

# STANOVENÍ METHIONINU VE SLADU

## DETERMINATION OF METHIONINE IN MALT

RENATA MIKULÍKOVÁ, ZDENĚK SVOBODA, KAROLÍNA BENEŠOVÁ, SYLVIE BĚLÁKOVÁ

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Sladařský ústav, Mostecká 7, CZ-614 00 Brno

*Research Institute of Brewing and Malting Plc., Malting Institute, Mostecká 7, CZ-614 00 Brno*

e-mail: mikulikova@brno.beerresearch.cz

**Mikulíková, R. – Svoboda, Z. – Benešová, K. – Běláková, S.: Stanovení methioninu ve sladu.** Kvasny Prum. 55, 2009, č. 11–12, s. 310–314.

Těkavé sirné látky mají nezanedbatelnou roli v senzorické jakosti piva. Jejich prekursory jsou sirné aminokyseliny a hlavně sirná aminokyselina methionin. Byl sledován obsah methioninu ve sladech vyrobených ze šesti odrůd ječmene (Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Tolar a Xanadu) ze dvou lokalit (Branišovice, Hrubčice). Dále byl sledován obsah methioninu v závislosti na teplotě hvozdění (pražení). Byla optimizována metoda stanovení methioninu ve sladu pomocí plynové chromatografie se selektivním plamenofotometrickým detektorem. Při validaci metody se dosáhlo těchto parametrů LOQ 1,6,  $R^2$  0,99974, RSD 15 %.

**Mikulíková, R. – Svoboda, Z. – Benešová, K. – Běláková, S.: Determination of methionine in malt.** Kvasny Prum. 55, 2009, No. 11–12, p. 310–314.

Volatile sulphur substances play an important role in sensory beer quality. Their precursors are sulphur amino acids, first of all sulphur amino acid metionine. Content of methionine was studied in malts made from six barley varieties (Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Tolar, and Xanadu) from two localities (Branišovice, Hrubčice). In addition, methionine content in dependence on temperature of kilning (roasting) was monitored. The technique for the determination of methionine in malt was optimized using the gas chromatography with a selective flame photometric detector. At the validation of this method, the following parameters were achieved: LOQ 1.6,  $R^2$  0.99974, RSD 15 %.

**Mikulíková, R. – Svoboda, Z. – Benešová, K. – Běláková, S.: Die Methioninbestimmung im Malz.** Kvasny Prum. 55, 2009, Nr. 11–12, S. 310–314.

In der sensorischen Qualität des Bieres stellen flüchtige schwefelhaltige Stoffe eine unver nachlässige Rolle dar. Ihre Prekursore sind Schwefelaminosäuren und insbesonders die Schwefelaminosäure Methionin. Es wurde ein Gehalt an Methionin im aus den sechs Malzgerstensorten (Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Tolar a Xanadu) aus den zweien Anbaugebieten (Branišovice, Hrubčice) hergestellten Malz verfolgt. Weiterhin wurde auch der Gehalt an Methionin in der Abhängigkeit von der Darrttemperatur (Röstungstemperatur) geforscht. Die Methode der Methioninbestimmung im Malz durch die Gaschromatographie mit selektivem Flammenphotometrischendetektor ist optimiert worden. Bei der Validation der Methode wurden die folgende Parameter LOQ 1,6,  $R^2$  0,99974, RSD 15 % erreicht.

**Klíčová slova:** methionin, GC/FPD, derivatizace, slad

**Keywords:** Methionine, GC/FPD, derivatization, malt

### 1 ÚVOD

Sirné aminokyseliny jsou přirozenou součástí ječmene, sladu i piva a jsou prekurzory těkavých sirných látek, které mají nezanedbatelnou roli v senzorické jakosti piva. Tyto těkavé sirné látky mohou nepríznivě ovlivnit chuť piva i ve velmi nízkých koncentracích. Proto je nutné znát nejen obsah jejich prekursorů, ale i možnosti jejich vzniku v průběhu technologie výroby piva.

Mezi hlavní meziprodukty při vzniku senzoricky aktivních sirných látek během výroby piva patří S-methylmethionin, který vzniká metylací methioninu v cyklu sirných aminokyselin (obr. 1).

Během hvozdění sladu, když teplota přesáhne 60 °C, je S-methylmethionin degradován na homoserin a dimethylsulfid, takže nezanedbatelná část může vytékat do plynné fáze. Syntéza a degradace S-methylmethioninu je závislá na vlhkosti a teplotě zrna. Oxidací uvolněného dimethylsulfidu vzniká dimethylsulfoxid. Rychlosť oxidace roste s teplotou hvozdění. Rozsáhlejší oxidace dimethylsulfidu vede ke vzniku dimethylsulfonu [1].

Další cestou vzniku dimethylsulfidu je rozklad methioninu vzájemnou reakcí s redukujícími cukry (obr. 2). Hlavním produktem této degradace je methional nebo od něj odvozený methionol. Dalšími dvěma produkty jsou dimethylsulfid a dimethylsulfoxid. Rozkladem methionalu může vznikat ethylmethylsulfid. Termickým rozkladem cysteingu a cystinu vzniká sirovodík [2].

Během rmoutování přechází S-methylmethionin, vzniklý při sladování, do roztoku, kde probíhá jeho rozklad. Vznikající dimethylsulfid je za varu strháván parami. Rychlosť vypařování dimethylsulfidu je v této fázi rychlejší než jeho syntéza [2].

Po vaření piva dochází v chladnoucí mladině stále k degradaci S-methylmethioninu, ale již nedochází k odpařování dimethylsulfidu [2].

V ležáckých pivech se nachází dimethyltrisulfid, který vzniká degradací methionalu a methionolu v čerstvém pivu. Methional pochází především ze Streckerovy eliminace methioninu při sladování ječmene [2].

### 1 INTRODUCTION

Sulphur amino acids are natural components of barley, malt and beer. They are precursors of volatile sulphur substances which play an important role in sensory beer quality. These volatile sulphur substances can unfavorably affect beer taste even in very low concentrations. For this reason it is necessary to know not only the content of their precursors but also possibilities of their origin during beer production technology.

S-methylmethionine, which is formed by methylation of methionine in the cycle of sulphur amino acids, belongs to the principal intermediates upon the origin of sensorially active sulphur substances during the beer production. (Fig. 1)

During malt kilning when the temperature exceeds 60 °C, S-methylmethionine is degraded to homoserine and dimethylsulfide and not a negligible part can volatilize to a gaseous phase. Synthesis and degradation of S-methylmethionine depends on grain moisture and temperature. Released dimethyl sulfide is oxidized to dimethyl sulfoxide. The rate of oxidation increases with kilning temperature. More extensive oxidation of dimethyl sulphide results in the origin of dimethyl sulfone [1].

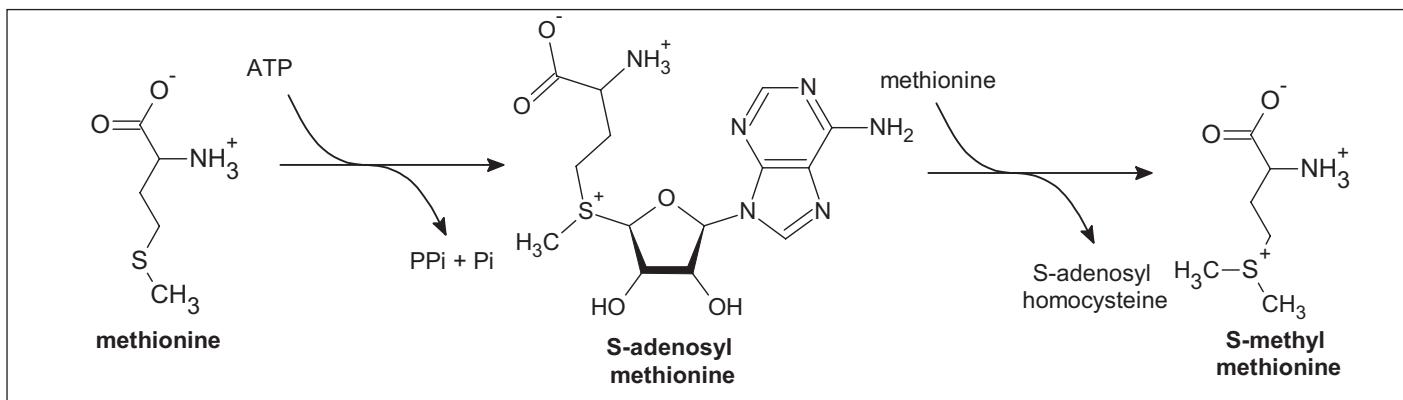
Another route of the dimethyl sulphide formation is the breakdown of methionine by interaction with reducing sugars (Fig. 2). The main product of this degradation is methional or from it derived methionol. Other two products are dimethyl sulphide and dimethyl sulfoxide. Breakdown of methional can give rise to ethyl methyl sulfide. Thermal degradation of cystein and cystin produces hydrogen sulphide [2].

During mashing, S-methylmethionine, formed at malting, passes to a solution where it is decomposed. The dimethyl sulphide formed is taken up by hot vapors. The rate of dimethyl sulphide evaporation is faster than its synthesis in this phase [2].

After boiling, S-methylmethionine is still decomposed in cooling hopped wort but it is not evaporated any more [2].

In lager beers, dimethyl trisulphide occurs, it is produced by degradation of methional and methionol in fresh beer. Methional comes

Obr. 1 Vznik S-methylmethioninu / Fig. 1 Origin of S-methylmethionine



Stanovení síných aminokyselin v potravinách je jednou z nejnáročnějších analytických operací v oblasti analýz potravin. Musí se zvolit taková metoda dělení a stanovení, která zaručuje dostatečnou přesnost a správnost, musí být dostatečně rychlá a experimentálně akceptovatelná. Analýza síných aminokyselin je navíc komplikována přítomností dalších složek v potravinách, které dané stanovení mohou rušit nebo mohou dávat pozitivní chyby. V současné době je využívána ke stanovení síných aminokyselin především plynová chromatografie (GC). Před vlastní analýzou je třeba síné aminokyseliny derivatizovat. Derivatizace síných aminokyselin se provádí za účelem jejich transformace na produkt se žádanými separačními a detekčními vlastnostmi. Při GC analýze se musí zajistit úplné zablokování protických funkčních skupin (mají aktivní vodíky např. -OH, -SH, -NH<sub>2</sub>) a zvýšení těkavosti síných aminokyselin [3].

K derivatizaci síných aminokyselin lze využít několik derivatizačních metod [3,4,5]:

- Esterifikace karboxylu bezvodým alkoholem v HCl a následná acylace dalších protických funkčních skupin.
- Silylace protických funkčních skupin za tepla v bezvodém prostředí pomocí trimethylsilyl nebo terc-butylidimethylsilyl derivátů.
- Derivatizace alkyl chlorformáty.

K detekci síných aminokyselin lze použít FID (plamenoionizační detektor) i FPD (plamenofotometrický detektor – selektivní pro síné látky) detektor. Velmi výhodné je spojení plynového chromatografu s hmotnostním detektorem.

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### Chemikálie

D, L – methionin (Fluka, USA), pyridin (Merck, Německo), ethanol (ML Chemica, ČR), methanol, 1-propanol, chloroform, methyl chlorformát, ethyl chlorformát (Sigma Aldrich, USA), destilovaná voda.

### Vzorky sladu

Bыло analyzováno 12 vzorků sladů, které byly vyrobeny z 6 od-

mainly from Strecker degradation of methionine during barley malting [2].

Determination of sulphur amino acids is one of the most demanding analytical operations in the whole area of food analyses. The selected method of amino acids separation and determination must guarantee sufficient accuracy and correctness; it must be sufficiently fast and experimentally acceptable. In addition, the amino acid analysis is complicated by the presence of other components in food which can distort the given determination or can give positive mistakes. Currently, the gas chromatography (GC) method has been frequently used for the determination of sulphur amino acids. Prior to the analysis alone, amino acids must be derivatized. The purpose of amino acid derivatization is to transform them to a product with the required separation and detection characters. Prior to the GC analysis, protic functional groups must be completely blocked (they have active hydrogens, e.g. -OH, -SH, -NH<sub>2</sub>) and enhanced volatility of amino acids secured [3].

Several methods can be used for the amino acid derivatization [3,4,5]:

- Esterification of carboxyl group with anhydrous alcohol in HCl and subsequent acylation of other protic functional groups.
- Silylation of protic functional groups in anhydrous media at higher temperatures using trimethylsilyl or terc-butylidimethylsilyl derivatives.
- Derivatization with alkyl chloroformates.

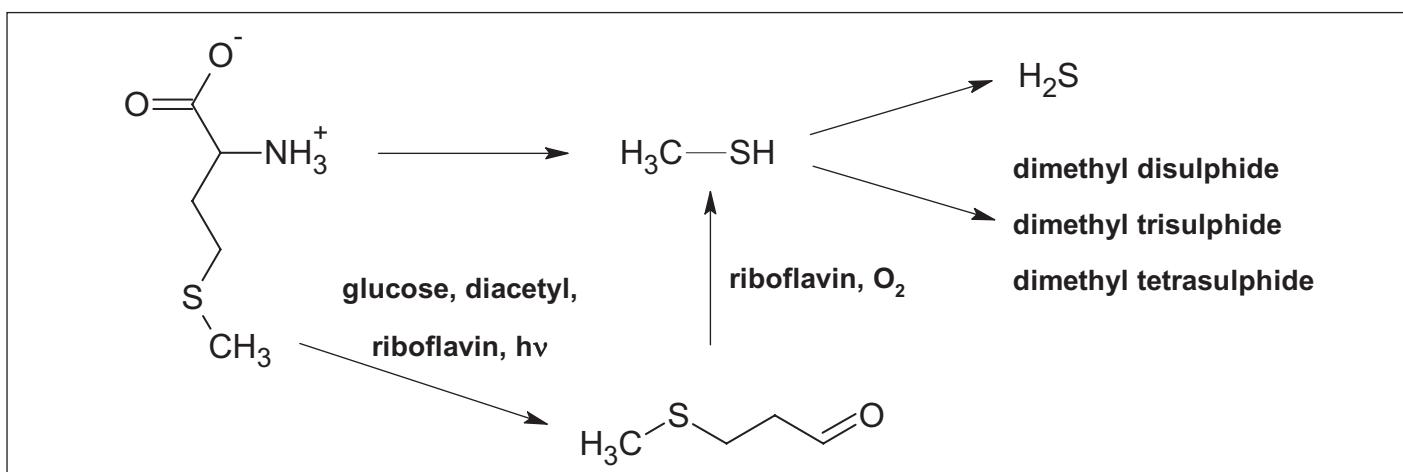
For the amino acid detection, the FID (flame ionization detector) and FPD (flame photometric detector – selective for sulphur substances) detectors can be used. Coupling of the gas chromatograph and mass detector is very advantageous.

