

LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS UNIVERSITĀTE  
*LATVIA UNIVERSITY OF AGRICULTURE*

PĀRTIKAS TEHNOLOĢIJAS FAKULTĀTE  
*FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY*

*Mg. cib. hyg.* **Ilona Dabiņa-Bicka**



**ANTIOKSIDANTU DINAMIKA IESALA UN  
ALUS RAŽOŠANĀ**

***THE DYNAMICS OF ANTIOXIDANTS DURING  
MALT AND BEER PRODUCTION***

Promocijas darba kopsavilkums inženierzinātņu doktora zinātniskā grāda  
iegūšanai pārtikas zinātnes nozarē

*Summary of promotion work for acquiring the Doctor's degree of Engineering  
Sciences in sector of Food Sciences*

Jelgava  
2013

Promocijas darba vadītāja /

*Scientific supervisor:*

Prof. Dr. sc. ing. **Daina Kārkliņa**

Promocijas darba konsultante /

*Scientific adviser:*

Vad.pētniece Dr. sc. ing. **Zanda Krūma**

Oficiālie recenzenti / *Official reviewers:*

Prof. Dr. sc. ing. **Viesturs Kreicbergs** (Latvijas Lauksaimniecības universitāte / *Latvia University of Agriculture*)

LZA akadēmiķis, Prof. Dr. habil. biol. **Īzaks Rašals** (Latvijas Universitāte / *Latvia University*)

Pētniece / *Researcher* Dr. biol. **Dace Tirzīte** (Latvijas Organiskās sintēzes institūts / *Latvian Institute of Organic Synthesis*)

Darba izstrāde un noformēšana veikta ar ESF projekta ‘Pārtikas nozares zinātniski pētnieciskās grupas izveide’ No.2009/0232/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/122., VPP No.08-VP-9-9 un ESF projekta ‘Atbalsts LLU doktora studiju īstenošanai’, Vienošanās Nr. 2009/0180/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/017 atbalstu.

*Doctoral thesis has been worked out by financial support of ESF project ‘Formation of the Research Group in Food Science’, contract No.2009/0232/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/122., VPP No.08-VP-9-9 and ESF project ‘The support for implementation of LUA doctoral studies’ contract No. 2009/0180/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/017*



**Promocijas darba aizstāvēšana notiks** LLU Pārtikas zinātnes nozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2013. gada 18. decembrī plkst. 13<sup>00</sup> 145. auditorijā Pārtikas tehnoloģijas fakultātē, Lielā ielā 2, Jelgavā.

*The defence of the thesis in open session of the Promotion Board of Food Science will be held on December 18, 2013, at 13<sup>00</sup> in auditorium 145, at the Faculty of Food Technology of LUA, Liela street 2, Jelgava.*

Ar promocijas darbu un kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā Lielā ielā 2, Jelgavā, LV-3001, un internetā (pieejams: [http://lluifb.llu.lv/promoc\\_darbi.htm](http://lluifb.llu.lv/promoc_darbi.htm)). Atsauksmes sūtīt Pārtikas zinātnes nozares promocijas padomes sekretārei LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes docentei Dr. sc. ing. **I. Beitānei** (Liela iela 2, Jelgava, LV-3001, e-pasts: [ilze.beitane@llu.lv](mailto:ilze.beitane@llu.lv)).

*The thesis is available at the Fundamental Library of the Latvia University of Agriculture, Liela street 2, Jelgava LV-3001, and on internet: <http://lluifb.llu.lv/>*  
*References are welcome to send to Dr. sc. ing. **I. Beitānei**, the Secretary of the Promotion Board in sector of Food Science at LUA, Faculty of Food Technology, Liela street 2, Jelgava, LV-3001, Latvia or e-mail: [ilze.beitane@llu.lv](mailto:ilze.beitane@llu.lv).*

ISBN 978-9984-861-61-6 (online)

## SATURS

Pētījuma aktualitāte .....	4
Zinātniskā darba aprobācija.....	6
Materiāli un metodes .....	9
Pētījuma rezultāti un diskusija .....	16
1. Miežu fizikāli-ķīmisko parametru un endogēno antioksidantu satura izvērtējums .....	16
2. Iesala bioaktīvo vielu izvērtējums un ražošanas tehnoloģijas ietekme uz antioksidantu satura izmaiņām.....	21
3. Iejavošanas un misas vārīšanas procesa ietekme uz antioksidantu saturu .....	23
4. Kopējo fenolu saturs alū pēc raudzēšanas, noguldīšanas un filtrācijas procesiem .....	28
Secinājumi.....	33

## CONTENT

Topicality of the research .....	34
Approbation of the research .....	36
Materials and methods .....	36
The results and discussion.....	38
1. Evaluation of physical-chemical parameters and content of endogenous antioxidants of barley.....	38
2. Evaluation of bioactive substances and the influence of production technology on changes of the content of antioxidants in malt .....	41
3. Influence of mashing and wort boiling process on antioxidant content.....	42
4. Total phenolic content in beer after fermentation, maturation and filtration .....	45
Conclusions .....	47

## PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Alus pieder pie alkoholiskajiem dzērieniem un tāpēc alu saista ciešā kontekstā ar alkoholisma problēmu. Parādot etanola negatīvo ietekmi uz cilvēka veselību, veiktajos pētījumos maz ir pievērsta uzmanība pārējiem savienojumiem, kas nonāk gala produktā no augu izcelsmes izejvielām, kurām piemīt noteikta bioloģiskā aktivitāte. Tikai pagājušā gadsimta beigās, veicot pētījumus par sarkanvīna ietekmi uz dažādu slimību norisi, konstatēja arī etanolu saturošu augu izcelsmes alkoholisko dzērienu pozitīvās īpašības.

Eiropas Savienībā ir vērojams alus patēriņa kritums, tomēr Latvijā novērojama pretēja tendence un alus patēriņš pieaudzis no 70 litriem līdz 81 litram uz vienu iedzīvotāju gadā. Alus ir trešais populārākais dzēriens pasaulē un tāpēc arvien aktuālāks kļūst jautājums par alus reālo vai potenciālo ietekmi uz cilvēka veselību.

Pamatizeviela alus gatavošanai ir iesals. To ķīmiskā sastāva pamatkomponente ir ciete, kas fermentu darbības rezultātā iejaukas vārīšanas procesā sadalās mono- un disaharīdos un pāriet pārraudzējamā suspensijā. Iegūtajā suspensijā no iejaukas pāriet arī citas iesala ekstraktvielas – olbaltumvielas, vitamīni, minerālvielas, fermenti, fenoli u.c. (Кунце, 2003).

Iesala gatavošanai pamatā izmanto plēkšņainos (*Hordeum vulgare* L.) miežus, bet kailgraudu miežu izmantošana pēdējos gados pasaulē tiek atzīta kā viens no potenciāli attīstāmajiem virzieniem pārtikā un dzērienu rūpniecībā. Kailgraudu miežu graudiem konstatēts augsts ekstraktvielu saturs, kas savukārt nodrošina augstāku etanola saturu gala produktā vai lielāku alus iznākumu. Šī iemesla dēļ alus ražošanas uzņēmumiem kailgraudu miežu iesala izmantošana varētu būt ekonomiski izdevīgāka. Tos veiksmīgi izmanto viskija (Agu *et al.*, 2009) un pārtikas iesala ražošanā (Bhatty, 1996), bet to lietošana alus gatavošanai līdz šim nav plaši pētīta.

Latvijā ir tikai viena 2011. gadā reģistrēta kailgraudu miežu šķirne 'Irbe', kaut gan pirmie izmēģinājumi ar tiem Priekuļos veikti jau 19. gadsimta un pagājušā gadsimta 20. – 30. gados turpināti Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūtā. Arī pasaulē pēdējos desmit gados aktualizēta un atsākta kailgraudu miežu selekcija un pētījumi. Salīdzinoši ar plēkšņainiem miežiem, kailgraudu mieži raksturojas ar lielāku endospermu, un līdz ar to ar augstāku bioaktīvo savienojumu, tajā skaitā fenolu un vitamīnu, saturu, kuriem piemīt antioksidatīvas īpašības un tos klasificē kā antioksidantus.

Antioksidanti ir vielas, kas palīdz aizsargāt organismu no brīvo radikāļu pārprodukcijas. Brīvie radikāļi spēj izraisīt šūnu bojājumu, vājinot imūnsistēmu un veicinot infekciju un dažādu deģeneratīvu slimību attīstīšanos. Zinātnieki uzskata, ka brīvo radikāļu radītie bojājumi ir organisma novecošanās pamatā. Ar uzturu uzņemtie antioksidanti samazina vēža un sirds-asinsvadu slimību rašanās risku. Tādēļ pēdējā laikā aug zinātnieku, pārtikas ražotāju un patērētāju interese par antioksidantiem un to saturu uzturlīdzekļos (Kahkonen *et al.*, 1999). Savienojumus ar antioksidatīvām īpašībām galvenokārt pārstāv augu valsts – dārzeņi, augļi, augu eļļas, saknes, garšaugi un graudaugi (Kahkonen *et al.*, 1999). Antioksidantu aktivitāti rakturo tā antiradikālā aktivitāte.

Iesala un miežu antiradikālo aktivitāti veido fenoli un tajos esošie flavonoīdi un atsevišķas fenolskābes, piemēram kafijskābe (Pejin *et al.*, 2009). 70–80% polifenolu, kurus satur alus, nonāk tajā no miežiem, bet pārējie 20–30% – no aņiņiem. Polifenolu labvēlīgā ietekme uz veselību ir atkarīga no to uzņemtā daudzuma un biopieejamības (Manach, 2004). Miežu graudi un no tā gatavotais iesals satur arī citus savienojumus ar antioksidantu īpašībām kā C, E vitamīnus.

Izpētot antioksidantu dinamiku alus ražošanas procesa dažādos posmos un izvērtējot atsevišķu antioksidantu satura izmaiņas tehnoloģisko režīmu ietekmē, iespējams mainīt vai pilnveidot alus ražošanas procesu ar mērķi maksimāli saglabāt bioloģiski aktīvo vielu saturu gala produktā.

Latvijā šādi pētījumi par antioksidantu saturu un to izmaiņām alus gatavošanas procesā ar vietējiem selekcionētiem plēkšņainiem un kailgraudu miežu graudiem un no tiem gatavotu iesalu un alu nav veikti.

**Promocijas darba hipotēze:** plēkšņaino un kailgraudu miežu šķirnes un līnijas nosaka alū esošo endogēno antioksidantu (fenolu, C un E vitamīnu) saturu, kas variē izmantoto tehnoloģisko procesu ietekmē, iegūstot iesalu un alu.

Promocijas darba hipotēzi pierāda ar **aizstāvamām tēzēm**:

- 1) endogēno antioksidantu saturu miežos nosaka šķirne un tips (kailgraudu vai plēkšņaino),
- 2) antioksidantu saturu iesalā būtiski ietekmē iegūšanas tehnoloģija un iesala veids,
- 3) endogēno antioksidantu saturs mainās iejavošanas pauzēs un misas vārīšanas laikā,
- 4) misas raudzēšana un alus filtrācija būtiski ietekmē atsevišķu antioksidantu saturu un antiradikālo aktivitāti,
- 5) fenolu sastāvs gatavā alū ir atkarīgs no alus veida (tumšais vai gaišais) un šķirnes.

**Promocijas darba mērķis** ir izpētīt kailgraudu un plēkšņaino miežu graudos esošo antioksidantu dinamiku, gatavojot iesalu un alu.

Darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

- 1) noteikt un salīdzināt plēkšņaino un kailgraudu miežu graudu fizikāli-kīmiskos rādītājus un to atbilstību alus ražošanas izejvielu kvalitātes prasībām,
- 2) analizēt jauno Latvijā selekcionēto kailgraudu miežu līniju un šķirnes piemērotību iesala un alus ražošanai, lietojot tradicionālas tehnoloģijas,
- 3) noteikt endogēno antioksidantu – fenolu, C un E vitamīnu – saturu un to izmaiņas tehnoloģiskajos etapos: mieži – iesals, iesals – misa, misa – alus,
- 4) pētīt antiradikālās aktivitātes un kopējo fenolu satura dinamiku tehnoloģiskajos etapos: mieži – iesals, iesals – misa, misa – alus,

- 5) veikt alus ražošanas tehnoloģisko etapu izvērtējumu endogēno antioksidantu saglabāšanai produktā,
- 6) identificēt antiradikālās aktivitātes, kopējo un atsevišķo fenolu, E un C vitamīnu savstarpējo mijiedarbību alus gatavošanā,
- 7) klasificēt komerciāli ražotos un pētījumā sagatavotos alus paraugus pēc pamatrādītājiem un fenolu savienojumu satura.

Promocijas darba **novitāte un zinātniskais nozīmīgums.**

Izpētīta plēkšņaino un kailgraudu miežu graudu līniju un šķirņu endogēno antioksidantu dinamika iesala un alus ražošanas procesā to bioloģiskās vērtības noteikšanai un saglabāšanai.

Noteiktas E un C vitamīnu izmaiņas nozīmīgākajos iesala un alus ražošanas posmos.

Izanalizētas kailgraudu graudu miežu izmantošanas iespējas iesala un alus ražošanā, izmantojot esošās iesala un alus ražošanas iekārtas un tehnoloģijas.

Promocijas darba **tautsaimnieciskā nozīme.**

Izpētot Latvijā selekcionētu jauno kailgraudu miežu graudu līniju un šķirnes rādītājus un izvērtējot to izmantošanas iespējas iesala un alus rūpniecībā, iegūtie dati dod priekšstatu selekcijas darbu tālākai veikšanai amilolītiko fermentu aktivitātes paaugstināšanai, kā arī olbaltumvielu un  $\beta$ -glikānu satura samazināšanai kailgraudu miežu graudos.

Izvēloties iesalu ar augstu antiradikālo aktivitāti un optimālus iesala un alus ražošanas tehnoloģiskos režīmus, alū tiek paaugstināts bioloģiski aktīvo vielu saturs.

Fenolu sastāva un to īpašību izziņāšana ļauj prognozēt alus bioloģisko vērtību, kā arī procesus, kuru rezultātā, veidojas nelabvēlīga alus smarža/garša un koloidālas nogulsnes, kas būtiski var izmainīt gatavā alus kvalitāti.

## ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

**Pētījumu rezultāti apkopoti un publicēti** monogrāfijas nodaļās, četros recenzējamos zinātniskos izdevumos, kurus ir atzinusi Latvijas Zinātnes padome, un publicēšanai iesniegts viens manuskripts.

**Monogrāfijas apakšnodaļas / *The sub-chapters of the monography* – 3**

1. **Dabiņa-Bicka I.** (2012) Vitamīnu satura dinamika graudos iesala gatavošanas un mīsas vārīšanas laikā. **No:** *Bioloģiski aktīvās vielas pārtikas produktos*. Red.: E.Straumīte, R.Galoburda, Z.Krūma, I.Ciproviča, J.Zagorska. Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Pārtikas tehnoloģijas fakultāte. Jelgava: SIA Jelgavas tipogrāfija, 76-78. lpp.
2. **Dabiņa-Bicka I., V.Ozoliņa** (2012) Fenolu savienojumi graudos. **No:** *Bioloģiski aktīvās vielas pārtikas produktos*. Red.: E.Straumīte, R.Galoburda, Z.Krūma, I.Ciproviča, J.Zagorska. Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Pārtikas tehnoloģijas fakultāte. Jelgava: SIA Jelgavas tipogrāfija, 200-202. lpp.

3. **Dabiņa-Bicka I.**, Z. Krūma, R.Riekstiņa-Doļģe (2012) Fenolu savienojumi alkoholisko dzērienu ražošanā. **No:** *Bioloģiski aktīvās vielas pārtikas produktos*. Red.: E.Straumīte, R.Galoburda, Z.Krūma, I.Ciproviča, J.Zagorska. Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Pārtikas tehnoloģijas fakultāte. Jelgava: SIA Jelgavas tipogrāfija, 213-217. lpp.

#### **Publikācijas / Publications – 5**

1. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Rakcejeva T., Sniedzane R., Kviesis J. (2010) Dynamics of vitamins C and E in barley products during malting. **In:** *Research for Rural Development 2010. Annual 16th International Scientific Conference Proceedings*. 19-21 May, 2010, Jelgava Latvian University of Agriculture. Jelgava: LLU. Vol.1, p. 111-116. (EBSCO)
2. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z. (2011) Polyphenols and vitamin E as potential antioxidants in barley and malt. **In:** *FOODBALT-2011: 6th Baltic conference on food science and technology "Innovations for food science and production"*: conference proceedings, 5-6 May, 2011, Jelgava. Latvia University of Agriculture, Faculty of Food Technology, Jelgava: LLU. p. 121-126. (SCOPUS)
3. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z. (2011) Antiradical activity of different barley varieties and malt types. **In:** *Research for Rural Development 2011. Annual 17th International Scientific Conference Proceedings*. 18-20 May, 2011, Jelgava, Latvian University of Agriculture, Jelgava: LLU. Vol. 1, p. 87-92. (EBSCO)
4. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z. (2011) Evaluation of total phenolic contents of barley varieties and malt. **In:** *International Food Congress "Novel approaches in food industry"*. NAFI 2011: *proceedings* [elektroniskais resurss]. 26-29 May, 2011, Çeşme-Izmir, Turkey, Ege University. Faculty of Engineering. Department of Food Engineering. Bornova, Izmir. Vol.2, p.673-678. CD format.
5. **Dabiņa-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z., Dimins F. (2013) Bioactive compounds in Latvian barley beer. *Latvijas Lauksaimniecības Universitātes Raksti. (iesniegts publicēšanai / to hand in publishing)*.

