

PIILOITÄVYYTEEN LIITTYVÄN ENTSYIMITOIMINNAN VAIKUTUKSISTA OHRAN LAATUOMINAISUUKSIIN

ARI ORKO, A. J. A. KERÄNEN ja JYRY TIKKA

Alkon Keskuslaboratorio ja Teknillinen Korkeakoulu, Helsinki

Saapunut 10. 6. 1965

Piiloitävyydellä tarkoitetaan sellaisia viljan itämiseen liittyvien entsyymitoimintojen jyvissä aiheuttamia muutoksia, jotka tapahtuvat piilossa jyvän ulompien kuorikerrosten alla aiheuttamatta normaalissa vilja-analyysissä havaittavia ulkonaisia muutoksia (16). Tällä vaikeasti todettavissa olevalla itämisen esiasteella voi olla huomattava vaikutus viljan laatuominaisuuksiin. Vaikutuksen merkitsevyys riippuu ensi sijassa viljan käyttötarkoituksesta ja sille asetettujen laatuvaatimusten ankaruudesta. Tässä tutkimuksessa pyrittiin selvittämään piiloitävyyden vaikutusta ohran koostumukseen ja laatuominaisuuksiin, vertaamalla toisiinsa laadultaan moitteetonta ja toisaalta huonolaatuista ohraseosta laboratoriossa suoritettujen erilaisten koeidätysten avulla.

Materiaali ja menetelmät

Tutkimusmateriaalina käytettiin kahta laadullisesti täysin erilaista ohraa, nimittäin hyvälaatuista tanskalaista Proctoria ja Oy Lahden Polttimo Ab:ltä näytteeksi saatua huonolaatuista suomalaista ohraseosta. Kaksitahoinen Proctor oli vuoden 1962 satoa ja sen kosteuspitoisuus oli 12.1 %, 1000 jyvän paino 35.5 g (kuiva-ainetta) ja itämiskapasiteetti 97 %. Suomalainen ohraseos oli samoin vuoden 1962 satoa. Kyseisen syksyn erittäin huonoista sääoloista johtuen se oli laadultaan heikkoa. Seos sisälsi etupäässä suomalaisia päälajikkeita kaksitahoista Balderia ja kuusitahoista Pirkkaa. Ohraseoksen kosteuspitoisuus oli 11.9 %, 1000 jyvän paino 33.3 g (kuiva-ainetta) ja itämiskapasiteetti 85 %.

Itämisen vaikutusta kahden laadullisesti täysin erilaisen tutkimusmateriaalin jyvien koostumukseen ja siten kyseisen ohran laatuun tutkittiin idättämällä jyviä Pilsner-tyyppisten maltaiden valmistuksessa käytettävää mallastuskaaviota noudattaen. Idätyksessä ei käytetty lainkaan lisäaineita. Kokonaisliotusaika oli 55 t, josta kuivaliotusta 32 t ja märkäliotusta 23 t. Liotusaste oli yleensä 42 — 45 %. Liotuslämpötila oli 11 — 12°C. Idätyslämpötila oli jonkin verran edellistä korkeampi

15 — 16°C. Liotuksen jälkeinen idätys kesti 4 — 5 vrk ja kokonaisidätysajaksi tuli näin ollen 6 — 7 vrk. Jyvien kosteus pyrki idätyksen aikana alenemaan joten niitä kostutettiin tarpeen vaatiessa. Jyviä sekoitettiin käsin kerran vuorokaudessa sekä aina näytteenoton yhteydessä.

Normaalin idätysprosessin ohella suoritettiin kaksoisidätyskokeita, jotka periaatteessa vastasivat LINGON kaksoismallastusmenetelmän idätysvaihetta (6). Tässä koejärjestelyssä idätettiin jo aikaisemmin idätettyjä jyviä, jotka oli välillä normaalisti kuivattu ja joista juuri-idut oli poistettu, uudelleen vastaavissa olosuhteissa. Molemmilla idätyskerroilla käytettiin täysin samaa idätyskaaviota. Näytteitä kuivattiin 24 t 31°C:ssa. Loppukosteus oli tällöin 9 — 11 %. Kosteuspitoisuus määritettiin hienoksi jauhetuista näytteistä kuivaamalla jauhoja 1.5 t 130°C:ssa (12). Itämiskapasiteettimääritykset suoritettiin idättämällä jyviä huoneenlämmössä, pimeässä 0.75 %:ssa vetysuperoksidiliuoksessa (15).