## 2 EXPERIMENTAL

### Standards and chemicals

D, L – methionine (Fluka, USA), pyridine (Merck, Germany), ethanol (ML Chemica, CR), methanol, 1-propanol, chloroform, methyl

Obr. 2 Možný mechanismus syntézy polysulfidů z methioninu během rmutování sladu / Fig. 2 Possible mechanism of synthesis of polysulfides from methionine during malt mashing



růd jarního ječmene (Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Tolar a Xanadu) a které pocházely ze dvou šlechtitelských a zkoušebních stanic (Branišovice, Hrubčice) ze sklizňového ročníku 2007.

U vybraného vzorku sladu bylo v průběhu hvozdění (pražení) sladu odebráno 18 vzorků. První vzorek byl odebrán při 50 °C a poslední při 220 °C, teplotní interval odebrání byl 10 °C.

#### Příprava a zpracování vzorků sladu

5 g pomletého sladu se 15 min extrahuje v ultrazvukové lázni směsí destilované vody s methanolem (4:1). Po sonifikaci se směs převede do centrifugační zkumavky a odstředí (15 minut, 6500 min<sup>-1</sup>). 1 ml supernatantu se převede do mikrozkumavky a centrifuguje (5 minut, 5000 min<sup>-1</sup>). Z čirého roztoku se odebere 300 ml vzorku na derivatizaci.

#### Derivatizace vzorků

K 300 µl vodného roztoku vzorku se přidá 200 µl směsi propyl-pyridin (4:1), následně se přidá 25 µl ethyl chlorformiátu. Směs se míchá 3 minuty při laboratorní teplotě, poté se přidá 700 µl chloroformu obsahujícího 1 % ethyl chlorformiátu. Směs derivatizovaného vzorku se po protřepání centrifuguje (5 minut, 5000 min<sup>-1</sup>) a pak se 500 µl organické fáze převede do nové zkumavky. Chloroform se odpáří proudem plynného dusíku do sucha. Zbytek po odpaření se rozpustí v 200 µl methanolu. Takto připravený vzorek se analyzuje plynovou chromatografií.

#### Příprava standardů methioninu

Standard methioninu byl navážen na analytických vahách s přesností na 0,1 mg, rozpouštěn v destilované vodě, kvantitativně převeden do 25 ml odměrné baňky a objem byl doplněn destilovanou vodou po rysku. Rozsah koncentrací standardu methioninu byl 0,8 až 14 mg·µl<sup>-1</sup>. Na derivatizaci bylo použito 300 µl standardního roztoku.

#### Instrumentace a chromatografické stanovení

Analýzy vzorků byly prováděny na plynovém chromatografu (Trace GC Ultra, Thermo Finigan, USA) s plamenofotometrickým detektorem (FPD) selektivním pro síru. K separaci analyzovaných látek byla použita kapilární kolona RTX-5 (15m x 0.32 mm i.d., 0.25 mm, stacionární fáze 5 % difenyl – 95 % dimethyl polysiloxan) s následujícím teplotním programem: počáteční teplota 100 °C po dobu 0,5 min, nárůst teploty 6 °C·min<sup>-1</sup> do 180 °C, setrvání 3 min, nárůst teploty 10 °C min<sup>-1</sup> do 280 °C, setrvání 1 min. Konstantní průtok nosného plynu He 1.5 ml·min<sup>-1</sup>. Teplota SSL injektoru 250 °C, splitless režim 0,8 min, průtok 60 ml·min<sup>-1</sup>. Teplota detektoru 150 °C, průtok vzduchu 105 ml·min<sup>-1</sup>, průtok vodíku 90 ml·min<sup>-1</sup>, průtok dusíku (make-up) 20 ml·min<sup>-1</sup>.

Identifikace analyzovaného methioninu byla provedena na základě porovnání retencních časů se standardem, kvantifikace byla provedena pomocí kalibrační křivky.

## 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Nejdříve bylo nutné zvolit nejvhodnější extrakční činidlo pro extrakci volného methioninu ze vzorků sladu. Pro optimalizaci extrakce methioninu ze sladu byly testovány extrakční směsi methanol-voda, ethanol-voda a propanol-voda v poměru 1 : 4. Jako nejvhodnější byla vybrána směs methanol-voda a u této směsi byly testovány různé poměry methanolu a vody (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6). Na základě dosažených experimentálních výsledků byla zvolena extrakce methioninu směsí methanol-voda v poměru 1 : 4. Účinnost extrakce byla určena podle velikosti ploch písků analytů. Extrakce methioninu směsi ethanol-voda a propanol-voda vykazovaly výrazně menší výtěžností

chloroformate, ethyl chloroformate (Sigma Aldrich, USA), distilled water.

#### Malt samples

A total set of 12 samples of malting barley were analyzed. The samples were prepared from 6 varieties of spring barley (Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Tolar, and Xanadu) and they were obtained from two breeding and testing stations (Branišovice, Hrubčice) from the harvest year 2007.

In the selected malt sample, 18 samples were taken during kilning (roasting). The first sample was taken at the temperature of 50 °C and the last one at 220 °C, thermal interval of sample taking was 10 °C.

#### Preparation and processing of the samples of malt

Five grams of ground malt was extracted for 15 min in the ultrasound bath in the mixture of distilled water and methanol (4:1). After sonification, the mixture was transferred to a centrifugal tube and centrifuged (15 minutes, 6.500 RPM). 1 ml of supernatant was transferred to a microtube and centrifuged (5 minutes, 5.000 RPM). From the transparent solution, 300 ml of the sample was taken for derivatization.

#### Derivatization of samples

200 ml of propyl alcohol-pyridin mixture (4:1) was added to 300 ml of aqueous solution of the sample, after that 25 ml of ethyl chloroformate was added. The mixture was blended for 3 minutes at the laboratory temperature, then 700 ml of chloroform containing 1 % ethyl chloroformate was added. The mixture of the derivatized sample was shaken and then centrifuged (5 minutes, 5.000 RPM), subsequently organic phase (500 ml) was transferred to a new tube. Chloroform was dry-evaporated in a stream of nitrogen gas. The residue left after the evaporation was dissolved in 200 ml methanol. The sample was then analyzed by gas chromatography.

#### Preparation of methionine standards

Standard of methionine was weighed on the analytical scales with 0.1 mg precision, dissolved in distilled water, quantitatively transferred to 25 ml volumetric flasks and the volume was completed with distilled water to a scale line. Range of standard methionine concentrations was from 0.8 to 14 mg·ml<sup>-1</sup>. For the derivatization, 300 ml of standard solution was used.

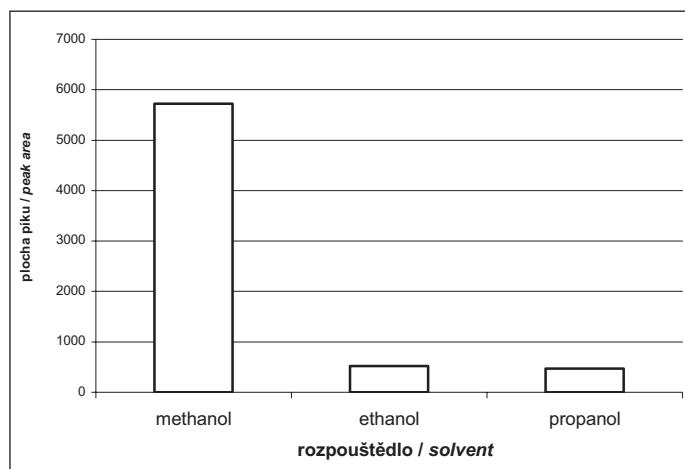
#### Instrumentation and chromatographic determination

The samples were analyzed on the gas chromatograph (Trace GC Ultra, Thermo Finigan) with the flame photometric detector (FPD) selective for sulphur. For the separation of the analyzed substances, the capillary column RTX-5 (15m x 0.32mm i.d., 0.25 mm, stationary phase 5 % diphenyl – 95 % dimethyl polysiloxan) with following thermal program was used: initial temperature 100 °C for 0.5 min., increase in temperature 6 °C·min<sup>-1</sup> to 180 °C, kept for 3 min, increase in temperature 10 °C·min<sup>-1</sup> to 280 °C, kept for 1 min. Constant flow of the carrying gas He was 1.5 ml·min<sup>-1</sup>. Temperature of the SSL injector 250 °C, splitless regime for 0.8 min, flow rate 60 ml·min<sup>-1</sup>. Temperature of the detector 150 °C, air flow rate 105 ml·min<sup>-1</sup>, hydrogen flow rate 90 ml·min<sup>-1</sup>, nitrogen flow rate (make-up) 20 ml·min<sup>-1</sup>.

Identification of the analyzed sulphur amino acids was performed based on the comparison of retention times with the standards, quantification was carried using the calibration curves.

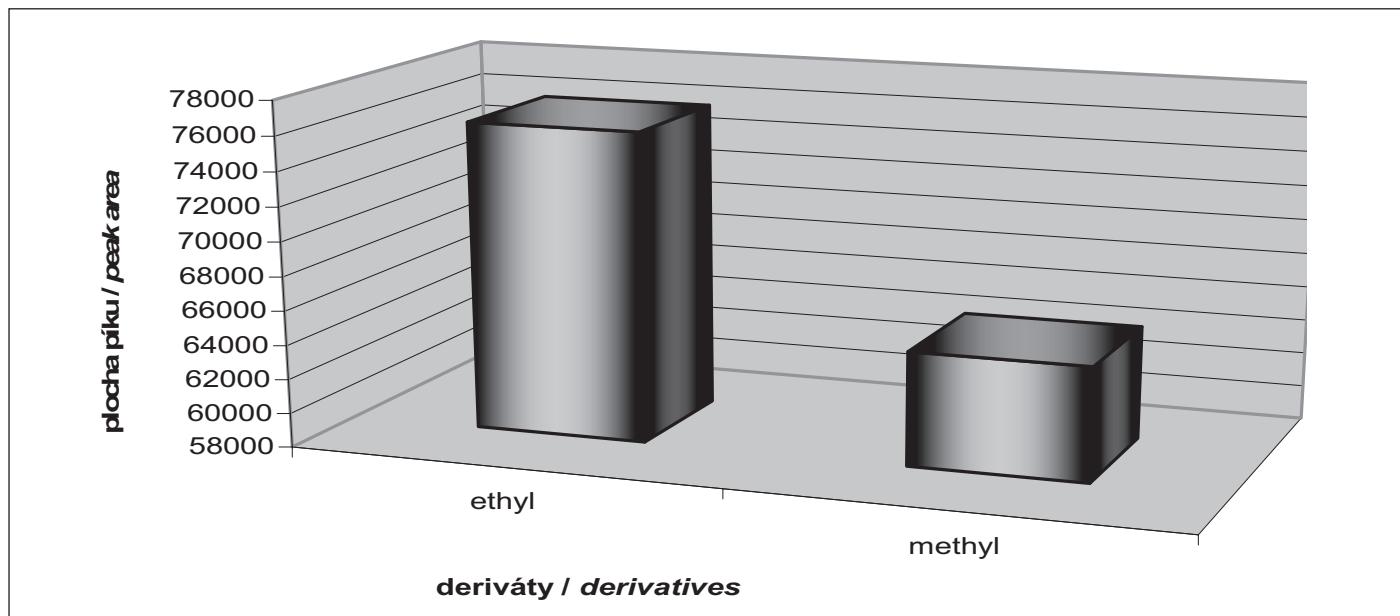
## 3 RESULTS AND DISCUSSION

Obr. 3 Optimalizace extrakce methioninu (směs 1:4) / Fig. 3 Optimization of methionine extraction (mixture 1:4)



At first, it was necessary to choose the most suitable extraction agent for the extraction of methionine from the malt samples. To optimize extraction of methionine from malt, the extraction mixtures methanol-water, ethanol-water and propanol-water in ratio 1 : 4 were tested. The mixture methanol-water was selected as the most appropriate and in this mixture various ratios

Obr. 4 Optimalizace volby derivatizačního činidla / Fig. 4 Optimization of the selection of the derivatizing agent



než směs methanol-voda, což je znázorněno pro poměr 1 : 4 na obr. 3.

Pro analýzu methioninu je rozhodující volba derivatizačního činidla. Při optimalizaci derivatizace byla testována dvě derivatizační činidla pro přípravu N(O,S)-alkoxykarbonyl propyl ester derivátů methioninu. Testovanými derivatizačními činidly byly methyl chloroformiat a ethyl chloroformiat (obr. 4). U vzniklých derivátů methioninu byly srovnány plochy píků. Z experimentálních výsledků derivatizace standardu byl pro derivatizaci methioninu použit ethyl chloroformiat.

Byla optimalizována a validována metoda stanovení methioninu ve sladu [6,7]. Validační parametry jsou uvedeny v tab. 1.

Vzorky sladů byly pro stanovení methioninu zpracovány optimalizovaným pracovním postupem, vlastní stanovení methioninu bylo provedeno metodou GC/FPD. Jeho obsah byl vypočítán pomocí softwaru ChromCard 2.4.0 z kalibrační křivky.

