

NOVÉ SMĚRY SLADAŘSKÉ ANALYTIKY

NEW TRENDS OF MALTING ANALYTICS

RNDr. PAVLA HAVLOVÁ, RNDr. RENATA MIKULÍKOVÁ, RNDr. JAROSLAV PRÝMA, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Sladařský ústav Brno / Research Institute of Brewing and Malting, Malting Institute Brno

Klíčová slova: analytické metody, organické kyseliny, pentozany, antioxidanty, senzoricky aktivní látky, rezidua pesticidů

Key words: analytical methods, organic acids, pentosans, antioxidants, sensorically active substances, pesticide residues

1 ÚVOD

Analytické metody, používané při stanovení kvalitativních parametrů sladovnického ječmene, sladu a produktů jeho zpracování, lze schematicky rozdělit do dvou kategorií:

- základní rozborů
- speciální rozborů.

Do kategorie základních rozborů můžeme zařazovat běžné, rutinní analýzy, které jsou obvykle požadovány pro stanovení základních, komerčně nejvíce žádaných ukazatelů kvality jednotlivých komodit. U sladu mezi takovéto základní ukazatele patří např. vláha, extrakt, rozdíl extraktů, stupeň prokvašení, diastatická mohutnost, obsah bílkovin a rozpustného dusíku, barva a další.

Pod pojmem speciální rozborů si představujeme rozborů méně obvyklé, zaměřené často jednoúčelově ke stanovení jediného ukazatele (např. odrůdová čistota, namořenost obilí, stanovení vybraných reziduí pesticidů v obilí, obsah šfavelanu ve sladince atd.). Takovéto rozborů jsou často spojeny s vyššími nároky na instrumentální techniku, analýzy vyžadují vysokou odbornost obsluhy a bývají také dražší. S rozvojem technických možností analytických laboratoří, s rostoucími znalostmi chemických a biochemických procesů v průběhu výroby sladu a piva a samozřejmě s vyššími požadavky zákazníků na kvalitu výrobků pak průběžně dochází ke zvyšování úrovně provádění stávajících (běžných) analýz a dále k vývoji metod nových, zaměřených na moderní trendy výzkumu v oblasti sladařské a pivovarské výroby. Vývoj analytiky ostatně dokumentuje jednoznačně fakt, že řada metod, před několika lety speciálních, často ve stadiu vývoje, je již dnes používána zcela běžně a řadí se někde na pomezí výše uvedených okruhů (například stanovení obsahu β -glukanů, prekursorů dimethylsulfidu aj.).

Domníváme se, že může být zajímavé nastínit vývoj metodik tak, jak se projevuje na našem pracovišti Sladařského ústavu Brno v posledním období zejména z toho důvodu, že se zabýváme jednak kontrolními analýzami pro účely prodeje ječmene a sladu, jednak výzkumnými úkoly, ve kterých se projevují směry výzkumu a vývoje.

2 ZÁKLADNÍ ROZBORŮ

Pro účely tohoto textu zahrnujeme pod pojem základní rozborů takové metodiky, které jsou již v laboratoři běžně zavedeny několik let a které jsou většinou prováděny na základě metodik uvedených v publikaci Analytika EBC. Samotná Analytika EBC prochází stálým vývojem a jen v roce 2000 se změny týkají cca 30 metod [1]. Také na našem pracovišti věnujeme zkvalitňování již zavedených metod velkou pozornost. Sladařský ústav Brno v roce 2000 provedl rozsáhlou práci zaměřenou na validaci jednotlivých metod a stanovení validačních parametrů. Značné náklady byly vloženy do celkové rekonstrukce přístrojového vybavení, do zkvalitnění metrologické návaznosti, zajištění mezinárodně platných certifikátů používaných referenčních materiálů, kalibrace měřicích prostředků orgány ČMI apod. Změny se dotkly též vedení dokumentace od prvotních podkladů po vydání Protokolu o zkoušce (atestu).

Zajištění dobrých podmínek pro provádění analýz se samozřejmě věnovala pozornost i v minulosti, v průběhu roku

1 INTRODUCTION

Analytical methods used for determination of quality parameters of malting barley, malt and products of its processing can be schematically divided into two categories:

- basic analyses
- special analyses.

Into the category of basic analyses we can range common, routine analyses, which are usually required for determination of basic, commercially mostly demanded quality parameters of individual commodities. At malt among these basic indicators we range for example moisture content, extract, extract difference, fermentability, diastatic power, protein content, soluble nitrogen content, colour and others.

