

Stanovení α - hořkých a β - hořkých kyselin ve chmelových extraktech metodou HPLC

663.423

Doc.Ing.Jaroslav ČEPIČKA, CSc., Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Ing.Petr BAUDYŠ, Česká zemědělská a potravinářská inspekce Pardubice,

Ing.Elly VÍZNEROVÁ, Pivovary Hradec Králové, s.p.

Klíčová slova: α - hořké kyseliny, β - hořké kyseliny, chmelový extrakt, vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

1. ÚVOD

Stávající naše normy pro hodnocení kvality chmele a chmelových výrobků [1,2] jsou založeny na stanovení konduktometrické hodnoty, ačkoliv v pivovarsky vyspělých zemích již delší dobu vstupuje do popředí HPLC jako specifitější a přesnější metoda stanovení obsahu α - hořkých kyselin. Je proto nezbytné i v našich podmínkách rozšířit využívání této moderní metody.

Obsah hořkých kyselin, zejména α - hořkých kyselin, je bezesporu jedním z nejdůležitějších analytických znaků při posuzování hořčící vydatnosti chmele a chmelových výrobků v pivovarském průmyslu. Analytika chmele prodělala složitý vývoj sledující postupující rozšiřování znalostí z oblasti chemie chmelových složek. V počátcích empirického rozvoje analytických postupů převažovaly nespecifické metody představované zejména vážkovým stanovením celkových pryskyřic a jejich různých frakcí, později zjednodušované na polarimetrické, spektrofotometrické a v poslední době zejména konduktometrické stanovení α - hořkých kyselin [3,4,5]. Kromě metod určených pro rutinní analýzy byly vyvinuty i speciální analytické postupy uplatňující se především ve výzkumných pracích [6,7]. Teprve

rozšíření chromatografických postupů, umožňujících rozdělení jednotlivých složek chmelových pryskyřic, umožnilo jejich specifické stanovení [8-12].

Největšího pokroku bylo dosaženo vyvinutím postupů umožňujících stanovení α - hořkých a β - hořkých kyselin využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Přestože lze obecně v této technice použít i chromatografii kapalina-pevná látka, rozdělovací chromatografii kapalina-kapalina a gelovou permeační chromatografii, v praxi se uplatnila především adsorpční chromatografie [13-17] a ionexová chromatografie [15-22]. Byly vypracovány postupy s reverzními fázemi [22,23], s gradientovou elucí [24-26] a s isokratickou elucí [27]. V odborné literatuře je popsána řada těchto postupů, z nichž nejosvědčenější byly zahrnuty do doporučených metodik EBC, MEBAC a ASBC [28-30].

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

U vzorků chmelových extraktů byl sledován obsah α - hořkých a β - hořkých kyselin metodou HPLC, vycházející z postupu doporučeného EBC. Postup stanovení byl ověřen na vzorcích chmelových extraktů tuzemské výroby, připravených

jednostupňovou extrakcí chmele methylenchloridem či dvoustupňovou extrakcí methylenchloridem a vodou, a vzorcích zahraničních chmelových extraktů vyrobených extrakcí oxidem uhličitým či ethanolom.

Chemikálie a pomůcky

Voda redestilovaná resp. demineralizovaná pro přípravu mobilní fáze, methanol CH_3OH p.a. (Lachema), kyselina fosforečná H_3PO_4 p.a. (Lachema), standardy čistých látek α -hořkých a β -hořkých kyselin (viz níže), ultrazvuková lázeň TESON 4 (Tesla), membránové filtry Synpor č. 5 o velikosti pórů $0,60\ \mu\text{m}$ (Barvy a laky n.p.), kapalinový chromatograf Spectra-Physics sestávající z izokratického čerpadla Iso Chrom LC, dávkovacího ventilu Rheodyne, UV-Vis detektoru Spektra 200 a integrátoru SP 4270.

Standardy přírodních α -hořkých a β -hořkých kyselin

Standardy α -hořkých a β -hořkých kyselin byly získány izolací z čerstvého CO_2 -extraktu (PFICO₂ HOP) dříve již uvedeným postupem založeným na jejich extrakci n-hexanem, vysrážením α -hořkých kyselin methanolkým roztokem octanu olovnatého, jejich přečištěním přes komplex s o-fenylendiaminem, krystalizací a rekrystalizací z n-hexanu [31-33].