**Par rezultātiem ziņots** astoņās starptautiskās zinātniskās konferencēs un kongresos Latvijā, Turcijā, Dienvidāfrikā, Čehijā, Lietuvā, kā arī izstādēs „RīgaFood 2010, 2011”.

1. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Rakcejeva T., Sniedzane R., Kviesis J. Dynamics of vitamins C and E in barley products during malting. **In:** *Research for Rural Development 2010. Annual 16th International Scientific Conference Proceedings*. 19-21 May, 2010, Jelgava, Latvian University of Agriculture. (Mutiskais referāts / oral presentation).
2. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Sniedzane R. Extract substances, Proteins and Starch content in Hull-less Barley Bred in Latvia. **In:** *15<sup>th</sup> World Congress of Food Science and Technology*, 22-29. August, 2010, Cape Town, South Africa. (Stenda referāts / poster presentation)

3. Šabovics M., Skudrs I., **Dabiņa-Bicka I.**, Ozola L., Gedrovica I., Ozoliņa V., Kozlinskis E., Kunkulberga D., Straumīte E., Kerčs G. Graudi un to pārstrādes produkti inovatīvu produktu izstrādē. *15. Starptautiskā izstāde „RīgaFood 2010”*, 10. septembris, 2010, Latvija, Rīga. (Mutiskais referāts / *oral presentation*).
4. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z. Polyphenols and vitamin E as potential antioxidants in barley and malt. **In:** *FOODBALT-2011: 6th Baltic conference on food science and technology "Innovations for food science and production"*: conference proceedings, 5-6 May, 2011, Jelgava, Latvia University of Agriculture, Faculty of Food Technology. (Stenda referāts / *poster presentation*).
5. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z. Antiradical Activity of Different Barley Varieties and Malt Types. **In:** *Research for Rural Development 2011. Annual 17th International Scientific Conference*. 18-20 May, 2011, Jelgava, Latvian University of Agriculture. (Mutiskais referāts / *oral presentation*).
6. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z. Evaluation of total phenolic contents of barley varieties and malt. **In:** *International Food Congress "Novel Approaches in Food Industry"*. NAFI 2011: *proceedings* [elektroniskais resurss]. 26-29. May, 2011, Çeşme-Izmir, Turkey, Ege University, Faculty of Engineering. Department of Food Engineering. (Stenda referāts / *poster presentation*).
7. Šabovics M., Skudrs I., **Dabiņa-Bicka I.**, Ozola L., Kozlinskis E., Kunkulberga D., Straumīte E., Kerčs G., Dimiņš F., Kļava D., Kantiķe I. Jaunākie pētījumi par graudiem un to pārstrādes produktiem. **No:** *16. Starptautiskā izstāde „RīgaFood 2011”*, 9. septembris, 2011, Latvija, Rīga. (Mutiskais referāts / *oral presentation*).
8. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z., Dimins F., Kapitonovs S., Changes in content of antioxidant substances during barley wort production. **In:** *FOODBALT-2012: 7<sup>th</sup> Baltic conference on food science and technology "Innovative and Healthy Food for Consumers"*, 17-18 May, 2012, Kaunas, Lithuania, Kaunas University of Technology, Department of Food Technology. (Mutiskais referāts / *oral presentation*).
9. **Dabiņa-Bicka I.** Dynamics of antioxidants during barley production. **In:** *PhD Study Trip Finland & Baltics – 2012*: student conference of Holland Wageningen university. 16 May, 2012, LUA, Jelgava, Latvia. (*Mutiskais referāts / oral presentation*).
10. **Dabina-Bicka I.**, Karklina D., Kruma Z., Dimins F. (2012) Bioactive compounds in Latvian barley beer. **In:** International conference on new knowledge on chemical reactions during food processing and storage "Chemical reactions in foods VII". 14-16 November, 2012, Prague, Czech Republic, Institute of Chemical Technology, Department of Food Analysis and Nutrition. (Stenda referāts / *poster presentation*).



## MATERIĀLI UN METODES

### **Pētījumu laiks un vieta**

Pētījumi veikti laika posmā no 2009. līdz 2012. gadam šādās iestādēs:

Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātē, Pārtikas tehnoloģijas katedras Mikrobioloģijas zinātniskajā laboratorijā, *Dr. agr.* Edgara Žubecka pārtikas produktu analīžu laboratorijā, Ķīmijs katedras Dabas vielu ķīmijs zinātniskajā laboratorijā,

LLU Lauksaimniecības fakultātes Graudu un sēklu mācību zinātniskajā laboratorijā,

LLU Agronomisko analīžu zinātniskajā laboratorijā,

Latvijas Universitātes Bioloģijas institūtā,

Latvijas Valsts Augļkopības institūtā,

AS „Aldaris” Pildīšanas iecirkņa laboratorija,

AS „Vikingmalt” Kauņa, Lietuva, Graudu un iesala laboratorijā.

### **Pētījumā izmantotie materiāli**

Pētījumā izmantotas divas plēkšņaino miežu (turpmāk tekstā – plēkšņainie mieži) šķirnes ‘Roland’ un ‘Class’ un četras kailgraudu graudu miežu līnijas (turpmāk tekstā – kailgraudu mieži) – ‘PR–3528’, ‘PR–3537’, ‘PR–L–400’, ‘PR–3475’. 2011. gadā līnija PR–3528 reģistrēta ar šķirnes nosaukumu ‘Irbe’, tāpēc tālāk tekstā saukta kā šķirne, nevis līnija.

Pētījumā tika izmantoti četri komerciāli ražoti iesalu veidi: Pilzenes, Minhenes, gaišais karamelu un dedzinātais iesals.

Pētījumā izmantoti granulēti apiņi (*Humulus lupulus* L.).

Alus raudzēšanai izmantots raugs *Saccharomyces pastorianus*.

Salīdzināšanai tika analizētas mazumtirdzniecībā iegādātās, dažādu ražotāju gaišā un tumšā alus šķirnes.

### **Iesala un alus gatavošanas tehnoloģija**

Eksperimentālā iesala gatavošana notika atbilstoši klasiskai Pilzenes tipa iesala ražošanas tehnoloģijai un kvalitātes prasībām. Iejavošanai izmantoja infūzijas metodi. Vienai daļai laboratorijā iegūtās misas paraugiem pievienoja apiņus  $1\text{g l}^{-1}$ , tālākais paraugu sagatavošanas process bija identisks misai vārtai ar apiņiem un bez apiņiem. Alus paraugu gatavošanas tehnoloģija atbilst klasiskajai gaišā alus ražošanas tehnoloģijai. Misas raudzēšanai izmantoja alus raugu *Saccharomyces pastorianus* ( $0,9\text{ l hl}^{-1}$ ). Alu filtrēja caur kartona plākšņu filtru  $0,45\ (\mu\text{m})$ .

### **Pētījumu struktūra**

Pētījumā iegūto datu interpretācijai, pētāmie paraugi šifrēti (1. tabula). Alus iesala un alus ražošanas cikls sadalīts trīs etapos: mieži – iesals, iesals – misa, misa – alus. Katrs etaps ietver tehnoloģiskos procesus, pēc kuru veikšanas analizēja iegūto paraugu. Etapi ir apzīmēti ar skaitļiem (1., 2., 3...). Paraugi, kas sagatavoti no plēkšņaino miežu šķirnes apzīmēti ar burtu ‘P’, bet paraugi no kailgraudu graudu miežiem ar burtu ‘K’. Kailgraudu graudu miežu šķirnes un līniju veids apzīmēts ar

romiešu skaitļiem (I, II, III un VI). Ražošanas apstākļos sagatavotie paraugi apzīmējumā satur burtu 'R', laboratorijas apstākļos – burtu 'L'. Paraugi, kas satur apiņus apzīmēti ar mazo burtu 'a'.

Pētījumā analizēti divu veidu miežu graudu paraugi – plēkšņainie un kailgraudu –, kuri izmantoti kā izejmateriāls iesala un alus ražošanas tehnoloģiskajā procesā (1. attēls). Pētījums veikts saskaņā ar klasisko iesala (1), misas (2) un alus (3) ražošanas tehnoloģiju.

**1. tabula / Table 1**

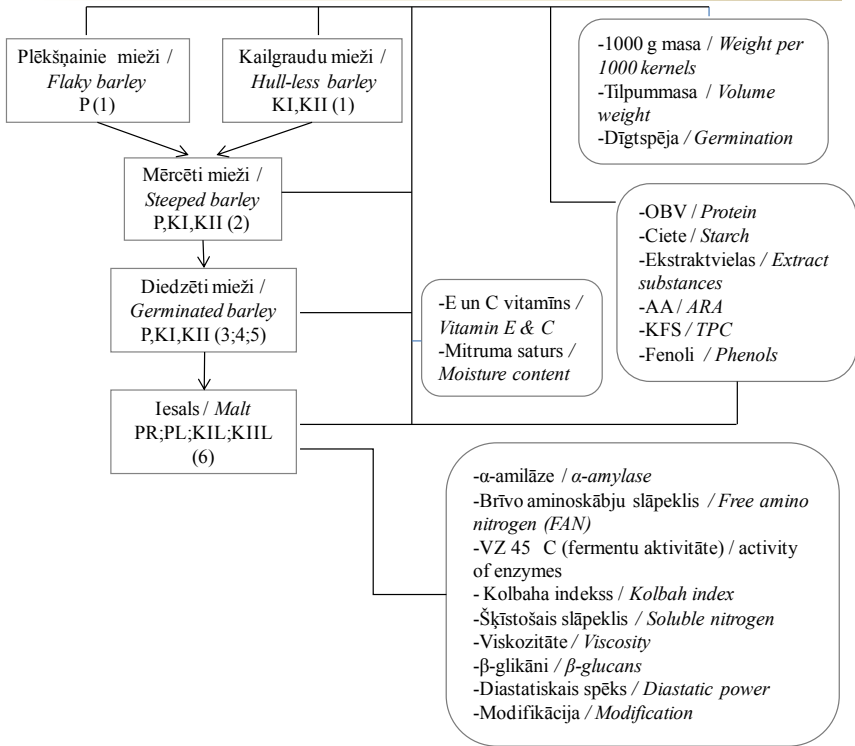
**Pētījumā analizēto paraugu apzīmējumi /  
Codes of analysed samples used in the reserch**

Etapas / Step	Etapas Nr. / No. of step	Produkts / Product	Paraugs / Sample						
			Plēkšņainie mieži 'Class' / Flaky barley		Kailgraudu miežu graudi / Hull-less barley				Plēkšņainie un kailgraudu miežu graudi / Flaky and hull-less barley
			PR- 3528	PR- 3537	PR- 3475	PR- L-400	'Class' – 75%; PR-3528 – 25%		
Mieži – iesals / Barley – malt	1.	Mieži / Barley	P	KI	KII	KIII	KIV	–	
	2.	Mērcēti mieži Steeped barley	P	KI	KII	–	–	–	
	3.	Diedzēti mieži 2 diennaktis / Germinated barley, 2 days	P	KI	KII	–	–	–	
	4.	Diedzēti mieži 4 diennaktis / Germinated barley, 4 days	P	KI	KII	–	–	–	
	5.	Diedzēti mieži 6 diennaktis / Germinated barley, 6 days	P	KI	KII	–	–	–	
	6.	Iesals / Malt	PR*	PL**	KIL	KIIL	KIIIL	KVIL	PKIL
Iejava – misa / Mash – Wort	7.	Iejava / Mash 57 °C	PR	PL	KIL	–	–	–	PKIL
	8.	Iejava / Mash 63 °C	PR	PL	KIL	–	–	–	PKIL
	9.	Iejava 72 / Mash °C	PR	PL	KIL	–	–	–	PKIL
	10.	Misa / Wort	PR	PL	–	–	–	–	PKIL

1. tabulas turpinājums / *Continue of the Table 1*

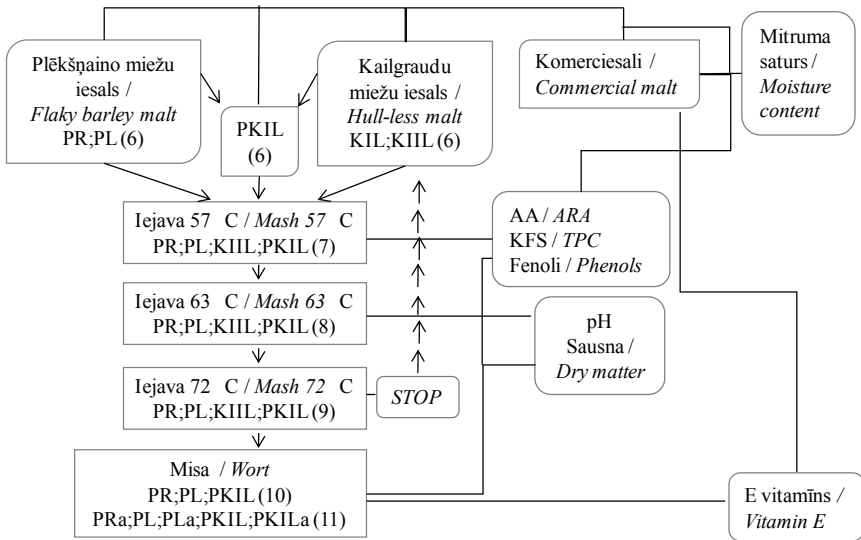
Etapas / Step	Produkts / Product	Paraugs / Sample						
		Plēkšņainie mieži 'Class' / Flaky barley 'Class'		Kailgraudu miežu graudi / Hull-less barley				Plēkšņainie un kailgraudu miežu graudi / Flaky and hull-less barley
				PR- 3528	PR- 3537	PR- 3475	PR- L-400	
Iejava – mīsa / Mash – Wort	11. Vārīta mīsa ar apiņiem / Boiled wort with hops	PRa	PLa	–	–	–	–	PKILa
	Vārīta mīsa bez apiņiem /Boiled wort without hops	–	PL	–	–	–	–	PKIL
Mīsa – alus / Wort – Beer	12. Jaunalus ar apiņiem / Young beer with hops	PRa	PLa	–	–	–	–	PKILa
	Jaunalus bez apiņiem/ Young beer without hops	–	PL	–	–	–	–	PKIL
	13. Alus ar apiņiem / Beer with hops	PRa	PLa	–	–	–	–	PKILa
		Alus bez apiņiem / Beer without hop	–	PL	–	–	–	–
	14. Filtrēts alus ar apiņiem / Filtrated beer with hops	PRa	PLa	–	–	–	–	PKILa
		Filtrēts alus bez apiņiem / Filtrated beer without hops	–	PL	–	–	–	–

## 1. Mieži – iesals / Barley – malt

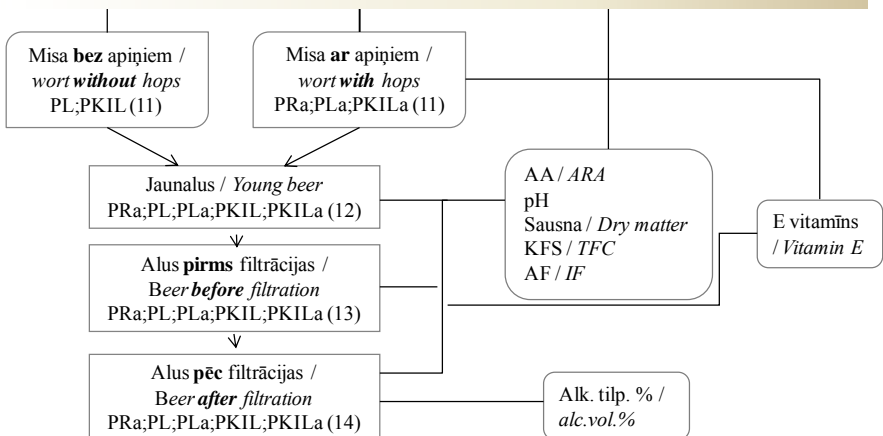


1. att. Pētījuma struktūra 1) mieži – iesals /  
Fig. 1. Structure of the research 1) barley – malt

2. Iesals – misa / Malt – wort



3. Misa – alus / Wort – beer



1. att. Pētījuma struktūra 2) iesals – misa un 3) misa – alus / Fig. 1. Structure of the research 2) malt – wort and 3) wort – beer

## Pētījumā noteiktie rādītāji un lietotās metodes

Miežu un iesalu paraugu analizēm izmantotās metodes apkopotas 2. tabulā.

