

Polyfenolové látky a antioxidační vlastnosti odrůd ječmene doporučených pro České pivo

Polyphenol Compounds and Antioxidative Properties of Barley Varieties Recommended for Czech Beer

ALEXANDR MIKYŠKA, IVO HARTMAN, DANUŠA HAŠKOVÁ

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Praha, Lípová 15, 120 44 Praha 2 / *Research Institute of Brewing and Malting, PLC*
e-mail: mikyska@beerresearch.cz

Mikyška, A. – Hartman, I. – Hašková, D.: Polyfenolové látky a antioxidační vlastnosti odrůd ječmene doporučených pro České pivo. Kvasny Prum. 57, 2011, č. 7–8, s. 182–189.

Polyfenolové látky sladu mají vliv na antioxidační aktivitu, senzoryckou i koloidní stabilitu piva. Polyfenolové antioxidanty jsou významné nejen z hlediska senzoryckého stárnutí piva, ale i z hlediska příznivého zdravotního dopadu na konzumenty. Ječmen představuje potenciál pro ve vodě rozpustné polyfenolové antioxidanty i další redukující látky, jejich uvolnění a tvorba probíhá při sladování. Na kompletním souboru vzorků šesti odrůd ječmene doporučených pro výrobu Českého piva ze čtyř lokalit (pokusných stanic) byla provedena studie obsahu polyfenolových látek a antioxidační kapacity v laboratorních sladech připravených jednotným postupem. V laboratorní sladině byl stanoven obsah polyfenolových látek, redukční kapacita pomocí 2,6-dichlofenolindofenolu (RK-DCPI) a antiradikálová aktivita pomocí radikálu 1,1-difenyl 2-pikryl hydrazylu (ESR-DPPH). Výsledky ukázaly jak odrůdové rozdíly, tak významný vliv půdně klimatických podmínek lokality na sledované vlastnosti. Nejvyšší hodnoty celkových polyfenolů, flavanoidů a relativně nízký obsah anthokyanogenů (nejvyšší index polymerace) stejně jako nejvyšší hodnoty ESR-DPPH a RK-DCPI byly stanoveny pro odrůdu Aksamit. Odrůdy Blaník, Bojos a Advent byly z hlediska obsahu polyfenolových látek i redukčních vlastností srovnatelné. Pro starší odrůdu Tolar byl zjištěn relativně nízký obsah celkových polyfenolů a hodnot ESR-DPPH, ale naopak vysoká hodnota RK-DCPI. Nejnížší obsah a nejméně příznivá skladba polyfenolových látek i nejnižší hodnoty ESR-DPPH a RK-DCPI byly stanoveny pro odrůdu Radegast. Antiradikálový potenciál ESR-DPPH-ARP nejsilněji koreloval s obsahem celkových polyfenolů, RK-DCPI nejsilněji korelovala s obsahem flavanoidů ve sladině. Obsah polyfenolových látek ve sladině i jejich složení závisely na pěstební lokalitě. Relativně nejvyšší obsah anthokyanogenů byl zjištěn u sladů z lokality Krásné Údolí, relativně nejnižší pro lokalitu Stupice.

Mikyška, A. – Hartman, I. – Hašková, D.: Polyphenol compounds and antioxidative properties of barley varieties recommended for Czech beer. Kvasny Prum. 57, 2011, č. 7–8, p. 182–189.

Polyphenol compounds in malt affect the antioxidative activity, sensorial and colloidal stability of beer. Polyphenol antioxidants play an important role in the sensorial aging of beer and also in the beneficial effects of beer drinking. Barley is a primary source of water-soluble polyphenol antioxidants and other reducing compounds, which are released and/or formed during malting. A set of six barley varieties recommended for the production of Czech beer collected from four localities (experimental stations) was used to study the content of polyphenol compounds and antioxidative capacity of laboratory malts prepared by a standardized process. In laboratory worts, we determined the content of polyphenol compounds, reductive capacity by the procedure using 2,6-dichlorophenolindophenol (RC-DCPI) and antiradical activity by using the radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (ESR-DPPH). The results revealed varietal differences and a significant effect of soil and climatic conditions on the parameters under study. The highest values of total polyphenols, flavanoids and a relatively low content of anthocyanogens (the highest polymeration index), as well as the highest values of ESR-DPPH and RC-DCPI, were found in the variety Aksamit. The varieties Blaník, Bojos and Advent were comparable in terms of the content of polyphenol compounds and reducing properties. The older variety Tolar exhibited a relatively low content of total polyphenols and low ESR-DPPH values but a high value of RC-DCPI. The lowest content and the least convenient composition of polyphenol compounds, as well as the lowest values of ESR-DPPH a RC-DCPI were determined in the variety Radegast. The antiradical potential ESR-DPPH-ARP showed the strongest correlation with the content of total polyphenols, RC-DCPI correlated most closely with the content of flavanoids in the wort. The content and composition of polyphenolics in the wort were locality-dependent. The highest content of anthocyanogens was determined in malts from the locality Krásné Údolí, the lowest in the locality Stupice.

Mikyška, A. – Hartman, I. – Hašková, D.: Die Polyphenolstoffe mit Antioxidations-Eigenschaften der für die Herstellung des Bier-typen „Tschechisches Bier“ („České pivo“) empfohlenen Braugerstensorten. Kvasny Prum. 57, 2011, Nr. 7–8, S. 182–189.

Die Malzpolyphenolstoffe wirken auf die Antioxidationsaktivität, sensorische und kolloidale Stabilität des Bieres aus. Vom Gesichtspunkt der sensorischen Alterung des Bieres und auch aus der günstigen gesundheitlichen Sicht des Konsumenten beim Verbrauch sind die Polyphenol-Antioxidant sehr bedeutend. Die Gerste stellt ein Potential für die im Wasser lösliche Polyphenol-Antioxidante und für die weitere reduzierende Stoffe, ihre Auslösen und Bildung abläuft beim Malzen dar. Aus der kompletten Mustergruppe von sechs für die Herstellung des „Tschechischen Bieres“ empfohlenen Gerstensorten aus vier Lokalitäten (Versuchstationen) wurde unter Laborbedingungen eine Studie des Gehalts an Polyphenolstoffen und der Antioxidationskapazität im durch ein einheitliches Verfahren hergestellten Labormalz durchgeführt. In der Laborwürze wurde ein Gehalt an Polyphenolstoffen, durch 2,6-Dichlophenolindophenol (RK-DCPI) Reduktionskapazität und durch Radikal 1,1-Diphenyl 2-Pikryl Hydrazyl (ESR-DPPH) eine Anti-Radikalaktivität festgestellt. Die gewonnenen Resultate haben nicht nur auch die Sortenunterschiede, sondern auch einen bedeutenden Einfluß der Bodenklimatischenbedingungen der Lokalität auf die verfolgte Eigenschaften aufgewiesen. Der höchste Gehalt an gesamte Polyphenole, Flavanoide und relativ niedriger Gehalt an Anthokyanogene (der höchste Polymerisationsindex) und die höchste ESR-DPPH und RK-DCPI Werte wies die Gerstensorte Aksamit aus. Bei den anderen Gerstensorten Blaník, Bojos und Advent wurde der Gehalt an Polyphenolstoffen und Reduktionseigenschaften vergleichbar. Für die ältere Sorte Tolar wurde ein relativ niedrigerer Gehalt an gesamte Polyphenolstoffe und ESR-DPPH Werte aber ein hoher Gehalt an RK-DCPI Werte festgelegt. Für die Sorte Radegast wurden der niedrigste Gehalt, die ungünstigste Polyphenolzusammensetzung, die niedrigste ESR-DPPH und RK-DCPI Werte festgestellt. Das Antiradikalpotential hat am stärkste mit dem Gesamtpolyphenolgehalt korreliert, die RK-DCPI Werte haben am beste mit dem Flavanoidgehalt in der Süßwürze korreliert. Der Gehalt an Polyphenole in der Süßwürze und Polyphenolzusammensetzung waren abhängig von dem Anbaulokalität. Der relative höchste Gehalt an Anthokyanogene wurde im Malz aus der Lokalität Krásné Údolí und der relative niedrigste Gehalt an Anthokyanogene wurde im Malz aus der Lokalität Stupice festgestellt.