Získané standardy α -hořkých a β -hořkých kyselin byly uchovávány v zatažené ampuli pod inertním plynem (N_2) v mrazničce při teplotě $-18\ ^\circ\text{C}$ bez přístupu světla. Připravený zásobní roztok standardů hořkých kyselin v methanolu ($c=0,1\ \text{mg/ml}$) byl uchováván rovněž za stejných podmínek. Při dodržení uvedených podmínek skladování se koncentrace hořkých kyselin neměnila po dobu několika dní.

Stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin technikou HPLC

Měření byla prováděna na kapalinovém chromatografu SPECTRA-PHYSIC s kovovou separační kolonou $4\times 250\ \text{mm}$ TESSEK s náplní SEPARON SGX C18, zrnění $5\ \mu\text{m}$. Mobilní fáze měla složení methanol/voda/kyselina fosforečná v poměru 85:17:0,25 (47), průtok $1\ \text{ml/min}$, tlak $16\ \text{MPa}$, citlivost $0,8\ \text{AUFS}$, objem nástřiku $10\ \mu\text{l}$. Pro detekci byla zvolena vlnová délka $314\ \text{nm}$.

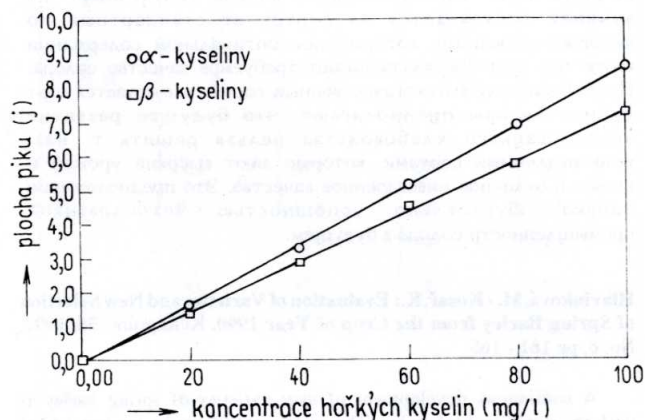
Příprava vzorku

Vzorek chmelového extraktu ($200\ \text{g}$) byl zhomogenizován zahřátím na vodní lázni a dokonalým promícháním obsahu plechovky skleněnou tyčinkou při teplotě do $60\ ^\circ\text{C}$. Po homogenizaci bylo naváženo $0,5\ \text{g}$ vzorku do $100\ \text{ml}$ odměrné baňky a po přidání $40\ \text{ml}$ methanolu, byl vzorek rozpuštěn ponořením baňky do ultrazvukové lázně a poté doplněn methanolem na objem $100\ \text{ml}$. Získaný roztok byl zředěn podle předpokládaného obsahu hořkých kyselin ve vzorku (např. vzorek o deklarovaném obsahu $30\ \%$ α -hořkých kyselin byl zředěn 25krát). Takto připravený roztok byl před vlastní analýzou uchováván v chladu bez přístupu světla a byl stabilní po dobu nejméně 24 hodin.

Sestrojení kalibrační křivky

Ze zásobního roztoku α -hořkých a β -hořkých kyselin byly připraveny pracovní roztoky o koncentraci $20, 40, 60, 80$ a $100\ \text{mg/l}$, z kterých byla sestrojena kalibrační křivka. Každá koncentrace byla dávkována na kolonu chromatografu nejméně

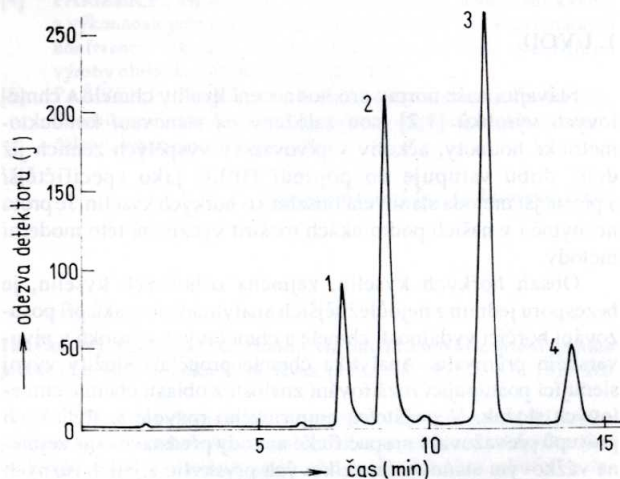
dvakrát. Příklad kalibrační křivky pro stanovení α -hořkých kyselin a β -hořkých kyselin je znázorněn na obrázku 1.



