

JOANNA KLEPACKA, ŁUCJA FORNAL,
ZBIGNIEW BOREJSZO, EDWARD WRÓBEL

NIKTÓRE ZWIĄZKI FENOLOWE JĘCZMIENIA BROWARNEGO

Streszczenie

Analizowano zawartość związków fenolowych ogółem, wolnych, w połączeniach estrowych i kompleksowych w ziarnie jęczmienia browarnego odmiany Maresi, uprawianego przy zróżnicowanym poziomie nawożenia azotowego. Stwierdzono wyraźnie większą zawartość związków fenolowych ogółem w otrębach, w porównaniu z mąką oraz ich wzrost wraz ze zwiększaniem nawożenia azotowego. Wykazano, że kwas ferulowy nie występuje w połączeniach estrowych, natomiast jego ilość w połączeniach kompleksowych zwiększa się wraz ze stosowaniem nawożenia azotowego. Gęstość optyczna (barwa) ziarniaków jęczmienia zmieniała się wraz ze wzrostem nawożenia azotowego i zawartości kwasu ferulowego w połączeniach kompleksowych.

Wstęp

Jakość słodu i piwa jest ściśle związana z jakością jęczmienia browarnego. Metody oceny jakości jęczmienia browarnego są złożone i długotrwałe. Istnieje zatem potrzeba rozważenia zadań badawczych zmierzających do opracowania systemu, na podstawie którego można by przewidywać jakość browarniczą odmian. Garcia del Moral i wsp. [1] proponują przewidywanie jakości słodowniczej odmiany przez pomiar cech rośliny w fazie anthesis lub dojrzałych ziarniaków stosując cyfrową analizę obrazu. Wykazali oni, że zawartość azotu w roślinie jest dobrym czynnikiem prognozującym wydajność ekstraktu. Jednym z wyróżników jakości jęczmienia browarnego jest barwa powierzchni. Gudaczewski i wsp. [2] badając gęstość optyczną powierzchni jęczmienia browarnego odmian polskich i uprawianych we Francji wskazali na różnice w barwie ziarniaków dwóch grup odmian. Wśród wielu czynników wpływających na barwę ziarna jęczmienia wymienia się cechy odmianowe, region i technologię uprawy, tech-

nikę zbioru, suszenie i inne. Jednym z ważnych elementów uprawy jest nawożenie azotowe, od którego zależy zawartość azotu w ziarnie, objętość ziarniaka, grubość okrywy nasiennej, wielkość zarodka i warstwy aleuronowej [1]. Czy nawożenie azotowe ma również wpływ na zawartość związków fenolowych w okrywie i barwę ziarniaków?

Material i metody badań

Materiałem badań było ziarno jęczmienia browarnego odmiany Maresi pochodzące ze zbiorów z 1997 roku z doświadczeń polowych Katedry Produkcji Roślinnej ART w Olsztynie. Jęczmień nawożono dawkami 0,20 i 40 kg N/ha. Związki fenolowe oznaczano w otrębach i mące po rozdrobnieniu ziarna w młynie laboratoryjnym Quadrumat Junior firmy Brabender.

W otrębach jęczmienia oznaczano ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną zawartość frakcji kwasów fenolowych. W poszczególnych frakcjach kwasów fenolowych: wolnych, związanych estrowo oraz uwalnianych z połączeń kompleksowych, wykonano analizę jakościową kwasów fenolowych oraz badano zawartość kwasu ferulowego występującego w trzech frakcjach.

Ogólna zawartość związków fenolowych

Zawartość związków fenolowych ogółem oznaczano metodą Ribereau-Gayon [7] z zastosowaniem odczynnika Folina- Ciocaltea'u.

Ogólna zawartość frakcji kwasów fenolowych

Zawartość trzech frakcji kwasów fenolowych ogółem: wolnych, w połączeniach kompleksowych i estrowych oznaczano stosując opisaną przez Zadernowskiego [11] metodę uwzględniającą ekstrakcję, oczyszczanie ekstraktów oraz ich pomiar z zastosowaniem metody Ribereau-Gayon [7].

