

WPLYW ENZYMÓW WSPOMAGAJĄCYCH NA SKŁAD CHEMICZNY I LEPKOŚĆ ZACIERÓW Z PSZENŻYTA

Ewelina Sapińska, Maria Balcerek

Zakład Technologii Spirytusu i Drożdży,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka
ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź
e-mail: ewelina.sapinska@dokt.p.lodz.pl

Streszczenie. W pracy oceniano wpływ dodatku preparatów enzymów wspomagających (ksylanazy, pullulanazy, celulazy i celobiazы) do zacierów z pszenżyta, przygotowanych metodą beczniennowego uwalniania skrobi (BUS) na ich skład fizyko-chemiczny, lepkość oraz wskaźniki fermentacji. Fermentację prowadzono systemem trzydobowym w temperaturze 28-30°C, z udziałem suszonych drożdży gorzelnicznych *Saccharomyces cerevisiae*, rasy As4. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono wpływ dodatku enzymów wspomagających na własności reologiczne i skład fizyko-chemiczny, zarówno zacierów słodkich (ekstrakt, cukry redukujące, dekstryny, lepkość), jak i odfermentowanych (ekstrakt pozorny, ekstrakt rzeczywisty, alkohol, cukry redukujące, dekstryny) oraz przebieg fermentacji. W próbach fermentacyjnych, zawierających ksylanazę, pullulanazę oraz celulazę i celobiazę zaobserwowano poprawę dynamiki procesu fermentacji – szybsze zafermentowanie i krótszy czas trwania procesu w porównaniu z próbą kontrolną (bez dodatku enzymów wspomagających). W zależności od rodzaju zastosowanych enzymów pomocniczych, wydajność fermentacji mieściła się w granicach od 88,10% (zacier z ksylanazą) do 94,92% wydajności teoretycznej (zacier z celulazą i celobiazą) i była znacząco wyższa niż w próbie kontrolnej (65,60%).

Słowa kluczowe: fermentacja, beczniennowe uwalnianie skrobi (BUS), enzymy, pszenżyto

WSTĘP

Problemem powstającym podczas przygotowywania gorzelnicznych zacierów zbożowych, z wykorzystaniem technologii beczniennowego uwalniania skrobi (BUS), jest nadmierna lepkość zacierów (Grzybowski i Stecka 1998, Miecznikowski i in. 1996, Oliveira i in. 1999). Przyczyną tego jest występowanie w zbożach, oprócz skrobi, innych cukrowców – polisacharydów nieskrobiowych (PNS), do których należą: pentozany (ksylany), β -glukany, celuloza oraz hemicelulozy.

W przypadku prowadzenia procesu zacierania wyłącznie z udziałem enzymów amylolitycznych związki te nie ulegają hydrolizie do cukrów fermentujących. Wymienionym problemom można przeciwdziałać wykorzystując aktywność hydrolaz polisacharydów nieskrobiowych (ksylanazę, celulazę oraz celobiazę), katalizujących hydrolizę wiązań β -1,4 oraz β -1,3 w PNS (Kłosowski 2006, Kłosowski i in. 2009, Mathlouthi i in. 2002). Zastosowanie tych enzymów pomocniczo w procesie gorzelnicznym przynosi wymierne korzyści, gdyż następuje uwalnianie dodatkowej ilości cukrów fermentujących, dając tym samym szansę na wyższą wydajność spirytusu z jednostki surowca (Kapela i Solarek 2004). Do grupy enzymów pomocniczych, interesujących dla gorzelnictwa, należy zaliczyć również pullulanazę, katalizującą hydrolizę wiązań α -1,6-glikozydowych w cząsteczkach amylopektyny skrobi. W wyniku aktywności tego enzymu powstają liniowe dekstryny, co poprawia dynamikę scukrzania skrobi oraz skraca czas fermentacji (Gantelet i Duchiron 1999). Ponadto, stwarza to możliwość fermentacji zacierów o wyższych ekstraktach początkowych, a tym samym zwiększenie produktywności kadzi fermentacyjnych (Srichuwonga i in. 2009, Wang i in. 1999).

W pracy oceniano wpływ dodatku preparatów enzymów wspomagających (ksylanazy, pullulanazy, celulazy i celobiazy) do zacierów z pszenżyta, przygotowanych metodą beciśnieniowego uwalniania skrobi (BUS) na ich skład fizykochemiczny, lepkość oraz wskaźniki fermentacji.

METODYKA BADAŃ

W badaniach wykorzystano ziarna pszenżyta odmiany Grenado. Analizę pszenżyta przeprowadzono metodami zalecanymi w przemyśle rolno-spożywczym (Jakubczyk i Haber 1981, Krełowska-Kułas 1993). Obejmowała ona oznaczenie: zawartości suchej substancji, skrobi, białka i związków mineralnych (popiołu) (AOAC 1995) oraz cukrów redukujących (Krełowska-Kułas 1993).