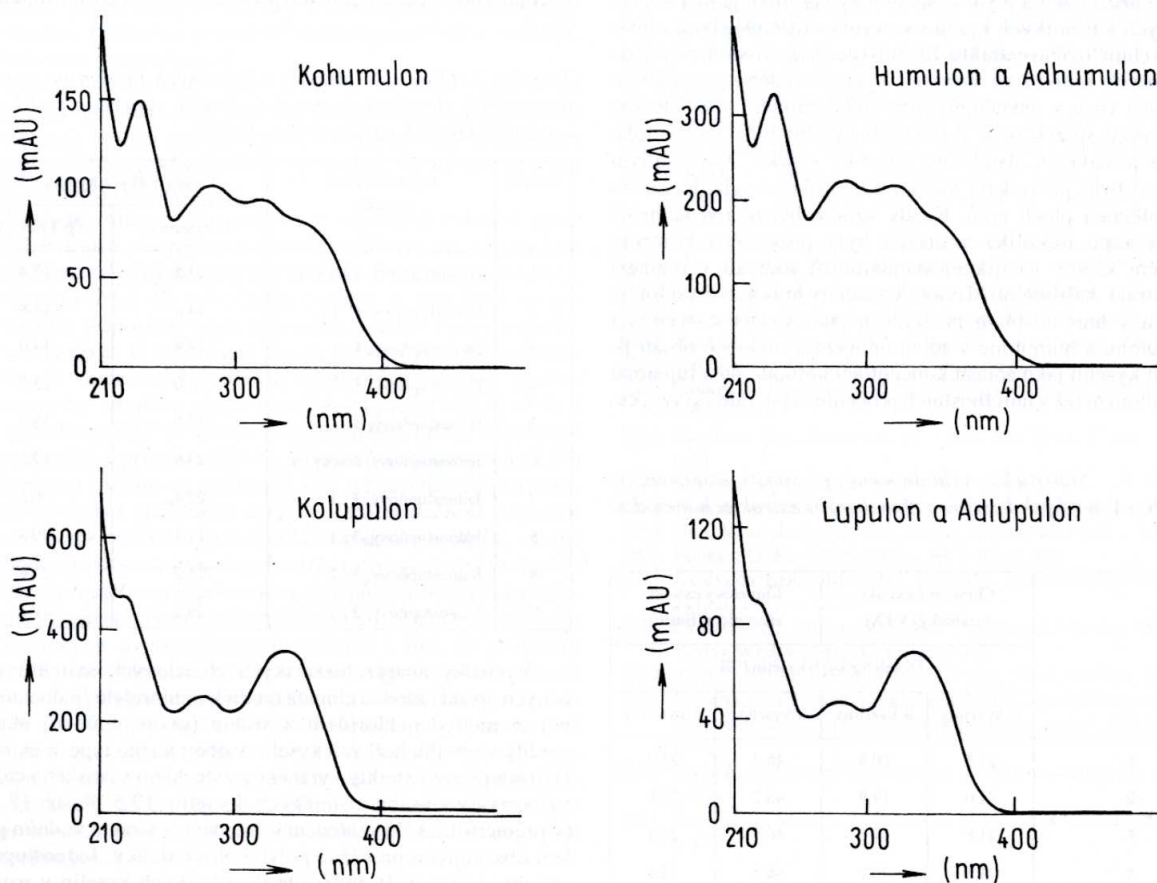
Obr. 1 Kalibrační křivky pro stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin

VÝSLEDKY A DISKUSE

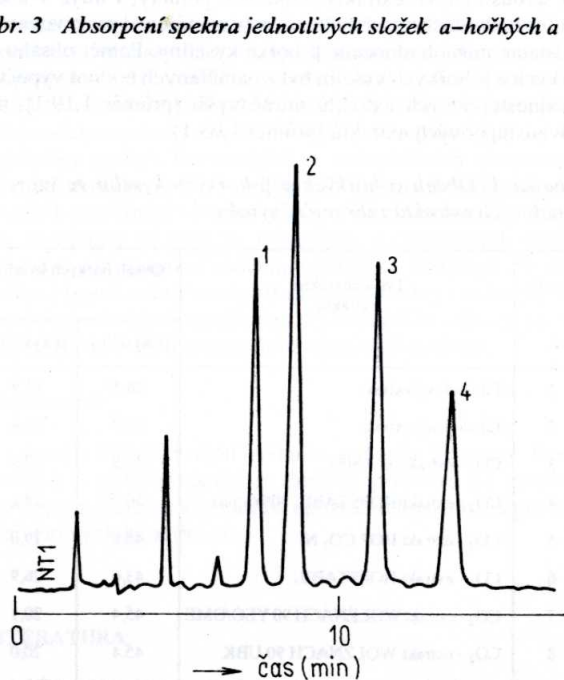
Účinnost dělení jednotlivých složek α -hořkých a β -hořkých kyselin ukazuje obrázek 2. Separační kolona s náplní SEPARON SGX C18 o zrnění $5\ \mu\text{m}$ umožňuje za zvolených tlakových a průtokových podmínek a uvedeného složení mobilní fáze dostatečné rozdělení hlavních složek α -hořkých a β -hořkých kyselin, což je podmínkou jejich reprodukovatelného kvantitativního stanovení. Vlastní HPLC analýza přitom trvá přibližně 15 minut. V dělicí účinnosti se uvedená kolona plně vyrovná zahraničním kolonám. Tvar eluční křivky na chromatogramu standardní směsi α -hořkých a β -hořkých kyselin (obr. 2) současně potvrdil čistotu připravených standardů, která byla ověřena proměřením UV-absorpčního spektru (obr. 3) a elementární analýzou (nalezeno $8,25\ \%$ H a $69,32\ \%$ C u α -kyselin; $9,16\ \%$ H a $75,19\ \%$ C u β -kyselin).



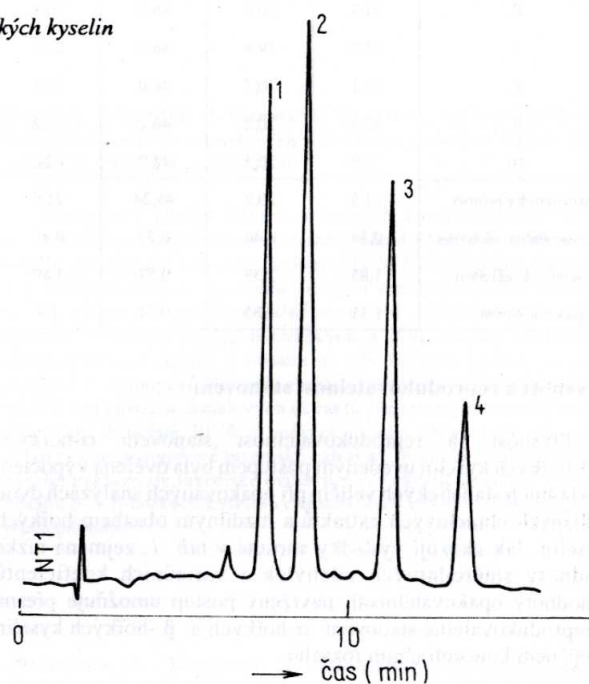
Obr. 2 Chromatogram standardního roztoku α -hořkých a β -hořkých kyselin
1 - kohumulon, 2 - humulon a adhumulon, 3 - kolumulon, 4 - lupulon a adlupulon



Obr. 3 Absorpční spektra jednotlivých složek α -hořkých a β -hořkých kyselin



Obr. 4 Chromatogram stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin ve vzorku tuzemského chmelového extraktu (výrobce VTX Praha) metodou HPLC
1 - kohumulon, 2 - humulon a adhumulon, 3 - kolupulon, 4 - lupulon a adlupulon



Obr. 5 Chromatogram stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin ve vzorku zahraničního chmelového extraktu (výrobce firma BARTH, SRN)
1 - kohumulon, 2 - humulon a adhumulon, 3 - kolupulon, 4 - lupulon a adlupulon

