

# Stanovení obsahu *trans-2-nonenalu* v zrně ječmene, sladu a piva

## Determination of *Trans-2-Nonenal* in Barley Grain, Malt and Beer

ZDENĚK SVOBODA<sup>1</sup>, RENATA MIKULÍKOVÁ<sup>1</sup>, SYLVIE BĚLÁKOVÁ<sup>1</sup>, KAROLÍNA BENEŠOVÁ<sup>1</sup>, IVANA MÁROVÁ<sup>2</sup>, ZDENĚK NESVADBA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>VÚPS, a. s., Sladařský ústav Brno, Mostecká 7, 614 00 Brno / RIBM Plc, Malting Institute, Mostecká 7, 614 00 Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>FCH VUT v Brně, Purkyňova 118, 612 00 Brno / <sup>2</sup>FCH BUT, Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic

<sup>3</sup>Agrotest Fyto, s. r. o., Havlíčkova 2787/121, 768 01 Kroměříž / <sup>3</sup>Agrotest Fyto, Ltd., Havlíčkova 2787/121, 768 01 Kroměříž, Czech Republic

e-mail: svoboda@beerresearch.cz

**Svoboda, Z. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Benešová, K. – Márová, I. – Nesvadba, Z.: Stanovení obsahu *trans-2-nonenalu* v zrně ječmene, sladu a piva.** Kvasny Prum. 56, 2010, č. 11–12, s. 428–432.

*Trans-2-nonenal* je aldehyd podílející se na nepříjemné chuti a vůni žluklého másla ve skladovaném pivu. Cílem této práce byla optimalizace a zavedení automatizované metody SPME-GC pro stanovení obsahu *trans-2-nonenalu* v pivu a pivovarských surovinách. Pro extrakci HS-SPME bylo porovnáno pět typů vláken: 100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA. Nejvyšší výtěžnosti pro extrakci HS-SPME bylo dosaženo vláknem PDMS/DVB, doba extrakce 20 minut při teplotě 60 °C s přísadkou 1,5 g NaCl. Identifikace *trans-2-nonenalu* byla provedena metodou HS-SPME-GC-MS, vlastní analýza vzorků byla provedena automatizovanou metodou HS-SPME-GC-FID.

**Svoboda, Z. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Benešová, K. – Márová, I. – Nesvadba, Z.: Determination of *Trans-2-Nonenal* in Barley Grain, Malt and Beer.** Kvasny Prum. 56, 2010, No. 11–12, p. 428–432.

*Trans-2-nonenal* is an aldehyde contributing to an unpleasant off-flavor and odor of rancid butter in stored beer. The aim of this study was to optimize and introduce automated solid phase microextraction technique coupled with gas chromatography for determination of *trans-2-nonenal* in beer and brewing materials. Five types of SPME fibers coated with different stationary phases (100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA) were tested for their efficiencies in the headspace SPME. The highest HS-SPME extraction efficiency was achieved with the PDMS/DVB fiber and addition of 1.5 g of NaCl, extraction time was 20 minutes at 60 °C. *Trans-2-nonenal* was identified with the method of HS-SPME-GC-MS; the samples were analyzed using the HS-SPME-GC-FID technique.

**Svoboda, Z. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Benešová, K. – Márová, I. – Nesvadba, Z.: Die Bestimmung des *Trans-2-Nonenal*-gehalts im Gerstenkorn, im Malz und im Bier.** Kvasny Prum. 56, 2010, Nr. 11–12, S. 428–432.

*Trans-2-nonenal* ist ein Aldehyd mit einem Anteil am unangenehmen Geschmack und am Geruch der ranzigen Butter im gelagerten Bier. Das Ziel dieser Arbeit wurde die Einführung und Optimierung der automatisierten Methode SPME-GC zur Bestimmung des *Trans-2-Nonenal*-gehalts im Bier und in den Braurohstoffen. Für die HS-SPME Extraktion wurden fünf Fässersorten 100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS und 85 µm PA verglichen. Die höchste Ausbeute für die HS-SPME Extraktion wurde durch die Faser PDMS/DVB unter Zugabe 1,5 g NaCl, die Zeitdauer der Extraktion 20 Minuten, Temperatur 60°C erreicht. Durch die Methode HS-SPME-GC-MS wurde die Identifikation des *Trans-2-Nonenals* durchgeführt, für die eigene Musteranalyse wurde die automatisierte HS-SPME-GC-FID Methode angewandt.