Under the term special analyses we conceive analyses less usual, often orientated to determination of just one indicator (for example variety purity, grain treatment, assessment of chosen pesticide residues, oxalate content in wort, etc). Analyses like these are often connected with higher demands on instrumental technique, analyses require high expertness of operators and they are usually more expensive. With the development of technical possibilities of laboratories, with raising knowledge of chemical and biochemical processes during malt and beer production and of course with higher customer's demands on the quality of products, the level of carried out current (common) analyses has continuously been raised and further new methods orientated to modern trends of research in the field of malt and beer production have been developed. Besides this, the development of analytics proves unambiguously the fact that number of methods, a few years ago special, often in the stage of a development, are nowadays used quite currently and they are ranged somewhere on the border of the above mentioned areas (for example determination of beta-glucan content, of dimethylsulphide precursors, etc.).

We believe it can be of an interest to outline the development of methods as it has been shown in our workplace of the Malting Institute Brno in the recent period mainly because we deal both with the checking analyses for the purpose of barley and malt sale and also with research tasks reflecting trends of development and research.

2 BASIC ANALYSES

For this text purposes we include under the term basic analyses such methods which have been used in the laboratory for several years and which are mostly carried out on the basis of methods presented in the publication EBC Analytics. The EBC Analytics itself comes through continual development and only during the year 2000 ca 30 methods have been changed [1]. Our Institute as well devotes big attention to improving the quality of already introduced methods. In the year 2000 the Malting Institute Brno implemented extensive work focused on individual methods validation and on the assessment of validation parameters. Considerable costs were put into the general reconstruction of instrumental equipment, into improving metrological link-up, ensuring internationally valid certificates of used reference materials, calibration of measuring means by ČMI authorities, etc. Changes included documents keeping from the primary data to issuing of the Test Protocol (attestation).

We paid attention to ensuring good conditions for carrying out analyses in past as well but in the course of the year 2000

2000 jsme si však nároky dobrovolně zvýšili žádostí o akreditaci u národního akreditačního orgánu (Český institut pro akreditaci, o.p.s.). Osvědčení o akreditaci, které je tímto orgánem vydáváno akreditovaným laboratorům, je dokladem, že laboratoř splňuje požadavky mezinárodní normy, poskytuje požadované služby na maximálně možné úrovni a výsledky akreditovaných laboratorů by měly být příslušnými orgány uznávány ve všech zemích, se kterými má NAO podepsanou smlouvu (všechny země EU, Japonsko a další země). Téma akreditace však v souvislosti s obsahem tohoto článku zmiňme jen na okraj, v rámci zlepšování úrovně stávajících metod. V dalším textu se zaměříme na metody skutečně nové, zaváděné v rámci snahy zachytit, případně sami určovat trendy výzkumu a vývoje pivovarské a sladařské analýty.

3 SPECIÁLNÍ ROZBORY

3.1 Stanovení kyselin Krebsova cyklu

Cyklos trikarboxylových kyselin neboli Krebsův cyklus je skutečným centrem veškerého metabolismu. Odpovídá za oxidaci většiny cukrů, mastných kyselin i aminokyselin a vytváří četné biosyntetické prekursor. Citrátový cyklus je zprostředkován osmi enzymy, které společně přemění jednu molekulu acetyl-CoA na dvě molekuly CO_2 tak, že se získají tři NADH, jeden FADH_2 a jeden GTP (nebo ATP). NADH a FADH_2 jsou oxidovány kyslíkem v elektron-transportním řetězci za současné syntézy jedenácti ATP [2]. Z energetické bilance vyplývá, že citrátový cyklus je významným metabolickým pochodem, v němž se získává podstatný podíl volné energie nejen štěpením sacharidů, ale i mnoha jiných látek. Množství energie, kterou potřebuje zrno k tomu, aby mohlo začít aktivní formu života, získává právě biologickou oxidací některých snadno metabolizovatelných složek zrna.

K identifikaci kyselin Krebsova cyklu (kyseliny ketoglutarové, citronové, isocitronové, jablečné, jantarové, fumarové, oxalacetové) byla použita izotachofóza.

Izotachofóza je elektroforetická metoda, která umožňuje separovat anionty a kationty. Náleží tedy mezi metody separační – směs látek se rozdělí v důsledku nestejné iontové pohyblivosti [3,4]. Na stanovení organických kyselin Krebsova cyklu použili izotachofózu Boček a kol. [5] a Madajová a kol. [6].

