

Technologie výroby škrobového sirupu a její vliv na výstupní kvalitu

Bc. Petra Smiešková

Diplomová práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petra Smiešková**

Osobní číslo: **T140003**

Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie potravin**

Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Technologie výroby škrobového sirupu a její vliv na výstupní kvalitu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Technologie výroby pšeničného škrobu.
2. Technologie výroby škrobového sirupu a maltodextrinu.
3. Parametry a ověřování kvality vstupních surovin a výstupních produktů.

II. Praktická část

1. Metodika stanovení a shromáždění vzorků.
2. Stanovení sacharidového složení jednotlivých glukózových, maltózových sirupů a maltodextrinů v závislosti na stupni zcukření.
3. Zhodnocení vlivu výroby na stabilizaci barvy sirupových šťáv.
4. Zpracování a vyhodnocení výsledků.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: Chemie potravin I. 3. rozšířené a přepracované vydání.

Tábor: OSSIS, 2009. 602 s., ISBN 978-808-6659-17-6.

[2] VODRÁŽKA, Z., a kol.: Enzymologie. 3. přepracované vydání. Praha: VŠCHT, 1998, 171 s., ISBN 80-708-0330-4.

[3] ČOPÍKOVÁ, J.: Chemie a analytika sacharidů. 1.vydání. Praha: VŠCHT, 1997. 104 s., ISBN 80-708-0306-1.

[4] KADLEC, P.: Technologie sacharidů. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 2000. 138 s., ISBN 80-708-0400-9.

[5] ČEPIČKA, J., a kol.: Obecná potravinářská technologie. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 1995. 246 s., ISBN 80-7080-239-1.

[6] HULL, P.: Glucose Syrups: Technology and Applications. 1.edition, 2010, 392 p., ISBN 978-1405175562.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Jiří Mlček, Ph.D.

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

20. ledna 2016

Termín odevzdání diplomové práce:

29. dubna 2016

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 22. dubna 2016



¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Škrob a výrobky ze škrobu nacházejí široké uplatnění nejen v potravinářském průmyslu. Je mnoho druhů škrobů z různých rostlinných zdrojů a každý má své specifické vlastnosti.

Jednou skupinou výrobků ze škrobu jsou i škrobové hydrolyzáty. Hydrolyza škrobu může být provedena dvěma způsoby a to kyselou či enzymatickou cestou. Enzymatická hydrolyza má výhodu v tom, že proces a výsledné sacharidové složení lze lépe řídit.

Cílem práce bylo sledovat účinek několika druhů amylolytických enzymů na různé druhy škrobu.

Rychlost ztekucení u pšeničného B škrobu je vyšší zejména v prvních minutách, později už nárůst DE (dextrózového ekvivalentu) není tak prudký. Ostatní škroby mají podobné křivky nárůstu DE.

Zcukřující α amylasa nevíce hydrolyzovala bramborový škrob, kde došlo k nejvyššímu nárůstu DE, ale i glukosy, maltosy a maltotriosy. β amylasa hydrolyzovala kukuřičný a bramborový škrob až na glukosu, u pšeničného A i B škrobu byla produkována zejména maltosa a v menší míře maltotriosa. Glukoamylasa všechny škroby štěpila až na glukosu. Pullulanasa nejvíce hydrolyzovala bramborový škrob a nejméně pšeničný B škrob.

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že při enzymové hydrolyze záleží na druhu škrobu a výběru enzymu pro dosažení optimálních výsledků.

Klíčová slova: enzymová hydrolyza, ztekucení, zcukření, škrob, kukuřice, brambory, pšenice, α amylasa, β amylasa, glukoamylasa, pullulanasa

ABSTRACT

Starch and its products have wide applications, which doesn't include solely food industry. There are many kinds of starch from various crop sources and each has its specific characteristics.

One group of starch products are also starch hydrolyzates. Hydrolysis of starch can be done via two methods - by either acidic or enzymatic way. Enzymatic hydrolysis has an advantage in certain aspects - that the process and resultant saccharid composition can be controlled more easily.

The purpose of this thesis was to observe the effect of several kinds amyolytic enzymes on different kinds of starch.

The speed of liquefaction for wheat B starch is higher especially in first minutes, later the growth of DE (dextrose equivalent) is not that rapid. Other starches have similar growth curve of DE.

The saccharifying α amylase hydrolysed potato starch the most, where the biggest growth of DE occurred, but also glucose, maltose and maltotriose. β amylase hydrolysed corn and potato starches to glucose, with wheat A and B starches were produced mainly maltose and secondarily maltotriose. Glucoamylase broke all starches down to glucose. Pullulanase hydrolyzed potato starch the most and wheat B starch the least.

From the gathered results can be seen, that achieving optimal results with enzymatic hydrolysis depends on both starch kind and enzyme choice.

Keywords: enzyme hydrolysis, liquefaction, saccharification, starch, corn, potato, wheat, α amylase, β amylase, glucoamylase, pullulanase

Ráda bych poděkovala panu Ing. Jiřímu Mlčkovi, Ph.D. za ochotu, cenné rady a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Pavle Havlové, Ph.D. a Ing. Jiřímu Kaparovi za pomoc při praktické části pokusu, s vyhodnocováním výsledků a také za inspiraci.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 TECHNOLOGIE A SUROVINY PRO VÝROBU ŠKROBU	13
1.1 PŠENICE.....	13
1.1.1 Složení pšeničného zrna.....	13
1.1.2 Chemické složky mouky	14
1.1.3 Sacharidy obilovin	14
1.1.4 Neškrobové polysacharidy	15
1.1.5 Bílkoviny obilovin	15
1.1.5.1 Pšeničný lepek	16
1.1.6 Tuky obilovin	16
1.1.7 Výroba pšeničného škrobu.....	17
1.1.7.1 Martinův způsob	17
1.1.7.2 Dělení řídkého těsta na speciálních odstředivkách	17
1.2 BRAMBOROVÝ ŠKROB	18
1.2.1 Složení bramborových hlíz	18
1.2.2 Výroba bramborového škrobu.....	19
1.3 KUKUŘIČNÝ ŠKROB	22
1.3.1 Složení kukuřičného zrna.....	23
1.3.2 Výroba kukuřičného škrobu	24
1.4 VLASTNOSTI ŠKROBU	25
1.4.1 Struktura škrobu	25
1.4.2 Mazovatění škrobu	26
1.4.3 Retrogradace škrobu.....	27
2 ŠKROBOVÉ HYDROLYZÁTY A JEJICH TECHNOLOGIE	28
2.1 KYSELÁ HYDROLÝZA	28
2.2 ENZYMOVÁ HYDROLÝZA.....	28
2.2.1 Enzymy	29
2.2.1.1 Alfa amylasy	29
2.2.1.2 Beta amylasy	30
2.2.1.3 Archebakteriální amylasy	30
2.2.1.4 Isoamylasa, amylopullulanasa	31
2.3 RAFINACE ŠKROBOVÝCH HYDROLYZÁTŮ	32
2.3.1 Filtrace zcukřených šťáv	32
2.3.2 Čištění šťáv pomocí ionexů.....	32
2.3.3 Odpařování a sušení sirupových šťáv	33
2.4 PRODUKTY HYDROLÝZY.....	33
2.4.1 Maltodextrin.....	33
2.4.1.1 Vlastnosti a použití maltodextrinu	34
2.4.2 Glukózový sirup	34
2.4.2.1 Použití glukózového sirupu	34
3 CÍLE PRÁCE	36
II PRAKTICKÁ ČÁST	37

4	MATERIÁL A METODIKA	38
4.1	ZTEKUCENÍ A ZCUKŘENÍ RŮZNÝCH DRUHŮ ŠKROBU.....	38
4.2	STANOVENÍ REDUKUJÍCÍCH SACHARIDŮ DLE SCHOORLA.....	39
4.2.1	Pracovní postup.....	40
4.2.2	Stanovení DE výpočtem.....	41
4.3	STANOVENÍ SACHARIDOVÉHO SLOŽENÍ CHROMATOGRFICKY	42
4.4	STANOVENÍ BARVY SIRUPOVÝCH ŠTÁV PŘED A PO PRŮCHODU IONEXOVÝMI KOLONAMI.....	42
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	43
5.1	ZTEKUCENÍ ŠKROBU	43
5.2	ZCUKŘENÍ ŠKROBU RŮZNÝMI DRUHY ENZYMŮ.....	44
5.2.1	Vliv α amylasy na různé druhy škrobů	44
5.2.2	Vliv β amylasy na různé druhy škrobů	47
5.2.3	Vliv glukoamylasy na různé druhy škrobů	50
5.2.4	Vliv pullulanasy na různé druhy škrobů	53
5.3	SPEKTROFOTOMETRIE SIRUPOVÝCH ŠTÁV	55
	ZÁVĚR	57
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	58
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	63
	SEZNAM OBRÁZKŮ	64
	SEZNAM TABULEK.....	65
	SEZNAM PŘÍLOH.....	66

ÚVOD

Škrob a výrobky ze škrobu nacházejí široké uplatnění nejen v potravinářském průmyslu. Jednou skupinou výrobků ze škrobu jsou škrobové hydrolyzáty, které mají v dnešní době nezastupitelné místo. Řetězce škrobu jsou v tomto procesu štěpeny až na glukosu. Stupeň hydrolyzy škrobu se vyjadřuje jako DE (dextrózový ekvivalent). Podle tohoto parametru se tyto hydrolyzáty dělí do několika skupin (maltodextriny, glukózové sirupy). Tyto produkty se používají například pro zlepšení barvy, textury, chuti a stability mnoha potravin. Využívají se v různých odvětvích potravinářského průmyslu, jako například při výrobě nápojů (alkoholických i nealkoholických), nebo cukrovinek či mléčných výrobků.

Glukózový sirup se používá jako náhrada cukru nebo medu v mnoha recepturách, které vyžadují nižší stupeň sladkosti. Také se používá v ovocných a zeleninových konzervách, nebo při výrobě rajčatové omáčky a kečupu.

Konverze škrobu může být provedena dvěma způsoby a to kyselou či enzymatickou hydrolyzou. Enzymatická hydrolyza má hlavní výhodu v tom, že proces a výsledné sacharidové složení lze lépe řídit.

Škrobové hydrolyzáty se vyrábí zejména z kukuřičného škrobu. V menší míře se vyrábí i z pšeničného, bramborového či jiných škrobů. Každý škrob má své specifické vlastnosti.

V této diplomové práci byl zkoumán účinek enzymů na hydrolyzu několika druhů škrobu. Nejprve byly ztekuceny suspenze škrobu bakteriální α amylasou. Poté byly přidány různé druhy zcukřujících enzymů, přičemž každý tvoří specifické produkty.

Při reakcích bylo sledováno DE a sacharidové složení, což jsou nejdůležitější parametry škrobových hydrolyzátů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TECHNOLOGIE A SUROVINY PRO VÝROBU ŠKROBU

Škrob patří mezi fyziologicky a hospodářsky nejdůležitější polysacharidy. Ukládá se procesem asimilace v zásobních orgánech rostlin (v hlízách brambor nebo semenech kukuřice, pšenice, rýže) ve formě škrobových zrn. Podle surovin, ze kterých je vyrobený, rozeznáváme škrob bramborový, kukuřičný, pšeničný, rýžový a jiné [1].

1.1 Pšenice

Pšenice je obilovina, rostlina rodu *Triticum* [2]. Po kukuřici a rýži je jedna z nejrozšířenějších obilnin [3].

1.1.1 Složení pšeničného zrna

Pšenice patří k obilovinám, které provází lidstvo od nepaměti. Pšenice se pěstuje zejména pro zrna (obilky). Hlavní anatomické části obilky jsou klíček, endosperm a aleuronová vrstva. Tyto části se svým chemickým složením výrazně liší [4], [5].

Tabulka 1 Složení pšeničného zrna [6]

Parametr	Průměrné složení (%)
Škrob	68,4
Vláknina	1,2
Proteiny	13,5
Cukry	0,8
Popeloviny	0,6
Lipidy	1,5
Voda	14

Obalové vrstvy tvoří ochranu obilky před vnějšími vlivy. V mlýnské technologii se označují jako otruby [5].

Klíček je vlastním zárodkem nové rostliny a nositelem genetické informace. Při mlýnském zpracování je oddělován. Je bohatý na bílkoviny a tuk, který má na vzduchu krátkou stabilitu [5], [7].

Endosperm neboli vnitřní živné pletivo je vnitřní část zrna. Představuje největší podíl zrna a je technologicky nejvýznamnější částí. Pšeničná mouka je téměř čistý rozdrcený pšeničný endosperm. Největší část endospermu tvoří škrob, hned za ním následuje bílkovina. Ta tvoří asi desetinu obsahu endospermu [5].

Aleuronová vrstva je nejvrchnější vrstva endospermu. Obsahuje převážně globuliny a také obsahuje hodně barevných látek [5], [7].

1.1.2 Chemické složky mouky

Základními stavebními složkami obilných zrn jsou sacharidy a bílkoviny. Obě tyto složky jsou složeny z jednoduchých molekul, které jsou vždy základní stavební složkou polymeru. V případě bílkovin jsou těmito stavebními jednotkami aminokyseliny a u sacharidů jsou to monosacharidy (jednoduché cukry, v případě škrobu je to glukosa). V malých množstvích se v zrnech nachází i další složky, jako například lipidy, minerální látky, v malém množství i vitaminy, barviva atd [5].

1.1.3 Sacharidy obilovin

Monosacharidy jsou základními stavebními jednotkami oligo- a polysacharidů. Volné se vyskytují ve zralých obilných zrnech pouze v nepatrném množství a to především v klíčku. Do mouky se jim dostává jen málo (cca 1-3 %). Mezi nejvýznamnějšími monosacharidy v obilovinách patří pentosy - arabinosa, xylosa, ribosa; z hexos jsou to glukosa, fruktosa, galaktosa, manna [5].

Mezi nejvýznamnější oligosacharidy patří maltosa (dvě molekuly glukosy spojené vazbou α -1 \rightarrow 4) a isomaltosa (tvořená dvěma molekulami glukosy, které jsou spojené vazbou α -1 \rightarrow 6) [5].

Polysacharidy jsou vedle bílkovin nejvýznamnější skupinou biopolymerů obilovin. Podle účelu v rostlině je možno je rozdělit na zásobní a stavební polysacharidy. Škrob je typickým představitelem zásobních polysacharidů. Tento druh polysacharidů je pro organismy zdrojem či rezervoárem energie. Stavební polysacharidy jsou základem buněčných stěn rostlin, prakticky nosným skeletem rostlinných pletiv. Patří mezi ně celulóza, hemicelulózy, lignin

a další. Polysacharidy obilných zrn dělíme nejčastěji na škrob a neškrobové polysacharidy [5].

1.1.4 Neškrobové polysacharidy

Neškrobové polysacharidy jsou zastoupeny především v obalových vrstvách obilky. Průměrný obsah neškrobových polysacharidů v sušině obalových vrstev se pohybuje mezi 35 – 45 % [8].

Celulosa je hlavní stavební látka buněčných stěn vyšších roslin. Je podobně jako škrob vybudována z polymerů tvořených řetězci glukosových jednotek, které jsou spojeny vazbou β -(1 \rightarrow 4). Celulosa není rozpustná ve vodě, a za normálních teplot ani výrazně nebobtná [5], [8].

Arabinoxylany jsou další skupinou polysacharidů v buněčných stěnách endospermu pšenice. Jsou tvořeny převážně arabinosou a xylosou. Nazývají se pentosany, protože jsou polymery pentos – monosacharidů s 5 atomy uhlíku v molekule. Podle rozpustnosti se dělí na pentosany rozpustné ve vodě a pentosany ve vodě nerozpustné [8].

1.1.5 Bílkoviny obilovin

Obsah bílkovin v sušině obilky se liší podle botanického druhu obilky, odrůdy, podmínek pěstování, atd. ale obecně platí, že sušina obilky vypěstované v ČR obsahuje 8 – 15 % bílkovin. Obsah a vlastnosti bílkovin významně ovlivňují technologickou kvalitu obilky, i když požadavky různých zpracovatelů se významně liší [8].

Obilné bílkoviny se dělí podle různých hledisek, např. podle rozpustnosti, velikosti molekul, chemického složení atd. Nejčastěji se používá klasické Osbornovo rozdělení a je založeno na rozpustnosti. Takto jsou bílkoviny rozděleny na čtyři základní frakce: albuminy (rozpustné ve vodě), globuliny (rozpustné v solných roztocích), prolaminy (rozpustné v 70 - 90% alkoholu) a gluteliny (rozpustné ve zředěných roztocích kyselin a zásad) [8].

Protoplazmatické bílkoviny, mezi které patří albumin a globuliny, tvoří s nukleovými kyselinami a lipidy strukturu cytoplazmy a buněčného jádra, jiné patří mezi enzymaticky aktivní bílkoviny. Prolaminy a gluteliny jsou zásobní bílkoviny. Při klíčení zrna se snadno štěpí na aminokyseliny a peptidy a jsou tak zdrojem dusíku pro tvorbu bílkovin, které se syntetizují ve vyvíjejícím se embryu [8].

Pšeničné prolaminy se nazývají gliadiny a pšeničné gluteliny jsou označovány jako gluteniny. Souhrnně se gliadiny a gluteniny označují jako lepkotvorné bílkoviny. Obsah a kvalita lepkotvorných bílkovin významně ovlivňuje vlastnosti pšeničného těsta, a tím rozhoduje o jeho vhodnosti na výrobu různých druhů výrobků [8].