Analiza zacierów została wykonana według metod zalecanych w gorzelnictwie (Krełowska-Kułas 1993). W zacierach słodkich oznaczano ekstrakt ogólny za pomocą areometru, wyskalowanego w stopniach odpowiadających zawartości sacharozy w $\text{g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ roztworu, stężenie cukrów redukujących, dekstryn oraz lepkość, z wykorzystaniem wiskozymetru Höpplera (Ładoński i Gospodarek 1986). W zacierach odfermentowanych oznaczano: ekstrakt pozorny (w obecności alkoholu), ekstrakt rzeczywisty, zawartość etanolu i stężenie cukrów pozostałych po fermentacji.

Analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Proces upłynniania i scukrzania skrobi metodą beciśnieniową był prowadzony w zbiorniku, umieszczonym w łaźni wodnej, wyposażonym w mieszadło laborato-

ryjne oraz termometr. Zmielone ziarno pszenżyta zmieszano z wodą wodociągową o temperaturze około 50°C, w proporcjach 3,5 l wody na 1 kg surowca i dodano preparat upłynniający Termamyl SC (α -amylaza) w dawce 0,13 cm³ na 1 kg skrobi. Aby zapewnić optymalne warunki upłynniania, mieszaninę ogrzano (jednocześnie mieszając) do temperatury 90°C i przetrzymywano w tych warunkach przez ok. 30 minut. Po upłynnieniu zacier schłodzono do temperatury około 65°C i dodano preparat scukrzający SAN Extra (glukoamylaza) w dawce 0,6 cm³ na 1 kg skrobi. Zacier ochłodzono do temperatury 30°C, jego pH wyregulowano do wartości ok 4,8 za pomocą roztworu kwasu siarkowego 30% w·w⁻¹, a następnie poddano procesowi jednoczesnego scukrzania i fermentacji.

Do prób zacierów słodkich dodawano następujące preparaty enzymów wspomagających (zgodnie z zaleceniami producentów):

- Shearzyme 500 L, zawierający ksylanazę (EC 3.2.1.8), w dwóch porcjach, po 0,1 cm³·kg⁻¹ skrobi wraz z preparatem upłynniającym i scukrzającym.
- Promozyme 200 L, zawierający pullulanazę (EC 3.2.1.41) w ilości 0,05 cm³·kg⁻¹ skrobi wraz z enzymem scukrzającym, po upłynnieniu i schłodzeniu zacieru do temperatury 65°C.
- Cellustar i Novozyme, zawierające odpowiednio celulazę (EC 3.2.1.4) i celobiazę (EC 3.2.1.21). Preparaty te dodawano jednocześnie, w dawce po 0,1 cm³·kg⁻¹ surowca, przed i po upłynnieniu.

Do fermentacji zacierów pszenżytnich używano suszonych drożdży gorzelnicznych *Saccharomyces cerevisiae*, rasy As4. Wprowadzono je do zacieru w ilości 0,3 g·l⁻¹ zacieru po uprzednim uwodnieniu i odkażeniu. W tym celu zakwaszono wodną zawiesinę drożdży roztworem kwasu siarkowego 30% w·w⁻¹ do pH około 2,5 i pozostawiono w temperaturze pokojowej przez 15 minut. Zabieg ten miał na celu wyeliminowanie słabszych komórek drożdżowych oraz zniszczenie mikroflory bakteryjnej. Następnie sprawdzono żywotność komórek drożdżowych za pomocą błękitu metylenowego. Zawartość komórek martwych nie przekraczała 10%. Tak przygotowane mleczo drożdżowe, bez zobojętniania, wprowadzono do zacierów słodkich i dokładnie wymieszano. Jako pożywkę dla drożdży zastosowano fosforan diamonu (NH₄)₂HPO₄ w postaci wodnego roztworu, w ilości 0,4 g·l⁻¹ zacieru.

Fermentację alkoholową zacierów prowadzono w kolbach płaskodennych o objętości 4 litrów, wprowadzając do każdej około 2,5 litra zacieru. Kolejno dodawano pożywkę, drożdże i zamykano kolby rurkami fermentacyjnymi, wypełnionymi gliceryną. Zacieru poddano fermentacji, w temperaturze 30°C. Przebieg procesu kontrolowano wagowo, określając ubytki masy fermentujących prób, związane z wydzielaniem ditlenku węgla.

Wydzielenie alkoholu etylowego z odfermentowanych zacierów prowadzono w zestawie do destylacji prostej, do całkowitego oddestylowania alkoholu, kontrolując refraktometrycznie zmiany zawartości etanolu w odbieranym destylacie.