2. tabula / Table 2

### Miežu un iesalu paraugu analizēm izmantotie standarti<sup>1</sup> un analīžu metodes / Standards and analytical methods used for analysis of barley and malt

Nr. p. k. / No	Rādītāji / Indices	Standarts, metode / Standard, method
1.	Olbaltumvielas / <i>Protein</i>	Ekspress metode; EBC 4.3.1.
2.	Kolbaha indekss / <i>Kolbach index</i>	EBC 4.9.1.
3.	Šķīstošais slāpeklis / <i>Soluble nitrogen</i>	EBC 4.9.1.
4.	Ciete / <i>Starch</i>	Ekspress metode
5.	Tilpummasa / <i>Volume weight</i>	Ekspress metode
6.	$\beta$ -glikāni / <i><math>\beta</math>-glucane</i>	Ekspress metode; EBC 4.16.2.
7.	Mitruma saturs / <i>Moisture content</i>	LVS 272:2000; EBC 4.2.
8.	Ekstraktvielas / <i>Extract substances</i>	EBC 4.5.1.
9.	1000 graudu masa / <i>Weight per 1000 grains</i>	ISO 520:2010
10.	C vitamīns / <i>Vitamin C</i>	EN 14130:2003
11.	E vitamīns / <i>Vitamin E</i>	AOAC 971.30
12.	Graudu dīgtspēja / <i>Germination</i>	EBC standarts, metode 3.5.2:1997
13.	Kopējo fenolu saturs / <i>Total phenolic content</i>	Dorman <i>et al.</i> , 2004.
14.	Antiradikālā aktivitāte / <i>Antiradical activity</i>	Zhao <i>et al.</i> , 2008.
15.	Atsevišķie fenoli / <i>Individual phenols</i>	AEŠH / <i>HPLC</i> Ozkan, Baydar, 2006.
16.	Viskozitāte / <i>Viscosity</i>	EBC 8.4.
17.	VZ 45 °C / <i>Activity of enzymes</i>	LP <i>Research center methods</i>
18.	Brīvo aminoskābju slāpeklis / <i>Free amino nitrogen (FAN)</i>	EBC 4.10.
19.	Diastatiskais spēks / <i>Diastatic power</i>	EBC 4.12.
20.	$\alpha$ -amilāze / <i><math>\alpha</math>-amylase</i>	EBC 4.13.
21.	Modifikācija / <i>Modification</i>	EBC 4.14.

<sup>1</sup> LVS 272: 2000 (ISO 520:2010); LVS EN 14130:2003 [Skatīts 23.05.2011.] Pieejams / Available: <https://www.lvs.lv/>  
AOAC Official Method 971.30 *a*-Tocopherol and *a*-Tocopheryl Acetate in Foods and Feeds Colorimetric Method [Skatīts 06.12.2009.] Pieejams/ Available: [http://www.aoc.org/omarev1/971\\_30.pdf](http://www.aoc.org/omarev1/971_30.pdf)

Iejavas, misas un alus paraugu analizēm izmantotās metodes apkopotas 3. tabulā.

3. tabula / Table 3

**Iejavas, misas un alus paraugu analizēm izmantotie standarti<sup>2</sup> un analīžu metodes /  
Standards and analytical methods used for analysis of mash,  
wort and beer samples**

Nr. p. k. / No	Rādītāji / Indices	Standarts, metode / Standard, method
1.	pH	LVS 1132: 2001
2.	Sausna / <i>Dry weight</i>	ГОСТ 12787–81
3.	E vitamīns / <i>Vitamin E</i>	AOAC 971.30
4.	Kopējo fenolu saturs / <i>Total phenolic content</i>	Dorman <i>et al.</i> , 2004.
5.	Antiradikālā aktivitāte / <i>Antiradical activity</i>	Zhao <i>et al.</i> , 2008.
6.	Atsevišķie fenoli / <i>Individual phenols</i>	AEŠH / HPLC Ozkan, Baydar, 2006.
7.	Īstais ekstrakts / <i>Real extract</i>	ГОСТ 12787–81
8.	Alkohola saturs, tilp. % / <i>alc.vol.%</i>	ГОСТ 12787–81

**Datu matemātiskā apstrāde** veikta ar matemātiskās statistikas metodēm. Aprēķini veikti ar *MS Excel* programmu un *SPSS 17.0.* statistikas programmu. Izvirzītās hipotēzes pārbaudītas ar p-vērtības metodi, un faktori novērtēti kā būtiski, ja p-vērtība  $< \alpha_{0,05}$ . Rezultātu interpretācijai pieņemts, ka  $\alpha=0,05$  ar 95% ticamību, ja nav norādīts citādi. Datu apstrādē vispirms ar divfaktoru dispersijas analīzi (*ANOVA*) tiek izvērtēta divu dažādu faktoru mijiedarbības ietekme. Izvērtējot dažādu pazīmju savstarpējo kopsakarību, izmanto korelācijas un regresijas analīzi. Darbā izmantota hierarhijas klāsteru metode, ar kuras palīdzību var klasificēt datu kopu apakšgrupās jeb klāsteros. Katrā klāsterī tiek apvienoti savstarpēji visciešāk saistītie objekti. Metode izmantota komerciāli ražotu alus paraugu klasificēšanai pēc pamatrādītājiem (alkohola satura, īstā ekstrakta un sausnas satura pirmisā).

<sup>2</sup> LVS 272: 2000 (ISO 520:2010); LVS EN 14130:2003 [Skatīts 23.05.2011.] Pieejams / Available: <https://www.lvs.lv/>. AOAC Official Method 971.30 a-Tocopherol and a-Tocopheryl Acetate in Foods and Feeds Colorimetric Method [Skatīts 06.12.2009.] Pieejams / Available: [http://www.aoac.org/omarev1/971\\_30.pdf](http://www.aoac.org/omarev1/971_30.pdf)

# PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

## 1. Miežu fizikāli-kīmisko parametru un endogēno antioksidantu satura izvērtējums

Iesala ražošanā svarīgākie graudu kvalitātes rādītāji ir olbaltumvielu un ekstraktvielu saturs graudos. Optimālais olbaltumvielu saturs iesalam paredzētajos graudos ir 9–11,5%. Olbaltumvielas spēj saistīt ūdeni un radīt noturīgus koloidālus šķīdumus. Temperatūras un citu apstākļu ietekmē olbaltumvielas zaudē spēju šķīst ūdenī un veido nogulsnes, tādēļ alus gatavošanai nav piemērotas miežu šķirnes ar augstu olbaltumvielu saturu. Miežu piemērotību iesala ražošanai raksturo arī ekstraktvielu saturs graudos. Iesalā jābūt vismaz 80% ekstraktvielu. Tās ir vielas, kas viegli pāriet cukuros fermentu un skābju ietekmē<sup>3</sup>.

Analizējot iegūtos datus (4. tabula), tālākiem pētījumiem tika izmantota plēkšņaino miežu šķirne ‘Class’ (P), jo tajā ekstraktvielu un cietes saturs ir augstāks nekā šķirnes ‘Roland’ graudos. No kailgraudu miežu paraugiem tika izvēlēta šķirne ‘Irbe’ (KI), kurai ir zemāks olbaltumvielu saturs nekā līnijām ‘PR–3475’ un ‘PR–L–400’ un augstāks ekstraktvielu un cietes saturs nekā pārējiem kailgraudu graudu miežu paraugiem. Otrs lielākais ekstraktvielu saturs ir līnijai ‘PR–3475’ salīdzinot ar pārējām kailgraudu graudu šķirnēm, tāpēc to arī izvēlējamies tālākiem pētījumiem, neskatoties uz paaugstināto olbaltumvielu saturu.

4. tabula / Table 4

Miežu šķirņu un līniju atlases parametri /  
Selection parameters of barley varieties and lines

Mieži / Barley		Apzīmējums / Code	OBV / Protein, %	Ekstraktvielas / Extract substances, %	Ciete / Starch, %
Kailgraudu miežu graudi / Hull-less barley	‘Irbe’	KI	12.60 ± 0.10	85.37 ± 0.24	63.77 ± 0.06
	PR–L–400	–	14.60 ± 0.38	84.45 ± 0.24	63.90 ± 0.95
	PR–3475	–	14.50 ± 0.23	85.12 ± 0.12	62.60 ± 0.60
	PR–3537	KII	12.50 ± 0.20	84.58 ± 0.28	63.70 ± 0.18
Plēkšņainie mieži / Flaky barley	‘Class’	P	11.01 ± 0.01	80.61 ± 0.34	62.77 ± 0.15
	‘Roland’	–	11.51 ± 0.40	80.04 ± 0.04	62.10 ± 0.84
*Prasības alus miežiem / Requirements for beer barley		–	max 11.50	min 80.00	62.00–65.00

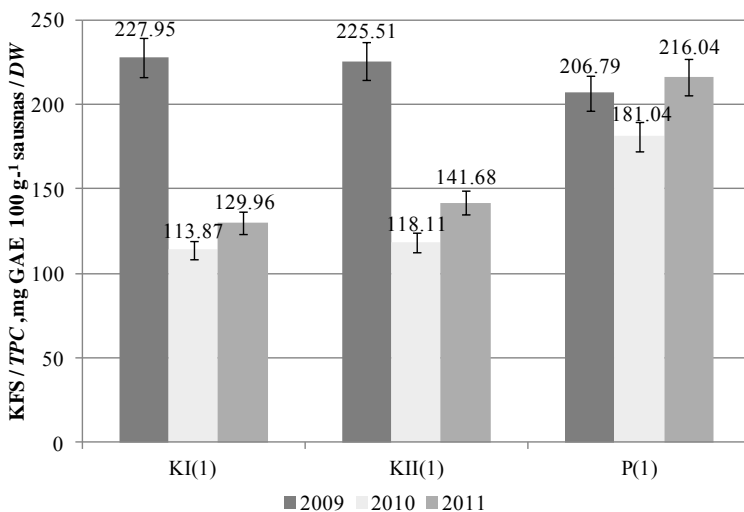
<sup>3</sup> kvalitātes prasības miežiem Pilsener tipa iesala ražošanai / Qualitative indices of barley for Pilsener malt production

<sup>3</sup>Miežu graudi iesala ražošanai [Skatīts 23.04.2013.] Pieejams / Available: <http://www.graudi.info/graudi/text?page=graudi>



Vislielāko ieguldījumu graudu antiradikālajā aktivitātē dod tajos esošie bioaktīvie, sekundārie metabolīti kā fenoli (Zhao *et al.*, 2008). Kopējais fenolu saturs miežos ir atkarīgs no šķirnes, veida un augšanas apstākļiem. Dažādos ražas gados pētītajos miežu paraugos kopējo fenolu saturs svārstās robežās no 113,87 līdz 227,95 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> kailgraudu miežu KI un KII sausnā un no 181,04 līdz 216,04 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> plēkšņaino miežu P sausnā (2. attēls). Iegūtie dati ir līdzīgi citu autoru pētījumu rezultātiem: 132–196 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas (Liu, Yao, 2007), 103–187 GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnā (Zhao *et al.*, 2006), 50–196 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnā (Fardet *et al.*, 2008), kā arī kailgraudu miežiem 70–110 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnā (Dvorakova *et al.*, 2008).

Analizējot 2010. un 2011. gadu miežu graudu ražu, var secināt, ka plēkšņaino miežu paraugam P ir lielāks kopējo fenolu saturs nekā kailgraudu graudu miežiem KI un KII (2. attēls). 2009. ražas gadā kailgraudu miežu paraugi KI un KII satur lielāku fenolu daudzumu kā plēkšņaino miežu paraugs P. Būtiskās ( $p < 0,05$ ) kopējo fenolu satura atšķirības dažādos ražas gados vienam un tam pašam paraugam iespējams skaidrot ar augšanas apstākļu atšķirībām, kā arī ar izmantotā sēklmateriāla īpašībām. Vienādi klimatiskie apstākļi nenodrošina līdzīgu kopējo fenolu saturu dažādiem miežiem. Dvorakova *et al.*, (2008) savos pētījumos apgalvo, ka kopējo fenolu saturs miežos nav saistīts ar grauda plēksnes esamību vai trūkumu. Kopējo fenolu saturu miežos nosaka sēklmateriāla fizikāli-ķīmiskie rādītāji, klimatiskie un agrārie apstākļi. Miežu veids – kailgraudu vai plēkšņainie – nav noteicošais faktors kopējo fenolu saturam.



2. att. Kopējo fenolu saturs (KFS) miežos dažādos ražas gados, mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas /

Fig. 2. Total phenolic content (TPC) of barley by different harvested years, mg GAE 100 g<sup>-1</sup> DW

No fenolu savienojumiem miežos noteikti: benzoskābes, kanēļskābes atvasinājumi un flavanolu grupas savienojumi. Apskatot benzoskābes atvasinājumu grupu kopumā, kailgraudu miežu paraugi satur par 0,118–0,209 mg 100 g<sup>-1</sup> vairāk benzoskābes atvasinājumu nekā plēkšņainie mieži P. Visiem analizētajiem miežu paraugiem galluskābe netika konstatēta.

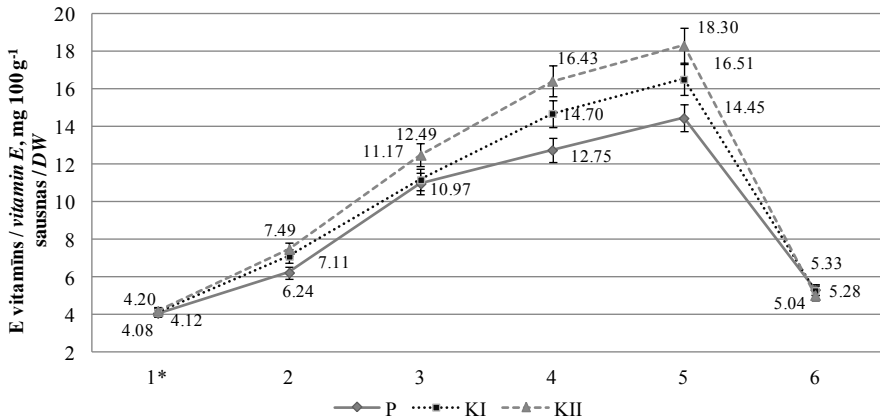
Kailgraudu miežu paraugiem KI un KII ir būtiski ( $p < 0,05$ ) lielāks kopējo kanēļskābes atvasinājumu saturs, kas ir pretrunā ar Holtekjolen *et al.* (2006) pētījumu, kurā lielāks kopējo fenolu saturs ir plēkšņaino miežu paraugiem. Tas skaidrojams ar paraugu genotipu un kailgraudu miežu selekcijas mērķiem, kā arī ar atšķirīgu paraugu ekstrakcijas metodi. No kanēļskābes atvasinājumiem kafijskābei piemīt augstāka antiradikālā aktivitāte nekā ferulskābei (Holtekjolen *et al.*, 2006). Taču pētījumam izmantotajai plēkšņaino alus miežu šķirnei P kafijskābe netika konstatēta. Sinapīnskābe netika identificēta nevienā no analizējamiem paraugiem. Tā pēc satura ir vismazākā fenolskābe visā iesala un alus ražošanas procesā, bet kvalitatīvi dod lielāku ieguldījumu antiradikālajā produktu aktivitātē salīdzinājumā ar vairāk pārstāvētajām fenolskābēm (Szwajagier, 2009). Abos kailgraudu miežu paraugos dominējošā fenolskābe ir kafijskābe: 2,465 mg 100 g<sup>-1</sup> un 4,4 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas atbilstoši šķirnē KI un līnijā KII. Šī fenolskābe arī nosaka kopējo kanēļskābes atvasinājumu summas pārsvaru salīdzinājumā ar plēkšņaino miežu paraugu P. *p*-kumarīnskābe vairāk koncentrējas miežu grauda ārējā daļā nekā ferulskābe (Renger, Steinhart, 2000). Šis apgalvojums ir saskaņā ar pētījumu, kur plēkšņaino miežu sastāvā *p*-kumarīnskābe pārsniedz ferulskābes saturu. Arī kailgraudu miežiem ir novērojams 2,7 līdz 4,4 reizes lielāks *p*-kumarīnskābes nekā ferulskābes saturs, kaut gan kailgraudu mieži nesatur plēksnes.

Flavanolu saturs ģenētiski ir atkarīgs no miežu veida. Plēkšņainos miežos flavanolu ir mazāk nekā kailgraudu miežos (Holtekjolen *et al.*, 2006). Iegūtie rezultāti saskan ar iepriekšminēto pētījumu. Plēkšņainiem miežiem P flavanolu saturs ir par 1,347 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas mazāk nekā kailgraudu miežu līnijai KII un par 1,983 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas mazāk nekā kailgraudu miežu šķirnei KI. Dominējošais flavanols visos analizētajos miežu paraugos ir katehīns, bet epikatehīna daudzums ir relatīvi neliels. Tieši flavanolu grupas pārstāvji, ieskaitot katehīnus, ir savienojumi, kas alus gatavošanas un uzglabāšanas laikā kopā ar olbaltumvielām veido alus nogulsnes (Nack, Shahidi, 2006). Tāpēc aldari dod priekšroku miežu šķirnēm ar mazāku flavanolu grupas savienojumu saturu.

Antiradikālās aktivitātes novērtēšanai miežu graudos, dažādi miežu paraugi tika analizēti un salīdzināti pēc to spējas reaģēt ar 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil- radikāli. Antiradikālā aktivitāte miežu graudos, tāpat kā kopējo fenolu saturs, var svārstīties plašā amplitūdā, ko ietekmē dažādi ārējie faktori (šķirne, augšanas apstākļi). Antiradikālā aktivitāte vienai un tai pašai miežu šķirnei dažādos ražas gados ir būtiski ( $p < 0,05$ ) atšķirīga. Miežu veids – kailgraudu vai plēkšņainie – nav noteicošais faktors antiradikālās aktivitātes veidošanā. Taču, neskatoties uz atšķirībām, visi analizējamie paraugi uzrādīja nozīmīgu spēju reaģēt ar DFPH radikāli.