1.1.5.1 Pšeničný lepek

Jak už bylo naznačeno výše, lepek je pšeničný protein. Je tvořen dlouhými molekulami nerozpustnými ve vodě. To dává těstu jeho charakteristickou strukturu a umožňuje výrobkům (zejména pekařským) zvětšovat svůj objem. V pekárenské technologii má těžko nahraditelnou roli, protože oxid uhličitý produkovaný kvasinkami je zadržen v lepkové síti [2].

Lepek je velice cenný vedlejší produkt při výrobě škrobu z pšenice. Ve skutečnosti je škrob považován některými výrobci za vedlejší produkt a lepek za hlavní produkt [2].

Teprve při vlastním hnětení pšeničné mouky s vodou dochází právě ke vzniku lepku a ten tvoří vlastní "kostru" těsta. Lepek je charakteristický tažností, pružností a schopností bobtnat [5].

Pšeničné gliadiny poskytují lepku tažnost a pšeničné gluteniny poskytují lepku pružnost. Tyto dvě frakce bývají zastoupeny ve vzájemném poměru 2:3 [5].

Gluten se extrahuje a jemně suší vzduchem při mírných teplotách pro uchování jeho vlastností. Označuje se "vitální lepek". Vitální gluten může být přidán ve formě suchého prášku do mouky chudé na lepek a tím zlepšit pekárenské vlastnosti mouky [2].

Komerční gluten se vysuší na minimálně 90 % sušiny a typické složení je:

- 70 – 80 % dusíkatých látek,
- 6 – 8 % lipidů,
- 10 – 14 % sacharidů,
- 0,8 - 1,4 % minerálních látek.

[2]

1.1.6 Tuky obilovin

Tuky tvoří poměrně malý podíl a jejich nepříjemnou vlastností je značný sklon k žluknutí, což je v podstatě oxidační proces, závislý na působení vzdušného kyslíku, vody, světla, teploty a mikroorganismů [7].

1.1.7 Výroba pšeničného škrobu

Výroba pšeničného škrobu začíná zaděláním jednomleté mouky, která by měla obsahovat co nejvyšší podíl A škrobu (škrob velkozrnný) a co nejméně poškozená zrna, s vodou vtěsto, které se nechá odležetasi 30 minut (čas pro vytvoření lekové sítě a jeho nabobtnání). Technologie pšeničného škrobu se dělí dle konzistence připraveného těsta na dva druhy a to:

- Vypírání škrobu z hustého těsta – Martinův způsob
- Dělení řídkého těsta na speciálních odstředivkách

1.1.7.1 Martinův způsob

Tento postup je nazýván také jako klasický způsob. Mouka se smíčí s 40 – 60 % vody a vytvoří se husté těsto. Po odležení se těsto vypírá v kontinuálních žlebových vypíračích s cílem oddělit škrob od lepku a hrubé vlákniny (otrub). Vypírání se provádí protiproudým způsobem, kdy do poslední sekce vypírače vstupuje čistá voda (odkud vychází vypraný lepek) [9], [10].

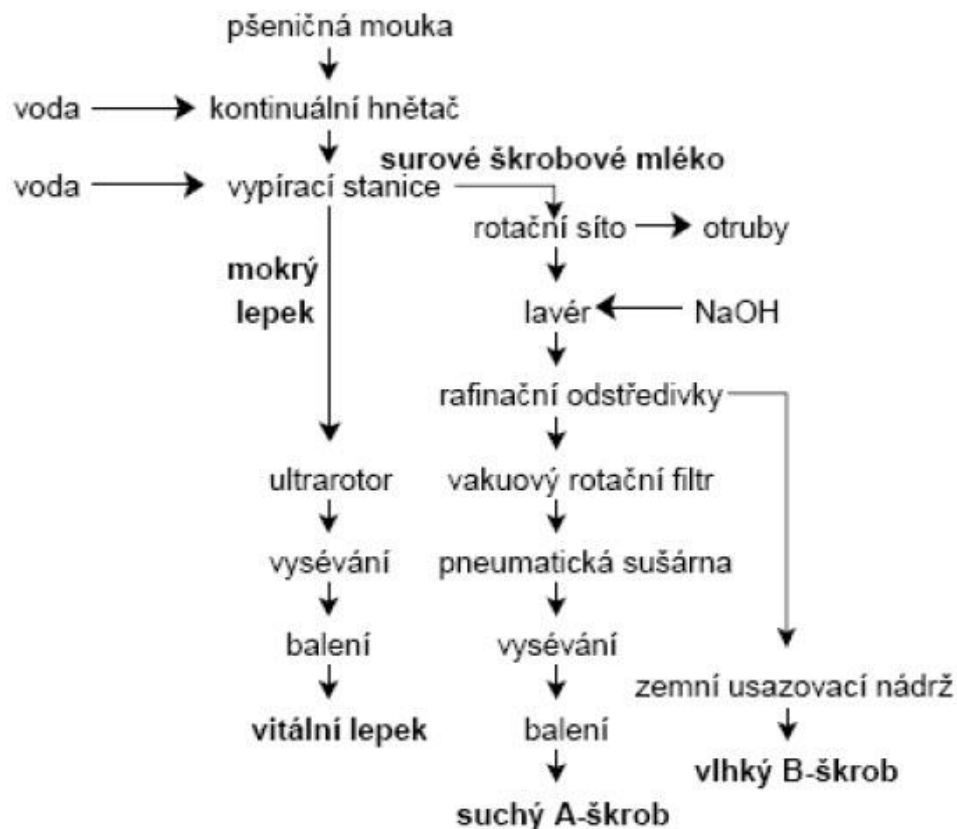
Vypraný lepek je po odvodnění a smísení s částí vráceného suchého lepku šetrně sušen v ultrarotoru (při teplotě 50 °C). Poté následuje vysévání a balení (do pytlů či žoků). Takto se získá suchý vitální lepek [9].

Pšeničný škrob se získává úpravou surového škrobového mléka. Ta začíná rafinací, která probíhá na rotačních sítích a při které se odstraní otruby. Následně se oddělí B škrob (škrob malozrnný) pomocí rafinačních odstředivek. Oddělený B škrob se používá k výrobě bioplynu, v lihovarnictví nebo ke krmení zvířat [9].

A škrob se předsuší za vakua a následně suší v pneumatické sušárně. Usušený škrob, tzv. pudr (86 % sušiny) se prosévá, pytluje, váží a expeduje [9], [11].

1.1.7.2 Dělení řídkého těsta na speciálních odstředivkách

Z mouky a vody se vytvoří řídké těsto. Toto těsto se po odležení odstřeďuje na dekantérech (vzniknou 2 frakce a to A škrob a frakce obsahující lepek, B škrob a rozpustné podíly), nebo na trikantérech (vzniknou 3 frakce: A škrob, lepek s B škrobem a třetí frakcí jsou pentosany). Další zpracování lepku i škrobu je prakticky stejné jako u vypírání z hustého těsta.



Obrázek 1 Obecná technologie výroby pšeničného škrobu [6]

1.2 Bramborový škrob

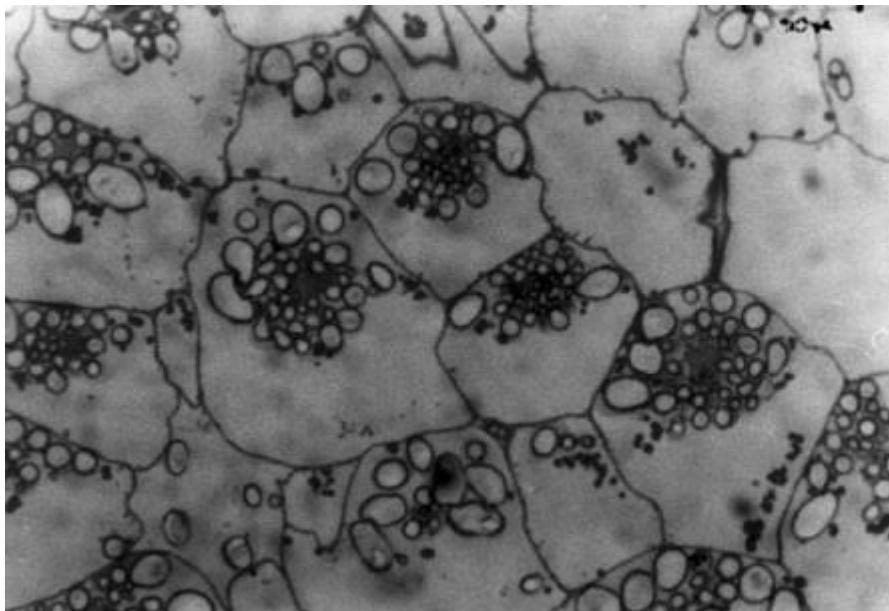
Celková produkce bramborového škrobu je malá v porovnání s celkovým množstvím škrobu vyrobeného ve světě. V České republice tvoří výroba bramborového škrobu přibližně 10% celkové produkce [6]. Avšak navzdory faktu, že se jedná o poměrně malé množství, je výroba bramborového škrobu nepostradatelnou součástí českého škrobárenského průmyslu.

1.2.1 Složení bramborových hlíz

Chemické složení brambory je velmi důležité pro průmysl bramborového škrobu. Je nutné zvážit faktory jako sušina, škrob a obsah proteinu. Zejména podíl sušiny je relevantním faktorem, vzhledem k tomu, že škrob je její majoritní složkou. Z tohoto důvodu existuje vysoká korelace mezi obsahem sušiny a obsahem škrobu obsaženého v hlíze [12].

Bramborové hlízy kromě škrobu obsahují také další polysacharidy - vlákninu, hemicelulosy, pektiny, hexosany a pentosany. V menší míře brambory obsahují i dusíkaté látky, které tvoří

bílkoviny, aminokyseliny, amidy a anorganické sloučeniny. Hlízy dále obsahují tuky a organické kyseliny. V hlízách brambor se vyskytuje směs glykoalkaloidů, které jsou označeny jako solanin [6].



Obrázek 2 Buňky brambor se škrobovými zrny [11]

1.2.2 Výroba bramborového škrobu

Výroba bramborového škrobu spočívá v izolaci škrobových zrn od ostatních látek obsažených v bramborové hlíze. Pro efektivní produkci bramborového škrobu by brambory měli obsahovat co největší množství škrobu. V moderních škrobárnách se proto používají pouze některé odrůdy průmyslových brambor, které alenejsou díky vysokému podílu škrobu příliš chutné. Brambory jsou sklíženy a zpracovávány v Evropě v období mezi srpnem a dubnem [13].

Konzumní odrůdy brambor se pro výrobu škrobu nepoužívají ve velké míře, hlavně pro jejich nízký obsah sušiny a poměrně malé škrobové granule, které je složitější zpracovat. Avšak pokud je cena těchto brambor nízká, často kvůli jejich nadprodukcí, jsou rovněž využívány pro tento účel [6].

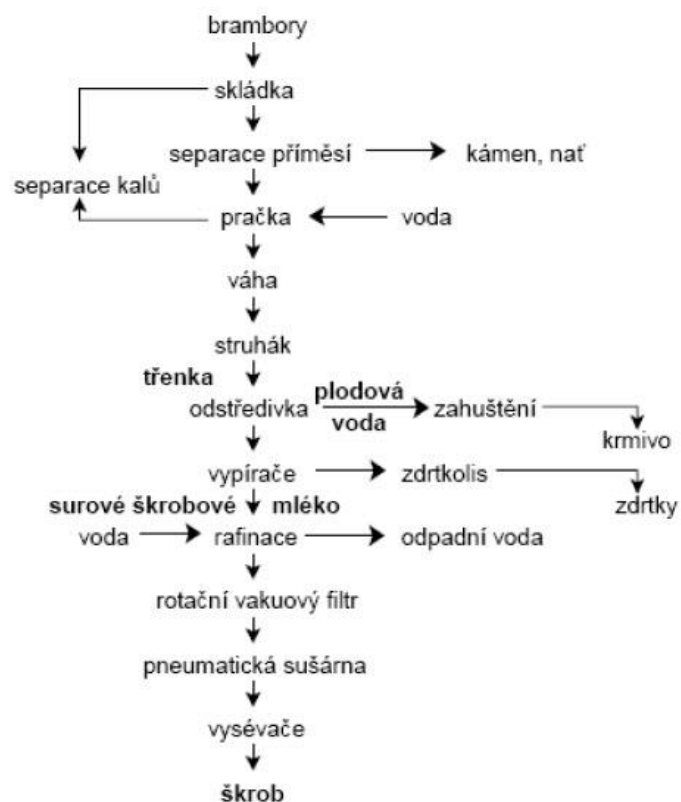
Mezi brambory, které jsou vhodné pro produkci škrobu, patří odrůdy jak rané, polorané, tak i polopozdní až pozdní [6].

Tabulka znázorňuje průměrné složení drcených brambor [6].

Tabulka 2 Složení brambor [12]

Parametr	Průměrné složení (%)
Škrob	19
Vláknina	1,6
Proteiny (včetně aminokyselin)	2
Cukry	1,1
Soli (včetně písku a nečistot)	1,2
Lipidy	0,15
Voda	75

Před samotným zpracováním je nutné brambory zbavit veškerých nečistot, tj. hlíny ulpělé na hlízách, kamene, zbytků natě [6].



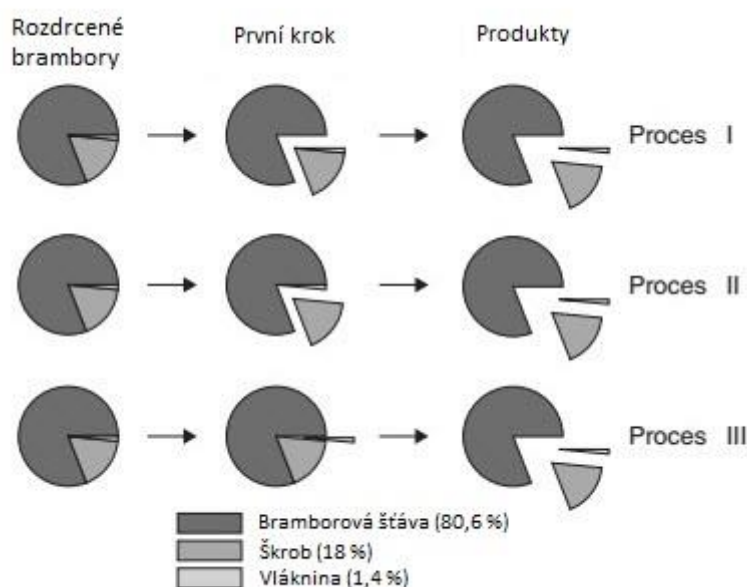
Obrázek 3 Technologie výroby bramborového škrobu [6]

Po čištění brambor následuje jejich strouhání, kde dojde k rozrušování buněčných stěn bramborové hlízy a tak k lepšímu uvolnění škrobu z buněk [9].

Pro další zpracování je nezbytná vzájemná fyzická separace dvou fyzických složek (škrob a vláknina) a jejich oddělení od bramborové šťávy. Oddělení těchto tří komponent může být dosaženo třemi způsoby:

- **Proces I** - z drcených brambor je nejdříve oddělena bramborová šťáva a v dalším kroku je oddělena vláknina od škrobu
- **Proces II** - nejdříve je z drcených brambor oddělen škrob, a v dalším kroku je oddělena vláknina od bramborové šťávy.
- **Proces III** - v prvním kroku je oddělena vláknina, a následně probíhá vzájemná separace škrobu a bramborové šťávy [12]

Procesy jsou jednoduše vykresleny na obrázku 4. V současnosti se využívají všechny tři způsoby zpracování drcených brambor. Volba procesu závisí na několika faktorech - klady a zápory jednotlivých procesů znázorňuje tabulka 3.



Obrázek 4 Tři metody výroby bramborového škrobu [12]

Tabulka 3 Tři metody výroby bramborového škrobu - klady a zápory [12]

	Proces I	Proces II	Proces III
Investice	průměrná	nízká	vysoká

Výtěžek škrobu	průměrný	slabý	vysoký
Výtěžek proteinu	průměrný	vysoký	průměrný
Kvalita proteinu	dobrá	průměrná	slabá
Cena procesu	průměrná	nízká	průměrná
Spotřeba vody	průměrná	nízká	nízká
Kontrola procesu	průměrná	jednoduchá	sofistikovaná

V tomto průmyslu škrob reprezentuje více než 90 % prodejní hodnoty, kdežto vedlejší produkty (vláknina, protein atd.) méně než 10 %. Nicméně, kvalita proteinu se stává stále důležitější pro ekonomiku celkového procesu [12].

Po oddělení škrobu od ostatních látek je nutno škrobové mléko zbavit zbývajícího podílu jemné vlákniny a rozpustných neškrobových látek. Provádí se to na odstředivkách a hydrocyklonech.

Po vyčištění se škrob předsuší na odstředivkách nebo vakuových filtrech. Následně se suší v sušárnách různého typu (nejčastěji pneumatických). Při sušení nesmí dojít k mazovatění škrobu, které by vedlo k vzniku podřadného výrobku – škrobové krupice. Usušený škrob se prosévá a následně balí [9].