**Klíčová slova:** ječmen, slad, pivo, *trans-2-nonenal*, SPME, plynová chromatografie

**Keywords:** barley, beer, gas chromatography, malt, SPME, *trans-2-nonenal*

## 1 ÚVOD

Obilky ječmene obsahují dva typy lipidů: zásobní a funkční. Zásobní lipidy, speciálně triglyceridy slouží jako zásobárna energie při mobilizaci specifických enzymů při poškození, nákaze a dalších stresujících faktorech nebo při klíčení. Když jsou zrna ječmene poškozena nesprávným skladováním nebo jsou vystavena určitým mikroorganismům, může dojít k degračním reakcím lipidů. Tyto reakce mohou být katalyzovány vlastními endogenními enzymy zrna nebo enzymy mikroorganismů v závislosti na environmentálních podmínkách nebo poškození. Lipasa a lipoxygenasa jsou dva hlavní enzymy ovlivňující degradaci lipidů v zrnech ječmene [1].

Hydrolyza triglyceridů je katalyzována lipasami, které jsou v zrně vždy přítomné. Mezi nepříznivé efekty jejich aktivity patří především změny v chuti a aroma potravin, rostoucí acidita olejů a uvolnění nenasyčených mastných kyselin, které jsou oxidovány lipoxygenasami [1, 2].

Specifickým substrátem lipoxygenasy je *cis,cis-1,4-pentadienová* struktura, kterou je možno nalézt u mastných kyselin jako je linolová, linolenová nebo arachidonová kyselina, degraduje je buď na volné kyseliny, triglyceridy nebo methyl (ethyl) estery. Primární produkty jsou opticky aktivní *cis-trans*-konjugované hydroperoxydy. Tyto hydroperoxydy jsou tvořeny radikálovým mechanismem a jsou buď rozloženy, nebo dále oxidovány na sekundární produkty jako jsou alkoholy, kyseliny, ketony nebo aldehydy, které mohou nepříznivě ovlivnit nutriční hodnotu, aroma, chuť a kvalitu potravin [1, 2].

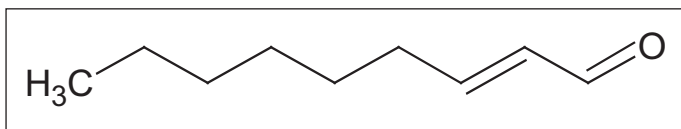
## 1 INTRODUCTION

Barley caryopses contain two types of lipids: storage and functional. Storage lipids, especially triglycerides, serve as a reservoir of energy for mobilization of specific enzymes at damage, infection and other stress factors and during germination. Lipid degradation reactions can occur when barley grains are damaged by incorrect storage or exposed to certain microorganisms. These reactions can be catalyzed by endogenous enzymes of the grain or the enzymes from microorganisms depending on the environmental conditions or damage. Lipase and lipoxygenase are two principal enzymes affecting the degradation of lipids in barley grains [1].

Hydrolysis of triglycerides is catalyzed by lipases which are always present in a grain. Adverse effects of their activity then include changes in food taste and aroma, increasing oil acidity and releasing unsaturated fatty acids oxidized by lipoxygenases [1, 2].

Lipoxygenase reacts specifically only with *cis, cis-1,4-pentadiene* structures, which can be found in fatty acids such as linoleic, linolenic or arachidonic acids, it degrades them either to free acids, triglycerides or methyl (ethyl) esters. The primary products are optically active *cis-trans*-conjugated hydroperoxides. These hydroperoxides are formed by a radical mechanism and they are either degraded or further oxidized to secondary products, such as alcohols, acids, ketones or aldehydes which can have an unfavorable impact on a nutritional value, aroma, taste and quality of food [1, 2].

Aldehyde *trans-2-nonenal* is a principal component contributing to

Obr. 1 Aldehyd *trans*-2-nonenal / Fig. 1 Aldehyde *trans*-2-nonenal

V uskladněném pivu je základní složkou podílející se na chuti žluklého másla aldehyd *trans*-2-nonenal (obr. 1) [3, 4]. Mechanismus tvorby *trans*-2-nonenalu v pivu je enzymatická nebo neenzymatická oxidace a oxidace volných mastných kyselin, kde svou roli sehrává právě lipoxygenasa [5].