WYNIKI

Charakterystykę składu chemicznego pszenżyta przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Skład chemiczny ziarna pszenżyta

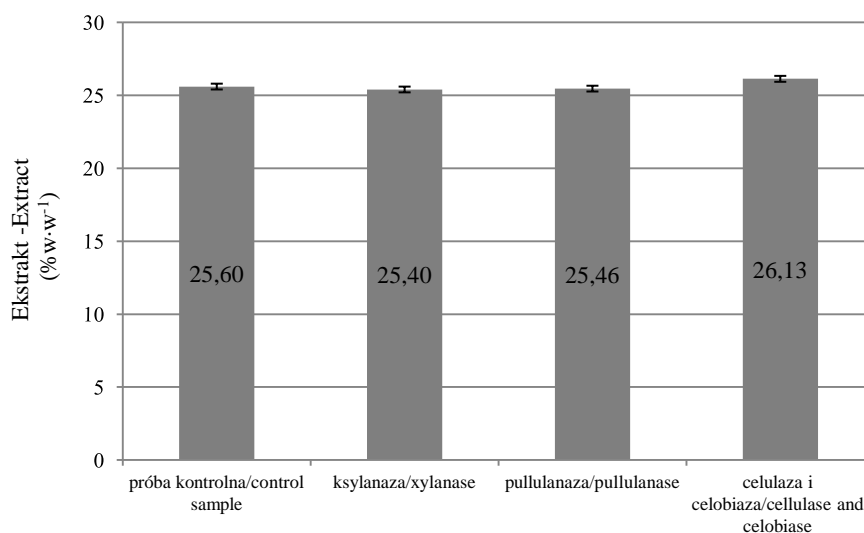
Table 1. Chemical composition of triticale grain

Składniki – Components	Zawartość – Content
Wilgotność – Moisture (%)	9,26 ($\pm 1,85$)
Sucha substancja – Solid substance (%)	90,74 ($\pm 1,85$)
Skrobia – Starch (%)	59,53 ($\pm 2,55$)
Cukry redukujące – Reducing sugars (%)	5,62 ($\pm 0,12$)
Białko – Protein (% s.s.)	12,15 ($\pm 0,35$)
Popiół – Ash (% s.s.)	1,73 ($\pm 0,09$)

Uzyskane wyniki są zbliżone do danych literaturowych (Czerwińska 2010). Zawartość suchej substancji oraz wilgotność kształtowały się na poziomie odpowiednio $90,74 \pm 1,85\%$ oraz $9,26 \pm 1,85\%$, co wynika z odpowiedniego przechowywania ziarna. Wykorzystywane w pracy pszenżyto odznaczało się wysoką zawartością skrobi, na poziomie $59,53 \pm 2,55\%$, co potwierdza dobrą jakość ziarna oraz pozwala na osiągnięcie wyższej wydajności produkowanego alkoholu etylowego. Zawartość białka w pszenżycie wynosiła $12,15 \pm 0,35\%$ i była zbliżona do wartości podawanej w piśmiennictwie fachowym (ok. 12%). Nadmiar białka w ziarnie nie jest wskazany, gdyż utrudnia proces gorzelniczy, powodując nadmierne pienienie się zacierów, co wpływa niekorzystnie na wydajność i przebieg fermentacji (Chaber i Jakubczyk 1981, Sikorski 1994, Świetlikowska 1995).

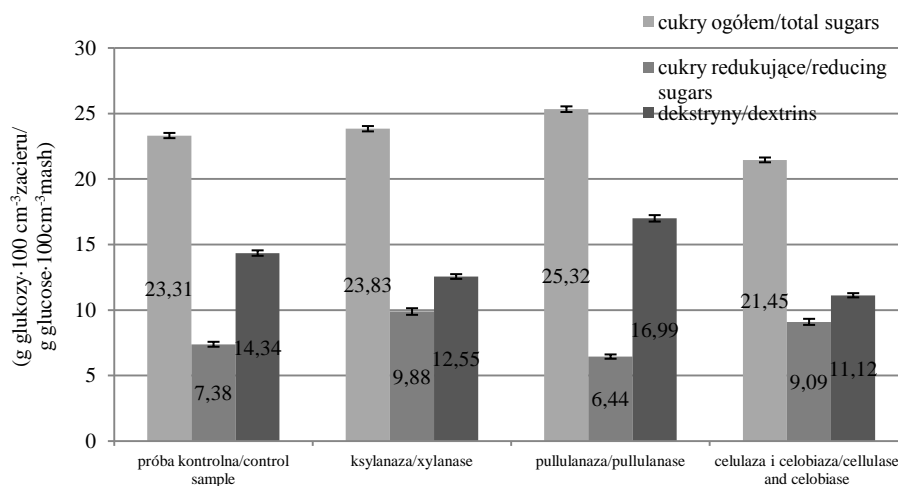
Na rysunku 1 przedstawiono wartości ekstraktów zacierów słodkich dla wszystkich wariantów fermentacji, które kształtowały się na zbliżonym poziomie ($25,4 \pm 0,2$ - $26,13 \pm 0,2\%$ w·w⁻¹). Uzyskanie takich gęstości zacierów słodkich umożliwiło porównanie procesu fermentacji etanolowej z wykorzystaniem różnych enzymów wspomagających.