α -Amylaasiaktiivisuuden määrittäminen suoritettiin SANDSTEDTIN, KNEENIN ja BLISHIN mukaan (13). Määrittämiseen käytettiin United States Department of Agriculture'n muunnelmaa (19). Menetelmässä mitataan aika, joka vaaditaan hydrolysoimaan β -amylaasilla vakio-olosuhteissa käsitelty tärkkelys dekstriiniksi. Diastaattisen voiman määrittäminen suoritettiin antamalla näytejauhoista valmistetun entsyymiutteen sokeroittaa puskuroitua tärkkelysliosta 30 min. 20°C:ssa (18). Ohran tärkkelyksen pilkkoutumisen määrittämiseksi itämisen aikana suoritettiin amylografi-tutkimuksia.

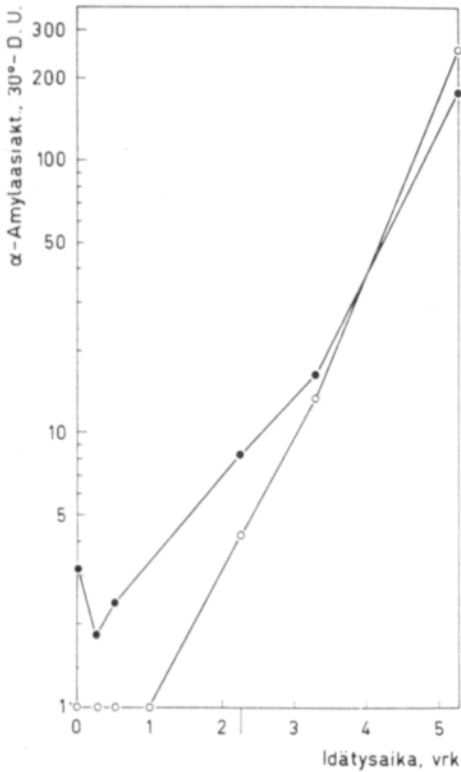
Sokerien identifioimiseksi paperikromatografisesti valmistettiin näytteistä uutteen ekstrahoinnalla 10 g jauhoja 25 ml:lla 50 % etanolia 30 minuutin ajan. Seos sentrifugoitiin kirkkaaksi kylmäsentrifugissa ja alkoholi haihdutettiin pois. Sokerien erotus suoritettiin yksisuuntaisena ajona Whatman n:o 1 kromatografiapaperilla. Ajoliuoksena käytettiin n-butanoli/etikkahappo/vesi (4: 1: 5) yläfaasia (11). Huoneenlämmössä suoritettu 4 — 5 vuorokauden ajo riitti erottamaan kaikki vertailusokerit toisistaan ja kaksisuuntainen ajo osoitti, ettei mikään ohraututeista syntynyt täplä koostunut useammasta komponentista. Pelkistävät sokerit todettiin TRÉVELYANIN, PROCTERIN ja HARRISSONIN (17) mukaan emäksisellä hopeanitraatilla värjäämällä. Sokerien määrissä tapahtuneiden suhteellisten muutosten toteamiseksi paperikromatogrammit analysoitiin densitometrisesti.

Proteolyyttisten entsyymien aktiivisuus määritettiin viskosimetrillä (8). Aminohappojen paperikromatografiseen erottamiseen käytettiin samoja ohraututeita sekä ajoliuosta kuin edellä sokerien määrittämiseen. Aminohappojen erottamiseen huoneenlämmössä käytetty ajoaika oli 30 tuntia. Paperi värjättiin ninhydriinillä (4), kuivattiin ilmassa ja annettiin kehittyä 24 t pimeässä. Suhteellisen kvantitatiivisen kuvan saamiseksi eri aminohappojen kehittymisestä ohran itäessä leikattiin täplät irti, niistä luotiin väriaine 5 ml:aan metanolia ja kehittyneen värin intensiteetti määritettiin spektrofotometrisesti.