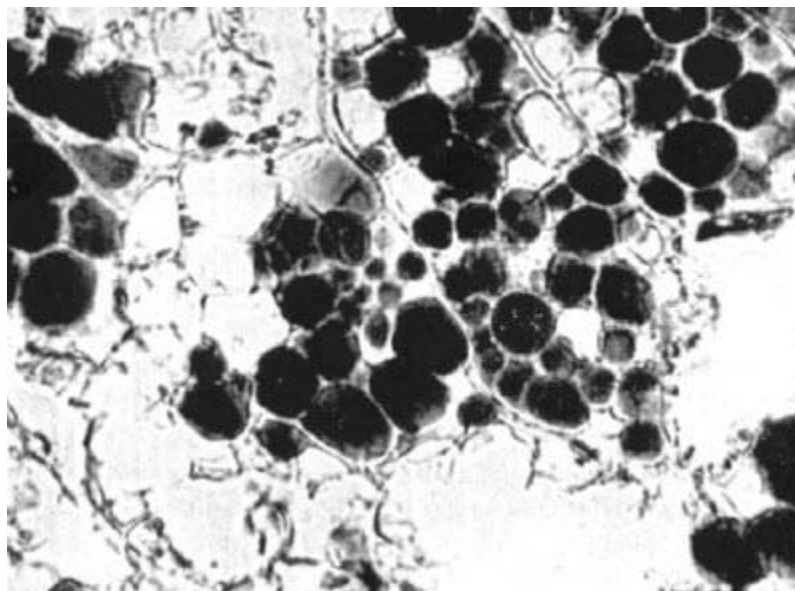
1.3 Kukuřičný škrob

Kukuřice je druhou nejrozšířenější plodinou na světě. Protože kukuřice je teplomilná rostlina, v Čechách nemá velmi dlouhou historii pěstování [6].

Kukuřičný škrob se využívá v různých průmyslových odvětvích (papírnictví, stavebnictví, chemický a farmaceutický průmysl) [6].

1.3.1 Složení kukuřičného zrna

Kukuřičný škrob má zrna hranatá s ostře odstíněným jádrem, bez zřetelného vrstvení. Přírodní kukuřičný škrob je bílé barvy s odstínem do žluta. Průměrné složení kukuřičného zrna je uvedeno v tabulce 4 [9].



Obrázek 5 Buňky kukuřice se škrobovými zrny [14]

Tabulka 4 Složení kukuřičného zrna [6], [14]

Parametr	Průměrné složení (%)
Voda	18
Škrob	56
Proteiny	8,2
Pentosany	5
Popel	1,5
Vláknina	2,4
Lipidy	3

1.3.2 Výroba kukuřičného škrobu

Předností výroby škrobu z kukuřice je její dobrá skladovatelnost, ale také dobré vlastnosti finálního výrobku, možnost celoročního provozu a také získání hodnotných vedlejších produktů pro účely nejen konzumní, ale i technické či krmné. Účelem výroby je získat co nejvyšší množství jakostního škrobu, přičemž technologicky musí výrobní postup zaručovat minimální ztráty a možnost zpracovat zbytky na hodnotné vedlejší výrobky [6], [11].

Kukuřice se zbaví všech nečistot máčením protiproudě ve vodě, která obsahuje 0,15 – 0,20 % kyseliny siřičité, po dobu 48 hodin a při teplotě 50 – 52 °C. Máčením se dosahuje četných biochemických a fyzikálních změn, souvisejících s uvolňováním škrobu a přechodem rozpustných látek ze zrna do máčecí vody. Koncentrovaná voda (kukuřičný extrakt) se podle potřeby odvede a zahustí v odparkách na 30 - 60 % sušiny. Kukuřice se pak dopraví na loupací mlýny, kde se zrno drtí pro uvolnění klíčků. Vzniklá směs je vedena na separátor, zde se škrobové mléko oddělí na základě rozdílných měrných hmotností (klíčky od kukuřičné drti). Lehčí fázi tvoří klíčky, které plavou na hladině. Po oddělení klíčků je drť vedena na hedvábná žejbra, kde se získá první podíl škrobového mléka. Následně se drť lisuje. Po vylisování a usušení vzniká kukuřičné mláto a kvalitní bílkovinné krmivo. Škrob se ještě na odstředivkách oddělí od bílkovin a zbytků jemné vlákniny. Získané škrobové

mléko se rafinuje a předsouší. Vlhký škrob se pak suší, prosévá, pytluje, váží a expeduje [6], [11].



Obrázek 6 Technologie výroby kukuřičného škrobu [6]

1.4 Vlastnosti škrobu

Škrob tvoří nutriční rezervy mnoha rostlin. Zelené listy během vegetačního období čerpají energii ze slunce. Tato energie je transportována ve formě roztoku cukru k uskladnění do škrobových buněk. Cukr se převede na škrob ve formě drobných granulí, které jsou uloženy v amyloplastech [2], [8].

Konverze cukru na škrob se provádí pomocí enzymů. Poté, následující jaro, jsou enzymy také zodpovědné za re-konverzi škrobu na cukr – uvolněný ze semen jako energie pro rostoucí rostliny [2].

1.4.1 Struktura škrobu

Škrob obsahuje 2 frakce a to jsou amylosa a amylopektin. Liší se strukturou svých makromolekul. Obě frakce jsou tvořeny jednotkami glukosy, které jsou spojeny glykosidickou vazbou [5], [15].

Amylosa je lineární a jsou zde přítomny pouze vazby α -D-(1→4). Mezi charakteristické vlastnosti amylosy patří rozpustnost v horké vodě, vylučování z roztoku ve formě

bílého prášku retrogradací po určité době stání. Protože má spirálovou formu řetězce, s jodem poskytuje modré zbarvení [5], [8], [15].

Amylopektin tvoří rozvětvenou strukturu s vazbami α -(1→4) a α -(1→6). Amylopektin v horké vodě vytváří poměrně stabilní, velmi málo retrograduující, vysoce viskózní koloidní roztoky až mazy, které se jodem barví červenofialově [5], [8], [15].

Pšeničný škrob je čočkovitého až kulatého tvaru s centrálním, méně patrným vrstvením. Zvláštností pšeničného škrobu je jeho rozdělení podle velikosti škrobových zrn na tzv. škrob malozrnný (2 – 7 μm , tzv. Bškrob) a škrob velkozrnný (15 – 30 μm , tzv. Aškrob), přičemž mezimalými a velkými škrobovými zrny není plynulý přechod [11].

Kukuřičný škrob podobně jako škrob ovesný a rýžový tvoří nejčastěji zrna složená velikosti 50 μm . Jednoduchá zrna dosahují velikosti 7 – 30 μm , průměrně 20 μm [11].

Bramborový škrob má zrna oválného, vejčitého až lasturnatého tvaru s dobře zřetelným rýhováním, jejichž velikost je 6 – 140 μm , nejčastěji však 70 μm , s excentricky umístěným jádrem. Od obilných škrobů se liší nejen tvarem, ale hlavně velikostí [13].

1.4.2 Mazovatění škrobu

Škrob je ve studené vodě nerozpustný. Dochází pouze k omezené adsorpci vody a tím spojenému malému zvětšení objemu zrn. Výsledkem je tvorba škrobové suspenze. Tento děj je reverzibilní (vratný) [5], [8], [15].

Při zahřívání suspenze škrobu ve vodě pomalu pokračuje adsorpce vody a mírné bobtnání škrobových granulí. Až do teploty přibližně 60 °C, která se nazývá počáteční teplota mazovatění, zůstává celistvost škrobových zrn neporušena a děj je stále reverzibilní. Po dosažení této teploty se intenzivně rozrušují mezimolekulární vodíkové můstky, zrna začínají prudce zvětšovat svůj objem a uvolněná amylosa difunduje do roztoku. Při dalším zvyšování teploty hydratace pokračuje, nabobtnalá zrna ztrácejí svoji integritu (praskání zrn). Tento proces, který zasáhne v intervalu 10 – 15 °C postupně všechna přítomná škrobová zrna, nazýváme „mazovatění škrobu“ a je již ireverzibilní (nevratný). Uvolňováním amylosy a později i malého množství amylopektinu do roztoku vzrůstá viskozita systému a vzniká tzv. „škrobový maz“, kde jsou přítomna rozrušená zrna škrobu s amylopektinem a zbytkem amylosy. Dalším zahříváním pokračuje rozpad škrobových granulí [5], [8], [15].

Při ochlazování škrobových mazů dochází ke zpětné tvorbě vodíkových vazeb mezi molekulami amylosy a amylopektinu. V případě dostatečné koncentrace škrobu vzniká spojitá, pevná trojrozměrná síť obsahující velké množství vody, tzv. „škrobový gel“. Pokud je koncentrace škrobu nižší, vznikají viskózní pasty nebo viskózní koloidní roztoky [5], [15].

Vlivem rozdílného poměru amylopektinu a amylozy dochází k různé schopnosti mazovatění škrobu [7].

1.4.3 Retrogradace škrobu

Škrobové gely, pasty a koloidní roztoky nejsou v termodynamické rovnováze a po určité době stání dochází ke změnám jejich struktury a rheologických vlastností. Důvodem je další tvorba intermolekulárních vodíkových vazeb, přednostně u lineárních řetězců amylosy, velmi málo u amylopektinu, vedoucí k tvorbě dvoufázového systému pevná látka – kapalina. Tento děj se v případě škrobových disperzí nazývá retrogradace. Na jeho rychlost a rozsah má největší vliv obsah a polymerační stupeň amylosy přítomné v systému, dále teplota, pH, obsah anorganických solí, povrchově aktivních látek a pod.

Obecně lze konstatovat, že u cereálních škrobů se retrogradace projevuje podstatně více než u škrobů hlízových [5], [15].

2 ŠKROBOVÉHYDROLYZÁTY A JEJICH TECHNOLOGIE

Hydrolýzu škrobu lze provádět dvěma způsoby, a to pomocí kyselin – kyselá hydrolýza, nebo pomocí enzymů – enzymová hydrolýza.

Kyselinou katalyzovaná hydrolýza byla tradiční způsob výroby glukózového sirupu a je stále běžný způsob výroby sirupů až do přibližně 42 DE [16].

2.1 Kyselá hydrolýza

Hydrolýza je chemická reakce, při které dochází zapomocí vody k rozkladu dlouhých polysacharidových řetězců do menších řetězců nebo na jednoduché sacharidy.

Do převodníku se načerpá suspenze škrobu (35 - 45 % sušina) a okyselí se na pH 2,0 zředěnou kyselinou (obvykle kyselinou chlorovodíkovou). Konverze probíhá při teplotě 140 - 160 °C a tlaku 5,4 MPa. Doba této reakce závisí od očekávaného DE, pro sirupy s nízkým DE je to 5 - 10 minut, pro sirupy s vyšším DE je to 15 - 20 minut [16].

Reakce se zastaví v neutralizační nádrži zvýšením pH na 4,5 - 5,0. Tato hodnota pH je důležitá nejen pro optimalizaci podmínek pro odstranění zbytku bílkovin a tuků, ale také ke snížení rizika vývoje nežádoucí barvy. Poté následuje rafinace a odpaření, v případě suchých sirupů či maltodextrinů také sušení (většinou sprejové) [16].

2.2 Enzymová hydrolýza

Enzymová hydrolýza škrobu poskytuje obdobné produkty jako kyselá hydrolýza, ale proces je lépe regulovatelný a je možné získat produkty, které kyselá hydrolýza nemůže poskytnout. Kyselá hydrolýza navíc produkuje mnoho volné glukózy a takto vyrobené produkty (zejména maltodextriny) mají silný sklon k retrogradaci [17], [18], [19], [20].

První fází je ztekucení suspenze škrobu. K suspenzi, která má 30 - 40 % obsah sušiny a pH 5 - 6 se přidá termostabilní α amylasa a proběhne zahřátí párou až na 105 °C s výdrží několik minut. Poté se suspenze zchladí na cca 90 °C a nechá se 1 - 4 hodin působit enzymem. Tato doba závisí od výrobce a technologie a také od druhu vyráběného produktu. DE po ztekucení se pohybuje kolem 10-12 [21].

Druhým krokem je zcukření ztekuceného škrobu. V závislosti na požadovaném sacharidovém složení (a také hodnotě DE) se přidávají zcukřující enzymy. Zcukření probíhá diskonti-

nuálně při teplotě cca 60 °C a pH optimálním pro aktivitu enzymů (dle specifikace dodavatele). Doba této fáze je různá a často i při výrobě stejného výrobku se čas může lišit [21], [22], [23].

2.2.1 Enzymy

Obecně se enzymy katalyzující hydrolýzu glykosidových vazeb nazývají glykosidasy. Jsou stereospecifické, takže katalyzují štěpení buď jen α - nebo β - glykosidových vazeb. Kyselinami se glykosidová vazba hydrolyticky štěpí za uvolnění složek, ze kterých glykosid vznikl, v alkalickém prostředí je poměrně odolná [24].

Při zpracování obilí ve mlýnech dochází mnohdy k porušení škrobových zrn a tato jsou snáze přístupná amylolytickým enzymům, což má za následek snadnější odbourávání škrobu. Rychlost působení amylolytických enzymů je kromě toho závislá na poměru drobných škrobových zrn, která mají poměrně větší povrch než velká zrna a jsou proto snadněji odbourávána [7].

2.2.1.1 Alfa amylasy

Alfa amylasy zahrnují širokou škálu různých druhů enzymů ze všech biologických tříd (bakterie, houby, rostliny a zvířata). α amylasy mohou být nalezeny v různých místech nebo v orgánech zvířete, například v savčí slinivce břišní nebo v savčích slinných žlázách. Tyto alfa amylasy nejsou totožné, každé tvoří specifický maltooligosacharidový produkt. Jedním z prvních uznávaných amylas byl ptyalin, nalezený v lidských slinách [24]. Dnes je znám jako lidská alfa-amylasa [26].

Nejznámější mikrobiální alfa amylasy jsou produkovány bakteriemi *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis var. saccharitikus*, *B. coagulans*, *Pseudomonas saccharophila* a *Aspergillus oryzae* [26], [27].

α amylasa štěpí řetězec škrobu do menších řetězců, a tím snižuje intenzitu modrého zbarvení s jodem a též viskozitu roztoku. Endo-amylasy jsou proto někdy nazývané i ztekucující amylasy. Díky tomuto účinku alfa-amylasdošlo k mylné domněnce, že jejich činnost je náhodná. Výzkum s několika různými druhy alfa amylas ukázal, že každá alfa amylasa má různé křivky, a že tyto křivky jsou také odlišné od křivek amylas vyrobených kyselé katalyzovanou hydrolýzou. Dříve se mělo za to, že konečnými produkty aktivity alfa-amylas jsou glukosa a maltosa. Alfa-amylasy z různých zdrojů mohou produkovat různé produkty v různých množstvích [26], [28].

2.2.1.2 Beta amylasy

Beta amylasa je exo enzym, který působí na neredukujících koncích polymerních řetězců škrobu [26].

Jsou dvě obecné třídy β amylas. První jsou ty, které jsou klasicky známé jako β amylasy a produkují β maltosu, a pak ty, které jsou známy jako glukoamylasy a produkují β -D-glukosu [26].

Maltosu produkované β amylasami se primárně nacházejí v rostlinách a byly izolovány zesladkých brambor, sojových bobů, ječmene a pšenice [26].

Maltosa bývá produkována také bakteriálními β amylasami. Mezi bakterie, které produkují tento enzym patří např. *Bacillus polymyxa*, *B. megaterium*, *B. cereus* a *Pseudomonas sp.* BQ6. Všechny tyto β amylasy produkují β -maltosu a vysokomolekulární β -limitní dextrin. K produkci limitních dextrinů dochází, když enzym dosáhne vazby α -(1 \rightarrow 6), kterou nemůže rozštěpit. Přibližně polovina z molekuly amylopektinu se převede na β -maltosu; zbývající polovina je β -limitní dextrin [26].

Glukoamylasa (amyloglukosidasa, EC 3.2.1.3) je enzym používaný v potravinářství k výrobě sirupů s vysokým obsahem glukosy a také ve fermentačních procesech při výrobě piva a etanolu [29].

Všechny známé glukoamylasy jsou produkovány houbami, jako například *Aspergillus niger*, *A. awamori*, *A. awamori var. Kawachi*, *Rhizopus delemar* a *R. niveus*. Na rozdíl od jiných amylas, může glukoamylasa katalyzovat hydrolyzu obou (1 \rightarrow 4) i (1 \rightarrow 6) α -D-glykosidických vazeb v škrobu, ačkoli α -(1 \rightarrow 4) vazba se hydrolyzuje zhruba 600 krát rychleji než vazba α -(1 \rightarrow 6). Glukoamylasa tak může zcela přeměnit škrob na D-glukosu [26], [30], [31].

2.2.1.3 Archebakteriální amylasy

Archebakterie jsou formy bakterií, které byly objeveny pěstováním v neobvyklých prostředích s vysokými teplotami a/nebo vysokými koncentracemi soli. Mnoho z těchto bakterií produkuje enzymy, které mají vysoká teplotní optima, a proto mají speciální využití v průmyslu při přeměně škrobu na glukosu či na maltodextriny [26].

Velký počet hypertermofilních archebakterií, zejména hlubokomořské druhy jako *Thermococcale* a *Sulfolobus* produkují alfa amylasy. Mnohé byly také klonovány a sekvenovány [26].