Chromatogram vzorku sladu je znázorněn na obr. 5.

of methanol and water (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6) were tested. Based on the experimental results achieved, extraction of methionine with the mixture methanol-water in the ratio 1 : 4 was selected. The efficacy of the extraction was determined according to the size of analyte peak area. Extraction of methionine with the mixtures ethanol-water and propanol-water exhibited significantly lower yield. Yield than the mixture methanol-water as shown for the ratio 1 : 4 in Fig. 3.

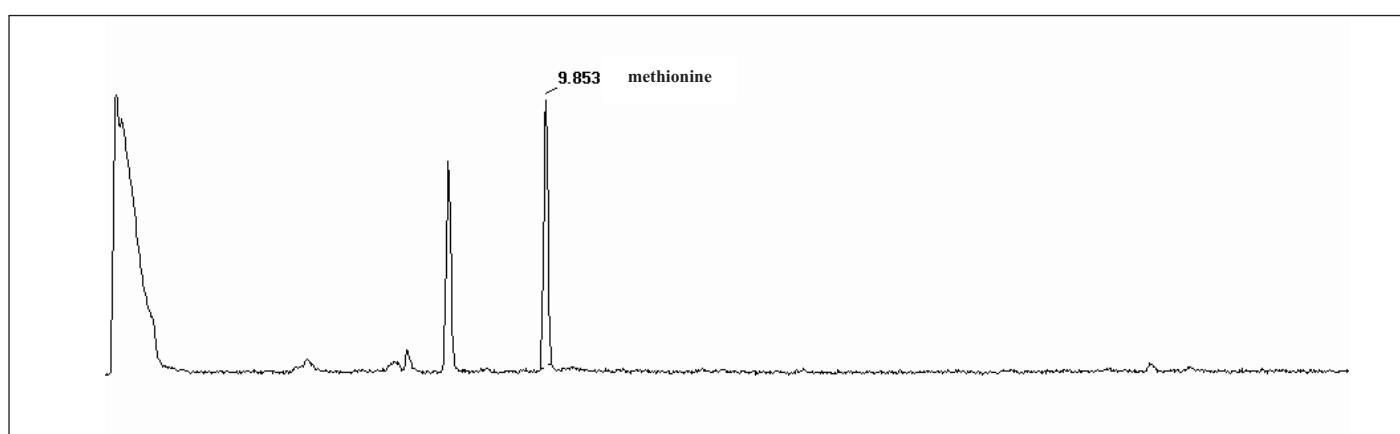
Selection of derivatizing agent is decisive for the methionine analysis. To optimize the derivatization, two derivatizing agents for preparation of N(O,S)-alkoxycarbonyl propyl ester derivatives of methionine were tested. The tested derivatizing agents were methyl chloroformate and ethyl chloroformate. In the methionine derivatives formed, peak areas were compared (Fig. 4). Based on the experimental results of standard derivatization, ethyl chloroformate was used for methionine derivatization.

The method for the determination of methionine in malt was optimized and validated [6,7]. Validation parameters are given in Tab. 1.

Tab. 1 Validační parametry / Tab. 1 Validation parameters

	LOD mg.g <sup>-1</sup>	LOQ mg.g <sup>-1</sup>	R <sup>2</sup>	RSD %
Methionin / <i>Methionine</i>	0.5	1.6	0.99974	15

Obr. 5 Chromatogram vzorku sladu / Fig. 5 Chromatogram of malt sample



Obsahy methioninu v analyzovaných vzorcích sladu z obou lokalit (Branišovice a Hrubčice) se pohybovaly od 23,0 do 36,0 mg/g. Slady vyrobené z odrůd Malz, Radegast a Tolar měly při vzájemném porovnání srovnatelné obsahy methioninu v obou lokalitách. Slady vyrobené z ječmenů z pěstební lokality Branišovice měly obsahy methioninu u jednotlivých odrůd vyrovnané. U sladů vyrobených z pěstební lokality Hrubčice byl výrazně vyšší obsah methioninu u od-

The malt samples for the methionine determination were processed using the optimized procedure; the methionine alone was determined by the GC/FPD method. Its content was calculated from the calibration curve using the software ChromCard 2.4.0.

Malt sample chromatogram is illustrated in Fig. 5.

Contents of methione in the analyzed malt samples from both the localities (Branišovice and Hrubčice) moved from 23.0 to 36.0 mg/g.

růd Bojos a Sebastian než u ostatních analyzovaných odrůd (obr. 6).

Slady sladované (pražené) při teplotách 50 až 220 °C vykazovaly snížující se koncentraci methioninu se vzrůstající teplotou. Tato závislost je způsobena degradací methioninu na dimethylsulfid, který ze sladu uniká. Výsledkem odbourávání sirných aminokyselin jsou sensoricky aktivní sirné látky [8]. Na obr. 7 je znázorněna závislost obsahu methioninu na teplotě hvozdění respektive pražení sladu.

## ZÁVĚR

Byla optimalizována a validována metoda stanovení methioninu ve sladu. Optimalizace extrakce spočívala v použití různých extrakčních rozpouštědel, pro optimalizaci derivatizace byla srovnávána dvě derivatizační činidla. Na základě experimentálního ověření byla zvolena jako nejvhodnější extrakce směsí methanol-voda (1:4) a derivatizace ethyl chlorformiatem.

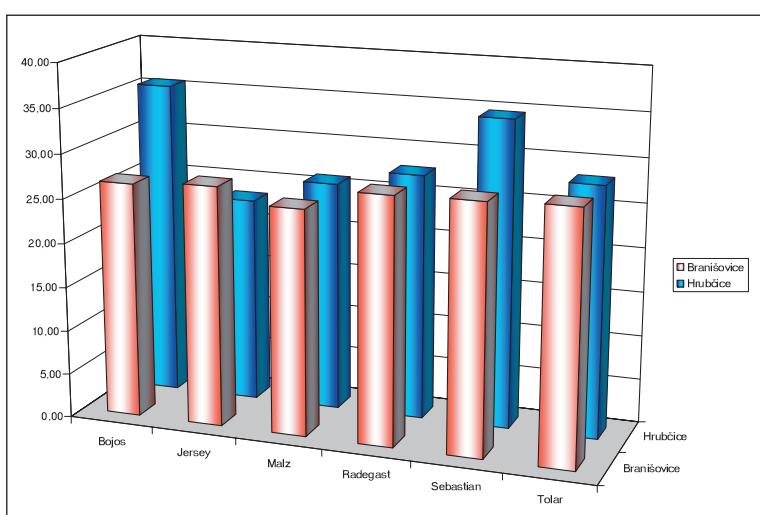
Významný rozdíl v obsahu methioninu z pohledu lokalit i odrůd byl pouze u odrůdy Bojos a Sebastian.

Při analýze sladů hvozděných (pražených) při různých teplotách byla prokázána závislost poklesu obsahu methioninu na vzrůstající teplotě. Tato skutečnost souvisí s degradací sirných aminokyselin na jednodušší těkavé sirné látky. Prokázanou závislost obsahu metioninu a teploty lze využít při optimalizaci teploty hvozdění, s cílem snížit obsah metioninu ve vyráběných sladech.

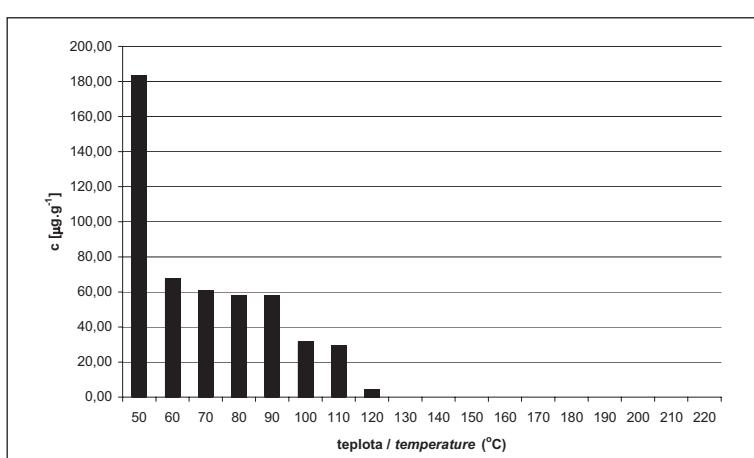
## Poděkování

Výsledků bylo dosaženo v rámci Výzkumného zámeru MSM 6019369701.

Obr. 6 Obsah methioninu (mg/g) ve sladu – sklizeň 2007 / Fig. 6 Methionine content (mg/g) in malt – harvest 2007



Obr. 7 Obsah methioninu ve sladu sladovaném při různých teplotách / Fig. 7 Methionine content of malt malted at different temperatures



## LITERATURA / REFERENCES

- Perpete, P., Gijs, L., Collin, S.: Methionine: A key amino acid for flavour biosynthesis in beer. *Brewing Yeast Fermentation Performance* (2nd Edition), K. Smart ed., Blackwell Science Ltd, 2003, ISBN0-632-06498-6, 206–212.
- Gijs, L., Veermeulen, C., Collin, S.: Výskyt a vznik sirných aromatických sladových sladů v pivu. *Cerevisia*, 1, 2003.
- Hušek, P.: Chloroformates in gas chromatography as general purpose derivatizing agents. *J. Chromatogr. B*, 717, 1998, 57–91.
- Hušek, P., Matucha, P., Vránová, A., Šimek, P.: Simple plasma work-up for fast chromatographic analysis of homocysteine, cysteine, methionine and aromatic amino acids. *J. Chromatogr. B*, 789, 2003, 311–322.
- Myung, S., Kim, M., Min, H., Yoo, E., Kim K.: Determination of homocysteine and its related compounds by SPME/ GC/ MSD. *J. Chromatogr. B*, 727, 1999, 1–8.
- Barek, J. a kol.: Metrologická terminologie v chemii. *Chem. Listy* 94, 2000, 439–444.
- Spektroskopická společnost Jana Marka Marci: Nejistota a nezávaznost výsledků spektroskopických metod, 2001, ISBN 80-7080-447-5.
- Alix, J. H.: Molecular aspect of the in vivo and in vitro effects of ethionine, an analog of methionine. *Microbiological reviews*, 46, 1982, 281–295.

Translated by Vladimíra Nováková

The results were obtained within the Research Plan of the MEYS CR MSM 6019369701

# STANOVENÍ OBSAHU LIPIDŮ A ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN V OBILKÁCH JEČMENE A VE SLADU

## DETERMINATION OF LIPID CONTENT AND FATTY ACID REPRESENTATION IN BARLEY CARYOPSES AND MALT

ZDENĚK SVOBODA<sup>1</sup>, RENATA MIKULÍKOVÁ<sup>1</sup>, SYLVIE BĚLÁKOVÁ<sup>1</sup>, KAROLÍNA BENEŠOVÁ<sup>1</sup>,  
ZDENĚK NESVADBA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Sladařský ústav Brno, Mostecká 7, 614 00 Brno

*Research Institute of Brewing and Malting, Plc., Malting Institute, Mostecká 7, 614 00 Brno, Czech Republic*

e-mail: svoboda@brno.beerresearch.cz

<sup>2</sup>Agrotest Fyto, s. r. o., Havlíčkova 2787/121, 768 01 Kroměříž

*Agrotest Fyto, Ltd., Havlíčkova 2787/121, 768 01 Kroměříž, Czech Republic*

**Svoboda, Z. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Benešová, K. – Nesvadba, Z.: Stanovení obsahu lipidů a zastoupení mastných kyselin v obilkách ječmene a ve sladu.** Kvasny Prum. 55, 2009, č. 11–12, s. 315–320.

Ke stanovení obsahu lipidů v obilce ječmene a ve sladu byla optimalizována moderní metoda extrakce na fluidním loži. Z vyextrahovaných lipidů bylo stanoveno zastoupení mastných kyselin v obilce ječmene a ve sladu.

Zastoupené mastné kyseliny byly stanoveny jako methylestery připravené transesterifikací reakcí. Vzniklé estery byly separovány metodou plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí na kapilární koloně SLB-IL 100.

**Svoboda, Z. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Benešová, K. – Nesvadba, Z.: Determination of lipid content and fatty acid representation in barley caryopses and malt.** Kvasny Prum. 55, 2009, No. 11–12, p. 315–320.

The modern method of extraction on the fluidized bed was optimized for the determination of lipids in barley caryopsis and malt. Representation of fatty acids in barley caryopsis and malt was determined from extracted lipids.

The represented fatty acids were determined as methyl esters prepared with transesterification reaction. The esters formed were separated using the method of gas chromatography with flame ionization detection on the capillary column SLB-IL 100.

**Svoboda, Z. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Benešová, K. – Nesvadba, Z.: Die Bestimmung des Lipidgehalts und Vertretung der Fettsäuren in der Gersten- und Malzgrasfrucht.** Kvasny Prum. 55, 2009, Nr. 11–12, S. 315–320.

Zur Bestimmung des Lipidgehalts und Vertretung der Fettsäuren in der Gersten- und Malzgrasfrucht wurde eine moderne Methode der Extraktion im Fließbett optimalisiert. Aus den extrahierten Fettsäuren wurde ihre Vertretung in der Gersten- und Malzgrasfrucht festgestellt. Die vertretenen Fettsäuren wurden als die durch Transesterifikationsreaktion vorbereitete Methylesters festgestellt. Mittels der Methode der Gaschromatographie mit Flammenionisierbardetektion auf der Kapillarskolonne SLB-IL 100 wurden die entstandenen Ester separiert.

**Klíčová slova:** ječmen, slad, lipidy, mastné kyseliny, plynová chromatografie

**Keywords:** barley, malt, lipids, fatty acids, gas chromatography

### 1 INTRODUCTION

Spring barley is the main raw material for production of malt and subsequently beer in the territory of the Czech Republic from the late 19<sup>th</sup> century. Requirements for the quality of malting barley have gradually been increased and specified.

