

Objektivní posuzování hořkosti piva

MILENA KOTRLÁ-HAPALOVÁ, ústřední laboratoř Pražských pivovarů, n. p., Praha-Smíchov

663.41 : 543.92

Přinášíme druhou část literárního zhodnocení autorčina výzkumného úkolu z roku 1957, jehož první část byla uveřejněna v minulém čísle [Kvasný průmysl 5, 177 (1959)].

U pokusných várek, jejichž rozborů jsou uvedeny v tab. 6, byl jediným proměnným faktorem použitý chmel. Chmeleno bylo 320 g/hl, celková dávka rozdělena na $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$, dávky přidávány po 40 minutách. Podle rozborů chmelů (tab. 8) bylo u těchto várek v procentech vyčísleno využití hořkých látek, stanovených oběma způsoby analýsy (tab. 9). Podle hodnot v tab. 9 odpovídá množství celkových hořkých látek stanovených v pivě gravimetricky asi 23 % veškerých hořkých substancí, obsažených v použitém chmelu (asi 25 % měkkých pryskyřic). Spektrálně získané hodnoty odpovídají pouze asi 7 % přidaných veškerých (asi 8 % přidaných měkkých) pryskyřic. Ve vztahu k obsahu α -kyseliny v původním chmelu odpovídá spektrálně stanovené množství hořkých látek zhruba 20 % této složky ve chmelu. Spektrálními metodami za použití přepočítávacích rovnic se tedy stanoví pouze podíl hořkých látek v pivě, odpovídající komplexu α -hořké kyseliny ve chmelu; vázkovou metodou se stanoví veškeré hořké látky, které přecházejí ze chmelu do roztoku. Uplatnění β -podílů je tedy u spektrálních metod eliminováno přepočítávacím faktorem spolu s vedlejšími složkami, které přecházejí do isooktanového extraktu („background“). V celkovém charakteru výrobku je však nutno počítat se všemi hořkými složkami chmele, které se uplatňují svými chemickými vazbami s koloidními složkami sladiny. Pro vyjádření jakosti hořkosti byla stanovena optimální hodnota indexu hořkosti 1,00. Při spektrálním stanovení hořkých látek se projevil podstatný pokles hodnoty indexu hořkosti. Zjistilo se, že spektrálně se stanoví poměrně mnohem menší podíl molekulárně vázaných hořkých látek než vázkově. Je tedy převážná část komplexu α -kyseliny (asi $\frac{3}{4}$) v roztoku ve formě koloidní a hlavní podíl molekulárně vázaných hořkých látek tvoří naopak složky β -hořkého komplexu.

Hořkost výrobku je vytvářena společně oběma hořkými kyselinami. K vytvoření lahodné chuti je třeba vyrovnaného poměru obou forem vazby hořkých látek. Pouhé stanovení jednoho podílu vede nutně ke zkresleným závěrům.

Ideálním řešením by byla metodika, která by umožnila (rychleji než gravimetricky) zachytit kvantitativně oba hořké komplexy v roztoku. Hall [7] vypracoval návrh na kolorimetrické stanovení „isosloučenin“ v pivě pomocí typické polyfenolové reakce s Folin-Denisovým činidlem [23]. Jeho postup je velmi jednoduchý a dobře reprodukovatelný. Protože však používá jako extrakčního činidla isooktanu, specifického pouze pro α -komplex a množství vedlejších látek, přecházející při extrakci rovněž do isooktanu, eliminuje přepočítávacím faktorem stanoveným na základě metody *Rigbyho a Bethuna*, je navržený postup pro vyjádření indexu hořkosti stejně málo vhodný jako spektrální metody.

Pokusili jsme se modifikovat *Hallův* postup tím, že jsme pro kolorimetrické stanovení použili extraktu hořkých látek v chloroformu. Kromě specifčnosti chloroformu pro veškeré hořké složky se nám jeví způsob práce s tímto extrakčním činidlem celkově jako pohodlnější a přesnější. Vytvořené emulze lze bez obtíží rozrazit, jestliže se odstředí 10 min při 3500 ot/min. Při odměrování alikvotních podílů extraktů nenastávají u specificky těžšího rozpouštědla ztráty odpařováním aj. V zásadě bylo použito *Hallova* postupu. Extrakt hořkých látek se protřepává s 0,1 N Na_2CO_3 . K alikvotnímu podílu alkalického extraktu se přidá činidlo Folin-Denisovo. Intensita vzniklého typického modrého zbarvení se ustaluje po dvou hodinách. Měří se kolorimetricky nebo fotokolorimetricky. Závislost extinkce a koncentrace je u obou čistých hořkých kyselin lineární, ale stejné koncentrace jednotlivých kyselin poskytují rozdílnou extinkci.