Vzhledem k tomu, že aldehyd *trans*-2-nonenal je základní složkou podílející se na změnách chuti ve skladovaném pivu, byla optimalizována metoda automatické HS-SPME-GC pro stanovení této látky v pivu a pivovarských surovinách [6, 7]. Pro HS-SPME bylo porovnáváno 5 různých vláken (100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA) [8, 9].

Analýza vzorků byla provedena metodou HS-SPDE-GC-FID s vláknem PDMS/DVB.

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Použité chemikálie a standardy

*Trans*-2-nonenal – Sigma, USA; ethanol – Sigma, USA; NaCl – Sigma, USA; deionizovaná voda.

### 2.2 Materiál a přístroje

#### Materiál

Pro sledování obsahu *trans*-2-nonenalu v obilkách ječmene, sladech a pivech bylo analyzováno celkem 54 vzorků, 21 odrůd ječmene, 21 sladů z nich vyrobených a 12 piv.

#### Přístroje a pomůcky

Laboratorní mlýnek na jemné mletí – Retsch, Německo; analytické váhy – Mettler Toledo, USA; chlazená centrifuga – Sigma, Německo; vialky s víčky pro head space a uzavírací kleště 20 ml – CRS, USA; plynový chromatograf Trace Ultra s FID detektorem – Thermo Scientific, USA; autosampler CombiPal – CTC Analytics, Švýcarsko; plynový chromatograf Trace Ultra s hmotnostním detektorem – Thermo Scientific, USA; kapilární kolona Supelcowax (30 m x 0,25 mm I.D., 0,25 µm) – Supelco, USA; SPME vlákna (100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA) – Chromtech, Německo.

### 2.3 Optimalizace HS-SPME extrakce stanovení obsahu *trans*-2-nonenalu

Pro HS-SPME extrakci *trans*-2-nonenalu byl optimalizován typ SPME vlákna, teplota extrakce, doba extrakce a vliv přidavku NaCl na výtěžnost extrakce. Optimalizace byly prováděny s vodným roztokem, který obsahoval 10 µg standardu *trans*-2-nonenalu v 5 ml. Pro extrakci bylo testováno celkem pět SPME vláken: 100 µm PDMS, 65

µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA) [8, 9].

The samples were analyzed with the HS-SPME-GC-FID technique using the PDMS/DVB fiber.

off-flavor and odor of rancid butter in stored beer (Fig. 1) [3, 4]. Mechanism of *trans*-2-nonenal formation in beer is enzymatic or non-enzymatic oxidation and oxidation of free fatty acids where lipoxygenase plays an important role [5].

Considering the fact that the aldehyde *trans*-2-nonenal is a principal substance contributing to changes in taste of stored beer, the automated headspace solid phase microextraction technique coupled with gas chromatography (HS-SPME-GC) for the determination of this substance in beer and brewing materials was optimized. Five types of fibers were compared for the HS-SPME (100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA) [8, 9].

The samples were analyzed with the HS-SPME-GC-FID technique using the PDMS/DVB fiber.

## 2 EXPERIMENTAL

### 2.1 Chemicals and standards used

*Trans*-2-nonenal – Sigma, USA; ethanol – Sigma, USA; NaCl – Sigma, USA; deionized water.

### 2.2 Material and instrumentation

#### Material

A total set of 54 samples (21 barley varieties and 21 malts produced from them and 12 beers) was analyzed and content of *trans*-2-nonenal in barley caryopses, malts and beers were determined.