Ezymatic activity in barley caryopses still remains a not fully investigated and evaluated area. Lipoxygenase enzyme catalyzes the oxidation of unsaturated fatty acids with more double bonds containing cis-1,4-pentadien group, with a molecular oxygen. Thus in a chain reaction transient peroxides of unsaturated fatty acids are formed, these are further degraded to carbonyl compounds (aldehydes, ketones) or short-chain fatty acids. In this way the compounds with characteristic flavors and odors are formed. Nutritiously important essential fatty acids, linoleic, linolenic, and arachidonic, belong to lipoxygenase substrates. Acyl glycerols and other esters of the fatty acids mentioned above can also be oxidized.

An aldehyde trans-2-nonenal is the basic component contributing to rancid taste in stored beers. Mechanism of formation of trans-2-nonenal in beer is enzymatic or non enzymatic oxidation of fats and oxidation of free fatty acids (Fig. 1), enzyme lipoxygenase plays a role here [1, 2].

Regarding the fact that fatty acids contained in barley caryopses and subsequently in malt can be a source of many sensorially active substances in beer, it was necessary to optimize the determination of fats and fatty acids in the initial raw materials.

Lipid content was determined using the modern extraction method in fluidized bed. For the analysis of the representation of fatty acids, two capillary columns Supelcowax and SLB-IL 100 were compared.

### 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

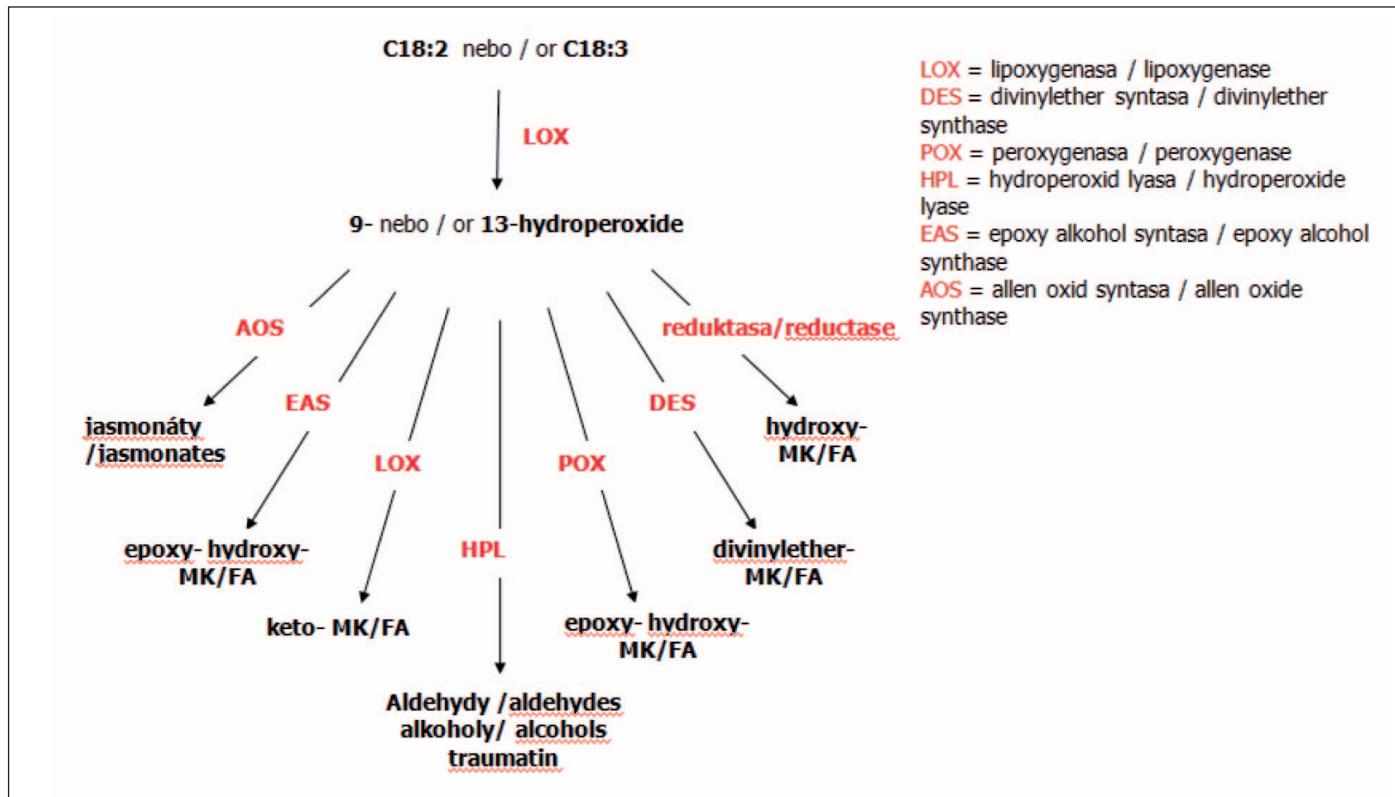
#### 2.1 Použité chemikálie a standardy

Petrolether – Lach-Net, s. r. o., ČR; izooctan – Sigma-Aldrich, USA;

#### 2.1 Chemicals and standards used

Petrol ether – Lach-Net, Ltd. CR; isoctan – Sigma-Aldrich, USA;

Obr. 1 Schéma metabolismu dienových mastných kyselin [3] / Fig. 1 Scheme of metabolism of dien fatty acids [3]



metanol – Sigma-Aldrich, USA; KOH – ML Chemica, ČR; NaHSO<sub>4</sub> – Sigma-Aldrich, USA; směsný standard methylesterů mastných kyselin – FAME mix 37 – Sigma-Aldrich, USA; helium – čistota 5.0; vodík – čistota 5.0; vzduch – čistota 4.5; dusík – čistota 4.5.

## 2.2 Materiál a přístroje

### Materiál

Pro sledování obsahu lipidů a zastoupení mastných kyselin v intactních obilkách ječmene a sladec bylo analyzováno celkem 40 vzorků. 20 odrůd ječmene a 20 sladů z nich vyrobených.

### Přístroje

Laboratorní mlýnek na jemné mletí – Retsch, Německo; analytické váhy s přesností na 0,001 g – Mettler Toledo, USA; extraktor fexiKA® dive-in control – IKA, Německo; PC; vakuová rotační odparka – IKA, Německo; laboratorní sušárna – BMT, ČR; exsikátor – Simax, ČR; pipeta skleněná 5 ml – Qaulicator, ČR; automatická pipeta 200 ml – Hamilton, USA; odměrný válec 100 ml – Simax, ČR; zkumavky o objemu 10 ml se skleněnou zábrusovou zátkou; vialky pro head space a uzavírací kleště 2 ml – CRS, USA; plynový chromatograf Trace Ultra s FID detektorem – Thermo Scientific, USA; autosampler AS3000 – Thermo Scientific, USA; kapilární kolona SLB-IL 100 (60 m x 0,25 mm I.D., 0,25 mm) – Supelco, USA; kapilární kolona Supelcowax (60 m x 0,25 mm I.D., 0,25 mm) – Supelco, USA.

## 2.3 Stanovení obsahu lipidů

Do patrony extraktoru se naváží cca 5 g pomletého vzorku a poté se vzorek nechá automaticky extrahovat 60 ml petroleteru v 6 cyklech po dobu 2,5 hodiny. Po extrakci se zbylé rozpouštědlo odpaří na rotační vakuové odparce a po odpaření se baňka s výextrahovaným tukem suší 2 hodiny při 105 °C v sušárně. Baňka se nechá vychladit v exsikátoru a zváží s přesností na 0,001 g. Výsledky obsahu lipidů se uvádají v procentech v sušině vzorku (relativní směrodatná odchylka – RSD 2,1%).

## 2.4 Stanovení zastoupení mastných kyselin

Výextrahované triacylglyceroly se rozpustí v izooctanu a převedou na methylestery transesterifikací s methanolickým roztokem hydroxidu draselného (obr. 2). Vzniklé estery se identifikují metodou GC/MS (plynová chromatografie s hmotnostním detektorem) a stanovují metodou GC/FID (plynová chromatografie s plamenoionizačním detektorem).

methanol – Sigma-Aldrich, USA; KOH – ML Chemica, CR; NaHSO<sub>4</sub> – Sigma-Aldrich, USA; standard mix of fatty acid methyl esters – FAME mix 37 – Sigma-Aldrich, USA; helium – purity 5.0; hydrogen – purity 5.0; air – purity 4.5; nitrogen – purity 4.5.

## 2.2 Material and instrumentation

### Material

A total set of 40 samples (20 barley varieties and 20 malts produced from them) was analyzed and content of lipids and profile of fatty acids in intact barley caryopses and malts were determined.

### Instrumentation

A laboratory mill for fine grinding – Retsch, Germany; analytical scales with the accuracy to 0.001 g – Mettler Toledo, USA; extractor fexiKA® dive-in control – IKA, Germany; PC; vacuum rotary evaporator – IKA, Germany; laboratory drier – BMT; desiccator – Simax, CR; glass pipette 5 ml – Qaulicator CR; automatic pipette 200 ml – Hamilton USA; measuring cylinder 100 ml – Simax CR; tubes, volume 10 ml, with ground-in glass stopper; head space vials 2 ml and crimping pliers – CRS, USA; gas chromatograph Trace Ultra with FID detector – Thermo Scientific, USA; autosampler AS3000 – Thermo Scientific, USA; capillary column SLB-IL 100 (60 m x 0.25 mm I.D., 0.25 mm) – Supelco, USA; capillary column Supelcowax (60 m x 0.25 mm I.D., 0.25 mm) – Supelco, USA.

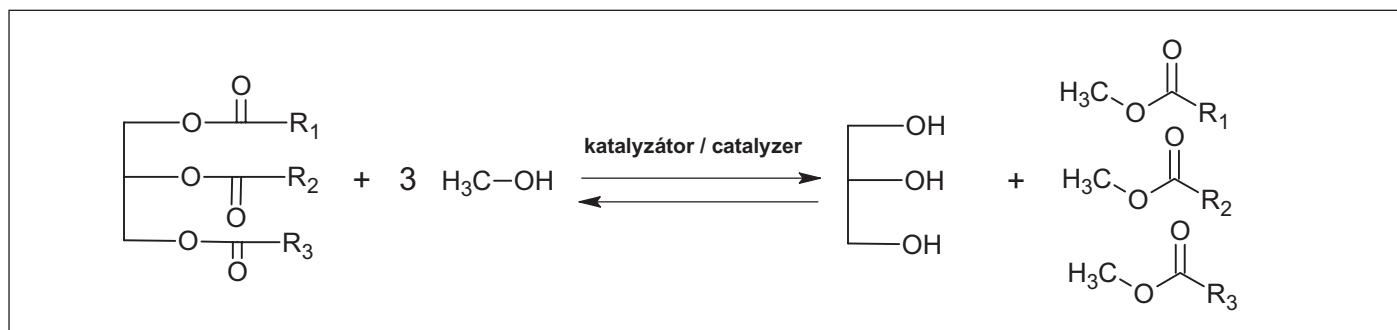
## 2.3 Determination of lipid content

Approximately 5 grams of ground sample were weighed into an extraction cartridge and the sample was automatically extracted with 60 ml of petrol ether in 6 cycles for 2.5 hours. After the extraction, the residual solvent was evaporated on the rotary evaporator and subsequently the flask with extracted fat was placed to a drier for 2 hours at 105 °C. The flask was allowed to cool down in the desiccator and it was weighed with the accuracy to 0.001 g. The results of lipid content are given as the dry matter percentage (relative standard deviation – RSD 2.1%).

## 2.4 Determination of fatty acid representation

Extracted triacylglycerols were dissolved in isooctane and transesterified into methyl esters using methanolic solution of potassium hydroxide (Fig. 2). The formed esters were identified using the GC/MS method (gas chromatography with the mass detector) and determined by the GC/FID method (gas chromatography with the flame ionization detector).

Obr. 2 Rovnice esterifikační reakce / Fig. 2 Equation for the esterification reaction



Do zkumavky se zábrusem se navází 50 až 70 mg tuku. Po rozpuštění ve 4 ml izooctanu se přidá 200 ml metanolického roztoku KOH a zkumavka se uzavře. Směs se po dobu asi 30 sekund intenzivně protřepává. Do roztoku se přidá cca 1 g hydrogensíranu sodného a znova se intenzivně třepe po dobu 15 sekund, aby se zneutralizoval hydroxid draselný. Po usazení soli se do 2ml vialky odebere horní izooctanová vrstva, která obsahuje methylestery mastných kyselin a použije se k chromatografické analýze. Výsledek se uvádí jako procentuální zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve vzorku (RSD 9,0–15,2 %). Pro separaci jednotlivých vzniklých esterů mastných kyselin byly použity dvě kapilární chromatografické kolony Supelcowax a SLB-IL 100.

Podmínky chromatografických analýz jsou uvedeny v tab. 1. Identifikace jednotlivých analytů byly ještě potvrzeny srovnáním se stan-

Fifty to 70 mg of fat was weighed into the ground tube and solved in 4 ml of isoctane. Then 200 ml of KOH methanolic solution was added and the tube was closed. The mixture was shaken intensively for ca 30 seconds. Approximately 1 g of sodium hydrogen sulphate was added to the solution and again intensively shaken for approximately 15 seconds to neutralize potassium hydroxide. When the salt settled down, the top isoctane layer containing fatty acid methyl esters was taken to the 2ml vial and the chromatographic analysis was performed. The result is given as percentage representation of the individual fatty acids in the sample (RSD 9.0 – 15.2 %).

For separation of the individual fatty acid esters, two capillary chromatographic columns Supelcowax and SLB-IL 100 were used.