Klíčová slova: antioxidant, antiradikálová aktivita, odrůda ječmene, polyfenoly, slad

Keywords: antioxidants, antiradical activity, barley variety, polyphenols, malt

1 ÚVOD

Polyfenolové látky sladu [1, 2, 3, 4] i chmele [5, 6, 7, 8] mají vliv na antioxidační aktivitu a senzorickou stabilitu piva. V literatuře se uvádí, že přibližně 70 až 80 % polyfenolů piva pochází ze sladu, 20 až 30 % připadá na chmelové polyfenoly [9]. Antioxidační aktivita piva závisí jak na množství, tak skladbě polyfenolů [10,11].

Polyfenolové antioxidyanty jsou významné nejen z hlediska senzorického stárnutí piva, při konzumaci piva mohou mít příznivý vliv na zdraví. Polyfenolům jsou přisuzovány účinky antioxidační, antimutagenní, antikarcinogenní, antimikrobiální, antitrombotické, protizánětlivé, dále regulují krevní tlak a hladinu glukosy v krvi [12,13].

Senzorické stárnutí piva je způsobeno oxidativními změnami. Karbonylové látky staré chuti jsou tvořeny v řetězci radikálových reakcí, kde vznikají působením aktivních forem kyslíku na některé látky, jako jsou mastné kyseliny, aminokyseliny, vyšší alkoholy a sacharidy [14]. Průběh reakcí závisí na redukčním potenciálu reagujících látek v řetězci reakcí, některé polyfenoly mohou proto v některých reakcích působit jako prooxidyanty [15].

Polyfenoly mohou působit třemi mechanismy [16]: Jako lapače kyslíkových volných radikálů, reaktivních forem kyslíku (ROS). Jako inhibitory lipoxygenas, katalyzujících oxidaci mastných kyselin. Jako chelatační činidla omezující přenos kovových iontů, katalyzátorů oxidačních reakcí (železo, měď).

Polyfenolové látky ječmene jsou vázány v buněčných stěnách s proteiny a polysacharidy. Nacházejí se zejména v obalových částech obilky. Dělí se na dvě velké skupiny, flavonoidy a fenolové kyseliny. Flavonoidy jsou v přírodě nejrozšířenější skupinou polyfenolů, v současnosti je známo přibližně 9000 látek [17]. V pivovarských surovinách a pivu jsou některé skupiny těchto polyfenolů přítomny jak v monomerní, tak v polymerní formě. Fenolové kyseliny jsou děleny na skupinu derivátů kyseliny skořicové, v pivovarství nejznámější z nich je kyselina ferulová a deriváty kyseliny p-hydroxybenzoové [18]. Dle Boivina [1] obilka ječmene obsahuje 100 až 400 mg/kg polyfenolových látek, přibližně 80 % tvoří flavanoly, 13 % flavonoly, 5 % fenolové kyseliny a 2 % nepolární sloučeniny. Ječmen představuje potenciál pro ve vodě rozpustné polyfenolové antioxidyanty i další redukující látky. V průběhu klíčení ječmene dochází enzymovou činností k uvolňování polyfenolů, zastoupení jednotlivých frakcí vodou extrahovatelných polyfenolů v ječmeni a sladu je rozdílné [20]. Proto je z pivovarského hlediska důležité sledování obsahu a vlastností látek, které přecházejí ze sladu do roztoku v průběhu rmuťování. Dle specifikace analytických parametrů ležácké pivo s označením „České pivo“ musí obsahovat 130 až 230 mg/l celkových polyfenolů. Část polyfenolových látek sladiny je v průběhu chmelovaru, kvašení a zrání piva vyloučena z roztoku, další část je odstraněna koloidní stabilizací piva sorbenty polyfenolů. Obsah rozpustných polyfenolů ve sladu je tak nezanedbatelným faktorem pro kvalitu piva.

Cílem této studie je přinést další poznatky o antioxidační aktivitě, obsahu a skladbě polyfenolových látek ve sladech ze škály odrůd ječmene v současnosti doporučených pro výrobu Českého piva. Ve stati jsou uvedeny výsledky z roku 2010, v roce 2011 pokus pokračuje.

2 MATERIÁL A METODY

2.1 Ječmeny a slady

Studie českých odrůd ječmene z hlediska obsahu polyfenolových látek a antioxidační kapacity ve sladu byla provedena na kompletním souboru šesti odrůd doporučených pro výrobu Českého piva [20]: Advent, Aksamit, Blaník, Bojos, Radegast a Tolar. Vzorky ječmene ze sklizně 2010 pocházejí z pokusných stanic ve čtyřech lokalitách, z nichž tři (Pusté Jakartice, Stupice a Věrovany) jsou v řepařské výrobní oblasti, nejvhodnější pro pěstování sladovnického ječmene a jedna (Krásné Údolí) je v pšicínářské výrobní oblasti, nejméně vhodné pro sladovnický ječmen.

Ječmeny byly před sladováním skladovány po dobu šesti týdnů pro zajištění posklizňového dozrání. Slady byly připraveny v mikroskladovně VÚPS následujícím postupem: Máčení s odsáváním CO₂, délka namáček 1. den 4 hodiny, 2. den 6 hodin. Třetí den byl obsah vody ve vymáčeném ječmeni upraven namáčkou nebo dokropením tak, aby ječmen s obsahem bílkovin do 12,0 % obsahoval 45,0 % vody a ječmen s obsahem bílkovin nad 12,1 % obsahoval 46,5 % vody. Celková doba máčení a klíčení 6 dnů, teplota klíčení 14 °C. Hvozďení 22 hodin, předsušení 55 °C, dotahování 4 hodiny při 80 °C.

2.2 Analýzy

Stanovení klíčivosti a energie klíčení ječmene, extraktu sladu, rozdílu extraktu, barvy sladiny, Kolbachova čísla a friability bylo podle

1 INTRODUCTION

Polyphenol compounds of malt [1,2,3,4] and hop [5,6,7,8] affect the antioxidative activity and sensorial stability of beer. According to the literature some 70 to 80 % polyphenols in beer arrive from malt, 20 to 30 % are hop polyphenols [9]. Antioxidative activity of beer depends on both the amount and composition of polyphenols [10,11].

Polyphenol antioxidants exert significant effects on the sensorial aging of beer and contribute to the beneficial effects of beer drinking. They have been reported to exert antioxidative, antimutagenic, anti-carcinogenic, antimicrobial, antithrombotic, and antiinflammatory actions, regulate blood pressure and blood glucose level [12,13].

Sensorial aging of beer is caused by oxidative changes. Carbonyl compounds of stale taste arise in a sequence of radical reactions involving the action of reactive oxygen species on some substances such as fatty acids, amino acids, higher alcohols and saccharides [14]. The course of these reactions depends on the redox potential of the reactants in the sequence of reactions; some polyphenols can therefore in some reactions act as prooxidants [15].

Polyphenols can act via three mechanisms [16]: as quenchers of free oxygen radicals - reactive oxygen species (ROS) as inhibitors of lipooxygenases catalyzing the oxidation of fatty acids, and as chelating agents suppressing the transport of metal ions, which catalyze oxidative reactions (iron, copper).

Polyphenol compounds of barley are bound in cell walls with proteins and polysaccharides. They are localized chiefly in caryopsis coat. They can be divided into two large groups, flavonoids and phenolic acids. Flavonoids are the most widespread group of polyphenols in nature and their number is currently reaching about 9000 [17]. Some groups of these polyphenols are present in brewery raw materials and in beer in both monomeric and polymeric form. Phenolic acids contain the group of cinnamic acid derivatives. The best known acids in brewing are ferulic acid and derivatives of p-hydroxybenzoic acid [18]. According to Boivin [1] the barley caryopsis contains 100 to 400 mg/kg polyphenolic compounds, out of which some 80 % are formed by flavanols, 13 % flavonols, 5 % phenolic acids and 2 % non-polar compounds. Barley is the primary source of water-soluble polyphenol antioxidants and other reducing substances. In the course of barley germination enzyme activities bring about the release of polyphenols; the proportions of individual fractions of water-extractable polyphenols in barley and malt are different [Dvořáková et al. 2008]. An important tenet of brewing industry is the monitoring of the content and properties of compounds that are transferred from malt into the solution during mashing. Based on the specification of analytical parameters the lager beer denoted "Czech beer" has to contain 130 to 230 mg/l total polyphenols. During wort boiling, fermentation and beer maturation, part of the wort polyphenolics is excluded from the solution and another part is removed during the colloidal stabilization of beer by polyphenol sorbents. The content of soluble polyphenols in malt is thus a factor important for beer quality.