#### Instrumentation

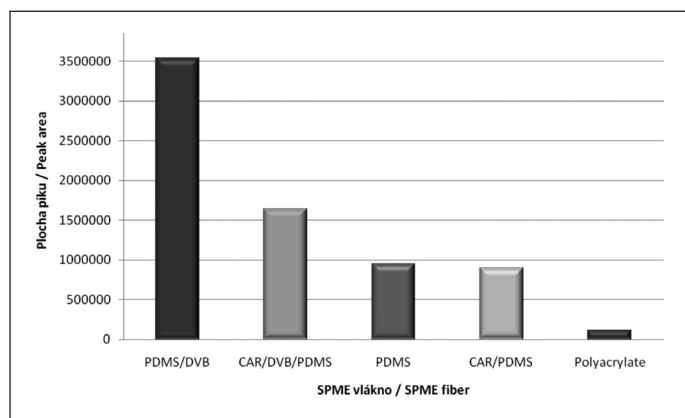
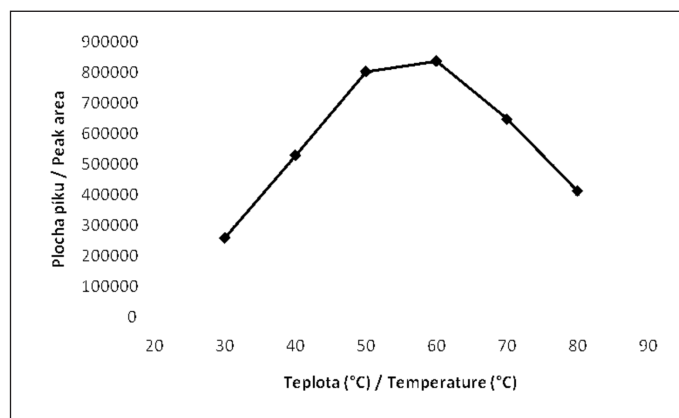
A laboratory mill for fine grinding – Retsch, Germany; analytical balances – Mettler Toledo, USA; cooling centrifuge – Sigma, Germany; head space vials (2 ml) and crimping pliers (20 ml) – CRS, USA; gas chromatograph Trace Ultra with FID detector – Thermo Scientific, USA; autosampler CombiPal – CTC Analytics, Switzerland; gas chromatograph Trace Ultra with mass detector – Thermo Scientific, USA; capillary column Supelcowax (30 m x 0,25 mm I.D., 0,25 µm) – Supelco, USA; SPME fibers (100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA) – Chromtech, Germany.

### 2.3 Optimization of HS-SPME extraction for determination of *trans*-2-nonenal content

For HS-SPME extraction of *trans*-2-nonenal, the type of a SPME fiber, extraction temperature, extraction time and the amount of added NaCl on extraction yield were tested and optimized. The optimization was performed with an aqueous solution containing 10 µg of *trans*-2-nonenal standard in 5 ml. Following five types of SPME fibers were tested: 100 µm PDMS, 65 µm PDMS/DVB, 85 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA. Fig. 2 shows the affinity of the individual fibers for *trans*-2-nonenal extraction.

Fig. 3 shows the dependency of extract yield efficiency of *trans*-2-nonenal on the sample temperature during extraction. The highest extraction efficiency was achieved at the sample temperature of 60 °C.

The effect of the extraction time of *trans*-2-nonenal at 60 °C is shown

Obr. 2 Výběr SPME vlákna pro extrakci *trans*-2-nonenalu / Fig. 2 Choice of the SPME fiber for the extraction of *trans*-2-nonenal

Obr. 3 Vliv teploty extrakce na výtěžnost SPME extrakce / Fig. 3 Effect of the extraction temperature on the efficiency of SPME extraction

µm PDMS/DVB, 65 µm CAR/PDMS, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS, 85 µm PA. Afinita jednotlivých vláken pro extrakci *trans-2-nonenalu* je znázorněna na obr. 2.

Na obr. 3 je znázorněna závislost výtěžnosti extrakce *trans-2-nonenalu* na teplotě vzorku při extrakci. Největší výtěžnosti bylo dosaženo při teplotě vzorku 60 °C.

Vliv doby extrakce *trans-2-nonenalu* při 60 °C je znázorněn na obr. 4. Z grafu je patrné, že největší výtěžnosti bylo dosaženo při extrakci po dobu 20 minut.

Při optimalizované teplotě a době extrakce byl sledován vliv přídávku (koncentrace) NaCl v analyzovaném vzorku na výtěžnost extrakce (obr. 5). Největší výtěžnost extrakce *trans-2-nonenalu* byla při přídávku 1,5 g NaCl do vialky se vzorkem.

## 2.4 Stanovení obsahu *trans-2-nonenalu* v obilkách ječmene a ve sladu

Do zábrusové Erlenmayerovy baňky bylo naváženo cca 5 g pomletého vzorku zrna ječmene nebo sladu, bylo přidáno 50 ml deionizované vody a po uzavření zábrusovou zátkou byl vzorek extrahován na laboratorní třepačce po dobu 15 minut. Po extrakci byl vzorek převeden do centrifugační zkumavky a za chladu byl při vysokých otáčkách centrifugován 15 minut. Do 20 ml head space vialky bylo naváženo 1,5 g NaCl a vloženo magnetické míchadlo. Do takto připravené vialky bylo napipetováno 5 ml supernatantu a vialka byla uzavřena kovovým víčkem se septem. Takto připravený vzorek byl analyzován metodou automatické HS-SPME-GC-FID.