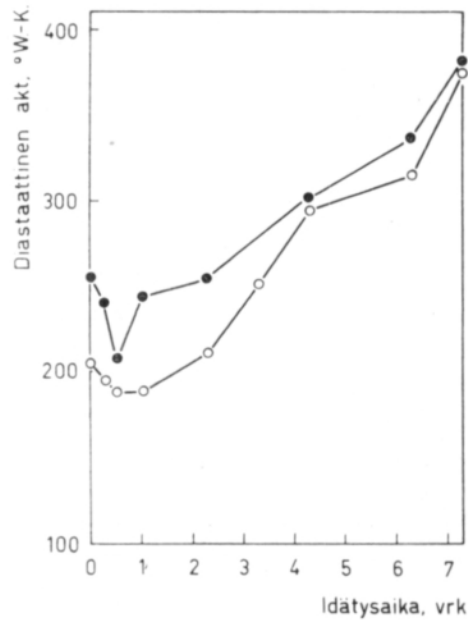
Tulokset

Normaali idätys. Huonolaatuisen ohraseoksen α -amylaasiaktiivisuus oli jo ennen idätystä n. 3 diastaattista yksikköä (30°-D. U.). Liotuksen aikana tapahtuneen

alenemisen jälkeen α -amylaasiaktiivisuus alkoi tasaisesti kohota. Hyvälaatuisessa ohrassa todettiin α -amylaasia vasta noin vuorokauden liotuksen jälkeen, mutta aktiivisuuden lisääntyminen oli nopeampaa kuin huonolaatuisessa ohraseoksessa (kuva 1). Todettakoon, että hyvälaatuinen ohra saavutti vasta 2 vrk:n idätyksen jälkeen huonolaatuisen ohraseoksen α -amylaasiaktiivisuuden lähtöarvon. Tulokset vastasivat hyvin aikaisemmin saatuja tuloksia (6). Idättämättömän huonolaatuisen ohraseoksen α -amylaasiaktiivisuus on osoitus siinä alkuunpäässeistä itämiseen liittyvistä entsyymitoiminnoista.

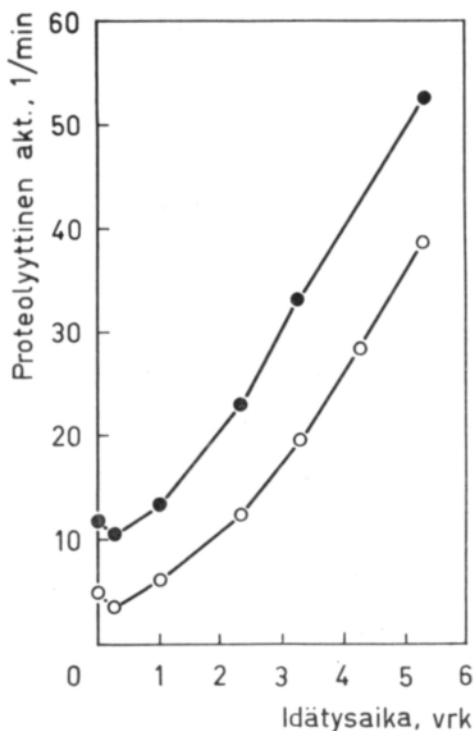


Kuva 1. Ohranäytteiden α -amylaasiaktiivisuudet idätysajan funktiona (hyvälaatuinen ohra ○—○, huonolaatuinen ohraseos ●—●)



Kuva 2. Ohranäytteiden diastaattiset aktiivisuudet idätysajan funktiona (hyvälaatuinen ohra ○—○, huonolaatuinen ohraseos ●—●)

Diastaattisessa aktiivisuudessa liotuksen aikana tapahtuneen pienenemisen jälkeen — joka huonolaatuisessa ohraseoksessa oli jyrkempi kuin hyvälaatuisessa — hyvälaatuisen ohran diastaattisten entsyymien aktiivisuus kasvoi hieman nopeammin kuin huonolaatuisen ohraseoksen niin, että oltuaan aluksi n. 20 % alhaisempi se jo neljän vuorokauden idätyksen jälkeen oli lähes yhtä suuri (kuva 2). Hyvälaatuisen ohran proteolyttinen aktiivisuus oli ennen laboratoriodätystä vajaa puolet huonolaatuisen ohraseoksen aktiivisuudesta. Idätyksen edistyessä molempien aktiivisuus lisääntyi jokseenkin samalla nopeudella (kuva 3).



