudzovať na účinnosť enzemu v milieue, ktoré sa od tohto značne líši. Takáto aplikácia jedného poznatku na druhý sa síce mnohokrát osvedčila, v danom prípade však zlyhala.

V liehovarskej technológii je amyláza postavená — zhruba — pred nasledovný úkol: Hydrolyzovať biologickou cestou stekutený koncentrovaný škrobový roztok pri vyššej teplote a vzniklé zbytky pochodu, dextríny, scukrovať za prítomnosti kvasníc pri nižšej teplote. Prvá fáza pochodu prebiehá pomerne veľmi rýchle, druhá fáza relatívne veľmi pomaly. K dokonalej premene škrobu v skvasiteľné látky je prítomnosť dostatku účinného enzemu po celú dobu procesu bezpodmienečne potrebná. Nedostatok amylázy má za následok neúplnú konverziu škrobu v maltózu a tak nehospodárne využitie surovín pre výrobu liehu.

Z uvedeného vyplýva, že prostredie a podmienky účinku amylázy v liehovarských záparách líšia sa od pokusných podmienok, zpravidla používaných pre zistenie účinku amylázy v skúšobných metódach, v nasledovnom:

1. v koncentrácii substrátu;
2. v teplote, pri ktorej amyláza pôsobí;
3. v koncentrácii enzemu resp. pomere enzemu k substrátu;
4. v složení substrátu;
5. v prítomnosti kvasníc v substráte.

Zo známych činiteľov, ktoré účinok amylázy môžu ovplyvňovať ako o pH, o vplyve produktov hydrolýzy na účinok amylázy, o rôznych možnostiach ovplyvnenia účinku fyzikálnechemickými a koloidnechemickými vplyvmi jednak pre ich relatívne menší význam a jednak pre ich nedokonalú znalosť, nebudeme sa špeciálne zapodievať. Naproti tomu je dôležité dokázať, že príčinou zlyhania skúšobných metód sú rozdiely medzi složením prostredia a podmienkami pôsobenia pri laboratórnom stanovení enzymatickej hodnoty a medzi tými reakčnými podmienkami, pri ktorých diastatické preparáty pôsobia v priemyselnej praxi.

V nasledovnom rozvedieme hlavné príčiny nedostatkov dnešných skúšobných metód.

1. Koncentrácia substrátu a jej vplyv na aktivitu amylázy.

Liehovarské zápary pripravené parením pod tlakom alebo rozvarením škrobnatých surovín a stekutené biologickým činidlom

(sladom alebo pliesňovou amylázou) sú roztokom stekuteného škrobu, ktorého koncentrácia pohybuje sa podľa hustoty pripravených zápar (14°—20° Bg) medzi 12—18% škrobu. Okrem celého radu sprievodných látok rastlinného škrobu (bielkoviny, tuky, buničina a iné) prítomné fosfáty, ktoré fungujú ako regulátory (pufry), upravujú aciditu zápary na pH ca 6,0—5,9²⁷).

Stekutený a na príslušnú teplotu scukrenia schladený roztok rozpusteného škrobu (zápary), scukruje sa pri teplote pohybujúcej sa medzi 50°—60° s takým množstvom vodnej suspenzie rozomletého enzymatického prostriedku (napr. sladové mlieko, pliesňové otruby alebo iné diastatické preparáty), ktoré sa v praxi ukázalo byť nezbytné potrebným pre dokonalé využitie spracovaných surovín na výrobu liehu, teda pre dokonalé scukrenie škrobu.

Pomer enzymu k substrátu v liehovarskej praxi nie je tedy diktovaný potrebou usmerniť priebeh hydrolýzy do určitého známeho rámca (monomolekulárnej formy) ale hospodárskou nutnosťou.

Prísadou scukrujúceho prostriedku upraví sa acidita zápary na pH 5,12—5,3²⁷), takže amyláza nachádza síce pH, ktoré sa všeobecne považuje za optimálne, nevie sa však, či toto pH je optimálne i pri teplote 50°—60° a za prítomnosti smesi látok uvedených parením za vysokého tlaku zo surovín do roztoku.

Pre štúdium pochodov prebehávajúcich v praxi bolo dôležité upraviť laboratórne pokusy tak, aby sa čo najviac podobaly reakčným podmienkam v prevádzke. Orientačné pokusy ukázaly, že pre reprodukciu pomerov panujúcich v liehovarských záparách je nasledovne upravená metodika vhodná:

M e t o d i k a :

Príprava štandardného substrátu: 12% škrobový roztok pripravil sa tak, že 146,3 g zemiakového škrobu (18,02% vody t. j. 120 g absolútneho škrobu) smiešalo sa s 300 cm³ obyčajnej vody a so 100 cm³ 2% roztoku enzymatického preparátu „Bioláza N. extra“ zahrialo sa vo vodnej kúpeli na 65° a stekutilo 30 minút pri tejto teplote. Roztok sa premiesol do autoklávu, v ktorom sa litrová baňka s obsahom uvedenej tekutiny ponorila do vody predohriatej na 65°. Behom 30 minút zahriol sa obsah autoklávu k varu, uzavrel a prívod tepla sa reguloval tak, aby od dosiahnutia 0,5 atm. počítajúc, behom 30 minút sa dosiahlo tlaku 2 atm. Prívod tepla sa na to zastavil a po 30 minút trvajúcim parení vyrovnaním tlaku s atmosferickým sa obsah pareného škrobu preliol do 1 litrovej odmernej baňky, do ktorej sa pridalo 60 cm³ fosfátového regulátoru o pH: 5,5 a po schladení na laboratórnu teplotu doplnil sa obsah na 1 liter. Za účelom odstánenia zvyškov biolázy a iných nečistôt sa roztok zfiltraval.

Spec. váha roztoku obnáša 1,0508 t. j. 12.48° Bg, t. j. 13,11% extraktu.

(Práškovitý enzymatický preparát bioláza N-extra pred vojnou vyrábala fa Kalle u. Co., Wiesbaden, pre odšlichtovanie v textilnom priemysle. Zdá sa byť amylázou bakteriálneho pôvodu (*bac. mesentericus*²⁸) s veľkou stekucujúcou a malou scukrujúcou schopnosťou. Podľa metódy Lintner-Sollied stanovená stekucujúca schopnosť rezultovala, že 1 g biolázy stekutílo 909,09 g škrobu. Z 500 mg rozpustného škrobu v 2% roztoku vytvorilo 0,01 g biolázy 104,9 mg matlázy = 27,97% teoret. maltózy resp. odbúrало 20% škrobu pri teplote 37° zadobu 30 min.)

Takto pripravený substrát v 2% koncentrácií z hľadiska enzymatickochemického svojim složením sa nelíši od 2% roztoku rozpustného škrobu Lintnerovho, ako to z nasledovného pokusu vyplýva.

Tabuľka 2.

I. 25,0 cm³ 2% roztoku rozp. škrobu Lintnerov + 9,0 cm³, fosfátový regulátor pH: 5.5 + 1 cm³ sladový výluh 10%-ný + 1 cm³ dest. vody. Celkové množstvo reakčnej smesi 36,0 cm³.

II. 25,0 cm³ 2% roztoku zemiak. škrobu stekuteného biolázou (pripravený vyššie uvedeným spôsobom) + 9,0 cm³ fosfátového regulátoru pH: 5.5 + 1 cm³ sladového výluhu (uvedeného pod I.) 1,0 cm³ dest. vody. Celkové množstvo reakčnej smesi 36,0 cm³.

t° scukrenia 60°, titrované 2,0 cm³ v 20 cm³ n/10 jedového roztoku podľa metódy Willstätter-Schudelovej za použitia mikrobyrety. Korekcie sú odčítané.

Pokusná doba min. hod.		I. rozp. škrob. Lintner			II. Biolázou stekutený škrob		
		z 500 mg škrobu vytvorená maltoza mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorená maltoza mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
10	—	292,96	0.05727	73.24	293.34	0.05739	73.33
20	—	342.20	0.04200	80.55	344.67	0.04296	86.17
30	—	371.14	0.03805	92.78	364.37	0.03500	91.09
45	—	374.52	0.02655	93.63	377.61	0.02782	94.40
60	—	387.45	0.02505	96.86	387.45	0.02505	96.86

Hydrolyza biolázou stekuteného škrobu výluhom pivovarského sladu dáva podobné výsledky.

Z týchto rezultatov dá sa vyvodzovať, že z hľadiska enzymatického roztoku medzi roztokom rozpustného škrobu Lintnerov-

ho a škrobu stekuteného bioláziou nie je takmer žiadneho rozdielu. Preto pre reprodukciu substrátu v priemyselnej praxi (liehovarských zápar) použili sme vyššie opísaným spôsobom pripravený substrát.

Príprava enzymatického preparátu: Z jednotlivých diastatických preparátov pripravil sa výluh o koncentrácii a vlastnostiach, ktoré sú uvedené v jednotlivých tabuľkách, jednohodinovým rmutovaním obyčajnou vodou pri teplote 37° vo vodnom kúpeli a dovážaním na primeranú koncentráciu. Výluhy sa siftovaly do čira.

Stanovenie scukrujúcej schopnosti enzymatických preparátov:

Pre stanovenie scukrujúcej schopnosti preparátov použilo sa podľa potreby alebo metódy Euler-Swanbergovej, alebo priebeh hydrolýzy sa vyjadril množstvom vzniklej maltózy. Maltóza stanovila sa metódou Willstätter-Schudelovou (1. c.). *Korekcie:* t. j. množstvo n/10 jódového roztoku, ktoré absorbovaly roztok škrobu a roztok enzymatického preparátu stanovily sa spôsobom, ktorý sa podobal stanoveniu maltózy v hlavnom pokuse.

Príprava 2% škrobového roztoku: diala sa známym spôsobom. Bližšie opisy sú uvedené pri jednotlivých tabuľkách.

Pre štúdium vplyvu koncentrácie substrátu na priebeh hydrolýzy použil sa zelený slad, z ktorého sa pripravil 10 alebo 20% výluh, vyššie uvedeným spôsobom.

Enzymatická hodnota výluhu stanovila sa metódou Euler-Swanbergovou tak, že sa najprv určila maximálna odbúracia schopnosť (Grenzabbau) a potom diastatická schopnosť podľa vzorca $S_f = \frac{k \cdot g \text{ maltóza}}{g \text{ preparátu}}$ do ktorého na miesto sušiny sa dosadil extrakt vypočítaný zo spec. váhy výluhu určenej pyknometricky násobnei stupňami Bg. Teplota scukrenia 37°

Tabuľka 3.

Stanovenie hraničnej hodnoty odbúracej schopnosti sladu (I) a amylolytického účinku sladu (II).

Enzymatický preparát: 10% výluh pripravený pri 37°/60 min. spec. váha: 1.014, °Bg: 2.6° Celkový extrakt: 2.63 v. %. Substrát I : 25.0 cm³ 2% roztoku rozp. škrob. Lintn. + 1.0 cm³ fosfát regul. pH : 5.5 + 10.0 cm³ slad.výluhu. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³. Teplota scukrenia: 37°.

Substrát II : 25.0 cm³ 2% rozt. rozp. škrob. Lintner + 9.0 cm³ fosfát. regul. pH 5.5 + 1.0 cm³ slad. výluh + 1.0 cm³ dest. vody. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm. Teplota scukrenia 37°.

Titrované podľa W. Sch. 2.5 cm³ reakčnej smesi v 20 cm³ n/10 jod. roztoku za použitia mikrobyrety. Príslušné hodnoty za korekcie sú z údajov odčítané.

Pokusná doba min. hod.		I.			II.		
		z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = 1/t \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	maltóza teoretická %	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = 1/t \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
10	—	373.25	—	93.31	79.67	0.0097	19.91
20	—	394.42	—	98.60	175.00	0.0125	43.75
30	—	421.06	—	105.26	249.31	0.0143	62.32
45	—	442.23	—	115.56	315.55	0.0150	78.88
—	24	403.10	—	100.78	436.97	—	109.24

stredná hodnota $k = 0.0128$
 $Sf = 0.1947$.