Kolejnym ocenianym parametrem było stężenie cukrów w zacierach słodkich (rys. 2). Najwyższą zawartością cukrów ogółem na poziomie $25,32 \pm 0,2$ g glukozy (100 ml)⁻¹ zacieru oraz dekstryn $16,99 \pm 0,2$ g·(100 ml)⁻¹ zacieru charakteryzowały się zacierzy z dodatkiem pullulanazy, co świadczy o powolnym scukrzaniu skrobi pszenżytniej przez amyloglukozydazę oraz pullulanazę.



Rys. 1. Ekstrakt (wartość średnia \pm odchylenie standardowe) zacierów słodkich pszenżytnich z dodatkiem enzymów wspomagających

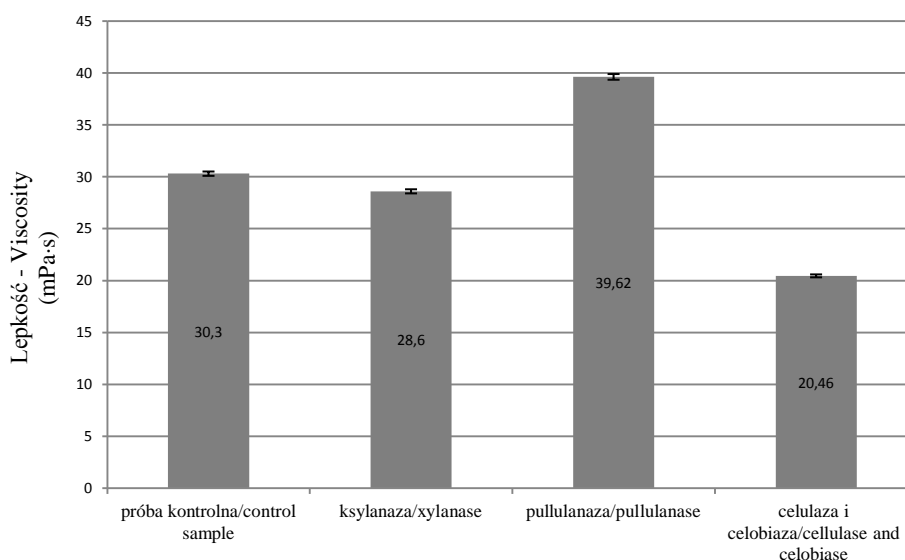
Fig. 1. Extract (mean value \pm standard deviation) in triticale sweet mashes prepared with the addition of supportive enzymes



Rys. 2. Zawartość cukrów ogółem, cukrów redukujących oraz dekstryn (wartość średnia \pm odchylenie standardowe) w zacierach słodkich pszenżytnich z dodatkiem enzymów wspomagających

Fig. 2. Content of total sugars, reducing sugars and dextrins (mean value \pm standard deviation) in triticale sweet mashes prepared with the addition of supportive enzymes

Lepkość omawianych zacierów przedstawiono na rysunku 3. Największe obniżenie lepkości stwierdzono w próbach zacierów z dodatkiem celulozy i celobiazu ($20,46 \pm 0,09$ mPa·s).

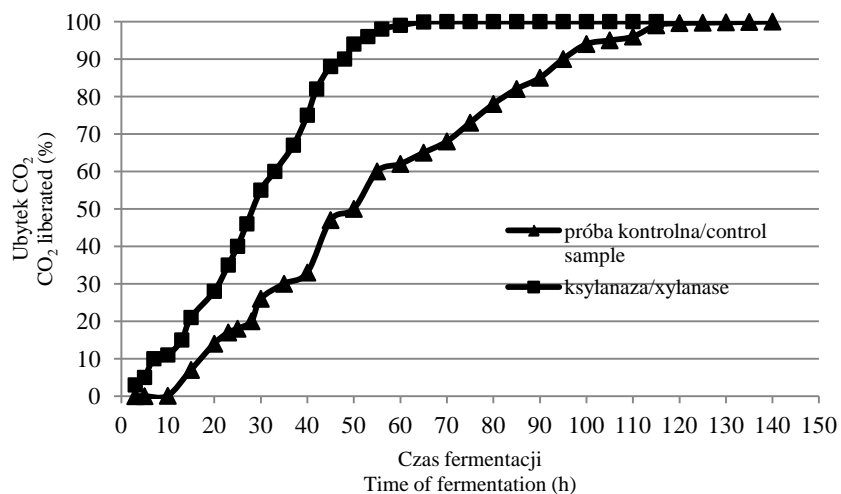


Rys. 3. Lepkość (wartość średnia \pm odchylenie standardowe) zacierów słodkich pszenżytnich z dodatkiem enzymów wspomagających