This study aims at bringing new data on the antioxidative activity, content and composition of polyphenol compounds in malts prepared from a set of barley varieties recommended for production of Czech beer. The results are from 2010 and the experiments are continuing also in 2011.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Barleys and malts

The content of polyphenol compounds and antioxidative activity of malt were examined in a set of six varieties of barley recommended for the production of Czech beers [20]: Advent, Aksamit, Blaník, Bojos, Radegast and Tolar. Barley samples from the 2010 harvest were obtained from experimental stations in four localities. Three of these localities (Pusté Jakartice, Stupice and Věrovany) are in the sugar beet production area, which is most suitable for growing malting barley, the fourth (Krásné Údolí) is located in a fodder growing area, which is the least convenient for growing malting barley.

Prior to malting, the barley samples were stored for six weeks to ensure after-harvest ripening. The malts were prepared in the RIBM micromalting plant as follows: Steeping with CO₂ exhaustion, duration of steeping periods on 1st day 4 hours, on 2nd day 6 hours. On day 3 the water content in the steeped barley was adjusted by post-steeping or spraying so that barley with protein content up to 12.0 % should contain 45.0 % water and barley with protein content above 12.1 % should contain 46.5 % water. The total steeping and germination time

Analytiky EBC [21]. Hodnota relativního extraktu při 45 °C byla stanovena podle metodiky MEBAK [22]. Pro hodnocení polyfenolových látek a antioxidačních vlastností byla ze sladů připravena sladina kongresním postupem rmutování s navážkou sladového šrotu zvýšenou z 50 g na 60 g. Celkové polyfenoly a flavanoidy byly stanoveny podle Analytiky EBC [21], obsah anthokyanogenů byl analyzován postupem podle Pivovarsko-sladařské analytiky [23].

Pro hodnocení redukční (antioxidační, antiradikálové) schopnosti je používána řada chemických metod založených na redukci specifického činidla. Každá z metod stanovuje poněkud odlišné spektrum antioxidantů v závislosti na hodnotě redukčního potenciálu činidla. Pro hodnocení sladů jsme použili dvě často citované metody, stanovení pomocí 2,6-dichlofenolindofenolu (RK-DCPI) a stanovení pomocí volného radikálu 1,1-difenyl 2-pikryl hydrazylu (ESR-DPPH). Redukční kapacita RK-DCPI (redukční potenciál -0,67 V) zahrnuje podle literatury zejména cukerné reduktony a melanoidiny, zatímco antiradikálová aktivita ESR-DPPH (redukční potenciál -1,2 V) detekuje zejména pomalu redukující látky, především polyfenoly [2]. Hodnota RK-DCPI byla měřena spektrofotometrickou metodou podle analytiky MEBAK [22]. Stanovení ESR-DPPH elektronovou spinovou rezo-

was 6 days, germination temperature 14 °C. Darrening 22 hours, pre-drying at 55 °C, kilning 4 hours at 80 °C.

2.2 Analyses

Germinating ability and germination power of barley, malt extract, extract difference, wort color, Kolbach index and friability were determined according to Analytica EBC [21]. The relative extract value at 45 °C was determined according to MEBAK [22] methodology. For assessing polyphenol compounds and antioxidative properties, the malts were used to prepare wort by congress mashing with grist increased from 50 g to 60 g. Total polyphenols and flavanoids were determined according to [21], the content of anthocyanogens was analyzed according to Brewing and Malting Analytics [23].

The reductive (antioxidative, antiradical) capacity is determined by a number of chemical methods based on the reduction of a specific agent. Each of the methods determines a somewhat different spectrum of antioxidants depending on the redox potential of the agent. Two frequently cited methods were used for evaluating the malts, namely the determination using 2,6-dichlorophenolindophenol (RC-DCPI) and the method using the free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (ESR-

Tab. 1 Vybrané výsledky rozboru ječmenů a sladů / Selected results of barley and malt analyses

Odrůda / Variety		Advent	Aksamit	Blaník	Bojos	Radegast	Tolar
Pusté Jakartice (PUJ)							
Klíčivá energie / Germination power 4 ml	(%)	99.5	94.0	98.0	99.5	99.0	98.5
Klíčivá energie / Germination power 8 ml	(%)	68.0	63.5	79.5	61.0	44.0	36.5
Klíčivost / Germination capacity (H ₂ O ₂)	(%)	99.8	99.5	100.0	99.8	99.0	99.0
Extrakt sladu / Malt extract	(%)	82.3	82.7	82.8	82.5	83.6	82.0
Rozdíl extraktu / Extract difference DLFU	(%)	1.1	1.2	1.6	1.1	1.7	1.4
Barva / Color EBC	(j.)	3.9	5.6	4.4	4.2	3.9	3.7
Rel. extrakt / Rel. extract 45 °C	(%)	38.5	47.4	41.6	42.7	43.7	39.5
Kolbachovo číslo / Kolbach index	(%)	44.6	50.0	51.2	50.9	51.1	47.1
Friabilita / Friability	(%)	90.1	85.0	86.5	89.0	80.9	86.0
Stupice (STU)							
Klíčivá energie / Germination power 4 ml	(%)	98.0	99.0	97.0	99.5	97.5	98.0
Klíčivá energie / Germination power 8 ml	(%)	85.5	81.0	87.0	91.0	63.5	78.5
Klíčivost / Germination capacity (H ₂ O ₂)	(%)	99.5	98.3	97.5	98.5	99.5	98.0
Extrakt sladu / Malt extract	(%)	82.3	81.9	81.7	81.3	82.9	80.7
Rozdíl extraktu / Extract difference DLFU	(%)	1.7	1.7	1.5	1.5	1.4	2.1
Barva / Color EBC	(j.)	2.8	2.8	2.7	2.7	2.7	2.7
Rel. extrakt / Rel. extract 45 °C	(%)	35.5	32.4	32.3	32.5	35.5	31.0
Kolbachovo číslo / Kolbach index	(%)	37.2	37.3	39.0	41.7	46.4	36.7
Friabilita / Friability	(%)	82.2	80.6	80.7	85.0	79.6	80.9
Věrovany (VER)							
Klíčivá energie / Germination power 4 ml	(%)	98.0	99.0	97.0	99.5	97.5	98.0
Klíčivá energie / Germination power 8 ml	(%)	85.5	81.0	87.0	91.0	63.5	78.5
Klíčivost / Germination capacity (H ₂ O ₂)	(%)	99.5	98.3	97.5	98.5	99.5	98.0
Extrakt sladu / Malt extract	(%)	81.3	81.1	81.5	80.7	81.4	79.6
Rozdíl extraktu / Extract difference DLFU	%	1.2	1.3	1.3	1.1	0.9	1.3
Barva / Color EBC	(j.)	2.9	2.6	2.8	2.7	2.7	2.7
Rel. extrakt / Rel. extract 45 °C	(%)	39.0	35.9	35.7	36.1	37.9	35.2
Kolbachovo číslo / Kolbach index	(%)	42.4	38.9	43.5	44.8	47.2	41.1
Friabilita / Friability	(%)	79.9	76.9	79.0	82.3	75.4	82.1
Krásné Údolí (KUD)							
Klíčivá energie / Germination power 4 ml	(%)	90.0	68.5	85.5	91.0	70.5	80.5
Klíčivá energie / Germination power 8 ml	(%)	30.0	14.0	44.0	37.5	9.5	8.5
Klíčivost / Germination capacity (H ₂ O ₂)	(%)	99.8	99.5	97.5	99.0	96.8	97.5
Extrakt sladu / Malt extract	(%)	80.9	80.9	82.6	81.5	82.1	80.6
Rozdíl extraktu / Extract difference DLFU	%	1.5	2.1	1.5	1.4	3.1	2.2
Barva / Color EBC	(j.)	2.9	2.7	2.7	2.7	2.8	2.9
Rel. extrakt / Rel. extract 45 °C	(%)	35.3	32.5	36.3	34.6	34.4	33.8
Kolbachovo číslo / Kolbach index	(%)	40.8	40.2	46.1	46.5	40.2	39.7
Friabilita / Friability	(%)	78.8	72.6	84.1	89.3	73.0	82.0