Na našem pracovišti jsme aplikovali uvedenou metodu pro identifikaci a kvantitativní analýzu kyselin Krebsova cyklu ve sladu. Výhody proti jiným metodám spočívají především v minimální spotřebě vzorku a možnosti analýzy kapalných vzorků bez předchozí úpravy (kromě eventuálního zředění). Čas potřebný k analýze se pohybuje od 5 do 25 minut. Současně při jednom nástřiku lze stanovit všechny uvedené organické kyseliny. Navíc je možné stanovit i kyselinu šťavelovou, která hraje negativní roli jak z hlediska fyziologie výživy, tak i v pivovarské technologii [7]. Kyselině šťavelové je připisován podíl na přepěňování piva (gushing) a může způsobit, zvláště ve formě šťavelanu vápenatého, známou formu tzv. „oxalátového zákalu“.

3.2 Stanovení pentosanů

Význam arabinoxylanů (pentosanů) ječmene v průmyslových procesech je velmi podhodnocený. Arabinoxylany ječmene patří mezi necelulózní polysacharidy. Vyskytují se především v buněčných stěnách aleuronových buněk a ve škrobovém endospermu. V menší míře se nachází také ve slupce a pravděpodobně i ve zbytcích buněčných stěn, které vytváří další mateřská pletiva obklopující zrno [8].

Arabinoxylany mohou tvořit asi jen 1,5 % hmotnosti ječmenného endospermu, ale jejich schopnost tvořit viskozní roztoky může značně ovlivnit technologické využití ječmene. Většina potíží při extrakci, filtraci a ve stabilitě produktu, které běžně doprovázejí sladařství a pivovarství, je obvykle přísu-

we voluntarily increased the demands to ourselves by application for accreditation at the National Accreditation Authority (Czech Institute for Accreditation, o.p.s.). Certificate of Accreditation, which this authority issues to accredited laboratories, is the proof that the laboratory fulfils the requirements of the international norm, it provides the required services on the maximal possible level and the results of the accredited laboratories should be respected by appropriate authorities in all countries with which NAA has signed the agreement (all countries of EU, Japan, and further countries). The subject of accreditation, however, in connection with the content of this article we mention just marginally, within the context of improvement of current methods level. In next text we will focus on methods really new, introduced in an effort to achieve, eventually to determine ourselves trends of research and development of brewing and malting analytics.

3 SPECIAL ANALYSES

3.1 Krebs' Cycle Acids Determination

Cycle of tricarboxyl acids or Krebs' cycle is the real centre of the whole metabolism. It is responsible for the oxidation of majority of sugars, fatty acids and amino acids and it forms a number of biosynthetic precursors. The citrate cycle is mediated by eight enzymes, which together convert one molecule of acetyl-CoA into two CO_2 molecules so that three NADH, one FADH_2 and one GTP (or ATP) are obtained. NADH and FADH_2 are oxidized by oxygen in electron-transport chain at simultaneous synthesis of eleven ATP [2]. It results from the energetic balance that the citrate cycle is the significant metabolic procedure in which the essential ratio of free energy is obtained not only by cleavage of saccharides but of many other substances too. The amount of energy the grain needs to be able to start an active form of life, grain obtains just by biological oxidation of some easily metabolized grain compounds.

To identify the acids of the Krebs' cycle (ketoglutaric, citric, isocitric, malic, succinic, fumaric, oxalacetic acids we used izophoresis.

Izophoresis is an electrophoresis method enabling to separate anions and cations. Therefore it belongs among separate methods – mixture of substances is divided as a result of unequal ion mobility [3,4]. For the determination of the organic acids of the Krebs' cycle izotachophoresis was used by Boček et al. [5]. and Madajová et al. [6].

In our workplace we applied the given method for the identification and quantity analysis of the acids of the Krebs cycle in malt. Advantages in comparison with other methods lie first of all in minimal sample consumption and in possibility of an analysis without previous adjustment (besides possible deluting). The time needed for an analysis moves from 5 to 25 minutes. Simultaneously with one injection it is possible to assess all the mentioned organic acids (Fig. 1). And more at one injection it is also possible to assess oxalic acid, which plays a negative role both from the aspect of physiology of nutrition and in brewing technology [7]. Part in gushing is ascribed to oxalic acid which can cause, especially in a form of calcium oxalate, a well-known form of so called „oxalate turbidity“.