Rozbor chmelů

Tabulka 8

Vzorek číslo	Označení chmele	Vlaha %	Pryskyřice			α-hořká kyselina % v suš.	β-hořká kyselina % v suš.	Třísloviny % v suš.
			veškeré	měkké	tvrdé			
1	Osvaldův klon č. 72	7,6	15,1	13,4	1,7	5,5	7,9	3,3
2	Osvaldův klon č. 72	7,6	15,1	13,4	1,7	5,5	7,9	3,3
3	Krajová odrůda Dučice	9,2	17,2	15,1	2,1	5,0	10,1	3,8
4	Sm/50/415	8,0	14,2	12,4	1,8	5,9	6,5	2,9
5	Sm/50/239—I	8,0	15,8	14,1	1,7	5,6	8,5	3,2
6	Osvaldův klon č. 72	7,6	15,1	13,4	1,7	5,5	7,9	3,3
7	Osvaldův klon č. 31	8,2	12,9	11,6	1,3	4,7	6,9	3,5
8	Krajová odrůda Markvarec	8,6	16,8	15,4	1,4	5,5	10,0	3,9
9	Sm/50/122	8,4	13,7	12,5	1,2	6,0	6,5	2,5
10	Sm/50/12	9,0	13,0	11,9	1,1	5,1	6,8	2,5
11	Sm/51/533	8,0	13,6	12,6	1,0	5,4	7,2	2,9
12	Sm/51/596	8,4	11,9	11,2	0,7	3,7	7,5	2,7
13	Krajová odrůda Dřevíč	9,4	14,3	12,5	1,8	4,4	8,1	3,9
14	Osvaldův klon č. 114	8,0	14,3	12,9	1,4	4,6	8,3	3,7
15	Osvaldův klon č. 72	7,6	15,1	13,4	1,7	5,5	7,9	3,3
16	Sm/52/732	8,0	12,3	11,4	0,9	5,6	6,4	3,3
17	Krajová odrůda Vinařice I	9,4	14,1	12,9	1,2	5,6	7,9	3,5
18	Krajová odrůda Vinařice II	11,0	16,9	14,9	2,0	5,2	9,7	3,7
19	Osvaldův klon č. 126	8,4	13,5	12,2	1,3	5,7	6,6	3,0
20	Osvaldův klon č. 72	7,6	15,1	13,4	1,7	5,5	7,9	3,3

Procentové využití hořkých látek při chmelovaru

Tabulka 9

Označení chmele	Vázkově stanovené množství hořkých látek v pivě vzhledem k obsahu			Spektrálně stanovené množství hořkých látek v pivě vzhledem k obsahu		
	veškerých	měkkých	α-hořká kyselina	veškerých	měkkých	α-hořká kyselina
	pryskyřice			pryskyřice		
	v použitém chmelu			v použitém chmelu		
	%	%	%	%	%	%
Osvaldův klon č. 72	22	24	60	7,5	8,3	21
Osvaldův klon č. 72	22	24	61	7,6	8,4	21
Krajová odrůda Dučice	18	23	68	6,5	7,5	22
Sm/50/415	28	25	52	8,8	10,0	21
Sm/50/239—1	20	28	70	8,3	9,3	23
Osvaldův klon č. 72	23	23	61	7,5	8,3	20
Osvaldův klon č. 31	29	29	72	7,1	8,4	21
Krajová odrůda Markvarec	22	24	68	6,5	7,1	20
Sm/50/122	26	28	71	7,5	8,2	17
Sm/50/12	20	21	50	8,8	9,8	22
Sm/51/533	22	24	56	6,7	7,3	17
Sm/51/596	21	22	68	7,1	7,7	23
Krajová odrůda Dřevěť	21	24	67	7,0	7,8	22
Osvaldův klon č. 114	26	29	81	7,2	8,0	21
Osvaldův klon č. 72	22	26	70	7,5	8,3	16
Sm/52/732	33	36	73	7,4	8,0	17
Krajová odrůda Vinařice I	38	42	75	6,9	7,4	17
Krajová odrůda Vinařice II	23	26	75	4,9	5,4	16
Osvaldův klon č. 126	23	26	55	6,9	7,6	17
Osvaldův klon č. 72	22	25	75	7,5	8,1	20

Nelze tedy této modifikace použít k vyjádření indexu hořkosti.