## 2.5 Stanovení obsahu *trans-2-nonenalu* v pivu

Do 20 ml head space vialky bylo naváženo 1,5 g NaCl a vloženo magnetické míchadlo. Do takto připravené vialky bylo napipetováno 5 ml vychlazeného piva. Takto připravený vzorek byl analyzován metodou HS-SPME-GC-FID.

## 2.6 Instrumentace a chromatografické stanovení

Analýzy vzorků byly prováděny na plynovém chromatografu (Trace GC Ultra, Thermo Finigan) s plamenionizačním detektorem. K separaci analyzovaných látek byla použita kapilární kolona Supelcowax (30 m x 0,25 mm I.D, 0,25 µm – Supelco, USA) s následujícím teplotním programem: počáteční teplota 50 °C po dobu 2 min, nárůst teploty 8 °C.min<sup>-1</sup> do 200 °C, setrvání 5 min. Průtok nosného plynu He byl 1,5 ml.min<sup>-1</sup>. Kalibrační křivka byla lineární v rozsahu 0,03 do 3,4 µg.l<sup>-1</sup> s korelačním koeficientem 0,9998 (obr. 6).

## 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro SPME extrakci *trans-2-nonenalu* byl optimalizován typ SPME vlákna, teplota extrakce, doba extrakce a vliv přídávku NaCl na výtěžnost extrakce. Nejvyšší afinitu pro extrakci *trans-2-nonenalu* mělo vlákno PDMS/DVB.

Na základě experimentálních výsledků byla pro stanovení obsahu *trans-2-nonenalu* v obilkách ječmene, sladech a pivech zvolena metoda automatické HS-SPME-GC-FID s vláknem PDMS/DVB, doba extrakce 20 minut při teplotě 60 °C s přídávkem 1,5 g NaCl. Metoda

in Fig. 4. From the figure, it is evident that the highest extraction yield was achieved at the extraction for 20 minutes.

The effect of NaCl concentration in the analyzed sample on the extraction yield was studied at the optimized extraction temperature and time (Fig. 5). The highest extraction efficiency of *trans-2-nonenal* was achieved with the addition of 1.5 g of NaCl.

## 2.4 Determination of *trans-2-nonenal* content in barley grain and malt

A ground sample of barley or malt ( $\pm 5$  g) was weighed into an Erlenmayer flask, 50 ml of deionized water was added and the flask was closed. The sample was then extracted in a laboratory shaker for 15 minutes. After the extraction, the sample was transferred into a centrifuge tube and centrifuged at high-speed rotation at low temperature for 15 minutes. NaCl (1.5 g) was added into a 20 ml head space vial and a magnetic stirrer was inserted. 5 ml of supernatant was then pipetted into the vial. The vial was closed with a metal cap with septum and the sample was analyzed using the HS-SPME-GC-FID method.

## 2.5 Determination of *trans-2-nonenal* content in beer

1.5 g of NaCl was weighed out into a 20 ml beer head a space vial and a magnetic stirrer was inserted. 5 ml of cooled was then added with a pipette into the vial and the sample was analyzed using the HS-SPME-GC-FID.

