

# 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 transesterifikační 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 caryopses 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 Flammenionisierungsdetektion auf der Kapillarsäule 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 ÚVOD

Hlavní surovinou pro výrobu sladu a následně piva na území České republiky od konce 19. století je jarní ječmen. Postupně se zvyšují a konkretizují požadavky na kvalitu sladovnického ječmene.

Stále ne zcela probádanou a doceněnou oblastí zůstává u obilky ječmene jejich enzymatická činnost. Enzym lipoxygenasa katalyzuje oxidaci nenasycených mastných kyselin s více dvojnými vazbami, obsahujícími cis-1,4-pentadienovou skupinu, molekulovým kyslíkem. Řetězovou reakcí vznikají přechodně peroxidy nenasycených mastných kyselin, které se štěpí na karbonylové sloučeniny (aldehydy, ketony) nebo mastné kyseliny s krátkými řetězci. Vytvářejí se tím sloučeniny s charakteristickými vůněmi a chutěmi. Mezi substráty enzymu lipoxygenasy patří nutričně významné esenciální mastné kyseliny linolová, linolenová a arachidonová. Mohou být oxidovány i acylglyceroly a další estery zmíněných mastných kyselin.

Základní složkou podílející se na žluklé chuti v uskladněném pivu je aldehyd trans-2-nonenal. Mechanismus vytvoření trans-2-nonenalu v pivu je enzymatická nebo neenzymatická oxidace tuků a oxidace volných mastných kyselin (*obr. 1*), kde svou roli sehrává enzym lipoxygenasa [1, 2].

Vzhledem k tomu, že mastné kyseliny obsažené v obilce ječmene a následně ve sladu mohou být zdrojem mnohých sensoricky aktivních látek v pivu, bylo nutné zavést a optimalizovat stanovení tuků a mastných kyselin ve výchozích surovinách.

Obsah lipidů byl stanoven pomocí moderní metody extrakce na fluidním loži. Pro analýzu zastoupení mastných kyselin byly porovnávány dvě polární kapilární kolony Supelcowax a SLB-IL 100.

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Použité chemikálie a standardy

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

## 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.

Enzymatic 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.

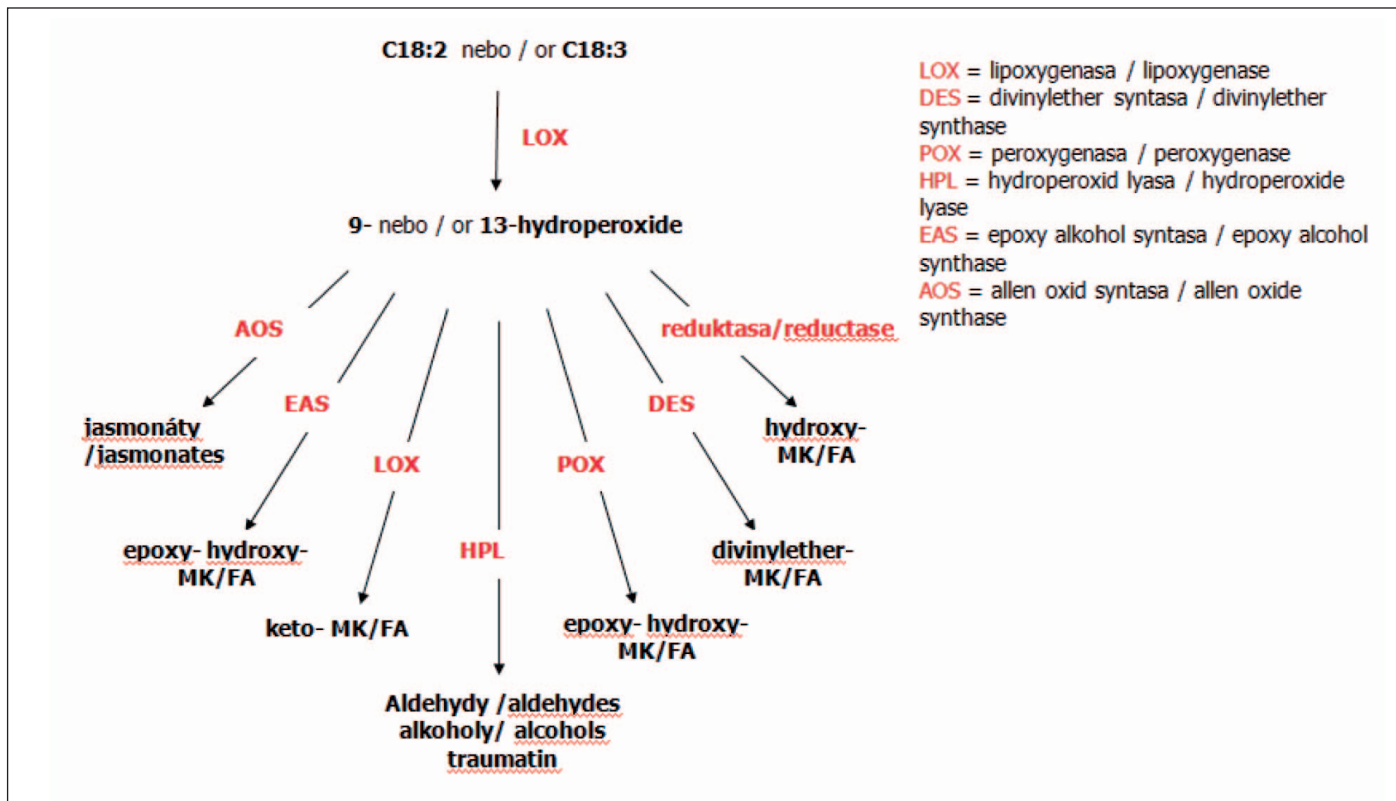
Lipid content was determined using the modern extraction method in fluidized bed. For the analysis of the representation of fatty acids, two capillary columns Supelcowax and SLB-IL 100 were compared.