Uvedené pokusy byly doplněny tříděním hořkých látek v pivě na jednotlivé analogy. Stanovení bylo prováděno na vzorcích piva, zahuštěného ve vakuu asi na $1/10$ původního objemu při teplotě 25° , aby byly získány dostatečné koncentrace a bylo možno kvantitativně vyhodnotit využití analogů. K stanovení byl použit chromatografický způsob třídění mastných kyselin na křemelině, vypracovaný pro analýsu chmelů (12). K extrakci hořkých látek z piva bylo použito petroléteru. Byla analysována branická piva, vyrobená ze žateckého chmele s typickým zastoupením analogů humulon: cohumulon: adhumulon v poměru 80 : 15 : 5. Výsledky jsou uvedeny v tab. 10.

Rozdělení komplexu hořkých látek v pivě na jednotlivé analogy odpovídá rozdělení v použitém chmelu, typickém pro naši provenienci. Získané výsledky svědčí o přibližně stejném využití jednotlivých analogů ve výrobním procesu, což je v rozporu s tvrzením některých autorů, že při chmelovaru se uplatňuje podstatným podílem pouze isohumulon.

Závěr

1. Bylo provedeno srovnání a hodnocení spektrálních způsobů na stanovení hořkých látek v pivě. Zjistilo se, že navrhované metody poskytují při přesném dodržování podmínek extrakce u stejných druhů piv souhlasné výsledky. Neposkytují však obraz o skutečném množství účinných hořkých látek v pivě a nemohou proto sloužit jako podklad pro exaktní vyhodnocení hořkosti.

Tabulka 10

Roztřídění analogů hořkých látek v pivě

Číslo vzorku	Druh piva	Podíl		
		isohumulonu %	isocohumulonu %	isoadhumulon %
1	10° světlé	76,3	17,5	6,2
2	10° světlé	79,3	15,6	5,1
3	14° světlé	80,3	13,5	6,2

2. Při pokusech s analytickým stanovením hořkých látek v roztocích před hydrolysou a po ní vázkovým a spektrálním způsobem se ukázalo, že spektrálně se stanoví pouze podíl, odpovídající komplexu α -kyseliny, zatímco vázkově se stanoví veškeré hořké látky v roztoku.

3. Spektrofotometricky se stanoví v roztoku veškeré množství α -hořkých kyselin před hydrolysou a po ní varem. Přesmyk z hexacyklu na pentacyklus se neprojevuje ve změně vlnové délky spektra. Rozdělení těchto dvou forem se umožňuje pouze roztřepáváním.

4. Pro vyjádření skutečné hořkosti piva je spektrální způsob stanovení hořkých látek málo výstižný, neboť registruje pouze část hořkých složek — zhruba asi $1/3$, zatímco v průběhu výroby piva se reakcemi s koloidními složkami sladiny uplatňují všechny rozpustné podíly hořkých látek.

5. Hořké látky, které náležejí k α -komplexu, jsou v pivovarských roztocích vázány převážně v koloidní formě. Podstatnou část molekulárně vázaného hořkého podílu vytváří naopak β -komplex hořkých látek.

6. Index hořkosti, vyjádřený na základě množství α -hořké kyseliny v roztoku, neodpovídá skutečnému rozdělení molekulární a koloidní formy hořkosti.

7. Kolorimetrického stanovení hořkých látek na základě reakce polyfenolů s Folin-Denisovým činidlem nelze rovněž použít k exaktnímu vyjádření hořkosti piva, neboť α -komplex poskytuje za stejných podmínek 3 až 4krát intenzivnější zbarvení než β -komplex.

8. Při chromatografickém stanovení analogů hořkých látek v pivě byly nalezeny podíly analogů ve stejném poměru, v jakém se vyskytují v původním chmelu, typickém pro odrůdu a provenienci. To svědčí o přibližně stejném využití všech analogů v pivovarském procesu.

Literatura

- [1] Alderton G., Bailey G. F., Lewis J. C., Stitt F.: Anal. Chem. 26, 983 (1954)
- [2] Barta G.: Ělemezési Ipar 9, 317 (1955)
- [3] Brenner M. V., Viligante G., Owades J. L.: Am. Brewer 89, 40 (1956)
- [4] Carson J. F.: J. Am. Chem. Soc. 73, 4652 (1951)
- [5] Carson J. F.: J. Am. Chem. Soc. 74, 4615 (1952)
- [6] Die Nomenklatur der Hopfenharze, Brauwelt 97, 696 (1957)
- [7] Hall R. D. — soukromé sdělení
- [8] Howard G. A.: J. Inst. Brewing 59, 591 (1953)
- [9] Howard G. A., Tatchell A. R., Slater C. R.: J. Inst. Brewing 63, 237 (1957)
- [10] Howard G. A., Tatchell A. R.: J. Inst. Brewing 63, 142 (1957)
- [11] Klopfer W. J.: Brewers Digest 30, 122 (1955)
- [12] Kotrlá-Hapalová M.: Brauwelt 97, 745 (1957)
- [13] Meilgaard M., Moltke A. B.: Brygmesteren 12, 37 (1955)
- [14] Moltke A. B., Meilgaard M.: Brygmesteren 12, 65 (1955)
- [15] Neumann D.: Woch. f. Br. 29, 97 (1912)
- [16] Rigby F. L., Bethure J. L.: Proc. Am. Soc. Brew. Chem. 1952, str. 98