Pyrococcus furiosus, *Thermococcus profundus*, *Thermococcus hydrothermalis*, *Sulfolobus solfataricus* a *Sulfolobus acidocaldarius* vylučují termofilní alfa amylasy. Alfa amylasy všech těchto organismů mají optimální aktivitu enzymu při teplotě 90 °C nebo vyšší a často jen začínají vykazovat aktivitu při teplotách 40 °C až 50 °C [26].

Pyrococcus furiosus vylučuje s alfa-amylázy s optimální teplotou kolem 100 °C a maximální teplota aktivity je 140 °C [26].

Optimální hodnoty pH se liší, pohybují se v rozmezí pH 5 a 9. Tabulka 5 shrnuje názvy organismů, optimální teplotu a optimální hodnoty pH pro některé z těchto enzymů.

Teplomilné archeální alfa amylázy se prakticky neliší od ostatních amylas jak v jejich velikosti, tak i v molekulární velikosti a aminokyselinovém složení [26].

Tabulka 5 Termofilní archebakteriální amylolytické enzymy [26]

Bakterie	Produkované enzymy	Optimální teplota (°C)	Optimální pH	Hlavní produkty
<i>Desulfurococcus mucosus</i>	α amylasa	100	5,5	-
	pullulanasa	100	5	-
<i>Pyrococcus fusiosus</i>	α amylasa	100	5	G4, G5, G6
	α glukosidasa	105 - 115	5,0 - 6,0	G1
<i>Pyrococcus woesei</i>	α amylasa	98	5,5	G2, G5
	α glukosidasa	100	5,0 - 5,5	G1
<i>Pyrococcus sp. KOD1</i>	α amylasa	100	5,5	G2, G3
<i>Thermococcus hydrothermalis</i>	α amylasa	75 - 85	5,0 - 5,5	G3, G4
	α glukosidasa	110	6	G1
	pullulanasa	100	6	α - (1 → 6) odvětující
<i>Thermococcus litoralis</i>	isoamylasa	125	5,0 - 5,5	α - (1 → 6) odvětující
<i>Thermococcus profundus</i>	α amylasa	80	5,5 - 6,0	G2, G3
	α glukosidasa	75	7	G1
<i>Thermococcus zilligii</i>	pullulanasa	80 - 95	5,0 - 5,5	α - (1 → 6) odvětující

2.2.1.4 Isoamylasa, amylopullulanasa

Isoamylasa je název pro enzym, který hydrolyzuje větvené vazby škrobu. Tyto endo enzymy tedy hydrolyzují vazby lokalizované ve vnitřních částech molekuly amylopektinu, čímž se získají lineární maltodextriny [26], [32].

Tento enzym hydrolyzuje některé α -(1→6) vazby amylopektinu, amylopektinové β -amylasové mezní dextriny a různě rozvětvené alfa-amylasové limitní dextriny [26].

Pullulanasa, α -(1→6)-glucanohydrolasa, je produkována mikroorganismem *Aerobacter aerogenes*, který roste na médiu, používající pullulanu jako zdroj uhlíku. Kromě hydrolyzy α -

D-glykosidické vazby pullulanu (lineární molekuly) také hydrolyzuje vazby α -(1→6) amylopektinu a glykogenu [26], [33].

Bakteriální isoamylasaje nejčastěji produkovaná bakterií *Pseudomonas amyloidermosa*.

Isoamylasa *P.amyloidermosa* štěpí jen velmi pomalu vazby α -(1→6). Tím se liší od pullulanasy, která je schopna hydrolyzovat vazby α -(1→6) amylopektinu a glykogenu úplně a to 7 - 124 krát rychleji [26].

2.3 Rafinace škrobových hydrolyzátů

Škrobová zrna přirozeně obsahují bílkoviny ve své struktuře. obsah proteinů se liší v závislosti na zdroji škrobu, a je považován za nežádoucí, protože vede k Maillardově reakci. V některých zdrojích škrobu je obsah bílkovin vyšší, je tomu tak hlavně u pšenice. To může vést k potížím při zpracování. Bílkovinná hmota se ve velké míře odstraní už v procesu výroby škrobu [19], avšak malé množství bílkovin škrob pořád obsahuje. Technologický proces výroby škrobových hydrolyzátů z pšenice je nastaven tak, aby bylo možno výsledný produkt prohlásit za bezlepkový (tzn. obsah glutenu je menší než 20 mg/kg). Tento proces zde ale nebude popisován, protože jde o know-how každé firmy.

2.3.1 Filtrace zcukřených šťáv

Filtrace zcukřené šťávy se provádí na rotačním vakuovém filtru. Filtr pracuje s naplaveným filtračním koláčem křemeliny s přesně definovanou granulací. Na povrchu filtračního koláče se usazují nerozpuštěné látky ze zcukřené šťávy a tato první vrstva je kontinuálně odřezávána a likvidována v kalovém hospodářství. Následuje filtrace na tlakovém filtru přes jemnější vrstvu křemeliny z důvodu dokonalého odseparování nerozpuštěných látek před vstupem do iontoměničové kolony [34].

2.3.2 Čištění šťáv pomocí ionexů

Iontoměničové kolony pracují v párech, jedna kolona je katexová, druhá anexová. Katexová kolona odstraňuje ze šťávy kladně nabitě ionty a nahrazuje je H^+ ionty, šťáva odchází do anexové kolony silně kyselá. Anexová kolona odstraňuje záporně nabitě ionty a nahrazuje je OH^- ionty [34]. Takto demineralizovaná šťáva je ještě odbarvována aktivním uhlím.

Čištění pomocí ionexů nejenom pomáhá vylepšit barvu produktu, ale také snižuje obsah popela a odstraňuje případné pachutě [13].

Barva škrobového sirupu bývá bezbarvá až světle žlutá, ale stále častěji se barva vyjadřuje z hlediska absorbance, která se měří proti referenčnímu standardu, kterým je destilovaná voda [13].

Maillardova reakce probíhá v přítomnosti aminokyselin nebo proteinů. Karamelizace může probíhat naopak vždy když jsou cukry vystavené vysoké teplotě [35].

2.3.3 Odpařování a sušení sirupových šťáv

Připravená šťáva je po projití všemi stupni rafinace odpařována v několikastupňové vakuové odparce. Po této operaci je sirup možno stáčet, nebo je možné ho sušit (často na sprejové sušárně) [34].

2.4 Produkty hydrolýzy

V současné době se vyrábí pestrá škála produktů s hodnotami DE v mezích cca od 5 - 95 i více. Podle rozsahu hydrolýzy obsahují produkty různá procentuální zastoupení glukózy, maltózy, maltotriózy a vyšších glukooligosacharidů. Podle stupně zcukření rozeznáváme maltodextriny a glukózové (popřípadě maltózové) sirupy [17], [36], [37].

Stupeň hydrolýzy škrobu je charakterizován tzv. glukózovým ekvivalentem (v české literatuře se často vyskytuje výraz dextrózový ekvivalent a značí se zkratkou DE). Je to číslo, které v % udává zdánlivý obsah volné glukózy v daném produktu po přepočtu na sušinu hydrolyzátu. DE vlastně vypovídá o tom, jaký je stupeň depolymerace škrobu. Čím vyšší je DE, tím kratší je glukózový řetězec v molekule škrobu a tím je i nižší molekulová hmotnost. Nemodifikovaný škrob má hodnotu $DE = 0$, hydrolyzát obsahující pouze čistou glukózu má hodnotu $DE = 100$ [13], [17], [20], [37].

2.4.1 Maltodextrin

Maltodextrin je bílý prášek nasládlé chuti. Má několikanásobně nižší objemovou hmotnost než cukr a tvoří viskózní roztoky s neutrální či lehce nasládlou chutí. Jako maltodextriny označujeme produkty částečné hydrolýzy škrobu mající hodnotu $DE \leq 20$ [37]. Se zvyšující se hodnotou $DE > 20$ se viskozita naopak snižuje a sladkost se zvyšuje. Produkty s DE vyšším než 20 se už nenazývají maltodextriny ale suché sirupy [17], [18], [36], [37], [38].

2.4.1.1 Vlastnosti a použití maltodextrinu

Rozpustnost maltodextrinu je závislá na DE, ale také na granulaci. Enzymově hydrolyzované produkty jsou ve vodě lépe rozpustné než produkty vyrobené kyselou hydrolyzou při stejné hodnotě DE. Mezi další vlastnosti bezesporu patří nízká sytná hmotnost, vysoká viskozita, nízká hodnota osmotického tlaku a schopnost snášet změny pH a teploty při výrobě a skladování [17].

V potravinářském průmyslu se maltodextrin používá při výrobě měkkých nízkotučných pekařských výrobků. Zabraňuje tvorbě krystalů na povrchu zmražených potravin a je základem energetických nápojů pro sportovce, protože se v těle štěpí na molekuly glukosy, dodávající energii [17], [37], [39], [40].

Používají se také jako nosiče barev, aromat, pigmentů a tuků, a často také nacházejí své uplatnění v nízkotučných výrobcích jako náhrada tuků a olejů. Mají bezbarvý charakter a neutrální chuť, takže se můžou použít jako zahušřovadla, jako stabilizátory a pojiva, jako plnidla [6].

Maltodextrin také nachází své uplatnění mimo potravinářství. Používá se jako nosič vůně v mýdlech. Ve farmaceutickém průmyslu jsou využívány pro své vlastnosti zabraňující krystalizaci v různých sirupech a jako plnivo do tablet [41].

Maltodextrin je v poslední době také používán v molekulární gastronomii. Je využívána jeho schopnost absorbovat tuky a vytvářet tak ochucovací prášky. Je snadno rozpustný ve vodě (a tím pádem i ve slinách) takže při vložení do úst taje a uvolňuje absorbovaný tuk [41].

2.4.2 Glukózový sirup

Glukózový sirup se často nazývá i kukuřičný sirup, protože se nejčastěji (alespoň v USA) vyrábí z kukuřičného škrobu. Může být však vyroben i z pšeničného, bramborového i jiných škrobů [13], [42].

Podle vyhlášky 76/2003 je glukózový sirup definován jako vyčištěný koncentrovaný vodný roztok cukrů vhodných k výživě člověka, získaných ze škrobu nebo inulinu, nebo jejich kombinací [43].

2.4.2.1 Použití glukózového sirupu

Glukózový sirup je produkt, který zlepšuje barvu, texturu, chuť a stabilitu mnoha potravin. Využívá se v různých odvětvích potravinářského průmyslu, jako například při výrobě nápojů (alkoholických i nealkoholických), nebo cukrovinek či mléčných výrobků.

Glukózový sirup se používá jako náhrada cukru nebo medu v mnoha recepturách, které vyžadují nižší stupeň sladkosti. Také se používá v ovocných a zeleninových konzervách, nebo při výrobě rajčatové omáčky a kečupu. V USA glukózový sirup velice často nahrazuje cukr v komerčně vyráběných limonádách a energetických nápojích [42].

3 CÍLE PRÁCE

- 1) Zpracování rešerše- popis technologie výroby pšeničného, kukuřičného a bramborového škrobu
- 2) Popis výroby škrobových hydrolyzátů
- 3) Experimentální část- ztekucení a zcukření pšeničného A a B škrobu, kukuřičného a bramborového škrobu několika druhy enzymů. Stanovení DE (dextrózového ekvivalentu) a také sacharidového složení
- 4) Zhodnocení barvy sirupových šťáv před a po přechodu ionexy

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Ztekucení a zcukření různých druhů škrobu

Substráty použité pro enzymatickou hydrolýzu byly suspenze z pšeničného A škrobu (škrob velkozrnný) a B škrobu (škrob malozrnný), kukuřičného škrobu a bramborového škrobu o koncentraci 20 %. U všech vzorků (od každého druhu škrobu byly 4 vzorky, celkem tedy 16 vzorků, stanovení se provádělo vždy třikrát) bylo pH upraveno na 5,1 a pak ještě před zahříváním byl přidán ztekucující enzym (množství je uvedeno v tabulce 6). Poté byl vzorek za stálého míchání zahřátý a udržovaný při teplotě 85 °C. Tento proces trval přesně dvě hodiny, poté byly enzymy inaktivovány okyselením pod pH 3 a vzorek byl následně zchlazen.

Ztekucujícím enzymem byla termostabilní α -amylasa produkovaná geneticky modifikovaným kmenem mikroorganismu *Bacillus*. Systematický název tohoto enzymu je 1,4- α -glukan glukano hydrolysa (EC 3.2.1.1).

Zcukřující α -amylasa byla produkovaná plísní *Aspergillus oryzae* a je charakterizovaná jak ztekucující, tak i zcukřující aktivitou. Tento enzym je vhodný pro použití v sirupech s vyšším obsahem maltosy a naopak nízkým obsahem glukosy.

β amylasa (1,4- α -glukan maltohydrolysa, EC 3.2.1.2), použitá v tomto pokusu, byla extrahovaná ze zrn ječmene. Tento enzym se využívá k výrobě maltózových sirupů ze ztekuceného škrobu.

Glukoamylasa neboli 1,4- α -glukan glukohydrolysa (EC 3.2.1.3) je enzym produkovaný rekombinantním kmenem *Trichoderma reesei*. Enzym postupně produkuje glukosu.

Pullulanasa (EC 3.2.1.41) je produkovaná kontrolovanou fermentací geneticky modifikovaného mikroorganismu *Bacillus licheniformis*. Enzym hydrolyzuje větvené vazby amylopektinu (1,6- α) a produkuje lineární olihosacharidy.

Obchodní názvy a výrobci nejsou uveřejněny záměrně z důvodu ochrany know-how.

U vzorku ztekuceného škrobu bylo stanoveno DE Schoorlovou metodou a také bylo stanoveno sacharidové složení pomocí HPLC. Následně bylo upraveno pH na 5,1 a poté byl vzorek rozdělen na 4 díly (každý díl 800 ml 20% ztekuceného škrobu). Do každého vzorku se přidalo množství enzymu uvedené v tabulce 6 a následně se inkubovaly při teplotě 60 °C po dobu 24 hodin. Množství přidávaných enzymů se počítalo ze specifikace výrobce tak,

aby měly přiměřenou aktivitu. Aktivita enzymu je definována jako rychlost, kterou enzym katalyzuje přeměnu substrátu na produkt za daný časový interval. Tato hodnota bývá uveřejněna ve specifikaci dodavatele. Po 24 - hodinové inkubaci se u všech vzorků stanovilo DE Schoorlovou metodou a bylo stanoveno sacharidové složení pomocí HPLC.

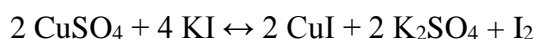
Tabulka 6 Použité množství jednotlivých enzymů

Druh enzymu		Množství [ml / 800 ml]
Ztekucující	α amylasa	0,02
Zcukřující	α amylasa	0,0005
	β amylasa	0,04
	glukoamylasa	0,04
	pullulanasa	0,01

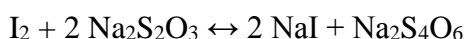
4.2 Stanovení redukujících sacharidů dle Schoorla

Pro stanovení DE Schoorlovou metodou byla použita metoda, která je také používána ve firmě Amylon a.s. a je níže popsána [44].

Redukující cukry převedené vhodným způsobem ze vzorku do vodného roztoku, zredukují za varu v alkalickém prostředí měďnatou sůl na oxid měďný (Cu_2O). Okyselením kyselinou sírovou se z komplexu uvolní nadbytečné měďnaté ionty, které se pak redukují jodidovými ionty na měďné za vzniku elementárního jódu. Reakcí měďných iontů s nadbytečným jodidem draselným vzniká ihned málo rozpustný jodid měďný:



Elementární jód, který se při reakci uvolnil, se titruje roztokem thiosíranu sodného:



Chemikálie a činidla

- Fehlingův roztok I
- Fehlingův roztok II
- Škrobový roztok jako indikátor
- 25% kyselina sírová
- Jodid draselný krystalický nebo 30% roztok
- 0,1 M tiosíran sodný

Materiál, přístroje a pomůcky

- Byreta
- Titrační nebo Erlenmayerova baňka na 250 – 300 ml
- Pipety
- Stopky
- Vaříč

4.2.1 Pracovní postup

Do baňky se napipetuje 10 ml Fehlingova roztoku I a 10 ml Fehlingova roztoku II. Přidá se přesně odměřený vzorek obsahující sacharid a doplní se vodou na 50 ml. Přidá se několik skleněných kuliček a obsah baňky přivedeme k varu. Po dosažení varu se nechá přesně 2 minuty vřít a pak se baňka za stálého míchání ochladí pod tekoucí vodou.

K ochlazené kapalině se přidá lžička pevného jodidu draselného (nebo 10 ml 30% roztoku jodidu draselného) a poté se přidá 10 ml 25% kyseliny sírové. Uvolněný jód se ihned titruje roztokem tiosíranu sodného do slabě hnědožlutého zbarvení. Přidá se několik kapek škrobového indikátoru a titruje se dokud nezmizí fialové zbarvení a zbyde nažloutle bílá barva, která se několik minut nemění.

Slepý pokus se provede stejným postupem s tím, že se k Fehlingovým roztokům přidá 30 ml destilované vody.