Analiza ilościowa i jakościowa kwasów fenolowych z zastosowaniem metody GLC

Oznaczanie poszczególnych kwasów fenolowych zawartych w trzech analizowanych frakcjach: wolnych, uwalnianych z kompleksów i estrów wykonano stosując ekstrakcję, oczyszczanie ekstraktów oraz prowadząc rozdział kwasów fenolowych przy zastosowaniu techniki chromatografii gazowej (metoda wg Zadernowskiego [11]). W celu przygotowania próbek do rozdziału metodą chromatografii gazowej, 1 cm³ roztworu przenoszono do naczynek reakcyjnych i dodawano 40 µg roztworu N-tetrakozanu jako standardu wewnętrznego. Następnie próby odparowywano do sucha w temperaturze 40°C i do suchej pozostałości dodawano 50 µl BSA [N,0- bis- (trimeetylosilan) acetamid]. Szczelnie zamknięte próby pozostawiono w temperaturze poko-

jowej przez 24 godziny. Trimetylosilanowe pochodne kwasów fenolowych rozdzielono metodą chromatografii gazowej. Stosowano następujące warunki rozdziału:

- chromatograf Hewlett Packard HP 6890,
- detektor: MSD,
- kolumna: kapilarna RTX-1,
- długość: 30m,
- średnica wewnętrzna: 0,32 mm,
- grubość filmu: 0,25 μm ,
- temperatury:
 - detektora: 250°C,
 - kolumny: 100–260°C, $\Delta t = 6^\circ\text{C}/\text{min}$,
 - odparowywacza: 250°C,
- gaz nośny: hel – 0,6 cm^3/min ., splitless.

Wyznaczanie gęstości optycznej barwy ziarniaków

Jakość optyczną ziarniaków zbóż oznaczano za pomocą komputerowego systemu analizy obrazu [2].

Pomiar gęstości wykonano według następującego algorytmu:

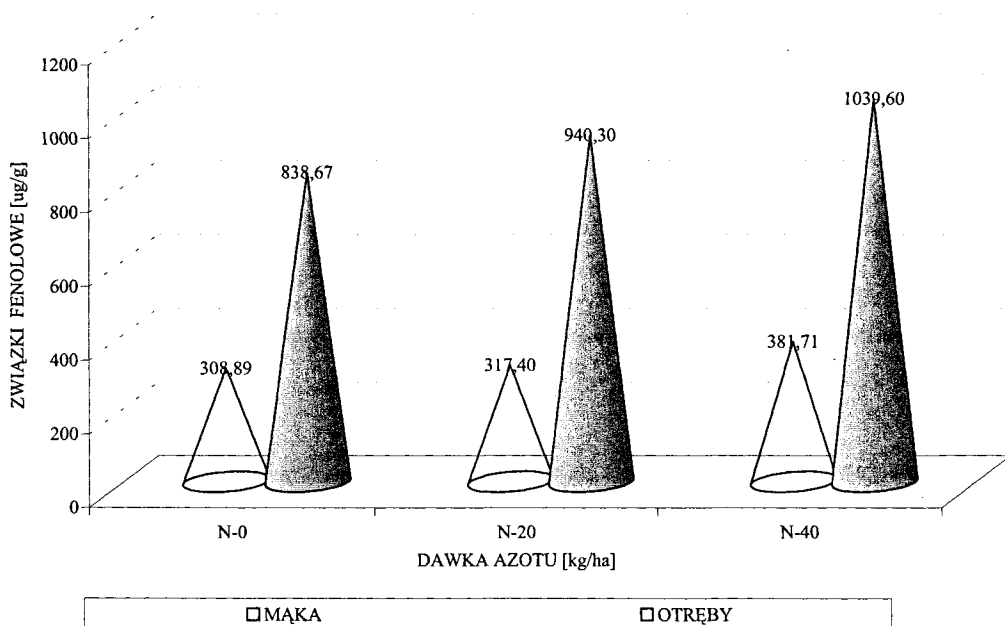
- 1) kalibracja systemu na podstawie wzorca,
- 2) ułożenie obiektów na stoliku bezcieniowym bruzdką ku dołowi,
- 3) oświetlenie obiektów „od dołu”:
 - uzyskany obraz wprowadzono do pamięci karty VFG i zapamiętano w postaci macierzy o wymiarach 512×512 pikseli o skali odcieni szarości 0–255,
 - binaryzacja obrazu dla 116 ± 2 odcienia szarości,
 - segmentacja i lokalizacja obiektów oraz pomiar podstawowych cech geometrycznych,
- 4) oświetlenie obiektów „od góry” – czteropunktowo, symetrycznie – światłem białym:
 - uzyskany obraz wprowadzono do pamięci karty VFG,
 - wprowadzenie informacji o lokalizacji i wymiarach analizowanych obiektów,
 - skanowanie gęstości optycznej powierzchni poszczególnych obiektów i wyznaczenie max i min odcienia szarości, różnicy tych wielkości (max-min) oraz odchylenia standardowego (σ),
- 5) zapisanie otrzymanych informacji w postaci pliku,
- 6) analiza danych.