- [17] Rigby F. L., Bethune J. L.: J. Inst. Brew. 61, 325 (1955)
 [18] Salac V., Vančura M., Kotrlá M.: Le Pet. J. du Brasseur 61 725 (1953)
 [19] Specht W., Schöntag A.: Schw. Br. Rundschau 64, 51 (1953)
 [20] Stádník A.: Ztsch. ges. Brauwesen 53, 75 (1930)
 [21] Vančura M., Kahler M.: Závěrečná zpráva VÚPS—1952—Neuveřejněno
 [22] Verzele M., Govaert F.: Cong. Ing. Ind. Ferm. 1947, str. 297
 [23] Votoček E.: Chemie organická II, díl, str. 68
 [24] Wiegmann D.: Woch. f. Br. 29, 31 (1912)
 [25] Wieland H.: Ber. 58, 2012 (1925)
 [26] Windisch W., Kolbach P., Schleicher R.: Woch. f. Br. 44, 453 (1927)
 [27] Windisch W., Kolbach P., Vogl C.: Woch. f. Br. 50, 421 (1933)
 [28] Wöllmer W.: Tagesztg. f. Br. 1932, str. 171

Došlo do redakce 19. 5. 1959.

ОБЪЕКТИВНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ГОРЬКОСТИ ПИВА

1. При сравнении и оценке разных методов спектрального анализа применяемых для определения горечи в пиве было установлено, что предлагаемые методы дают, при условии точного соблюдения режима экстракции, у сходных сортов пива согласные результаты. Они не могут однако дать картину показывающую количественное содержание активных горьких веществ в пиве и не могут поэтому служить как критерий для точной оценки степени горькости пива.

2. При опытах, целью которых было аналитическое определение горечи в растворах перед гидролизом и после него, было при применении весового и спектрального анализа установлено, что спектрально можно определить лишь часть отвечающую комплексу α -кислоты, в то время как весовой анализ дает возможность определения всего содержания горечи.

3. С использованием кипячения можно спектрофотометрически определять полное содержание α -горьких кислот в растворе перед гидролизом и после него. Переход с гексацикла на пентацикл не отражается изменением длины волн спектра. Указанные две формы можно разделить лишь путем взбалтывания.

4. Спектральный метод определения содержания горечи нельзя считать достаточно точным для оценки действительной степени горькости пива, так как он охватывает лишь часть горьких веществ (примерно $1/3$). В пиво-же в течении производственного процесса, разными реакциями с коллоидными составляющим охмеленного сусла, попадают все растворимые горькие вещества.

5. Горькие вещества принадлежащие к α -комплексу присутствуют в растворах преимущественно в связанной коллоидной форме. Существенную долю молекулярно связанных горьких составляющих образует набор β -комплекс.

6. Показатель степени горькости определенный на основании количества α -горькой кислоты не отвечает фактическому распределению молекулярной и коллоидной форм.

7. Колориметрическим методом определения горечи при помощи реакции полифенолов на реактив Фоллин-Дениса так-же невозможно произвести точную оценку степени горькости пива, ввиду того, что α -комплекс при одинаковых условиях дает в три или четыре раза более интенсивную окраску чем β -комплекс.

8. При хроматографическом анализе аналогов горечи в пиве были определены их доли в такой-же пропорции, в какой они присутствуют

в хмеле конкретного сорта, выращенного в определенной области. Это доказывает, что в течении производственного процесса пивоварения аналогии используются приблизительно в равной мере.

OBJEKTIVE BEURTEILUNG DER BITTERKEIT DES BIERES

1. Es wurden die Spektralmethoden zur Bestimmung der Bitterstoffe im Bier verglichen und bewertet. Es wurde festgestellt, dass die vorgeschlagenen Methoden bei präziser Einhaltung der Extraktionsbedingungen und in den gleichen Biersorten übereinstimmende Ergebnisse bieten. Was die tatsächliche Menge der wirksamen Bitterstoffe im Bier betrifft, sind jedoch diese Methoden wenig aufschlussreich und stellen daher keine Grundlagen für die exakte Bitterkeitsauswertung dar.