Kuva 3. Ohranäytteiden proteolyttiset aktiivisuudet idätysajan funktiona (hyvälaatuinen ohra ○—○, huonolaatuinen ohraseos ●—●)

sen vuoksi kyetty identifioimaan. Idättämättömässä huonolaatuisessa ohraseoksessa maltoosin määrä oli suurempi kuin hyvälaatuisessa ohraa osoittaen, että kosteissa korjuuolosuhteissa amylolyyttisten entsyymien toiminta oli päässyt alkuun. Hyvälaatuisessa ohraa maltoosin lisääntyminen oli taas idätyksen aikana voimakkaampaa, niin että sen maltoosipitoisuus runsaan 4 vrk:n idätyksen jälkeen oli noin kaksinkertainen huonolaatuisen ohraan verrattuna. Maltoosin lisääntyminen

Amylografitutkimuksissa ilmeni, että amylolyyttisten entsyymien aiheuttama tärkkelyksen pilkkoutuminen tuli havaittavaksi n. 12 t liotuksen jälkeen. Liotuksen alussa tapahtui hyvälaatuisen ohraa amylolyyttisten entsyymien aktiivisuudessa pienenemistä, kuten vastaavat diastaattisen aktiivisuuden arvotkin osoittivat (taulukko 1). Vuorokauden kuluttua liotuksen alkamisesta oli maksimiviskositeetti Brabender-yksiköissä (B. U.) ainoastaan neljäsosa alkuperäisestä. Tärkkelyksen pilkkoutuessa ja maksimiviskositeetin alentuessa alenivat myös vastaavat lieste-
röitymislämpötilat.

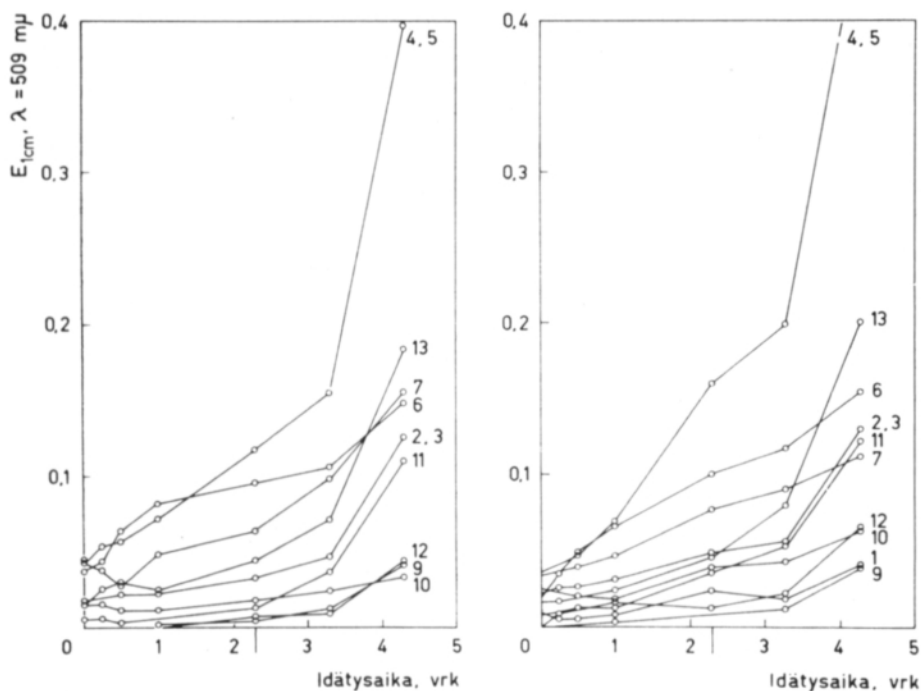
Kromatogrammien perusteella pystyttiin molemmista idättämättömistä ohraa toteamaan maltoosi, glukoosi ja fruktoosi. Lisäksi esiintyi jälkiä muutamista muista sokereista, kuten maltotriooosi, isomaltoosi, arabiinoosi ja ksyloosi. Lähtörintaman ja maltoosin välillä esiintyi edellisten lisäksi vielä joi-
takinkin täpliä, joita ei heikon erottumi-

Taulukko 1. Hyvälaatuisen ohraa maksimiviskositeetin muuttuminen laboratoriodätyksen aikana amylografisesti määritettynä. Vertailun vuoksi on taulukkoon liitetty vastaavat diastaattisen aktiivisuuden arvot.