Na obrázcích 4 a 5 jsou znázorněny chromatogramy analýz α -hořkých a β -hořkých kyselin ve vzorku tuzemského a zahraničního chmelového extraktu. Identifikace jednotlivých složek α - a β -hořkých kyselin ve vzorcích byla provedena porovnáním retenčních časů s retenčními časy standardních látek. Identita jednotlivých složek α - a β -hořkých kyselin byla kromě toho ověřena přidávkou standardní látky ke vzorku. Kvantitativní stanovení bylo provedeno metodou vnějšího standardu záznamem integrací ploch píků. Každý vzorek byl měřen nejméně dvakrát a po několika vzorcích byla prováděna kontrola kalibrační křivky nástřikem standardních roztoků v rozmezí koncentrací kalibrační křivky. Obsah α -hořkých kyselin je vyjádřen v hmotnostních procentech jako součet koncentrací kohumulonu a humulonů s adhumulonem a obdobně obsah β -hořkých kyselin jako součet koncentrací kolupulonu a lupulonu s adlupulonem též v hmotnostních procentech původního vzorku.

Tabulka 1. Statistické vyhodnocení přesnosti stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin v chmelových extraktech metodou HPLC

	Chmelový extrakt tuzemský (VTX)		Chmelový extrakt zahraniční (Barth)	
	Obsah hořkých kyselin (%)			
	α-kyseliny	β-kyseliny	α-kyseliny	β-kyseliny
1.	21,3	20,9	46,7	21,9
2.	21,0	19,9	46,2	22,0
3.	21,6	19,8	46,5	22,1
4.	21,5	20,1	46,5	22,1
5.	21,4	19,9	45,9	21,8
6.	21,2	20,8	46,3	20,8
7.	21,2	19,4	46,2	22,0
8.	21,1	20,7	46,0	22,1
9.	22,3	20,2	46,2	22,2
10.	21,9	20,3	45,9	22,2
Aritmetický průměr	21,5	20,2	46,24	21,9
Směrodatná odchylka	0,39	0,48	0,27	0,42
Variační koeficient	1,85	2,39	0,57	1,80
Opakovatelnost	1,11	1,35	0,74	1,1

Přesnost a reprodukovatelnost stanovení

Přesnost a reprodukovatelnost stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin uvedeným postupem byla ověřena výpočtem základních statistických veličin při opakovaných analýzách dvou odlišných chmelových extraktů s rozdílným obsahem hořkých kyselin. Jak ukazují výsledky shrnuté v tab. 1, zejména nízké hodnoty směrodatných odchylek a variačních koeficientů i hodnoty opakovatelnosti, navržený postup umožňuje přesné a reprodukovatelné stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin v běžném koncentračním rozsahu.

Výsledky stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin ve chmelových extraktech

Přehled výsledků stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin v chmelových extraktech domácí výroby zpracovaných ve východočeských a pražských pivovarech v průběhu roku 1991 a ve vzorcích zahraničních chmelových extraktů, z nichž mnohé

byly též zpracovány v českých pivovarech, je uveden v tabulkách 2 a 3.

Tabulka 2. Obsah α -hořkých a β -hořkých kyselin ve vzorcích tuzemských chmelových extraktů. Poměr vyjadřuje podíl zpracovaného čínského a žateckého chmele.

Vzorek č.	Typ a charakter extraktu	Obsah hořkých kyselin (%)	
		α -kyseliny	β -kyseliny
1	Dvoustupňový, čínský ch.	13,5	12,4
2	Dvoustupňový, 3 : 1	14,6	14,8
3	Dvoustupňový, 3 : 1	14,9	14,0
4	Dvoustupňový, 3 : 2	16,0	13,7
5	Dvoustupňový, 3 : 2	17,5	18,5
6	Jednostupňový, čínský ch.	23,6	17,5
7	Jednostupňový, 3 : 1	22,4	20,8
8	Jednostupňový, 3 : 1	21,3	20,4
9	Jednostupňový, 3 : 2	25,2	21,6
10	Jednostupňový, 3 : 2	26,2	20,2