## 2.6 Instrumentation and chromatographic determination

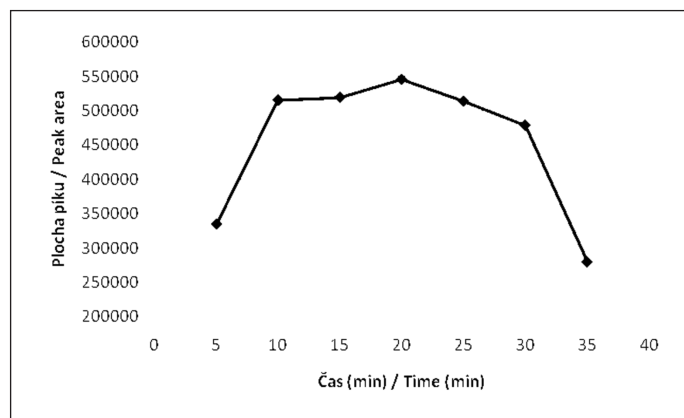
The gas chromatograph Trace GC Ultra with a flame ionization detector was used for the assessment of *trans-2-nonenal* in samples. For separation of the analyzed substances, the column Supelcowax (30 m x 0.25 mm I.D, 0.25 µm – Supelco, USA) with following thermal regime was used: initial temperature 50 °C for 2 min, then increase in temperature of 8 °C.min<sup>-1</sup> to 200 °C, held for 5 min. The flow rate of helium carrier gas was 1.5 ml.min<sup>-1</sup>. The calibration curve was linear in the range from 0.03 to 3.4 µg.l<sup>-1</sup> with the correlation coefficient of 0.9998 (Fig. 6).

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

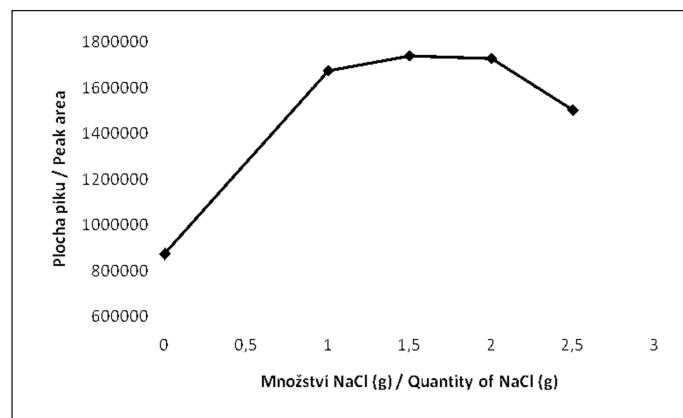
A type of the SPME fiber, extraction temperature and time and the effect of NaCl addition on extraction yield were optimized for SPME extraction of *trans-2-nonenal*. The PDMS/DVB fiber had the highest affinity for *trans-2-nonenal* extraction.

Based on the experimental results, the automated HS-SPME-GC-FID method with the PDMS/DVB fiber, time of extraction 20 minutes at 60 °C and with the addition of 1.5g NaCl was chosen for the determination of *trans-2-nonenal* content in barley caryopses, malts and beers. The HS-SPME-GC-FID method with the PDMS/DVB fiber for the determination of *trans-2-nonenal* content in a barley caryopsis, malt and beer was validated. Validation parameters are given in Tab. 1.

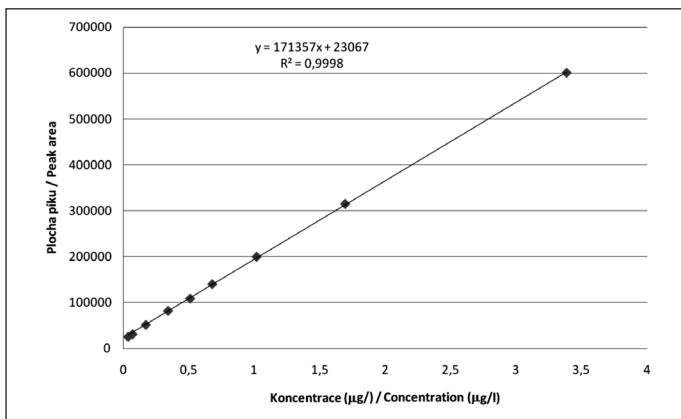
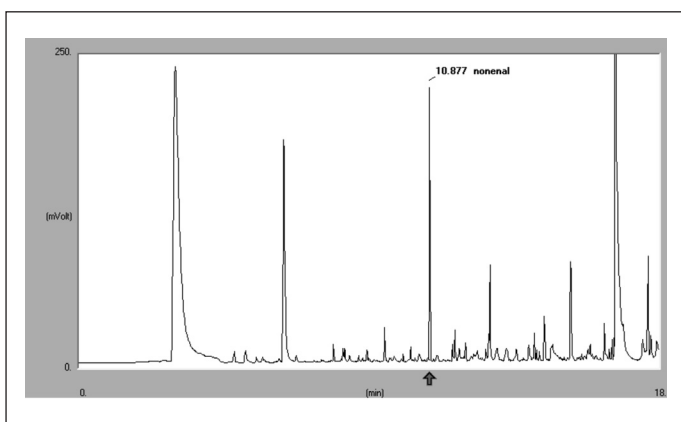
A total set of 54 samples (21 barley varieties and 21 malts produced from them and 12 beers) was analyzed and contents of *trans-2-nonenal* in barley caryopses, malts and beers were determined with the