Idätysaika (T)	Maksimiviskositeetti (B. U.)	Vastaava lämpötila (°C)	Diastaattinen aktiivisuus (°W.-K.)
0	970	90	205
12	>1000	>90	188
24	280	86	188
55	50	67	210
79	30	56	250

kiihtyi huomattavasti 3 vrk:n idätyksen jälkeen. Glukoosimäärän kasvu oli voimakasta 4 vrk:n idätyksen jälkeen. McLEOD *et al.* (7) ovat analysoineet ohran sokereita ja tutkineet niiden määrissä itämisen aikana tapahtuvia muutoksia. Heidän käyttämänsä menetelmät eroavat tosin jonkin verran tässä työssä käytetyistä. Saadut tulokset ovat kuitenkin pääpiirteissään yhdenmukaisia.

Molempien tutkimuskohteina käytettyjen ohrien uutteissa voitiin paperikromatografisen erotuksen perusteella todeta joukko vapaita aminohappoja. Leusiini ja isoleusiini eivät erottuneet toisistaan käytetyllä ajoliuoksella. Leusiineja esiintyi sekä idättämättömässä huonolaatuisessa ohraseoksessa että hyvälaatuisessa ohrassa. Fenylalaniinia, valiinia, tyrosiinia, α -alaniinia, seriiniä ja glysiiniä esiintyi jo idättämättömissä jyvissä, samoin proliinia. Oksiproliniinia ei todettu. Asparagiinihappoa ja glutamiinihappoa esiintyi myös jo idättämättömistä jyvistä valmistetuissa uut-



Kuva 4a ja 4b. Huonolaatuisen ohraseoksen (4a) ja hyvälaatuisen ohran (4b) aminohappojen määrissä itämisen aikana tapahtuneet muutokset. Määrittäminen on suoritettu analysoimalla spektrofotometrillä aminohappojen paperikromatografisessa erotuksessa saatujen täplien eluaatit 5 ml:ssa metanolia. Määritetyt aminohapot olivat seuraavat: 2 ja 3. asparagiini, glysiini ja glutamiini, 4. asparagiinihappo, 5. seriini, 6. glutamiinihappo, 7. α -alaniini, 9. γ -aminovoihappo, 10. tyrosiini, 11. valiini, 12. fenylalaniini ja 13. leusiini ja isoleusiini.

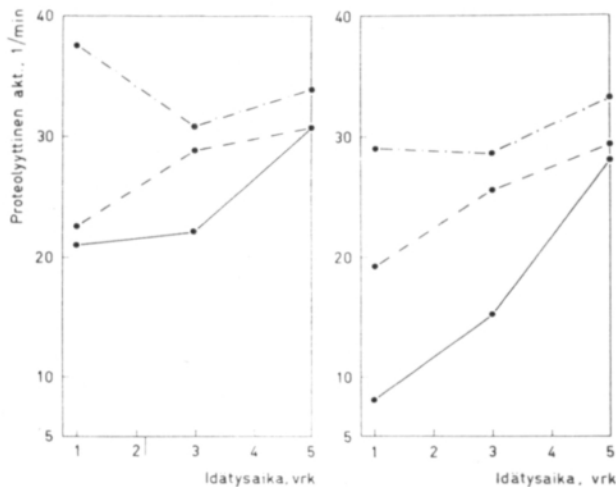
teissa samoin kuin γ -aminovoihappoakin; asparagiinia ja glutamiinia todettiin vähäisessä määrin. Kystiiniä sekä kysteiiniä esiintyi molemmissa ohranäytteissä jo idättämättömissä jyvissä. Vapaiden aminohappojen määrissä itämisen aikana tapahtuvat muutokset todettiin molemmissa ohralaaduissa hyvin samankaltaisiksi. Hyvälaatuisessa ohrassa (kuva 4a) esiintyi aminohappoja 4 vrk:n idätyksen jälkeen

jonkin verran runsaammin kuin huonolaatuissa ohraseoksissa (kuva 4b). Merkillepantavaa oli molemmissa ohranäytteissä esiintynyt suuri asparagiinihapon ja/tai seriinin määrä idätyksen lopussa. Aminohappojen määrissä itämisen aikana tapahtuneet muutokset olivat yhtäpitäviä SCRIBANIN (14) saamien tulosten kanssa.