Diedzēšanas laikā, endospermas fizikāli-ķīmisko modifikāciju rezultātā, sintezējas bioaktīvās vielas (Sharma, Gujral, 2010), tajā skaitā arī C un E vitamīni. Pētījumi par C un E vitamīnu satura dinamiku iesala gatavošanas laikā veikti laboratorijas apstākļos sagatavotiem iesaliem – PL(6), KI(6) un KII(6).

Pētījumā analizēts E vitamīna saturs sākot no neapstrādātiem graudiem līdz gatavam iesalam (3. attēls) (etapu apzīmējumu skatīt 1. tabulā). Miežos E vitamīna saturs nav būtiski atšķirīgs visiem pētāmajiem paraugiem ( $p>0,05$ ). Pēc Briggs (1998) pētījuma datiem mieži satur 2,1–5,2 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnā E vitamīnu un iegūtie rezultāti ir saskaņā ar doto pētījumu.

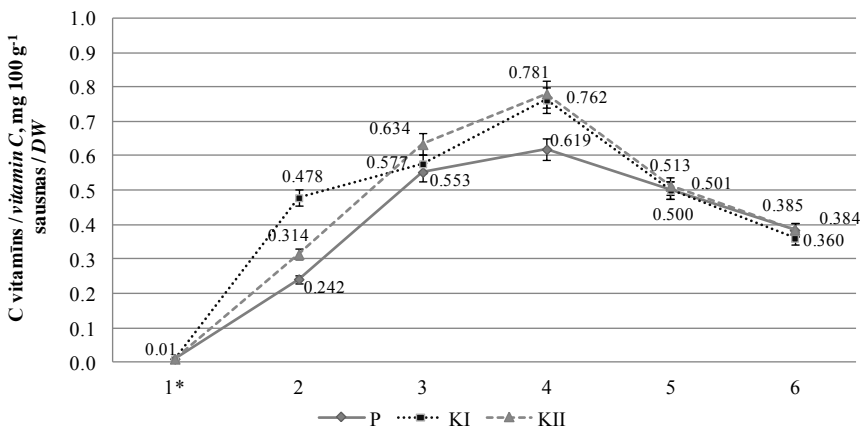


\***Etapi / Steps:** 1 – Mieži / Barley; 2 – Mērcēti mieži / Steeped barley; 3 – Diedzēti mieži 2 diennaktis / 2 days germinated barley; 4 – Diedzēti mieži 4 diennaktis / 4 days germinated barley; 5 – Diedzēti mieži 6 diennaktis / 6 days germinated barley; 6 – Iesals / Malt

### 3. att. E vitamīna izmaiņas laboratorijas apstākļos gatavotā iesalā, mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas /

**Fig. 3. Changes of vitamin E during malt production in laboratory scale, mg 100 g<sup>-1</sup>DW**

Visintensīvākā E vitamīna sintēze notiek diedzēšanas sākumposmā – pēc 2. diennakts. E vitamīna saturs P miežos pieaug 1,75 reizes un abos kailgraudu miežu paraugos 1,6 reizes salīdzinājumā ar mērcētiem graudiem, kas norāda uz spraigu augšanas procesu, kura rezultātā notiek intensīvas bioķīmiskas reakcijas. E vitamīna saturs samazinās visos kaltētos diedzētu graudu paraugos. P miežu paraugā 2,7 reizes (5,33 mg 100 g<sup>-1</sup>), KII paraugā 3,1 reizi (5,28 mg 100 g<sup>-1</sup>) un KI paraugā 3,6 reizes (5,04 mg 100 g<sup>-1</sup>) salīdzinājumā ar paraugiem pēc 6 diedzēšanas dienām. Kailgraudu miežu paraugos E vitamīna samazinājums ir lielāks nekā plēkšņaino miežu šķirnei, kurai plēksne, iespējams, kalpo kā vairogs, mazinot bioaktīvo vielu termosabrukumu karstā gaisa ietekmē. Vitamīna E stabilitāte ir atkarīga no kaltēšanas laika, metodes un produkta ķīmiskā sastāva (Ball, 2006). Diedzējot graudus, veidojas asni, kas satur lielāko daļu no E vitamīna, bet analizējot iesalu asni tiek atdalīti.



\***Etapi / Steps:** 1 – Mieži / Barley; 2 – Mērcēti mieži / Steeped barley; 3 – Diedzēti mieži 2 diennaktis / 2 days germinated barley; 4 - Diedzēti mieži 4 diennaktis / 4 days germinated barley; 5 - Diedzēti mieži 6 diennaktis / 6 days germinated barley; 6 – Iesals / Malt

#### 4. att. C vitamīna izmaiņas laboratorijas apstākļos gatavotā iesalā, mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas /

**Fig. 4. Changes of vitamin C during malt production in laboratory scale, mg 100 g<sup>-1</sup> DW**

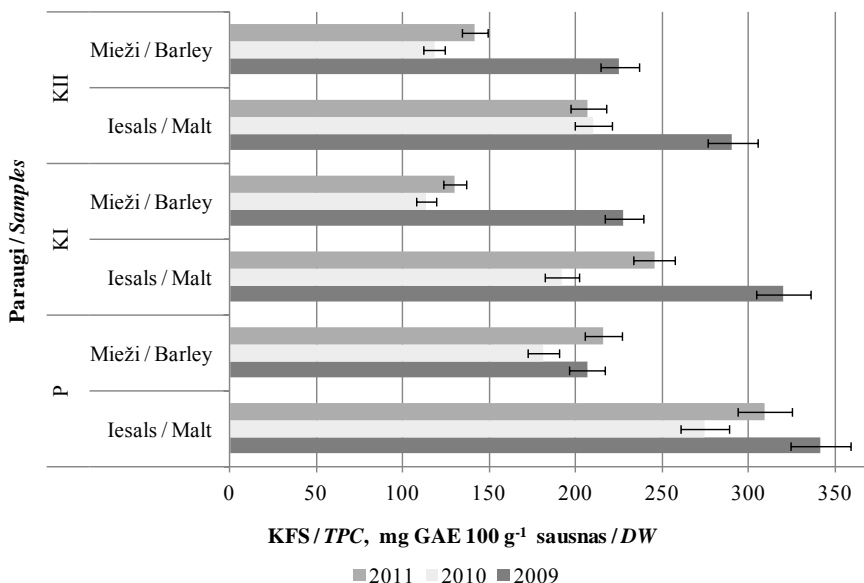
C vitamīns nav konstatēts miežu graudos, tā sintēze sākas graudu diedzēšanas laikā (Briggs *et al.*, 1981), ko parādīja arī pētījumā iegūtie rezultāti (4. attēls). C vitamīns sāk sintezēties miežu mērcēšanas laikā ūdens vidē. Tas saistīts ar mitruma satura pieaugumu graudos, kas kalpo kā pozitīvs faktors fermentu aktivizēšanai. C vitamīna sintēze turpinās visā graudu aktivēšanas laikā, ko konstatējuši arī citi autori (Rakcejeva, Skudra, 2006). C vitamīns piedalās sarežģītajā augu augšanas modulācijā, ieskaitot agrīnās embrija dīgšanas stadijās (Plaza *et al.*, 2003).

Maksimālais C vitamīna saturs ir sasniegts 4. diedzēšanas dienā un tas ir palielinājies par 2,5; 1,6 un 2,5 reizēm salīdzinājumā ar C vitamīna saturu diedzēšanas sākumā, attiecīgi P, KII un KI miežu paraugos. Būtisks C vitamīna satura samazinājums ir novērots pēc 6. diedzēšanas dienas, kas skaidrojams ar to, ka graudu vielmaiņā, dzīvības procesu nodrošināšanai (augšanai un attīstībai) tiek patērēts C vitamīns (Ball, 2006). C vitamīna noārdīšanās turpinās arī graudu kaltēšanas laikā. C vitamīns nav izturīgs augstās temperatūrās un skābekļa iedarbībā (Briggs, 1998; Pokorny *et al.*, 2001) un kaltēšanas laikā visos paraugos samazinās 1,3 reizes.

## 2. Iesala bioaktīvo vielu izvērtējums un ražošanas tehnoloģijas ietekme uz antioksidantu satura izmaiņām

Visos analizējamajos paraugos kopējo fenolu satura palielinājums iesalā salīdzinoši ar neapstrādātiem miežu graudiem ir būtisks ( $p < 0,05$ ). Atkarībā no ražas gada, plēkšņainiem miežiem P iesala gatavošanas laikā kopējo fenolu satura palielinājums ir no 43 līdz 65%. Kailgraudu miežu šķirnei KI tas ir no 40 līdz pat 89%, bet līnijai KII kopējo fenolu saturs iesala gatavošanas laikā palielinās par 29–78% (5. attēls). Iesala gatavošanas laikā graudā norisinās dažādas fizikāli-ķīmiskas un bioķīmiskas izmaiņas, tā rezultātā kopējo fenolu saturs būtiski paaugstinās (Lu *et al.*, 2007). Dvorakova *et al.* (2008) šo paaugstinājumu skaidro ar saistīto fenolu atbrīvošanos fermentu iedarbības rezultātā, kā arī ar kaltēšanas temperatūru ietekmi, kam piekrīt arī Maillards, Bersets (1995). Kopējo fenolu saturs ir atkarīgs no šķirnes nevis no miežu veida – kailgraudu vai plēkšņainie mieži.

Līdzīga tendence tika konstatēta arī šajā pētījumā.



### 5. att. Kopējo fenolu saturs miežos un attiecīgajā iesalā dažādos ražas gados, mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas /

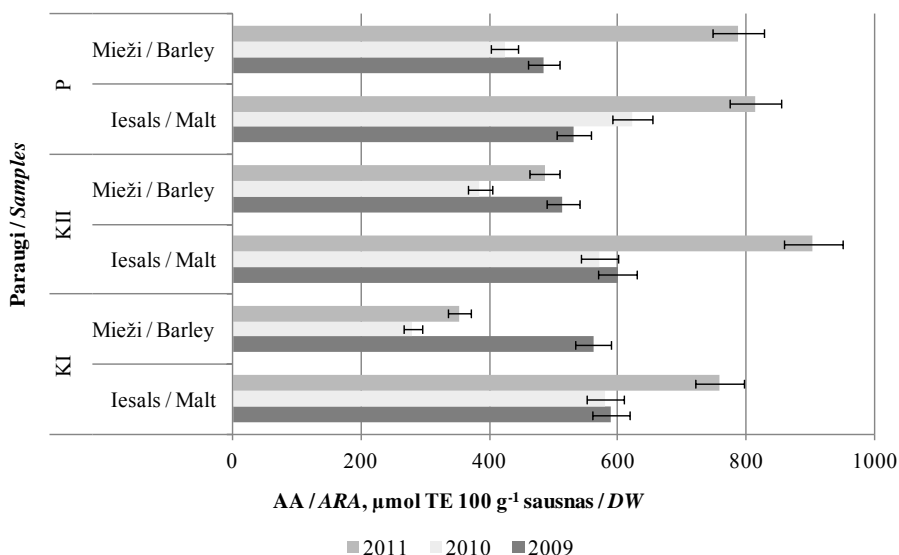
**Fig. 5. Total phenolic content of barley and corresponding malt by different harvested years, mg GAE 100 g<sup>-1</sup> DW**

Iesalā fenolu savienojumi ir vairāk nekā miežos, bet proporcijas starp grupām paliek līdzīgas. Tas izskaidrojams arī ar to, ka labāku flavanolu un fenolskābju ekstrakcija iespējama pateicoties grauda endospermas modifikācijai kaltēšanas procesa ietekmē (Maillard *et al.*, 1996).

Pētāmajos kailgraudu miežu paraugos kā dominējošie fenoli ir katehīni un kafijskābe. Līdzīgas atsevišķo fenolu izmaiņu tendences novērotas arī iesala gatavošanas laikā no kailgraudu miežu līnijas KII. Katehīnu saturs KII iesala paraugā, atšķirībā no KII parauga, palielinās iesala gatavošanā. Kailgraudu miežu un iesala paraugos KI un KIII ir lielāka katehīnu koncentrācija nekā plēkšņaino miežu paraugā P. Iegūtie rezultāti ir līdzīgi ar Dvorakova *et al.* (2008) pētījumiem.

Plēkšņaino miežu P atsevišķu fenolu savienojumu izmaiņas iesalā ir līdzīgas kailgraudu miežu izmaiņām šajā procesā, ar izņēmumu P miežu paraugā, kurā sākotnēji netika konstatēta kafijskābes klātbūtne. Iegūstot iesalu, tās saturs bija 1,430 mg 100 g<sup>-1</sup>. Kafijskābe kopā ar hīnskābi veido hlorogēnskābi (Cuvelier *et al.*, 1992) un iespējams, tieši šī savienojuma veidošanās dēļ tā sākotnēji miežos netika konstatēta. Kvantitatīvi mazāk pārstāvētie fenolu savienojumi visos iesala paraugos ir epikatehīni un *p*-hidroksibenzoskābe.

Sinapīnskābes saturs kailgraudu miežu iesalos ir vismazākais. KII iesals satur 0,105 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnā, bet KIII iesals satur tikai 0,055 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnā. P paraugā ne iesalā, ne miežos tā netika konstatēta, kas var būt pamatojams ar šķirnes īpatnībām. Gatavam iesalam antiradikālās aktivitātes nozīmīgs pieaugums novērots visos pētāmajos paraugos (6. attēls).



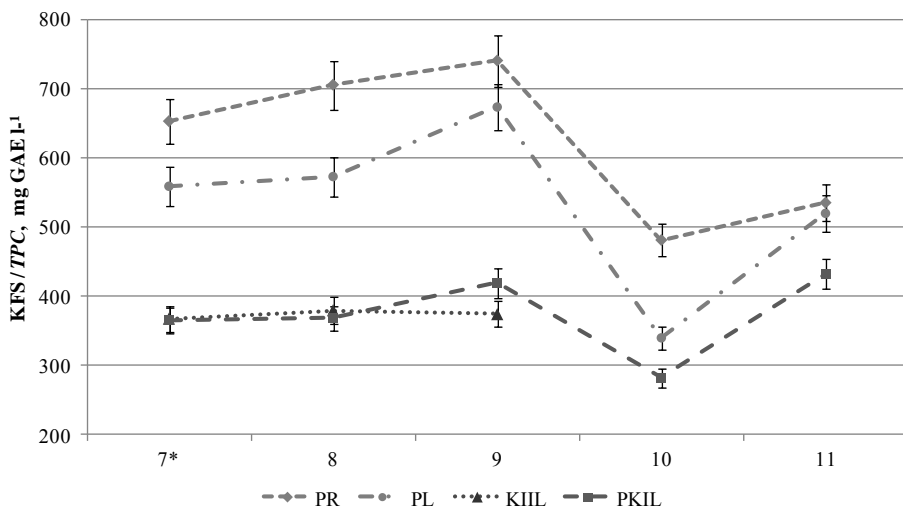
6. att. Antiradikālā aktivitāte miežos un attiecīgajā iesalā dažādos ražas gados,  $\mu\text{mol TE } 100 \text{ g}^{-1} \text{ sausnas/}$

Fig. 6. Antiradical activity of barley and corresponding malt by different harvested years,  $\mu\text{mol TE } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$

Pētījumā izmantotais plēkšņaino miežu iesala paraugs P tika salīdzināts ar komerciāli ražotiem iesala paraugiem, kuru galvenā tehnoloģiskā atšķirība ir kaltēšanas temperatūra. ‘Class’ un ‘Pilzenes’ iesali ir gaišie iesali, tie kaltēti 70-80 °C temperatūrā. ‘Minhenes’ iesals tiek klasificēts kā tumšais un tā kaltēšanas temperatūra ir 105 °C. Karameļu un dedzinātais iesals ir speciālie iesali, kas nodrošina alum specifisku tumšu krāsu un īpašu aromātu. To kaltēšanas temperatūras sasniedz atbilstoši 150 °C un 230 °C. Antiradikālā aktivitāte palielinās līdz ar temperatūras paaugstināšanu un mitruma satura samazināšanos. Identiskus rezultātus savā pētījumā ieguva arī Inns *et al.* (2007), pamatojot, ka kaltēšanas režīms būtiski ietekmē gan antiradikālo aktivitāti, gan krāsu gala produktā. Kaltēšanas temperatūras paaugstināšana identiski ietekmē arī kopējo fenolu saturu komerciāli ražotos iesalos.

### 3. Iejavošanas un misas vārīšanas procesa ietekme uz antioksidantu saturu

Analizējamo iejau un misas vārījumu kopējo fenolu satura dinamika parādīta 7. attēlā, kur kvantitatīvās kopējo fenolu atšķirības ir būtiskas ( $p < 0,05$ ), bet izmaiņu tendence visos vārījumos ir līdzīga.



