

---

**TŘÍDĚNÍ JEČMENŮ POMOCÍ VIBRAČNÍ SPEKTROSKOPIE A MULTIVARIAČNÍ ANALÝZY**  
**CLASSIFICATION OF BARLEY USING VIBRATION SPECTROSCOPY AND MULTIVARIATE ANALYSIS**

---

*Eva Lhotáková, Andriy Synytsya, Rudolf Ševčík, František Kvasnička, Jana Čopíková, Michal Oldřich*

**ABSTRACT**

In this work FT-IR (400-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) and FT-NIR (4000-10000  $\text{cm}^{-1}$ ) spectra of 101 samples of milled barley grains (various varieties and hybrids) were measured. Obtained spectra were normalized and their 1<sup>st</sup> derivatives were used for principal component analysis (PCA). Both spectroscopic methods showed differences in barley grain composition. The set of barleys was divided into several clusters containing similar samples. Despite the fact that direct correlation between obtained results and content of  $\beta$ -glucans was not found, a group of barleys containing small amounts of these polysaccharides was successfully separated from the majority of samples.

**Key words:** barley discrimination, FTIR, FT NIR, PCA

---

**ÚVOD**

Ječmen se řadí mezi nejstarší zemědělské plodiny a patří k hospodářsky nejvýznamnějším rostlinám. V dnešní době se většina vypěstovaného ječmene, zejména ozimý ječmen, používá ke krmným účelům. Nejvyšší část produkce slouží k výrobě sladu pro pivovarský průmysl. Dále se ječmen využívá k výrobě ječných krup, krup a náhražek kávy. Vzhledem k tomuto širokému potravinářskému využití, hlavně v pivovarském průmyslu, šlechtitele ječmene se snaží ovlivnit chemické složení zrna zejména obsah neškrobových polysacharidů ( $\beta$ -glukanů a arabinoxylanů) a jejich interakce s bílkovinami (Fox, Watson, Osman, 2002; Henry, 1985). Tyto látky totiž vytváří gely, které mohou negativně ovlivnit technologii piva. Jejich nepříznivé účinky na trávení spočívají ve zvýšení viskozity střevního obsahu. Nejvýrazněji se projevují u drůbeže, u které dochází ke zhoršení užitkovosti a zvýšenému zadržování vody v trusu (McNab, Smithard, 1992). Na druhou stranu neškrobové polysacharidy jsou důležitými složky cereálních potravin díky příznivému účinku neškrobových polysacharidů na snížení hladiny cholesterolu, snížení rizika výskytu rakoviny tlustého střeva, prevence obezity a cukrovky (Baik, Ullrich, 2008). Obsah  $\beta$ -glukanů (obvykle 2 až 10 hm. %) závisí na genotypu ječmene. Pro potravinářské účely jsou vhodné odrůdy bezpluchého ječmene s vyšším obsahem  $\beta$ -glukanů (více než 5 %) a stravitelné vlákniny (Taketa et al., 2004; Bhatta, 1992). Ječmen sladovnický naopak by měl obsahovat méně  $\beta$ -glukanů (max. 1,5 – 2 %). Hledají se takové odrůdy a hybridy ječmene, které budou mít optimální zastoupení neškrobových polysacharidů vzhledem k dalšímu využití.

Pro zjišťování obsahu jednotlivých složek ječmene lze využít různých analytických metod a postupů, které jsou složité a zdlouhavé. Mnohem jednodušší a rychlejší je použití nedestruktivních spektroskopických metod, zejména blízké infračervené (NIR – *near infrared*) spektroskopie (De Sá, Palmer, 2006). Tato metoda zaujímá významné místo mezi metodami používanými pro stanovení chemických a fyzikálních vlastností potravin a potravinových produktů (Jirsa, Hrušková, Švec, 2008; Ozaki et al., 2006; Tarkošová, Čopíková, 2000ab; Kays, Barton, Windham, 1999; McGuire, 1982). Infračervená spektroskopie ve střední IČ oblasti je zajímavá z hlediska analýzy a hodnocení kvality potravin a surovin (Sun, 2009; Thygesen et al., 2003; Van de Voort, 1992) a je používána pro strukturní analýzu cereálních polysacharidů (Robert et al., 2005; Kačuráková, Wilson, 2001).