Conditions of the chromatographic analyses are given in Tab. 1. Identification of the individual analytes was also confirmed by the

Tab. 1 Podmínky chromatografické analýzy / Tab. 1 Conditions of the chromatographic analysis

Plynový chromatograf / Gas chromatograph	Trace Ultra
Nosný plyn / Carrying gas	He
Ostatní plyny / Other gases	N <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , vzduch / air
Teplota PTV injektoru / Temperature of the PTV injector	250 °C
Teplota FID detektoru / Temperature of the FID detector	250 °C
Tepletovní program / Thermal program	kolona / column SLB-IL 100 40 °C → 220 °C (4 °C/min) 30 min  kolona / column Supelcowax 40 °C → 240 °C (4 °C/min) 20 min

Tab. 2 Seznam mastných kyselin (methylestery) – standard FAME mix 37 / Tab. 2 List of fatty acids (methyl esters) – standard FAME mix 37

č./Nu.	Mastná kyselina / fatty acid	č./Nu.	Mastná kyselina / fatty acid
1	máselná kys. / butyric acid (C4:0)	20	linoleaidová kys. / linoleaidic acid (C18:2n6t)
2	kapronová kys. / caproic acid (C6:0)	21	γ-linolenová kys. / γ-linolenic acid (C18:3n6)
3	kaprylová kys. / caprylic acid (C8:0)	22	α-linolenová kys. / α-linolenic acid (C18:3n3)
4	kaprinová kys. / capric acid (C10:0)	23	arachová kys. / arachidic acid (C20:0)
5	undekanová kys. / undecenoic acid (C11:0)	24	cis-11-eikosenová kys. / cis-11-eikenoic acid (20:1)
6	laurová kys. / lauric acid (C12:0)	25	cis-11,14-eikosadienová kys. / cis-11,14-eikosadienoic acid (C20:2)
7	tridekanová kys. / tridecanoic acid (C13:0)	26	cis-8,11,14-eikosatrienová kys. / cis-8,11,14-eikosatrienoic acid (C20:3n6)
8	myristová kys. / myristic acid (C14:0)	27	cis-11,14,17-eikosatrienová kys. / cis-11,14,17-eikosatrienoic acid (C20:3n3)
9	myristolejová kys. / myristoleic acid (C14:1)	28	arachidonová kys. / arachidonic acid (C20:4n6)
10	pentadekanová kys. / pentadecenoic acid (C15:0)	29	cis-5,8,11,14,17-eikosapentaenová kys. / cis-5,8,11,14,17-eikosapentaeonic acid (C20:5n3)
11	cis-10-pentadecenová kys. / cis-10-pentadecenoic acid (C15:1)	30	heneikosanová kys. / heneicosanoic acid (C21:0)
12	palmitová kys. / palmitic acid (C16:0)	31	behenová kys. / behenic acid (C22:0)
13	palmitolejová kys. / palmitoleic acid (C16:1)	32	eruková kys. / erucic acid (C22:1n9)
14	heptadekanová kys. / heptadecanoic acid (17:0)	33	cis-13,16-dokosadienová kys. / cis-13,16-dokosadienoic acid (C22:2)
15	cis-10-heptadecenová kys. / cis-10-heptadecenoic acid (C17:1)	34	cis-4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová kys. / cis-4,7,10,13,16,19-dokosahexae-noic acid (C22:6n3)
16	stearová kys. / stearic acid (C18:0)	35	trikosanová kys. / tricosanoic acid (C23:0)
17	olejová kys. / oleic acid (C18:1n9c)	36	lignocerová kys. / lignoceric acid (C24:0)
18	elaidová kys. / elaidic acid (C18:1n9t)	37	nervonová kys. / nervonic acid (C24:1n9)
19	linolová kys. / linoleic acid (C18:2n6c)		

dardem FAME mix 37, jehož složení je uvedeno v tab. 2.

### 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro stanovení obsahu lipidů v obilce ječmene a ve sladu byla zavedena a optimalizována metoda extrakce s použitím fluidního extraktoru fexIKA® dive-in control. Množství použitého extrakčního rozpouštědla a doba trvání jednoho cyklu byly zvoleny tak, aby při konci cyklu byl analyzovaný vzorek zcela ponořen v rozpouštědle a aby ve varné baňce zůstal dostatečný objem rozpouštědla. Počet cyklů extrakce byl optimalizován na základě množství vyextrahovaného tuku ze vzorku (obr. 3). Pro extrakci bylo zvoleno 6 cyklů. Jak vyplývá z výsledků, po 4. cyklu extrakce již nedochází k nárůstu obsahu tuků. Zvolený počet 6 cyklů je tedy zcela dostatečný pro kvantitativní extrakci tuků z obilek ječmene a ze sladu.

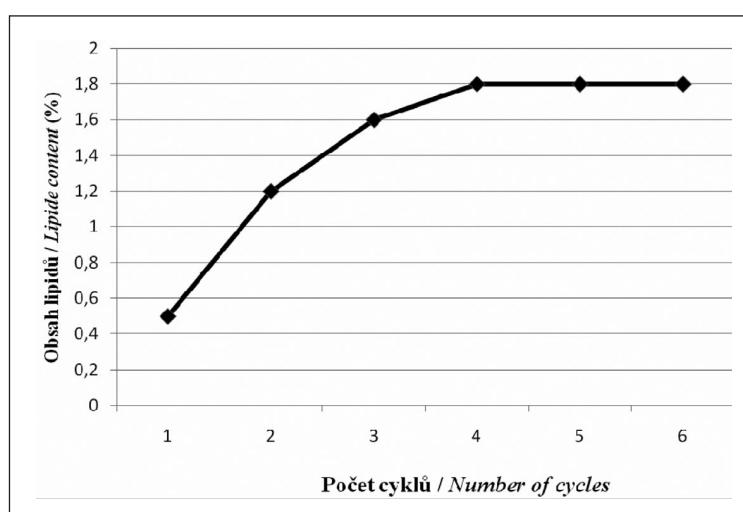
Optimalizovanou metodou extrakce byly stanoveny obsahy lipidů u vzorků 20 odrůd ječmene a 20 sladů z nich vyrobených. Výsledky obsahů lipidů pro jednotlivé odrůdy jsou uvedeny v tab. 3.

Obsah tuků v analyzovaných vzorcích ječmene a sladu se pohyboval v rozmezí 1,3 až 2,5 % v sušině, což odpovídá běžným hodnotám obsahu tuků v obilce ječmene uváděných v literatuře [5].

Pro stanovení zastoupení mastných kyselin v obilce ječmene a ve sladu byly porovnávány dvě kapilární kolony Supelcowax a SLB-IL 100. Nejdříve byla metodika stanovení esterů mastných kyselin testována na standardu FAME mix 37. Výsledné chromatogramy na koloně SLB-IL 100 a Supelcowax jsou zobrazeny na obr. 4 a 5.

Kolona Supelcowax s polární stacionární fází (polyethylenglykol) je vhodná pro separaci nízkovroucích analytů a methylesterů mastných kyselin. Tato kolona je tepelně stabilní až do 250 °C. SLB-IL 100 je nová kapilární kolona se silně polární stacionární fází a je vhodná

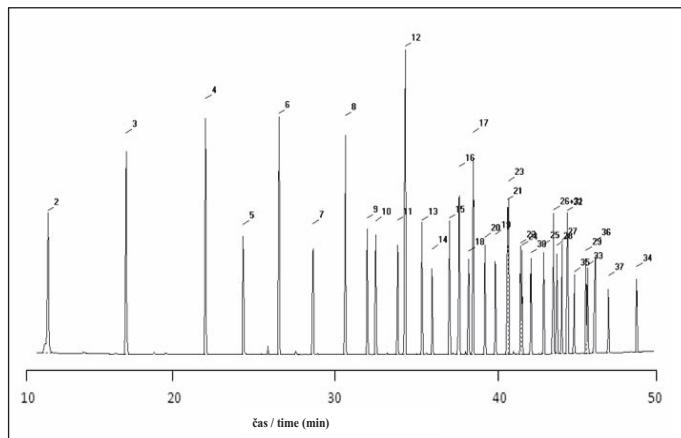
Obr. 3 Závislost obsahu vyextrahovaného tuku na počtu cyklů extrakce / Fig. 3 Dependence of the extracted fat content on the number of the extraction cycles



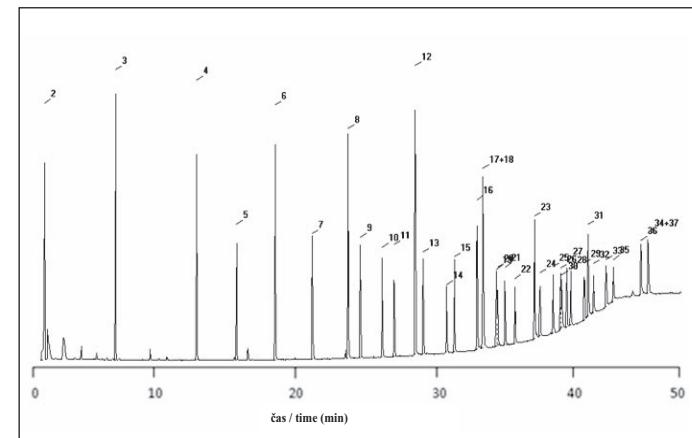
Tab. 3 Obsah lipidů v obilkách ječmene a ve sladu / Tab. 3 Results of lipid contents in barley caryopses and malt

Odrůda / Variety	Obsah lipidů v sušině (%) ječmen/slad / Lipid content in dry matter (%) barley/malt	Odrůda / Variety	Obsah lipidů v sušině (%) ječmen/slad / Lipid content in dry matter (%) barley/malt
Wikingett	1.9/1.4	Marthe	2.5/1.4
Troon	1.7/1.3	Maltasia	1.9/1.5
Cruiser	1.8/1.4	Lissane	1.6/1.4
Bellevue	1.3/1.3	Musikant	1.6/1.4
Biatlon	1.6/1.3	Xanadu	1.6/1.1
Mauritia	1.7/1.3	Jersey	1.7/1.4
Ebson	1.6/1.3	Malvaz	2.1/1.5
NFC Tipple	1.7/1.2	Binder	1.4/1.3
Westminster	1.7/1.2	Tepelský	1.5/1.3
Publican	1.8/1.3	Ratbořský	1.7/1.1

Obr. 4 Chromatogram standardu FAME mix 37 na koloně SLB-IL 100 / Fig. 4 Chromatogram of the standard FAME mix 37 on the column SLB-IL 100



Obr. 5 Chromatogram standardu FAME mix 37 na koloně Supelcowax / Fig. 5 Chromatogram of the standard FAME mix 37 on the column Supelcowax



comparison with the standard FAME mix 37, the mix composition is given in Tab. 2.

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

For the determination of lipid content in a barley caryopsis and malt, the extraction method with the fluid extractor fexIKA® dive-in control was introduced and optimized. The amount of the extraction dissolvent used and duration of one cycle was chosen so that towards the end of the cycle, the analyzed sample was completely dipped in the dissolvent and a sufficient volume of the dissolvent remained in the boiling flask. The number of extraction cycles was optimized on the basis of the amount of the extracted fat from the sample (Fig. 3). Six cycles were selected for the extraction. Results indicate that there was no increase in fat content already after the fourth cycle. This means that the selected number of 6 cycles is fully sufficient for the quantitative extraction of fats from barley caryopses and malt.

The optimized extraction method was used to determine lipid contents in the samples of 20 barley varieties and 20 malts produced from them. The results of lipid contents for the individual varieties are given in Table 3.

Fat content in the analyzed barley and malt samples varied from 1.3 to 2.5 % in the dry matter. This corresponds to the common values of fat content in a barley caryopsis given in the literature [5].

For the determination of the representation of fatty acids in a barley caryopsis and malt, two capillary columns Supelcowax and SLB-IL 100 were compared. Firstly, the method for the determination of fatty acid esters was tested on the standard FAME mix 37. The resulting chromatograms on the SLB-IL 100 and Supelcowax columns are shown in Fig. 4 and 5.

Tab. 4 Rozmezí zastoupení mastných kyselin v obilkách ječmene 20 odrůd a ve sladech z nich připravených (kolona SLB-IL 100) / Tab. 4 Range of the representation of fatty acids in barley caryopses of 20 varieties and malts prepared from them (SLB-IL 100 column)

č./Nu.	Mastné kyseliny / Fatty acid	Obsah v obilce ječmene / Content in barley (%)	Obsah ve sladu / Content in malt (%)	RSD (%)
6	laurová kys. / lauric acid (C12:0)	0.01 – 0.02	0.01 – 0.03	9.8
8	myristová kys. / myristic acid (C14:0)	0.19 – 0.31	0.27 – 0.51	12.0
10	pentadekanová kys. / pentadesanoic acid (C15:0)	0.07 – 0.09	0.15 – 0.26	13.6
12	palmitová kys. / palmitic acid (C16:0)	19.25 – 22.07	17.69 – 22.81	11.0
16	stearová kys. / stearic acid (C18:0)	1.12 – 2.04	1.53 – 1.98	11.1
17	olejová kys. / oleic acid (C18:1c)	12.50 – 14.24	1.50 – 5.36	10.7
19	linolová kys. / linoleic acid (C18:2c)	49.25 – 54.06	58.18 – 61.08	13.1
22	linolenová kys. / linolenic acid (C18:3)	5.10 – 6.37	8.33 – 10.61	12.7
23	arachová kys. / arachidic acid (C20:0)	0.18 – 0.27	0.23 – 0.32	12.5
25	eikosadienová kys. / eicosadienoic acid (C20:2)	0.05 – 0.09	0.06 – 0.15	14.9
31	behenová kzs. / behenic acid (C22:0)	0.07 – 0.16	0.16 – 0.31	13.8
32	eruková kys. / erucic acid (C22:1)	0.08 – 0.14	0.14 – 0.53	14.1
35	trikosanová kys. / tricosanoic acid (C23:0)	0.02 – 0.05	0.11 – 0.20	13.6
36	lignocerová kys. / lignoceric acid (C24:0)	0.02 – 0.07	0.11 – 0.21	15.2
37	nervonová kys. / nervonic acid (C24:1)	0.02 – 0.06	0.07 – 0.12	14.4

k analýze methylesterů mastných kyselin. Tato kolona se vyznačuje jak dobrou tepelnou stabilitou (230 °C), tak vysokou stabilitou stacionární fáze. Kolona SLB-IL100 je polárnější než kolona Supelcowax a navíc umožňuje rozdělení cis / trans izomerů methylesterů mastných kyselin (obr. 6).