4.2.2 Stanovení DE výpočtem

K výpočtu DE budeme potřebovat znát: faktor thiosíranu **F** (ml), navážku vzorku **M** (g), refrakci vzorku **R** (%), spotřebu thiosíranu při titraci **V** (ml), spotřebu thiosíranu při slepém stanovení **SL**(ml).

Výpočet spotřeby thiosíranu na cukr V_1 (ml):

$$V_1 = \left(\frac{20}{F} \right) \cdot (SL - V)$$

Stanovení množství glukózy **GL** (mg) v titrační baňce interpolací podle následujícího vzorce:

$$GL = (0,0185 \cdot (V_1)^2) + (2,9701 \cdot V_1) + 0,5328$$

*Pozn. Množství glukózy **GL** lze stanovit také odečtením z tabulky (příloha P1). K získání této hodnoty je třeba použít vypočtenou hodnotu V_1 . Nicméně výše uvedený vzorec pro výpočet množství glukózy **GL** vychází právě z této tabulky a byl získán vynesem hodnot z tabulky do grafu a proložením hodnot křivkou.*

Stanovení redukujících látek **RL** (%) vyjádřených jako glukóza ve vzorku:

a) vzorec pro vzorky, které se navažují přímo do odměrné baňky (neředí se, mají nižší DE)

$$RL = \frac{(GL)}{(M \cdot 10)}$$

b) vzorec pro vzorky, které se navažují do odměrné baňky 100 ml (mají DE ± 20 a víc)

$$RL = \frac{GL}{M}$$

Výpočet dextrosového ekvivalentu **DE** (%)

$$DE = \frac{RL \cdot 100}{R}$$

4.3 Stanovení sacharidového složení chromatograficky

Vzorek se nejdříve zfiltraval přes papírový filtr Whatman č. 1, poté se naředil na 1% sušinu. Naředěný vzorek se umístil na 15 minut do ultrazvukové lázně a před analýzou byl ještě filtrován přes stříkačkový filtr s velikostí pórů 45 μm .

Chromatografická analýza probíhala na HPLC s RI detektorem. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Clarity Lite. Mobilní fází byla destilovaná voda, použita byla Ag^+ kolona s rozměry 50 x 4,6 mm. Množství vzorku použito k analýze bylo 20 μl . Analýza probíhala při teplotě 85 $^{\circ}\text{C}$, tlaku 25 bar a průtoku 0,4 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Celkový čas analýzy byl 25 minut.

4.4 Stanovení barvy sirupových šťáv před a po průchodu ionexovými kolonami

Vzorky sirupových šťáv byly odebírány před a za ionexovými kolonami 10 za sebou jduoucích dní (tzn. vzorek označený číslem 1 byl odebrán první den pokusu). Pro tento pokus byly použity zcukřené šťávy vyrobené z pšeničného škrobu z důvodu nejlepší dostupnosti. Vzorky byly odebírány v provozu, kde se vyrábí pouze z pšeničného škrobu. Každá šťáva je unikátní nejen šarží mouky, ze které byla vyrobena (i když se může jednat o stejného výrobce, složení může kolísat, hlavně v množství škrobu a bílkovin), ale také dobou zcukřování (a tím pádem udržování při teplotě kolem 60 $^{\circ}\text{C}$).

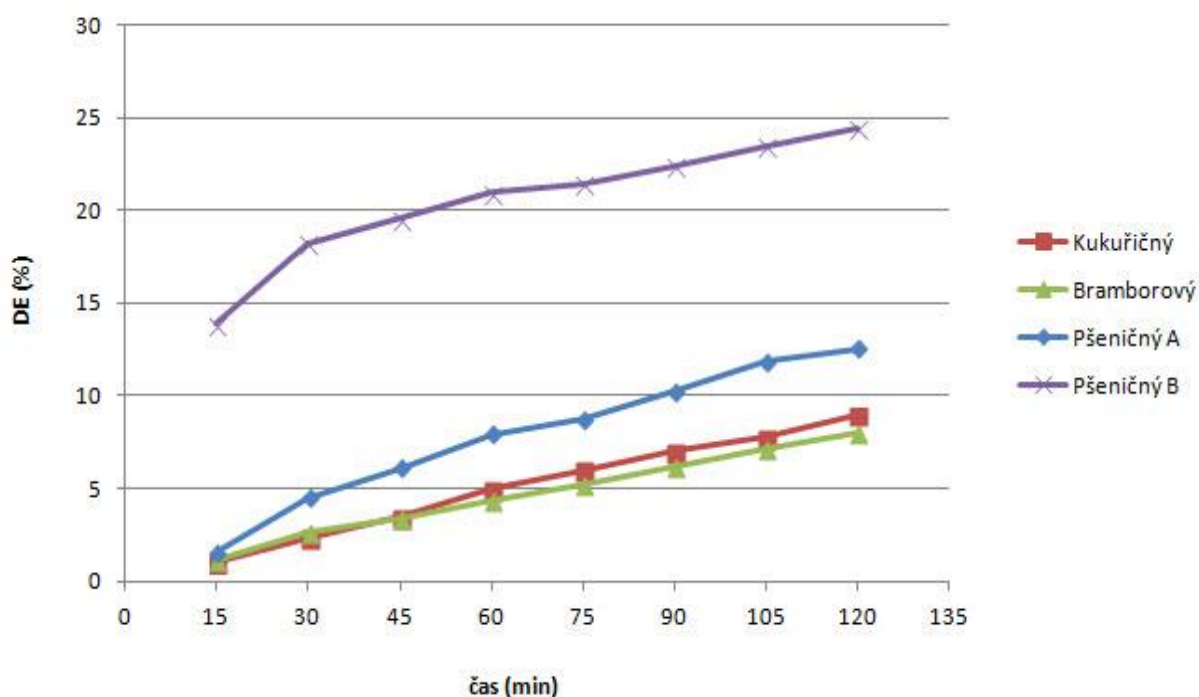
Odebrané vzorky sirupové šťávy z pšeničného škrobu byly zfiltrovány přes papírový filtr Whatman č. 1 pro odstranění případných nečistot. U takto připravených vzorků byla stanovena absorbance při 450 nm proti referenčnímu standardu, kterým je destilovaná voda. Pro měření byl použitý spektrofotometr DR 3900.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Suspenze škrobu byly ztekuceny α amylasou produkovanou geneticky modifikovaným kmenem bakterie rodu *Bacillus*. Zcukření zekucených škrobů bylo provedeno čtyřmi druhy enzymů. Použita byla fungální α amylasa, β amylasa, glukoamylasa a pullulanasa. Každý enzym tvoří specifické produkty a v našem pokuse byla kromě dextrózového ekvivalentu (DE) věnována pozornost také sacharidovému složení.

5.1 Ztekucení škrobu

Vzorky škrobu byly průběžně odebírány v 15 minutových intervalech a následně bylo stanoveno DE Schoorlovou metodou.



Graf 1 Závislost dextrózového ekvivalentu (DE) na době reakce

Z grafu je patrné, že DE kukuřičného a bramborového škrobu jsou během ztekucování velmi podobné. V dostupné literatuře bývá bramborový škrob hydrolyzován v menší míře než škrob kukuřičný či pšeničný. Je tomu tak hlavně proto, že bramborový škrob má větší zrna, ale také neobsahuje ve své struktuře dutinky, na rozdíl od pšeničného či kukuřičného škrobu [13].

Ve výzkumu Smrčkové et al. [45] se též uvádí rychlejší ztekucení pšeničného Bškrobu v porovnání s Aškrobem. Rychlost ztekucení u B škrobu je vyšší zejména v prvních minutách ztekucování, později už nárůst DE nebyl tak prudký. Je tomu tak z důvodu toho, že Bškrob má vyšší měrný povrch a podstatně menší škrobové částice a tím pádem je lépe snadněji hydrolyzován amylolytickými enzymy.

5.2 Zcukření škrobu různými druhy enzymů

Jak již bylo zmíněno výše, existuje několik druhů amylolytických enzymů, které mají různou aktivitu a produkují specifické produkty. Pozornost kromě DE (dextrózového ekvivalentu) byla věnována také obsahu glukosy, maltosy a maltotriosy. Vzorky byly inkubovány při teplotě 60 °C a po 24 hodinách byla provedena analýza.

5.2.1 Vlivu amylasy na různé druhy škrobů

Jak již bylo popsáno výše, α amylasa štěpí řetězec škrobu do menších řetězců. Alfa-amyly, produkované různými organismy, mohou produkovat různé produkty v různých množstvích.

Použitá zcukřující α amylasa byla produkovaná plísní *Aspergillus oryzae*.

Aktivita použité α amylasy byla u použitých škrobů různá. Z grafu 2 je vidět, že u pšeničného B škrobu byl nárůst DE velice nízký – pouze o 0,89 %, naopak u bramborového škrobu byl nejvyšší (11,41 %). Taktéž množství vyprodukované glukosy (graf 3), maltosy (graf 4) či maltotriosy (graf 5) bylo u bramborového škrobu vyšší v porovnání s pšeničným A škrobem či kukuřičným škrobem. V případě škrobu bramborového nárůst glukosy činil 0,8 %, u pšeničného A škrobu to bylo 0,6 % a u kukuřičného škrobu 0,4 %. Nárůst maltosy u bramborového škrobu byl 5,6 %, u pšeničného A škrobu 4,9 % a u kukuřičného škrobu 3,7 %.

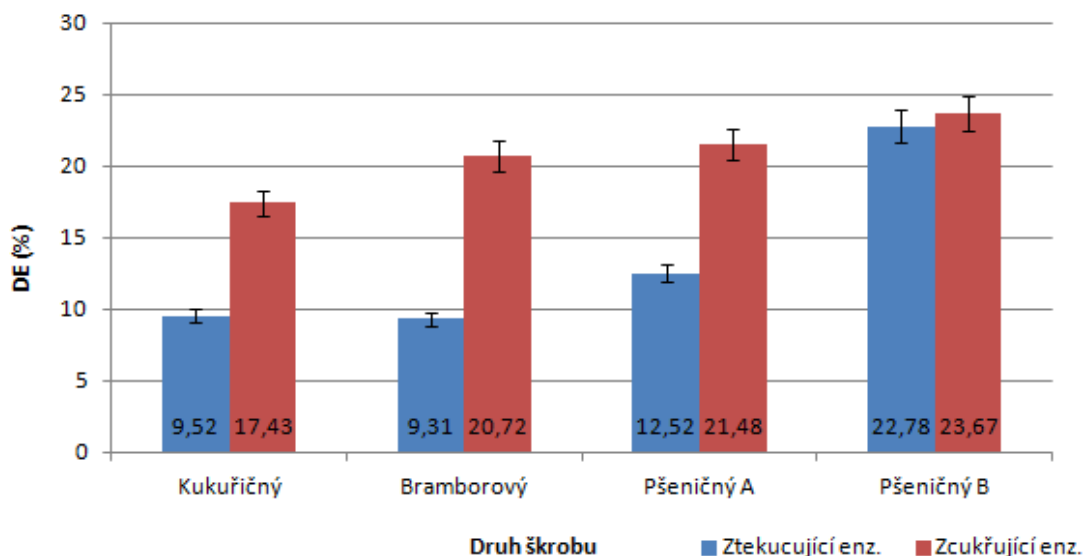
Zajímavé je, že u pšeničného B škrobu množství glukosy a maltosy dle grafů klesalo, resp. nestoupalo. Ve fázi zcukření DE stoupl o zmíněných 0,89 % z čeho se lze domnívat že byla α amylasou produkovaná maltotriosa či jiné vyšší oligosacharidy.

Ve výzkumu Konsula et al. [46] kde byly hydrolyzované škroby α amylasou produkovanou bakterií *Bacillus subtilis*, byl také pozorován vyšší stupeň hydrolyzy u bramborového škrobu než u škrobu kukuřičného.

Naopak při použití α amylasy bakterie *Bacillus amyloliquefaciens* [47] byl bramborový škrob hydrolyzován v daleko menší míře než škrob pšeničný či kukuřičný.

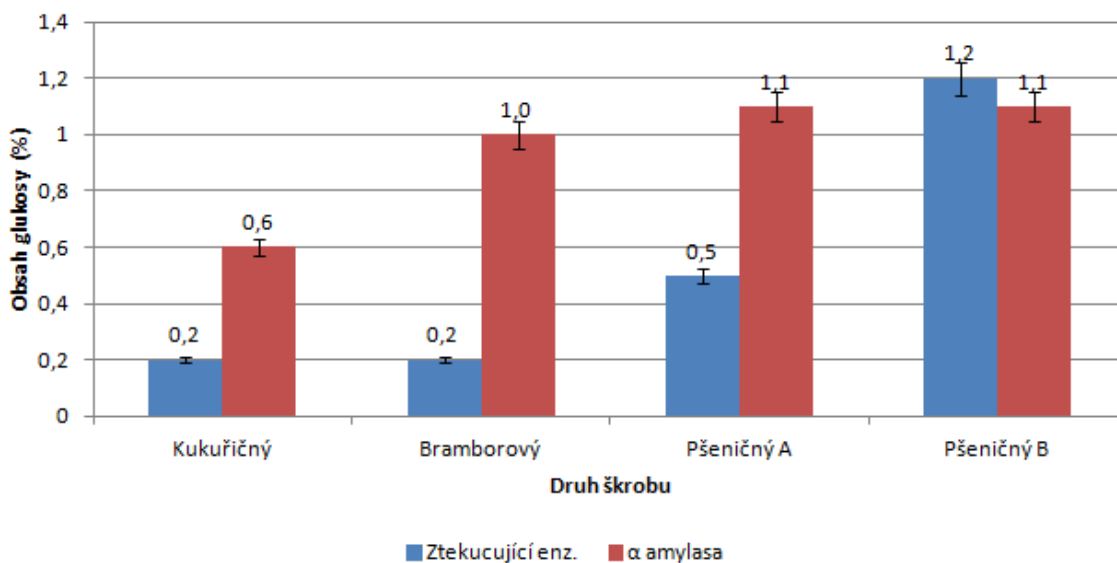
I když enzym je definován jako α amylasa, záleží v nemalé míře na původu organismu, který produkuje tento enzym. V experimentu Li et al. [48] byly použity α amylasy z různých zdrojů na stejný vzorek a množství vytvořených produktů bylo výrazně odlišné.

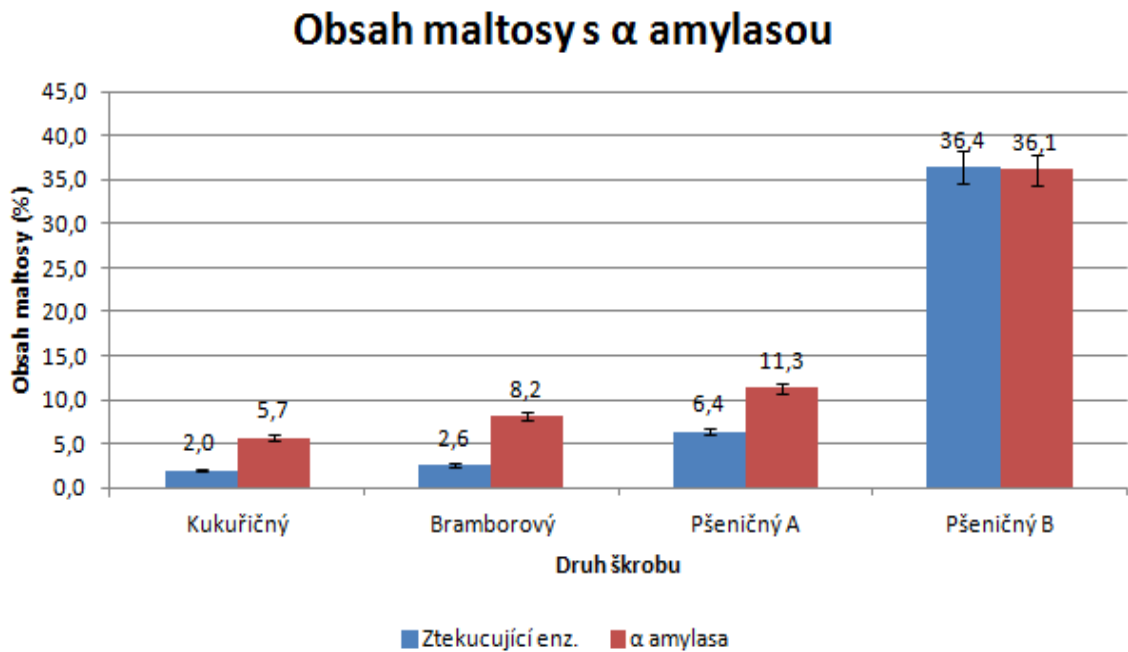
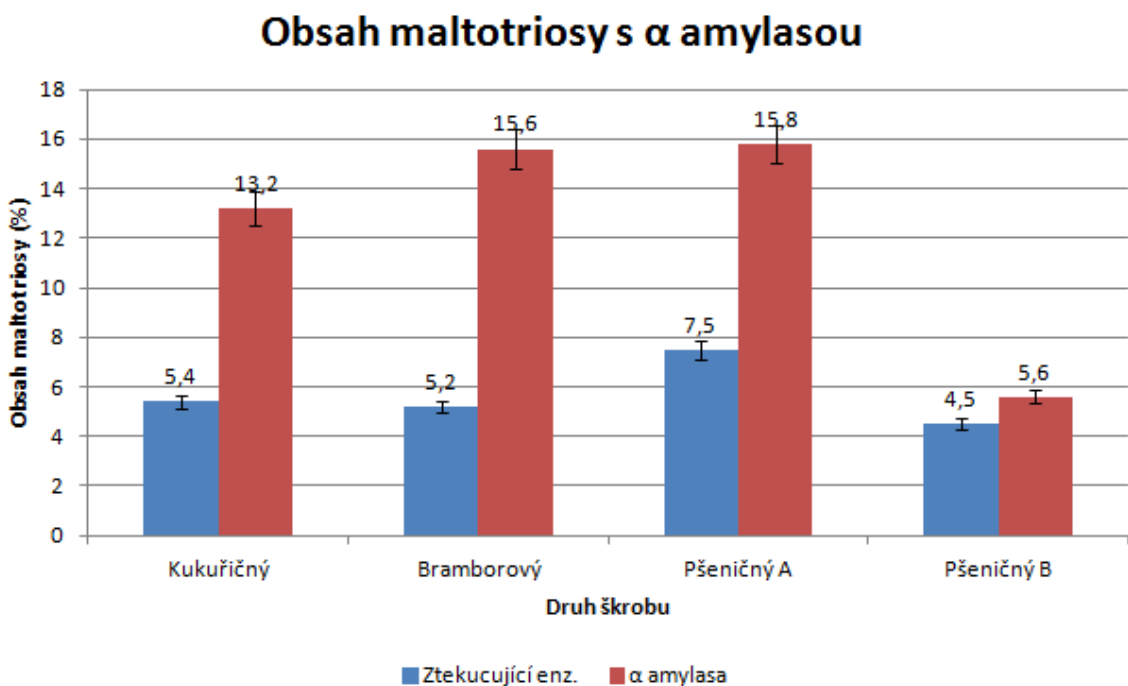
Dosažené DE vlivem α amylasy