2. Im Laufe der Versuche mit der analytischen Bestimmung der Bitterstoffe in Lösungen vor und nach der Hydrolyse anhand gravimetrischer und spektraler Methoden hat sich gezeigt, dass mittels der Spektralanalyse nur derjenige Anteil bestimmt wird, der dem α -Säurekomplex entspricht, während die Gewichtsanalyse die Gesamtbitterstoffe in der Lösung feststellt.

3. Spektrophotometrisch werden in der Lösung die gesamten Mengen der α -Bittersäuren vor und nach der Hydrolyse durch Kochen bestimmt. Der Übergang von dem Hexa- zum Pentacyklus wirkt sich nicht in der Änderung der Wellenlänge des Spektrums aus. Die Trennung dieser zwei Formen wird nur durch die CCD-Analyse ermöglicht.

4. Für den Zweck der Ausdrückung der tatsächlichen Bitterkeit des Bieres ist die Spektralmethode der Bitterstoffbestimmung wenig zutreffend, denn sie registriert nur einen Anteil (cca $1/3$) der Bitterstoffe, während im Verlauf der Bierherstellung alle löslichen Bitterstoffanteile in Reaktionen mit kolloiden Würzebestandteilen zur Geltung gelangen.

5. Die dem α -Komplex angehörnden Bitterstoffe sind in den Brauereilösungen grösstenteils in kolloider Form gebunden. Den wesentlichen Teil des molekulargebundenen Bitterstoffanteiles bilden jedoch die Bitterstoffe des β -Komplexes.

6. Der aufgrund des α -Bittersäurequantums in der Lösung ermittelte Bitterkeitsindex entspricht nicht der tatsächlichen Verteilung der molekularen und kolloiden Bitterkeitsform.

7. Die kolorimetrische Bitterstoffbestimmung mittels Polyphenolreaktion mit dem Folin-Denis-Reagens kann gleichfalls zum exakten Ausdrück der Bitterkeit des Bieres nicht

verwendet werden, denn der α -Komplex verursacht unter gleichen Bedingungen eine 3 bis 4mal intensivere Färbung als der β -Komplex.

8. Bei der chromatographischen Bestimmung der Bitterstoffanalogen im Bier wurden die Analogenteile in demselben Verhältnis gefunden, in dem sie in dem ursprünglichen Hopfen vertreten sind; dieses Verhältnis ist für die Sorte und Provenienz charakteristisch. Die Ergebnisse zeugen von einem fast gleichen Ausnützungsgrad aller Analogen im Prozess der Bierherstellung.

DETERMINATION OF BEER BITTER

1. Various methods of spectral analysis used for determination of beer bitter have been compared and evaluated. It has been found that all the compared methods give with same sorts of beer identical results, providing the extracting procedure is the same. They fail to provide reliable informations on amount of active bitter matters and cannot serve for correct determination of bitter properties of beer.

2. Experiments with analytic determination of bitter matters in solutions before and after hydrolysis at which both balance and spectral methods were applied, indicate that the spectral analysis can disclose only a fraction of matter i. e. the complex of α -acid, whereas the balance analysis identifies all the matter present.

3. Spectrophotometric methods permit to determine all the bitter acids present before hydrolysis by ebullition and after it. Transition from hexacycle to pentacycle is not reflected by any change of the spectrum wave lengths. Separation of the said modifications is possible by shaking only.

4. The spectral method is not very suitable for expressing the proportion of bitter matters in beer, since it indicates only a certain part (approximately $1/3$) of bitter components, though during the brewing process reactions involving colloidal components of wort transfer into beer all soluble bitter matters.

5. Bitter matters belonging to the α -complex are present in beer solutions in the first line in colloidal form. The β -complex of bitter matters is to the contrary represented chiefly by molecularly bound components.

6. The bitter index based upon the amount of α -bitter acid in the solution does not correspond with actual proportion of molecular to colloidal form of matter.

7. The colorimetric method of determination of the bitter matter contents, based upon the reaction of polyphenol with the Folin-Denis reagent cannot be used for classifying the bitter properties of beer since the α -complex gives under the same conditions three to four times more intensive colours than the β -complex.

8. Chromatographic tests with analogues of bitter matters disclose, that the proportion of individual components is the same as in hops of given sort grown in certain district. Conclusion can be made that all analogues are utilised in brewing process in the same degree.