Příspěvek k analytice hořkých látek chmele a chmelových extraktů

Ing. JAN KUBÍČEK, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.423.1
663.444.7 : 543

V roce 1957 přijal kongres EBC systém klasifikace základních komponent chmelových pryskyřic, vycházející v podstatě z Wöllmerovy analýzy chmele. Tento základní analytický postup spočívá v extrakci rozemletého chmele etyléterem. Éterický odparek se rozpustí v metanolu, po ochlazení se odfiltrují chmelové vosky a získá se základní roztok, v němž lze gravimetricky po odpaření metanolu stanovit obsah celkových pryskyřic chmele. Podíl tzv. měkkých pryskyřic se určí po extrakci základního metanolového roztoku hexanem (resp. hexanovou frakcí o velmi úzkém rozmezí bodu varu, totiž $70 \pm 1^\circ\text{C}$). Měkké pryskyřice se při tom stanoví rovněž gravimetricky, po odpaření rozpouštědla z alikvotního podílu hexanového extraktu. Diference celkových a měkkých pryskyřic, tedy prakticky vlastně frakce nerozpustná v hexanu, jsou tzv. tvrdé pryskyřice, jejichž obsah charakterizuje do značné míry kvalitu chmele, popř. chmelového extraktu. Výrazný jejich vzrůst ukazuje na starý, popř. špatně skladovaný chmel, na nedodržení předepsaných krajních teplot při sušení chmele atd. Frakce měkkých pryskyřic pak zahrnuje α - a β -hořké kyseliny a tzv. necharakterizované měkké pryskyřice. Toto schéma může ovšem dnes už sloužit pouze k základní orientaci pro stále se rozrůstající a nově poznávané komponenty organolepticky hořkých i nehořkých komponent chmelových pryskyřic, nicméně jsme ho použili pro jeho přehlednost a stručnost, pro eventuální ověření některých pojmů z analytiky chmele.

Jak známo, navrhl již v roce 1935 MIKSCHIK na základě nových poznatků dokonalejší klasifikační systém, který do této komplikované skupiny látek vnáší již určitou systematičnost. Bylo zjištěno, že společnou vlastností látek ze skupiny tzv. měkkých pryskyřic je přítomnost cyklopentatrienového jádra v jejich molekule. Skupina těchto látek se nověji označuje jako α -, popř. β -resupony podle toho, jsou-li odvozeny od α - nebo β -hořké kyseliny.

V období posledních 10 až 15 let nabývá ve světovém měřítku stále většího významu výroba chmelových extraktů. Není ovšem možné zabývat se zde podrobněji technologií chmelových extraktů, je však nutno si uvědomit, že jedním z podstatných úseků technologie výroby extraktu dvoustupňového, kterého se u nás běžně používá, je emulzifikace, homogenizace pryskyřičného podílu (získaného extrakcí chmele organickými rozpouštědly) a vodního výluhu, obsahujícího především složky polyfenolického charakteru a řadu dalších ve vodě rozpustných komponent chmele.

Právě vzhledem k přítomnosti zmíněného vodního podílu, který zastupuje v chmelovém extraktu nezbytnou tříslovinnou složku, nelze použít bez předchozí úpravy Wöllmerovy analýzy, která se do-

sud v klasické podobě až podnes používá k analýze chmele již několik desetiletí. Prvým krokem při analýze chmelového extraktu tedy musí nutně být izolace pryskyřičných složek. V původní úpravě, která se donedávna používala v našem ústavu, prováděla se tato izolace za tepla tak, že k odváženému množství extraktu v baňce se přidal metanol, oddestiloval se až na malé množství a na čtyřikrát se přidávalo po 100 ml éteru, který se ze směsi při teplotě max. 60°C vždy oddestiloval. Tak se dosáhlo dokonalého oddělení v éteru rozpustných pryskyřičných komponent chmele, od nerozpustných polyfenolových složek. Po filtraci a odpaření éteru se zbytek v baňce rozpustil v metanolu a po odstranění vosků se postupovalo upravenou Wöllmerovou metodou podobně jako u chmele.

V roce 1968 uveřejnili pracovníci švýcarského pivovarského výzkumného ústavu Pfenninger a Schur nový postup pro analýzu chmelových extraktů, který se od výše uvedeného liší právě ve fázi izolace pryskyřičného podílu. Postupuje se zde tak, že se vzorek extraktu navažuje přímo do zabroušené odstředivkové kyvety. Po přidavku etyléteru, zředěné kyseliny sírové a 1 % roztoku chloridu sodného se směs protřepe až do dokonalého rozpuštění extraktu. Odstředěním se oddělí éterická fáze, obsahující pryskyřičný podíl, odsaje se a vysuší ve speciální skleněné aparatuře, přetlačením inertním plynem přes bezvodý síran sodný. Ze zbývajících vodných fází, která obsahuje tříslovinný podíl, se trojnásobným opakovaným protřepáním a následujícím odstředěním dokonale vymyjí pryskyřičné komponenty. Po propláchnutí kolonky se síranem sodným se spojené éterické extrakty odpaří, zbytek se rozpustí v malém množství metanolu a po ochlazení a odfiltrování vosků získáme opět základní roztok celkových pryskyřic. Dále navazuje opět modifikovaná Wöllmerova metoda.