Kaksoisidätys. Kaksoisidätyskokeissa todettiin, että huonolaatuisten ohraseoksen diastaattinen aktiivisuus lisääntyi toisella idätyskerralla jyrkemmin kuin ensimmäisellä ja molemmilla kerroilla nopeammin kuin hyvälaatuisten ohran. Molempien ohranäytteiden diastaattisten entsyymien aktiivisuudet olivat toisella idätyskerralla 3 vrk:n kuluttua noin kaksinkertaiset ensimmäiseen idätykseen verrattuna.

Taulukko 2. Hyvälaatuisten ohran maksimiviskositeetin muuttuminen kaksoisidätyksen aikana amylografisesti määritettynä. Näytteestä käytetty merkintä esim. 3 vrk/5 vrk tarkoittaa, että kyseistä näytettä on idätetty ensimmäisellä kerralla 3 vrk ja toisella 5 vrk.

Näyte	Maksimiviskositeetti (B. U.)	Vastaava lämpötila (°C)	Diastaattinen aktiivisuus (°W.-K.)
1 vrk/—	280	86	211
3 vrk/—	20	63	252
5 vrk/—	<10	<60	341
1 vrk/1 vrk	40	65	228
3 vrk/3 vrk	<10	<60	295
5 vrk/5 vrk	<10	<60	340



Kuva 5a ja 5b. Huonolaatuisten (5a) ohraseoksen ja hyvälaatuisten (5b) ohran proteolyttinen aktiivisuus 2. idätyskerran idätysajan funktiona kaksoisidätyskokeiden perusteella määritettynä. Tulokset on saatu idättämällä kerran idätettyjä jyvää toistamiseen siten, että ensimmäisellä kerralla 1, 3 ja 5 vrk idätettyjä näytteitä idätettiin toisella kerralla kutakin 1, 3 ja 5 vrk. Idätysaika 1. idätyksessä 1 vrk (●—●), idätysaika 1. idätyksessä 3 vrk (●— — — ●) ja idätysaika 1. idätyksessä 5 vrk (●— · — · — ●).

Amylografitutkimusten tulokset hyvälaatuisen ohran osalta on esitetty taulukossa 2. Pisimmillä idätysajoilla tärkkelyksen pilkkoontuminen oli niin perusteellista, ettei amylografi kyennyt kaikkia arvoja enää rekisteröimään.

Proteolyttinen aktiivisuus lisääntyi kaksoisidätyskokeissa toisella idätyskeralla sitä hitaammin mitä pitempi ensimmäinen idätys oli ollut. 1 tai 3 vrk esi-idätettyjen näytteiden aktiivisuusarvoissa oli 5. vrk:n jatkoidätyksen jälkeen vain mitättömät erot (kuva 5a ja 5b). Hyvälaatuisen ohran proteolyyttisen aktiivisuuden kasvu osoittautui toisella idätyskerralla erityisen nopeaksi huonolaatuiseen ohraseokseen verrattuna.

Yhteenveto

Suoritetuissa tutkimuksissa verrattiin toisiinsa kahta täysin erilaista vuoden 1962 satoa olevaa ohranäytettä, nimittäin kunnoltaan moitteetonta hyvälaatuista ohraa (Proctor) ja erittäin kosteissa olosuhteissa korjattua heikkolaatuista ohraseosta (Pirkka ja Balder). Ohranäytteitä idätettiin laboratoriossa joko normaalisti tai kahteen kertaan, jolloin mahdollisesti esiintyneet juuri-idut välillä poistettiin.

Normaalin idätyksen aikana amylolyyttisten entsyymien aktiivisuus lisääntyi hyvälaatuisessa ohraassa jyrkemmin kuin huonolaatuudessa ohraseoksessa. Viimeksi mainitun α -amylaasiaktiivisuus oli jo ennen idätystä n. 3 diastaattista yksikköä; vastaavan aktiivisuuden hyvälaatuinen ohra saavutti vasta 2 vrk:n idätyksen jälkeen. Hyvälaatuisen ohran diastaattisen aktiivisuuden lähtöarvo oli n. 20 % pienempi kuin huonolaatuisten ohraseoksen, mutta ensiksi mainitun diastaattinen aktiivisuus lisääntyi jyrkemmin ollen 4 vrk:n idätyksen jälkeen samaa suuruusluokkaa kuin huonolaatuudessa ohraseoksessa. Amylografitutkimuksissa amylolyyttisten entsyymien aiheuttama tärkkelyksen pilkkoutuminen tuli havaittavaksi n. 12 t liotuksen jälkeen. Idättämättömässä huonolaatuudessa ohraseoksessa todettiin paperikromatografisesti maltoosia enemmän kuin hyvälaatuisessa ohraassa. Maltoosin määrässä todettiin huomattava lisääntyminen 3 vrk:n ja glukoosin määrässä 4 vrk:n idätyksen jälkeen.