nanční spektrometrií bylo provedeno metodou vypracovanou na VÚPS [24]. Vypočteny jsou následující parametry: ARA1 (%) – antiradikálová aktivita 1, úbytek hodnoty DPPH po 1 minutě reakce. ARA2 (%) – antiradikálová aktivita 2, úbytek hodnoty DPPH po 10 minutách reakce. ARP (%) – Antiradikálový potenciál. Integrovaná plocha úbytku hodnoty DPPH od počátku do 10 minut reakce.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Klíčivost byla vyrovnaná na všech lokalitách. Vzorky ječmene z lokalit Věrovany, Krásné Údolí a Pusté Jakartice měly nižší klíčivou energii v 8 ml, ovšem bez výraznějšího vlivu na vlastnosti vyrobeného sladu ve srovnání s lokalitou Stupice. Slad vyrobený ze vzorků lokality Pusté Jakartice měl vyšší stupeň proteolytického i cytolytického rozluštění (vyšší hodnoty relativního extraktu při 45 °C, Kolbachova čísla a friability). Odlišnost této lokality v kvalitativních ukazatelích sladu, může být způsobena agrometeorologickými podmínkami stanoviště v průběhu dozrávání a jejich vlivu na strukturu endospermu obilky. To mohlo být příčinou vyššího rozluštění při sladování.

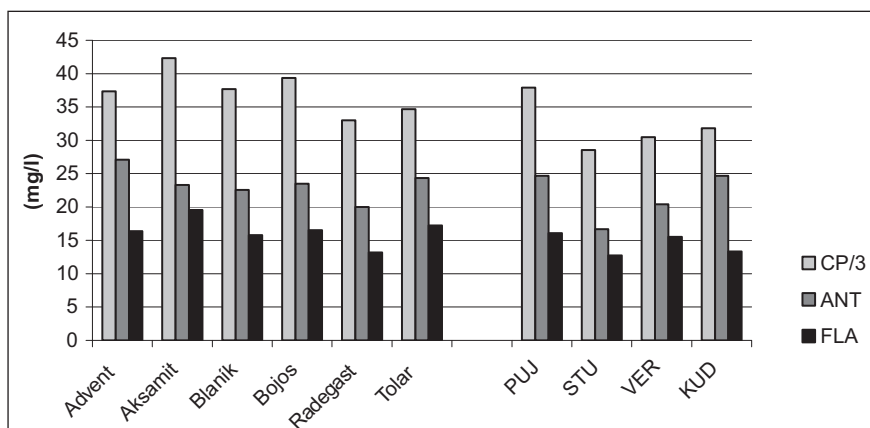
Meziodrůdové rozdíly v klíčivosti byly rovněž nevýrazné. U odrůd Radegast, Tolar a Aksamit byly v porovnání se zbývajícími odrůdami zaznamenány nižší hodnoty klíčivé energie v 8 ml. Slad z těchto odrůd měl vyšší rozdíl extraktu v jemném a hrubém mletí, tzn. nižší cytolytické rozluštění a u odrůd Radegast a Aksamit i nižší hodnoty friability.

Obsah celkových polyfenolů ve sladinách se pohyboval v rozmezí 74 až 124 mg/l. Variabilita obsahu anthokyanogenů a flavanoidů byla ještě vyšší, hodnoty se pohybovaly v rozpětí 10,6 až 25,5 mg/l respektive 8,3 až 18,6 mg/l.

Výsledky rozboru sladů připravených jednotným postupem sladování ukázaly rozdílnou proteolytickou, sacharolytickou i cytolytickou modifikaci pro ječmeny pocházející z různých pěstebních lokalit. Friability, Kolbachovo číslo, extrakt sladu i relativní extrakt při 45 °C sladů z lokality Pusté Jakartice byly v porovnání s ostatními lokalitami výrazně vyšší (tab. 1). U sladů připravených z ječmenů z této lokality byl stanoven i vyšší průměrný obsah celkových polyfenolů, anthokyanogenů a flavanoidů ve sladinách (tab. 2, obr. 1). Nejnižší průměrný obsah sledovaných skupin polyfenolových látek ve sladinách byl stanoven pro lokalitu Stupice, slady z ječmenů pocházejících z této lokality měly nejnižší hodnoty Kolbachova čísla a relativního extraktu při 45 °C. Slady z ječmenů odrůd Aksamit, Blaník, Bojos a Radegast pocházejících z lokality Stupice měly výrazně vyšší hodnotu poměru obsahu celkových polyfenolů a anthokyanogenů ve sladině, indexu polymerace (IP = 6,3 až 7,2), naproti tomu nejnižší hodnota byla zjištěna pro slady z lokality Krásné Údolí (průměr všech odrůd IP=3,7). Tato lokalita leží v pícninářské produkční oblasti s drsnějšími klimatickými podmínkami. Leukoanthokyanidiny a katechiny jsou látky, které v rostlinách mají různé, například ochranné funkce. „Celkové polyfenoly“ jsou látky schopné redukovat železitě ionty a zahrnují širokou skupinu látek od fenolových kyselin po složité struktury.

Obsah celkových polyfenolů ve sladině přímo úměrně koreloval s hodnotami Kolbachova čísla, relativního extraktu při 45 °C a friability.

Obr. 1 Vliv odrůdy ječmene a pěstební lokality na obsah polyfenolových látek ve sladině / Fig. 1 Effect of barley variety and growing locality on the content of polyphenol compounds in wort



legenda / legend:

PUJ – Pusté Jakartice, STU – Stupice, VER – Věrovany, KUD – Krásné Údolí

CP – celkové polyfenoly / total polyphenols, ANT – anthokyanogeny / anthocyanogens, Fla – flavanoidy / flavanoids

DPPH). According to the literature, the reducing capacity C-DCPI (redox potential -0,67 V) covers chiefly sugar reductones and melanoidins, whereas the ESR-DPPH antiradical activity assay (redox potential -1,2 V) detects mostly slowly reducing compounds, especially polyphenols [2]. The RC-DCPI value was measured spectrophotometrically according to MEBAK [22]. ESR-DPPH was determined by electron spin resonance assay using the method developed at RIBM [24]. The following parameters were computed: ARA1 (%) – antiradical activity 1, decrease in the DPPH value after 1-min reaction; ARA2 (%) – antiradical activity 2, decrease in the DPPH value after 10-min reaction; ARP (%) – antiradical potential, i.e. total area of DPPH value drop from the onset of the 10-min reaction.

3 RESULTS AND DISCUSSION

Germination capacity of barley samples was about equal in all localities. Samples from Věrovany, Krásné Údolí and Pusté Jakartice showed a lower germination power in 8 ml than those from Stupice, yet without any marked effects on the properties of the produced malt. The malt prepared from Pusté Jakartice samples had a higher degree of proteolytic and cytolytic modification (higher values of relative extract at 45 °C, Kolbach index and friability). The difference in these malt quality parameters from this locality can be due to soil and climatic conditions at the site during ripening and to their effect on the structure of caryopsis endosperm. This could give rise to the higher modification during malting.

Intervarietal differences in germination capacity were likewise not significant. Relative to the other varieties, the varieties Radegast, Tolar and Aksamit exhibited lower germination power in 8 ml. The malt from these varieties had a higher extract difference between fine and coarse milling in fine and coarse grind, i.e. lower cytolytic modification; Radegast and Aksamit evinced also lower friability.

The content of total polyphenols in worts was in the range of 74 to 124 mg/l. The variability in the content of anthocyanogens and flavanoids was even higher, the respective ranges being 10.6–25.5 mg/l and 8.3–18.6 mg/l.

The results of analysis of malts prepared by a unified malting procedure pointed to differences in proteolytic, saccharolytic and cytolytic modification for barley samples from different localities. Malts from Pusté Jakartice showed markedly higher friability, Kolbach index, malt extract and relative extract at 45 °C than those from the other localities (Tab. 1). They also exhibited higher mean content of total polyphenols, anthocyanogens and flavanoids in worts (Tab. 2, Fig. 1). The lowest mean content of these groups of polyphenol compounds in worts was determined for the Stupice locality; malts from barley samples from this locality had the lowest values of Kolbach index and relative extract at 45 °C. Malts from Aksamit, Blaník, Bojos and Radegast barley varieties grown in Stupice exhibited significantly higher values of the wort ratio of total polyphenols to anthocyanogens, polymeration index (IP = 6.3–7.2). On the other hand, the highest IP value was determined for malts from Krásné Údolí (mean IP for all varieties 3.7). This locality is in a fodder growing region with a harsher climate. Leukoanthocyanidins and catechins are compounds with diverse, mostly protective, functions in plants. "Total polyphenols" are compounds capable of reducing ferric ions and comprise a broad range of compounds from phenolic acids to compounds with complex structures.