Z tohto zostavenia vyplýva, že priebeh hydrolyzy škrobového roztoku za vhodne volených pokusných podmienok prebieha približne v rámci monomolekulárnej reakcie (tab. 3. II.). Koeficient reakčnej rýchlosti k mal by udať jednotky amylázy v množstve sladového výluhu použitého v pokuse a $Sf =$ množstvo jednotiek v celkovom extrakte. Pomer substrátu k enzymatickým jednotkám je vyjadrený hodnotou $k/500$, čiže $\frac{0,0128}{500}$

Z pokusu I. uvedeného v tabuľke 3., vyplýva, že za prítomnosti nadbytku enzýmu reakcia nie je monomolekulárna. Maximálneho výkonu dosiahne sa už na začiatku reakcie a priebehom ďalšieho seukrenia je prírastok na maltóze relatívne nepatrný. Konstanta reakčnej rýchlosti z monomolekulárnej reakcie nie je použiteľná pre vzorec Euler-Swanberga, resp. Lüers-Wasmunda za účelom vypočítania aktivity enzýmu, pretože sa prekročila hranica, v ktorej aktivita enzýmu je ešte proporcionálna množstvu sladového výluhu. (Zákon Kjeldahov). Pomer substrátu k enzymatickým jednotkám môže sa udať len aproximatívne číslom $\frac{10.k}{500} = \frac{0,128}{500}$

Z vlastností substrátov uvedených v tab. 2. dá sa usudzovať, že odbúracia hranica biolázou steakuteného 12% škrobového roztoku, dosiahnutá pri vyššej teplote, dosiahla by sa s primerane veľkým množstvom amylázy i pri nižšej teplote. Preto v ďalších výpočtoch bude sa počítať s odbúracou hranicou 80% škrobu, ktorú považujeme za 100% teoret. maltózy.

Priebeh amyrolýzy v koncentrovanom škrobovom roztoku pri teplote 37°.

Poznanie priebehu hydrolyzy v koncentrovanom škrobovom roztoku vyžadovalo, aby sa vplyv vyššej teploty na aktivitu amylyzy z pokusu vylúčil. Preto zvolila sa teplota scukrenia 37° a 30° o ktorých sa predpokladá, že prakticky neovplyvňujú aktivitu enzymu.

Tabuľka 4.

Priebeh amyrolýzy v koncentrovanom škrobovom roztoku pri teplote 37°

Pokus I.: *enzymatický materiál*: 10% výluh sladu pripravený pri 37° a 60 min. vyše uvedeným spôsobom,
Substrát: 150 cm³ 12% škrob. ako vyššie + 100 cm³ slad. výluhu (10%).

Pokus II.: *enzymatický materiál*: 20% výluh sladu pripravený pri 37° a 60 min. vyše uvedeným spôsobom.
spec. váha: 1.0235 = 5.88 °Bg. Celkový extrakt: 6.02 vah. %.
Substrát: 150 cm³ 12% škrob. roztoku regulovaný na pH: 5,5 fosfátovým regulátorom + 100 cm³ sladového výluhu (20 %).

Celkové množstvo reakčných smesi 250 cm³. Teplota scukrenia 37°

Titrované podľa W. Sch.: 2.5 cm³ reakčnej smesi v 20 cm³ n/10 jod. roztoku za použitia mikrobyrety. Hodnoty príslušných korekcií sú z uvedených údajov odčítané.

Pokusná doba min. hod.		I. (10% sladový výluh)			II. (20% sladový výluh)		
		z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
10	—	184.6	0.0269	46.15	242.2	0.0404	60.55
20	—	249.1	0.0212	62.27	272.9	0.0249	68.22
30	—	268.5	0.0161	67.12	286.2	0.0182	71.55
45	—	282.3	0.0118	70.58	299.1	0.0133	74.78
—	20	441.3	—	110.32	440.8	—	110.20

Pokusy potvrdzujú známy poznatok, že priebeh hydrolyzy v koncentrovanom roztoku nie je monomolekulárny. Následkom toho koeficient reakčnej rýchlosti nevyjadruje aktivitu enzymatického preparátu. Hodnota *k* priebehom reakcie klesá.

Rozdiely v hodnotách k , ktoré sa v prvých 10 minútach účinkom 10 a 20% sladového výluhu prejavujú, sa postupne vyrovnávajú a na konci reakcie vznikajú maltózy sú rovnaké. Ako koefvek dvojnásobne koncentrovanejší roztok sladu nemusí obsahovať, najmä keď sa výluhy od seba zvlášť pripravily, práve dvojnásobné množstvo aktívnej amylázy, určite však obsahujú viac enzymu, ako množstvo, ktoré udáva stredná hodnota koeficientu reakčnej rýchlosti, resp. z týchto vypočítaná diastatická mohutnosť S_f .

Podobný obraz skýta priebeh hydrolýzy pri teplote 30° ako to z nasledovného zostavenia vyplýva.

Tabuľka 5.

Priebeh amylolýzy v koncentrovanom škrobovom roztoku pri teplote 30°

I: 10% výluh, II: 20% výluh. Nasadené podľa opisu uvedeného v tabuľke 4.

Pokusná doba min. hod.		I. (10% sladový výluh)			II. (20% sladový výluh)		
		z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = 1/t \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = 1/t \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza %
10	—	134.5	0.0178	33.63	218.1	0.0342	54.53
20	—	224.1	0.0178	56.03	258.6	0.0226	64.65
30	—	253.8	0.0146	63.45	267.3	0.0160	66.83
45	—	274.8	0.0112	68.70	288.1	0.0123	72.03
—	20	441.6	—	110.40	444.9	—	111.23

k stred.: 0,0154
 S_f 0,0843

k stred.: 0,0213
 S_f 0,0509

Ani pri nižšej teplote scukrenia (tab. 5.) priebeh reakcie nie je monomolekulárny a hodnota k alebo S_f nie je primeraným výrazom pre aktivitu enzymatického preparátu. Pretože teplota ako faktor ovplyvňujúci enzymatickú reakciu je v pokusoch uvedených v tab. 4. a 5. relatívne vylúčený, zapríčiňuje zmenu typu reakcie len koncentrácia substrátu.

Charakteristickým zjavom pre priebeh hydrolýzy v koncentrovanom škrobovom roztoku je veľká počiatočná rýchlosť, resp. relatívne veľké množstvo maltózy, ktoré vzniklo v prvých minú-

tach scukrenia. V tejto fáze ukazuje sa určitá proporcionalita medzi množstvom amylázy a množstvom vzniklej maltózy. V ďalšom priebehu reakcie sa rozdiely vyrovnávajú a na konci reakcie z množstva vzniklej maltózy nie je možné usudzovať na aktivitu enzymatického preparátu.

Z uvedených pokusov vyplýva, že jednou z príčin zlyhania metód, ktorými sa dnes stanovuje enzymatická hodnota diastatických preparátov je skutočnosť, že priebeh hydrolýzy škrobu v koncentrovaných roztokoch nie je monomolekulárny.

2. Priebeh amylolýzy v koncentrovanom škrobovom roztoku pri vyššej teplote.

V liehovarskej prevádzke scukrujú sa záparý pri teplote ležiacej medzi 50—60°. Všeobecná mienka o škodlivosti vyššej teploty na aktivitu amylázy, uvádzaná v odbornej literatúre²⁹⁾ zakladá sa na chovaní sa sladovej amylázy pri vyššej teplote v rôznom pracovnom prostredí, hlavne však vo vodnom výluhu. Prítomnosť škrobu, resp. reakčných produktov hydrolýzy zvyšuje vzdornosť enzýmu proti škodlivým vplyvom vyššej teploty³¹⁾.

Pretože prítomnosť ochranných látok v koncentrovaných liehovarských záparách (škrob, maltóza, aminokyselina a iné) je nesporné, zdá sa byť pravdepodobné, že inaktivujúci vplyv vyššej teploty na amylázu, uvádzaný v liehovarskej literatúre, býva preceňovaný.

Vplyv teploty na rýchlosť priebehu hydrolýzy vyjadruje sa obvyčajne pomerom hodnôt koeficientov reakčnej rýchlosti, ktoré sa určily pri rôznych teplotách. Zrýchlenie priebehu hydrolýzy zvýšením teploty o 10° vyjadruje sa koeficientom teploty $Q^{10} = \frac{kt + 10}{kt}$ (kt = koeficient monomolekulárnej reakcie určený pri teplote kt , resp. $kt + 10^\circ$).

Zdalo sa, že príčinou zlyhania skúšobných metód stanovenia hodnoty diastatických preparátov spočíva hlavne v rozdielu medzi teplotou 2% škrobového roztoku, ako substrátu metód, a medzi teplotou scukrenia v liehovarskej praxi. Avšak ani metódy, ktoré tento rozdiel medzi praxou a laboratórnymi metódami zvýšením teploty substrátu pri stanovení enzymatickej hodnoty mienili preklenúť, neposkytli očakávané výsledky. Z toho bolo zjavné, že nie teplota, ale iné faktory zapríčiňujú diskrepanciu medzi skúšobnými metódami a praxou.

V tab. 6. zostavené výsledky potvrdzujú domnienku, že teplota síce je tiež jednou z príčin vybočenia z rámca monomolekulárnej reakcie, avšak rozhodne nie tou primárnou.

Tabuľka 6.

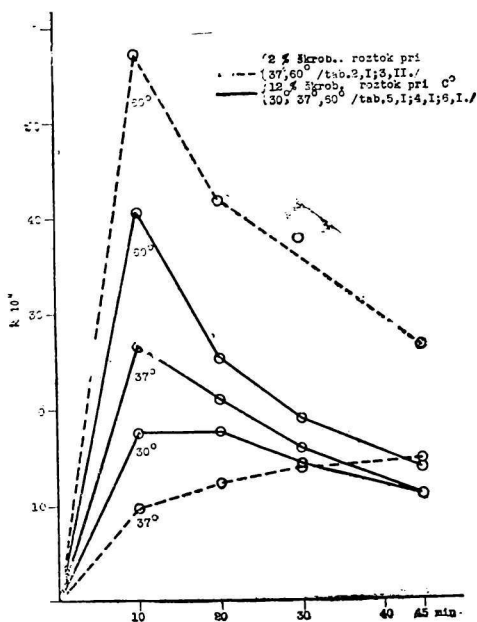
Priebeh amylolýzy v koncentrovanom škrobovom roztoku pri teplote 60°

I: 10% výluh, II: 20% výluh. Nasadené podľa opisu uvedeného v tabuľke 4. Enzymatický výluh pripravil sa zo sladu použitého vo vyššie uvedených pokusoch.

Pokusná doba min. hod.		I. (10% sladový výluh)			II. (20% sladový výluh)		
		z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = 1/t \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = 1/t \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
10	—	243.5	0.0408	60.88	291.4	0.0566	72.85
20	—	275.8	0.0254	63.95	311.0	0.0326	77.75
30	—	292.1	0.0190	73.03	329.4	0.0251	82.35
45	—	306.5	0.0140	76.63	339.1	0.0182	84.78
—	20	397.1	—	99.28	438.2	—	109.55

k stred: 0,0248
 $S_f = 0,1357.$

k stred: 0,0331
 $S_f = 0,0791.$



Obraz 1.

Z uvedeného zostavenia (tab. 6.) vyplýva, že následkom vyššej teploty počiatočná rýchlosť hydrolýzy škrobu sa stupňuje a úmerne množstvu vzniklej maltózy sa v ďalšom priebehu snižuje. Koeficient reakčnej rýchlosti k , práve tak ako S_f nie je už výrazom aktivity amylázy. Na konci reakcie bez ohľadu na koncentráciu použitého sladového výluhu vzniklé množstvá maltózy sú takmer rovnaké. Preto sa nezdá, že vyššia teplota za použitých pokusných podmienok by inhibovala aktivitu amylázy,

Vplyv koncentrácie substrátu a teploty na priebeh hydrolýzy škrobového roztoku v porovnaní s priebehom scukrenia v dvoj-percentom škrobovom roztoku pri teplote $37-60^\circ$ je reprodukováný v obr. 1.

Deformácia krivky znázorňujúcej monomolekulárny priebeh hydrolýzy ukazuje rozdiel hydrolýzy škrobu koncentrovaného a zredeného roztoku.

3. Koncentrácia enzýmu, pomer enzýmu k substrátu.

Keď koncentrácia enzýmu, resp. pomer enzýmu k substrátu je upravený tak, že sa pohybuje v určitých hraniciach, aktivita amylázy sa dá vyjadriť hodnotou koeficientu reakčnej rýchlosti k a údajmi, resp. jednotkami, ktorých výpočet sa zakladá na hodnotách k , Súvislosť medzi množstvom amylázy, koeficientom reakčnej rýchlosti k s hodnotou S_f za dodržania požadovaných pokusných podmienok vyplýva z pokusu, uvedeného v nasledovnej tabuľke.