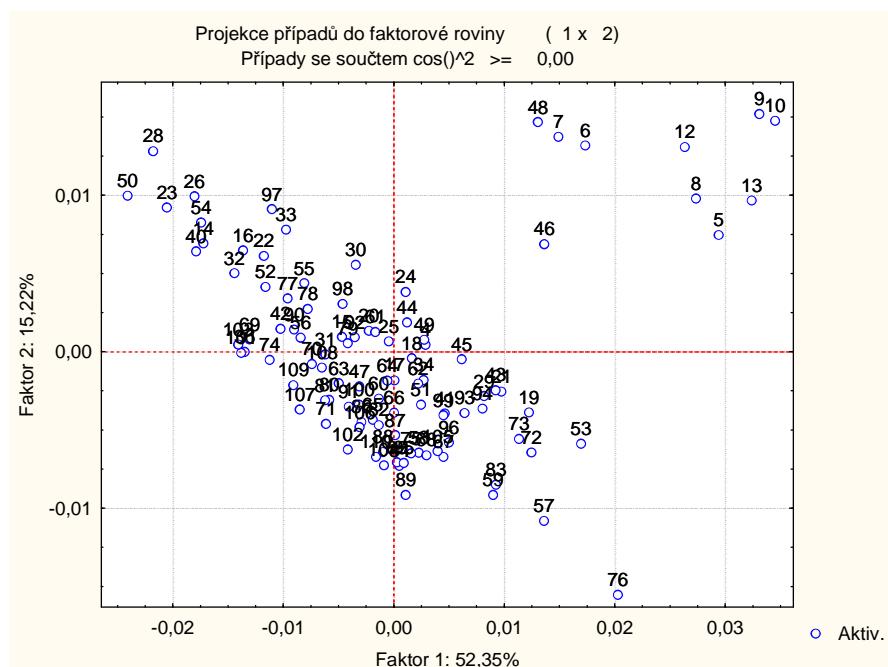
Tato práce je věnovaná využití FT-NIR a FT-IR spektroskopie v kombinaci s analýzou hlavních komponent (PCA – *principal component analysis*) pro třídění vzorků ječmenů různých odrůd a hybridů na základě jejich chemického složení a genetického původu.

## MATERIÁL A METODIKA

Bylo použito 101 vzorků zrn ječmenů ze sklizně 2008 (různé odrůdy a hybridy). U většiny vzorků byly stanoveny obsahy  $\beta$ -glukanů, které se pohybovaly od 2,6 do 10,9 %. Zrna byla rozemleta pomocí odstředivého mlyna Retsch ZM 200 (velikost oka síta 0,75 mm).

FT-IR a FT-NIR spektra vzorků polysacharidů byla změřena na FT-IR spektrometru Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA). FTIR spektra byla měřena v KBr tabletě v rozsahu vlnočtů 400–4000  $\text{cm}^{-1}$  s rozlišením 2  $\text{cm}^{-1}$  a počtem skenů 64. Difúzně reflektanční FT-NIR spektra byla změřena v rozsahu vlnočtů 4000–10000  $\text{cm}^{-1}$  s rozlišením 2  $\text{cm}^{-1}$  a počtem skenů 100. Spektra byla normalizována podle osy Y a byly vypočteny 1. derivace podle algoritmu Savitsky-Golay, program Omnic 7.3 (Thermo Scientific, USA). Normalizovaná spektra a 1. derivace byly exportovány do programu Origin 6.1 (Microcal Software, USA) ve formátu CSV pro další zpracování. Statistické vyhodnocení 1. derivací spekter bylo provedeno v programu Statistica 7.1 (StatSoft CR, Česká Republika). PCA byla provedena na základě kovariací a byly připraveny grafy komponentní zátěže a komponentního skóre.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