3.2 Pentosan Determination

The importance of barley arabinoxylans (pentosans) in industrial processes is much underestimated. Arabinoxylans of barley belong among non-cellulose polysaccharides. They occur especially in cell walls of aleuron cells and in starch endosperm. In minor amount it can also be found in a husk and probably in cell wall residues, which create further parental lattice surrounding a grain [8].

Arabinoxylans can form about only 1,5 % of barley endosperm weight but their ability to create solutions with high viscosity can considerably influence technological utilization of barley. Majority of arising difficulties at extraction, filtration

zována (1→3),(1→4)-β-glukanu, ale nerozložené arabinoxylany extrahované ze sladového zrna mohou také ovlivnit viskozitu extraktu, filtraci a možná i tvorbu jistých typů zákalů piva.

Na stanovení pentosanů byla vypracována spektrofotometrická metoda podle Douglase [9]. Autor modifikoval metodu Cracknell et al. [10]. Při stanovení se smíchá asi 5 mg mouky (ječmene, sladu) s extračním roztokem. Intenzita vzniklého oranžovo-červeného zabarvení se změří při A_{510} a A_{552} .

3.3 Stanovení vybraných antioxidantů

Je známo, že ječmen a slad jsou zdrojem řady látek, které mají antioxidantní účinky. Teorii radikálových reakcí, působení antioxidantů a popisu metodiky analýzy izomerů tokolů na pracovišti Sladařského ústavu v Brně byl v nedávné době věnován v Kvasném průmyslu samostatný článek [11]. Pro doplnění informací v něm uvedených je možno konstatovat, že v současné době je metoda testována s novým elektrochemickým detektorem. Bylo ověřeno, že vysoce citlivý detektor Coulochem II ve spojení s klasickou HPLC umožňuje zvýšení citlivosti stanovení izomerů tokoferolů a tokotrienolů oproti fluorescenčnímu detektoru až o několik řádů. Řádově vyšší citlivost detekce samozřejmě zvyšuje možnosti sledování elektroaktivních látek v průběhu výrobního procesu. Detektor také výrazně rozšiřuje spektrum sledovaných látek v závislosti na zvoleném elektroodovém potenciálu. V současnosti jsou k dispozici již stovky aplikací, převážně v oblasti biochemie, medicíny, farmacie a také potravinářského průmyslu.

3.4 Sledování senzoryckých aktivních látek

Část senzoryckých aktivních látek obsažených v pivu pochází ze sladu. Při výrobě sladu dochází v ječném zrne k chemickým reakcím, jejichž výsledkem jsou senzorycké aktivní látky nebo prekursori těchto látek. Mezi nimi hrají významnou úlohu heterocyklické a sírné sloučeniny. Některé z nich mohou svou senzoryckou aktivitou nepříznivě ovlivnit kvalitu piva i v extrémně nízkých koncentracích.

K extrakci senzoryckých aktivních látek ze sladu a piva jsme kromě – destilace vodní párou – využili i SPME, jako nové koncentrační techniky.

SPME – Solid Phase Micro Extraction je jednoduchá, rychlá a citlivá technika zakoncentrování analytu, která nevyžaduje rozpouštědlo [12]. Tato metoda našla uplatnění v mnoha oblastech analytické chemie, především při analýze těkavých látek. SPME je založena na sorpci analytů na povrchu křemenného vlákna, které je pokryto aktivní vrstvou sorbentu nebo polymeru. Vlákno může být ponořeno do kapaliny nebo v provedení „head-space“ SPME. Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdělovacího koeficientu analyt – vlákno. Zachycené látky jsou z vlákna termicky desorbovány na analytickou kolonu v nástřikovém bloku plynového chromatografu. Pro zakoncentrování senzoryckých aktivních látek ze sladu a piva jsme použili provedení „head-space“ SPME.

Z heterocyklických dusíkatých sloučenin jsou ze senzoryckého hlediska nejvýznamnější alkyl- a alkoxypraziny, jejichž množství v potravinách závisí na teplotě a pH.

Další významnou skupinou látek, které mohou nepříznivě ovlivnit jakost piva, jsou thiazoly. Byly prokázány v řadě potravin, podílejí se na organoleptických vlastnostech, a to někdy rozhodujícím způsobem. Většina z nich má charakteristický pach rostlinného materiálu. Např. benzthiazol pachem připomíná chinolin, i-butylthiazol listy rajčat. Vznikají patrně i následkem biochemických procesů, dále sledem reakcí s rozkladnými produkty sírných aminokyselin a sacharidů, respektive obecně karbonylových látek.