Při porovnání chromatogramů separace směsného standardu je zřejmé, že kolona SLB-IL 100 vykazuje dokonalejší separaci jednotlivých analytů (obr. 4 a 5). Pro analýzu zastoupení mastných kyselin byla vybrána kolona SLB-IL 100 také proto, že je schopna rozlišit kyselinu olejovou a elaidovou (obr. 6), z nichž pouze první byla zjištěna v obilce ječmene a ve sladu.

Zastoupení jednotlivých mastných kyselin bylo sledováno v tucích vyextrahovaných z 20 odrůd ječmene a ve sladech z nich vyrobených. Ve všech vzorcích obilek ječmene byly identifikovány a stanoveny: kyselina laurová (C12:0), myristová (C14:0), pentadekanová (C15:0), palmitová (C16:0), stearová (C18:0), olejová (C18:1c), linolová (C18:2), linolenová (C18:3), arachová (C20:0), eikosadienová (C20:2), behenová (C22:0), eruková (C22:1), trikosanová (C23:0), lignocerová (C24:0) a nervonová (C24:1) (tab. 4).

#### 4 ZÁVĚR

Lipidy v obilkách ječmene a ve sladu byly stanoveny optimalizovanou moderní metodou extrakce na fluidním loži.

Pro stanovení zastoupení mastných kyselin v obilce ječmene a ve sladu byla použita kapilární kolona SLB-IL 100, protože na rozdíl od kolony Supelcowax vykazuje dokonalejší separaci analytů při srovnatelné době analýzy.

Ve sladu byl zjištěn až desetinásobný pokles obsahu kyseliny olejové (C18:1c) způsobený pravděpodobně její autooxidací. Zastoupení ostatních mastných kyselin v obilce ječmene je velmi podobné profilu mastných kyselin ve sladu.

The Supelcowax column with highly polar stationary phase (polyethylene glycol) is suitable for the separation of low boiling analytes and methyl esters of fatty acids. This column is thermally stable to 250 °C. The SLB-IL100 is a new capillary column with highly polar stationary phase and it is suitable for the analysis of fatty acid methyl esters. This column has both good thermal stability (230 °C) and high stability of the stationary phase.

The SLB-IL100 column is more polar than the Supelcowax column and in addition it allows the separation of the geometric cis/trans isomers of methyl esters of fatty acids (Fig. 6).

The comparison of the chromatograms showing the separation of the standard mix clearly suggests that the SLB-IL 100 column exhibits more perfect separation of the individual analytes (Fig. 4 and 5). The SLB-IL 100 column was selected for the analysis of the representation of fatty acids also for that reason that it is able to distinguish the oleic and elaidic acids (Fig. 5), of which only the first was determined in the barley caryopsis and malt.

Representation of the individual fatty acids was studied in fats extracted from 20 barley varieties and malts produced from them. Following acids were identified and determined in all the samples of barley caryopses:

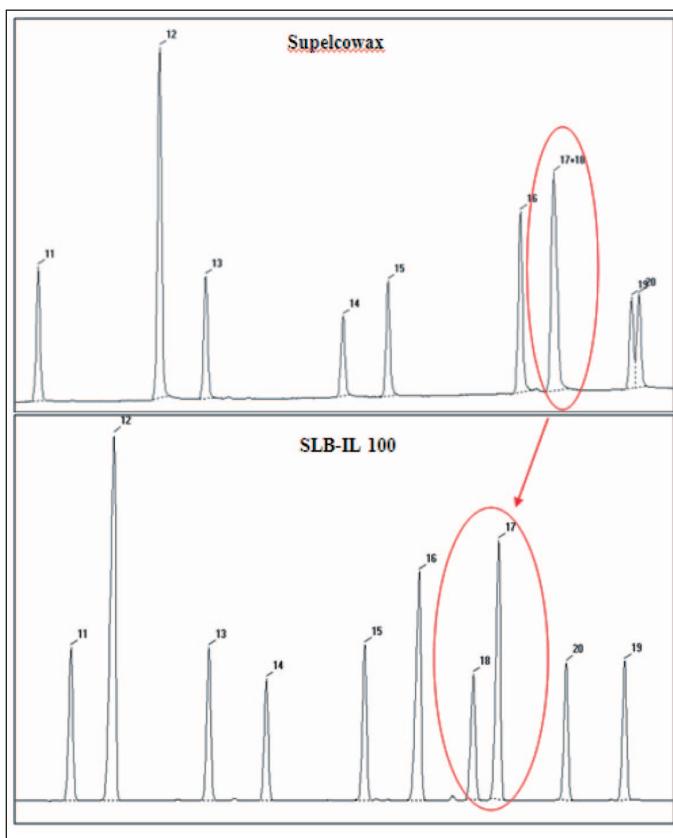
lauric (C12:0), myristic (C14:0), pentadecanoic (C15:0), palmitic (C16:0), stearic (C18:0), oleic (C18:1c), linoleic (C18:2t), linolenic (C18:3), arachidic (C20:0), eicosadienoic (C20:2), behenic (C22:0), erucic (C22:1), trikosanoic (C23:0), lignoceric (C24:0), and nervonic (C24:1) (Tab. 4).

#### 4 CONCLUSION

Lipides in barley caryopses and malt were determined by the optimized modern method of extraction on the fluidized bed.

For the determination of the fatty acid profile in a barley caryopsis and malt, the SLB-IL 100 capillary column was used as in contrast to the Supelcowax co-

Obr. 6 Srovnání dělení cis/trans izomerů methylesterů mastných kyselin na dvou kapilárních kolonách (methylestry kyseliny olejové – 17 a elaidové – 18) / Fig. 6 Comparison of the separation of the cis/trans isomers of fatty acid methyl esters on two capillary columns (methyl esters of oleic – 17 and elaidic acids – 18)



**Poděkování**

Prezentované výsledky jsou součástí řešení výzkumného projektu NAZV MZe ČR pod identifikačním kódem QH 81056.

**LITERATURA**

1. Drost, B.W., Van Berg, R., Freijee, F.J.M., Van Velde, E.G., Holleman M.: Flavor stability, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **48**, 1990, 124–131.
2. Kobayashi, N., Kenada, H., Kano, Y., Koshino, S.: Determination of wort production, *Proceedings of 24th Congress of the European Brewery Convention*, Oslo, 1993, 405–412.
3. Skadhauge, B., Knudsen, S., Lok, F., Olsen, O.: Barley for production of flavour-stable beer, *Proceedings of 30th Congress of the European Brewery Convention*, Prague, 2005, 676–678.
4. Velišek, J.: *Chemie potravin 1*, Ossis, Tábor, 2002, 117–161.
5. Basařová, G. a kol.: *Pivovarsko-sladařská analytika 1/1*, Merkantka, Praha, 1992, 182–185.
6. Javarský, P. a kol.: *Chemické rozbory v zemědělských laboratořích*, MZeV ČSR, Praha, 1987, 60–64.
7. ČSN EN ISO 659 (461034): Olejnatá semena – Stanovení obsahu oleje (Referenční metoda), 1999, 16 s.
8. ČSN ISO 5508 (588766): Živočišné a rostlinné tuky a oleje. Analýza methylesterů mastných kyselin plynovou chromatografií, 1995, 12 s.
9. ČSN EN ISO 5509 (588767): Živočišné a rostlinné tuky a oleje. Příprava methylesterů mastných kyselin, 2001, 40 s.
10. Kang, J. X., Wang, J.: A simplified method for analysis of polyunsaturated fatty acids, *BMC Biochemistry*, 2005, 1–6.
11. Travella, M., Peterson, G., Espeche, M., Cavallero, E., Cipolla, L., Perego, L., Caballero, B.: Trans fatty acids content of a selection of food in Argentina, *Food Chemistry*, **69**, 2000, 209–213.
12. Aldai, N., Murray, B. E., Najera, A. I., Troy, D. J., Osoro, K.: Derivatization of fatty acids and its application for conjugated linoleic acid studies in ruminant meat lipids. *J. Sci. Food Agric.* **85**, 2005, 1073–1083.

*Translated by Vladimíra Nováková*

*Recenzovaný článek  
Do redakce došlo 21. 10. 2009*

**Krátké sdělení / Short communication****KVALITA ZRNA JEČMENE ZE ZKUŠEBNÍCH STANOVÍŠT ČESKÉ REPUBLIKY, SKLIZEŇ 2008****QUALITY OF BARLEY GRAIN IN THE TESTING SITES OF THE CZECH REPUBLIC, HARVEST 2008**

LENKA SACHAMBULA<sup>1</sup>, VRATISLAV PSOTA<sup>1</sup>, OLGA DVOŘÁČKOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Sladařský ústav, Mosteká 7, CZ-614 00 Brno

*Research Institute of Brewing and Malting, Plc., Malting Institute, Mosteká 7, CZ-614 00 Brno*

e-mail: sachambula@brno.beerresearch.cz; psota@brno.beerresearch.cz

<sup>2</sup>Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Národní odrůdový úřad, Hroznová 2, CZ-656 06 Brno

*Central Institute for Supervision and Testing in Agriculture, National Plant Variety Office, Hroznová 2, CZ-656 06 Brno; vladimira.horakova@ukzuz.cz*

**Sachambula, L. – Psota, V. – Dvořáčková, O.: Kvalita zrna ječmene ze zkušebních stanovišť České republiky, sklizeň 2008.** Kvasny Prum. 55, 2009, č. 11–12, s. 320–325.

Vzorky tří odrůd ječmene jarního z 24 zkušebních stanic a dvou odrůd ječmene ozimého ze 13 zkušebních stanic byly analyzovány podle ČSN 461100-5. Příznivý průběh počasí v roce 2008 pozitivně ovlivnil obsah dusíkatých látek (11,9 % a 11,4 %) a škrobu (64,4 % a 63,6 %) v obilkách ječmene jarního i ozimého. Výskyt porostlých zrn byl minimální a množství poškozených zrn bylo nižší. Zrno sklizené v roce 2008 bylo větší a velikostně vyrovnanější. Podíl zrna nad sítem 2,5 mm byl v průměru 88,3 % u ječmene jarního a 87,8 % u ječmene ozimého. Rok 2008 byl z hlediska kvality zrna ječmene příznivý.

**Sachambula, L. – Psota, V. – Dvořáčková, O.: Quality of barley grain from the testing sites of the Czech Republic, harvest 2008.** Kvasny Prum. 55, 2009, No. 11–12, p. 320–325.

Samples of three varieties of spring barley from 24 testing stations and two winter barley varieties from 13 testing stations were analyzed according to the standard ČSN 461100-5. The favorable course of weather in 2008 positively affected content of nitrogenous substances (11.9 % and 11.4 %) and starch (64.4 % and 63.6 %) in spring and winter barley caryopses. The occurrence of sprouted grains was minimal and the amount of the damaged grains was lower. Grain harvested in 2008 was bigger and its size was more homogenous. Portion of sieving fractions above 2.5 mm was on average 88.3 % in spring barley and 87.8 % in winter barley. 2008 was a favorable year in terms of quality.

**Sachambula, L. – Psota, V. – Dvořáčková, O.: Die Qualität des Gerstenkornes aus den Prüfungstellen der Tschechischen Republik, die Ernte 2008.** Kvasny Prum. 55, 2009, Nr. 11–12, S. 320–325.

Laut den tschechischen Standarten ČSN 461100-5 wurden die Muster von drei Sommergerstensorten aus den 24 Versuchsanstalten und Muster von zweien Wintergerstensorten aus den 13 Versuchsanstalten analysiert. Ein günstiger Ablauf des Wetters im Jahre 2008 hat den Gehalt an stickstoffhaltige Stoffe (11,9 % und 11,4 %) und Stärkegehalt (64,4 % und 63,6 %) in der Grasfrucht der Winter- und Sommergersten positiv beeinflusst. Das Vorkommen des bewachsenen Kornes wurde minimal und die Menge des beschädigten Kornes ist niedriger gewesen. Das Korn aus der Ernte 2008 wurde größer und mehr in der Größe ausgeglichen. Korngrößenbereich am Sieb mit Löchern 2,5 mm wurde im Durchschnitt bei der Sommergerste 88,3 % und bei der Wintergerste 87,8 %. Aus der Qualitätshinsicht des Gerstenkornes wurde der Jahr 2008 günstig.

lumn it provides a more perfect separation of analytes at a comparable time of the analysis.

Even 10-fold decline in oleic acid content (C18:1c) caused probably by its autooxidation was determined in malt. The results clearly show that the representation of fatty acids in a barley caryopsis is very similar to that in malt

**Acknowledgement**

The presented results were obtained within the solution of the research project NAZV MA CR under the identification code QH 81056.

**Klíčová slova:** ječmen, odrůda, zrno, kvalita

## 1 ÚVOD

Základní faktor ovlivňující kvalitu zrna ječmene je odrůda. Odrůda je však dále výrazným způsobem ovlivněna vnějšími podmínkami. Půdní a klimatické podmínky, předplodina, hnojení, ošetřování a skladování výrazným způsobem ovlivňují finální vlastnosti sklizeňného zrna ječmene.

Zkušební stanice ÚKZÚZ i soukromé zkušební stanice, které jsou rozmištěny v různých částech České republiky, mohou poskytovat rychlé a objektivní informace. Mohou informovat o vývoji ječmene na poli, o výskytu chorob a škůdců atd. Zároveň mohou sloužit jako zdroj přesně definovaných vzorků ječmene.

## 2 MATERIÁL A METODY

Na všech zkušebních stanicích ÚKZÚZ a privátních zkušebních stanicích, ve kterých byl v roce 2008 pěstován jarní a ozimý ječmen, byla sledována základní fenologická data (tab. 1). Pokusy byly založeny ve dvou variantách pěstování označených v tabulce S1 a S2.