Obr. 4 Vliv doby extrakce na výtěžnost SPME extrakce / Fig. 4 Effect of the extraction time on the efficiency of SPME extraction



Obr. 5 Vliv přídávku NaCl na plochu píku *trans-2-nonenalu* / Fig. 5 Effect of the NaCl addition on peak area of *trans-2-nonenal*

Obr. 6 Kalibrační křivka *trans*-2-nonenalu / Fig 6 Calibration curve of *trans*-2-nonenalObr. 7 Ukázka chromatogramu stanovení *trans*-2-nonenalu v pivu metodou automatické HS-SPME-GC-FID s vláknem PDMS/DVB / Fig. 7 A chromatogram of *trans*-2-nonenal determination in beer using the automated HS-SPME-GC-FID method with the PDMS/DVB fiber

HS-SPME-GC-FID s použitím vlákna PDMS/DVB pro stanovení obsahu *trans*-2-nonenalu v obilce ječmene, sladu a piva byla validována, validační parametry jsou uvedeny v tab. 1.

Pro sledování obsahu *trans*-2-nonenalu v obilkách ječmene, sladech a pivech bylo analyzováno celkem 54 vzorků. Z toho 21 odrůd ječmene, 21 sladů z nich vyrobených a 12 piv. Obsah *trans*-2-nonenalu ve vzorcích byl stanoven optimalizovanou HS-SPME-GC-FID metodou s vláknem PDMS/DVB. Obr. 7 zobrazuje ukázkový chromatogram stanovení *trans*-2-nonenalu ve vzorku piva metodou automatické HS-SPME-GC-FID s vláknem PDMS/DVB.

Výsledky obsahu *trans*-2-nonenalu ve vzorcích ječmene a sladu jsou uvedeny v tab. 2. V ječmenech se obsah *trans*-2-nonenalu pohyboval v rozmezí 0,28 – 3,06  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ve sladech v rozmezí 8,90–38,54  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Několikanásobně vyšší obsah *trans*-2-nonenalu ve sladu oproti zrně ječmene je způsoben zvýšenou enzymatickou aktivitou při sladování.

V tab. 3 jsou uvedeny výsledky obsahu *trans*-2-nonenalu ve vzorcích piva. Nejvyšší obsah *trans*-2-nonenalu byl zjištěn u piv nealkoholických a nejnižší obsah v pivech výčepních.

#### 4 ZÁVĚR

V 21 odrůdách ječmene, 21 sladech z nich vyrobených a 12 pivech byl stanoven obsah *trans*-2-nonenalu optimalizovanou metodou automatické HS-SPME-GC-FID s vláknem PDMS/DVB.

V ječmenech se obsah *trans*-2-nonenalu pohyboval v rozmezí 0,28 – 3,06  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , ve sladech v rozmezí 8,90–38,54  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Nejvyšší obsah *trans*-2-nonenalu byl zjištěn u piv nealkoholických a nejnižší obsah v pivech výčepních.

Tab. 1 Validační parametry stanovení *trans*-2-nonenalu / Validation parameters of *trans*-2-nonenal determination

Vzorek / Sample	LOQ	LOD	RSD (%)
Ječmen a slad / Barley and Malt	$15\cdot 10^{-2} \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$5\cdot 10^{-2} \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	8.3
Pivo / Beer	$15\cdot 10^{-3} \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	$5\cdot 10^{-3} \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	9.5

Tab. 2 Obsah *trans*-2-nonenalu ve vzorcích ječmene a sladu / *Trans*-2-nonenal content in barley and malt samples