\***Etapi / Steps:** 7 – Iejava / Mash 57 °C; 8 – Iejava / Mash 63 °C; 9 – Iejava / Mash 72 °C; 10 – Misa / Wort; 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiling wort with hop

#### 7. att. Kopējo fenolu satura dinamika iejavošanas un misas vārīšanas laikā, mg GAE l<sup>-1</sup> /

**Fig.7. Dynamics of total phenolic content during mashing and wort boiling, mg GAE l<sup>-1</sup>**

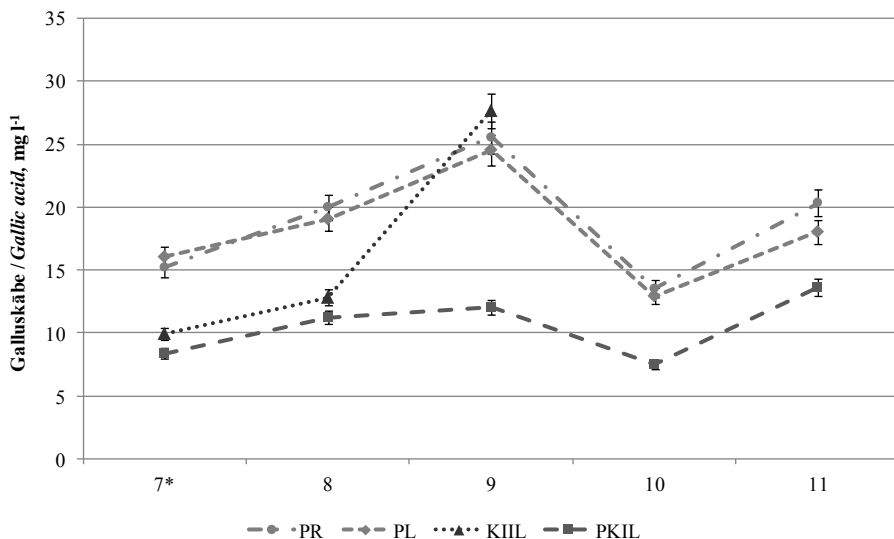
Kopējo fenolu saturs iejavā palielinās pakāpeniski, paaugstinoties iejavošanas temperatūrai līdz 78 °C. Kopējo fenolu satura palielinājumu var veicināt fenolu atbrīvošana no kompleksiem savienojumiem un izšķīšana, ko ietekmē hidrolītiskie fermenti un ekstrakcija ūdenī (Vanbeneden *et al.*, 2008b). Nozīmīgs fenolu

savienojumu palielinājums iejavošanas laikā ir novērots arī Fumi *et al.* (2011) un Pascoe *et al.* (2008) pētījumos.

Iejavu filtrējot 78 °C temperatūrā un iegūstot misu, konstatēts būtisks ( $p < 0,05$ ) kopējo fenolu satura samazinājums visos paraugos. Oksidēšanās, sadalīšanās un strauja olbaltumvielu-polifenolu kompleksu veidošanās daļēji izskaidro kopējo fenolu satura samazinājumu augstās iejavošanas temperatūrās (Aron, Shellhammer, 2010). Tomēr jāņem vērā skalojamo ūdeņu piensums iejavas filtrācijas laikā, kā rezultātā strauji palielinās ūdens un ekstraktvielu attiecība.

Misas vārīšanas laikā kopējo fenolu saturs būtiski paaugstinās ( $p < 0,05$ ). Plēkšņaino miežu paraugiem PR un PL kopējo fenolu satura palielinājums misas vārīšanas laikā sastāda attiecīgi 11% un 53%, bet PKIL misas kopējo fenolu saturs paaugstinās par 53%. Fenolskābēm ir svarīga loma misas un alus kopējo fenolu satura veidošanā, kas savukārt dod ievērojamu piensumu to antiradikālajā aktivitātē (Fantozzi *et al.*, 1998).

*Benzoskābes atvasinājumi.* Ne miežos, ne iesala paraugos netika identificēta galluskābe, taču visā iejavošanas un misas vārīšanas procesā tā ir dominējošā no benzoskābes atvasinājumiem visos pētāmajos paraugos. Galluskābes dinamika iejavošanas un misas vārīšanas laikā visiem iejavas un misas paraugiem ir līdzīga (8. attēls).



**Etapi / Steps:** 7 – Iejava / Mash 57 °C; 8 – Iejava / Mash 63 °C; 9 – Iejava / Mash 72 °C; 10 – Misa / Wort; 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiling wort with hop

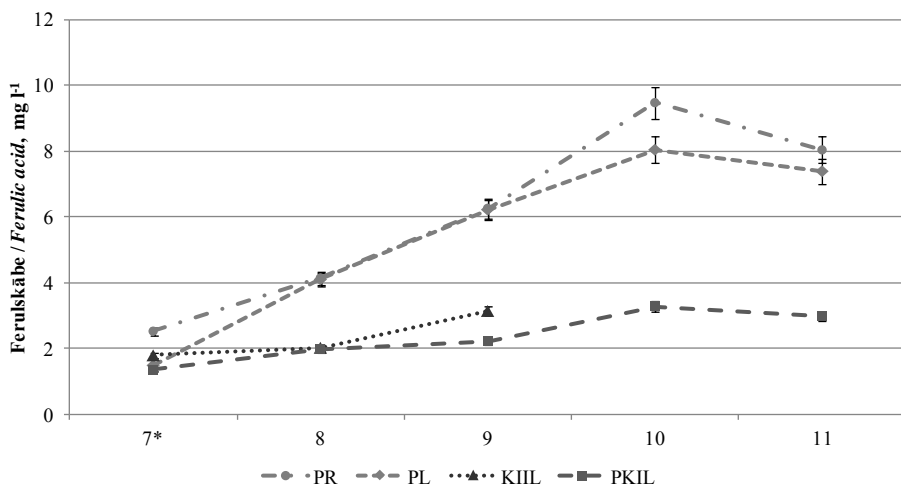
**8. att. Galluskābes dinamika iejavošanas un misas vārīšanas laikā, mg l<sup>-1</sup> / Fig.8. Dynamics of gallic acid during mashing and wort boiling, mg l<sup>-1</sup>**



Ir atrasta vidēji cieša korelācija ( $r=0,607$ ) starp kopējo fenolu saturu un pētāmo benzoskābes atvasinājumu saturu (tajā skaitā – vanilīnskābe, ceriņskābe un *p*-hidroksibenzoskābe) visiem paraugiem iejavošanas laikā. Ir pamats uzskatīt, ka galluskābe, kā dominējošā no benzoskābes atvasinājumiem, nozīmīgi ietekmē kopējo fenolu satura dinamiku.

Kanēļskābes atvasinājumi. Kanēļskābes atvasinājumi raksturojas ar lielāku antiradikālo aktivitāti nekā benzoskābes atvasinājumi (Holtekjolen *et al.*, 2006), tāpēc šī grupa uzskatāma par svarīgāku kvalitātes rādītāju miežu, iesala, misas un alus antioksidatīvajā novērtējumā. No kanēļskābes atvasinājumiem kafijskābe un ferulskābe konstatēta nozīmīgā daudzumā gan iejavas, gan misas paraugos.

Kailgraudu miežu iesala KIIL un PKIL iejavā ferulskābes (9. attēls) saturs visos posmos ir mazāks nekā plēkšņaino miežu iesala PR un PL iejavu un misas paraugos. Ferulskābes diapozons dažādos misas paraugos var būt ļoti liels, tas skaidrojams ar iesala un ūdens attiecību un dažādām iesala partijām (Szwajgier, Bancarzewska, 2011). Visā iejavošanas laikā ferulskābes saturs plēkšņaino miežu iesala iejavās var pieaugt līdz pat 275%, PKIL iejavā līdz 142%, bet kailgraudu miežu iesala iejavā par 75%. Pēc Szwajgier, Bancarzewska (2011) datiem, ferulskābe būtiski samazinās misas vārīšanās laikā, taču dotais ferulskābes satura samazinājums pret ferulskābes paaugstinājumu iejavošanas laikā ir niecīgs.



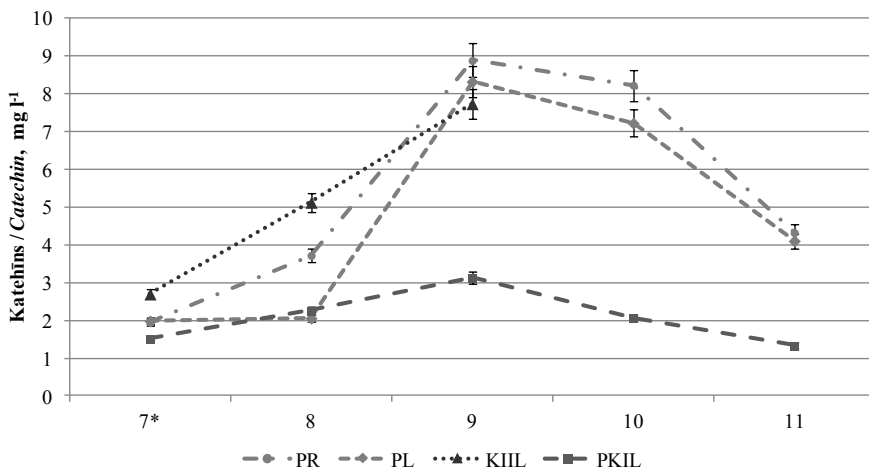
\***Etapi / Steps:** 7 – Iejava / Mash 57 °C; 8 – Iejava / Mash 63 °C; 9 – Iejava / Mash 72 °C; 10 – Misa / Wort; 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiling wort with hop

**9. att. Ferulskābes dinamika iejavošanas un misas vārīšanas laikā, mg l<sup>-1</sup> / Fig.9. Dynamics of ferulic acid during mashing and wort boiling, mg l<sup>-1</sup>**

Flavanoli. Trešā svarīgākā fenolu savienojumu grupa, kas pārstāvēta iesalā un alū ir flavanoli, no kuriem dominējošie ir monomēru formā sastopamie katehīni (10. attēls). Iejavošanas laikā, līdz ar temperatūras paaugstināšanos, palielinās arī

katehīnu saturs visos paraugos, bet pēc pārcukurošanās pauzes 72 °C temperatūrā (9. etaps) un iejavas filtrācijas, to saturs sāk samazināties visos paraugos.

Proantocianidīnu, katehīnu un epikatehīnu oksidēšanās nozīmīgi ietekmē alus nogulšņu veidošanos (Kaneda *et al.*, 1990). Mīsas vārīšanas laikā izgulsnējas nozīmīgs epikatehīnu un katehīnu daudzums, veidojot kompleksus savienojumus ar koagulējošām olbaltumvielām. Katehīnu samazinājums mīsas vārīšanas laikā ir būtisks ( $p < 0,05$ ) visos paraugos (10. attēls).



\***Etapi / Steps:** 7 – Iejava / Mash 57 °C; 8 – Iejava / Mash 63 °C; 9 – Iejava / Mash 72 °C; 10 – Misa / Wort; 11 – Vārīta mīsa ar apiņiem / Boiling wort with hop

**10. att. Katehīnu dinamika iejavošanas un mīsas vārīšanas laikā, mg l<sup>-1</sup> / Fig. 10. Dynamics of catechin during mashing and wort boiling, mg l<sup>-1</sup>**

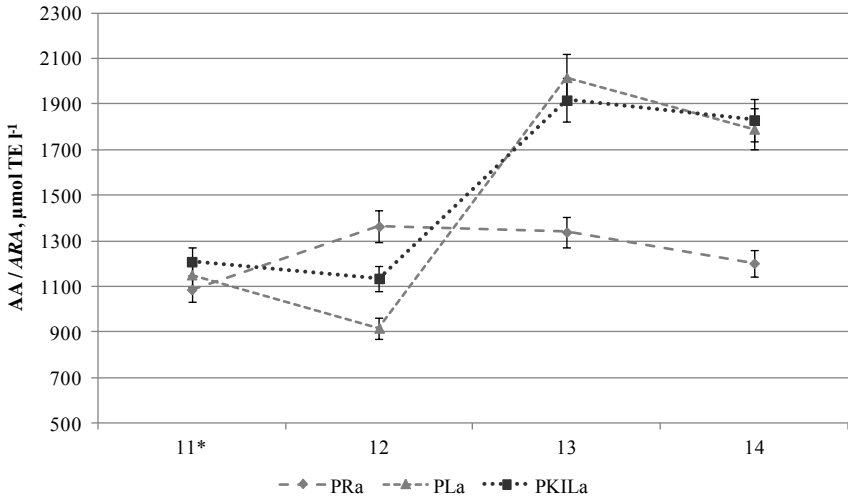
Plēkšņaino miežu iesala PR un PL mīsas paraugiem katehīnu satura samazinājums ir lielāks attiecīgi 43 un 47%, bet PKIL mīasai 35%. Visā iejavošanas procesā plēkšņaino miežu paraugam PR katehīnu saturs pieaug par 122%, bet PL paraugam par 107%, bet PKIL paraugam samazinās par 12% salīdzinājumā ar sākotnējo saturu 7.etapā.

Antiradikālā aktivitāte pieaug visā iejavošanas laikā, izņemot kailgraudu miežu iesala iejavu KIIL (11. attēls). Iegūtais rezultāts saskan ar Pascoe *et al.* (2003) veiktā pētījuma rezultātu. Fenolu savienojumu atbrīvošana un Mailarda reakcijas produktu veidošanās pamato antiradikālās aktivitātes paaugstināšanos iejavošanas laikā.

Pēc pārcukurošanās pauzes 72 °C temperatūrā un iejavas filtrācijas novērojams straujš antiradikālās aktivitātes samazinājums visos paraugos, attiecīgi no 17–45% plēkšņaino miežu iejavas paraugiem PR un PL un 17% PKIL iejavas paraugam. Tas skaidrojams ar drabiņu skalojamo ūdeņu atšķaidīšanas pakāpi.

Antiradikālās aktivitātes pieaugums par 7–143% plēkšņaino miežu PR un PL mīasai un 14% PKIL mīškai vārīšanas laikā ar apiņiem pēc Vanbendena (2008b) domām ir uz mīsas vārīšanās rēķina. Bet Zhao, Zhao (2011) ir izpētījuši, ka

antiradikālās aktivitātes paaugstināšanās misas vārīšanas laikā viennozīmīgi ir saistīta ar Mailarda reakcijas produktu veidošanās procesiem.



\***Etapi / Steps:** 7 – Iejava / Mash 57 °C; 8 – Iejava / Mash 63 °C; 9 – Iejava / Mash 72 °C; 10 – Misa / Wort; 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiling wort with hop

### 11. att. Antiradikālās aktivitātes dinamika iejavošanas un misas vārīšanas laikā, $\mu\text{mol TE l}^{-1}$ /

**Fig. 11. Dynamics of antiradical activity during mashing and wort boiling,  $\mu\text{mol TE l}^{-1}$**

#### Kailgraudu iesala nepārcukurošanās iemesli.

Lai izskaidrotu kailgraudu miežu iesala iejaves nepārcukurošanās iemeslus tika veikta pilna fizikāli-ķīmiskā analīze iesala paraugiem. Iegūtie rezultāti apkopoti 5.tabulā.

Iejavas pārcukurošanās pauzes laikā fermenti  $\alpha$ - un  $\beta$ -amilāzes šķeļ cieti glikozē, maltotriozē, dekstrīnos u.c., kas pāriet ekstraktā – misā un ir viegli pārraudzējama, veidojot etilspirtu un ogļskābo gāzi. Abos kailgraudu miežu graudu paraugos KIL un KIIL  $\alpha$ -amilāzes aktivitāte ir nepietiekosa, attiecīgi 15 un 25 dekstrīnu vienības (DU). Agu *et al.* (2008) un Bhatti (1996) savos pētījumos konstatējuši, ka kailgraudu miežu šķirnēm ir vidēji par 10–25% zemāka  $\alpha$ -amilāzes aktivitāte kā plēkšņainiem miežiem.

**Iesalu fizikāli-ķīmisko parametri /  
Physical-chemical parameters of malt**

Nr. / No.	Rādītājs / Parameters	Mērvienība / Units	Paraugs* / Sample				Norma <sup>4</sup> / Rate
			PR	PL	KIIL	KIL	
1.	Ekstraktvielas / Extract substances	%	81.0	80.9	81.5	82.7	80.0–83.0
2.	Filtrācijas laiks / Filtration time	min	20	45	45	50	15–60
3.	OBV / Protein	%	11.2	10.9	15.0	14.3	9.5–12.5
4.	Kolbaha indekss / Kolbach index	%	36	38	32	31	35–45
5.	Šķīstošais slāpeklis / Soluble nitrogen	%	0.65	0.68	0.77	0.72	0.55–0.75
6.	Viskozitāte / Viscosity	mPa.s	1.4	1.6	2.9	2.9	1.4–1.6
7.	VZ 45 °C, fermentu aktivitāte / Activity of enzyme	%	34.5	27.5	24.9	22.7	28.0–42.0
8.	β-glikāni / β-glucane	mg l <sup>-1</sup>	145	438	697	680	0–220
9.	Brīvo aminoskābju slāpeklis / Free amino nitrogen (FAN)	mg l <sup>-1</sup>	136	149	161	152	130–190
10.	Diastatiskais spēks / Diastatic power	WK	272	249	218	229	250–350
11.	α-amilāze / α-amylase	DU	57	30	25	15	30–70
12.	Modifikācija / Modification	%	93	68	45	32	80–100

\*2012.gada raža / harvest year 2012

Autori arī pieļauj iespēju, ka kailgraudu mieži iesala gatavošanas laikā var sasniegt lielāku α-amilāzes aktivitāti, ja tie tiek selekcionēti jau ar šādu mērķi. Arī diastatiskā spēka rādītājs, kas raksturo fermentu spēju pārveidot cieti, iesala paraugos KIL un KIIL ir zemāks nekā plēkšņaino miežu iesala paraugos PR un PL un starpība sastāda 28–65%. Saskaņā ar Bhatti (1996) pētījuma rezultātiem arī kopējo fermentu aktivitātes rādītājs VZ 45 °C neatbilst Pilzenes tipa iesala prasībām. Pārējie iegūto rādītāju neatbilstošie rezultāti tieši neietekmē pārcukurošanās procesu.