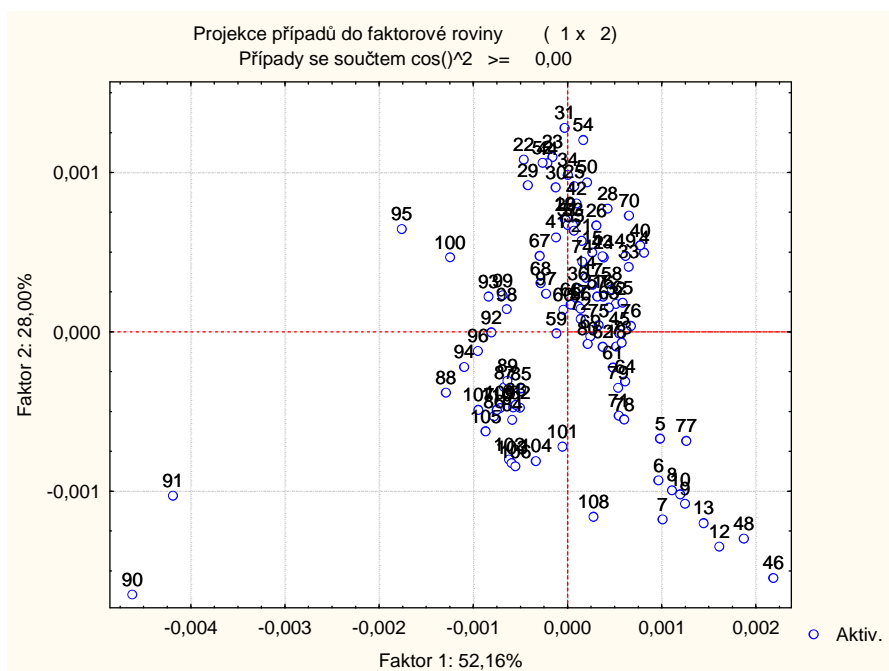


**Obrázek 1** Graf komponentního skóre PC2 versus PC1 pro 1. derivace FT-IR spekter ječmenů

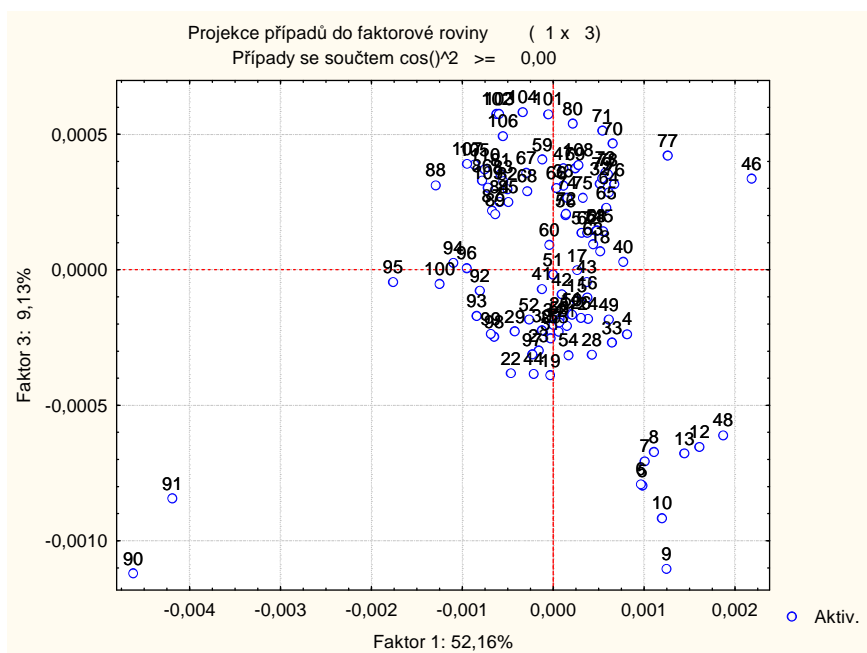
Na obrázku č. 1 je uveden graf komponentního skóre PC2 ku PC1 1. derivací FT-IR spekter. Oddělila se zde skupina vzorků (č. 5–13, 48 a 46). Tyto vzorky obsahovaly nejméně  $\beta$ -glukanů ze všech vzorků (2,6–3,1 %), mimo vzorku č. 46 (obsah  $\beta$ -glukanů 4,9 %); ostatní vzorky obsahovaly 3,7–10,9 %  $\beta$ -glukanů. Ječmeny této skupiny jsou kříženci KM1282  $\times$  Hiproly (označení KM1057), vzorek č. 46 je dalším křížencem (Wanubet  $\times$  KM1057). Ostatní vzorky tvoří hlavní trend ve 2. a 4. kvadrantu. Krajní body ve 4. kvadrantu (vzorky č. 28 a 50) měly obsah  $\beta$ -glukanů resp. 8,2 a 10,9 %, ve 2. kvadrantu (vzorek č. 76) kolem 4,6 %. Korelace trendu s obsahem  $\beta$ -glukanu však nebyla zatím prokázána.