Graf 2 Dosažené DE u různých druhů škrobů účinkem α amylasy

Obsah glukosy s α amylasou



Graf 3 Obsah glukosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem α amylasyGraf 4 Obsah maltotriosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem α amylasy

Graf 5 Obsah maltotriosity ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem α amylasy

5.2.2 Vliv β amylasy na různé druhy škrobů

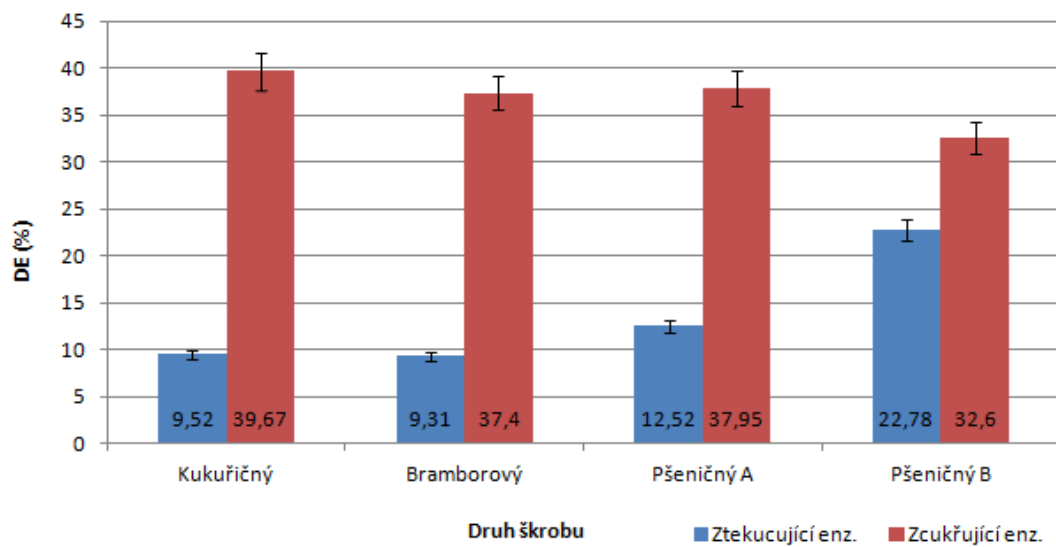
Beta amylasa je exo-enzym, který působí na neredukujících koncích polymerních řetězců škrobu a produkuje maltosu.

Výzkum Sarikaya et al. [47] ukazuje, že v prvních přibližně 12 hodinách hydrolyzy je produkce redukujících cukrů, vyjádřených jako maltosa, nejvyšší u pšeničného škrobu, ale v dalších hodinách (18, 24, 48 hodin) je vyšší u škrobu kukuřičného. Bramborový škrob byl hydrolyzován v menší míře.

Z našeho měření vyplývá, že výška DE při použití β amylasy nebyla příliš rozdílná (graf 6), ale když se podíváme na obsah glukosy (graf 7), maltosy (graf 8), a maltotriosity (graf 9), tak vidíme výrazné rozdíly. U pšeničného A a B škrobu byl nárůst glukosy minimální, v obou případech pouze o 0,2 %. Naopak hlavně maltosa, ale i maltotriosa byla do značné míry produkována. Obsah maltosy u pšeničného A škrobu působením β amylasy stoupl o 49,6 % a obsah maltotriosity o 7,7 %. U pšeničného B škrobu maltosa stoupla o 18,2 % a maltotriosa o 2,4 %.

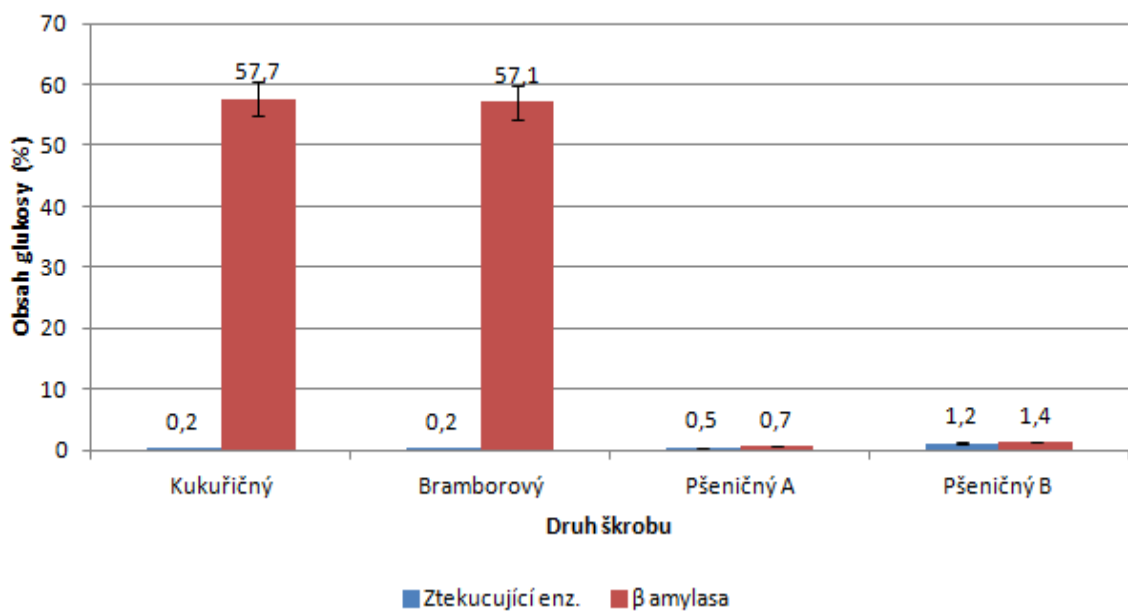
V případě kukuřičného či bramborového škrobu β amylasa štěpila řetězec až na glukosu (u kukuřičného škrobu byl nárůst glukosy 57,5 %, u bramborového škrobu 56,9 %), do jisté míry byla produkována imaltosa (v případě škrobu kukuřičného se vytvořilo 11,8 % maltosy, u bramborového škrobu 12,3 %). Na základě zjištěných výsledků však nelze toto tvrzení zcela objektivně objasnit.

Dosažené DE vlivem β amylasy

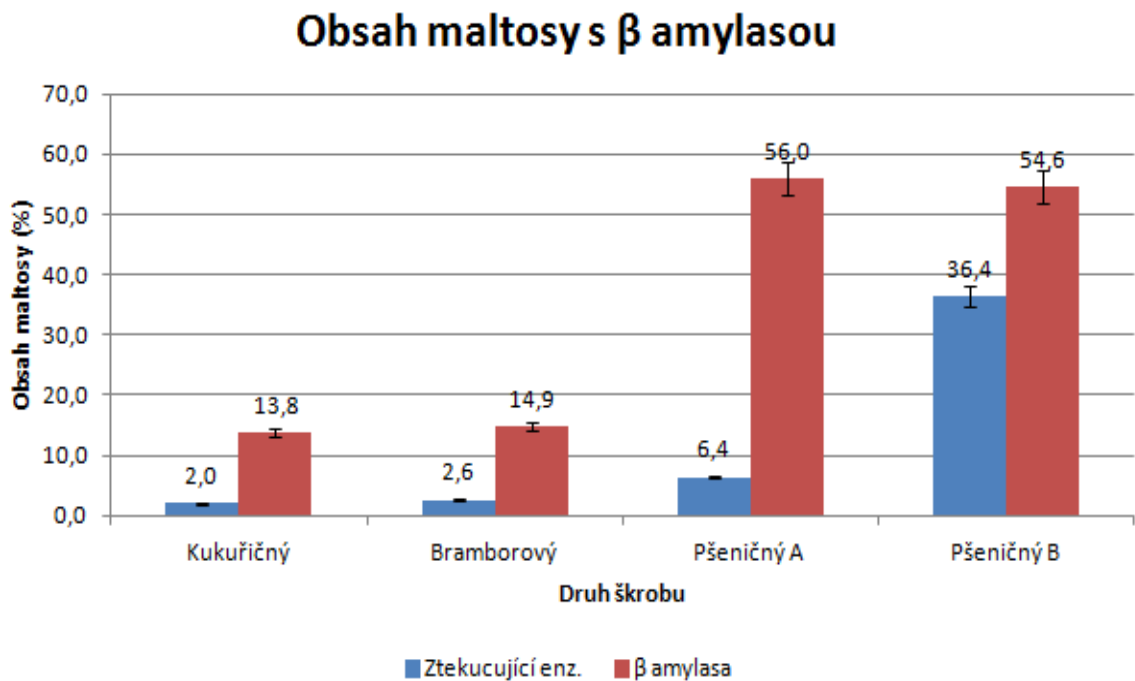
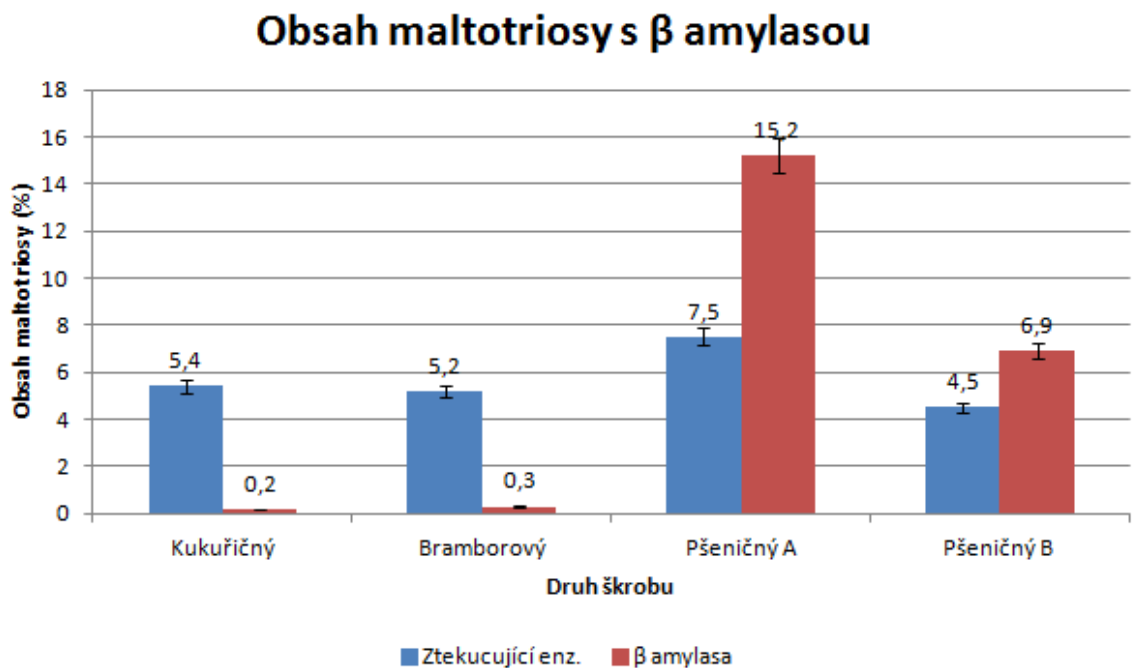


Graf 6 Dosažené DE u různých druhů škrobů účinkem β amylasy

Obsah glukosy s β amylasou



Graf 7 Obsah glukosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem β amylasy

Graf 8 Obsah maltosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem β amylasyGraf 9 Obsah maltotriosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem β amylasy

5.2.3 Vliv glukoamylasy na různé druhy škrobů

Glukoamylasa hydrolyzuje α -1,4 glykosidické vazby z neredukujících konců škrobu, což vede k produkci glukózy. V menší míře má také schopnost hydrolyzovat α -1,6 vazby, takže může produkovat glukosu jako konečný produkt.

V tomto měření bylo dosaženo u všech vzorků poměrně vysoké DE, které bylo zřejmě následkem nesprávného výpočtu síly enzymu. Dodavatel uvádí sílu v jistém rozmezí a je tedy možné, že nebylo počítáno s úplně správnou hodnotou.

Nárůst DE byl nejnižší u pšeničného B škrobu ve srovnání s ostatními škroby. Může to souviset s obsahem amylopektinu v tomto škrobu. Z finančních důvodů bohužel obsah amylosy a amylopektinu ve vzorcích nebyl stanoven. Nicméně, obsah amylosy uváděný v literatuře je v tabulce 7. Avšak i u stejného druhu škrobu tato hodnota kolísá. Závisí totiž na půdě i klimatických podmínkách kde byla plodina vypěstovaná, ale hlavně na konkrétním druhu rostliny – tím je myšleno, že například kukuřice pěstovaná ze semen od dodavatele A může být jiná než kukuřice pěstovaná ze semen od dodavatele B i když jsou pěstovány na stejném poli ve stejném čase.

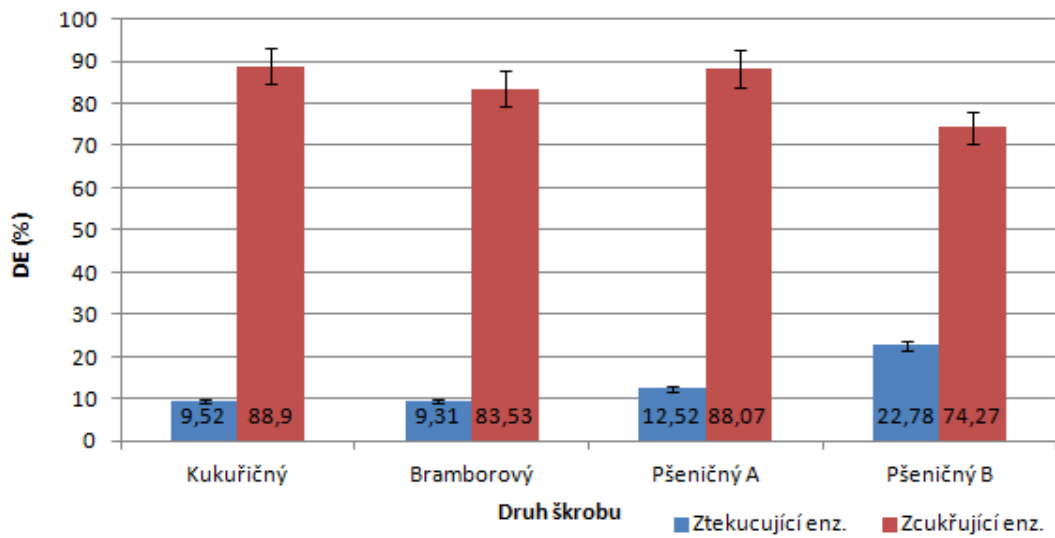
Tabulka 7 obsah amylosy a amylopektinu v jednotlivých druzích škrobu [38], [49]

Druh škrobu	Obsah amylosy(%)	Obsah amylopektinu(%)
Bramborový	20	80
Kukuřičný	25	75
Pšeničný A	25 - 27	73 - 75
Pšeničný B	12 - 19	81 - 88

Z grafů je vidět, že glukoamylasa všechny druhy škrobů štěpila až na glukosu. Obsah maltosy i maltotriosy výrazně klesal u všech vzorků, zatímco obsah glukosy u všech vzorku přesáhnul 80 %.