The content of total polyphenols in wort directly correlated with the Kolbach index, relative extract at 45°C and friability. The content of flavanoids correlated only with the value of relative extract at 45°C while anthocyanogens did not show any significant relationship to the parameters of proteolytic and a cytolytic modification (Tab. 3). It is therefore likely that the increasing modification of the caryopsis during germination affects chiefly the content of simple polyphenols from the group of phenolic acids while the content of flavonoids in wort is affected to a lesser extent.

The highest mean malt content of total polyphenols was found in the variety Aksamit, followed by Bojos, Blaník, Advent, Tolar and Radegast. Though the content of total polyphenols, anthocyanogens and flavanoids in worts prepared from most varieties was 20–30 % depending on geographical origin, some varietal differences were found (Tab. 4). The

Obsah flavanoidů koreloval pouze s hodnotou relativního extraktu při 45 °C a pro anthokyanogeny nebyl stanoven významný vztah k parametřům proteolytického a cytolytického rozluštění (tab. 3). Je tak pravděpodobné, že rostoucím rozluštěním obilky při klíčení je ovlivněn zejména obsah jednoduchých polyfenolů ze skupiny fenolových kyselin a v menší míře obsah flavonoidů ve sladině.

Nejvyšší průměrný obsah celkových polyfenolů byl zjištěn u sladů z odrůdy Aksamit, následovaly odrůdy Bojos, Blaník, Advent, Tolar a Radegast. Přes to, že u většiny odrůd byl v závislosti na původu ječmene stanoven obsah celkových polyfenolů, anthokyanogenů i flavanoidů ve sladině v rozpětí přibližně 20 až 30 %, byly prokázány odrůdové rozdíly (tab. 4). Nejmenší odrůdový vliv byl stanoven pro anthokyanogeny, jejich obsah ve sladině byl ze 70 % ovlivněn původem ječmene a pouze z 11 % odrůdou. Podstatně vyšší měrou byl odrůdou ovlivněn obsah celkových polyfenolů (38 %) a flavanoidů (47 %) ve sladině. Pod označením „vliv lokality“ jsou v tomto případě zahrnuty jak půdně klimatické podmínky, tak fyziologický stav obilky ječmene při sladování.

Polyfenolové látky jsou základními stavebními kameny buněčných struktur obilky ječmene. Je zřejmé, že vedle genetické dispozice ječ-

least effect of variety was found with anthocyanogens, whose content in wort was affected from 70 % by the origin of the barley and from a mere 11 % by the variety. The effect of variety on total polyphenols and flavanoids in wort was substantially higher (38 % and 47 %, respectively). The term “effect of locality” covers both the soil and climatic conditions and the physiological state of the barley caryopsis during malting.

Polyphenolics are basic building blocks of cellular structures of barley caryopsis. In addition to the genetic features of the barley, the content and composition of polyphenol compounds, which are transferred to wort during mashing, is obviously significantly affected by soil and climatic conditions and the physiological state of the barley caryopsis during malting.

Among the tested varieties, the highest content of total polyphenols and flavanoids was found in the variety Aksamit. This variety also showed the lowest relative proportion of anthocyanogens and the highest value of polymeration index (mean IP = 5.4). Except for the barley samples from Pusté Jakartice, the high polyphenol content was achieved at a proteolytic modification that does not exceed the limit set for malts for the production of Czech beer according to the

Tab. 2 Výsledky stanovení polyfenolových látek a redukčních vlastností ve sladině / Polyphenol compounds and reductive properties in wort

Odrůda / Variety		Advent	Aksamit	Blaník	Bojos	Radegast	Tolar
Pusté Jakartice (PUJ)							
Extrakt / Extract	(% hm.)	10.56	10.67	10.58	10.53	10.76	10.55
Celkové polyfenoly / Total polyphenols	(mg/l)	103	124	109	118	92	91
Anthokyanogeny / Anthocyanogens	(mg/l)	24.0	24.0	20.3	25.2	19.7	18.2
Index polymerace / Polymeration index		4.3	5.2	5.4	4.7	4.7	5
Flavanoidy / Flavanoids	(mg/l)	14.5	18.6	14.8	16.2	12.3	13.1
RK-DCPI / RC-DCPI	(%)	15	17	15	16	13	14
ESR-DPPH ARA1	(%)	18.3	20.9	20.8	20.6	16.3	18.7
ARA2	(%)	36.8	41.9	41.5	41.0	33.7	36.4
ARP	(%)	27.1	30.6	30.5	30.1	24.3	26.9
Stupice (STU)							
Extrakt / Extract	(% hm.)	10.29	10.45	10.55	10.4	10.61	10.33
Celkové polyfenoly / Total polyphenols	(mg/l)	82	93	80	84	74	79
Anthokyanogeny / Anthocyanogens	(mg/l)	19	12.9	12.6	12.4	10.6	17.9
Index polymerace / Polymeration index		4.3	7.2	6.3	6.8	7	4.4
Flavanoidy / Flavanoids	(mg/l)	11.6	12.8	9.6	10.4	8.3	14.8
RK-DCPI / RC-DCPI	(%)	11	15	12	12	11	16
ESR-DPPH ARA1	(%)	13.9	17.2	15.1	15.7	11.3	13.7
ARA2	(%)	27.2	32.5	29.0	30.9	24.6	26.5
ARP	(%)	20	24.2	21.5	22.8	17.8	19.7
Věrovany (VER)							
Extrakt / Extract	(% hm.)	10.39	10.36	10.41	10.29	10.48	10.31
Celkové polyfenoly / Total polyphenols	(mg/l)	91	96	90	99	81	80
Anthokyanogeny / Anthocyanogens	(mg/l)	21.2	18.5	19.2	21	19.2	17.3
Index polymerace / Polymeration index		4.3	5.2	4.7	4.7	4.2	4.6
Flavanoidy / Flavanoids	(mg/l)	15.8	17.7	15.9	16.8	13.8	14.2
RK-DCPI / RC-DCPI	(%)	15	14	13	16	14	15
ESR-DPPH ARA1	(%)	15.9	13.4	14.2	13.9	12.9	13.6
ARA2	(%)	31.3	28.2	28.9	28.8	26.3	27.4
ARP	(%)	23.2	20.5	21.2	21.0	19.2	20.3
Krásné Údolí (KUD)							
Extrakt / Extract	(% hm.)	10.44	10.35	10.38	10.28	10.46	10.31
Celkové polyfenoly / Total polyphenols	(mg/l)	89	101	93	86	75	86
Anthokyanogeny / Anthocyanogens	(mg/l)	25.1	24.9	25.5	22.9	19.8	26.1
Index polymerace / Polymeration index		3.5	4.1	3.6	3.8	3.8	3.3
Flavanoidy / Flavanoids	(mg/l)	12	16.4	13.3	12.3	10.1	12.1
RK-DCPI / RC-DCPI	(%)	15	16	15	15	11	19
ESR-DPPH ARA1	(%)	18	17.7	17.2	16.6	14.6	15.4
ARA2	(%)	33.1	32.9	33.4	31.6	28.6	28.6
ARP	(%)	25.0	24.7	24.8	23.6	21.1	21.4

Tab. 3 Korelační koeficienty vztahu vybraných analytických parametrů sladu, obsahu polyfenolových látek a redukčních vlastností sladin (n = 24) / Correlation coefficients of relationships of selected malt analytical parameters, content of polyphenolics and reductive properties of worts (n = 24)