#### 4. Kopējo fenolu saturs alū pēc raudzēšanas, noguldīšanas un filtrācijas procesiem

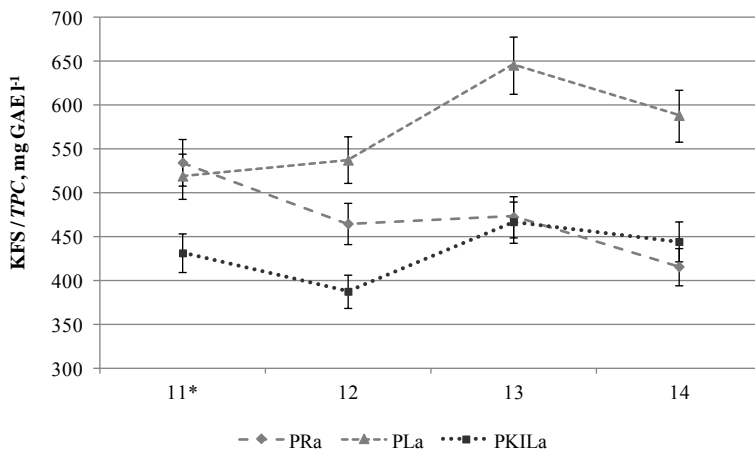
Visos analizētajos paraugos galvenās raudzēšanas laikā kopējo fenolu saturs būtiski nemainās ( $p > 0,05$ ) (12. attēls). Tālākā noguldīšanas procesā 4 °C temperatūrā PKILa un PLa paraugā novērots kopējo fenolu satura palielinājums, turpretim PRA

<sup>4</sup> European brewery convention 18th standard malt, Issued by the Analysis Committee-November 2011 [Skatīts: 12.08.2013] Pieejams / Available: <http://www.europeanbreweryconvention.org/PDF/AC%2018th%20EBC%20standard%20malt%20FV.pdf>

paraugā būtiskas izmaiņas nav novērotas ( $p > 0,05$ ), kas norāda uz neviennozīmīgu kopējo fenolu satura izmaiņu tendenci jaunalus noguldīšanas laikā. Ilgstošā noguldīšanas procesā notiek ķīmiskas un bioķīmiskas reakcijas, kuras ietekmē gatavā alus kvalitātes rādītājus (Kunce, 2003).

Filtrācijas process samazina kopējo fenolu saturu alū. Vislielākais samazinājums (12%) konstatēts alus paraugam PRa, bet alus paraugiem PLa un PKILa kopējo fenolu saturs samazinās attiecīgi par 9% un 5%.

Etapā misa – alus kopējās fenolu satura izmaiņas nav viennozīmīgas. PRa paraugam kopējo fenolu saturs samazinās par 22%, bet par 13% palielinās PLa paraugam un par 3% palielinās PKILa paraugam. Laboratorijā sagatavoto alus paraugu kopējo fenolu satura bilance misas raudzēšanas un filtrācijas laikā nav būtiska ( $p > 0,05$ ), bet PRa paraugam fenolu satura samazinājums ir būtisks ( $p < 0,05$ ). Kopējo fenolu satura samazinājumu misas raudzēšanas un filtrācijas laikā savā pētījumā konstatējuši Fumi *et al.* (2011) un Leitao *et al.* (2012), kā arī piebilst, ka fenolu savienojumiem ir svarīga loma fizikālo un tehnoloģisko procesu norisē alus gatavošanas laikā, jo tie var nelabvēlīgi ietekmēt putu stabilitāti, alus fizikāli-ķīmisko stabilitāti un uzglabāšanas laiku.



\***Etapi / Steps:** 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiled wort with hop; 12 – Zaļalus / Green beer; 13 – Alus / Beer; 14 – Filtrēts alus / beer after filtration

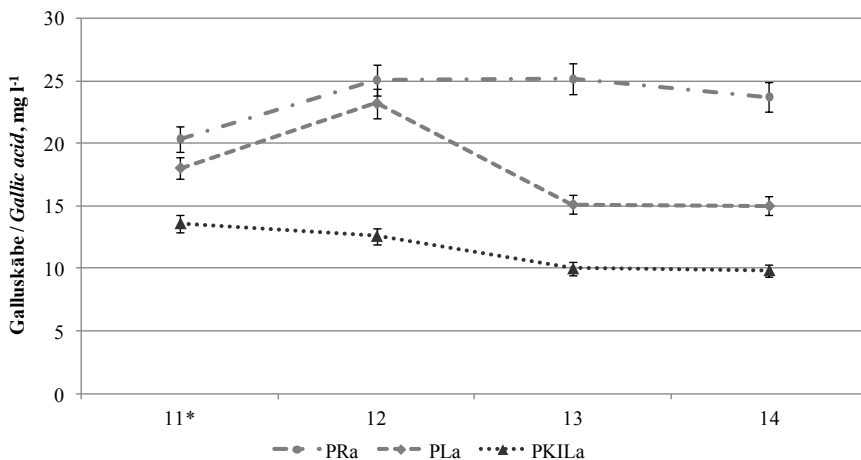
## 12. att. Kopējo fenolu satura dinamika raudzēšanas, noguldīšanas un filtrācijas procesu laikā, mg GAE l<sup>-1</sup> /

**Fig. 12. Dynamics of total phenolic content during fermentation, maturation and filtration, mg GAE l<sup>-1</sup>**

*Benzoskābes atvasinājumi.* Tāpat kā iejavošanas un misas vārīšanas laikā arī alus raudzēšanas procesā galluskābe ir dominējošā fenolskābe, kas pārstāv benzoskābes atvasinājumus (13. attēls). Tās saturs PKILa misā samazinās visā raudzēšanas un noguldīšanas laikā un etapā misa – alus ir 28%.

Savukārt raudzējot plēkšņaino miežu iesala misas PRa un PLa, galluskābes saturs palielinās, bet izvērtējot visa etapa misa – alus griezumā PRa paraugam galluskābes saturs no misas alū samazinās par 22,6%, bet PLa paraugam palielinās par 17%.

Kanēļskābes atvasinājumi. Kafijskābe ir nozīmīgākā no kanēļskābes atvasinājumiem un tās izmaiņas parādītas 14. attēlā. PLa paraugam ir būtiski lielāks kafijskābes saturs ( $p < 0,05$ ) nekā PRa un PKILa paraugiem visā etapā misa – alus. Arī izmaiņu amplitūda pēc tehnoloģisko procesu norises PLa paraugam ir atšķirīga. Savukārt PRa un PKILa paraugos kafijskābes satura svārstības ir nebūtiskas visā misas raudzēšanas un alus filtrācijas laikā ( $p > 0,05$ ). Tas varētu būt skaidrojams ar izejvielu partiju dažādību, kā arī ar misas vārīšanas intensitāti.



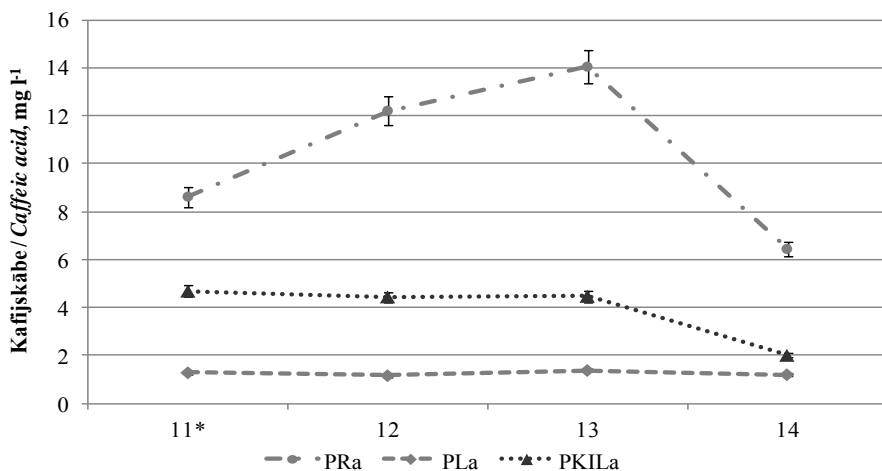
\***Etapi / Steps:** 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiled wort with hop; 12 – Zaļalus / Green beer; 13 – Alus / Beer; 14 – Filtrēts alus / beer after filtration

**13. att. Galluskābes dinamika raudzēšanas, noguldīšanas un filtrācijas laikā, mg l<sup>-1</sup> / Fig. 13. Dynamics of gallic acid during fermentation, maturation and filtration, mg l<sup>-1</sup>**

Raudzēšanas, noguldīšanas un filtrācijas procesu laikā ferulskābes izmaiņas notiek līdzīgi visos paraugos – tā samazinās visā etapā misa – alus par 23,54% PRa paraugam, 61,39% PLa paraugam un 31,39% PKILa paraugam salīdzinājumā ar sākotnējo ferulskābes saturu misā.

Flavanoli. Dominējošais flavanoli arī etapā misa – alus ir katehīni. To saturs, pēc būtiska samazinājuma misas vārīšanas laikā, raudzēšanas procesā palielinās. Noguldīšanas laikā katehīnu saturs samazinās, tas saistīts ar šīs grupas pārstāvju īpašību veidot kompleksus savienojumus ar olbaltumvielām, kas izgulsnējas raudzēšanas tvertnes apakšējā daļā. Filtrācijas procesā katehīnu saturs turpina samazināties. Visā etapā misa – alus katehīnu saturs PRa paraugā samazinās par

36,6% un PLa paraugā par 29,6%. Taču PKILa alus paraugam ir par 88,7% lielāks katehīnu saturs nekā šī paša parauga misai.



\*Etapi / Steps: 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiled wort with hop; 12 – Zaļalus / Green beer; 13 – Alus / Beer; 14 – Filtrēts alus / beer after filtration

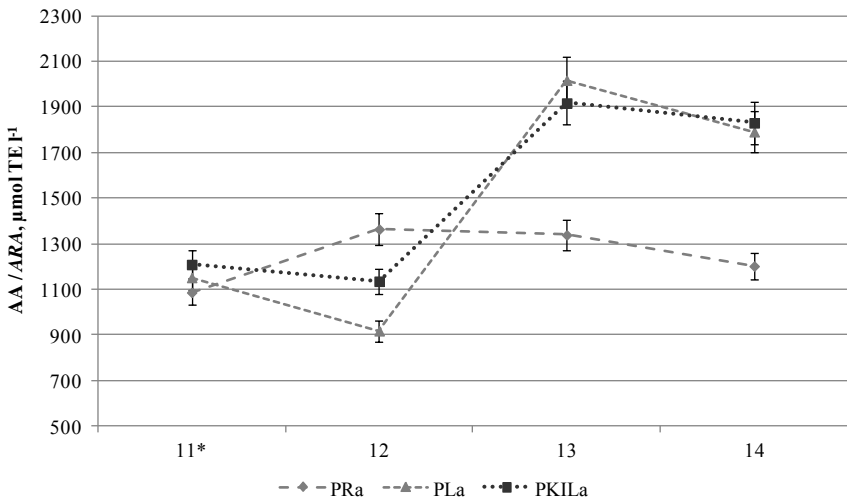
#### 14. att. Kafijskābes dinamika raudzēšanas, noguldīšanas un alus filtrācijas laikā, mg l<sup>-1</sup> /

Fig. 14. Dynamics of caffeic acid during fermentation, maturation and beer filtration, mg l<sup>-1</sup>

Antiradikālās aktivitātes dinamika etapā misa – alus uzrāda pretrunīgus rezultātus, kas atspoguļoti 15. attēlā. Laboratorijā sagatavoto paraugu PLa un PKILa misa galvenās raudzēšanas laikā un noguldīšanas laikā veido pretēju antiradikālās aktivitātes tendenci nekā ražošanas apstākļos sagatavoti misas un jaunalus paraugi PRa. Tikai filtrācijas laikā visos trīs paraugos antiradikālā aktivitāte samazinās.

Ir atrasta cieša korelācija starp antiradikālo aktivitāti un kopējo fenolu saturu alus raudzēšanas laikā visos analizējamajos paraugos. PRa paraugā  $r=0,969$ , PLa paraugā  $r=0,935$  un PKILa paraugā  $r=0,984$ . Daudzi pētījumi apstiprina šo sakarību (Lugasi 2003; Piazzon *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010), taču Zhao *et al.* (2010) atzīmē, ka tieši atsevišķo fenolu grupu kopsūma atspoguļo alus antiradikālo aktivitāti objektīvāk nekā kopējo fenolu saturs.

Lai noteiktu līdzību starp analizētajiem alus paraugiem, tika izmantota klāsteru analīze. 17 komerciāli ražoti ali un rūpnieciski ražotais PRa gaišā alus paraugs tika sagrupēti ņemot vērā fizikāli-ķīmiskos rādītājus (sausna, %, alkohola saturs, tilp.%, u.c) un fenolu savienojumus. Pēc alus pamatrādītājiem astoņpadsmit paraugus var iedalīt trīs klāsteros. Pirmie divi klāsteri satur gan gaišā, gan tumšā alus šķirnes, bet trešajā klāsterī atsevišķi izdalītas trīs tumšā alus šķirnes.



\***Etapi / Steps:** 11 – Vārīta misa ar apiņiem / Boiled wort with hop; 12 – Zaļalus / Green beer; 13 – Alus / Beer; 14 – Filtrēts alus / beer after filtration

**15. att. Antiradikālās aktivitātes dinamika raudzēšanas, noguldīšanas un filtrācijas procesa laikā,  $\mu\text{mol TE l}^{-1}$**

*Fig. 15. Dynamics of antiradical activity during fermentation, maturation and filtration,  $\mu\text{mol TE l}^{-1}$*

Pētījumā analizētais paraugs PR ietilpst pirmajā klāsterī, un iegūtie rezultāti parāda, ka tas ir līdzīgs daudziem komerciālā sistēmā piedāvājamiem alus paraugiem. Arī pēc fenolu savienojumu satura un sastāva alus paraugi iedalās trīs klāstēros. Klāsteru analīze parāda, ka fenolu savienojumu sastāvs alū nav atkarīgs no alus veida – gaišais vai tumšais –, bet, iespējams, no miežu šķirnes un tehnoloģiskiem procesiem, kas izmantoti rūpnieciski ražotā iesala un alus gatavošanā.



## SECINĀJUMI

1. Novērtējot alus ražošanai plēkšņaino un kailgraudu miežu graudu fizikāli-ķīmiskos rādītājus un tos salīdzinot, kailgraudu miežu graudiem ir augstāks cietes, olbaltumvielu,  $\beta$ -glikānu un katehīnu saturs, nekā plēkšņainiem miežu graudiem. Palielināts olbaltumvielu un  $\beta$ -glikānu saturs kailgraudu miežu graudos ir neatbilstošs alus miežu kvalitātes prasībām.
2. Latvijā selekcionēto kailgraudu miežu līniju un šķirnes būtiski zemās hidrolītisko fermentu aktivitātes dēļ, kailgraudu miežu iesala 100% izmantošana alus ražošanā nav iespējama. 25% no plēkšņaino miežu graudu iesala var aizstāt ar kailgraudu miežu graudu iesalu, gatavojot alu ar tradicionālo tehnoloģiju.
3. Kopējo fenolu saturs ir atkarīgs no šķirnes nevis no miežu tipa – kailgraudu vai plēkšņainie. Visos analizējamajos paraugos kopējo fenolu satura pieaugums iesalā ir būtisks, salīdzinoši ar neapstrādātiem miežu graudiem. Etapā iesals – misa – alus kopējo fenolu izmaiņas ir diferencētas. Apiņi būtiski neietekmē kopējo fenolu saturu misā un alū un to antiradikālo aktivitāti.
4. Iejavošanas un misas vārīšanas procesā galluskābe ir dominējošā no benzoskābes atvasinājumiem un būtiski ietekmē kopējo fenolu saturu. No kanēļskābes atvasinājumiem kafijskābe un ferulskābe konstatētas nozīmīgā daudzumā gan iejavas, gan misas analizētajos paraugos. Etapā iesals – misa samazinās flavanolu grupas fenoli – katehīni, vidēji par 40%.
5. Izvēlētās miežu šķirnes sākotnējais fenolu saturs ietekmē antiradikālo aktivitāti gala produktā. Realizētā alus gatavošanas tehnoloģija mieži – iesals – misa – alus un Mailarda reakcijas produkti, kas veidojas diedzētu graudu un misas termisko apstrādes procesu laikā, paaugstina alus antiradikālo aktivitāti līdz 130%.
6. C vitamīna saturs samazinās zaļiesala kaltēšanas procesa laikā un tālākā alus ražošanā tam nav būtiskas ietekmes uz alus antiradikālo aktivitāti.
7. E vitamīna saturs nemainās etapā mieži – iesals, bet palielinās etapā iesals – misa – alus, paaugstinot tās antiradikālo aktivitāti.
8. Klāsteru analīzes rezultāti parāda, ka fenolu sastāva ziņā pētījumā analizētas gaišā un tumšā alus šķirnes ir līdzīgas, izņemot atsevišķas tumšā alus šķirnes ar ļoti augstu kopējo fenolu, alkohola saturu un īsto ekstraktu.
9. Pētījumā iegūtie dati apstiprina izvirzīto hipotēzi – miežu šķirne vai līnija, nevis miežu tips (kailgraudu vai plēkšņainie) nosaka endogēno antioksidantu saturu gala produktā, kas variē tehnoloģisko procesu ietekmē iesala un alus gatavošanā.