## 2 EXPERIMENTAL

### 2.1 Chemicals and standards used

Petrol ether – Lach-Net, Ltd. CR; isooctan – 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 intaktních obilkách ječmene a sladech 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 petroléru v 6 cyklech po dobu 2,5 hodiny. Po extrakci se zbylé rozpouštědlo odpaří na rotační vakuové odparce a po odpaření se baňka s vyextrahovaným 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 uvádí v procentech v sušině vzorku (relativní směrodatná odchylka – RSD 2,1%).

## 2.4 Stanovení zastoupení mastných kyselin

Vyextrahované triacylglyceroly se rozpustí v izooktanu 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 plamenionizačním 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; exsiccator – 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.

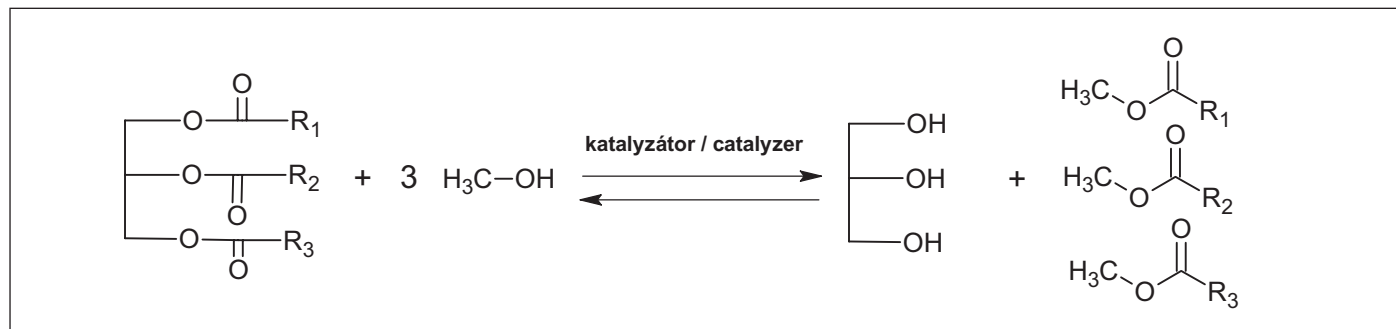
## 2.3 Determination of lipid content

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 exsiccator 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 naváží 50 až 70 mg tuku. Po rozpuštění ve 4 ml izooktanu se přidá 200 ml metanického 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 znovu se intenzivně třepe po dobu 15 sekund, aby se zneutralizoval hydroxid draselný. Po usazení soli se do 2ml vialky odebere horní izooktanová 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 isooctane. 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 isooctane 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                                                                                                                           |
| Teplotní program / Thermal program                      | kolona / column SLB-IL 100<br>40 °C→220 °C (4 °C/min) 30 min<br><br>kolona / column Supelcowax<br>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. / butiric acid (C4:0)                            | 20     | linolelaidová kys. / linolelaidic 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-eikosenoic 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-dokosahexaeonic 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 feXKA® 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 obilce ječmene a ze sladu.

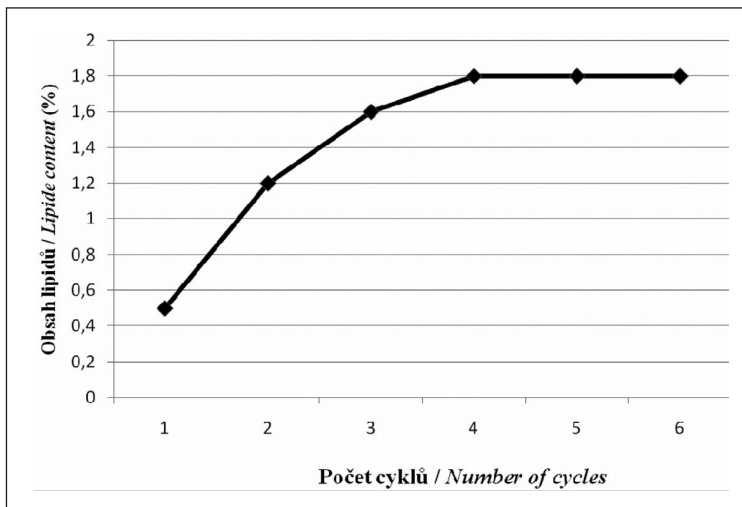
Optimalizovanou metodou extrakce byly stanoveny obsahy lipidů u vzorků 20 odrůd ječmene a 20 sladů z nich vyrobených. Výsledky obsahů lipidů pro jednotlivé odrůdy jsou uvedeny v tab. 3.

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                                                                             |

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

**3 RESULTS AND DISCUSSION**

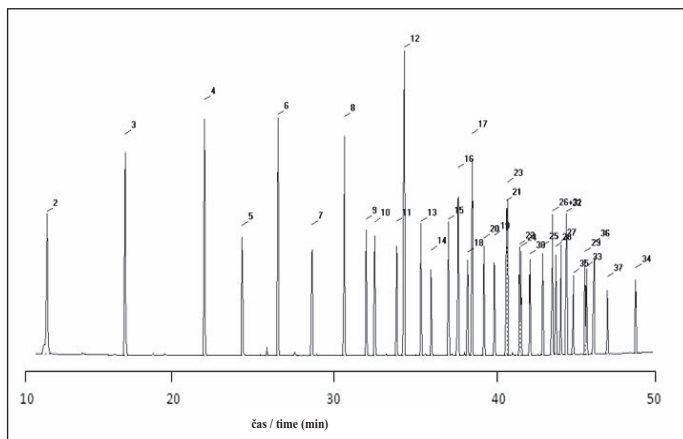
For the determination of lipid content in a barley caryopsis and malt, the extraction method with the fluid extractor feXKA® dive-in control was introduced and optimized. The amount of the extraction dissolvent used and duration of one cycle was chosen so that towards the end of the cycle, the analyzed 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.