	ARP	DCPI	CP	A	F	RE45	KC	FRI	BAR
ARP	1	0.521 ^b	0.851 ^b	0.480 ^a	0.395 ^a	0.663 ^b	0.589 ^b	0.561 ^b	0.826 ^b
DCPI	0.521 ^b	1	0.660 ^b	0.607 ^b	0.749 ^b	0.259	0.229	0.287	0.371
CP	0.851 ^b	0.660 ^b	1	0.529 ^b	0.725 ^b	0.693 ^b	0.545 ^b	0.427 ^a	0.786 ^b
A	0.480 ^a	0.607 ^b	0.529 ^b	1	0.499 ^b	0.354	0.288	0.169	0.327
F	0.395 ^a	0.749 ^b	0.725 ^b	0.499 ^b	1	0.418 ^a	0.215	0.071	0.391 ^a
RE45	0.663 ^b	0.259	0.693 ^b	0.354	0.418 ^a	1	0.828 ^b	0.401	0.870 ^b
KC	0.589 ^b	0.229	0.545 ^b	0.288	0.215	0.828 ^b	1	0.485 ^a	0.678 ^b
FRI	0.561 ^b	0.287	0.427 ^a	0.169	0.071	0.401 ^a	0.485 ^a	1	0.495 ^b
BAR	0.826 ^b	0.371	0.786 ^b	0.327	0.391 ^a	0.870 ^b	0.678 ^b	0.495 ^b	1

a významné na hladině $p < 0,05$ / significant at $p < 0.05$ levelb významné na hladině $p < 0,01$ / significant at $p < 0.01$ level

ARP redukční aktivita ESR-DPPH / antiradical activity ESR-DPPH

DCPI redukční kapacita DCPI / reducing capacity DCPI

CP celkové polyfenoly / total polyphenols

A anthokyanogeny / anthocyanogens

F flavanoidy / flavanoids

RE45 relativní extrakt / relative extract 45 °C

KC Kolbachovo číslo / Kolbach index

FRI friabilita / friability

BAR barva sladiny / wort color

mene je obsah a složení polyfenolových látek, které přecházejí do sladiny při rmutování, významně ovlivněn půdně klimatickými podmínkami při vegetaci a fyziologickým stavem obilky ječmene při sladování.

Z testovaných odrůd byl nejvyšší obsah celkových polyfenolů a flavanoidů zjištěn pro odrůdu Aksamit. Pro tuto odrůdu bylo zjištěno i nejnižší relativní zastoupení anthokyanogenů, nejvyšší hodnota indexu polymerace (průměr IP = 5,4). Vysoký obsah polyfenolů byl, s výjimkou ječmene z lokality Pusté Jakartice, dosažen při proteolytickém rozluštění nepřesahujícím hranici pro slady k výrobě Českého piva dle CHZO (Kolbachovo číslo < 42). Na druhém konci škály obsahu polyfenolových látek byly slady z ječmenů odrůdy Radegast. Pro starší odrůdu Tolar byl zjištěn nízký průměrný obsah celkových polyfenolů, na úrovni sladů z odrůdy Radegast. Obsahem flavanoidů a anthokyanogenů se odrůda Tolar řadila k odrůdám Blaník, Bojos a Advent (obr. 1, tab. 4).

Redukční kapacita DCPI sladin byla v rozpětí 11 až 19 %. Nejnižší průměrná hodnota byla u sladů připravených z ječmenů z lokality Stupice. Slady z ostatních tří lokalit se z hlediska hodnot RK-DCPI nelišily (obr. 2, tab. 4). Průměrné hodnoty pro jednotlivé odrůdy stoupaly v pořadí Radegast, Blaník, Advent, Bojos, Aksamit a Tolar. Významný rozdíl byl zjištěn pouze mezi odrůdou Radegast a odrůdami Bojos, Aksamit a Tolar. Míra vlivu odrůdy na hodnotu RK-DCPI ve sladině (39 %) byla vyšší nežli míra vlivu lokality (22 %).

Redukční kapacita sladin nebyla přímo závislá na míře proteolytického a cytolytického rozluštění, hodnoty RK-DCPI nekorelovaly s Kolbachovým číslem, relativním extraktem při 45 °C ani friabilitou (tab. 3).

Protected Geographical Indication (Kolbach index < 42). The lowest content of polyphenol compounds was found in malts from the variety Radegast. The older variety Tolar featured a low mean content of total polyphenols, about equal to that in Radegast, while its content of flavanoids and anthocyanogens was near those found in Blaník, Bojos and Advent (Fig. 1, Tab. 4).

The DCPI reductive capacity of worts was 11–19 %. The lowest average value was found in malts prepared from Stupice barley. The malts from the other three localities did not differ in RC-DCPI (Fig. 2, Tab. 4). The mean values for individual varieties increased in the sequence Radegast < Blaník < Advent < Bojos < Aksamit < Tolar. A significant difference was found only between the variety Radegast and varieties Bojos, Aksamit and Tolar. The extent of the effect of variety on the RC-DCPI value in wort (39 %) was higher than the effect of locality (22 %).

The reductive capacity of worts was not directly dependent on the degree of proteolytic and cytolytic modification, the values of RC-DCPI did not correlate with Kolbach index, relative extract at 45 °C or friability (Tab. 3). Relatively strong correlations, at the $p < 0.01$ significance level, were determined for the relationship between RC-DCPI and the content of polyphenols. The highest correlation coefficient was determined for flavanoids the content of which in wort dependent to a large extent (47 %) on barley variety. The weakest dependence was established for anthocyanogens with the lowest degree of vas nejmenší měrou odrůdového vlivu (11 %).

These data can provide the basis for assessing the varietal depen-

Tab. 4. Míra vlivu odrůdy a původu ječmene na polyfenolové látky a redukční vlastnosti sladin / Effect of barley variety and origin on wort polyphenol compounds and reductive properties

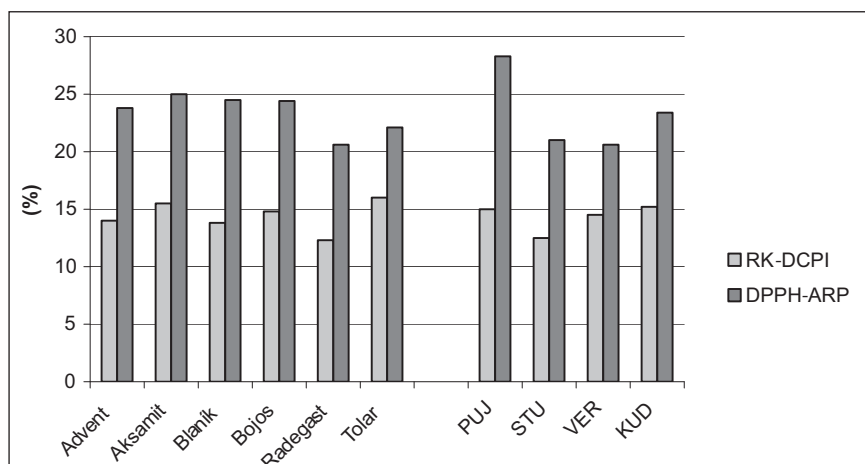
Parametr / Parameter							Vliv / Effect (%)
Celkové polyfenoly / Total polyphenols							
Lokalita / Locality	STU	KUD	VER	PUJ			52
Odrůda / Variety	RAD	TOL	ADV	BLA	BOJ	AKS	38
Anthokyanogeny / Antocyanogens							
Lokalita / Locality	STU	VER	KUD	PUJ			70
Odrůda / Variety	RAD	BLA	TOL	AKS	BOJ	ADV	11
Flavanoidy / Flavanoids							
Lokalita / Locality	STU	KUD	PUJ	VER			35
Odrůda / Variety	RAD	BLA	ADV	TOL	BOJ	AKS	47
RK-DCPI							
Lokalita / Locality	STU	VER	KUD	PUJ			22
Odrůda / Variety	RAD	BLA	ADV	BOJ	AKS	TOL	39
DPPH-ARP							
Lokalita / Locality	VER	STU	KUD	PUJ			71
Odrůda / Variety	RAD	TOL	ADV	BOJ	BLA	AKS	19

legenda / legend:

PUJ – Pusté Jakartice, STU – Stupice, VER – Věrovany, KUD – Krásné Údolí

ADV – Advent, AKS – Aksamit, BLA – Blaník, BOJ – Bojos, TOL – Tolar

Obr. 2 Vliv odrůdy ječmene a pěstební lokality na redukční vlastnosti sladiny / Fig. 2 Effect of barley variety and growing locality on the reductive properties of wort



legenda / legend:

PUJ – Pusté Jakartice, STU – Stupice, VER – Věrovany, KUD – Krásné Údolí

RK-DCPI – redukční kapacita / reduction capacity (2,6-dichlofenolindofenol)

DPPH-ARP – antiradikálový potenciál / antiradical potential

Poměrně silné korelace, na hladině pravděpodobnosti $p < 0,01$ byly zjištěny pro vztah RK-DCPI a obsahu polyfenolových látek. Nejvyšší korelační koeficient byl stanoven pro flavanoidy, jejichž obsah ve sladině závisel ve značné míře (47 %) na odrůdě ječmene. Nejslabší závislost byla pro anthokyanogeny s nejmenší měrou odrůdového vlivu (11 %).