Z uvedeného zostavenia vyplýva, že hodnoty k a S_f vyjadrujú aktivitu amylázy len za určitého pomeru enzýmu k substrátu a len za zvlášť upravených pokusných podmienok, pri ktorých hydrolýza škrobu prebeháva ako reakcia monomolekulárna (tab. 7., I). Akonáhle sa podmienky pre monomolekulárny priebeh zmenia (napr. pokusná teplota tab. 7. II., alebo pomer enzýmu k substrátu), zlýhajú metódy stanovujúce enzymatický účinok na základe monomolekulárnej reakcie a z týchto vyplývajúcich hodnôt k a S_f .

Tabuľka 7.

Enzymatický roztok: 10% sladový výluh pripravený 1 hod. rmutovaním pri $t^\circ = 37^\circ$ Spec. váha: 1,0131 = 3.28⁰ Bg. Celkový extrakt 3.32%. Ďalšie roztoky pripravily sa zredním vodou.

Hlavný pokus: 25.0 cm³ 2% škrob. rozt. Lintn. + 9.0 cm³ fosfát. regulátor pH: 5.48 + 2.0 cm³ primerane zredené enzym. roztoky. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³.

Teplota scukrenia I: 37°, II: 60°. Doba scukrenia 30 min.

Titrované podľa W. - Sch., 2,0 cm³ reakčnej smesi v 20 cm³ n/10

CHEMICKÉ ZVESTI



Ročník IV.

Máj-Jún 1950

Číslo 5-6

Vydavateľ: **SPOLOK CHEMIKOV SLOVÁKOV** (SChS)

Redakčný kruh:

Prof. Dr. T. Krempaský, redaktor, Bratislava. • Prof. Dr. J. Gašperfk, zodpovedný redaktor, Bratislava. • Prof. Dr. Ing. F. Valentin, Bratislava. Dr. V. Kellö, Bratislava. • Dr. Ing. P. Nemeč, Bratislava • Dr. Ing. I. Stein, Bratislava • G. Fukas, Nitra • E. Jirku, Horné Srnie. • Ing. Č. Hýbl, Bratislava • M. Zikmund, Bratislava.

Administrácia: Bratislava, Palackého ul. 32. Tel. 269-15

Všetky príspevky prosíme adresovať:

Prof. Dr. T. Krempaský, Bratislava, Odborárske nám. č. 14

OBSAH

Imrich Stein: Scukrovací proces a jeho vplyv na aktivitu amylázy	225
Ludvík Matherný a Nikolaj Michajlovskij: O pečivosti pšeničných múk	268
M. Chylík, J. Tamchyna: Komplexná látka v terapii železom	282
J. Vašátko a L. Závodský: Vzrast repy H. Zmeny koagulácie proteínov v repnej šfave	289
B. Stehlík: K vzorcu uranylu	296
Ján Janok: Osmometrická štúdia katiónov	299
Blahoslav Stehlík, Ján Beňa: K tautomernej rovnováhe acetylacetónu	306
František Valentin a Danica Žuffová: Vitamin C v čerstvej a konzervovanej zelenine	309
Blahoslav Stehlík: Atomová energia	313
Nové knihy a časopisy	318
Spolkové zvesti	32

jod. za použitia mikrobyrety. Hodnoty príslušných korekcií sú z uvedených údajov odčítané.

I = 37°					II = 60°				
konzentrácia slad. výluhu	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo mallózy po odči- taní korekcií	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická mallóza	$Sf = \frac{k \cdot g \text{ mallóza}}{g. \text{ preparát}}$	konzentrácia slad. výluhu	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo mallózy po odči- taní korekcií	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická mallóza	$Sf = \frac{k \cdot g \text{ mallóza}}{g. \text{ preparát}}$
%	mg		%		%	mg		%	
10	308.64	0.0214	77.16	0.13	10	327.58	0.0247	81.89	0.15
5	196.69	0.0098	29.17	0.12	5	315.40	0.0225	78.85	0.27
2.5	83.93	0.0035	20.98	0.09	2.5	261.97	0.0154	65.49	0.37
1.25	23.02	0.0009	5.75	0.04	1.25	213.11	0.0110	53.28	0.53
0.63	—	—	—	—	0.63	111.61	0.0047	27.90	0.46
0.32	—	—	—	—	0.32	42.27	0.0016	10.57	0.30

V liehovarskom priemysle pomer enzemu k substrátu je diktovaný požiadavkom dokonalého využitia škrobnatých surovín pre výrobu liehu. Množstvo potrebného enzymatického preparátu dávkuje sa tak, aby liehová výťažnosť bola čo najuspokojivejšia.

Za účelom reprodukcie pomerov v prevádzke upravili sme v ďalších pokusoch pomer enzemu k substrátu tak, aby priebeh hydrolýzy pri 60° mohol sa sledovať pri uspokojivých a neuspokojivých alkoholových výťažkoch. Za tým účelom sa scukrené roztoky prísadou kvasníc skvasily a vydestilovaný alkohol stanovil sa pyknometricky.

V nasledujúcej tabuľke demonštrujeme vplyv koncentrácií enzemu, resp. pomeru enzemu k substrátu na priebeh hydrolýzy, na hodnotu koeficientu reakčnej rýchlosti k , na hodnotu Sf a na výťažnosť liehu.

Tabuľka 8.

Enzymatický roztok: 20% sladový výluh pripravený 60 minútovým rmutovaním pri $t : 37^\circ$ Spec. váha: 1.0194, Bg 4,86° celkový extrakt 4,954 v. % (laboratórne pripravený na vzduchu sušený slad s obsahom 17,02% vody, 82,98% sušiny)

Substrát: 12% roztok stekutený biolázou pripravený a regulovaný vyššie uvedeným spôsobom.

Hlavný pokus: 150 cm³ 12% škrob. roztok., pH: 5,5 enzymatické výluhy uvedené v tabuľke. Celkové množstvo reakčnej smesi obnášalo, resp. bolo doplnené destil. vodou na 250 cm³

Teplota scukrenia: 60° Doba uvedená je v tabuľke. Titrované podľa W. Sch.: 2.0 cm³ reakčnej smesi v 20 cm³ jod. roztoku za použitia mikrobyrety. Hodnoty príslušných korekcií sú z uvedených údajov odčítané.

Doba scukrenia.																					
		10. min.						20. min.			30. min.			60. min.							
číslo pokusu	g	množstvo škrobu cm ³	pomern. enzym. extraktu k škrobu	množstvo sladu v pôvodnej forme g	maltóza z 18 g škrobu g	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	g	maltóza z 18 g škrobu g	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	g	maltóza z 18 g škrobu g	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	g	maltóza z 18 g škrobu g	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	k = stredná hodnota	Sf = $\frac{k \cdot g \text{ maltóza}}{g \text{ preparát}}$
1	18	100	4.954/18	20	6.556	0.0264	45.53	7.931	0.0174	55.08	8.181	0.0122	56.53	8.931	0.0070	62.02	0.0157	0.045			
2	18	50	2.466/18	10	7.793	0.0338	54.12	7.918	0.0173	54.98	8.418	0.0127	58.46	8.918	0.0070	61.65	0.0177	0.092			
3	18	25	1.239/18		7.849	0.0342	54.51	8.474	0.0190	59.85	8.724	0.0134	60.58	9.099	0.0072	63.19	0.0184	0.213			
4	18	12.5	0.619/18	2.5	7.090	0.0294	49.21	8.090	0.0179	56.17	8.215	0.0122	57.05	8.465	0.0064	58.78	0.0165	0.383			
5	18	6.25	0.031/18	1.25	2.723	0.0091	18.91	6.973	0.0144	48.42	7.673	0.0110	53.28	8.173	0.0061	56.75	0.0102	0.473			
6	18	3.125	0.155/18	0.63	2.577	0.0086	17.89	5.027	0.0093	34.91	5.877	0.0076	40.81	6.440	0.0058	44.72	0.0078	0.734			

Poznámka: K údajom uvedeným v tabuľke 8. v rubrike „teoret. maltóza“, treba poznamenať nasledovné: Adsorbčná schopnosť škrobového roztoku vyjadrená vo forme spotreby jódu pre stanovenie korekcií na slepý pokus, odpovedá takému množstvu, že keď ho vyjadríme vo forme maltózy, činí to 36.8% teoret. maltózy. Pochody pri príprave škrobového roztoku (stekutenie a parenie) pozmenily síce pôvodné molekulárne zoskupenie škrobu, beztoho ovšem, aby produkt zmeny bol skutočne maltózou, pretože vlastné pokusy dokázali, že z týchto produktov dezagregácie škrobu, kvasnice [*Saccharomyces cerevisiae*] produkujú len pomerne malé množstvo alkoholu. Pri výpočte množstva teoretickej maltózy museli však byť odpočítané bez ohľadu na to, že sa priebehom hydrolyzy mohli ďalej konvertovať na skvasiteľné slúčeniny. Tým vzniká do istej miery nespárvny obraz akoby sa hydrolyzou, trvajúcou 60 minút, nevytvorilo väčšie množstvo teoret. maltózy. V skutočnosti množstvo vzniklej skvasitej maltózy je väčšie o hodnotu, ktorá sa musela pod titulom slepeho pokusu, resp. korekcie, zo zistených hodnôt odpočítať. Po pripočítaní tejto maltózy, ktorá činí 36.8% teórie k hodnotám uvedeným v tabuľke obdržíme jednodinovým scukrením vzniklé množstvo maltózy, ktoré — v súhlase s doterajšími poznatkami — za prítomnosti dostatočného množstva amylázy obnáša 100% maltózy, t. j. 80% škrobu.

Časť roztokov uvedených v tab. 8. sa po skončení hydrolýzy podrobila technologickému rozboru ako sladké záparý liehovarské. Druhá časť nasadila sa rovnakým množstvom obyčajných droždiarenských kvasníc rozmiešaných vo vode (10 cm³ suspenzie obsahovalo 8 g kvasníc). Po 72-hodinovom kvasení v termostate pri teplote 30° v Erlenmayerových baňkách, zazátkovaných vatovou zátkou a po dôkladnom zamiešaní, časť sa použila k stanoveniu technologických charakteristík zrelej záparý. Zvyšok, obsahujúci produkty kvasenia z množstva obnásajúceho 10,423 g škrobu, sa po neutralizácii podrobil destilácii a alkohol sa stanovil pyknometricky.

V nasledovnej tabuľke sú zostavené jednotlivé údaje. Množstvá vzniklého alkoholu sú udané po odpočítaní príslušnej korekcie z kontrolných pokusov.

Tabuľka 9.

Č. p.	Sladká zápara					Zralá, zápara				Lichová výtťažnosť			
	sp.	0B _g	Ext. g	Acid.	jedn. farb.	sp.	0B _g	Acid.	jedn. farb.	množ. škrob. g	alk. cm	výt. škrob 1 %	teor. %
1.	1.0383	9.49	9.85	0.1	bezf.	0.9997	-0.3	0.5	bezf.	10.423	6.82	65.43	91.38
2.	1.0319	8.66	8.96	0.06	bezf.	1.0000	0.00	0.4	bezf.	10.423	6.13	58.81	82.13
3.	1.0332	8.24	8.51	0.04	bezf.	1.0016	0.40	0.4	bezf.	10.423	5.60	53.72	75.03
4.	1.0319	7.93	8.18	0.04	bezf.	1.0021	0.66	0.4	bezf.	10.423	5.0	47.97	69.79
	1.0317	7.88	8.13	0.07	bezf.	1.0054	1.36	0.4	bezf.	10.423	4.34	41.63	58.14
6.	1.0316	7.85	8.10	0.07	bezf.	1.0106	2.66	0.4	bezf.	10.423	4.05	38.55	53.84

Ako z tabuliek 8. a 9. vyplýva, medzi aktivitou amylázy a priebehom scukrenia vzniklého množstva maltózy, keď aktivitu amylázy vyjadrujeme hodnotou k alebo S_f nejestvuje žiadna korelácia za podmienok, pri ktorých hydrolýza škrobu sa uskutočňuje v liehovarských záparách.

Z tabuľky 8. sa dá konštatovať, že odbúranie škrobu až po teoretickú hranicu nie je ani tak závislé od aktivity amylázy, ako viac od doby trvania hydrolýzy. Množstvo amylázy prejavuje sa intenzitou svojho účinku len v prvých 10 minútach trvania hydrolýzy. (Pok. č. 1, 5, tab. 8.). Množstvo maltózy, ktoré vzniklo v ďalšom priebehu hydrolýzy, závisí od toho, že koľko jej vzniklo na počiatku reakcie. Čím intenzívnejší bol účinok na počiatku reakcie tým menej jej vzniká priebehom ďalšieho pochođu. Po 30 resp. 60 minút trvajúcej amylolyze, sú hodnoty k a S_f u všetkých preparátov takmer rovnaké. Následkom toho hodnoty k a S_f nevystihujú aktivitu amylázy v liehovarských záparách. Preto

metódy, ktoré sa zakladajú na stanovení koeficientu rýchlosti monomolekulárnej reakcie, nemôžu nám poskytovať podklady pre posúdenie praktickej upotrebitelnosti toho-ktorého enzymatického preparátu.