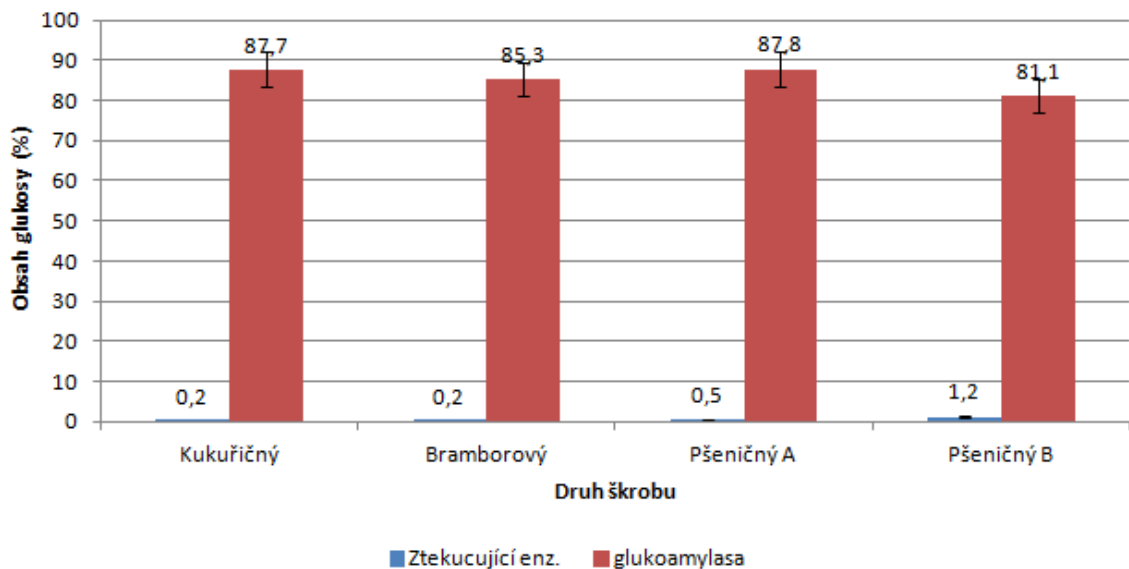
Ve výzkumu O'Brien a Wang [50] byla prováděna hydrolýza bramborového a kukuřičného škrobu glukoamylasou a škrob kukuřičný byl hydrolyzován ve větší míře než škrob bramborový. V mých výsledcích rozdíl není tolik patrný, ale shoduje se to s tímto výzkumem.

Dosažené DE vlivem glukoamylasy



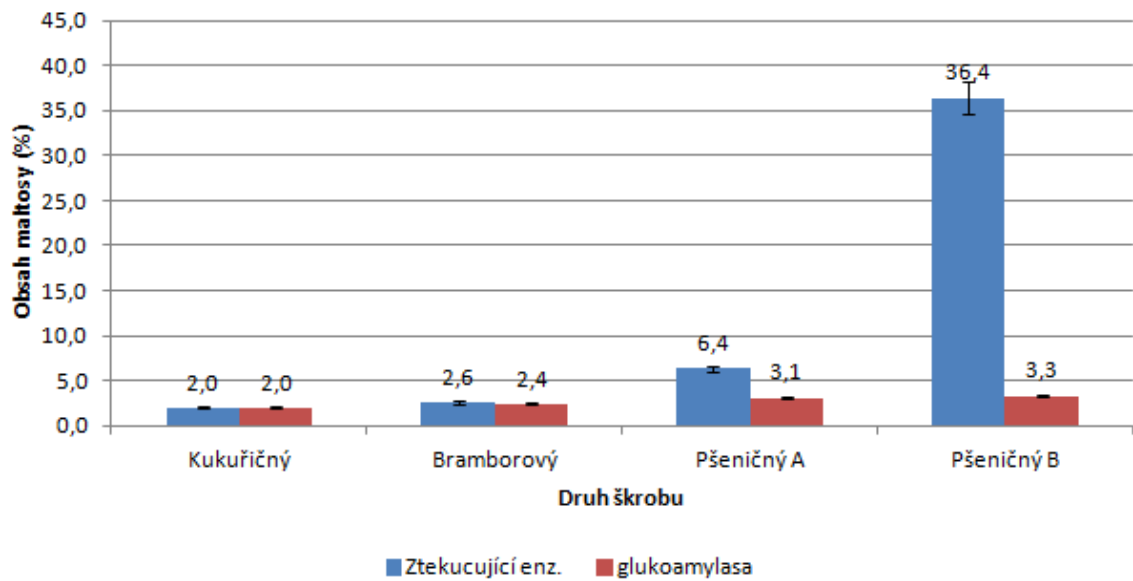
Graf 10 Dosažené DE u různých druhů škrobů účinkem glukoamylasy

Obsah glukosy s glukoamylasou



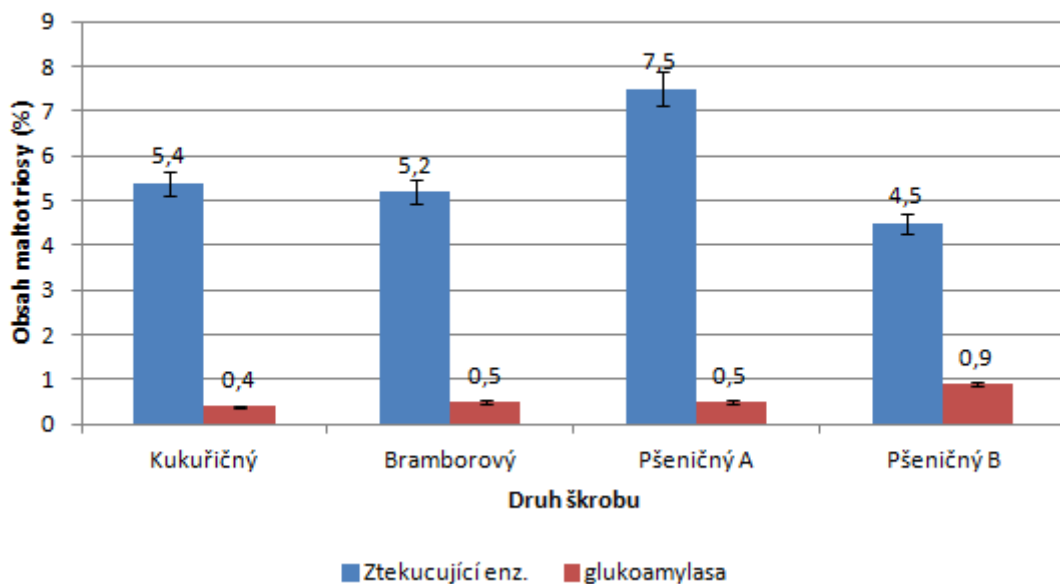
Graf 11 Obsah glukosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem glukoamylasy

Obsah maltosy s glukoamylasou



Graf 12 Obsah maltosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem glukoamylasy

Obsah maltotriosy s glukoamylasou



Graf 13 Obsah maltotriosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem glukoamylasy

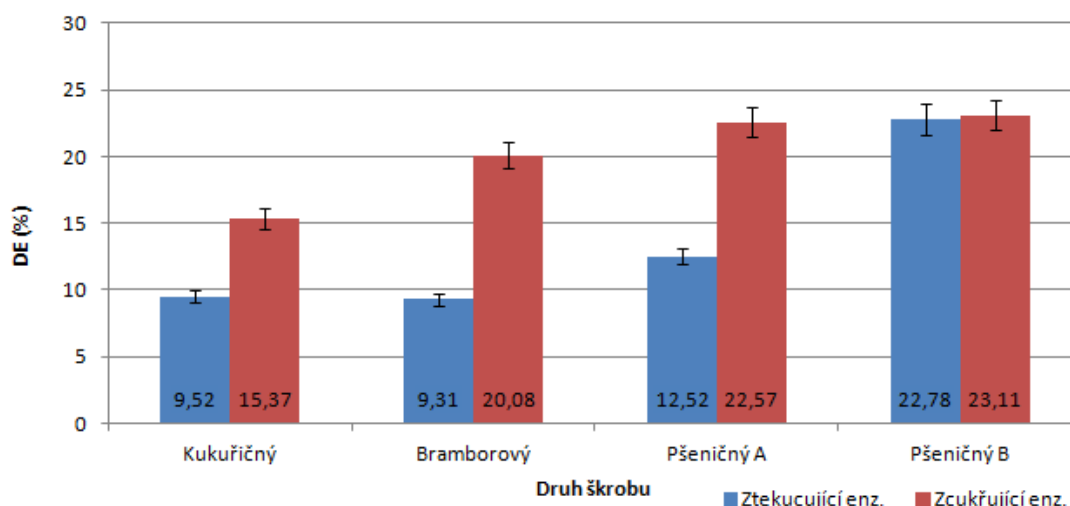
5.2.4 Vliv pullulanasy na různé druhy škrobů

Pullulanasa hydrolyzuje větvené vazby amylopektinu a tím produkuje lineární oligosacharidy.

V našem měření byl u bramborového škrobu pozorován nejvyšší, i když ne tak výrazný, nárůst DE, ale také glukosy, maltosy a maltotriosy vlivem pullulanasy. Pšeničný A škrob se svými hodnotami moc nelišil od škrobu bramborového. U bramborového škrobu byl nárůst DE o 10,77 %, u pšeničného A škrobu o 10,05 %. Glukosy se z bramborového škrobu vlivem pullulanasy vytvořilo 1,4 %, z pšeničného A škrobu 0,9 % a z kukuřičného škrobu 0,3 %. Obsah maltosy u bramborového škrobu vzrostl o 5,4 %, u pšeničného A škrobu o 4,7 % a u kukuřičného škrobu o 3,6 %. Maltotriosy se u pšeničného A škrobu a kukuřičného škrobu vytvořilo aktivitou pullulanasy téměř stejné množství – u pšeničného A škrobu 5,8 % a u škrobu kukuřičného 5,7 %. U bramborového škrobu to bylo zde nejvíce – 8,4 %.

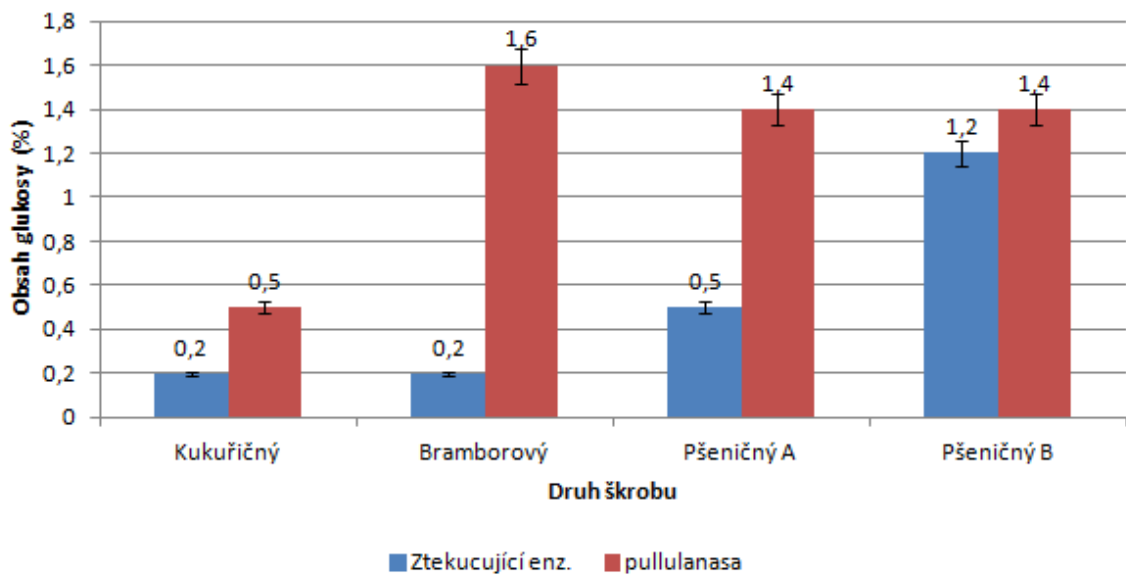
Z dosažených výsledků možno konstatovat, že použitý bramborový škrob obsahoval zřejmě nejvyšší množství amylopektinu a proto byl pullulanasou nejvíce hydrolyzován. Literatura uvádí u bramborového škrobu obsah amylopektinu 80 % [49]. U škrobu pšeničného a kukuřičného je toto číslo trochu nižší, ale jak již bylo zmíněno výše, obsah amylosy a amylopektinu se liší i v rámci jednoho druhu škrobu.

Dosažené DE vlivem pullulanasy



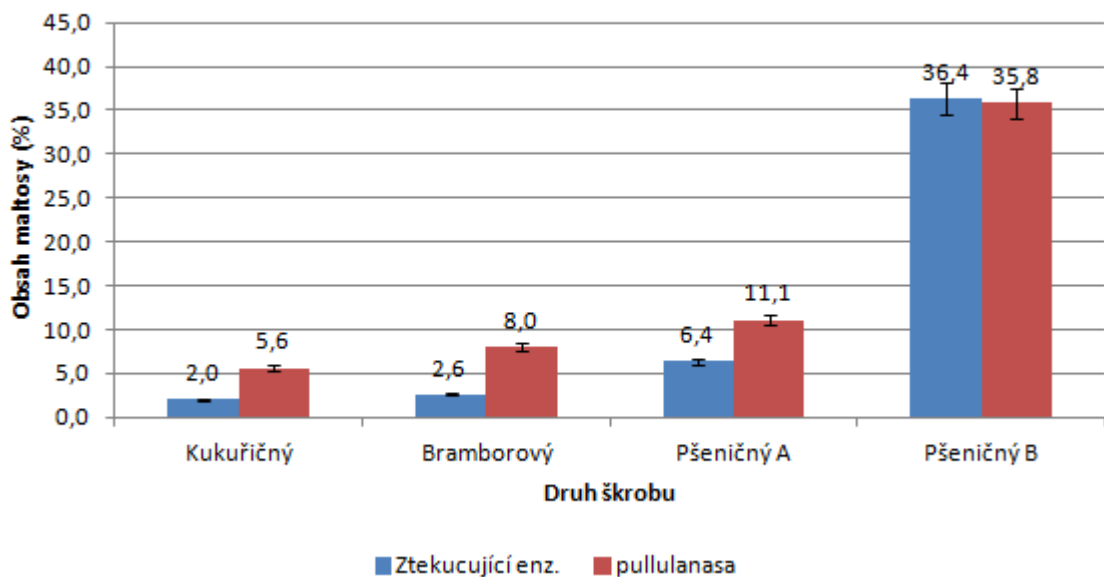
Graf 14 Dosažené DE u různých druhů škrobů účinkem pullulanasy

Obsah glukosy s pullulanásou

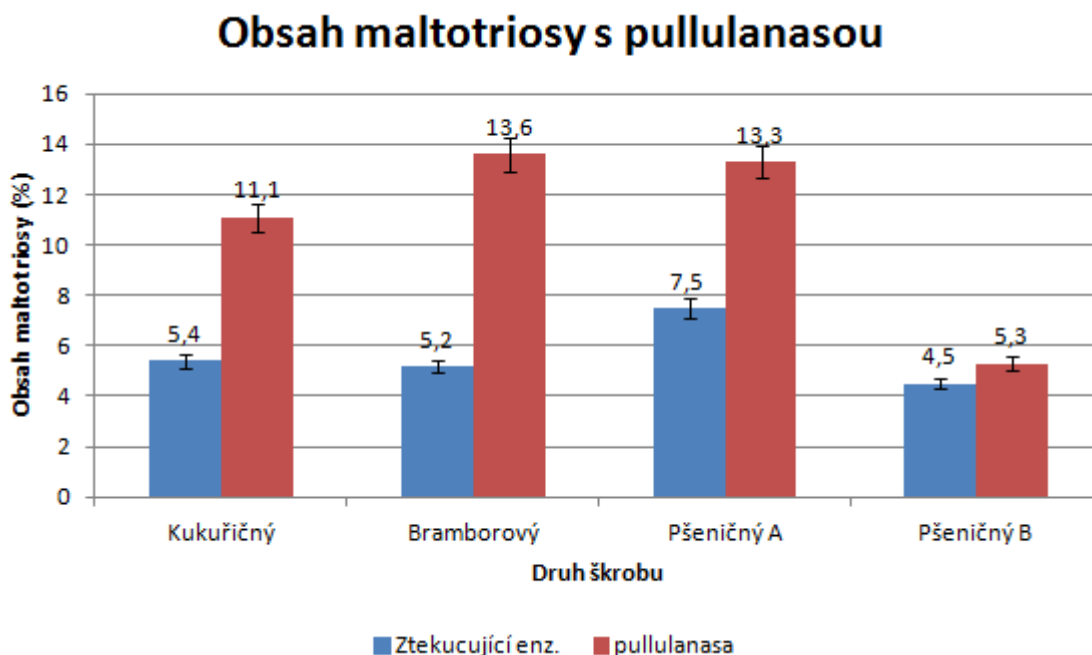


Graf 15 Obsah glukosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem pullulanasy

Obsah maltosy s pullulanásou



Graf 16 Obsah maltosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem pullulanasy



Graf 17 Obsah maltotriosy ve zcukřených šťávách z různých druhů škrobu účinkem pullulanasy

5.3 Spektrofotometrie sirupových šťáv

Čištěním pomocí ionexů se ze sirupové šťávy odstraňují různé látky jako například minerály, zlepšuje se chuť produktu (odstraňují se pachutě), ale také se vylepšuje barva produktu.

Barva škrobového sirupu bývá bezbarvá až světle žlutá. Většinou se ale barva vyjadřuje z hlediska absorbance, která se měří proti referenčnímu standardu, kterým je voda.