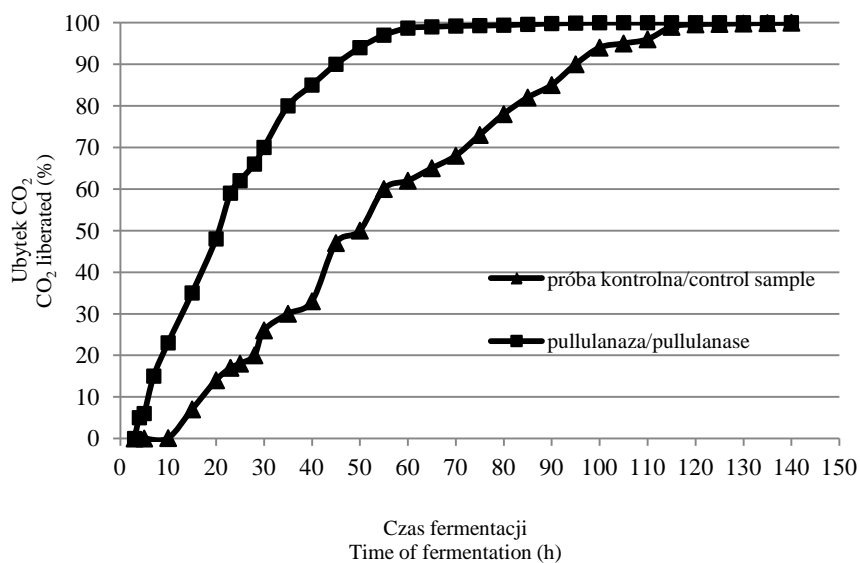
Fig. 3. Viscosity (mean value \pm standard deviation) in triticale sweet mashes prepared with the addition of supportive enzymes

Na rysunkach 4-6 przedstawiono dynamiki procesu dla wszystkich prób fermentacyjnych. Z obserwacji przebiegu fermentacji zacierów wynika, że dodatek enzymów wspomagających wpłynął na skrócenie czasu trwania fermentacji – faza adaptacyjna była znacznie krótsza (około 3-4 h) niż w próbie kontrolnej (10 h). Fermentacja właściwa odznaczała się bardziej dynamicznym przebiegiem. Cały proces fermentacji zacierów z enzymami pomocniczymi trwał około 2 razy krócej niż fermentacja zacieru, zawierającego jedynie enzymy amylolityczne (120 h).

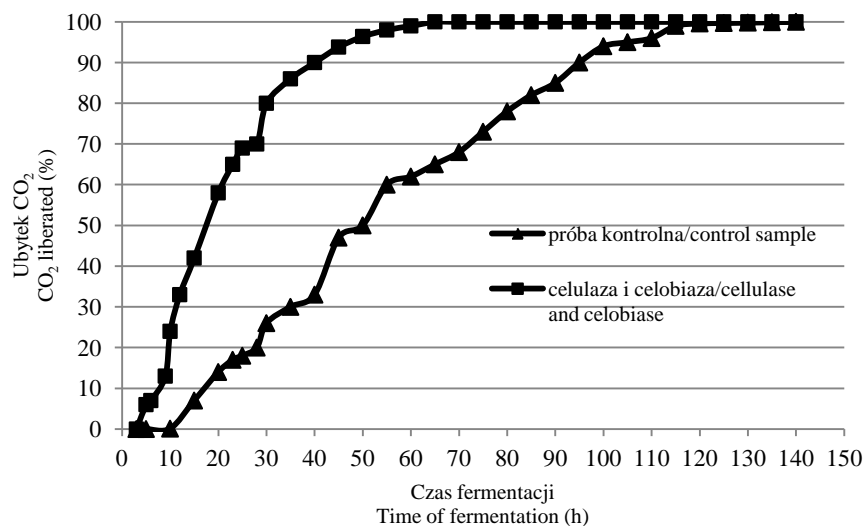
Kolejnymi ocenianymi parametrami były zmiany ekstraktu pozornego i rzeczywistego zacierów odfermentowanych, przedstawione na rysunku 7. Najniższym ekstraktem pozornym ($0,65 \pm 0,05\%$ w·w⁻¹) oraz rzeczywistym ($2,7 \pm 0,1\%$ w·w⁻¹), w porównaniu z próbą kontrolną, charakteryzował się zacier fermentowany z dodatkiem pullulanazy. Wynikało to z całkowitego odfermentowania zacieru, poprzez wykorzystanie dostępnej puli substratów cukrowych przez drożdże oraz efektywnej i niezakłóconej biosyntezy etanolu.