Diastatická mohutnosť alebo počet diastatických jednotiek, udávané podľa dnešných skúšobných metód, neposkytujú pre liehovarskú prax to najdôležitejšie, t. j. nesdelujú praktikovi množstvo enzymatického materiálu potrebného pre scukrenie známeho množstva škrobu.

Porovnanie alkoholových výťažkov jednotlivých zápar pripravených scukrením substrátu s rôznym množstvom sladového výluhu s príslušnými hodnotami koeficientu k a S_f dokazuje z iného hľadiska, že korrelácia medzi koeficientom reakčnej rýchlosti k a alkoholovou výťažnosťou nejestvuje. Naproti tomu liehová výťažnosť ako merítka enzymatickej aktivity z hľadiska teoretického i priemyselného je priliehavším výrazom diastatických pomerov zápar ako koeficient k alebo S_f .

Americkí bádatelia H. D. Reese, E. J. Fulmer a L. A. Underkoffler, vo svojej práci „Zhodnocovania hubovitých amylytických látok slúžiacich k scukreniu zápar.“ (l. c.) pokúsili sa korreláciu medzi alkoholovým výťažkom a množstvom použitej pliesňovej amylázy použiť pre vypracovanie rýchleho spôsobu stanovenia amylytickej hodnoty enzymatických preparátov. Stanovenie zakladalo sa v podstate na poznatku vyplývajúceho z grafického rozboru údajov skúšok kvasenia obilných zápar scukrených s pliesňovými otrubami, ktoré ukázalo, že výťažky etanolu sú v danom čase pravouhlou hyperbolicou funkciou váhy použitých otrúb. Tento vzťah ukazoval, že potrebná váha pliesňových otrúb k vytvoreniu jednotky alkoholového výťažku je lineárnou funkciou váhy použitých pliesňových otrúb. Vo tvaru obvyčajnej jednoduchej rovnice.

$$y = mx + b$$

lineárny vzťah je:

$$\frac{\text{váha pliesňových otrúb}}{\text{výťažok etanolu}} = m(\text{váha plies. otrúb})$$

To znamená, že váha potrebného množstva pliesňových otrúb k vytvoreniu jednotky váhy alkoholu rastie lineárne s váhou použitých pliesňových otrúb. Na základe tohto matematického princípu podarilo sa im nájsť metódu, ktorá má prednosti obťažnej kvasnej metódy a udáva v omnoho kratšej dobe hodnotu liehovej výdatnosti preparátu z pliesňových otrúb. Pretože však pri stanovení vychádza sa z jedného dobre osvedčeného preparátu pliesňovej amylázy, stanovené optimálne množstvo potrebné k uspokojivej produkcii alkoholu predstavuje fakticky relatívne číslo, ktoré sa môže stanoviť len vtedy, keď stojí k dispozícii jeden stály preparát standartnej akosti.

Že medzi množstvom sladu a alkoholovou výťažnosťou jest-
 vuje úzky vzťah, je v liehovarskej praxi už dlho známe. Pravidlo,
 že čím lepší je slad alebo čím väčšie množstvo sa ho použije, tým
 lepšie výsledky môžu sa doceliť, je praktická forma pre vyjadrenie
 korelácie medzi množstvom, resp. diastatickou hodnotou
 sladu a liehovou výťažnosťou.

Vzťah medzi aktivitou amylázy a medzi množstvom vzniklého
 alkoholu vyplýva z údajov v tab. 10, keď váha sladu, použitého
 k sukreniu delí sa výťažkom liehu.

Korelácia medzi množstvom sladu a alkoholovým výťažkom.

Tabuľka 10.

Pokus číslo	Váha sladu	Alkoholový výťažok cm ³	Váha sladu
	g		$\frac{\text{Výťažok}}{\text{etanolu}} = S$
1	11.58	6.82	1.70
2	5.79	6.13	0.94
3	2.895	5.60	0.52
4	1.45	5.0	0.29
5	0.73	4.34	0.17
6	0.37	4.05	0.09

Ako vidieť, hodnoty uvedené v rubrike S lineárne klesajú
 s klesajúcim množstvom sladu.

S pomerom enzemu k substrátu veľmi úzko súvisí doba účinku
 amylázy. Z tohto hľadiska spoločnou charakteristikou doterajších
 skúšobných metód je pomerne krátka, 30—60 minút trvajúca doba
 pozorovania.

Čas, za ktorý sa hydrolýza škrobu pri určitých pokusných
 podmienkach pozoruje alebo skoncuje nie je faktorom ľubovoľne
 voleným, ale činiteľom, ktorý vyplýval z určitých zákonitostí prie-
 behu hydrolýzy amylázou. Za vykonštruovaných pokusných pod-
 mienok vzťah medzi množstvom amylázy a medzi množstvom vy-
 tvorenej maltózy podľa Kjeldahlovho zákona platí až po hranicu,
 ktorá sa udáva 40% teoreticky možnej maltózy. Táto hranica dosa-
 huje sa obyčajne veľmi rýchle za predpísaných podmienok, približ-
 ne za 30 minút (pri t°—37°) pri iných (t°—20°) o niečo pomalšie,
 takže bolo zbytočné dobu trvania pokusu predlžovať.

Táto, z hľadiska laboratórnej kontroly nesporne veľká pred-
 nosť metód bola však ďalšou príčinou zlyhania spôsobov stanove-
 nia enzymatického účinku diastatických preparátov.

Doba trvania scukrenia v liehovarskej praxi fakticky trvá po dobu celého — obyčajne trojdenného — kvasenia. Z hľadiska výroby liehu má rýchlosť priebehu scukrenia potiaľ význam, pokiaľ je nutné sa postarať o to, aby nasadené kvasnice vo štádiu vývoja boli dostatočne zásobené maltózou, po skončení scukrenia, teda po schladení záparý na teplotu kvasenia. Takéhoto stupňa odbúrania škrobu dosiahne sa už relatívne malým množstvom enzymatického preparátu, resp. amylázy, ako sa to ukázalo v tab. 7. Relatívne malé množstvo amylázy za 1 hod. pri teplote 60° nevytvorilo síce 100% teoretickej maltózy, ale po dlhšom stání dosiahlo sa tejto hranice i za nižšej teploty scukrenia.

Vplyv doby scukrenia na množstvo vzniklej maltózy.

Po skončení scukrenia zápar uvedených v tab. 8 sa pokusné roztoky schladily na teplotu 30° a za aseptických podmienok (2 kvapky toluolu) ponechaly sa v termostate stáť. Po uplynutí v tabuľke vyznačených časov titrovalo sa 2.0 cm³ v 20 cm n/10 jod. roztokom. Maltóza stanovila sa metódou W. - Sch. Korrekcie sú z údajov odčítané.

Tabuľka 11.

č. pokusu	doba scukrenia					
	24 hod.		48 hod.		72 hod.	
	z 500 mg škrobu vytvorená maltóza mg	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorená maltóza mg	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorená maltóza mg	teoretická maltóza %
1	312.11	78.02/114.82	318.33	79.59/116.39	298.05	74.51/113.10
2	250.22	62.55/99.35	319.33	79.83/114.6	317.86	79.46/116.26
3	300.77	75.19/111.99	313.91	78.47/115.27	327.75	81.93/118.73
4	279.33	69.83/106.60	293.13	73.28/110.08	267.61	66.90/103.70
5	270.30	64.79/101.59	285.88	71.47/108.27	293.94	73.48/110.28
6	243.22	60.80/97.60	256.22	64.05/100.80	282.80	70.70/107.50

(Pod deliacou čiarou sa nachádzajúce čísla udávajú skutočné množstvo vytvorenej maltózy, ktoré sa obdržalo po pripočítaní korrekcie. Vid' pozn. pri tabuľke 8.)

Odbúranie škrobu až po hranicu teoretickej maltózy v liehovarských záparách nie je výhradne závislé od množstva amylázy, ale aj od doby trvania reakcie. Podstata enzymatickej katalýzy, ako katalýzy všeobecne leží práve v tom, že i nepatrné množstvá sú schopné za primeraných podmienok uskutočňovať veľké obraty.

4. Zmena složenia substrátu.

Enzymatická hydrolýza škrobu za neprítomnosti zvláštnych katalyzátorov (kvasnice, komplement) skončí sa dosiahnutím hranice odbúrania, ktorá sa pohybuje medzi 75—80% škrobu, t. j. okolo 100% teoretickej maltózy. Dohady o príčinách zastavenia odbúrania škrobu sú dostatočne známe z odbornej literatúry, preto nepovažujeme za odôvodnené o nich bližšie sa rozširovať.^{11 14)}

Na rozdiel od pivovarského priemyslu, v ktorom odbúranie dextrínov nie je žiadúce, výroba liehu by nebola rentabilná, keby sa tento substrát nerozložil v skvasiteľné cukry.

Po skončení scukrenia ostáva v roztoku ca 20—25% škrobu vo forme síce dezagregovanej, ale znajväčšej časti nezkvasiteľnej a amylázou nescukrovateľnej. Táto forma škrovej molekuly známa pod názvom „dextríny“ predstavuje v podstate heterogennú smes zvyškov molekúl škrobu, ktorý zostal po scukrení hlavnej časti.

O tomto substráte je z liehovarskej praxe známe, že bez prítomnosti kvasníc nemôže sa amylázou hydrolyzovať až po maltózu a bez prítomnosti amylázy nemôže skvasiť na lieh. Preto sa v liehovarskom priemysle žiada, aby záparý obsahoval dostatok amylázy až k skončeniu procesu výrobného.

Nie je treba obsírnejšie rozvádzať, že doterajšie metódy stanovovania amylolytickej schopnosti enzymatických preparátov na základe určenia hodnoty koeficientu reakčnej rýchlosti k na túto potrebu nebraly zreteľ, a táto skutočnosť je ďalšou príčinou zlyhania metód stanovujúcich scukrujúci účinok enzymatických preparátov v ich aplikácii na potrebu praxe.

Z liehovarskej skúsenosti a z odbornej literatúry je známe, že pre dokonalé využitie škrobnatých surovín vyžaduje sa:

a) prítomnosť dostatočného množstva amylázy v záparách po dobu celého priebehu procesu.

b) bezpodmienečná prítomnosť kvasníc, lebo bez kvasníc nie je možné prakticky amylázou konvertovať dextríny do formy skvasiteľných uhlohydrátov.

Tieto praktické poznatky sú vodítkom ďalšieho štúdia.

a) Množstvo amylázy, ktoré je prítomné v liehovarských záparách.

Po skončení hydrolýzy škrobu ostávajú v roztoku dextríny, ktoré svojim složením sa podstatne líšia od pôvodného substrátu. V liehovarskej praxi upotrebuje sa také množstvo enzymatického materiálu, ktoré zaručuje prítomnosť dostatočného množstva amylázy v záparách. Z tohto vyplýva, že po skončení scukrenia pri vyššej teplote má ostať ešte dostatočné množstvo amylázy pre odbúranie zmeneného substrátu.

Hydrolyza dextrínov prebeháva už len pri teplote cca 30°, pretože súčasne naočkujú sa zápary kvasnicami.

Kvantitatívne údaje o množstve amylázy, ktorá po hlavnom scukrení ostáva, alebo má zostať v scukrenej zápore, odborná literatúra neudáva. Metódy, ktorými sa v liehovarskej praxi sleduje obsah amylázy v záparách, zakladajú sa na skúmaní úbytku substrátu, na základe zafarbenia 1—2% roztoku Lintnerovho rozpustného škrobu prísadou určitého množstva zápary (metóda Ellrodova, Effrontova, Büchler-Rüdigerova,⁸⁾ Macherova⁹⁾) Aktivity diastázy v zápore udáva sa množstvom zápary, ktorým sa 10—20 cm³ 1—2% rozpustného škrobu odbúrало po achroostav a z množstva zápary usudzujú — na podklade praktických skúseností — na dostatočný alebo nedostatočný obsah amylázy v záparách. Údaje sa rozohádzajú jednak podľa pokusnej teploty a jednak podľa použitej metódy. Preto tieto metódy nie sú spoľahlivým merítkom pre stanovenie amylázy v záparách.