K identifikaci jednotlivých vyextrahovaných komponent jsme použili spojení GC-MS. Charakteristika vybraných identifikovaných sloučenin je uvedena v tab. 1.

and stability of the product, commonly accompanying malting and brewing are usually attributed to (1→3) (1→4)-β-glucan but non-decomposed arabinoxylans extracted from the malt grain can also influence viscosity of the extract, filtration, and possibly also formation of some types of beer turbidity.

For pentosan determination the spectrophotometric method was worked out according to Douglas [9]. The author modified the method of Cracknell et al. [10]. When determining we blend about 5 mg of flour (barley, malt) with an extract solution. Orange-red colouring is originated, the intensity of which is measured at A_{510} and A_{552} .

3.3 Determination of Selected Antioxidants

Barley and malt are known to be a source of a number of substances with antioxidant effects. The theory of radical reactions, antioxidant effect and description of tocopherol isomers analysis method in the workplace of the Malting Institute in Brno was dealt in Kvasný průmysl in a separate article [11]. To amend the information presented in it, we can state that in the present days the method has been tested with a new electrochemical detector. It was verified that a highly sensitive detector Coulochem II in a connection with classical HPLC enables to increase the sensitivity of tocopherol and tocotrienol isomer assessment in comparison with a fluorescent detector higher even in a few orders. The sensitivity of detection higher in orders of course increases possibilities of following electroactive substances in course of a production process. Detector also expressively distinguishes spectrum of observed substances dependently on the chosen electrode potential. At the present time hundreds of applications are already at disposal, mainly in the field of biochemistry, medicine, pharmacy and also in food industry.

3.4 Following of Sensorially Active Substances

Part of sensorially active substances contained in beer come from malt. At malt production chemical reactions are originated in barley grain, the result of which are sensorially active substances or precursors of these substances. Among them heterocyclic and sulphide compounds play an important role. Some of them can by their sensorial activity influence unfavourably the beer quality even in extremely low concentrations.

For the extraction of sensorially active substances from malt and beer we used, besides steam distillation, we used also SPME as a new concentration technique.

SPME – Solid Phase Micro Extraction is a simple, fast and sensitive technique of analyte concentration without the need of dissolvent [12]. This method has found its application in many areas of analytical chemistry, especially nonvolatile substances and odours analysis. SPME is based on sorption of analytes on the surface of quartz fiber covered with an active layer of sorbent or polymer. The fiber can be plunged into liquid or in "headspace" SPME set. The amount of extracted analyte depends on the value of dividing coefficient analyte – fibre. The caught substances are from the fibre thermally desorbed to an analytical column in the injection block of the gas chromatograph. For concentration of sensorially active substances from malt and beer we used "headspace" SPME set.

From the heterocyclic nitrogenous compounds from the sensorial view the most significant are alkyl- and alkoxyprazines, their amount in food depends on temperature and pH.

Another significant group of substances, which can unfavourably influence the beer quality are thiazols. They were detected in number of foodstuffs, they take part in organoleptic features and this sometimes in a decisive way. Most of them has a characteristic smell of a plant material. For example benzthiazol with its smell reminds of quinoline, i-butylthiazol tomato leaves. They originate, most probably, as a result of biochemical processes, further by the sequence of reactions with decomposing products of sulphide amino acids

3.5 Sledování reziduí pesticidů

Potraviny musí mít nejen vysokou nutriční hodnotu, ale současně musí být i zdravotně nezávadné. Mezi nejdiskutovanější tématy související s kvalitou potravinářských surovin a produktů náleží i problematika reziduí cizorodých látek, zejména pesticidů.

Pesticidy se staly samozřejmou součástí pěstebních technologií všech hlavních zemědělských plodin. Rozsah použití pesticidů po dočasném poklesu po roce 1990 znovu výrazně narůstá. Použití pesticidů zvyšuje jistotu zemědělské produkce a zajišťuje požadovanou rentabilitu pěstování. Na druhé straně přináší, zejména při nedodržení aplikační kázně, riziko nežádoucího obsahu reziduí v zemědělských produktech a následného nepříznivého ovlivnění kvality potravinářských produktů, včetně nebezpečí ohrožení zdraví konzumenta.