Wyniki przedstawiono jako liczebność występowania różnicy pomiędzy max. i min. poziomem szarości.

Wyniki badań i ich omówienie

Zawartość związków fenolowych ogółem

Uzyskane wyniki badań ziarniaków jęczmienia odmiany Maresi wskazały na znaną w charakterystyce ziarna pszenicy zależność mniejszej zawartości związków fenolowych w mące, w porównaniu z otrębami [3, 4, 8, 9]. Wyniki Maillard'a i wsp. [5] wskazują na podobne poziomy występowania związków fenolowych ogółem w otrębach jęczmienia. Określona przez nich zawartość związków fenolowych ogółem kształtowała się na poziomie 930–11140 $\mu\text{g/g}$, w zależności od odmiany jęczmienia. Zawartość związków fenolowych ogółem w mące nie wykazywała wyraźnej tendencji wzrostowej wraz z nawożeniem (rys. 1).



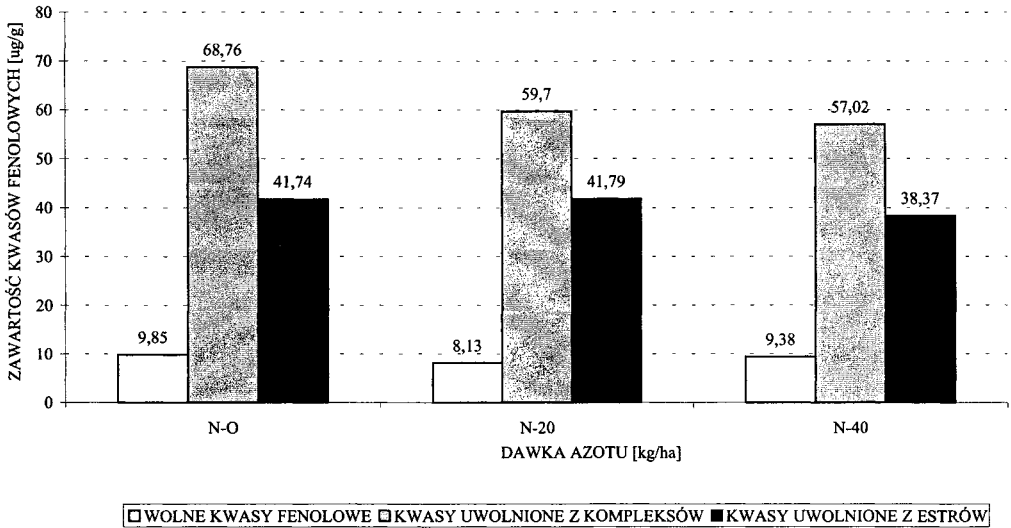
Rys. 1. Zawartość związków fenolowych ogółem w mące i otrębach jęczmienia Maresi.

Fig. 1. Total content of phenolic compounds in the flour and bran of barley variety Maresi.

Ogólna zawartość frakcji kwasów fenolowych

We wszystkich trzech analizowanych próbkach jęczmienia nawożonego dawkami 0–40 kg N/ha na podobnym poziomie kształtowała się zawartość kwasów fenolowych wolnych (8,13–9,85 $\mu\text{g/g}$) oraz uwalnianych z estrów (38,37–41,79). Zróżnicowana była jedynie ilość kwasów fenolowych uwalnianych z połączeń kompleksowych

(57,02–68,76 $\mu\text{g/g}$) między dawką N-0 i N-20 lub N-40 (rys. 2). Rotkiewicz i wsp. [12] uzyskali podobne wyniki oznaczania ogólnej zawartości kwasów fenolowych dotyczące kwasów uwolnionych z estrów (52,2 $\mu\text{g/g}$) oraz z kompleksów (68,0 $\mu\text{g/g}$).



Rys. 2. Zawartość frakcji kwasów fenolowych w otrębach jęczmienia Maresi.

Fig. 2. Content of different fractions of phenolic acids in bran of barley variety Maresi.

Analiza ilościowa i jakościowa poszczególnych kwasów fenolowych na podstawie met. GLC

Charakterystyka jakościowa i ilościowa kwasów fenolowych wolnych, uwolnionych z połączeń kompleksowych i estrowych wykazała, że dominującymi były kwasy: p-OH-benzoesowy, wanilinowy, natomiast kwas ferulowy występował w ilościach śladowych w jęczmieniu nie nawożonym azotem (tab. 1). Podobne ilości kwasów fenolowych w ziarniakach jęczmienia, oznaczanych również metodą GLC, uzyskali Rotkiewicz i wsp. [12] oraz Paprocka [6].