## TOPICALITY OF THE RESEARCH

Since beer belongs to alcoholic drinks, it is related to the problem of alcoholism. Previously, mostly focusing on the negative impact of ethanol on people's health, researchers paid little attention to other compounds from raw materials of plant origin in the final product possessing certain biological activity. Only at the end of the previous century during the research on the impact of red wine on the progress of various diseases positive features of alcoholic drinks of plant origin containing ethanol were revealed.

The consumption of beer has been falling in the European Union, however, there is an opposite trend in Latvia and beer consumption has increased from 70 litres to 81 litres per capita a year. Beer is the third most popular drink in the world therefore it is worthwhile to examine the true or potential impact of beer on the health of people.

Barley (*Hordeum vulgare* L.) is the main raw material for beer production. Its basic chemical component is starch which due to enzymes disintegrates into mono- and disaccharides and transfer into fermentable wort during mash boiling process. The majority of other extract substances: proteins, vitamins, minerals, enzymes, phenols etc., move from mash to the obtained wort (Кунце, 2003). Phenols and vitamins are the compounds which possess antioxidant features and they are classified as antioxidants.

Antioxidants are substances that helps to protect a human body itself from formation of free radicals. Free radicals cause cell damage, weakening the immune system and enhances of progress of infectious and degenerative diseases. Scientists hold the view that damage caused by free radicals promotes the aging of a human body. On the other hand, antioxidants, consumed together with food, reduce the risk of falling ill with cancer and blood-vessel diseases. Therefore scientists, food producers and consumers in recent years have become increasingly interested in antioxidants and their amount in nutrients (Kahkonen *et al.*, 1999). The compounds with antioxidant features are mostly found in plants – vegetables, fruit, plant oil, roots, herbs and cereals (Kahkonen *et al.*, 1999). The activity of antioxidants is characterized by their antiradical activity.

Antiradical activity of malt and barley is formed by phenols that include flavonoids and certain phenolic acids, e.g., caffeic acid (Pejin *et al.*, 2009). Beer comprises polyphenols: 70–80% of polyphenols are from barley, but the remaining 20–30% of polyphenols are from hops. Polyphenols have a positive influence on health depending on the amount of consumption and bioavailability (Manach, 2004).

Barley grains and malt made of them comprise also other compounds with antioxidant features such as vitamins C and E.

The analysis of antioxidant dynamics in various stages of beer production process and evaluation of the content changes of certain antioxidants in different technological conditions, provides an opportunity to change or improve beer production process with the aim of maintaining the content of biologically active substances in the final product.

There is no research carried out in Latvia regarding the content of antioxidants and their changes during beer production process from locally selected flaky and hull-less barley grains and their use in malt and beer production.

**Hypothesis of the doctoral thesis** – the content of endogenous antioxidants (phenols, vitamin C and E) in beer is determined by the chosen flakey barley and hull-less barley variety and line as well as technological processes of malt and beer production.

The **sub-theses** of the doctoral thesis is to be proved by the following defendable statements:

- 1) the content of endogenous antioxidants in beer is determined by the chosen barley variety and type,
- 2) the content of antioxidants in malt is significantly influenced by the production technology,
- 3) the content of endogenous antioxidants changes during the mashing pauses and during wort boiling,
- 4) mash fermentation and beer filtration significantly influence the content and antiradical activity of certain antioxidants,
- 5) the content of phenols in beer depends on the beer type and variety.

**The aim of the research work** – to investigate the antioxidant dynamics in grains of hull-less barley and flaky barley during malt and beer production process.

The following **tasks** have been set to reach the aim:

- 1) to determine and compare physical-chemical parameters of flaky barley grains and hull-less barley grains and their relevance to quality demands for raw materials necessary for beer production,
- 2) to analyze the relevance of new, selected in Latvia, hull-less barley grains lines and the variety for the malt and beer production by means of traditional technologies,
- 3) to determine the content of endogenous antioxidants – phenol, vitamins C and E and their changes in steps: barley – malt, malt – wort, wort – beer,
- 4) to investigate the dynamics of antiradical activities and the total phenolic content in the steps: barley – malt, malt – wort, wort – beer,
- 5) to carry out the evaluations of condition of beer production technology with the purpose of preserving endogenous antioxidants in the product,
- 6) to identify interaction between antiradical activity, total and individual phenols, vitamins E and C in beer production,
- 7) to classify commercial and experimental beer samples according to their basic indices and the content of phenolic compounds.

The **novelty and scientific significance** of the work.

The dynamics of endogenous antioxidants of grain lines and varieties of hull-less barley and flaky barley in malt and beer production process have been analyzed for the purpose of determining and preservation of their biological value.

The changes in vitamins E and C in the most significant stages of malt and beer production have been determined.

The application of hull-less barley grains in the malt and beer production has been analyzed, using the existing malt and beer production equipment and technologies.

**The economic significance** of the doctoral thesis.

The data analysis of new, selected in Latvia, hull-less barley grain lines and a variety, evaluation of their application opportunities for malt and beer production provide material for further selection work to increase activity of amilolytic enzymes, as well as to reduce the content of proteins and  $\beta$ -glucans in hull-less barley grains.

The choice of malt with high antiradical activity and optimal malt and beer production technological conditions, the content of biologically active substances in beer is increased.

The investigation of the composition of phenols and their features permits to forecast the biological value of beer, as well as processes resulting in unfavourable fragrance/taste and coloidal sediments, significantly changing the quality of beer.

## **APPROBATION OF THE RESEARCH**

The results of the research work **have been presented** in eight international conferences and congresses in Latvia, Turkey, South Africa, the Czech Republica, and Lithuania and at the international food exhibition „RigaFood” 2010, 2011.

The results of the work have been **summarised and published** in eight scientific publications in English in issues, which are Latvian Council of Science acknowledged publications (the list of publications and attened conferences and congresses see on pages 6–8).

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Time and place of the Research**

The research was carried out in the time period from 2009 to 2012 at the following institutions:

The Scientific Laboratory of Microbiology of the Department of Food Technology, the Laboratory of Dr.agr. Edgars Žubeckis' Food Product Analysis, the Scientific Laboratory of Chemistry of Nature Substances at the Faculty of Food Technology, Latvia University of Agriculture (LUA),

LUA, the Study and Scientific Laboratory of Grains and Seeds of the Faculty of Agriculture,

LUA, the Scientific Laboratory of Agronomy Analysis,

the University of Latvia, the Institute of Biology,  
the Latvian State Institute of Fruit-growing,  
"Aldaris", plc, the laboratory of the bottling unit of the company,  
"Vikingmalt", plc, the laboratory of grains and malt of Kaunas, Lithuania.

### **Materials used in the research**

Two varieties of flaky barley grains, 'Roland' and 'Class', (further in the text – flaky barley) and four lines of hull-less barley grains: PR-3528', 'PR-3537', 'PR-L-400, 'PR-3475' (further in the text - hull-less barley) were used in the research. The line PR-3528 was registered as a variety with the name "Irbe" in 2011, therefore it will be called as a variety not a line further in the text.

Four commercially produced types of malt were used in the research: Pilsener, Minhene, light caramel and burnt malt.

Granular hops (*Humulus lupulus* L.) were used in the research.

Yeast *Saccharomyces pastorianus* was used for beer fermentation.

Different kinds of light and dark beer of various producers purchased from retailers were used for comparison.

### **Malt and beer production technology**

Malt was produced according to classical Pilsener malt production technology and quality requirements. The method of infusion was used for mashing. Hops 1g l<sup>-1</sup> were added to one part of wort samples produced in the laboratory, the further sample preparation process was identical to the wort that was boiled with hop and without hop. The technology of producing beer samples corresponded to the classical production technology of light beer. Beer yeast *Saccharomyces pastorianus* (0.9 l hl<sup>-1</sup>) was used for fermentation of wort. Beer was filtered through the cardboard filter 0.45 (µm).

### **Structure of the research**

The samples used in the research have codes (see Table 1) for the purpose of data analysis. The production cycle of malt and beer was divided into three steps: barley – malt, malt – wort, wort – beer. Each step comprised technological steps; the obtained sample was analyzed after each step. The steps were denoted with numbers (1., 2., 3....). The samples made of flaky barley were labelled with the letter 'P', but the samples that were made of hull-less barley were labelled with the letter 'K'. The varieties and types of lines of hull-less barley were labelled with the Roman numbers (I, II, III un VI). The code of the samples for the analysis prepared in the manufacturing conditions contained the letter 'R', the code of the samples prepared in the laboratory contained the letter 'L'. The code of the samples, containing hop, had the letter 'a'.

Two types of barley samples were analyzed in the research: grains of flaky barley and hull-less barley that were used as source material in the technological process of malt and beer production (Figure 1). The research was carried out according to classical malt (1), wort (2) and beer (3) production technology.

The research methods used for the analysis of barley and malt samples are presented in Table 2.

The research methods used for the analysis of mash, wort and beer samples are presented in Table 3.

**The mathematical data analysis** was carried out with the help of mathematical statistic methods. The calculations were performed with MS Excel and the experimental data were analyzed with SPSS 17. The hypothesis was tested with p-value method, and the factors were considered significant if  $p < \alpha_{0,05}$ . It was considered that  $\alpha = 0,05$  with 95% credibility for the data analysis if it was not stated otherwise. Firstly, the influence of interaction of two different factors was analyzed by two-factor dispersion analysis (ANOVA). Correlation analysis and regression analysis were used to evaluate mutual correlation of various features. The method of hierarchy clusters was used in the research to classify data in sub-groups or clusters. Each cluster united closely related items. The method was used to classify commercially produced beer samples by their basic indices (the contents of alcohol, real extract and the content of dry matter in pre-wort).

## THE RESULTS AND DISCUSSION

### 1. Analysis of physical-chemical parameters of barley and content of endogenous antioxidants

The most important indices of grain quality is the content of protein and extract substances in grains. The optimum protein content in the grain for malt production is 9–11.5%. Proteins can bind water and form steady colloidal liquids. Proteins lose the ability to dissolve in water, and they form sediments due to temperature and other conditions, therefore barley varieties with high protein content are not suitable for beer production. In addition, the suitability of barley for malt production is characterized by the content of extract substances in grains. Malt should have at least 80% extract substances. These are substances that easily transform into sugars under influence of enzymes and acid<sup>5</sup>.

The analysis of the obtained data (Table 4) show that flaky barley variety ‘Class’ (P) should be used for the further research since it has higher content of extract substances and starch than the grains of the variety ‘Roland’. As regards hull-less barley, the variety ‘Irbe’ (KI) is chosen since it has lower content of protein than the lines ‘PR–3475’ and ‘PR–L–400’ and higher content of extract substances and starch than other samples of hull-less grains. The second highest content of extract substances belongs to the line ‘PR–3475’ in comparison with other varieties of hull-less grains therefore it was selected for the further research in spite of increased content of protein.

The greatest contribution to antiradical activity of grains (Zhao *et al.*, 2008) is provided by such bioactive secondary metabolites as phenols. Total phenolic content of barley depends on the variety, type and growing conditions. The analysis of

---

<sup>5</sup>Miežu graudi iesala ražošanai [Skatīts 23.04.2013.] Pieejams / Available: <http://www.graudi.info/graudi/text?page=graudi>

samples from different years showed that total phenolic content fluctuated from 113.87 to 227.95 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> of the dry matter of hull-less barley KI and KII, and from 181.04 to 216.04 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> of the dry matter of flaky barley P (Figure 2) The obtained data resemble the results of other authors: 132–196 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> dry matter (Liu, Yao., 2007), 103–187 GAE 100 g<sup>-1</sup> dry matter (Zhao *et al.*, 2006), 50–196 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> dry matter (Fardet *et al.*, 2008), as well as hull-less barley 70–110 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> dry matter (Dvorakova *et al.*, 2008).

The analysis of the barley yield of 2010 and 2011 shows that the sample of flaky barley P had higher total phenolic content than hull-less barley KI and KII (Figure 2). The samples KI un KII from the yield of 2009 contained higher phenol content than flaky barley sample P. Significant differences ( $p < 0.05$ ) of the total phenol content in the same sample in various harvest years could be explained by differences in growing conditions, as well as in quality of the seed material. Equal climate conditions do not provide similar total phenol content of various cases of barley. Dvorakova *et al.* (2008) claims that the total phenol content is not related to the presence or absence of a flake. The total phenol content is determined by physical-chemical parameters of seed material, climate and agrarian conditions. The type of barley – either hull-less or flaky – is not the factor that determines the total phenolic content.

The following phenolic compounds have been determined in barley: derivatives of benzoic acid, cinnamic acid and compounds of flavanols. As regards the group of benzoic acid derivatives on the whole, the samples of hull-less barley contains by 0.118–0.209 mg 100 g<sup>-1</sup> more benzoic acid derivatives than flaky barley P. Gallic acid was not found in any of the analyzed barley samples.

The samples of KI and KII hull-less barley had significantly ( $p < 0.05$ ) higher content of total cinnamic acid derivatives that contradicted the finding of the research done by Holtekjolen *et al.* (2006), where the total phenol content was higher in the samples of flaky barley. It could be explained with the genotype of the samples and selection aims of hull-less barley, as well as different extraction method of samples. As regards cinnamonic acid derivatives, coffee acid had higher antiradical activity than ferulic acid (Holtekjolen *et al.*, 2006). However, coffee acid was not found in flaky beer barley P variety used in the research. Sinapic acid was not identified in any of the analyzed samples. Sinapic acid, among phenolic acids, has the smallest content in the whole malt and beer production process, but, concerning quality, it provides greater contribution to antiradical activity of products comparing to more represented phenolic acids (Szwajagier, 2009). The dominating phenolic acids in both samples of hull-less beer include coffee acid: 2.465 mg 100 g<sup>-1</sup> and 4.4 mg 100 g<sup>-1</sup> of dry matter in the variety KI and the line KII, respectively. This phenolic acid determines the prevalence of the total amount of cinnamic acid derivatives in comparison with the sample P of flaky barley. *p*-coumaric is more concentrated in the external part of a grain than ferulic acid (Renger, Steinhart, 2000). This statement coincides with the results of the research where *p*-coumaric in the content of flaky barley exceeds the content of ferulic acid. Concerning hull-less barley, the content of *p*-coumaric

exceeds 2.7 to 4.4 times the content of ferulic acid, even though hull-less barley does not contain flakes.

The content of flavanols is genetically dependent on the type of barley. Flavanols are less represented in flaky barley than in hull-less barley (Holtekjolen *et al.*, 2006). The obtained results coincides with the finding of the above mentioned research. The content of flavanols in flaky barley P is by 1.347 mg 100 g<sup>-1</sup> of dry matter less than in hull-less barley line KII and by 1.983 mg 100 g<sup>-1</sup> of dry matter less than in hull-less barley line KI. The dominating flavanols in all the analyzed samples of barley is catechins, but the amount of epicatechins is relatively small. These are the representatives of the flavanol group, including catechin, that are compounds forming beer sediments during beer production and storage process along with proteins (Nack, Shahidi, 2006). Therefore brewers prefer barley varieties with smaller content of flavanol group compounds.

In order to estimate antiradical activity in barley grains, various barley samples were analyzed and compared in order to test their ability to react with the radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. Antiradical activity in barley grains, similarly to the total content of phenols, might fluctuate in a wide range that is influenced by different external factors (variety, growing conditions). Antiradical activity of one and the same variety in different harvested years differs significantly ( $p < 0.05$ ). The type of barley – either hull-less or flaky – is not a determining factor of antiradical activity. However, in spite of differences, all the analyzed samples showed the ability to react with DPPH radical.

During the period of germination, as a result of physical-chemical modifications of endosperm, bioactive substances are synthesized (Sharma, Gujral, 2010), including vitamins C and E. The research on the content dynamics of vitamins C and E during malt production was carried out for the malts PL(6), KI(6) and KII(6), produced in the conditions of the laboratory.

The content of the vitamin E was analyzed during the research activities starting from raw grain to malt (Figure 3) (the steps are described in Table 1). The content of vitamin E was not significantly different in all the analyzed samples ( $p > 0.05$ ). According to the research results by Briggs (1998), E vitamin in barley is 2.1–5.2 mg 100 g<sup>-1</sup> of dry matter, and the obtained results coincides with the given research.

The most intensive synthesis of vitamin E took place at the beginning of the germination – after the second twenty-four hours. The content of vitamin E in barley P increased 1.75 times, and in both samples of hull-less barley 1.6 times in comparison with steeped grains pointing to intense growing process resulting in intensive bio-chemical reactions. The content of vitamin E decreased in all the samples of dry germinated grains: 2.7 times (5.33 mg 100 g<sup>-1</sup>) in the sample of barley P, 3.1 times (5.28 mg 100 g<sup>-1</sup>) in the sample of KII and 3.6 reizes (5.04 mg 100 g<sup>-1</sup>) in the sample of KI in comparison with the samples after six germination days.

A decrease of vitamin E in the samples of hull-less barley is higher than a decrease of vitamin E in the variety of flaky barley, where a flake probably serves as a shield, decreasing thermocollapse of bioactive substances caused by the hot air.



The stability of vitamin E depends on the drying period, a method and chemical contents of a product (Ball, 2006). The germination of grains produces sprouts containing the majority of vitamin E, and the sprouts are separated during malt analysis.