K hospodářsky nejvýznamnějším houbovým chorobám ječmene, proti nimž je pravidelně prováděna fungicidní ochrana, náleží především padlí travní, hnědá skvrnitost a rhynchosporiová skvrnitost ječmene. Proti těmto chorobám jsou používány především triazolové a benzimidazolové fungicidy. Jsou to látky s vysokým fungicidním účinkem, působí systémově a zajišťují dlouhodobou ochranu porostu proti napadení chorobami.

Z živočišných škůdců jsou hospodářsky významné především mšice, kohoutci a v některých letech také bejlomorka sedlová. Proti těmto škůdcům jsou používány především pyrethroidy, organofosfátové a karbamátové insekticidy. Organofosfátové insekticidy se používají také při hubení skladištních škůdců.

Kromě pesticidních látek, které jsou aplikovány na porosty ječmene během vegetace, je třeba věnovat pozornost také organochlorovaným pesticidům, které díky své perzistenci stále přetrvávají v životním prostředí, i když použití většiny z nich je již zakázáno.

Uvedená rizika vedla náš ústav k výzkumu možností kontroly reziduí pesticidů ve sladu a sladovnickém ječmeni.

Sledovány byly široce používané fungicidní účinné látky carbendazim, epoxiconazol, flusilazol, propiconazol, fenpropimorph a tridemorph a široce používané insekticidní látky lambda-cyhalotrin, deltamethrin, fenitrothion a pirimiphos-methyl. Dále jsme sledovaly vybrané perzistentní organochlorované insekticidní látky, a to HCB, lindan, DDT a jeho metabolity (DDE a DDD) [13,14].

Pesticidy jsou chemicky různorodou skupinou látek a neexistuje multireziduální metoda, která by jednou analýzou stanovila přítomnost reziduí v rostlinném materiálu. Použité metody se liší podle typu stanovovaných látek. Přehled jednotlivých analytických postupů je uveden v tab. 2.

Pracovní postup I: semletý, zhomogenizovaný vzorek sladu nebo ječmene se extrahoval organickým rozpouštědlem a po přečištění na sloupci modifikovaného silici-

Tab. 1

Charakteristika vybraných identifikovaných sloučenin <i>Characteristics of selected identified compounds</i>	
Sloučenina / Compound	Charakteristika / Characteristics
3-furalaldehyd / 3-furfuraldehyde	silně aromatický, ovocná / strongly aromatic, fruit
Benzaldehyd / Benzaldehyde	aromatický, sladký, hořké mandle / aromatic, sweet, bitter almonds
Benzacetaldehyd / Benzacetaldehyde	drsná chuť / rough taste
Benzthiazol / Benzthiazol	hořký, po gumě / bitter, gum
Indol / Indole	silná, jasmín, pomeranče / strong, jasmine, orange
Fernesyl / Fernesyl	Decentní, květinová / unobtrusive, flower
3-methylthio propanal / 3-methylthio propanal	aromatický, spálená / aromatic, burnt

foodstuff materials and products we also range problems of foreign matter residues, especially pesticides.

Pesticides have become an obvious part of growing technologies of all main agricultural crops. The range of pesticide use after temporary decline after the year 1990 has again expressively increased. Pesticide use increases the security of agricultural production and secures the required rentability of growing. On the other side it brings, especially when the application discipline is not maintained, the risk of undesirable residue content in agricultural products and subsequent unfavourable influence of food product quality, including the danger of consumers' health jeopardy.

Powdery mildew (*Blumeria graminis* (D.C.) Speer), net blotch of barley (*Pyrenophora teres Drechsler*) and barley leaf blotch (*Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J. Davis) to the economically most significant barley fungoid diseases against which fungicidal prevention is regularly carried out. Triazole and benzimidazole fungicides are mainly used against these diseases. They are substances with high fungicidal effect, they have system performance and they secure long-term protection of growth against disease attacks.

From the animal vermins aphides (*Aphidoidea*), lema cereal beetles (*Lema spp.*), and in some years also saddle gall midge (*Haplodiplosis marginata* Wagner) of wheat are important from the economical point of view. Against these vermins pyrethroids, organophosphorus and carbamate insecticides are especially used. Organophosphorus insecticides are also used for killing of storage vermins.

Besides pesticide substances, which are applied for barley during vegetation period, it is necessary to pay attention to halogenated organic pesticides, which due to their persistence keep on their prevailing in the environment though the use majority of them has already been forbidden.

The above-mentioned risks lead our institute to research of possibilities to check pesticide residues in malt and malting barley.