Z diskutovaných poznatků je možno vyvodit jak odrůdovou závislost hodnot RK-DCPI (míra vlivu odrůdy pro studovaný soubor sladů byla vysoká, 39 %), i vztah k obsahu flavanoidů s redukčními vlastnostmi. Odrůdy Tolar a Aksamit s nejvyššími hodnotami RK-DCPI měly i nejvyšší obsah flavanoidů. Polyfenoly stanovené jako „flavanoidy“ reakcí s činidlem p-dimethylaminocinnamaldehydem jsou flavan-3-oly (katechiny).

Stanovený antiradikálový potenciál sladin (DPPH-ARP) byl pro jednotlivé sladiny v rozpětí 17,8 až 30,6 %. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny pro slady z ječmenů z lokality Pusté Jakartice, následovala lokalita Krásné Údolí. Nejmenší hodnoty byly zjištěny pro lokality Stupice a Věrovany (obr. 2, tab. 4). Nejvyšší antiradikálový potenciál byl naměřen u sladin ze sladů z ječmenů odrůd Aksamit, Blaník, Bojos a Advent. V sestupné řadě následovaly odrůdy Tolar a Radegast.

Hodnoty DPPH-ARP testovaného souboru sladů byly velmi významně ovlivněny lokalitou (71 %) a v menší míře odrůdou (19 %). Antiradikálový potenciál sladin silně přímo úměrně koreloval s hodnotami obsahu celkových polyfenolů ($p < 0,01$), slabší vztah na hladině pravděpodobnosti $p < 0,05$ byl zjištěn pro obsah anthokyanogenů a flavanoidů (tab. 3). Jak bylo uvedeno výše, obsah celkových polyfenolů ve sladině závisel na míře proteolytického a cytolytického rozluštění, která byla vázána na lokalitu (fyziologický stav ječmene). To vysvětluje i větší zjištěný vliv lokality na antiradikálový potenciál sladin.

Antiradikálová aktivita „rychlých reduktónů“ (DPPH-ARA 1) sladin ze všech odrůd s výjimkou odrůdy Radegast mírně převyšovala antiradikálovou aktivitu „pomalých reduktónů“ (rozdíl hodnot DPPH-ARA2 a ARA1), slabý trend k vyššímu podílu ARA1 byl patrný u odrůd Advent a Tolar (obr. 3). Z pohledu lokality byl vyšší příspěvek „rychlých reduktónů“ zaznamenán u sladů z ječmenů pocházejících z Krásného Údolí. Tato lokalita se obdobně jako odrůdy Advent a Tolar vyznačovala relativně vysokým obsahem anthokyanogenů, tj. nízkým indexem polymerace. Z toho je možno usoudit na schopnost části látek stanovených jako anthokyanogeny (tj. leukoanthokyanidiny a katechiny) rychle redukovat volný radikál DPPH.

Antiradikálový potenciál sladin koreloval s hodnotou RK-DCPI na hladině pravděpodobnosti $p < 0,01$. Z toho plyne, že část ze spektra reduktónů sladiny je stanovena oběma metodami. Je pravděpodobné, že RK-DCPI zahrnuje část flavanoidních polyfenolových reduktónů a k hodnotě DPPH-ARP přispívají jak reduktóny ze skupiny flavonoidů, tak ze skupiny fenolických kyselin.

dence of RC-DCPI values (the effect of variety on the malt set under study was high, 39 %) as well as the relationship of flavanoid content to reducing properties. The varieties Tolar and Aksamit with the highest RC-DCPI values were also those with the highest content of flavanoids. Polyphenols determined as „flavanoids“ in the reaction with p-dimethylaminocinnamaldehyde are flavan-3-ols (catechins).

The wort antiradical potential (DPPH-ARP) was in the range of 17.8–30.6 % for individual wort components. The highest values were found with malts from Pusté Jakartice, followed by Krásné Údolí. The lowest values belonged to localities Stupice and Věrovany (Fig. 2, Tab. 4). The highest antiradical potential was measured in worts from malts produced from barley varieties Aksamit, Blaník, Bojos and Advent, followed in the descending order by Tolar and Radegast.

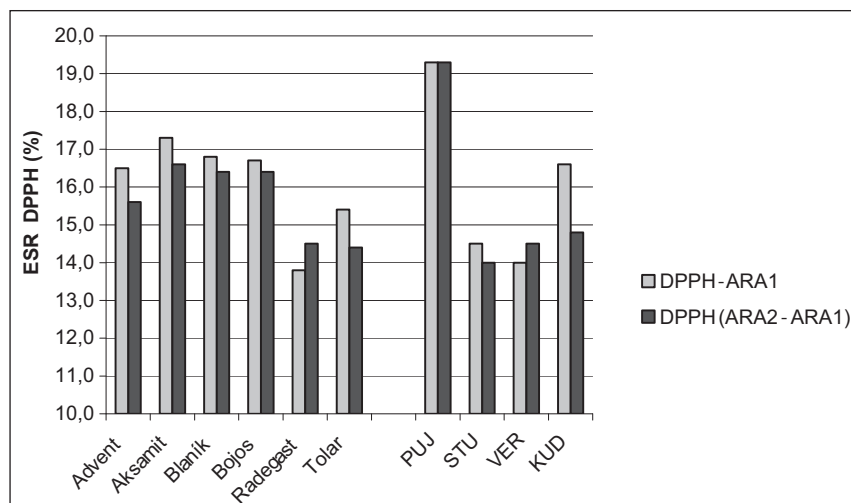
The values of DPPH-ARP of the set of malts under study were very significantly affected by locality (71 %) and to a lesser extent by variety (19 %). The antiradical potential of worts correlated strongly and directly with the values of total polyphenols ($p < 0,01$), while a weaker relation at the significance level of $p < 0,05$ was found for the content of anthocyanogens and flavanoids (Tab. 3). As stated above, the content

of total polyphenols in the wort depended on the degree of proteolytic and cytolytic modification, which was associated with the locality (physiological state of the barley). This is also responsible for the higher effect of locality on the antiradical potential of worts that we have found.

The antiradical activity of „fast reductones“ (DPPH-ARA 1) in worts from all varieties with the exception of Radegast slightly exceeded the antiradical activity of „slow reductones“ (the difference between DPPH-ARA2 and ARA1); a mild trend towards a higher proportion of ARA1 was obvious in varieties Advent and Tolar (Fig. 3). Regarding the locality, a higher contribution of „fast reductones“ was recorded in malts from barley samples from Krásné Údolí. This locality, similarly to the varieties Advent and Tolar, exhibited a relatively high content of anthocyanogens, i.e. low polymeration index. This points to the ability of part of the compounds determined as anthocyanogens (i.e. leukoanthocyanidins and catechins) to reduce rapidly the free radical DPPH.

The antiradical potential of worts correlated with the RC-DCPI at the significance level of $p < 0,01$. This implies that part of the spectrum of reductons in wort is determined by both methods. The RC-DCPI thus probably involves a part of the flavanoid polyphenol reductons while reductons both from the group of flavonoids and from the group of phenolic acids contribute to the value of DPPH-ARP.

Obr. 3 Vliv odrůdy ječmene a pěstební lokality na antiradikálovou aktivitu rychlých a pomalých reduktónů sladiny / Fig. 3 Effect of barley variety and growing locality on the antiradical activity of fast and slow reductones in wort



legenda / legend:

PUJ – Pusté Jakartice, STU – Stupice, VER – Věrovany, KUD – Krásné Údolí

DPPH ARA1 – antiradikálová aktivita 1 / antiradical activity 1

DPPH (ARA2 - ARA1) – rozdíl hodnot antiradikálové aktivity 2 a 1 / difference of antiradical activity 2 and 1

4 ZÁVĚR

Studium obsahu polyfenolových látek a antioxidačních vlastností sladů z pokusných sladů připravených jednotným postupem ze šesti odrůd ječmene v současnosti doporučených pro výrobu Českého piva prokázalo jak odrůdové rozdíly, tak významný vliv půdně klimatických podmínek lokality na sledované vlastnosti.