Pre kvantitatívne stanovenie obsahu amylázy v záparách použili sme v podstate doterajší spôsob stanovenia prírastku redukujúcich látok, vzniklých hydrolyzou škrobu metódou Willstätter-Schudelovou. V nasledovnom podávame použitú metódu:

Po skončení hydrolyzy škrobu (hlavného scukrenia) odpipetovalo sa také množstvo zápary, ktoré obsahovalo 1.0 cm³ pôvodného sladového výluhu do smesi pozostávajúcej z 25.0 cm³ 2% rozpustného škrobu, ku ktorému sme pridalí také množstvo fosfátového regulátora, aby celkový obsah reakčnej smesi obnášal vždy 36.0 cm³. Blížšie údaje sú uvedené v jednotlivých tabuľkách.

Touto, resp. primerane. upravenou metódou, stanovila sa aktivita amylázy obsaženej v záparách, za neprítomnosti kvasníc jednak hneď po hlavnom scukrení a tiež po 24—48 a 72-hodinovom stáaní pri 30°, ďalej za prítomnosti kvasníc a to ihneď po nasadení, potom po 24—48 a 72-hodinovom kvasení v 2% škrobovom roztoku pri rôznych teplotách. Množstvá vniklej maltózy porovnávaly sa s výsledkami účinku čerstvého výluhu a dlhšiu dobu stojacích výluhov rôznych enzymatických preparátov.

Stanovenie aktivity amylázy záparý bez kvasníc ihneď po scukrení.

Zo zápar scukrených pri teplote 37° a doby 60 minút uvedených v tab. 4. (I a II) po schladení na 30° odpipetovalo sa 2.5 cm³, t. j. množstvo obsahujúce 1,0 cm³ 10% resp. 20% sladového výluhu do násady pozostávajúcej pre

hlavný pokus: 25.0 cm³ 2% rozt. rozp. škrob Lintn. + 2.5 cm³ zápary + 8.5 cm³ fosfátového regulátora pH: 5.5. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³.

Korekcia na škrobový roztok: 25.0 cm³ 2% rozp. škrob. Lintn. + 2.5 cm³ dest. voda + 8.5 cm³ fosf. regul. pH: 5.5. Celkové množstvo 36.0 cm³

Korrekcia na enzymatický roztok: 25.0 cm³ dest. vody + 2.5 cm³ zápary + 8.5 cm³ fosfátového regulátoru. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³.

Titrované 2.5 cm³ roztoku v 20 cm³ n/10 jodu za použitia mikroburety; podľa metódy W - Sch.

Teplota scukrenia 37°, docukrenia 30° korrekcie sú z údajov odčítané.

Tabuľka 12.

Teplota scukrenia °	Pokusná doba min. hod.	I. 10% sladový výluh			II. 20% sladový výluh		
		z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza %
37	10 —	240.73	0.0400	60.18	243.66	0.0408	60.92
	20 —	264.63	0.0235	66.16	357.99	0.0489	89.50
	30 —	299.05	0.0199	74.76	432.73	—	108.17
	45 —	341.53	0.0185	85.37	—	—	—
30	— 20	353.09	—	88.27	274.13	—	93.53
	— 44	390.01	—	97.50	392.70	—	98.17
	— 68	395.28	—	98.82	227.24	—	56.81

k stred: 0.0255

k stred: 0.0449

Z porovnania údajov zostavených v tab. 12. s údajmi tab. 4. vyplýva, že zápary scukrené pri teplote 37° po skončení scukrenia obsahujú aktívnu amylázu v takom množstve, že sa účinkom vyrovná, ba predčí v produkcii maltózy amylázu sladového výluhu, ktorý sa použil k hydrolýze zápary. 1.0 cm³ sladového výluhu hydrolyzuje 2% škrobový roztok vo smysle priebehu monomolekulárnej reakcie. (tab. 3.). Hydrolýza 2% škrobového roztoku s ekvivalentným množstvom sladového výluhu, obsaženého v scukrenej zápare, vybočuje z rámca unimolekulárnej reakcie.

Všeobecne je známe, že hydrolýza vybočuje z rámca unimolekulárneho priebehu reakcie len keď sa pokusné podmienky menia (teplota, množstvo enzýmov, pomer enzýmu k substrátu atď.). Pretože v danom prípade, až na enzymatický roztok, všetky požiadavky pre monomolekulárny priebeh boli splnené (složenie substrátu, pokusná teplota) dá sa usudzovať, že príčinou zmeny typu reakcie, resp. mechanizmu priebehu hydrolýzy sú zapríčinené zmenou vlastností alebo aktivity amylázy.

Pochody, ktoré sa v roztoku odohrávajú priebehom hydrolýzy, neobmedzily sa teda len na zmenu substrátu, ale súčasne pozmenily

pôvodné vlastnosti sladovej amylázy. V pomere k pôvodným vlastnostiam (viď tab. 3.) prejavuje sa zmena formou zvýšenej produkcie maltózy. Pretože produkcia maltózy je výrazom aktivity enzýmu, znamená to, že došlo k zvýšeniu aktivity amylázy obsaženej v zápare. Takéto obohacovanie roztokov amylázy je čistenie enzýmu. Pod týmto sa rozumie zbavovanie sa paralyzujúcich látok, ktoré účinok enzýmu inhibujú. Z tejto analógie vyplýva teda, že priebehom scukrenia záparu došlo k akémusi biochemickému čisteniu sladovej amylázy. Diastatická mohutnosť biochemicky čistenej amylázy je väčšia, ako pôvodného sladového výluhu, ako to vyplýva z porovnania stredných hodnôt koeficientov reakčnej rýchlosti pôvodného výluhu $k:0.0128$ a prečistenej amylázy $k:0.0255$.

Na odbúranie nového substrátu (dextrínov) stojí teda v záparách scukrených pri teplote 37° aktívnejšia amyláza k dispozícii, ako na hydrolýzu pôvodného substrátu škrobu.

Medzi aktivitou amylázy sladového výluhu a aktivitou amylázy obsaženej v scukrených záparách jestvuje — ako sa zdá — užšia korelácia. Kým vzťah medzi aktivitou sladovej amylázy k aktivite amylázy scukrujúcej škrobový roztok nie je lineárny — ako to vyplýva z hodnôt koeficientu uvedených v tab. 4. — ($k: 10\%$ slad. výluh = 0.0190, $k:20\%$ slad. výluh = 0.0242) — dá sa takýto vzťah usudzovať z hodnôt koeficientu k amylázy obsaženej v zápare (tab. 12), u ktorých $k:10\%$ slad. výluh = 0.0256, $k:20\%$ slad. výluh = 0.0449.

Scukrením zápar pri nižšej teplote uvoľňuje sa zo sladového výluhu ešte viac aktívneho enzýmu,

V nasledovnej tabuľke sú zostavené údaje diastatickej schopnosti zápar po ich scukrení pri teplote 30°

Zo zápar scukrených pri teplote 30° a doby 60 min. uvedených v tab. 5 (I a II) odpipetovalo sa 2.5 cm^3 , t. j. množstvo obsahujúce 1.0 cm^3 10% , resp. 20% sladového výluhu do násady, pozostávajúcej pre:

hlavný pokus: 25.0 cm^3 2% rozt. rozp. škrob. Lintn. + 2.5 cm^3 zápary + 8.5 cm^3 fosfátového regulátoru pH: 5.5. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm^3 .

Korrekcia na škrobový roztok: 25.0 cm^3 2% rozp. škrobu Lintn. + 2.5 cm^3 dest. voda + 8.5 cm^3 fosf. regul. pH: 5.5 Celkové množstvo 36.0 cm^3 .

Korrekcia na enzymatický roztok: 25.0 cm^3 dest. vody + 2.5 cm^3 zápary + 8.5 cm^3 fosf. regulátoru. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm^3 .

Titrované 2.5 cm^3 roztoku v 20 cm^3 n/10 jodu za použitia mikroburety podľa metódy W. - Sch.

Teplota scukrenia 37° , docukrenia 30° , korrekcie sú z údajov odčítané.

Tabuľka 13.

Teplota scukrenia	Pokusná doba min. hod.	I. 10% sladový výluh			II. 20% sladový výluh		
		z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy .mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza %
37	10 —	296.64	0.0588	74.15	300.80	0.0605	63.95
	20 —	320.40	0.0351	80.11	385.90	0.0276	94.67
	30 —	336.38	0.0266	84.10	465.53	—	116.38
	45 —	336.38	0.0177	84.10	—	—	—
30	— 20	365.76	—	91.43	367.19	—	91.79
	— 44	378.78	—	94.62	394.11	—	98.53
	— 68	631.30	—	90.28	233.55	—	58.39

k stred: 0.0345

k stred: 0.0466

Výsledky zostavené v tab. 13. celkove potvrdzujú rezultáty predchádzajúcej pokusnej serie (tab. 12). Pribehom hydrolyzy koncentrovaného škrobového roztoku obohacujú sa tieto amylázou, takže amylolytický účinok zápar je relatívne vyšší, ako účinok pôvodného sladového výluhu.

Výsledok biochemického čistenia sladovej amylázy môže sa vyjadriť jednak pomerom hodnôt koeficientu reakčnej rýchlosti pôvodného sladového výluhu, $k=0.0128$ (tab. 3.) k hodnote k 0.0345 (tab. 13.) použitého sladového výluhu. Tento rozdiel medzi účinkom sladového výluhu v koncentrovanej zápare vyjadrený hodnotou k 0.0154 a hodnotou koeficientu amylázy obsaženej v zápare, t. j. použitého sladového výluhu, dokazuje, že tak ako v predchádzajúcom prípade došlo i tu k zvýšeniu aktivity amylázy.

Citlivosť takto uvoľnenej amylázy je pomerne veľmi značná. Rozdiel v teplote scukrenia obnášajúci 7° (37° — 30°) zdá sa, že zapričiňuje diferenciu medzi strednou hodnotou koeficientu reakčnej rýchlosti amylázy v zápare toho istého sladového výluhu, $k=37^\circ$: 0.0255 a $k=30^\circ$: 0.0345.

Medzi strednou hodnotou koeficientu reakčnej rýchlosti k dvojnásobne koncentrovaného sladového výluhu vplyvom zníženej teploty scukrenia zápar nedošlo k žiadnej podstatnej zmene. Medzi množstvom sladovej amylázy nedá sa však už pozorovať lineárny vzťah.

Celkove sa potvrdzuje, že dextriny, ako nový substrát amylázy, odbúrávajú sa relatívne aktívnejšou amylázou ako pôvodný škrobový roztok.

Z hľadiska liehovarskej praxe je oveľa dôležitejšie poznať zvýšenie obsahu amylázy v záparách, ktoré sa scukrily pri teplote 60°. V nasledovnom zostavení podávame výsledky pokusov, ktoré boli na spôsob vyššie uvedených experimentov urobené.

Zo zápar scukrených pri teplote 60° a doby 60 min. uvedených v tabuľke 6. (I.—II.), po schladení na 30° odpipetovalo sa 2.5 cm³, t. j. množstvo obsahujúce 1.0 cm³ 10% resp. 20% sladového výluhu do násady, pozostávajúcej: hlavný pokus: 25.0 cm³ rozt. rozp. škrob. Lintn. + 2.5 cm³ zápary + 8.5 cm³ fosf. regulátoru pH: 5.5. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³.

Korekcia na škrobový roztok: 25.0 cm³ 2% rozt. rozp. škrobu Lintn. + 2.5 cm³ dest. vody + 8.5 cm³ fosf. regulátoru. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³.

Titrované 2.5 cm³ roztoku v 20 cm³ n/10 jodu za použitia mikrobyrety podľa metódy W. - Sch.

Teplota scukrenia 37° docukrenia 30°, korekcie sú z údajov odčítané.

Tabuľka 14.