We observed widely used fungicidal effective substances carbendazim, epoxiconazol, flusilazol, propiconazol, fenpropimorph and tridemorph and widely used insecticide substances lambda-cyhalotrin, deltamethrin, fenitrothion and pirimiphos-methyl. Further we followed selected persistent organochlorated insecticides, e.g. HCB, lindan, DDT, and its metabolites (DDE and DDD) [13,14].

Pesticides are chemically

Tab. 2

Přehled pracovních postupů stanovení vybraných pesticidů <i>Survey of techniques of determination of selected pesticides</i>	
Pracovní postup Technique	Účinná látka pesticidu Pesticide Active Substance
I	flusilazol, fenpropimorph, propiconazol, epoxiconazol, tridemorph / flusilazole, phenpropimorph, propiconazole, epoxiconazole, tridemorph
II	carbendazim / carbendazim
III	lambda-cyhalothrin, deltamethrin / lambda-cyhalothrin, deltamethrin
IV	pirimiphos-methyl / pirimiphos-methyl
V	HCB, lindan, DDT, DDE, DDD / HCB, lindane, DDT, DDE, DDD

kagelu byl analyzován na plynovém chromatografu Fisons Instruments GC 8060 vybaveném hmotnostním detektorem Fisons Instruments Trio 1000. Vzhledem k velmi nízké koncentraci stanovovaných látek byl MS detektor nastaven v SIM modu.

Pracovní postup II: zhomogenizovaný vzorek byl extrahován organickým rozpouštědlem, extrakt byl přečištěn a opět extrahován organickým rozpouštědlem. Vlastní stanovení bylo provedeno na kapalinovém chromatografu Thermo Separation Products P 200 s využitím fluorescenčního detektoru.

Pracovní postup III: semletý, zhomogenizovaný vzorek byl extrahován organickým rozpouštědlem, filtrát z extraktu byl odpařen do sucha, odparek rozpuštěn v organickém rozpouštědle a přečištěn na sloupci Florisilu. Detekce byla provedena hmotnostním detektorem MS Trio 1000 (SIM mod) na přístroji Fisons Instruments GC 1000.

Pracovní postup IV: neupravený vzorek byl podroben statické extrakci organickým rozpouštědlem. Analýza byla provedena na přístroji Carlo Erba HRGC 5300 s využitím FPD detektoru. Identifikace přítomnosti účinné látky pesticidu byla potvrzena analýzou na plynovém chromatografu Fisons Instruments GC 8060 vybaveném hmotnostním detektorem Fisons Instruments Trio 1000 v plném SCAN režimu.

Pracovní postup V: semletý, zhomogenizovaný vzorek se extrahoval organickým rozpouštědlem a po přečištění s koncentrovanou kyselinou sírovou byl analyzován na plynovém chromatografu Fisons Instruments GC 8060 vybaveném hmotnostním detektorem Fisons Instruments Trio 1000 (SIM mod).

Literatura/References

- [1] KELLNER, V., Kvasny Prum. **46**, 2000, s. 324
- [2] VOET, D., VOETOVÁ, J., G.: Biochemie. Victoria Publishing, a.s., Praha, 1995
- [3] ZYKA, J. et al.: Nové směry analytické chemie, Praha, 1984
- [4] KANIANSKÝ, D.: Základní kurz izotachografie, Spišská Nová Ves, 1985
- [5] BOČEK, P.: J. Chromatogr. **117**, 1976, s. 97
- [6] MADAJOVÁ, V., et al.: J. Chromatogr. **210**, 1981, s. 313
- [7] HAVLOVÁ, P., ŠUSTA, J.: Kvasny Prum. **43**, 1997, s. 37
- [8] MacGREGOR, A., W., FINCHER, G., B.: Carbohydrates of barley grain., A.W. MacGregor, R.S. Bhaty (eds.), Barley: Chemistry and technology, AACC, 1993 St. Paul, Minnesota, USA
- [9] DOUGLAS, S.: Food Chemistry **7**, 1981, s. 139
- [10] CRACKNELL, R., L., MOYE, C., J.: Proc. 20th Ann. Conf. R.A.C.I. Canberra, 17-20 August, 1970, s. 67

Havlová, P. – Mikulíková, R. – Prýma, J.: Nové směry sladařské analytiky. Kvasny Prum. **47**, 2001, č. 6, s. 164–168.