Výsledky analýz tuzemských chmelových extraktů vyráběných dosud extrakcí chmele methylenchloridem (jednostupňové) či methylenchloridem a vodou (dvoustupňové) ukázaly rozdíly v obsahu hořkých kyselin v obou těchto typech extraktů. Dvoustupňové extrakty vyráběné z žateckého a čínského chmele vykazovaly obsahy α -hořkých kyselin 13,5 % až 17,5 % (v průměru 15,3 %) vzhledem k "zředění" extraktu vodním podílem obsahujícím převážně polyfenolové složky. Jednostupňové extrakty vykazovaly vyšší obsah α -hořkých kyselin v rozsahu 21,3 % až 26,2 % (v průměru 23,7 %), tedy téměř o 10 % více než dvoustupňové extrakty. Obdobné poměry, i když v absolutních hodnotách mírně snížené, byly naměřeny i pro pivovarsky podstatně méně hodnocené β -hořké kyseliny. Poměr obsahu α -hořkých a β -hořkých kyselin byl z naměřených hodnot vypočten u jednostupňových extraktů mírně vyšší (průměr 1,19:1), než u dvoustupňových extraktů (průměr 1,05:1).

Tabulka 3. Obsah α -hořkých a β -hořkých kyselin ve vzorcích chmelových extraktů zahraniční výroby

Vzorek č.	Typ a charakter extraktu	Obsah hořkých kyselin (%)	
		α -kyseliny	β -kyseliny
1	Ethanolový extrakt	26,5	13,9
2	Ethanolový extrakt	27,9	14,4
3	CO ₂ - extrakt α = 30%	29,8	22,9
4	CO ₂ - extrakt HOPSTABIL 30% alpha	30,7	24,1
5	CO ₂ - extrakt HOP CO ₂ N	40,8	19,0
6	CO ₂ - extrakt HOPSTABIL	43,6	26,9
7	CO ₂ - extrakt WOLZNACH 90 YEO/OME	45,4	20,1
8	CO ₂ - extrakt WOLZNACH 90 UBK	45,4	20,0
9	CO ₂ - extrakt, α = 53,4%	51,0	16,4
10	CO ₂ - extrakt WOLZNACH 90 YOE/OME	51,4	17,1
11	CO ₂ - extrakt PFI CO ₂ HOP	54,9	17,8

Rozdílný obsah hořkých kyselin v jednostupňových a dvoustupňových chmelových extraktech spolu s odlišnostmi

v obsahu polyfenolových složek a dusičnanů jsou zásadními okolnostmi, které musí pivovarští technologové brát v úvahu při rozhodování o jejich použití.

Naměřené výsledky dále ukázaly, že dosud používaná technologie extrakce chmele methylenchloridem pravděpodobně neumožňuje výrobu extraktů s vyšším obsahem hořkých kyselin při zpracování žateckých aromatických chmelů s relativně nižším obsahem měkkých pryskyřic.

Výsledky analýz zahraničních chmelových extraktů vyrobených extrakcí ethanolom a oxidem uhličitým ukázaly na širší rozsah obsahu hořkých kyselin. Ethanolové extrakty obsahovaly v průměru 27,2 % α -hořkých kyselin a podobaly se tak tuzemským jednosložkovým extraktům, ačkoliv z principu ethanolové extrakce je zřejmé, že obsahují částečně i polyfenolové složky. U chmelových extraktů vyrobených extrakcí oxidem uhličitým byl naměřen obsah α -hořkých kyselin 29,8 % až 54,9 % s průměrem 43,7 %. Obsah β -hořkých kyselin byl všeobecně výrazně nižší, v průměru 20,5 %. Také poměr obsahu α -hořkých a β -hořkých kyselin se podstatně lišil od tuzemských extraktů a činil až 3,08:1 (průměrně 2,17:1). Tato skutečnost odpovídá zpracovávané surovině, neboť řada zahraničních odrůd, včetně tzv. hořkých či vysokoobsažných odrůd má ve srovnání s žateckými chmely tento poměr posunut ve prospěch α -hořkých kyselin. Kromě vysokého obsahu α -hořkých kyselin se CO_2 -extrakty liší od klasických dvoustupňových extraktů i tím, že prakticky neobsahují polyfenolové složky a dusičnany. I tyto skutečnosti jsou důležité při posuzování vhodnosti jednotlivých typů chmelových extraktů pro použití k výrobě různých piv, často značně odlišného charakteru. Ačkoliv obsah α -hořkých kyselin není jediným kritériem posuzování kvality chmelových extraktů, je toto kritérium důležitým ukazatelem, které může rozhodovat nejen o jejich technologickém využití, ale značně ovlivňuje především jejich cenu.