Teplota scukrenia	Pokusná doba	I. 10% sladový výluh			II. 20% sladový výluh		
		z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoret. maltóza
	min. hod.	mg		%	mg		%
37	10 —	289.47	0.0559	72.35	258.62	0.0452	64.65
	20 —	271.04	0.0245	67.76	249.05	0.0211	72.64
	30 —	271.04	0.0164	67.76	290.59	0.0188	87.26
	45 —	286.72	0.0122	71.68	—	—	—
30	— 20	342.28	—	85.57	335.67	—	83.91
	— 44	421.84	—	105.45	359.86	—	89.96
	— 68	403.53	—	100.87	281.81	—	70.45

k stred: 0.0273

k stred: 0.0343

Výsledky zostavené v tabuľke 14 potvrdzujú rezultáty predchádzajúcich pokusov. Inhibujúci vplyv vyššej teploty scukrenia — známy z odbornej literatúry — prejavuje sa v tom, že aktivita amylázy zápary scukrenej pri teplote 60° neprevyšuje aktivitu pôvodného sladového výluhu v takej miere, ako napr. u zápar scukrených pri teplote 30°, kde pomer hodnoty koeficientu reakčnej rýchlosti pôvodného sladového výluhu $k=0.0128$ zvýšil sa na

$k=0.0345$. Následkom vyššej teploty scukrenia je tento pomer zmenený a síce $k=0.0128:k=0.0273$. Napriek tomu došlo k obohateniu zápar amylázou.

Medzi hodnotou koeficientu reakčnej rýchlosti priebehu hydrolýzy koncentrovanej zápary a hodnotou k scukrenej zápary nie je vo skutočnosti žiadneho rozdielu. Stredná hodnota k pri scukrení 0,0248 a scukrenej zápary 0.0273 dokazuje, že následkom vyššej teploty scukrenia nedošlo síce k obohateniu zápary, ale nedošlo ani k ochudobneniu diastatického obsahu.

Z tohto poznatku dá sa usudzovať, že scukrením zápary pri teplote 60° nespotrebuje sa amyláza. Po hydrolýze ostáva v zápare pôvodné použité množstvo amylázy nezmenené. Tento enzým líši sa však od pôvodnej amylázy v mechanizme účinku. Pôvodná amyláza sladová hydrolýzuje škrob podľa reakcie monomolekulárnej. Tá istá amyláza pri hydrolýze koncentrovaného škrobového roztoku nepôsobí podľa schémy reakcie unimolekulárnej. V zápare obsažená amyláza naproti tomu i pri dodržaní podmienok monomolekulárneho priebehu reakcie nehydrolýzuje škrobový roztok vo smysle reakcie monomolekulárnej. Zmena vlastností enzýmu, ktorá takto nastala, nedá sa charakterizovať hodnotu reakčnej rýchlosti, pretože z roztoku zápary vychádza pozmenená amyláza, u ktorej je sporné, či pokusné podmienky pri ktorých hydrolýza škrobu sladovou amylázou prebeháva podľa reakcie monomolekulárnej platia i pre túto amylázu. Výsledky zostavené v tabuľkách 12, 13, 14 dokazujú, že pokusné podmienky upravené pre sladovú amylázu, nekonzervujú amyláze zo zápar, keď k stanoveniu použijeme ekvivalentné množstvo enzýmu obsaženého v zápare. Hodnota koeficientu reakčnej rýchlosti k vystihuje síce tento skutkový stav, nevyjadruje však skutočnú hodnotu enzýmu. Priliehavším výrazom aktivity enzýmu je množstvo maltózy, ktoré vzniklo zo škrobu určitým kvantom enzymatického roztoku. Zákon o proporcionalite medzi množstvom vytvorenej maltózy a aktivitou enzýmu práve tak ako poznatok o monomolekulárnom priebehu hydrolýzy škrobového roztoku za zvlášť upravených pokusných podmienok postrádajú všeobecnú platnosť. Následkom toho koeficient reakčnej rýchlosti hydrolýzy a na tomto sa zakladajúce výpočty diastatických jednotiek sú charakteristika sui generis, ktoré nemajú žiadny vzťah k účinku amylázy v inom prostredí, najmä v takom, ktoré sa líši složením od toho v ktorom sa vyššie spomenuté zákonitosti pozorovali.

Z pokusov ďalej vyplýva, že dextríny, ktoré po scukrení hlavnej časti škrobu, ako nerozložiteľné súčiastky pôvodnej škrobovej molekuly zostali, scukrujú sa síce v liehovarskej praxi enzýmom, ktorý pochádza zo sladov, ale tento vlastnosťami už sa značne líši od vlastností pôvodnej amylázy sladového výluhu.

Ako ďalší poznatok, ktorý vyplýva z pokusov, treba registrovať skutočnosť, že pri hydrolýze škrobu amylázou, nemení sa len složenie substrátu, ale mení sa i pôvodné složenie, resp. vlastnosti

enzymu. Tento vplyv substrátu na enzym nie je bezvýznamný pre hydrolýzu sladových dextrínov (Malzdextrine). O sladových (hraničných) dextrínoch je známe, že sa nerozkladajú alkoholom sraženou diastázou, ani emulziom, sú rezistentné proti β -amyláze, ťažko sa rozkladajú amylázou pankreatickou a slín a sú pomerne rezistentné proti amyláze sladu. Za prítomnosti komplementu rozkladá ich amyláza sladu a tiež hubová (plesňová amyláza) z aspergilu oryzae konvertuje ich kvantitatívne na disacharidy. Pri súčasnom pôsobení amylázy a kvasníc skvasujú sa na alkohol.¹⁴⁾

Nie je vylúčené, že biologické čistenie amylázy, ktoré nastáva priebehom hydrolýzy v škrobovom roztoku, odstraňuje z enzymatického komplexu dôležitú komplementárnu složku, ktorá zbraňuje prostetickú skupinu enzemu schopnosti hydrolyzovať sladové hraničné dextríny, a ktorá sa nadobudne prísadou neznámych látok, ktoré sa opisujú ako Pringsheimov komplement, alebo ktoré sú prítomné v Taka-amyláze, resp. v živých kvasniciach.

Zmenu vlastností amylázy konštatovali sme až po uplynutí 45—60 minút trvajúcej amyrolýze. Množstvá maltózy, resp. koeficienty reakčnej rýchlosti zistené po prvých 10 minútach cukrenia dokazujú, že k zmene vlastností došlo už v prvých okamžikoch cukrenia, čiže rýchlosť biologického čistenia, resp. ovplyvnenia zloženia enzemu substrátom je veľmi značná. Rýchlosť sa mení podľa zloženia prostredia, v ktorom amyláza pôsobí. Je relatívne konštantná, resp. monomolekulárne zrýchlená, alebo spomalená závisle od zloženia substrátov.

Pri uvážení týchto skutočností je dosť dobre mysliteľné, že i substrát složený z hraničných dextrínov ovplyvňuje zloženie sladovej amylázy a zapríčiňuje určitý priebeh hydrolýzy, ktorého rýchlosť sa mení podľa vlastností prítomných akcesorických látok (komplementov) a to bez ohľadu na to, či sú známe alebo či sa nepodarilo ich izolovať.

Poznať vplyv roztoku sladových dextrínov a smesi látok prítomných v cukrenej zápare na vlastnosti amylázy obsaženej v zápare, je i z hľadiska liehovarskej praxi dôležité. Po schladení zápary na teplotu kvasenia a naočkovanie kvasnicami až po viditeľné rozmnoženie týchto, zahájenie kvasenia a prechodu do hlavného, energického kvasenia, amyláza zápary je vystavená vplyvu substrátu. V následných pokusoch študoval sa vplyv substrátu sladových dextrínov na vlastnosti amylázy, obsaženej v cukrenej zápare.

Zápary a roztoky upravené pre stanovenie korekcií po prísade rovnakého množstva toluolu (2 kvapky) ponechali sa v termostate pri teplote 30° v tabuľkách uvedenú dobu stáť. Potom sa odpipetovalo sa 2.5 cm^3 , t. j. množstvo obsahujúce 1.0 cm^3 10%, resp. 20% sladového výluhu do násady pozostávajúcej:

hlavný pokus: 25.0 cm^3 2% rozt. rozp. škrob. Lintn. + 2.5 cm^3 zápary, + 8.5 cm^3 fosf. regulátoru pH: 5.5. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm^3 .

Korrekcia na škrobový roztok: 25.0 cm³ 2% škrob. Lintn. + 2.5 cm³ dest. voda + 8.5 cm³ regulátoru. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³.

Titrované 2.5 cm³ roztoku v 20 cm³ n/10 jodu za použitia mikroburety podľa metódy W.-Sch.

Teplota scukrenia 30° 37° 60°, docukrenia 30°, korrekcie odčítané.

Tabuľka 15.

Vplyv dextrínov vzniklých jednoodinovým scukrením na aktivitu amylázy obsažnej v zápare po 24 hod. státi.

Teplota °	Pokusná doba min. hod.		Zápára scukrená 10% sladom pri:								
			30°			37°			60°		
			z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
—	10	—	63.61	0.0075	15.90	14.4.97	0.0196	36.24	236.85	0.0390	59.21
37	20	—	39.70	0.0022	9.92	155.49	0.0107	38.87	236.85	0.0195	59.21
	30	—	15.80	0.0006	3.95	—	—	—	242.32	0.0131	60.57
	45	—	5.29	—	1.32	33.37	—	8.34	173.38	0.0055	44.59
	—	24	86.66	—	21.52	68.08	—	17.02	221.16	—	55.28
30	—	48	82.40	—	20.59	11.1.48	—	27.87	232.71	—	58.18
	—	—	55.85	—	14.31	9.5.45	—	23.86	190.34	—	47.58

k stred: 0.0034

k stred: 0.0213

k stred: 0.0151

Z údajov zostavených v tab. 15, 16, 17 vyplýva, že 24 hod. státie amylázy v prostredí, ktoré obsahuje sladové dextriíny v záparách scukrených pri 60° v podstate neovplyvňujú aktivitu amylázy. To znamená, že aktivita amylázy v liehovarskej praxi scukrenej zá-pary, keď teplota scukrenia sa pohybovala okolo 60° v štádiu pre-kvasenia, t. j. po dobu vývoja kvasníc, sa v podstate nemení.

Oveľa intenzívnejšie prejavil sa vplyv pochodov prebeháva-júci v koloidálnom roztoku zápar scukrenia pri nižšej teplote na aktivitu amylázy. Porovnanie hodnôt k uvedených v tabuľke 13 a 14, naznačuje hlboký vplyv na aktivitu amylázy fyzikálne chemi-ckých procesov, ktorých dejšie je roztok zápary. Úzka súvislosť inaktivovania enzýmov s denaturáciou bielkovín dáva tušiť, že príčinou inaktivovania je koagulácia natívnych bielkovín. Pri vyš-šej teplote scukrenia v zápare obsažené koagulovateľné bielkoviny

Tabuľka 16.

Teplota	Pokusná doba		Zápara scukrená 20% sladom pri:								
			300			370			600		
			z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza
min.	hod.	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%		
37	10	—	164.07	0.0229	41.05	135.57	0.0179	33.39	256.90	0.0446	64.22
	20	—	180.20	0.0130	45.05	96.42	0.0059	24.10	294.20	0.0288	73.55
	30	—	169.25	0.0079	42.31	99.01	0.0041	24.75	248.18	0.0140	62.04
	45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	—	24	244.14	—	61.03	155.18	—	38.78	235.89	—	58.97
	—	48	105.75	—	26.44	0	—	—	73.59	—	18.39
	—	72	19.78	—	4.25	0	—	—	0	—	—

k stred: 0.0143 k stred: 0.0092 k stred: 0.0291

Tabuľka 17.

Vplyv dextrínov vzniklých jednodinovým scukrením na aktivitu amylázy obsaženej v zápore po 48-hodinovom stání.

Teplota	Pokusná doba		Zápara scukrená 10% sladom pri:								
			300			370			600		
			z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza	z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza
°	min.	hod.	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	
37	10	—	0	—	0	0	—	0	0	—	0
	20	—	0	—	0	0	—	0	0	—	0
	30	—	102.78	0.0043	25.69	0	—	0	0	0	0
	45	—	73.69	0.0019	14.74	0	—	0	5.12	0.0001	1.28
30	—	24	0	—	0	0	—	0	0	—	0
	—	48	0	—	0	0	—	0	0	—	0
	—	72	0	—	0	0	—	0	0	—	0

k stred: 0.0031

sa už priebehom scukrenia denaturovaly. Tým štabilizoval sa aspoň na istú dobu pomer koagulovateľných a nekoagulovateľných bielkovín obsažených v zápore. Tá časť proteínov, ktorá pri scukrení za nižšej teploty nekoagulovala, sedimentuje behom státia zápany a inaktivuje prostetickú skupinu enzymu. Tým sa paralyzuje výhoda scukrenia pri nižšej teplote, ktorou na jednej strane zachová sa síce aktívnejšia amyláza v zápore, na druhej strane však zdá sa byť menej vzdornou proti inaktívujúcim vplyvom, ktorým je enzým vystavený priebehom procesu výroby liehu.