V práci jsou popsány některé oblasti metodických postupů, používaných a vyvíjených v poslední době ve Sladařském ústavu Brno. Z pohledu obecného posuzování trendů, nových postupů a zájemů ve sladařské analytice se jedná o výběr neúplný, avšak ne zcela nahodilý. Na konkrétních příkladech je dokumentován živý vývoj sladařské analytiky v období posledních několika let.

Havlová, P. – Mikulíková, R. – Prýma, J.: New trends of malting analytics. Kvasny Prum. **47**, 2001, No. 6, p. 164–168.

The text describes some areas of methodical techniques, used and developed in the Malting Institute in Brno recently. From the point of view of general appreciation of trends, new techniques and matters of interest in malting analytics, the choice is certainly incomplete, but we believe that not quite incidental. First of all we tried to document on concrete examples a vivid development of the malting analytics in the period of last several years.

Havlová, P. – Mikulíková, R. – Prýma, J.: Neue Richtungen in der Mälzereianalytik. Kvasny Prum. **47**, 2001, Nr. 6, s. 164–168.

In der Arbeit werden einige Gebiete der methodischen Verfahren

heterogenous group of substances and so multiresidue screening method does not exist, which with one analysis would determine presence of residues in plant material. The methods used differ according to the type of determined and survey of individual analytical methods is presented in Table 2.

Technique I: Ground, homogenous sample of malt or barley was extracted by organic solvent and after purification on the column of modified silicagel it was analysed on the gas chromatograph Fisons Instruments GC 8060 equipped with mass detector Fisons Instrument Trio 1000. Regarding very low concentration of determined substances MS detector was adjusted in SIM mode.

Technique II: Homogenous sample was extracted by organic solvent, extract was purified and then it was again extracted with organic solvent. The determination itself was carried out on the liquid chromatograph Thermo Separation Products P 200 with use of fluorescent detector.

Technique III: Ground, homogenous sample was extracted by organic solvent, filtrate from extract was dry evaporated and evaporation residue dissolved in organic solvent and purified on the Florisil column. Detection was carried out by mass detector MS Trio 1000 (SIM mode) on the apparatus Fisons Instruments GC 1000.

Technique IV: Untreated sample was subjected to statical extraction by organic solvent. Analysis was carried on the equipment Carlo Erba HRGC 5300 with use of FPD detector. Identification of presence of active pesticide substance was confirmed by the analysis on the gas chromatograph Fisons Instruments GC 8060 equipped with mass detector Fisons Instruments GC 8060 equipped with mass detector Fisons Instruments Trio 1000 in full SCAN regime.

Technique V: Ground homogenous sample was extracted by organic solvent and after purification with concentrated sulphuric acid was analysed on the gas chromatograph Fisons Instruments GC 8060 equipped with mass detector Fisons Instruments Trio 1000 (SIM mode).

- [11] PRÝMA J. et al.: Kvasny Prum. **46**, 2000, s. 350
- [12] SONG J., FAN J., BEAUDRY R.M., : J. Agric. Food Chem. **46**, 1998, s. 3721
- [13] NAKAMURA Y., et al.: J. Agric. Food Chem. **42**, 1994, s. 2508
- [14] OSIBANJO O., ADEYEYE A.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **54**, 1995, s. 460

*Do redakce došlo 23. 4. 2001
Překlad Mgr. Vladimíra Nováková*

beschrieben, die in der letzten Zeit in dem Forschungsinstitut für Mälzerei in Brünn eingeführt, angewandt bzw. entwickelt wurden. Die getroffene Auswahl der präsentierten Methoden kann zwar vom Standpunkt der allgemeinen Bewertung neuer Methoden, Trends und interessanter Neuerungen nicht als eine erschöpfende Übersicht der Mälzereianalytik gehalten werden, sie kann jedoch auch nicht als ganz zufällig bezeichnet werden. Auf konkreten Beispielen wird die tatsächliche und lebensgerechte Entwicklung der Mälzereianalytik in dem Zeitabschnitt der letzten Jahre dokumentiert.

Гавлова, П. – Микуликова, Р. – Прýма, Ё.: Современные направления аналитических методов в солодоращении Kvasny Prum. **47**, 2001, № 6, стр. 164–168.

В статье объясняются некоторые области методических принципов, применяемых и разрабатываемых в настоящее время в Институте по солодоращению в г. Брно. С точки зрения общей оценки трендов и новых последовательностей в солодоращительной аналитике не является приведенный выбор исчерпывающим, однако не совсем случайным. На конкретных примерах документируется современное развитие аналитики в области солодоращения в периоде нескольких последних лет.