### S1 – Neošetřená varianta

- mořidlo účinné proti: sněť prašná ječná, pruhovitost ječná, hnědá skvrnitost ječmene (primární infekce),
- základní dávka dusíku,
- bez ošetření fungicidem.

### S2 – Ošetřená varianta

- mořidlo účinné proti: sněť prašná ječná, pruhovitost ječná, hnědá skvrnitost ječmene (primární infekce),
- základní dávka dusíku,
- fungicid proti chorobám pat stébel (dle potřeby) a proti listovým a klasovým chorobám (první ošetření do konce sloupkování, druhé ošetření v době metání a na začátku květu).

Po sklizni byly ze všech zkušebních stanic a z obou variant odebrány vzorky zrna odrůd ječmene jarního Prestige, Bojos a Sebastian a ječmene ozimého Mascara a Wintmalt pro následný rozbor podle ČSN 46 1100-5 [1]. V přepadu zrna nad 2,5 mm byl stanoven obsah dusíkatých látek a škrobu metodou NIRS.

Současně byla stanovena porostlost pomocí přístroje Falling Number 1100. Hydrolytické enzymy, které jsou v obilce aktivovány ihned v počátečních fázích klíčení, tj. i v průběhu porůstání, degradují škrob. Na této reakci je založen i princip stanovení porostlosti pomocí přístroje Falling Number. Zkoušený vzorek ječmene je rozemlet. Vodná suspenze mouky rychle zmazovatí ve vroucí vodní lázni. Působením  $\alpha$ -amylázy obsažené ve vzorku doje ke ztekucení škrobu. Číslo poklesu je stanoveno pomocí času, po který klesá míchadlo ve zkumavce. V případě, že byl vzorek silně porostlý, klesá míchadlo velice rychle a pokles může trvat min. 60 sekund. Hraníční hodnotou je 220 s. Vzorky porostlé vykazují nižší hodnoty než 220 sekund [2]. Metoda je velice rychlá a objektivní v porovnání s vizuálním stanovením porostlosti.

Získané výsledky byly u jarního ječmene statisticky zpracovány pomocí analýzy rozptylu dvojněho třídění.

Výsledky dosažené ozimým ječmenem nebyly statisticky hodnoceny.

## 3 VÝSLEDKY A DISKUZE

Zima 2007–2008 byla teplotně nadnormální. Měsíc březen byl teplotně i srážkově normální. Srážky byly rozděleny nerovnoměrně. Setí začalo ve zkušebních stanicích 7. března a skončilo 23. dubna. V polovině března přišlo ochlazení, na mnoha stanovištích napadl sníh. Jarní práce tak byly přerušeny asi na 2 týdny. Měsíce duben a květen byly teplotně a srážkově normální. V červnu byly teploty nadnormální a srážky podnormální. Porosty ječmene dobře vymetaly a jejich stav byl velmi dobrý. Červenec byl teplotně i srážkově normální [3]. Žně ve sledovaných zkušebních stanicích proběhly v období od 12. července do 22. srpna 2008. Průběh počasí se odrazil v růstu a vývoji jarního ječmene (tab. 1) a na kvalitě zrna ječmene ve stanicích (tab. 2).

Průměrný obsah dusíkatých látek se u vybraných odrůd jarního ječmene ve zkušebních stanicích v České republice pohyboval kolem 11,9 %. Obsah dusíkatých látek výrazně kolísal v rozmezí 9,0–16,0 %. Průměrný obsah škrobu byl 63,3 % a kolísal v rozmezí

**Keywords:** barley, variety, grain, quality

## 1 INTRODUCTION

Quality of barley grain depends on many factors. The fundamental factor affecting the barley grain quality is a variety. However, the variety is also significantly affected by the environment. Soil and climatic conditions, previous crop, fertilizing, treatment and post harvest treatment, storage significantly contribute to the final character of the harvested barley grain.

The testing stations of the CISTA and private testing stations placed in various parts of the Czech Republic can provide quick and objective information. They can inform about barley development in a field, disease and pest occurrence, etc. At the same time they can serve as a source of exactly defined barley samples.

## 2 MATERIAL AND METHODS

In all testing stations of the CISTA and private testing stations where in 2008 spring and winter barleys were grown, basic phonological data were studied (Tab. 1). The experiments were established in two growing variants marked as S1 and S2 in the table.

### S1 – Non treated variant

- disinfectant effective against: loose smut of wheat, barley leaf stripe, net blotch (primary infection),
- basic dosage of nitrogen,
- without fungicidal treatment.

### S2 – Treated variant

- disinfectant effective against loose smut of wheat, barley leaf stripe, net blotch (primary infection),
- basic dosage of nitrogen,
- fungicide against stem-base diseases (as necessary) and against foliar and ear diseases (first treatment to the phase BBCH 35, the other at the beginning of ear heading and before anthesis).

After harvest, grain samples of the spring barley varieties Prestige, Bojos, and Sebastian and winter varieties Mascara and Wintmalt were collected from both variants and all testing stations and analyzed pursuant to the standard ČSN 46 1100-5 [1]. The NIRS method was used to determine starch and nitrogenous substance contents in sieving fractions over 2.5 mm.

At the same time, the extent of sprouting was assessed using the equipment Falling Number 1100. Hydrolytic enzymes which are activated in the caryopsis immediately in the initial stages of germination, i.e. also during sprouting, degrade starch. The principle of determination of the extent of sprouting with the Falling Number is based on this reaction. The tested barley sample is ground. Aqueous flour suspension quickly gelatinizes in a boiling water bath, and  $\alpha$ -amylase-induced liquefaction of starch occurs. Falling number is given by the time the stirrer falls down the tube. In case of a heavily sprouted sample, the stirrer falls down very quickly and fall can last minimally 60 seconds, the limit value is 220 s. The sprouted samples show values lower than 220 seconds [2]. The method is very quick and objective compared to the visual assessment of the extent of sprouting.

The results acquired in spring barley were statistically evaluated using the analysis of variance for the two-way classification.

The results acquired in winter barley were not statistically evaluated.

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

Temperatures in winter 2007–2008 were above average. March was average in terms of temperatures and precipitations. Precipitations were unevenly distributed. Sowing started in the testing stations on March 7 and finished on April 23. In the half of March drop in temperature and snowfall occurred in many sites. Spring work was interrupted for about 2 weeks. April and May's temperatures and precipitations were average. In June the temperatures were above average and the precipitations below average. Barley stands headed well and their state was very good. July's temperatures and precipitations were normal [3]. Harvest in the followed testing stations proceeded in the period from July 12 to August 22 2008. The weather conditions affected the growth and development of spring barley (Tab. 1) and barley grain quality in the stations (Tab. 2).

Tab. 1 Základní fenologické údaje / Tab. 1 Basic phenological data

Tab. 2 Kvalita zrna ječmene, sklizeň 2008 / Quality of barley grain. 2008 harvest

Stanoviště <i>Site</i>	Okres / <i>District</i>	Ječmen jarní / Spring barley													
		Obsah škrobu (%) <i>Starch content (%)</i>	Číslo poklesu (s) <i>Failing number (s)</i>	Dusíkaté látky (%) <i>Protein content (%)</i>	Přepad zrna na sítě 2.8 mm (%) / Grading > 2.8 mm (%)	Přepad zrna na sítě 2.5 mm (%) / Grading > 2.5 mm (%)	Přepad zrna sítěm 2.2 mm (%) / Waste < 2.2 mm (%)	Příměsi celkem <i>Total admixtures</i>	Příměsi sladařský cástičně využitelné (%) / Admixtures partly usable in malting (%)	Zrna bez pluch (%) <i>Grains without husks (%)</i>	Zrna se zahnědlou špičkou (%) / Grain with blackened tip (%)	Zrna s osinou (%) <i>Grains with awn (%)</i>	Příměsi sladařský nevy- užitelné (%) / Admixtures non-usable in malting (%)	Zelená zrna (%) / Green (unripe) grains (%)	Zlomky zrn (%) <i>Broken grains (%)</i>
Branišovice	Brno-venkov	61.6	337	15.1	15.2	66.4	5.7	0.2	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1	
Oblekovice	Znojmo	63.1	297	12.4	65.0	90.7	2.1	2.4	1.5	0.8	1.2	0.1	0.9	0.1	0.7
Chrlice	Brno-město	63.1	299	12.1	28.1	88.0	5.6	1.7	1.2	0.1	0.6	0.7	0.4	0.0	0.4
Hrubčice	Prostějov	65.4	324	10.0	55.0	87.3	1.8	1.1	0.7	0.2	0.4	0.0	0.4	0.1	0.2
Lednice	Břeclav	65.2	296	9.7	46.0	89.9	1.8	1.8	1.4	0.1	0.6	0.5	0.2	0.0	0.1
Žatec	Louny	65.0	336	13.1	65.8	95.7	1.2	2.1	1.9	0.9	2.2	0.0	0.3	0.0	0.2
Stupice	Praha-východ	64.9	329	12.3	32.5	92.4	3.4	2.5	1.9	1.0	1.0	0.0	0.5	0.0	0.4
Kroměříž	Kroměříž	65.0	308	12.3	57.8	89.6	2.4	5.2	1.5	0.8	0.4	0.0	3.7	0.0	3.7
Tursko	Praha-západ	64.3	283	12.7	54.7	91.8	2.5	2.2	1.1	0.6	1.3	0.4	1.1	0.0	0.9
Věrovany	Olomouc	65.1	330	11.2	52.3	93.6	3.2	1.8	1.5	0.3	1.2	0.2	0.3	0.1	0.2
Horažďovice	Klatovy	64.5	310	11.9	39.1	84.9	1.4	2.6	1.7	0.5	0.5	0.7	0.9	0.4	0.2
Libějovice	Strakonice	64.5	287	12.4	62.6	90.4	2.6	14.5	12.3	10.8	0.6	0.0	2.2	0.4	1.6
Pusté Jakartice	Opava	65.3	180	9.7	77.9	90.8	1.4	6.7	6.4	0.1	3.6	5.6	0.1	0.0	0.1
Jaroměřice n. R.	Třebíč	63.4	286	13.3	55.5	88.9	1.4	6.0	4.7	1.3	0.8	1.6	1.3	0.0	1.2
Uherský Ostroh	Uherské Hradiště	64.8	305	11.3	56.7	93.4	1.6	2.8	2.1	0.4	2.3	1.0	0.5	0.0	0.4
Čáslav	Kutná Hora	65.7	305	11.6	58.7	75.1	1.9	3.2	2.8	0.4	0.2	0.1	0.4	0.1	0.2
Kujavy	Nový Jičín	64.0	214	11.5	70.0	89.9	4.4	8.0	4.5	1.8	0.4	0.1	3.5	0.1	3.2
Chrastava	Liberec	65.0	277	11.7	77.7	87.6	2.5	5.9	4.2	0.3	0.9	1.5	1.5	0.1	1.4
Lípa	Havlíčkův Brod	65.8	281	10.8	61.1	90.6	1.9	6.8	6.3	0.4	0.8	2.6	0.4	0.2	0.1
Staňkov	Domažlice	63.8	269	14.0	53.8	91.8	2.3	5.2	4.3	0.1	1.2	0.0	0.8	0.2	0.2
Vysoká	Příbram	64.1	266	11.8	64.3	95.3	1.3	6.1	1.8	0.4	3.8	1.0	4.2	0.4	3.2
Domanínek	Žďár nad Sázavou	64.2	273	11.9	74.4	78.0	2.2	7.6	6.0	0.9	1.8	2.9	1.3	0.1	0.9
Hradec n. S.	Svitavy	63.9	244	12.5	65.3	87.1	3.1	10.4	6.4	3.2	0.7	0.4	3.7	0.3	3.0
Krásné Údolí	Karlovy Vary	64.6	289	11.2	81.6	89.2	0.9	4.5	4.0	3.2	0.2	0.0	0.5	0.2	0.2
Průměr / Mean		64.4	289	11.9	57.1	88.3	2.4	4.6	3.3	1.2	1.1	0.8	1.2	0.1	0.9
Směrodatná odchylka / standard deviation		1.1	44	1.4	18.9	7.9	1.7	3.9	3.3	2.4	1.7	1.6	1.4	0.2	1.3
Ječmen ozimý / Winter barley															
Horažďovice	Klatovy	63.3	320	10.4	41.2	63.1	4.2	10.4	10.0	3.7	1.0	5.3	0.5	0.1	0.3
Kroměříž	Kroměříž	63.4	349	12.8	71.9	89.2	2.1	2.4	2.0	1.4	0.6	0.0	0.4	0.0	0.4
Kujavy	Nový Jičín	62.5	365	12.3	56.1	86.5	1.1	7.7	5.2	2.8	2.1	0.4	2.5	0.0	2.4
Lužany	Plzeň-jih	63.5	284	11.9	37.8	73.2	7.9	2.5	1.3	0.1	0.5	0.6	1.1	0.0	0.7
Branišovice	Brno-venkov	59.5	116	17.6	49.3	64.3	7.1	4.1	3.8	1.3	1.5	1.1	0.3	0.0	0.3
Hradec n. Sv.	Svitavy	63.8	324	10.2	83.5	95.6	1.1	5.1	4.0	2.7	0.9	0.4	1.0	0.0	0.8
Jaroměřice n. R.	Třebíč	64.4	279	10.4	76.4	92.9	2.0	8.1	7.5	0.9	0.5	6.2	0.5	0.0	0.4
Staňkov	Domažlice	63.3	326	11.6	60.0	84.7	3.4	4.9	3.2	2.5	0.6	0.1	1.6	0.0	1.2
Žatec	Louny	65.1	316	11.9	78.1	94.8	1.1	2.9	2.8	1.6	1.0	0.2	0.2	0.0	0.1
Vysoká	Příbram	64.4	186	10.6	78.3	94.9	1.3	6.0	3.4	2.5	0.6	0.3	2.5	0.1	2.0
Lípa	Havlíčkův Brod	63.7	164	10.9	85.8	95.8	1.0	9.2	8.6	0.5	2.0	6.1	0.2	0.1	0.1
Chrastava	Liberec	64.7	119	9.3	83.7	94.8	1.6	7.8	5.5	0.4	0.3	4.8	2.2	0.0	2.1
Libějovice	Strakonice	61.9	322	13.0	61.1	87.9	2.3	7.8	7.6	4.3	3.3	0.1	0.2	0.1	0.1
Průměr / Mean		63.6	260	11.4	68.9	87.8	2.6	6.0	4.8	1.7	1.0	2.1	1.1	0.0	0.9
Směrodatná odchylka / standard deviation		1.5	91	1.9	19.4	12.6	3.2	3.2	3.1	1.7	0.9	2.8	1.0	0.1	0.9

od 61,6 do 65,8 %. Obsah dusíkatých látek a škrobu byl statisticky průkazně až vysoce průkazně ovlivněn variantou ošetření, odrůdou i stanovištěm (tab. 2, 3).