Hodnota koeficientu reakčnej rýchlosti k nie je ani v tomto prípade priliehavým výrazom pre skutočnú aktivitu amylázy.

Zápary scukrené 20% sladovým výluhom po 48 hodinovom stání nevykazovali prítomnosť aktívnej amylázy.

Na demonštráciu vplyvu fyzikálne chemických pochodov, ktoré sa odohrávajú v koloidálnom prostredí, na aktivitu sladovej amylázy uvádzam zmeny enzymatického účinku z vyšeuvedených pokusov použitého 10% sladového výluhu, ktorého enzymatická charakteristika je uvedená v tab. 3, po 24-hodinovom stání za aseptických podmienok pri laboratórnej teplote v 2% škrobovom roztoku.

Po 22-hodinovom stání pri $t^{\circ} = 30^{\circ}$ vo smesi uvedenej v tab. 3 (I) odpipetovalo sa 3.6 cm⁰ roztoku, t. j. 1 cm³ sladovaného výluhu do násady, pozostávajúcej:

Hlavný pokus: 25.0 cm³ 2% rozt. rozp. škrob. Lintn. + 7.4 fosf. regulátoru, pH: 5.5 + 3.6 cm³ roztoku. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³

Korrekcie: na roztok enzymu a roztok škrobu pripravily sa obvyklým spôsobom. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³ Titrované 2.5 cm³ roztoku v 20 cm³ n/10 jodu za použitia mikroburety podľa metódy W.-Sch.

Teplota scukrenia 37° docukrenia 30° korrekcie sú z údajov odčítané.

Tabuľka 18.

Pokusná doba		Teplota °	Z 500 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy mg	$k = 1/t \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	Teoretická maltóza %
min.	hod.				
10	—	37	6.22	0.0006	1.56
20	—		6.22	0.0003	1.56
30	—		25.01	0.0009	6.25
45	—	30	43.45	0.0011	10.86
—	24		176.36	—	44.09
—	48		233.45	—	58.61
—	72		176.68	—	44.17

Ovplyvňovania aktivity sladovej amylázy fyzikálne chemickými pochodmi, ktoré sa odohrávajú počas 24-hodinového stánia v 2% škrobovom roztoku, sú oveľa intenzívnejšie, ako pochody, ktoré prebiehajú v roztoku koncentrovaného škrobu.

5. Vplyv kvasníc na aktivitu amylázy.

Po scukrení zápary nasleduje v liehovarskej praxi prísada kvasníc, ktorými sa zápara naočkuje a v ktorej behom 6—10 hodín dôjde k takému rozmnoženiu buniek, že zápara dostáva sa vplyvom unikajúceho kyslíčniku uhličitého do pohybu, kvasí.

Samotnou amylázou sladu nerozložiteľné hraničné dextríny sa za prítomnosti živých kvasníc dokonale konvertujú v zkvasiteľnú maltózu. Podstata príčiny rozložiteľnosti dextrínov nie je dodnes známa. Pokus vysvetliť pochod v kvasniciach — živých a autolyzovaných — prítomnou látkou neznámeho složenía „komplementu“³⁰⁾ istého druhu aktivátoru, ktorý katalyzuje časť enzymatického pochodu, totiž odbúrание hraničných dextrínov, môže sa považovať za nevydarený³¹⁾.

Vyššie uvedenými pokusmi sa dokázalo, že z procesu scukrenia koncentrovaného škrobového roztoku vychádza amyláza takmer neporušená. Z liehovarskej praxi je známe, že korelácia medzi množstvom použitého sladu, resp. jeho diastatickou hodnotou a liehovým výťažkom zakladá sa na podmienke, aby zápary po celú dobu procesu kvasenia vedľa primeraného množstva kvasníc obsahovali dostatok amylázy.

Ovplyvnenie diastatických stavov zápar prísadou kvasníc vyplýva z následovných pokusov:

160 cm³ scukrená a na 30° schladená zápara naočkovaná sa 8 g obyčajným lisovaným droždím, suspendovaným v 10 cm³ obyčajnej vody. Po uplynutí doby kvasenia uvedenej v jednotlivých tabuľkách, odpipetovalo sa 2,65 cm³ filtrovaného roztoku, t. j. 1 cm³ sladového výľuhu do násady pozostávajúcej:

hlavný pokus: 25.0 cm³ 2% rozt. rozp. škrob. Lintn. + 8.35 cm³ fosf. reg. pH: 5.5 + 2,65 cm³ filtr. zápary. Celkové množstvo reakčnej smesi 36.0 cm³

Korrekcie: na roztok enzemu a roztok škrobu pripravily sa obvyklým spôsobom. Celkové množstvo reakčnej smesi 36 cm³. Titrované 2,5 cm³ roztoku v 20 cm³ n/10 jodu za použitia mikroburety podľa metódy W. - Sch.

Teplota scukrenia 37°, docukrenia 30° korrekcie sú z údajov odčítané.

Tabuľka 19.

Vplyv prísady kvasníc na aktivitu amylázy scukrenej zápary 10% sladovým výluhom pri teplote 60°

Teplota °	Pokusná doba min. hod.	Po kvasení:									
		24 hod.			48 hod.			72 hod.			
		z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	
37	10	24.99	0.0028	6.25	—	—	—	—	—	—	
	20	24.99	0.0014	6.25	—	—	—	—	—	—	
	30	17.07	0.0006	4.27	26.75	0.0010	6.70	19.84	0.0007	4.96	
	45	22.25	0.0006	5.56	16.10	0.0004	4.28	35.87	0.0009	8.96	
	—	48	209.23	—	52.30	82.36	—	3.09	20.18	—	5.04
30	—	24	157.76	—	39.44	18.88	—	22.22	78.22	—	19.55
	—	72	214.50	—	53.62	59.88	—	14.97	27.77	—	6.94

k stred: 0.0013 k stred: 0.0007 k stred: 0.0008

Tabuľka 20.

Vplyv prísady kvasníc na aktivitu amylázy scukrenej zápary 20% sladovým výluhom pri teplote 60°

Teplota °	Pokusná doba min. hod.	Po kvasení:									
		24 hod.			48 hod.			72 hod.			
		z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	
37	10	0	—	—	—	—	—	18.91	0.0021	4.73	
	20	0	—	—	—	—	—	26.97	0.0015	6.74	
	30	52.85	0.0021	13.21	78.78	0.0032	19.69	37.63	0.0014	9.41	
	45	—	—	—	78.78	0.0021	19.69	37.63	0.0009	9.41	
30	—	24	340.57	—	85.14	350.23	—	87.56	145.93	—	36.20
	—	48	364.33	—	91.08	344.61	—	86.15	—	—	—
	—	72	334.37	—	83.59	—	—	—	233.62	—	58.47

k stred: 0.0021 k stred: 0.0027 k stred: 0.0014

Tabuľka 21.

Vplyv prísady kvasníc na aktivitu amylázy scukrenia záparty 10% sladovým výluhom pri teplote 37°

Teplota °	Pokusná doba min. hod.	Po kvasení:								
		24 hod.			48 hod.			72 hod.		
		z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
37	10	1.77	—	0.44	—	—	—	—	—	—
	20	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	30	1.77	—	0.44	1.76	—	0.44	17.97	0.0007	0.44
	45	0	—	—	7.23	—	1.81	7.17	—	1.80
	— 24	33.88	—	8.40	32.44	—	8.11	0	—	0
30	— 48	95.57	—	23.89	55.97	—	13.99	12.56	—	3.14
	— 72	87.74	—	22.0	26.68	—	6.66	0	—	—

Tabuľka 22.

Vplyv prísady kvasníc na aktivitu amylázy scukrenej záparty 20% sladovým výluhom pri teplote 37°

Teplota °	Pokusná doba min. hod.	Po kvasení:								
		24 hod.			48 hod.			72 hod.		
		z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
37	10	0	0	0	—	—	—	13.12	0.0014	3.28
	20	0	0	0	—	—	—	21.04	0.0012	5.25
	30	0	0	0	12.87	0.0005	3.21	0	0	—
	45	—	—	—	36.77	0.0009	9.20	21.04	0.0005	5.25
	— 24	178.48	—	44.61	132.60	—	33.15	12.99	—	3.25
30	— 48	157.17	—	39.29	—	—	—	—	—	—
	— 72	143.20	—	35.79	113.0	—	28.25	14.71	—	36.80

Tabuľka 23.

Vplyv prísady kvasníc na aktivitu amylázy scukrenej zápary 10% sladovým výluhom pri teplote 30°

Teplota °	Pokusná doba min. hod.	Po kvasení:								
		24 hod.			48 hod.			72 hod.		
		z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
37	10	5.83	0.0006	1.45	—	—	—	—	—	—
	20	11.02	0.0006	2.75	—	—	—	—	—	—
	30	21.67	0.0008	5.42	13.50	0.0005	3.37	15.82	0.0006	3.95
	45	8.57	0.0002	2.14	13.50	0.0003	3.37	21.01	0.0005	5.25
	— 24	69.78	—	17.44	4.22	—	1.05	10.79	—	2.69
30	— 48	118.50	—	29.62	57.12	—	14.78	29.13	—	7.28
	— 72	94.40	—	23.60	27.84	—	6.96	0	0	0

k stred: 0:0006 k stred: 0.0004 k stred: 0.0006

Tabuľka 24.

Vplyv prísady kvasníc na aktivitu amylázy scukrenej zápary 20% sladovým výluhom pri teplote 30°.

Teplota °	Pokusná doba min. hod.	Po kvasení:								
		24 hod.			48 hod.			72 hod.		
		z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %	z 500 mg škrobu vytvorené množ- stvo maltózy mg	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ a = 80%	teoretická maltóza %
37	10	0	—	—	—	—	—	34.87	0.0040	8.72
	20	0	—	—	—	—	—	32.13	0.0018	8.03
	30	0	—	—	39.67	0.0045	9.92	34.87	0.0013	8.72
	45	—	—	—	0.07	—	0.01	10.96	0.0003	2.84
	— 24	147.23	—	36.81	84.90	—	21.22	0	—	—
30	— 48	154.28	—	38.57	98.0	—	24.5	—	—	—
	— 72	148.51	—	37.20	—	—	—	15.29	—	3.82

k stred: — k stred: 0.00045 k stred: 0.0019

Zo zostavenia uvedeného v tab. 19 vyplýva, že zápara scukrená pri teplote 60°, v ktorej aktivita amylázy ostala takmer úplne zachovaná i po 24-hodinovom stání v roztoku, podľahla vplyvom, ktoré sa vyvolaly prísadou kvasníc. Aktivita amylázy klesla na cca 1/10 pôvodnej aktivity a to bez ohľadu na to, aké množstvo sladového výluhu použilo sa k scukreniu záparu. Aktivita amylázy v zápare sa po celú dobu kvasenia v podstate nemení. V pomere k pôvodnému obsahu amylázy v scukrenej zápare pred prísadou kvasníc k zápare naočkovanej kvasnicami je úbytok na obsahu amylázy tak veľký, že amyláza v zápare v aktívnej forme prakticky nebola prítomná. Inaktivovanie nastalo vplyvom veľkej adsorbenej schopnosti kvasničných buniek.³²⁾

K podobnému inaktivovaniu amylázy došlo v záparách scukrených pri nižšej teplote, v ktorých ako z tabuľky 15 vyplýva, amyláza inaktivovala sa pri dlhšom stání. Ani tieto zápary prakticky neobsahujú amylázu (tab. 19—24).

Empirický poznatok liehovarskej praxe, že pri nedostatku amylázy v kvasiacich záparách konverzia škrobu v etanol je nedokonalá, sa plne osvedčuje. Nedostatočná výťažnosť liehu zo zápar použitých pre pokusy, je zapríčinená nedostatkom aktívnej amylázy.

Výsledky sú zostavené v nasledujúcej tabuľke:

Tabuľka 25.

Etanol stanovil sa pyknometricky.

Zápara scukrená pri teplote	100 cm slad. výluhu o koncentrácii	Výťažnosť na škrob	% teórie'
	%	1%	%
60	10	52.16	72.82
	20	54.96	76.76
37	10	50.76	70.89
	20	54.96	76.76
30	10	53.53	74.80
	20	56.36	78.81

S ú h r n.

Shrnujúc doterajšie výsledky experimentov, môžeme v krátkosti konštatovať nasledovné:

Enzymatická hydrolýza koncentrovaných roztokov škrobu — a za takéto môžu sa považovať liehovarské zápary — neprebíha podľa mŕnomolekulárnej rovnice. Po schladení zápar na teplotu

scukrenia a po prísade suspenzie enzymatického preparátu, konverzia škrobu uskutočňuje sa veľkou rýchlosťou, takmer bleskove. Po premene väčšej polovice škrobu v maltózu pochod sa postupne spomaluje a zastavuje sa pri dosiahnutí odbúracej hranice škrobu a to bez ohľadu na teplotu pokusnú.