V průběhu výroby škrobového sirupu dochází k různým reakcím, nejčastěji však k Maillardovým reakcím nebo ke karamelizaci. Rozsah a intenzita těchto reakcí se liší u každé várky.

Sirupové šťávy před průchodem ionexy měly světle žlutou barvu, šťávy za ionexy byly bezbarevné, i když absorbance vzorků je poměrně různá. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 8.

Tabulka 8 absorbance sirupových šťáv před a po průchodu ionexovými kolonami

Číslo vzorku	Absorbance při 450 nm	
	Před ionexy	Za ionexy
1	0,026	0,017
2	0,132	0,053
3	0,129	0,049
4	0,018	0,013
5	0,078	0,011
6	0,039	0,031
7	0,081	0,020
8	0,037	0,015
9	0,054	0,012
10	0,059	0,037

Rozdíly mezi absorbancemi před a za ionexy se liší. U některých vzorků byla za ionexy absorbance nižší o více než polovinu, což je celkem výrazný rozdíl. Například u vzorku č. 7 byla absorbance za ionexy snížena až na čtvrtinu. Naopak u vzorku č. 6, nebo vzorku č. 4 není rozdíl v absorbanci tak vysoký, což značí, že u těchto šťáv nedocházelo ve velké míře k reakcím, které mají za následek změnu barvy.

Protože vzorky byly odebírány v jednotlivých dnech, byly i mouky, ze kterých byl vyrobený škrob rozdílné. Kolísal obsah popela (pouze v desetínách %) i obsah bílkovin (přesné složení nemůže být zveřejněno). Dalším faktorem, který ovlivnil výslednou absorbanci sirupu je bezesporu délka zcukřování. I při výrobě dvou výrobků se stejným konečným DE může být doba reakce různá. Protože se jedná o termofilní enzymy, musí být v celém procesu zcukřování teplota přizpůsobena aktivitě enzymů. Tato teplota a doba reakce má určitě také nemalý vliv na reakce, které vedou ke změnám barvy.

ZÁVĚR

Pšenice, brambory a kukuřice jsou často využívány pro výrobu škrobu. Ze škrobu lze vyrábět produkty s různými vlastnostmi, mimo jiné v dnešní době nacházejí uplatnění škrobové hydrolyzáty. Podle stupně hydrolyzy rozeznáváme maltodextriny a glukózové sirupy. Tyto produkty se v potravinářství používají jako nosiče barev, aromat, jako náhrada tuku, nebo jako sladidla či jako antikrystalizátory v bonbonkářství.

V této práci jsme se zabývali enzymatickou hydrolyzou škrobu a vlivem různých druhů enzymů na tento proces.

Byly použity kukuřičný, bramborový, pšeničný A a pšeničný B škrob. Nejprve byly suspenze těchto škrobů ztekuceny ztekucujícím enzymem a poté byly zcukřeny při teplotě 60 °C čtyřmi druhy enzymů, z nichž každý vytváří specifické produkty.

Na základě zjištěných výsledků vyplynulo, že rychlost ztekucení je u bramborového, kukuřičného a pšeničného A škrobu přibližně stejná. U pšeničného B škrobu je tato rychlost vyšší.

Zcukřující α amylasa nevíce hydrolyzovala bramborový škrob, kde došlo k nejvyššímu nárůstu DE, ale i glukosy, maltosy a maltotriosy.

β amylasa hydrolyzovala kukuřičný a bramborový škrob až na glukosu, u pšeničného A i B škrobu byla produkována zejména maltosa a v menší míře maltotriosa.

Glukoamylasa všechny škroby štěpila až na glukosu.

Pullulanasa nejvíce hydrolyzovala bramborový škrob a nejméně pšeničný B škrob.

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že při enzymové hydrolyze záleží na druhu škrobu a výběru enzymu pro dosažení optimálních výsledků. V procesu výroby škrobových hydrolyzáatů by se v budoucnosti měla věnovat větší pozornost obsahu amylosy a amylopektinu, ale také by se měly sledovat různé vlivy, které mají vliv na průběh zcukřování. Na aktivitu enzymů mohou mít vliv různé faktory jako například složení a struktura škrobu, ale možná i použití pesticidů v průběhu pěstování plodiny, či dokonce obsah těžkých kovů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Otázky k závěrečným zkouškám a studijní materiály. *Cukr, med, škrobárenské výrobky a vejce*. [Online] [Citace: 20. březen 2016.]
http://www.zaverky.estranky.cz/clanky/zboziznalstvi---smisene-zbozi/cukr_med_vejce_skrobarenske_vyroby.html.
2. International Starch Association. *Starch and glucose glossary*. [Online] [Citace: 07. říjen 2015.] www.starch.dk/isi/starch/glosary.htm.
3. Pšenice setá. *Wikipedie*. [Online] [Citace: 7. duben 2016.]
https://cs.wikipedia.org/wiki/Pšenice_setá.
4. Celostní medicína. *Pšenice*. [Online] [Citace: 7. duben 2016.]
<http://www.celostnimedicina.cz/psenice.htm>.
5. KADLEC, P. *Technologie sacharidů*. Praha : VŠCHT, 2000. ISBN 80-7080-400-9.
6. CHRVALOVÁ, L. Výroba škrobů a jejich využití v průmyslu. *Bakalářská práce*. Zlín : Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009.
7. ŽÁČEK, M. *Škrobárenství 1. díl*. Praha : Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1963. str. 474.
8. BUREŠOVÁ, I., LORENCOVÁ, E. *Výroba potravin rostlinného původu - Zpracování obilovin*. 1. vydání. Zlín : Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013.
ISBN 978-80-7454-278-7.
9. OŠTÁDALOVÁ, M., POKORNÁ, J. *Hygiena a technologie brambor, škrobu, luštěnin, olejnatých semen a tuků*. Brno : Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-710-7.
10. TREBUGOV, N. et. al. *Technológia škrobu a výrobkov zo škrobu*. Praha : SNTL, 1986.
11. DUDÁŠ, F. *Skladování a zpracování rostlinných výrobků*. Praha : Státní zemědělské nakladatelství v Praze, 1981. ISBN 07-083-81.
12. GROMMERS, H. E., VAN DER KROGT, D. A. Potato starch: Production, Modifications and Uses. [autor knihy] J. N., WHISTLER, R. L. BeMILLER. *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, 2009.

13. BeMILLER, J. N., WHISTLER, R. L. *Starch: Chemistry and Technology*. 3. vydání. Academic Press, 2009. str. 894. ISBN 978-0-12-746275-2.
14. ECKHOFF, S. R., WATSON, S. A. Corn and Sorghum starches: Production. [autor knihy] J. N., WHISTLER, R. L. BeMILLER. *Starch: Chemistry and technology*. místo neznámé : Academic Press, 2009.
15. KADLEC, P. a kol. *Technologie potravin I*. 1. vydání. Praha : VŠCHT, 2002. str. 300. ISBN 80-7080-509-9.
16. HOBBS, L. Sweeteners from Starch: Production, Properties and Uses. [autor knihy] J. N., WHISTLER, R. L. BeMILLER. *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, 2009.
17. UHLÍŘ, J. Termický vliv bílkovin a sacharidů - srovnání dvou doplňků stravy. *Diplomová práce*. Brno : Masarykova univerzita, 2002.
18. WILLIAMS, P. A., ABD-EL-AZIZ, A. S. Renewable resources for functional polymers and biomaterials: Polysaccharides, proteins and polyesters. *Royal society of chemistry*. 2011.
19. DZIEDZIC, S. Z., KEARSLEY, M. W. *Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives*. 1. vydání. Springer, 1995. str. 275. ISBN 978-1-4613-5902-9.
20. KIRK, R. E., OTHMER, D. F., SEIDEL, A. *Kirk - Othmer food and feed technology*. Hoboken : Wiley - interscience, 2008.
21. Maps Enzymes Limited. *Enzymes for Starch*. [Online] [Citace: 21. březen 2016.] http://www.mapsenzymes.com/enzymes_starch.asp.
22. Enzyme Technology. *Production of glucose syrup*. [Online] 6. srpen 2014. [Citace: 21. březen 2016.] <http://www1.lsbu.ac.uk/water/enztech/glucose.html>.
23. JHA, M. *Modern technology of Confectionery Industries with formulae & processes*. místo neznámé : National institute of industrial re, 2003. ISBN 81-7833-099-7.
24. ŽÁČEK, M. *Škrobárenství 2. díl*. Praha : Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1964. str. 623.
25. FISCHER, E., STEIN, E. α -Amylase from human saliva. *Biochem. Prep.* 1961, 8, stránky 27 - 33.
26. ROBYT, J. F. Enzymes and Their Action on Starch. [autor knihy] J. N., WHISTLER, R. L. BeMILLER. *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, 2009.

27. WELKER, N. E., CAMPBELL, L. L. Crystallization and properties of alpha-amylase from five strains of *Bacillus amyloliquefaciens*. *Biochemistry*. 1967, 12, stránky 3681 - 3689.
28. SONI, S. K., KAUR, A., GUPTA, J. K. A solid state fermentation based bacterial α -amylase and fungal glucoamylase system and its suitability for the hydrolysis of wheat starch. *Process Biochemistry*. 2003, 39, stránky 185 - 192.
29. MERTENS, J. A., SKORY, C. D. Isolation and characterization of a second glucoamylase gene without a starch binding domain from *Rhizopus oryzae*. *Enzyme microbial technology*. 2006, 40, stránky 874 - 880.
30. KIMURA, A., ROBYT, J. F. Reaction of enzymes with starch granules: kinetics and products of the reaction with glucoamylase. *Carbohydrate research*. 1995, 277, stránky 87 - 107.
31. COUTINHO, P. M., REILLY, P. J. Glucoamylase structural, functional, and evolutionary relationships. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*. 1997, 29, stránky 334 - 347.
32. ZHANG, H., TIAN, Y., BAI, Y., XU, X., JIN, Z. Structure and properties of maize starch processed with a combination of α -amylase and pullulanase. *International Journal of biological Macromolecules*. 2013, 52, stránky 38 - 44.
33. LIU, G., HONG, Y., ZHENG BIAO, G., ZHAOFENG, L. Pullulanase hydrolysis behaviors and hydrogel properties of debranched starches from different sources. *Food Hydrocolloids*. 2015, 45, stránky 351 - 360.
34. Technologická příručka pro zaměstnance. Amylon, a. s., 2004.
35. ROS-POLSKI, V., POPOVIC, V., KOUTCHMA, T. Effect of ultraviolet-C light treatment on Hydroxymethylfurfural (5-HMF) content on high fructose corn syrup (HFCS) and model syrups. *Journal of food engineering*. 2016, 179, stránky 78 - 87.
36. AHMED, J., TIWARI, B. K., IMAM, S. H. *Starch-based polymeric material and nanocomposites: Chemistry, processing and applications*. místo neznámé : CRC Press, 2012.
37. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin I*. 3. vydání. Tábor : OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.

38. SOTO, J. L. M., GARCÍA, L. M., GONZÁLEZ, J. V., NICANOR, A. B., CRUZ, L. G. Influence of starch source in the required hydrolysis time for the production of maltodextrins with different dextrose equivalent. 2012, 11.
39. CHO, S. S., PROSKY, L., DREHER, M. L. *Complex carbohydrates in foods*. New York : Marcel Dekker, 1999. str. 700. ISBN 0-8247-0187-9.
40. Maltodextrin. *Produkt*. [Online] [Citace: 29. únor 2016.]
<http://maltodextrin.cz/produkt>.
41. Molecule-r. *Maltodextrin*. [Online] [Citace: 21. březen 2016.]
<http://molecule-r.cz/definitions/24-maltodextrin-cs.html>.
42. Ask. *What is glucose syrup used for?* [Online] [Citace: 21. březen 2016.]
<http://www.ask.com/food/glucose-syrup-used-e8701497e1742601>.
43. Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. *Sbírka zákonů*. 2015.
44. Laboratorní metodiky. *Stanovení redukujících cukrů dle Schoorla*. Amylon, a. s., 2016.
45. SMRČKOVÁ, P., HRUŠKOVÁ, K. Study of B-starch hydrolyses products with various DE by GPC. *Proceedings of the 7th International Conference on Polysaccharides - Glycoscience*. 2011.
46. KONSULA, M., LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Hydrolysis of starches by the action of an α -amylase from *Bacillus subtilis*. *Process Biochemistry*. 2004, 39, stránky 1745 - 1749.
47. SARIKAYA, E., HIGASA, T., ADACHI, M., MIKAMI, B. Comparison of degradation abilities of α - and β -amylases on raw starch granules. *Process Biochemistry*. 2000, 35, stránky 711 - 715.
48. LI, J. H., VASANTHAN, T., HOOVER, R., ROSSNAGEL, B. G. Starch from hull-less barley: V. In-vitro susceptibility of waxy, normal, and high-amylose starches towards hydrolysis by alpha-amylases and amyloglucosidase. *Food Chemistry*. 2004, 84, stránky 621 - 632.
49. NAGULESWARAN, S., LI, J., VASANTHAN, T., BRESSLER, D., HOOVER, R. Amylolysis of large and small granules of native triticale, wheat and corn starches using a

mixture of α -amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 88, stránky 864 - 874.

50. O'BRIEN, S., WANG, Y. Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by α -amylase and glucoamylase. *Carbohydrate polymers*. 2008, 72, stránky 597 - 607.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

DE	Dextrózový ekvivalent
EC	Enzyme Comission (Enzymová komise), EC kód je přiřazen každému enzymu
G1	Glukosa
G2	Maltosa
G3	Maltotriosa
G4	Maltotetrosa
G5	Maltopentosa
G6	Maltohexosa
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Obecná technologie výroby pšeničného škrobu.....	18
Obrázek 2 Buňky brambor se škrobovými zrny	19
Obrázek 3 Technologie výroby bramborového škrobu	20
Obrázek 4 Tři metody výroby bramborového škrobu	21
Obrázek 5 Buňky kukuřice se škrobovými zrny.....	23
Obrázek 6 Technologie výroby kukuřičného škrobu.....	25

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Složení pšeničného zrna	13
Tabulka 2 Složení brambor	20
Tabulka 3 Tři metody výroby bramborového škrobu - klady a zápory	21
Tabulka 4 Složení kukuřičného zrna	23
Tabulka 5 Termofilní archebakteriální amylolytické enzymy	31
Tabulka 6 Použité množství jednotlivých enzymů	39
Tabulka 7 obsah amylosy a amylopektinu v jednotlivých druzích škrobu	50
Tabulka 8 absorbance sirupových šťáv před a po průchodu ionexovými kolonami ..	55

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA PI: SCHOORLOVA TABULKA PRO STANOVENÍ GLUKOSY (GL)

**PŘÍLOHA P I: SHOORLOVA TABULKA PRO STANOVENÍ
GLUKOSY (GL)**

V ₁	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	3,2	3,51	3,82	4,13	4,44	4,75	5,06	5,37	5,68	5,99
2	6,3	6,61	6,92	7,23	7,54	7,85	8,16	8,47	8,78	9,09
3	9,4	9,72	10,04	10,36	10,68	11	11,32	11,64	11,96	12,28
4	12,6	12,93	13,26	13,59	13,92	14,25	14,58	14,91	15,24	15,57
5	15,9	16,23	16,56	16,89	17,22	17,55	17,88	18,21	18,54	18,87
6	19,2	19,52	19,84	20,16	20,48	20,8	21,12	21,44	21,76	22,08
7	22,4	22,73	23,06	23,39	23,72	24,05	24,38	24,71	25,04	25,37
8	25,7	26,03	26,36	26,69	27,02	27,35	27,68	28,01	28,34	28,67
9	29	29,33	29,66	29,99	30,32	30,65	30,98	31,31	31,64	31,97
10	32,3	32,64	32,98	33,32	33,66	34	34,34	34,68	35,02	35,36
11	35,7	36,03	36,36	36,69	37,02	37,35	37,68	38,01	38,34	38,67
12	39	39,34	39,68	40,02	40,36	40,7	41,04	41,38	41,72	42,06
13	42,4	42,74	43,08	43,42	43,76	44,1	44,44	44,78	45,12	45,46
14	45,8	46,15	46,5	46,85	47,2	47,55	47,9	48,25	48,6	48,95
15	49,3	49,65	50	50,35	50,7	51,05	51,4	51,75	52,1	52,45
16	52,8	53,15	53,5	53,85	54,2	54,55	54,9	55,25	55,6	55,95
17	56,3	56,65	57	57,35	57,7	58,05	58,4	58,75	59,1	59,45
18	59,8	60,15	60,5	60,85	61,2	61,55	61,9	62,25	62,6	62,95
19	63,3	63,66	64,02	64,38	64,75	65,1	65,46	65,82	66,18	66,54
20	66,9	67,28	67,66	68,04	68,32	68,8	69,18	69,56	69,94	70,32
21	70,7	71,08	71,46	71,84	72,22	72,6	72,98	73,36	73,74	74,12
22	74,5	74,9	75,3	75,7	76,1	76,5	76,9	77,3	77,7	78,1
23	78,5	78,91	79,32	79,73	80,14	80,55	80,96	81,37	81,78	82,19
24	82,6	83	83,4	83,8	84,2	84,6	85	85,4	85,8	86,2
25	86,6	87,01	87,42	87,83	88,24	88,65	89,06	89,47	89,88	90,29
26	90,7	91,11	91,52	91,93	92,34	92,75	93,16	93,57	93,98	94,39