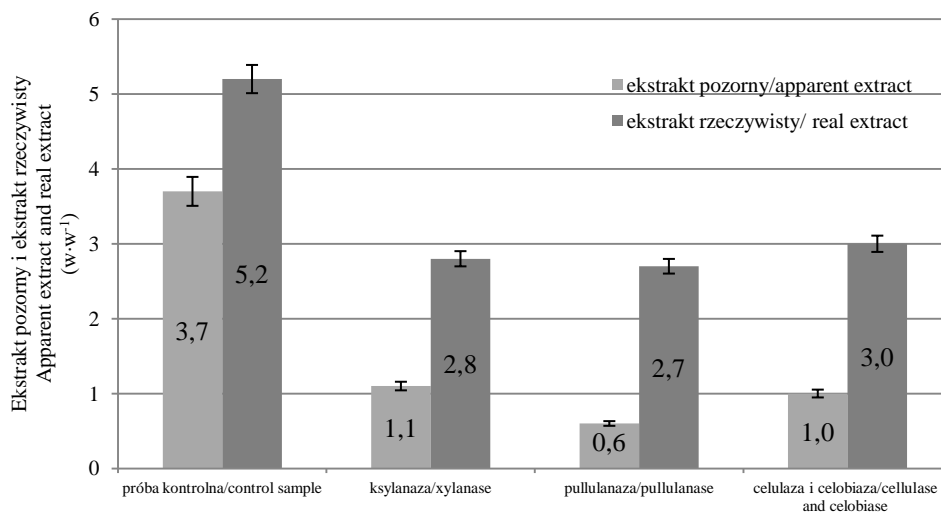
Rys. 4. Dynamika fermentacji zacierów pszenżytnich z dodatkiem ksylanazy
Fig. 4. Fermentation dynamics of triticale mashes treated with xylanase



Rys. 5. Dynamika fermentacji zacierów pszenżytnich z dodatkiem pullulanazy
Fig. 5. Fermentation dynamics of triticale mashes treated with pullulanase

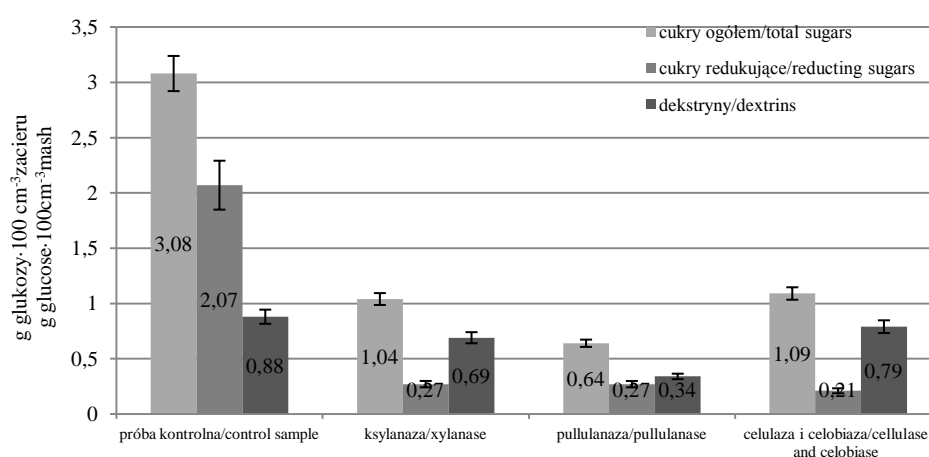


Rys. 6. Dynamika fermentacji zacierów pszenżytnich z dodatkiem celulazy i celobiozy
Fig. 6. Fermentation dynamics of triticale mashes treated with cellulase and cellobiase



Rys. 7. Ekstrakt pozorny i ekstrakt rzeczywisty (wartość średnia ± odchylenie standardowe) zacierów odfermentowanych pszenżytnich z dodatkiem enzymów wspomagających
Fig. 7. Apparent extract and real extract (mean value ± standard deviation) in triticale mashes after fermentation with supportive enzymes