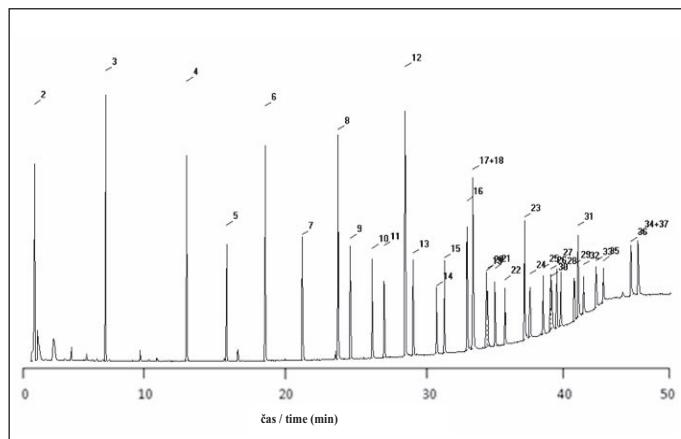
Fat content in the analyzed barley and malt samples varied from 1.3 to 2.5 % in the dry matter. This corresponds to the common values of fat content in a barley caryopsis given in the literature [5].

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.

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



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. / pentadecanoic 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. / arachic 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 kys. / 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 obilky 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:

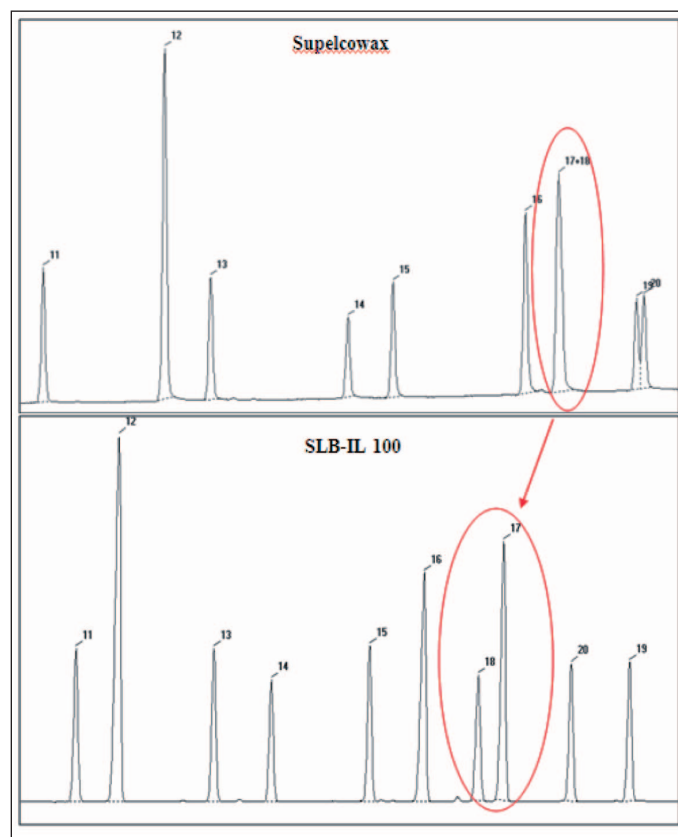
lauric (C12:0), myristic (C14:0), pentadecanoic (C15:0), palmitic (C16:0), stearic (C18:0), oleic (C18:1c), linoleic (C18:2t), linolenic (C18:3), arachidic (C20:0), eicosadienoic (C20:2), behenic (C22:0), erucic (C22:1), tricosanoic (C23:0), lignoceric (C24:0), and nervoic (C24:1) (Tab. 4).

#### 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 (methylestery 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., Hollemans 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. Velíšek, J.: *Chemie potravin 1*, Osis, Tábor, 2002, 117–161.
5. Basařová, G. a kol.: *Pivovarsko-sladařská analytika /1/*, Merkant, Praha, 1992, 182–185.
6. Javarský, P. a kol.: *Chemické rozborý 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.

**Acknowledgement**

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

*Translated by Vladimíra Nováková*

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

**Krátké sdělení / Short communication****KVALITA ZRNA JEČMENE ZE ZKUŠEBNÍCH STANOVÍŠŤ 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, Mostecká 7, CZ-614 00 Brno  
*Research Institute of Brewing and Malting, Plc., Malting Institute, Mostecká 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.

Vzorok 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 dreien 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.