3. ZÁVĚR

Analytický postup stanovení hořkých kyselin ve chmelových extraktech, vycházející z postupu zahrnutého do Analytiky EBC a upraveného pro použití tuzemské kolony a s kalibrační metody standardy čistých hořkých kyselin, umožňuje rychlé, přesné a reprodukovatelné stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin. Výsledky analýz tuzemských a zahraničních chmelových extraktů ukázaly rozdíly v obsahu α -hořkých a β -hořkých kyselin i v jejich poměrném zastoupení. Nejvyšší obsah α -hořkých kyselin, dosahující až 54,9 %, byl zjištěn u chmelových extraktů připravených extrakcí oxidem uhličitým. Přibližně 30 % α -hořkých kyselin obsahovaly ethanolové extrakty a jedноступňové tuzemské extrakty. Nejnížší obsah α -hořkých kyselin vykazovaly tuzemské klasické dvoustupňové chmelové extrakty.

Poděkování

Autoři děkují vedení státního podniku Pivovary Hradec Králové a státního podniku Pražské pivovary za umožnění provozních zkoušek a vytvoření optimálních podmínek pro realizaci této výzkumné práce.

LITERATURA

- [1.] ČSN 46 2520, Zkoušení chmele, 1985
- [2.] ON 56 6604, Chmelový extrakt, 1971
- [3.] Verzele, M., Van Dyck, J.: J. Inst. Brew., 77, 1971, s. 529
- [4.] Analytica EBC, 2nd edn., Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1963, s. 49, 51, 53
- [5.] Analytica EBC, 3rd edn., Schweizer Brauerei Rundschau, Zurich, s. D47, D49
- [6.] Alderweireldt, F., Verzele, M.: Wall. Lab. Commun., 27, 1964, s. 19

- [7.] Verzele, M., Claus, H., Van Dyck, J.: J. Inst. Brew., 73, 1967, s. 39
- [8.] Spetsig, L. O., Steininger, M.: J. Inst. Brew., 66, 1960, s. 413
- [9.] Kuroiwa, Y., Hashimoto, H.: J. Inst. Brew., 67, 1961, s. 506
- [10.] Howard, G. A., Martin, P. A.: J. Inst. Brew., 70, 1964, s. 424
- [11.] Hautke, P.: J. Inst. Brew., 72, 1966, s. 562
- [12.] Franiau, R., Mussche, R.: J. Inst. Brew., 80, 1974, s. 59
- [13.] Molyneux, R. J., Wong, Y.: J. Agric. Food Chem., 21, 1973, s. 531
- [14.] Kleber, W., Hums, N.: Brauwelt, 114, 1974, s. 414
- [15.] Slotema, F. P., Verhagen, L. C., Verzele, M.: Brauwissenschaft, 30, 1977, s. 145
- [16.] Claus, H., Van Dyck, J., Verzele, M.: J. Inst. Brew., 84, 1978, s. 218
- [17.] Gill, R.: J. Inst. Brew., 85, 1979, s. 15
- [18.] Siebert, K. J.: J. Am. Soc. Brew. Chem., 34, 1976, s. 79
- [19.] Otter, G. E., Taylor, L.: J. Inst. Brew., 84, 1978, s. 160
- [20.] Verzele, M., Van Dyck, J., Claus, H.: J. Inst. Brew., 86, 1980, s. 9
- [21.] Verzele, M., Dewaele, C.: J. Chromatogr., 217, 1981, s. 399
- [22.] Lance, D. G., Kavanagh, T. E., Clarke, B. J.: J. Inst. Brew., 87, 1981, s. 225
- [23.] Knudson, E. J., Siebert, K. J.: J. Am. Soc. Brew. Chem., 41, 1983, s. 51
- [24.] Silvester, D. J.: J. Inst. Brew., 90, 1984, s. 319
- [25.] Ono, M. et al.: J. Am. Soc. Brew. Chem., 42, 1984, s. 167
- [26.] Ono, M. et al.: J. Am. Soc. Brew. Chem., 43, 1985, s. 136
- [27.] Buckee, G. K.: J. Inst. Brew., 91, 1985, s. 143
- [28.] Analytica EBC, 4th edn., Brauerei- und Getränke Rundschau, Zürich, 1987, s. E123
- [29.] Drawert, F.: Brautechnischen Analysenmethoden (MEBAK), Verlag Weihenstephan-Freising 1979
- [30.] ASBC - Methods of Analysis, 7th edn., 1976, St. Paul, Minn.
- [31.] Čepička, J.: Význam a uplatnění měkkých pryskyřic v pivovarském výrobním procesu (Kandidátská disertační práce), VŠCHT, Praha 1972
- [32.] Moštek, J., Marek, M., Čepička, J.: Brauwissenschaft, 31, 1978, s. 29
- [33.] Čepička, J., Moštek, J., Šolínová, H.: Sborník VŠCHT, E35, 1972, s. 177