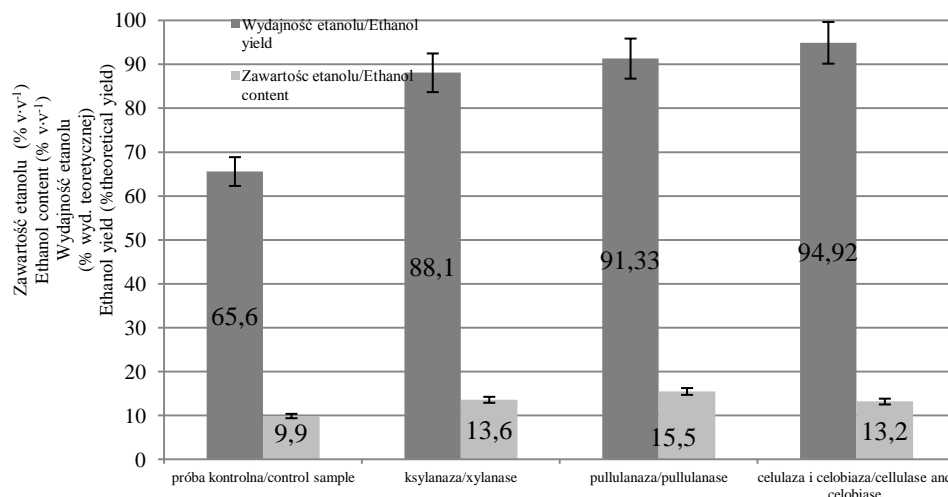
Obserwując zmiany stężenia cukrów, stwierdzono znaczne zmniejszenie zawartości substancji redukujących we wszystkich próbach fermentacyjnych (rys. 8). Było to spowodowane intensywnym namnażaniem drożdży, wykorzystujących substraty cukrowe na procesy anaboliczne, zachodzące w ich komórkach. Duże zużycie dostępnych cukrów przekładało się na najwyższą zawartość alkoholu. Po zakończeniu procesu najmniejszą zawartość związków redukujących ogółem ($0,64 \pm 0,05$ g glukozy $\cdot (100 \text{ ml})^{-1}$ zacieru) odnotowano w próbie fermentacyjnej z dodatkiem pullulanazy.



Rys. 8. Zawartość cukrów ogółem, cukrów redukujących oraz dekstryn (wartość średnia \pm odchylenie standardowe) w zacierach odfermentowanych pszenżytnich z dodatkiem enzymów wspomagających
Fig. 8. Content of total sugars, reducing sugars and dextrans (mean value \pm standard deviation) in triticale mashes after fermentation with supportive enzymes

Na rysunku 9 przedstawiono porównanie stężenia alkoholu w zacierach odfermentowanych i wydajności alkoholu dla wszystkich prób fermentacyjnych. W zacierach przygotowanych z udziałem enzymów pomocniczych obserwowano znaczący wzrost wartości tych wskaźników w porównaniu z próbą kontrolną. Stężenie alkoholu w próbach fermentacyjnych suplementowanych enzymami pomocniczymi mieściło się w granicach od $13,2 \pm 0,66\%$ v.v⁻¹ w zacierze z celulazą i celobiazą do $15,5 \pm 0,77\%$ v.v⁻¹ w zacierze z pullulanazą, podczas gdy w próbie kontrolnej wynosiło $9,9 \pm 0,5\%$ v.v⁻¹. Największą wydajność alkoholu ($94,92 \pm 1\%$ wydajności teoretycznej) odnotowano w zacierze z dodatkiem celulazy i celobiozy. Jest to spowodowane oddziaływaniem preparatów celulazy i celobiozy na struktury ścian komórkowych surowca i zwiększa tym samym możliwości działania enzymów amylolitycznych, co przyspiesza proces degradacji skrobi i skutkuje zwiększeniem

szonym stopniem jej wykorzystania. Spośród zastosowanych enzymów wspomagających, najniższą wydajność fermentacji ($88,1 \pm 1\%$ wydajności teoretycznej) odnotowano po fermentacji zacieru z dodatkiem ksylanazy.



Rys. 9. Zawartość etanolu i wydajność fermentacji (wartość średnia \pm odchylenie standardowe) w zacierach pszenżytnich z dodatkiem enzymów wspomagających

Fig. 9. Ethanol content and yield of fermentation process (mean value \pm standard deviation) in triticale mashes with supportive enzymes

WNIOSKI

1. Dodatek enzymów wspomagających do zacierów pszenżytnich w różnicowany sposób wpływał na ich skład chemiczny, lepkość oraz na przebieg i wydajność fermentacji.
2. Enzymy wspomagające nie wpłynęły na obniżenie lepkości zacierów, a w przypadku dodatku pullulanazy odnotowano podwyższenie jej wartości.
3. Preparaty zawierające enzymy pomocnicze poprawiły dynamikę procesu fermentacji (szybsze zafermentowanie, skrócenie czasu trwania procesu).
4. Fermentacja zacieru pszenżytniego z dodatkiem celulazy i celobiozy charakteryzowała się najwyższą wydajnością ($94,92\%$) w porównaniu z zacierem kontrolnym.
5. Uzyskane wyniki badań potwierdzają celowość stosowania preparatów enzymów wspomagających podczas przygotowania zacierów pszenżytnich o podwyższonej gęstości.