W przypadku wzrostu nawożenia do 20 kg N/ha wzrastała szczególnie zawartość kwasu ferulowego uwalnianego z kompleksów. W jęczmieniu, przy zastosowaniu dawki azotu 40 kg/ha, zawartość kwasu ferulowego zwiększała się 3-krotnie (rys. 3). Ponadto wyniki badań dowodzą, że kwas ferulowy w otrębach jęczmienia browarnego nie występuje w połączeniach estrowych, w odróżnieniu od pszenicy [4, 10]. Wzrost zawartości kwasu ferulowego może wynikać z większego udziału okrywy i warstwy aleuronowej w ziarnie nawożonym wysokimi dawkami. Można też sugerować zawar-

tość kwasu ferulowego jako wskaźnik znacznie podwyższonych dawek nawożenia azotowego.

Wyznaczone histogramy gęstości optycznej wykazały, że barwę powierzchni badanych ziarniaków charakteryzują dwa dominujące pasma różnicy pomiędzy maksymalnym i minimalnym poziomem szarości: 41–60 i 61–80, ale w przypadku jęczmienia przy nawożeniu na poziomie 40 kg/ha zmieniają się ich proporcje ilościowe (tab. 2). Stwierdzenie, czy charakterystyczna zmiana barwy może mieć związki z zawartością kwasu ferulowego i nawożeniem azotowym, wymaga dodatkowych badań.

Tabela 1

Zawartość kwasów fenolowych [$\mu\text{g/g}$] w otrębach jęczmienia Maresi, uprawianego przy zróżnicowanym poziomie nawożenia azotem.

Content of phenolic acids [$\mu\text{g/g}$] in bran of barley variety Maresi, cultivated at different levels of nitrogen fertilization.

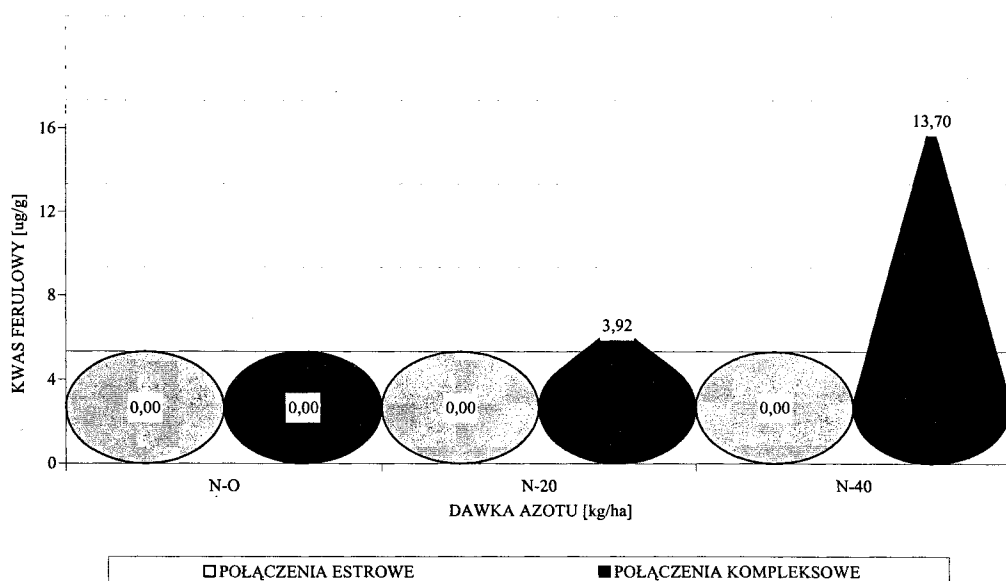
Kwasy fenolowe Phenolic acids	Poziom nawożenia azotem / Level of nitrogen fertilization [kg/ha]		
	0	20	40
Wolne kwasy fenolowe Free phenolic acids			
p-OH-benzoesowy	1,42	0,68	2,99
Wanilinowy	2,31	0,38	-
Ferulowy	ślady	-	-
Kwasy uwolnione z kompleksów Acids from complexes			
p-OH-benzoesowy	1,30	-	-
Wanilinowy	3,23	2,62	3,22
Ferulowy	ślady	3,92	13,70
Kwasy uwolnione z estrów Acids from esters			
p-OH-benzoesowy	4,43	2,30	-
Wanilinowy	7,09	3,94	2,04
Ferulowy	ślady	-	-

Tabela 2

Badanie gęstości optycznej powierzchni całkowitej ziarna jęczmienia. Liczebność występowania różnicy pomiędzy max.-min. poziomem szarości.