Hyvälaatuisen idättämättömän ohran proteolyttinen aktiivisuus oli vajaa puolet huonolaatuisten ohraseoksen aktiivisuudesta, ja idätyksen aikana molempien ohranäytteiden aktiivisuus lisääntyi jokseenkin samalla nopeudella. Vapaiden aminohappojen määrä lisääntyi idätyksen aikana suhteessa proteolyyttisen aktiivisuuden kasvuun. Molempien ohranäytteiden amylolyyttisten ja proteolyyttisten entsyymien aktiivisuudessa todettiin itämisen alussa liotuksen aikana alenemista; amylografinen tutkimus vahvisti amylolyyttisten entsyymien aktiivisuuden alenemisen.

Kaksoisidätyskokeissa huonolaatuisten ohraseoken diastaattisen aktiivisuuden todettiin lisääntyneen toisella idätyskerralla jyrkemmin kuin ensimmäisellä ja molemmilla kerroilla nopeammin kuin hyvälaatuisen ohran. Aktiivisuuden lisääntyminen toisessa idätyksessä oli sitä voimakkaampaa mitä lyhyempää idätystä ensimmäisessä vaiheessa oli käytetty. Molempien näytteiden amylolyyttisten entsyy-

mien aktiivisuudet olivat toisessa idätyksessä 3 vrk:n kuluttua noin kaksinkertaiset ensimmäiseen idätykseen verrattuna. Hyvälaatuisen ohran proteolyyttisen aktiivisuuden kasvu oli toisella idätyskerralla erityisen nopeaa huonolaatuiseen ohraseokseen verrattuna.

Epäedullisissa kosteusoloissa alkuunpäässeellä entsyymitoiminnalla on selvästi todettava vaikutus ulkonaisesti moitteettoman ohranjyvän koostumukseen.

KIRJALLISUUTTA

- (1) BISHOP, L. R. 1945. On barley, barley drying, malting and post-war problems. *J. Inst. Brewing* 51: 166 — 176.
- (2) GEDDES, W. F. & EVA, W. J. & MILTON, N. 1940. Relation between the protein content of Western Canadian hard red spring wheat, amber Durum wheat and barley. *Sci. Agr.* 20: 599 — 607.
- (3) GRASSMAN, W. & HANNING, K. 1952. Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese. *Z. Physiol. Chem.* 290: 1 — 27.
- (4) HEILMANN, J. & BARROLLIER, J. & WATZKE, E. 1957. Beitrag zur Aminosäurebestimmung auf Papierchromatogrammen. *Ibid.* 309: 219 — 220.
- (5) HOPKINS, R. H. & COOPER, T. F. C. 1946. The diastase of resting barley. *J. Inst. Brewing* 52: 188 — 189.
- (6) LINKO, M. 1962. Studies on double-malting, a new malting technique based on removal of rootlets after a short initial germination. Thesis, Institute of Technology, Helsinki.
- (7) MACLEOD, A. M. & TRAVIS, D. C. & WREAY, D. G. 1953. Studies on the free sugars of the barley grain. *J. Inst. Brewing* 59: 154 — 165.
- (8) MASSART, L. 1946. Enzymic actions during the course of malting. *Fermentation* 1946: 23 — 38. *Ref. C. A.* 42: 2052i.
- (9) MICHAELIS, L. 1931. Der Acetat-Veronalpuffer. *Biochem. Z.* 234: 139 — 141.
- (10) NUMMI, M. & ENARI, T.-M. 1962. Die Fraktionierung von Gerstenalbuminen durch Gel-Filtration und Papierelektrophorese. *Brauwissenschaft* 15: 203 — 207.
- (11) PARTRIDGE, S. M. 1948. Filter-paper partition chromatography of sugars. *Biochem. J.* 42: 238 — 253.
- (12) PELSCHENKE, P. F., BOLLING, H., DREWS, E., HAMPPEL, G., KEMPF, W., MENGER, A., ROTSCH, A., SCHÄFER, W., SCHULZ, A., SEIBEL, W., SPICHER, G. & TEGGE, G. 1961. Standard-Methoden für Getreide, Mehl und Brot. 3. Aufl. p. 9 Hrsgg. von der Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung E. V. Verlag Moritz Schäfer, Detmold.
- (13) SANDSTEDT, R. M. & KNEEN, E. & BISH, M. J. 1939. A standardized wohlgemuth procedure for alpha-amylase activity. *Cereal Chem.* 16: 712 — 723.
- (14) SCRIBAN, R. 1951. Les protides de l'orge, du malt et du moût. Morel et Corduant. Lille.
- (15) THUNAEUS, H. 1938. Ueber die Bestimmung der endgültigen Keimfähigkeit nicht keimreifer Braugerste mittels Wasserstoff-superoxyd. *Wochschr. Brau.* 55: 129 — 132.
- (16) TIKKA, J. 1963. Viljan piiloitavyys. *Tekn. Aikak.* 53: 591.
- (17) TREVELYAN, W. E. & PROCTER, D. P. & HARRISON, J. S. 1950. Detection of sugars on paper chromatograms. *Nature* 166: 444 — 445.
- (18) WINDISCH, W. & KOLBACH, P. 1925. Über die Bestimmung der diastatischen Kraft im Malz und in Malzextrakten. *Wochschr. Brau.* 42: 139 — 141.
- (19) United States Department of Agriculture, Washington 1950. Methods and costs of producing alcohol from grain by the fungal amylase process on a commercial scale. *Techn. Bull.* 1024: 31.