Odrůda ječmene / Barley variety	<i>Trans</i> -2-nonenal ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	
	Ječmen / Barley	Slad / Malt
Wikingett	1.14	17.26
Troon	0.98	23.93
Cruiser	1.24	10.29
Bellevue	0.97	29.43
Biatlon	1.39	18.16
Mauritia	0.81	27.59
Ebson	0.83	38.54
NFC Tipple	0.89	10.31
Westminster	1.42	15.66
Publican	0.30	8.90
Marthe	1.74	26.86
Maltasia	3.06	12.07
Lissane	0.96	10.96
Musikant	0.28	15.82
Xanadu	1.18	2.77
Jersey	0.59	22.38
Malvaz	0.16	23.96
Binder	0.24	61.70
Tepelský 421	0.65	13.96
Ratbořský	0.38	9.07
Timori	0.96	1.89

optimized HS-SPME-GC-FID method with the PDMS/DVB fiber. Fig. 7 shows a chromatogram of the determination of *trans*-2-nonenal in a beer sample using the automated HS-SPME-GC-FID method with the PDMS/DVB fiber.

Tab. 2 summarizes the results of *trans*-2-nonenal in barley and malt samples. *Trans*-2-nonenal content in barleys ranged from 0.28 – 3.06  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , in malts it varied from 8.90 – 38.54  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Multiply higher *trans*-2-nonenal content in malt versus the barley grain was caused by an increased enzymatic activity at malting.

Tab. 3 summarizes the results of *trans*-2-nonenal content in beer samples. The highest *trans*-2-nonenal content was determined in non-alcoholic beers and the lowest values were found in dispensed beers.

#### 4 CONCLUSIONS

*Trans*-2-nonenal content was determined in 21 barley varieties, 21 malts made from them and 12 beers using the optimized automated HS-SPME-GC-FID method with the PDMS/DVB fiber.

*Trans*-2-nonenal contents in barleys ranged from 0.28 – 3.06  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , in malts it moved from 8.90 – 38.54  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The highest *trans*-2-nonenal content was determined in non-alcoholic beers and the lowest in dispensed beers.

#### Acknowledgements

The presented results were obtained within the solution of the research project of The National Agency for Research in Agriculture of MA CR (identification code QH 81056).

Tab. 3 Obsah trans-2-nonenalu ve vzorcích piva / Trans-2-nonenal content in beer samples

Vzorek / Sample	Světle výčepní pivo / Pale dispensed beer (n=4)	Světly ležák / Pale lager beer (n=4)	Nealkoholické pivo / Nonalcoholic beer (n=4)
Trans-2-nonenal ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	1.01 – 3.44	1.06 – 4.02	3.39–20.28

**Poděkování**

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

**LITERATURA / REFERENCES**

- Angelo, St., A. J., Ory, L. R.: Lipid Degradation During Seed Deterioration, Symposium: Deterioration Mechanisms in Seeds, Southern Regional Research Center, ARS, US Department of Agriculture, 1983.
- Velíšek, J.: Chemie potravin 1, Osis, Tábor, 2002, 117–161.
- 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.
- 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.
- 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, 315–320.
- Basařová, G., Šavel, J., Basař, P., Lejsek, T.: Pivovarství. VŠCHT, Praha, 2010, ISBN 978-80-7080-734-7.
- 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.
- Scherer, R., Wagner, R., Hoffmann Kowalski, C., Teixeira Godoy, H.: (E)-2-Nonenal determination in Brazilian beers using headspace solid-phase microextraction and gas chromatographic coupled mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS), Ciênc. Tecnol. Aliment. **30**, supl.1 Campinas, 2010, 161–165.
- Veselý, P. et al.: Analysis of aldehydes in beer using solid-phase microextraction with on-fiber derivatization and gas chromatography/mass spectrometry. J. Agric. Food Chem. **51**, 2003, 6941–6944.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 6. 9. 2010

Přijato k publikování / Accepted for publication: 7. 10. 2010



# 21.

## REPREZENTAČNÍ SLAVNOSTI PIVA TÁBOR

Více než 100 českých i evropských pivovarů  
v soutěži o **ZLATOU PIVNÍ PEČEŤ 2011**

1.–4. února 2011

[WWW.SLAVNOSTIPIVATABOR.CZ](http://WWW.SLAVNOSTIPIVATABOR.CZ)

*Předběžná informace:*

## 24. PIVOVARSKO-SLADAŘSKÉ DNY

se budou konat

**9. září 2011**

**v Brně**

Organizátoři akce:

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s.

**VŠCHT v Praze**

Mendelova univerzita, Brno

Pro další informace sledujte  
následující čísla Kvasného průmyslu  
[www.beerresearch.cz](http://www.beerresearch.cz)