PIŚMIENNICTWO

- AOAC, 1995. Official methods of analysis of AOAC international, 16th edn. Methods: 925.10, 945.37, 960.52, 923.03. AOAC International, Maryland, USA.
- Chaber T., Jakubczyk T., 1981. Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW-AR, Czerwińska D., 2010. Wartość odżywcza i wykorzystanie pszenżyta. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 1, 9-10.
- Czupryński B., Trzcinińska M., Kłosowski G., Sieliwanowicz B., 1998. Application of β -glucosidase in pressureless mashing of rye. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 7, 48, 3, 447-453.
- Gantelet H., Duchiron F., 1999. A new pullulanase from a hyperthermophilic archaeon for starch hydrolysis. *Biotechnol. Lett.*, 21, 71-75.
- Grzybowski R. A., Stecka M. K., 1998. Zadania dla polskiego gorzelnictwa w obliczu perspektywy zjednoczenia z UE. *Przem. Ferm. i Owoc.-Warz.*, 3, 5-7.
- Jakubczyk T., Haber T., 1993. Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW-AR. Warszawa.
- Kapela T., Solarek L., 2004. Enzymy Novozymes dla gorzelnictwa – nowoczesne preparaty scukrzające z grupy SAN oraz enzymy pomocnicze. *Przem. Ferm. i Owoc.-Warz.*, 5, 26-28.
- Kłosowski G., 2006. Technologie produkcji w polskim gorzelnictwie i stosowane w nich preparaty enzymatyczne. *Rynki Alkoholowe*, 10, 47-48.
- Kłosowski G., Czupryński B., Sieliwanowicz B., Kotarska K., Wolska M., 2001. Monitoring of sugar substrates utilization by D2 and As4 yeast and kinetics of by-products formation during alcoholic fermentation of rye and corn mashes. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 10/51, 2, 19-24.
- Kłosowski G., Mikulski D., Czupryński B., Kotarska K., 2009. Characterisation of fermentation of high-gravity maize mashes with the application of pullulanase, proteolytic enzymes and enzymes degrading non-starch polysaccharides. *J. Biosci. Bioeng.*, 109, 5, 466-471 Krelowska-Kułas M., 1993. Badanie jakości produktów spożywczych. PWE, Warszawa.
- Ładoński W., Gospodarek T., 1986. Podstawowe metody analityczne produktów spożywczych. PWN Warszawa-Wrocław.
- Mathlouthi N., Saulnier L., Quemener B., Larbier M., 2002. Xylanase, β -glucanase, and other side enzymatic activities have greater effects on the viscosity of several feedstuffs than xylanase and β -glucanase used alone or in combination. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5121-5127
- Miecznikowski A., Milewski J., Stecka K., 1996. Energooszczędna technologia produkcji spirytusu surowego. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 10, 15-18.
- Oliveira S. C., De – Castro H. F., Visconti A. E. S., Giudici R., 1999. Continuous ethanol process performance, kinetics parameters and model predictions. *Bioprocess – Eng.*, 20, 6, 525-530.
- Sikorski Z. E., 1994. Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. WNT. Warszawa.
- Srichuwonga S., Fujiwara M., Wanga X., Seyama T., Shiromaa R., Arakanea M., Mukojimab N., Tokuyasua K., 2009. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of very high gravity (VHG) potato mash for the production of ethanol. *Biomass Bioenerg.*, 33, 890-898.
- Świetlikowska U., 1995. Surowce spożywcze. Wyd. SGGW, Warszawa.
- Wang S., Thomas K.C., Sosulski K., Ingledew W.M., Sosulski F.W., 1999. Grain pearling and very high gravity (VHG) fermentation technologies for fuel alcohol production from rye and triticale. *Process Biochem.* 34, 421-428.

INFLUENCE OF SUPPORTIVE ENZYMES ON CHEMICAL COMPOSITION AND VISCOSITY OF TRITICALE MASHES

Ewelina Sapińska, Maria Balcerek

Department of Spirit and Yeast Technology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences
Lodz University of Technology
ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź
e-mail: ewelina.sapinska@dokt.p.lodz.pl

Abstract. In the paper the effect of addition of supportive enzymes preparations (xylanase, pullulanase, cellulase and cellobiase) to triticale mashes, prepared by pressureless liberation of starch (PLS), on their physicochemical composition, rheological properties, and indicators of fermentation was evaluated. Fermentation was conducted at 28-30°C, by using dried distillery yeast strain As4 (*Saccharomyces cerevisiae*). The obtained results showed a diversified impact of supportive enzymatic preparations on rheological properties and physicochemical composition, both of sweet mashes (extract, reducing sugars, dextrins, viscosity) and of mashes after fermentation (apparent extract, real extract, alcohol, reducing sugars, dextrins) and on the course of process. In fermentation samples containing xylanase, pullulanase or cellulase and cellobiase an improvement in the dynamics of the fermentation - faster pre-fermentation and shorter time of process compared with the control sample (without addition of supportive enzymes) were observed. Depending on the kind of supportive enzymes used, fermentation efficiency ranged from 88.10% (mash with xylanase preparation) to 94.92% of theoretical yield (mash with cellulase and cellobiase preparations) and was significantly higher in comparison with the control sample (65.60%).

Keywords: fermentation, pressureless liberation of starch (PLS), enzymes, triticale