Na obrázku č. 2 je uveden graf komponentního skóre PC2 ku PC1 1. derivací FT-NIR spekter. Výrazně se zde oddělily vzorky č. 90 (Nudimelanocrithon) a č. 91 (Abyssinian 1139) které obsahovaly podobné množství  $\beta$ -glukanů (resp. 5,2 a 5,4 %). Tyto dva vzorky se od ostatních lišily našedivělým zbarvením. Lze proto usoudit, že do rozdílnosti FT-NIR spekter přispěla barviva specifická pro výše označené odrůdy. Podobně jako na obrázku č. 1 se zde vyčlenila skupina vzorků ve 2. kvadrantu, avšak není jednoznačně oddělená, navíc má připojené vzorky č. 77 a 108. Pro lepší určení shluků je na obrázku č. 3 znázorněna závislost PC3 ku PC1. Tato kombinace je nejúčinnější z hlediska rozdělení vzorků ječmenů. Výrazně se zde oddělily již zmíněné vzorky 90 a 91, které měly značně záporné

hodnoty obou hlavních komponent. Další shluk vzorků s nejmenším obsahem  $\beta$ -glukanů (č. 5 – 13, 48) se umístil ve 2. kvadrantu. U této skupiny se již neobjevuje vzorek č. 46, který je od ostatních geneticky vzdálen a má výrazně větší obsah  $\beta$ -glukanů. Oddělují se zde další shluky, které obsahují vzorky podobného genetického původu.



**Obrázek 2** Graf komponentního skóre PC2 versus PC1 pro 1. derivace FT-NIR spekter ječmenů



**Obrázek 3** Graf komponentního skóre PC3 versus PC1 pro 1. derivace FT-NIR spekter ječmenů

## ZÁVĚR

Pomocí spektroskopických metod FT-IR a FT-NIR v kombinaci s PCA lze rychle a nedestruktivně rozlišit ječmeny různého genetického původu. Obě metody se navzájem doplňují a jejich kombinací lze rozřadit soubory vzorků zrn ječmenů. Vibrační spektra jsou velmi citlivá na rozdíly v chemickém složení ječmenů způsobenými genetickou odlišností. Lze předpokládat, že obsah bílkovin, polysacharidů, barviv a jiných komponent může ovlivňovat výsledky analýzy. Přesto, že přímá korelace výsledků s obsahem  $\beta$ -glukanů nebyla prokázána, se podařilo pomocí obou zmíněných metod oddělit skupinu vzorků s velmi nízkým obsahem těchto polysacharidů. Tento výsledek umožňuje sledovat kvalitu ječmene z hlediska jeho využití v potravinářství, zejména v pivovarské technologii. Lze tak vytřídit genetické formy ječmeny s optimálním zastoupením technologicky významných polysacharidů pro výslednou kvalitu konečného výrobku a zlepšení technologického postupu.