Príčinou zmeny typu reakcie je predovšetkým vyššia koncentrácia škrobového roztoku. Vyššia reakčná teplota dosiaľ pokladaná ako hlavná príčina zmeny typu reakcie, nezdá sa, že by mala tak významný vplyv. Dokazuje to skutočnosť, že priebeh hydrolýzy nie je monomolekulárny v koncentrovanom roztoku škrobu ani pri nižších teplotách.

Kjeldahlom, Lüers-Wasmundom a Euler-Swanbergom vypracované predpoklady pre monomolekulárny priebeh hydrolýzy škrobového roztoku v praxi liehovarskej nie sú a — v dôsledku požadovanej rentability výroby — nemôžu byť dodržané. Preto dnešnými metódami stanovené diastatické hodnoty enzymatických preparátov nemôžu poskytnúť údaje o skutočnej priemyselnej hodnote diastatických preparátov.

Po skončení hydrolýzy dosiahnutím odbúracej hranice, zastaví sa pochod konverzie škrobu v maltózu a v scukrených záparách ostáva amyláza takmer neporušená. Aktivita amylázy ostávajúcej v zápore závisí od teploty scukrenia. Je väčšia, keď teplota scukrenia bola nižšia a menšia, keď bola vyššia.

Dokázalo sa, že priebehom hydrolýzy zvyšuje sa aktivita amylázy pravdepodobne následkom fyzikálne chemických pochodov, priebehom ktorých zbavuje sa prostetická skupina enzemu časti sprievodných balastných látok. Následkom biologického prečistenia amylázy, zápara obohatila sa enzynom. Priebeh ďalšieho pochodu sladové dextriny za prítomnosti živých kvasníc majú sa odbúrať takto prečistenou amylázou.

Vzdornosť amylázy proti vplyvom súvisejúcim so stárnutím roztokov pri dlhšom stáaní je pomerne veľká a závisí od teploty scukrenia škrobového roztoku. Vyššia teplota scukrenia snižuje síce aktivitu amylázy v zápore, ale zvyšuje jej vzdornosť proti vplyvom, ktoré môžu pôsobiť medzi dobou naočkovania kvasnicami a ich primeraného rozmnoženia.

Prísadou kvasníc ovplyvňuje s aktivita enzemu.

*Z výskumného ústavu priemyslu výživ
Bratislava.*

S u m m a r y.

Recapitulating the existing experimental results, we can briefly say the following:

The enzymatic hydrolysis of concentrated starch solutions — i. e. for instance the distillery mash — does not follow the mono-

molecular equation. After the mash is cooled to the saccharification temperature and after adding the suspension of enzymatic preparation, the conversion of starch takes place very quickly. After the larger half of starch has been changed into maltose, the rate of the process gradually slows down and stops after reaching the decomposition limit of starch irrespective of the testing temperature.

The change of the reaction type is caused mainly by the higher concentration of the starch solution. Higher reaction temperature which was thought to be the main cause of the change of the reaction type does not seem to have an important influence. This is proved by the fact that the course of hydrolysis in concentrated starch solutions is not monomolecular, even at lower temperatures.

The assumptions of the monomolecular course of the hydrolysis of starch solution made by Kjeldahl, Lüers-Wasmund and Euler-Swamberg, are not and can not be kept — as a consequence of the required production rentability — in distillery practice. For this reason the diastatic values of enzymatic preparations determined by present methods, can not supply data of real industrial value of diastatic preparations.

The hydrolysis ends by reaching the decomposition limit, the process of the starch conversion into maltose stops, and in the saccharified mash remains amylase almost inactivated. The activity of the amylase remaining in the mash depends on the saccharification temperature. The activity is greater when the saccharification temperature was lower and vice versa.

It has been found that the activity of amylase increases during the hydrolysis, probably as a result of physico-chemical changes during which the prosthetic group of enzyme get rid of the part of accompanying ballast material. As a result of the biological purification of amylase, the mash enriches itself with enzyme. During the next step the malt dextrins should be decomposed by the purified amylase in the presence of living yeast.

The resistance of amylase to the action of the older solutions is relatively large and depends on the saccharification temperature. The higher saccharification temperature decreases the activity of amylase in the mash, but increases its resistance to the influences which can act in the time between yeast inoculation and its adequate propagation.

The activity of enzyme is influenced by the addition of yeast.

*Research Departement of Food industry,
Bratislava.*

В ы в о д ы

Суммируя, полученные до сих пор результаты экспериментов, мы можем сделать следующие выводы:

Энзиматический гидролиз концентрированных растворов крахмала, а такими можно считать заторы спиртового производства, не протекает по мономолекулярному уровню. После охлаждения затора на температуру осахаривания и после добавления суспензии энзиматического препарата, конверсия крахмала происходит с большой скоростью, т. е. почти мгновенно. После превращения большей половины крахмала в мальтозу процесс понемногу замедляется, и останавливается после достижения граничного пасада крахмала и это происходит независимо от температурных условий в которых производится опыт.

Причиной перемены типа реакции является прежде всего повышенная концентрация раствора крахмала. Повышенная температура реакции, считавшаяся, до сих пор главной причиной перемены типа реакции, как будто бы не оказывает такое значительное влияние. Это доказывает действительно то, что протекание гидролиза не является в концентрированном растворе крахмала мономолекулярное даже при низших температурах.

Кьельдалем, Люэрс- Васмундом и Эулер- Сванбергом выработанные предположения мономолекулярного гидролизного хода раствора на практике спиртовой промышленности не додерживаются и не могут быть додержаны в следствии требуемой рентабельности производства. Поэтому диастатическая стоимость энзиматических препаратов, которая определяется теперешними методами, не может нам дать достаточные данные о действительной стоимости диастатических препаратов.

После окончания гидролиза достигается граничный распад и останавливается процесс конверсии крахмала в мальтозу, а в осахаренных заторах остается почти не тронутая амилаза. Активность амилазы оставшейся в заторе зависит от температуры осахаривания. Активность больше, если температура осахаривания была ниже и меньше, если температура осахаривания была выше.

Удалось доказать, что во время протекания гидролиза повышается активность амилазы, вероятно в следствии физико-химических процессов, с ходом которых простетическая группа энзима избавляется от части сопровождающих её балластных веществ. Вследствии биологического очищения амилазы затор обогащается энзимом. Во время протекания дальнейшего процесса солодовые декстрины, в присутствии живых дрожжей, должны расщепиться с помощью таким образом очищенной амилазой.

Устойчивость амилазы против влияния старения растворов, стоящих более продолжительное время относительно велика и зависит от температуры осахаривания раствора крахмала. Высшая температура осахаривания хотя и понижает активность амилазы в заторе, но повышает ее устойчивость против влияниям, могущим действовать с момента засева дрожжей до времени, соответствующего их размножению.

Добавление дрожжей влияет на активность энзима.

*Областной исследовательский институт
Словацкой пищевой промышленности,
Братислава.*

L i t e r a t ú r a

1. *Lintner—Sollied: Zs ges. Brauwes.* 26 (1903) 329.
2. *Chrzaszcz—Janicki, Bio. Z.* 242 1931, 30, 256 (1931/32) 252.
3. *U. Ohlsson, Zs. physiol. Chem.* 126 (1923) 29.
4. *Wohlgemuth, Bio. Z.* 21 (1909) 432.
5. *Samec, Zs. f. physiol. Chem.* 236 (1935) 103.
6. *Sabalitschka—Weidlich: Bio. Z.* 207 (1929) 431.
7. *Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Teil 1, Heft 6, Verl. Urban-Schwarzenberg, Berlin, 1931.*
8. *Foth: Handb. d. Spiritusfabrikation, Parey, Berlin 1929.*
9. *Macher: Prakt. Brennerei-Betriebskontrolle, Wigand, Brat. 1936.*
10. *J. Blom—A. Back —B. Braae: Zs. f. physiol. Chem.* 250 (1937) 103.
11. *C. Oppenheimer—A. Hesse: Technologie d. Fermente, Ezymatische Technologie d. Gärungsindustrien, Verl. Thieme, Leipzig, 1929.*
12. *Euler—Schwanberg: Zs. f. physiol. Chem.* 112 (1920) 193.
13. *Lüers—Wasmund: Fermentforsch.* 5 (1922) 166.
14. *Samec: Die neure Entwicklung der Kolloidchemie d. Stärke, Steinkopf. Dresden, 1941.*
15. *Bamann—Myrbäck: Die Methoden d. Fermentforschung. 1940.*
16. *Nordh—Weidenhagen: Handb. d. Enzymologie, Akad. Verlagsges. Leipzig 1940.*
17. *Willstätter—Schudel: Ber. dtsch, chem, Ges.* 51. (1918) 780.
18. *Kjeldhal: C. R. Trav. Lab. Carlsberg 1 (1879), Z. ges. Brauwes.* 1880, 49 (cit. podľa 11.).
19. *Lintner—Eckart: Zs. ges. Brauwes.* 24 (1889) 389.
20. *Lüers: Phytoamylasen, Oppenheimer—Pincussen: Die Fermente und ihre Wirkungen, sv. III. Die Methodik des Fermente, Thieme, Leipzig, 1928.*

21. *Lintner*: J. prakt. Chem. NF 34 (1886) 383,
22. *Wirth*: Ztschr. ges. Brauw. 31 (1908) 421.
23. *Windisch—Kolbach*: Ws. Brau. 42 (1925) 139.
24. *Ducháček—Žila*: *Ducháček—Měštan*: Rozbory sklárské Brno 1927.
25. *Thorne, Emerson, Olson a Peterson*, Ind. Eng. Chem. 1945, 11, 1142/44
26. *Reese, Fulmer, Underkofler*, Analytical Chem. Vol. 20. 1948, No. 343.
27. *Dinaier—Sichert*: Bio. Z. 198/1925.
28. *Avery—Burger*: B. I. O. Final. Report 710.
29. *Lühder*: Die Spiritusfabrikation. Ullman, Enzyklopedic d. techn. Chemie II. vyd. 1929, sv. I, str. 600.
30. *Pringsheim a spoluprac.*: Ber. dtsh. Chem. ges. 56, 1762, Bio. Z: 142, 116
31. *Weidenhagen—Wolf*: Z. Ver. d. dtsh. Zuckerindustrie 80, 1930.
32. *Euler—Lindner*, Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung, Leipzig. Akad. Verlagsgesell. 1915.

O pečivosti pšeničných múk

LUDOVÍT MATHERNY a NIKOLAJ MICHAJLOVSKIJ

Mlynárska chémia začala sa vyvíjať v dobe medzi dvoma svetovými vojnami, keď konkurencia medzi jednotlivými mlynmi sa vyostřila a štáty vyvážajúce pšenicu mohli výhodne predávať len kvalitný tovar. Hlavný záujem sa sústredil na otázku pečivosti múk, získaných z rôznych druhov pšenice a tak konkurencia donútila väčšie mlyny vybudovať, prípadne zväčšiť chemické laboratória. Hoci vyvážajúce štáty mali svoje štátne výskumné ústavy, ktoré sa medzi iným zaoberaly aj týmto problémom, predsa ich rozpočet nedovolil rozsiahlejšie sledovať pečivosť a príčiny rôznej pečivosti múk. Kríza však donútila tieto štáty nielen zvýšiť položku rozpočtu, ale i zriadiť osobitné mlynárske ústavy, spojené s obilnými šľachtiteľskými stanicami. Nakoľko z obilia v medzinárodnom obchode najväčšiu úlohu hrala pšenica, zaoberaly sa tieto výskumné ústavy predovšetkým pečivosťou múky z pšenice. K tomu prispelo aj to, že už pred prvop svetovou vojnou sa odborníci zaoberali pečivosťou najmä pšeničných múk, čo bolo umožnené tým, že z týchto dá sa vyprať tzv. lepek, ktorým sa budeme zapodievať neskoršie.

Pečivosť. V predchádzajúcom sme hovorili o pečivosti múk ako o známom pojme, bez toho, že by sme podali jeho definíciu. Posudky odborníkov v tomto ohľade ešte nesúhlasia úplne, ale najrozšírenejšia je táto definícia:

pod pojmom pečivosti rozumieme tú vlastnosť múk, do akej miery sú schopné dať pečivo pekne klenuté, s veľkým obje-