V této souvislosti se domníváme, že za zmínku jistě stojí i nově navržená a v našem ústavu s úspěchem používaná metoda pro stanovení obsahu vody v chmelovém extraktu. Pfenninger a Schur používají jednoduchého skleněného zařízení, skládajícího se v podstatě ze dvou rovných zabroušených skleněných destiček. Na spodní skličko se po vytárování celého zařízení naváží 0,1 g extraktu, přiloží se vrchní destička a zařízení se vloží asi na 2 minuty do sušárny vyhřáté na 60°C , aby extrakt změkkl. Kruhovým pohybem se extrakt mezi zabroušenými ploškami rozetře do velmi tenké vrstvy, vrchní destička se pak zavěsí a zařízení se vloží do sušárny na 15 minut při 60°C . Během této doby se z extraktové vrstvičky odpaří vlaha, jejíž difference se zjistí vážením po vychladnutí aparaturky v exikátoru. Jak je z popisu zřejmé, je stanovení velmi rychlé a jednoduché v porovnání s komplikova-

vanými a většinou méně přesnými metodami, které se dosud pro stanovení vody v chmelovém extraktu používaly.

Řada analytických metod se dnes snaží objektivně posoudit hořkost chmele a chmelových extraktů, především v souvislosti s jejich dávkováním při chmelovaru. Tyto metody byly zaměřeny většinou na stanovení α -hořkých kyselin chmele (gravimetrické, polarimetrické, polarografické, konduktometrické atd.). I když ještě dnes není jednotna v názorech, převládá mínění a je i experimentálně potvrzeno, že α -kyseliny zdaleka nejsou jediným zdrojem hořkosti, a že jejich stanovení není z hlediska posouzení hořkosti chmele a chmelového extraktu postačující. Zvláště u starších chmelů, ve kterých zejména za méně příznivých skladovacích podmínek vznikají značné úbytky α -kyselin, podílejí se na organoleptické hořkosti výrazně i polymérní a transformační produkty zahrnované mezi blíže necharakterizované měkké pryskyřice. Rovněž hodnocení chmelových extraktů podle obsahu α -kyselin je z našeho hlediska nesprávné, neboť je respektována pouze jedna složka a zcela se přehlíží často velmi výrazný vliv ostatních jmenovaných organolepticky hořkých komponent. Pfenninger a Schur zavádějí v této souvislosti pojem tzv. „univerzální hořkosti“, která charakterizuje po této stránce chmelový extrakt a je použitelná i pro hodnocení chmele. V principu jde o laboratorní zkušební várku s odváženým množstvím chmele, popř. chmelového extraktu, za přesně definovaných podmínek v citrofosfátovém pufru o pH 5,55. Vaří se v destilační baňce pod zpětným chladičem přesně jednu hodinu. Chloroformový extrakt takto získaného roz-

toku se proměřuje spektrofotometricky při vlnové délce 279 nm. Výsledky se vyjadřují potom v mg účinných látek v 1 g extraktu. Naše zkušenosti s touto metodou jsou rovněž dobré. Při přísném dodržení standardních podmínek se získávají dobře reprodukovatelné výsledky.

Uvedené výsledky vyplývají mimo jiné již z jedenácti akcí (Rundanalysen), pořádaných Výzkumným ústavem pivovarským v Zürichu. Prostřednictvím n. p. Aroma se jich účastnil také náš výzkumný ústav. Čtyři západoněmecké firmy (Horst, Steiner, Hopcon a ANH) a n. p. Aroma zasílají na jednotlivá pracoviště identické vzorky jednostupňových a dvoustupňových chmelových extraktů. Výsledky analýz jsou pak statisticky zpracovány v ústavu v Zürichu a jednotliví účastníci jsou s nimi seznamováni.

Máme-li hodnotit nově navrženou metodiku pro analýzu chmelového extraktu, je nutno konstatovat, že přináší novou koncepci do analytiky hořkých látek. Zvláště příznivě je třeba hodnotit nový postup izolace pryskyřičných a ve vodě rozpustných složek za studena, takže se poměr jednotlivých frakcí chmelových pryskyřic nemění.

Podle údajů z jednotlivých kontrolních a výzkumných pracovišť dává tento postup velmi dobře reprodukovatelné výsledky.

V určitém smyslu novinkou je i hodnocení chmelového extraktu podle univerzální hořkosti, nicméně nelze se domnívat, že by vzhledem k časové náročnosti na laboratorní vybavení (spektrofotometr), překročila tato metoda rámec výzkumných pracovišť.