Nejvyšší hodnoty celkových polyfenolů, flavanoidů a relativně nízký obsah anthokyanogenů (nejvyšší index polymerace) stejně jako nejvyšší redukčního (antiradikálového) potenciálu byly stanoveny pro odrůdu Aksamit. Odrůdy Blaník, Bojos a Advent byly z hlediska obsahu polyfenolových látek i redukčních vlastností srovnatelné.

Nejnižší obsah a nejméně příznivá skladba (index polymerace) polyfenolových látek i nejnižší hodnoty redukčního potenciálu sladů byly zjištěny pro odrůdu Radegast.

Sladiny ze starší odrůdy Tolar (registrována od roku 1997) měly relativně nízký obsah celkových polyfenolů a antiradikálový potenciál ESR-DPPH ARP a zároveň nejvyšší redukční kapacitu RK-DCPI.

Odrůdy Advent, Aksamit, Bojos a Blaník registrované v ČR v letech 2007 až 2009 měly v porovnání s odrůdou Tolar vyšší obsah celkových polyfenolů a antiradikálový potenciál.

Antiradikálový potenciál ESR-DPPH ARP nejsilněji koreloval s obsahem celkových polyfenolů, redukční kapacita RK-DCPI nejsilněji korelovala s obsahem flavanoidů ve sladčině.

Obsah polyfenolových látek i jejich složení, poměr celkových polyfenolů a anthokyanogenů závisel na pěstební lokalitě. Relativně nejvyšší obsah anthokyanogenů s potenciálním negativním dopadem na koloidní stabilitu byl zjištěn u sladů z lokality Krásné Údolí, relativně nejnižší pro lokalitu Stupice.

Poděkování

Tento výzkum byl podpořen projektem 1M0570 „Výzkumné centrum pro studium obsahových látek ječmene a chmele“ Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 2. 5. 2011

Přijato k publikování / Accepted for publication: 2. 6. 2011

4 CONCLUSION

Our study of the content of polyphenol compounds and antioxidative properties of worts from experimental malts prepared by a unified procedure from six barley varieties currently recommended for production of Czech beer demonstrated varietal differences as well as a significant effect of soil and climatic conditions in given locality on the properties under investigation.

The highest values of total polyphenols, flavanoids and a relatively low content of anthocyanogens (the highest polymeration index), as well as the highest values of the reducing (antiradical) potential were determined in the variety Aksamit. The varieties Blaník, Bojos and Advent were comparable in terms of the content of polyphenol compounds as well as the reductive properties.

The lowest content and the least convenient composition (polymeration index) of polyphenol compounds and the lowest values of reducing potential of worts were found in the variety Radegast.

Worts made from the older variety Tolar (registered since 1997) had a relatively low content of total polyphenols and antiradical potential ESR-DPPH ARP, and at the same time the highest reducing capacity RC-DCPI.

In comparison with the variety Tolar, the varieties Advent, Aksamit, Bojos and Blaník registered in the Czech Republic in 2007–2009 had higher contents of total polyphenols and higher antiradical potential.

The antiradical potential ESR-DPPH ARP exhibited the closest correlation with the content of total polyphenols while the reductive capacity RC-DCPI had the strongest correlation with the content of flavanoids in the wort.

The content of polyphenolics and their composition, as well as the ratio of total polyphenols to anthocyanogens depended on growing locality. The relatively highest content of anthocyanogens with potential adverse impact on colloidal stability was determined in malts from Krásné Údolí, the lowest in those from Stupice.

Acknowledgements

This research was supported by grant MSM 1M0570 “Research Centre of Extract Compounds of Barley and Hops” of the Ministry of Education, Youth and Sports of Czech Republic.

Translated by Ing. Eva Paterson

LITERATURA / REFERENCES

- Boivin, P., Malanda, M., Maillard, M. N., Berset, C., Richard, H., Hughes, M., Richard-Forget, F. and Nicolas, J.: Role of the natural antioxidants of malt on the organoleptic stability of beer. *Proc. Eur. Brew. Conv. Congr., Brussels, IRL Press, 1995*, 159–168.
- Kaneda, H., Kobayashi, N., Furusho, S., Sahara, H., Koshino, S.: Reducing activity and flavor stability of beer. *Technical Quarterly MBAA* **32**, 1995, 90–94.
- Mikyška, A., Hrabák, M., Hašková, D., Šrogl, J.: The role of malt and hop polyphenols in beer quality, flavour and haze stability. *J. Inst. Brew.* **108**, 2002, 78–85.
- Boivin, P.: Relationship between polyphenols and beer flavour stability. *Cerevisia* **33**, 2008, 188–195.
- Lermusieau, G., Liégeois, C., Collin, S.: Reducing power of different hop variants. *Cerevisia* **26**, 2001, 33–41.
- Dostálek, P., Karabín, M.: Impact of hop polyphenols and antioxidant properties of wort on formation carbonyl compounds during boiling process and storage of beer. *Proc. Eur. Brew. Conv. Congr., Venice 2007, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, CD-ROM, 2007*, 923–930.
- Mikyška, A., Krofta, K. and Hašková, D.: Evaluation of antioxidant properties of raw hop and hop products, *Acta Horticulturae (ISHS)* **778**. Leuven, International Society for Horticultural Science (D. Havkin-Frenkel) 2008, 97–110.
- Mikyška, A., Hašková, D., Horák, T., Jurková, M.: Vliv typu chmelové suroviny na antioxidační vlastnosti piva. *Kvasny Prum.* **56**, 2010, 294–302.
- De Keukeleire, D.: *Plant Polyphenols, Chemistry, Biology, Pharmacology*. Academic Publishers, New York, 1999, 739–760.
- Walters, M. T., Heasman, A. P., Hughes, P. S.: Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impact on beer flavor stability. Part 2: Extended storage trials. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **55**, 1997, 91–98.
- Pascoe, H. M., Ames, J. M. and Chandra, S.: Critical stages of the brewing process for changes in antioxidant activity and levels of phenolic compounds in ale. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **61**, 2003, 203–209.
- Piendl, A. and Biendl, M.: Physiological significance of polyphenols and hop bitters in beer. *Brauwelt Int.* **18**, 2000, 310–317.
- Buggey, L. A.: *Brewer Int.* **1**(4), 2001, 21–25.
- Wackenbauer, K., Hardt, R.: Radikalreaktionen und die Geschackstabilität des Bieres. *Brauwelt* **136**, 1996, 1880–1889.
- Irwin, A. J., Barker, R. L., Pipats, P.: The role of copper, oxygen, and polyphenols in beer flavour instability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **49**, 1991, 140–149.
- Bamforth, C. W., Muller, R. E., Walker, M. D.: Oxygen and oxygen radicals in malting and brewing: A review. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **51**, 1993, 79–88.
- Lamuela-Raventos, R. M., Roura, E., Andres-Lacueva, C., Estruch, R.: Bioavailability of flavonoids. *Cerevisia* **34**, 2009, 26–30.
- Floridi, S., Montanari, L., Marconi, O., Fantozzi, P.: Determination of free phenolic acids in wort and beer by coulometric array detection. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 2003, 1548–1554.
- Dvořáková, M., Douanier, M., Jurková, M., Kellner, V. and Dostálek, P.: Comparison of Antioxidant Activity of Barley (*Hordeum vulgare* L.) and Malt Extracts with the Content of Free Phenolic Compounds Measured by High Performance Liquid Chromatography Coupled with CoulArray Detector. *J. Inst. Brew.* **114**, 2008, 150–159.
- Psota, V.: Sladovnické odrůdy ječmene jarního. *Pivovarský kalendář 2011*, VUPS, Praha, 2010, 81–88, 978-80-86576-41-1.
- Analytica EBC, 5th edition, European Brewery Convention, Carl-Hans Verlag, Nürnberg, 1998.
- Brautechnische Analysenmethoden, Band II, Freising-Weihenstephan 1987, 96–97.
- Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha 1992.
- Mikyška, A., Hašková, D., Prokeš, J.: Antiradical properties of malt accessed by EPR methods. *Proc. Eur. Brew. Conv. Congr., Prague, 2005. Nürnberg, Fachverlag Hans Carl 2005*. 764–773.