Porostlé vzorky ječmene jarního s velmi nízkou hodnotou čísla poklesu byly zaznamenány pouze ve zkušební stanici Pusté Jakartice. Hodnoty čísla poklesu pod 220 s byly zaznamenány také ve zkušební stanici Kujavy. Porostlost určená číslem poklesu byla statis-

Average content of nitrogenous substances in the selected spring barley varieties in the testing stations in the Czech Republic moved around 11.9 %. Content of nitrogenous substances varied markedly from 9.0 – 16.0 %. Average starch content was 63.3 % and varied from 61.6 to 65.8 %. Contents of nitrogenous substances and starch were statistically significantly to highly significantly affected by the variant of treatment, variety and site (Tab. 2, 3).

Tab. 3 Analýza variance a odhady komponent rozptylu pro / Analysis of variance and estimated components of variance for

Zdroj proměnlivosti Source of variation	d.f.	Průměrný čtverec Mean square	Hladina Významnosti Significant level	F hodnota F ratio	Odhad komponent rozptylu Estimated components of variance
					abs. rel. (%) s.e.
Obsah škrobu (%) / Starch content (%)					
System	1	4.2367	***	25.21	0.0565 4.4 0.0832
Variety	2	8.7140	***	51.86	0.1780 13.7 0.1815
Site	23	5.5256	***	32.88	0.8929 68.9 0.2716
Residual	117	0.1680			0.1680 13.0 0.0220
Číslo poklesu (s) / Falling number (s)					
System	1	2002.5625	NS	2.688	17.4655 0.8 39.3573
Variety	2	3777.3332	***	5.070	63.1726 3.1 78.7206
Site	23	8191.0482	***	10.994	1241.000 60.0 402.8953
Residual	117	745.0479			745.0479 36.1 97.4106
Obsah dusíkatých láték (%) / Protein content (%)					
System	1	4.0669	***	19.13	0.0535 2.7 0.0799
Variety	2	11.2969	***	53.14	0.2309 11.5 0.2354
Site	23	9.2707	***	43.61	1.5097 75.2 0.4557
Residual	117	0.2126			0.2126 10.6 0.0278
Přepad zrna na síť 2,8 mm (%) / Grading > 2.8 mm (%)					
System	1	2764.131	***	25.579	36.8898 9.6 54.2930
Variety	2	104.8503	NS	0.970	0.0108 0.0 2.2812
Site	23	1548.0905	***	14.326	240.0048 62.3 76.1209
Residual	117	108.0616			108.0616 28.1 14.1284
Přepad zrna na síť 2,5 mm (%) / Grading > 2.5 mm (%)					
System	1	261.8069	***	9.32	2.7897 4.2 4.4196
Variety	2		NS		0.0024 0.0 0.5096
Site	23	261.8069	***	10.85	39.6110 59.5 12.8779
Residual	117	45.9959			45.9959 27.2 6.0137
Propad zrna sítě 2,2 mm (%) / Waste < 2.2 mm (%)					
System	1	10.0278	**	7.127	0.1197 4.0 0.1970
Variety	2	3.4067	NS	2.421	0.0417 1.4 0.0711
Site	23	9.8360	***	6.991	1.4048 47.3 0.4844
Residual	117	1.4070			1.4070 47.3 0.1840
Příměsi celkem/ Total admixtures					
System	1	12.9001	NS	2.335	0.1024 0.7 0.2536
Variety	2	0.5238	NS	0.095	0.0006 0.0 0.1166
Site	23	66.1288	***	11.968	10.1005 64.2 3.2523
Residual	117	5.5256			5.5256 35.1 0.7224
Příměsi sladařsky částečně využitelné (%) / Admixtures partly usable in malting (%)					
System	1	6.76000	NS	1.469	0.0300 0.3 0.1330
Variety	2	5.28083	NS	1.148	0.0142 0.1 0.1107
Site	23	45.02685	***	9.787	6.7377 59.2 2.2152
Residual	117	4.60067			4.6007 40.4 0.6015
Zrna bez pluch (%) / Grains without husks (%)					
System	1	0.275625	NS	0.214	0.0001 0.0 0.0256
Variety	2	2.840833	NS	2.207	0.0324 0.5 0.0593
Site	23	29.479611	***	22.907	4.6988 78.1 1.4491
Residual	117	1.286932			1.2869 21.4 0.1683
Zrna se zahnědlou špičkou (%) / Grains with blackened tips (%)					
System	1	3.8025000	NS	2.305	0.0299 1.2 0.0747
Variety	2	0.2734028	NS	0.166	0.0002 0.0 0.0348
Site	23	7.2257850	***	4.381	0.9294 35.6 0.3569
Residual	117	1.6493222			1.6493 63.2 0.2156
Zrna s osinou (%) / Grains with awn (%)					
System	1	1.380625	NS	1.395	0.0054 0.2 0.0272
Variety	2	6.788403	**	6.858	0.1208 4.6 0.1415
Site	23	10.1831113	***	10.287	1.5322 57.8 0.5009
Residual	117	0.989922			0.9899 37.4 0.1294
Příměsi sladařsky nevyužitelné (%) / Admixtures non usable in malting (%)					
System	1	1.4601	NS	2.686	0.0127 0.6 0.0287
Variety	2	3.8702	**	7.121	0.0693 3.2 0.0806
Site	23	9.7875	***	18.008	1.5407 71.1 0.4812
Residual	117	0.5435			0.5435 25.1 0.0711
Zlomky zrn (%) / Broken grains (%)					
System	1	0.1167361	NS	0.256	0.0000 0.0 0.0091
Variety	2	3.5002778	***	7.676	0.0634 3.6 0.0729
Site	23	7.8211564	***	17.151	1.2275 70.3 0.3845
Residual	117	0.4560203			0.4560 26.1 0.0596
Zelená zrna (%) / Green (unripe) grain (%)					
System	1	0.3500694	**	9.314	0.0043 7.9 0.0069
Variety	2	0.0169444	NS	0.451	0.0000 0.0 0.0008
Site	23	0.1115187	***	2.967	0.0123 22.7 0.0055
Residual	117	0.0375873			0.0376 69.4 0.0049
Poznámky / Notes:	* P=0.05 ** P=0.01 *** P=0.001	d.f.	stupně volnosti / degrees of freedom rel. relativní hodnota / relative value abs. původní hodnota / original value	NS	non significant s.e. chyba odhadu / standard error

ticky vysoko průkazně ovlivněna odrůdou a stanovištěm (tab. 2, 3). U vzorků ječmene ozimého byly hodnoty pod 220 s zaregistrovány častěji, a to ze stanovišť Branišovice, Chrastava, Lípa a Vysoká.

Velikostní frakce zrna sledovaných odrůd ječmene byly výrazně ovlivněny stanovištěm a ošetřováním (tab. 2, 3). Ve srovnání s rokem 2007 byl v roce 2008 skleněný výrazně větší podíl zrna nad sítem 2,8 mm (57,1 %) a tudíž i nad 2,5 mm (88,3 %) [4].

Příměsi sladařsky nevyužitelných (zrnu s vyraženým klíčkem, zrnu mechanicky deformovaná, zrnu zjevně plesnivá atd.) bylo málo (v průměru 1,2 %). Příměsi sladařsky částečně využitelných bylo více (3,3 %). Nejčastěji se vyskytovala zrnu bez pluch (1,2 %), zrnu se zahnědlou špičkou (1,3 %) a zrnu s osinou (0,8 %). Přítomnost těchto typů příměsi byla statisticky vysoko průkazně ovlivněna stanovištěm. Odrůdy statisticky průkazně ovlivnily přítomnost zlomků a zrn s osinou.

Rok 2008 byl příznivý také pro kvalitu zrnu ozimého ječmene. Ve srovnání s rokem 2007 [4] mělo zrno skleněné v roce 2008 vyšší obsah škrobu, optimální obsah dusíkatých látek a výrazně vyšší podíl zrnu nad sítem 2,8 mm. V roce 2008 bylo zaznamenáno vyšší množství příměsi částečně sladařsky využitelných, a to především zrn bez pluch.

## 4 ZÁVĚR

Příznivý průběh počasí v roce 2008 pozitivně ovlivnil obsah dusíkatých látek a škrobu v obilkách ječmene. Ve srovnání se skleninou v roce 2007 byl výskyt porostlých zrn minimální a množství poškozených zrn bylo nižší. Zrno skleněné v roce 2008 bylo větší a velikostně vyrovnanější než v roce předchozím [4] a mělo by tedy poskytnout větší množství extraktu. Rok 2008 byl příznivý též pro kvalitu zrnu ozimého ječmene.

## Poděkování

Prezentované výsledky kvality zrnu ječmene byly získány a zpracovány za podpory MŠMT ČR v rámci řešení výzkumného záměru VÚPS, a. s., „Výzkum sladařských a pivovarských surovin a technologií“ (identifikaci kód MSM6019369701). Poděkování platí také všem pracovníkům zkušebních stanic ÚKZÚZ a pracovníkům soukromých zkušebních stanic za poskytnuté informace a vzorky ječmene.

Recenzovaný článek

Do redakce došlo 29. 4. 2009

## LITERATURA /REFERENCES

1. ČSN 46 1100-5 Obiloviny potravinářské – Část 5: Ječmen sladovnický. Praha: Český normalizační institut, 2006-01-01.
2. Pitz, W. J.: Rapid and Objective Methods for the Estimation of Pre-germination and Viability in Barley. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **49**, 1991, 119–127.
3. Prokeš, J., Helánová, A.: Quality of brewing barley from 2008 crop in the Czech Republic. *Kvasny Prum.* **55**, 2009, 9–15.
4. Psota, V., Horáková, Vl., Svorad, M.: Quality of Barley Grain in the Testing Localities of the Czech Republic and Slovak Republic, Harvest 2007. *Kvasny Prum.* **54**, 2008, 41–42.

Sprouted spring barley samples with a very low value of Falling number were recorded only in the testing station Pusté Jakartice. The values of Falling number below 220 s were also recorded in the testing station Kujavy. Sprouting determined by the Falling number was statistically significantly highly affected by the variety and site (Tab. 2, 3). Values in the winter barley varieties below 220 s were recorded more often in the sites Branišovice, Chrastava, Lípa, and Vysoká.

Grain sieving fractions of the studied barley varieties were markedly affected by the site and treatment (Tab. 2, 3). Compared to 2007, a markedly higher portion of sieving fractions above 2.8 mm (57.1 %) and thus also above 2.5 mm (88.3 %) was harvested in 2008 [4].

Content of admixtures unusable for malting (grains with removed germ, mechanically deformed grains, apparently moldy grains, etc.) was low (on average 1.2 %). Content of admixtures partly usable for malting was higher (3.3 %), most frequently these were hullless grains (1.2 %), black pointed grains (1.3 %) and grains with the awn (0.8 %). The presence of these types of admixtures was highly statistically significantly affected by the site. The varieties statistically significantly affected the presence of fragments and grains with the awn.

2008 was a favorable year for quality of winter barley grain. Compared to 2007 [4], grain harvested in 2008 had higher starch content, optimal level of nitrogenous substances and markedly higher portion of sieving fractions above 2.8 mm. In 2008 a higher amount of admixtures partly usable in malting, mainly grains without awns, was recorded.

## 4 CONCLUSION

The favorable weather conditions in 2008 affected contents of nitrogenous substances and starch in barley caryopses positively. Compared to harvest 2007, the occurrence of sprouted grains was minimal and the amount of the damaged grains was lower. Grain harvested in 2008 was bigger and its size was more homogenous than in the previous year [4] and thus it should provide higher extract yield. Year 2008 was also favorable for quality of winter barley grain.

## Acknowledgements

Presented results of barley grain quality were acquired and evaluated with the support of **MEYS CR** within solution of the Research Plan of the RIBM, Plc “Research into Malting and Brewing Materials and Technologies” (identification code MSM6019369701). We thank to all workers of testing stations of CISTA and private testing stations for provided information and barley samples.

Translated by Vladimíra Nováková

**FT PROJEKT**  
PROJECT & INVESTMENT MANAGEMENT

výjimečný komplex služeb pro podporu Vašeho rozvoje

řízení investičních projektů	koncepční řízení investičního rozvoje	optimalizace výrobních procesů	bezpečnost práce, požární ochrana	servis, údržba, outsourcing

příprava a řízení realizace konkrétních investičních projektů až po zprovoznění – řízení projekčních prací, řízení legislativních požadavků státní a veřejné správy – aplikace moderních nástrojů procesního a projektového managementu v podnicích a firmách – zajištění zkušebního provozu, předávání, kolaudace, plnění legislativních požadavků – analýzy efektivity výrobních celků, racionalizační opatření ke zvýšení efektivity a snížení výrobních nákladů – outsourcing zajištění provozních požadavků bezpečnosti a hygieny práce – finanční rozbor a hodnocení efektivity investičních záměrů a projektů – nezávislé průzkumy trhu, výběry optimálních technologií a specializovaných dodavatelů a subdodavatelů – implementace systémů managementu kvality

**building your dreams**