## LITERATURA

- BAIK, B.-K., ULLRICH, S. E., 2008. Barley for food: characteristics, improvement, and renewed interest. In *Journal of Cereal Science*, roč. 48, s. 233–242.
- BHATTY, R. S., 1992.  $\beta$ -Glucan content and viscosities of barleys and their roller-milled flour and bran products. In *Cereal Chemistry*, roč. 69, s. 469–471.
- DE SÁ, R. M., PALMER, G. H., 2006. Analysis of  $\beta$ -glucan in single grains of barley and malt using NIR-Spectroscopy. In *Journal of the Institute of Brewing*. roč. 112, 2006, č.1, s. 9-16.
- FOX, G. P., WATSON, K. O., OSMAN, A., 2002. Multiple linear regression calibrations for barley and malt protein based on the spectra of hordein. In *Journal of the Institute of Brewing*, roč. 108, 2002, č. 2, s. 155-159.
- FT-IR investigation of cell wall polysaccharides assignment from cereal grains. Arabinoxylan infrared assignment. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, roč. 53, s. 7014-7018.
- HENRY, R. J., 1985. Near-infrared reflectance analysis of carbohydrates and its application to the determination of (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucan in barley. In *Carbohydrate Research*, roč.141, 1985, s. 13-19.
- JIRSA, O., HRUŠKOVÁ, M., ŠVEC, I., 2008. Hodnocení vlastností pšeničného těsta analýzou NIR spekter mouky. In *Chemické listy*, roč. 102, 2008, s. 829-836.
- KAČURÁKOVÁ, M., WILSON, R. H., 2001. Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. In *Carbohydrate Polymers*, roč. 44, 2001, s. 291-303.
- KAYS, S. E., BARTON II, F. E., WINDHAM, W. R., 1999. NIR analysis of dietary fiber. In *Food science and technology*. Marcel Dekker 1999, s. 1-21.
- MCGUIRE, C. F., 1982. Near-infrared reflectance estimates of malt extract. In *Cereal Chemistry*, roč. 59, 1982, č. 6, s. 510-511.
- McNAB, J. M., SMITHARD, R. R., 1992. Barley  $\beta$ -glucan: an antinutritional factor in poultry feeding. In *Nutrition Research Reviews*, roč. 5, s. 45-60.
- OZAKI Y., MCCLURE W. F., CHRISTY A. A., ed., 2006. Near infrared spectroscopy in food science and technology. John Wiley and Sons Ltd, 2006, s. 1-408.
- ROBERT, P., MARQUIS, M. L., BARRON, C. C., GUILLON, F., SAULNIER, L., 2005.
- SUN, D.-W., ed., 2009. Infrared spectroscopy for food quality analysis and control. Elsevier Inc., 2009, s. 1-448.
- TAKETA, S., KIKUCHI, S., AWAYAMA, T., YAMAMOTO, S., ICHII, M., KAWASAKI, S., 2004. Monophyletic origin of naked barley inferred from molecular analyses of a marker closely linked to the naked caryopsis gene (nud). In *Theoretical and Applied Genetics*, roč. 108, s. 1236-1242.
- TARKOŠOVÁ, J., ČOPÍKOVÁ, J., 2000a. Determination of carbohydrate content in bananas during ripening and storage by near infrared spectroscopy. In *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, roč. 8, s. 21-26.
- TARKOŠOVÁ, J., ČOPÍKOVÁ, J., 2000b. Fourier-transform near infrared spectroscopy applied to analysis of chocolate, In *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, roč. 8, s. 251-257.

THYGESEN, L. G., LØKKEY, M. M., MICKLANDER, E., ENGELSEN, S. B., 2003. Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. In *Trends in Food Science & Technology*, roč. 14, s. 50-57.

VAN DE VOORT, F. R., 1992. Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. In *Food Research International*, roč. 25, č. 5, s. 397-403.

### **Poděkování**

Práce vznikla za podpory Ministerstva zemědělství České republiky (projekt č. QH91053).

### **Kontaktní adresa:**

Bc. Eva Lhotáková, Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika. Tel.: +420 220 443 116, E-mail: [lhotakoe@vscht.cz](mailto:lhotakoe@vscht.cz)

Mgr. Andriy Synytsya, PhD. Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika. Tel.: +420 220 443 116, E-mail: [sinicaa@vscht.cz](mailto:sinicaa@vscht.cz)

Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D., Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika. Tel.: +420 220 443 024, E-mail: [rudolf.sevcik@vscht.cz](mailto:rudolf.sevcik@vscht.cz)

Doc. František Kvasnička, CSc., Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika. Tel.: +420 220 445 117, E-mail: [kvasnicf@vscht.cz](mailto:kvasnicf@vscht.cz)

Prof. Ing. Jana Čopíková, CSc., Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika. Tel.: +420 220 443 114, E-mail: [copikovj@vscht.cz](mailto:copikovj@vscht.cz)

Doc. Ing. Voldřich Michal, CSc., Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika. Tel.: +420 220 443 012, E-mail: [michal.voldrich@vscht.cz](mailto:michal.voldrich@vscht.cz)