SUMMARY:

THE INFLUENCE OF ENZYMATIC ACTIVITY IN GRAIN, INDUCED BY GERMINATION IN THE FIELD, ON THE PROPERTIES OF BARLEY

ARI ORKO, A. J. A. KERÄNEN and JYRY TIKKA

The Research Laboratories of the State Alcohol Monopol (Alko) and Institute of Technology, Helsinki

Samples of two different kinds of barley of the 1962 crop were compared with each other, a perfect high-quality Proctor barley and a poor-quality barley mixture (Pirkka and Balder) harvested under very damp conditions. The two samples were germinated in the laboratory either in the normal way or by double germination in which case all possible rootlets were removed.

During normal germination the activity of the amylolytic enzymes increased more markedly in the high-quality barley than in the poor barley mixture. Already before germination the α -amylase activity of the latter was about 3 diastatic units; in the high-quality barley the same activity appeared only after two days' germination. The original value of the diastatic activity of the high-quality barley was about 20 % less than that of the poor-quality barley, but the diastatic activity of the former increased more sharply and was after 4 days of the same order of magnitude as in the poor-quality mixture. A splitting of the starch caused by the amylolytic enzymes was observed in amylographic investigations after soaking for about 12 h. Paper chromatography revealed that an ungerminated barley mixture of the poor-quality barley contained more maltose than the high-quality barley. The amount of maltose increased markedly after 3 days' and the amount of glucose after 4 days' germination.

In the high-quality, ungerminated barley the proteolytic activity was barely half of that found in the poor-quality barley, and during the germination the increase of the activity in both samples was about the same. The content of free amino acids increased during germination in conformity with the increased proteolytic activity. At the beginning of germination, during the soaking, the activities of the amylolytic and proteolytic enzymes decreased in both samples of barley; this was confirmed by amylographic determinations.

In experiments on double germination it was found that the diastatic activity in the poor-quality barley increased more abruptly during the second germination, and during both germinations the increased activity was more pronounced than in the high-quality barley. The shorter the germination time in the first stage, the sharper the increase of the activity during the second germination. The activities of the amylolytic enzymes were in both samples about twice as high after 3 days in the second germination as after the first germination. The proteolytic activity in the high-quality barley increased during the second germination particularly rapidly compared with that in the poor-quality barley mixture.

It has thus been clearly demonstrated that the properties of barley that externally appears to be in perfect condition, may have been changed by enzymatic activity induced by previous exposure to unfavourable moisture conditions.