Vitamin C is not found in barley grains, its synthesis starts during the germination stage (Briggs *et al.*, 1981), that was validated by the research findings (Figure 4). Vitamin C starts to synthesize during barley steeping in water environment. It is connected with an increase of moisture in the grain serving as a positive factor for enzymes' activation. The synthesis of vitamin C continues all through activation of grains that was found also by other authors (Rakcejeva, Skudra, 2006). Vitamin C takes part in the complicated plant growing modulation, including early stages of embryo germination (Plaza *et al.*, 2003).

The maximum C vitamin content was received on the 4th day and it had increased by 2.5, 1.6 and 2.5 times comparing with the content of vitamin C at the beginning of germination in the barley samples P, KII un KI, respectively.

A significant decrease of vitamin C was observed after the 6th day of germination. The explanation of it is the fact that vitamin C is used in metabolism of grains in their life processes (growing and development) (Ball, 2006).

Vitamin C collapse continued during drying of grains. Vitamin C is not durable at high temperatures as well as if affected by oxygen (Briggs, 1998; Pokorny *et al.*, 2001), and during drying it decreased 1.3 times in all samples.

## **2. Analysis of bioactive substances in malt and the influence of production technology on changes of the content of antioxidants**

An increase of the total phenol content in malt in comparison with raw barley grains in all the analyzed samples was significant ( $p < 0.05$ ). An increase of total phenols in flaky barley P during malt production was from 43% to 65%, depending on the harvested year. There was an increase in hull-less barley variety KI from 40 to 89%, but the total phenol content in line KII increased by 29–78% (Figure 5) during the production process. During production of malt different physical-chemical and biochemical changes occur in a grains resulting in a significant increase of the total phenol content (Lu *et al.*, 2007). Dvorakova *et al.* (2008) explained the increase with release of bounded phenols due to impact of enzymes, as well the influence of drying temperature. Maillards, Bersets (1995) agree with that explanation. The total phenol content depends on the variety not on the type of barley – be it either hull-less barley or flake barley. The similar tendency was observed in the present research.

Malt comprises more phenol compounds than barley, however, the proportions among the groups remain similar. It is explained by the fact that extraction of better flavanols un phenolic acids is possible due to the modification of grain endosperma influenced by drying process (Maillard *et al.*, 1996).

The dominating phenols in the analyzed samples of hull-less barley were catechins and caffeic acid. Similar modification tendencies of phenols were observed also during malt production from hull-less barley line KII. The content of catechin in the sample malt KIII, in contrast to KII sample, increased during malt production.

The concentration of catechins is bigger in the samples of KI and KIIL hull-less barley and malt than in the sample P of flaky barley. The obtained results coincided with the research finding of Dvorakova *et al.* (2008).

The changes of certain phenol compounds of flaky barley P in malt are similar to the changes of hull-less barley in this process, except for the sample of barley P in which initially the presence of caffeic acid was not found. Obtaining malt, its content was 1.430 mg 100 g<sup>-1</sup>. Caffeic acid together with quinic acid create chlorogenic acid (Cuvelier *et al.*, 1992) and it is possible that initially it was not found in barley due to formation of this particular compound.

The phenol compounds, epicatechins and *p*-hydroxybenzoic acid were less represented in all the malt samples. The content of sinapic acid had the least amount in hull-less barley malts. Malt KIL contained 0.105 mg 100 g<sup>-1</sup> of dry matter, but KIIL malt contained only 0.055 mg 100 g<sup>-1</sup> of dry matter. Sinapic acid was found neither in the samples P of malt nor in barley which could be explained by the differences among varieties.

As regards the ready-made malt, a significant increase of antiradical activity was observed in all analyzed samples (Figure 6).

The sample P of flaky barley malt, used in the research was compared with commercially produced malt samples; the main technological difference among them is the drying temperature. The malts 'Class' and 'Pilsener' are light malt, they are dried at the temperature of 70-80 °C. The malt 'Minhene' is classified as the dark beer, and its drying temperature is 105 °C. Caramel malt and burnt malt are special malts providing for specific dark colour and special fragrance. Their drying temperature reaches 150 °C and 230 °C, respectively. Antiradical activity increases simultaneously with the increase of the temperature and decrease of the moisture content. Similar results were obtained in the research by Inns *et al.* (2007), proving that drying mode significantly influences both antiradical activity and the colour of the final product. Likewise, an increase of drying temperature influences the total phenolic content in commercially produced malts.

### **3. Influence of mashing and wort boiling process on antioxidant content**

The dynamics of the total phenolic content during mashing and wort boiling is shown in Figure 7, where quantitative differences of total phenolic content are significant ( $p < 0.05$ ), but the dynamics of changes in all boiled products is similar.

There is a gradual increase of the total phenolic content in the mash along with an increase of mashing temperature up to 78 °C. An increase of the total phenolic content can be enhanced by release of phenols from the complex compounds and diffusion influenced by hydrolithic enzymes and extraction in water (Vanbeneden *et al.*, 2008b). A significant increase of phenolic compounds during mashing was also observed in the research findings by Fumi *et al.* (2011) and Pascoe *et al.* (2008).

A significant decrease ( $p < 0.05$ ) of the total phenolic content was found in all samples during filtration of mash at the temperature of 78 °C and obtaining wort. Oxidation, decomposition and fast formation of protein-polyphenolic composites

explain partly a decrease of the total phenolic content at high mashing temperatures (Aron, Shellhammer, 2010). However, the contribution of rinsing water during mash filtration process should be taken into account, since it causes a fast increase of the ratio between water and extract substances.

There was a significant increase ( $p < 0.05$ ) of the total phenolic content during wort boiling. The increase of total phenolic content in samples PR un PL of flaky barley during wort boiling accounted for 11% and 53%, respectively, but the total phenolic content of PKIL wort increased by 53%.

Phenolic acids have an important role in the formation of the total phenolic content in wort and beer, thus contributing greatly to antiradical activity (Fantozzi *et al.*, 1998).

*Benzoic acid derivatives.* Gallic acid was identified neither in barley samples nor in malt samples, however, it was dominating one from all benzoic acid derivatives during the whole mashing and wort boiling process in all the analyzed samples. The dynamics of gallic acid during wort boiling in all the mash and wort samples was similar (Figure 8). Moderately close correlation ( $r = 0.607$ ) was found between the total phenolic content and the analyzed content of benzoic acid derivatives (including vanillic acid, syringic acid and *p*-hydroxybenzoic acid) in all the samples during mashing. It can be concluded that gallic acid, as the dominating substance of benzoic acid, influenced significantly dynamics of the total phenolic content.

*Cinnamic acid derivatives.* Cinnamic acid derivatives are characterized by higher antiradical activity than benzoic acid derivatives (Holtekjolen *et al.*, 2006), therefore this group could be considered to have more significant quality index in antioxidant estimation of barley, malt, wort and beer. As regards cinnamic acid derivatives, caffeic acid and ferulic acid were found in the significant amount both in mash samples and in wort samples.

The amount of ferulic acid in mash of hull-less barley malt KIIL and PKIL (Figure 9) is less in all the steps in comparison with mash and wort samples of flaky barley PR and PL. A range of ferulic acid in different wort samples might be very broad, which could be explained by the ratio between malt and water, and different malt supplies (Szwajgier, Bancarzewska, 2011). The content of ferulic acid might increased up to 275% during mashing process in mash of flaky barley, up to 142% in PKIL mash, but in hull-less barley malt mash by 75%. According to the data of Szwajgier, Bancarzewska (2011), ferulic acid decreases significantly during wort boiling, however, the given reduction of ferulic acid content against the ferulic acid increase during mashing was negligible.

*Flavanols.* The third most important group of phenol compounds in malt and beer is the group of flavanols with dominating catechins (Figure 10) in the form of monomers. During mashing process along with the temperature increase the content of catechins increased in all samples, however, after a saccharification pause at the temperature of 72 °C (Step 9) and mash filtration, their content started to decrease in all samples.

Oxidation of proanthocyanidin, catechins and epicatechins influences significantly formation of beer sediments (Kaneda *et al.*, 1990). During wort boiling

a significant amount of epicatechins' and catechins' sediments were formed, creating complex compounds with coagulation proteins. A decrease of catechins during wort boiling was significant ( $p < 0.05$ ) in all the samples (Figure 10).

Catechins' content in the wort samples PR and PL of flaky barley malt decreased more 43% and 47%, respectively, but catechins' content in PKIL wort decreased 35%. During the whole mashing process the content of catechins increased by 122% in the sample PR of flaky barley, by 107% in the sample PL, but it decreased by 12% in the sample PKIL in comparison with the initial content in Step 7.

Antiradical activity increased during the whole mashing process, except for hull-less barley malt mash KIIL (Figure 11). The obtained result coincides with the research findings of Pascoe *et al.* (2003). The release of phenolic compounds and Maillard reaction product formation justified an increase of antiradical activity during mashing.

At the temperature of 72 °C after a saccharification pause and mash filtration, a rapid decrease of antiradical activity in all the samples was observed, i.e., by 17% and 45%, respectively in the samples PR and PL of flaky barley mash and by 17% in the sample of PKIL mash. It could be explained by the dilution level of malt spent grains rinsing water.

An increase of antiradical activity by 7.3–143% in PR and PL wort of flaky barley and by 14% in PKIL wort during boiling with hop is due to wort boiling process, according to Vanbenden (2008b). However, Zhao, Zhao (2011) found out that an increase of antiradical activity during wort boiling process occurred only because of Maillard reaction product formation processes.

### **Reasons for no saccharification of hull-less barley malt**

In order to clarify the reasons for no saccharification of hull-less barley malt, a complete physical-chemical analysis of malt samples was carried out. The obtained results are described in Table 5.

The enzymes  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase split starch during mash saccharification pause in glucose, maltose, maltotriosis, dextrans etc. that turn into an extract – wort and is easily re-fermented forming ethyl alcohol and carbon dioxide. The activity of  $\alpha$ -amylase in both hull-less barley samples KIL and KIIL is not sufficient, 15 and 25 dextrine units (DU), respectively. Bhatti (1996) and Agu *et al.* (2008) have found in their research that  $\alpha$ -amylase activity in hull-less barley varieties is on average by 10–25% lower than that in flaky barley. The authors also suggest that hull-less barley can reach higher  $\alpha$ -amylase activity during malt production if they have been selected for this purpose. Besides, diastatic power characterizing the ability of enzymes to transform starch, is lower in malt samples KIL and KIIL than in flaky barley malt samples PR and PL, and the difference is 28–65%. According to the research findings of Bhatti (1996), the activity index of total enzymes VZ 45 °C does not satisfy the requirements of Pilsener type malt as well. Other inadequate results of the obtained indices do not directly influence saccharification process.

#### 4. Total phenolic content in beer after fermentation, maturation and filtration

The total phenolic content did not change significantly ( $p>0.05$ ) in all the analyzed samples during the main fermentation (Figure 12). An increase of the total phenolic content during further maturation process at the temperature of 4 °C was observed in the sample of PKILa and PLa, whereas significant changes ( $p>0.05$ ) were not observed in the sample PRa that points to ambivalent tendency of the total phenolic content change during maturation of young beer. Chemical and biochemical reaction occur during extended maturation process that influence the quality index of ready-made beer (Kunce, 2003).

Filtration decreased the total phenolic content in beer. The major decrease (12%) was found in the sample PRa, but the total phenolic content in beer samples PLa and PKILa decreased by 9% and 5%, respectively.

The changes in phenolic content in the step wort – beer were ambivalent. The total phenolic content in the sample PRa decreased by 22%, whereas it increased by 13% in the sample PLa, and it increased by 3% in the sample PKILa. The total phenolic content result of laboratory beer samples during wort fermentation and filtration was not significant ( $p>0.05$ ), whereas a decrease of phenolic content in the sample PRa was significant ( $p<0.05$ ). Fumi *et al.* (2011) and Leitao *et al.* (2012) in their research have found that there is a decrease of the total phenolic content during wort fermentation and filtration, besides, they state that phenolic compounds have an important role in the physical and technological processes during beer production since they might unfavourably influence foam stability, beer physical-chemical stability and storage time.

Benzoic derivatives. Gallic acid is the dominating phenolic acid during mashing, wort boiling and beer fermentation representing benzoic derivatives (Figure 13). Its content in PKILa wort decreased during all the fermentation and maturation time, but as regards the step wort – beer, gallic acid accounts for 28%.

On the other hand, the content of gallic acid increased during fermentation of flaky barley malt wort PRa and PLa, whereas evaluating the step on the whole, the content of gallic acid in the sample PRa from wort to beer decreased by 22.6%, however, gallic acid increased by 17% in the PLa sample.

Cinnamic derivatives. Caffeic acid is the most important from cinnamic derivatives and its changes are described in Figure 14. The content of caffeic acid was significantly higher ( $p<0.05$ ) in the PLa sample than caffeic acid in the PRa and PKILa samples in all the step wort – beer. A range of changes in PLa sample was varied after the technological processes. As regards the fluctuations of caffeic acid content in the PRa and PKILa samples, they were not significant ( $p>0.05$ ) in the whole wort fermentation and beer filtration time. It could be explained by a variety of raw material supplies, as well as intensity of wort boiling.

The changes of ferulic acid during fermentation, maturation and filtration occurred equally in all samples – it decreased in the whole step wort – beer by 23.54% in the PRa sample, by 61.39% in the PLa sample and 31.39% in the PKILa sample in comparison with the initial content of ferulic acid in wort.

Flavanols. The dominating flavanols in the step wort – beer are catechins. Their content, after significant reduction during wort boiling process, increases during fermentation. The content of catechins decreases during maturation, the representatives of this group form complex compounds with proteins that make sediments at the bottom of fermentation container. The content of catechins continues to decrease during filtration. The content of catechins in the whole step: wort – beer decreased by 36.6% in the sample PRa and by 29.6% in the sample PLa. However, the content of catechins in the beer sample PKILa was by 88.7% higher than the content of catechins in wort of the same sample.

Dynamics of antiradical activity in the step wort – beer show controversial results; they are described in Figure 15. Wort of laboratory samples PLa and PKILa during the main fermentation and maturation formed an opposite tendency of antiradical activity in comparison with the samples PRa of wort and young beer prepared in production conditions. Antiradical activity decreased during filtration in all the three samples.

A close correlation between antiradical activity and total phenolic content was found during beer fermentation in all the analyzed samples. PRa sample  $r=0.969$ , PLa sample  $r=0.935$  and PKILa sample  $r=0.984$ . Many research findings confirm this result (Lugasi 2003; Piazzon *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010), however, Zhao *et al.* (2010) notes that the total amount of individual phenolic groups reflects antiradical activity of beer more objectively than the total phenolic content. In order to determine similarity among the analyzed beer samples, cluster analysis was used. 17 commercial beers and the sample PRa of light beer from factory were grouped on the basis of physical-chemical parameters (dry matter, %; alcohol content, volume %, etc) and phenolic compounds. Eighteen samples were divided into three clusters on the basis of basic indices of beer. The first two clusters contained the varieties of both light and dark beer, but the third cluster contained three separate varieties of dark beer. The sample PR, analyzed in the research, belonged to the first cluster, and the research results showed that it was similar to many commercial beer samples. As regards the content and composition of phenolic compounds, beer samples were divided into three clusters. The cluster analysis shows that the content of phenolic compounds in beer does not depend on the type of beer, light or dark, but perhaps on the variety of barley and technological processes used in industrially produced malt and beer.

## CONCLUSIONS

1. The analysis and comparison of physical-chemical parameters of flaky and hull-less barley grains for the purpose of beer production shows that hull-less barley has higher content of starch, protein,  $\beta$ -glucans and catechins than flaky barley grains. Increased content of proteins and  $\beta$ -glucans in hull-less barley is not relevant for the quality requirements of beer barley.
2. Due to significantly low hydrolithic enzymes activity of lines and variety of hull-less barley, selected in Latvia, the 100% use of hull-less barley malt is not possible. 25% of flaky barley malt can be substituted with hull-less barley malt, producing beer with traditional technology.
3. The total phenolic content depends on the variety, not on the type of barley – hull-less or flaky. The increase of the total phenolic content in malt in all the analyzed samples was significant in comparison with raw grains. The changes of total phenols in the step malt – wort – beer was differential. Hops did not influence significantly the total phenolic content in wort and beer, as well as their antiradical activity.
4. Gallic acid was the dominating acid from benzoic acid derivatives in the mashing and wort boiling process and significantly influenced the total phenolic content. As regards cinnamic acid derivatives, benzoic acid and ferulic acid were found in significant amounts both in the analyzed samples of mash and wort. Catechins which are phenols of the group of flavanols decreased in the step malt – wort by 40% on average.
5. The initial phenolic content of the chosen barley variety influenced antiradical activity of the final product. The applied technologies in the step barley – malt – wort and Maillard reaction products that were formed during thermo-processing of germinated grains and wort increased beer antiradical activity up to 130%.
6. The content of vitamin C decreased during drying process of green malt; it did not have a significant influence on the beer antiradical activity in further production process.
7. The content of vitamin E did not change in the steps barley – malt, but it increased in the steps malt – wort – beer, increasing its antiradical activity.
8. The results of cluster analysis showed similarities between light and dark beer varieties, except for certain dark beer varieties with a very high total content of phenol, alcohol and real extract.
9. The data obtained in the research prove the hypothesis – the chosen barley variety or line but not the type (hull-less or flaky barley) determines the content of endogenous antioxidants in the final product and it varies depending on the technological processes during malt and beer production.