Evaluation of optical density of barley grain surface. The great number occurrence of the difference between max.-min. level of greyness.

Dawka azotu Nitrogen dose [kg/ha]	Liczebność występowania/ Great number occurrence [%]				
	Pasma				
	41-60	61-80	81-100	101-120	121-140
N-0	58	42	2	0	0
N-40	87	12	0	0	0



Rys. 3. Zawartość kwasu ferulowego w otrębach jęczmienia Maresi.

Fig. 3. Ferulic acid content in bran of barley variety Maresi.

Podsumowanie

Zawartość związków fenolowych ogółem jest większa w otrębach niż w mące i rośnie wraz ze zwiększaniem poziomu nawożenia azotowego. Poziom nawożenia azotem zmienia zawartość kwasów fenolowych uwalnianych z połączeń kompleksowych. Ilość kwasu ferulowego uwalnianego z kompleksów rośnie w miarę zwiększania dawki nawożenia azotowego, natomiast kwas ten nie występuje w połączeniach estrowych, ani we frakcji wolnych kwasów fenolowych. Zawartość kwasu ferulowego w otrębach

uzyskanych z ziarna jęczmienia nawożonego azotem w dawce od 20–40 kg N/ha może wskazywać na związek z barwą ziarniaków. Udowodnienie tej tezy, nie tylko dla badanego gatunku ziarna, ale i ziarna innych gatunków, jest przedmiotem dalszych badań.

LITERATURA

- [1] Garcia del Moral L.F., Sopena A., Montoya L., Polo P., Voltas J., Codestal P., Ramos J.M., Molina-Cuno J.L.: Image analysis of grain and chemical composition of barley plant as predictors of malting quality in mediterranean environments. *Cereal Chem.*, **75** (5), 1998, 755-761.
- [2] Gudaczewski W., Fornal Ł., Filipowicz A.: Jęczmień browarny – barwa. *Przegl. Zboż. Młyn.*, **5**, 1999, 33-34.
- [3] Hatcher D.W., Kruger J.E.: Simple phenolic acids in flours prepared from canadian wheat: relationship to ash content, color, and polyphenol oxidase activity. *Cereal. Chem.*, **74** (3), 1997, 337-343.
- [4] Klepacka J., Fornal Ł., Gudaczewski W., Borejszo Z.: Optical density of wheat grain surface and content of phenolic compounds in wheat coat. *Natur. Sc.*, **3**, 1999, 245-261.
- [5] Maillard M.N., Soum M.H., Boivin P., Berset C.: Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. *Lebensm. Wiss. U Technol.*, **29**, 1996, 238-244.
- [6] Paprocka J.: Związki fenolowe w rozwijających się i dojrzewających ziarniakach zbóż oraz ich rola w spoczynku tych ziarniaków. Praca doktorska, ART. Olsztyn 1995.
- [7] Ribereau-Gayon P.: Plant phenolics. Hafner Publishing Company, New York, 1972.
- [8] Rybka K., Sitarski J., Raczyńska-Bojanowska K.: Ferulic acid in rye and wheat grain and grain dietary fiber. *Cereal Chem.* **70** (1), 1993, 55-59.
- [9] Symons J.S., Dexter J.E.: Relationship of flour aleurone fluorescence to flour refinement for some canadian hard common wheat classes. *Cereal Chem.*, **70** (1), 1993, 90-95
- [10] Weidner S., Amarowicz R., Karamać M., Dąbrowski G.: Phenolic acids in caryopses of two cultivars of wheat, rye and triticale that display different resistance to pre-harvest sprouting. *Eur. Food Res. Technol.*, **210**, 1999, 109-113.
- [11] Zadernowski R.: Studia nad związkami fenolowymi mąki rzepakowej. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olszt., Technol. Aliment.*, **21**, Supl. F, 1987.
- [12] Rotkiewicz D., Zadernowski R., Kozłowska H.: Kwasy fenolowe zbóż, *Zesz. Nauk. ART., Olsztyn*, 1984, 135-143.

SOME PHENOLIC COMPOUNDS OF MALTING BARLEY

S u m m a r y

Content of total, free, bound in esters and complexes phenolic compounds, particularly ferulic acid, in malting barley variety Maresi cultivated at different level of nitrogen fertilization was analysed. It was shown that level of total phenolic compounds was higher in bran than in flour of barley, and amount of them increased with the level of nitrogen fertilization. The ferulic acid is not bound in esters, and content of this acid bound in complexes increases with the level of nitrogen fertilization. Optical density (colour) of barley grain changed with increasing of nitrogen fertilization and content of ferulic acid bound in complexes. ☒