Lektoroval Ing. František Kroupa

Čepička, J.-Baudyš, P.-Víznerová, E.: Stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin ve chmelových extraktech metodou HPLC. Kvas. prům., 38, 1992, č. 6, s. 165 - 170

Analytický postup stanovení hořkých kyselin ve chmelových extraktech, vycházející z postupu zahrnutého do Analytiky EBC a upraveného pro použití tuzemské kolony TESSEK SEPARON SGX C18 a s kalibrační pomocí standardů čistých hořkých kyselin, umožňuje rychlé, přesné a reprodukovatelné stanovení α -hořkých a β -hořkých kyselin. Výsledky analýz tuzemských a zahraničních chmelových extraktů ukázaly rozdíly v obsahu α - i β -hořkých kyselin i v jejich poměrném zastoupení. Nejvyšší obsah α -hořkých kyselin, dosahující až 54,9 %, byl zjištěn u chmelových extraktů připravených extrakcí oxidem uhličitým. Přibližně 30 % α -hořkých kyselin obsahovaly ethanolové extrakty a jedноступňové tuzemské extrakty. Nejnížší obsah α -hořkých kyselin vykazovaly tuzemské dvoustupňové chmelové extrakty. Poměr obsahu α - a β -hořkých kyselin ve chmelových extraktech byl závislý na jejich původu.

Чепичка, Я. - Баудыш, П. - Визнерова, Е.: Определение α -горьких и β -горьких кислот в хмелевых экстрактах методом HPLC. Квас. прум., 38, 1992, № 6, стр. 165 - 170

Аналитический способ определения горьких кислот в хмелевых экстрактах, исходящий из метода, включенного в Аналитику ЕВС и видоизмененного для применения отечественной колонки ТЕССЕК СЕПАРОН СХ С18 и с калиброванием при помощи стандартов чистых горьких кислот, позволяет быстрое, точное и воспроизводимое определение α -горьких и β -горьких кислот.

Результаты анализов отечественных и зарубежных хмелевых экстрактов показали разницы в содержании α -горьких и β -горьких кислот и в их относительном представлении. Наиболее высокое содержание α -горьких кислот, достигающее 54,9 % было установлено для хмелевых экстрактов, полученных экстрагированием двуокисью углерода. Приблизительно 30 % α -горьких кислот содержали этаноловые экстракты и одноступенчатые отечественные экстракты. Наиболее низкое содержание α -горьких кислот показывали отечественные двуступенчатые экстракты хмеля. Отношение содержания α - и β -горьких кислот в хмелевых экстрактах находилось в зависимости от их происхождения.

Čepička, J.- Baudyš, P.- Víznerová, E.: Determination of α - and β -Bitter Acids in Hop Extracts Using the HPLC Method., Kvas. prům. 38, 1992, No. 6, pp 165 - 170

The content of α - and β - bitter acids in various hop extracts was determined by a procedure based on the EBC recommended method. The modified HPLC method using TESSEK SEPHARON SGX-C-18 column and the calibration with pure preparates of bitter acids enables quick, exact and reproducible routine determination of hop bitter acids. The highest content of α -bitter acids, up to 54,9 %, was found in CO₂-extracts. Aproximately 30 % of α -acids were achieved in ethanolic extracts and the one-step procedure extracts. The lowest content of α -acids was found

in hop extracts containing the polyphenol fraction. The ratio of α - and β -bitter acids in hop extracts depended on their origin.

Čepička, J.-Baudyš, P.-Víznerová, E.: Bestimmung der α -Bitter- und β -Bittersäuren in Hopfenextrakten mittels der HPLC-Methode. Kvas. prům. 38, 1992, Nr. 6, S. 165 - 170

Die analytische Methode der Bestimmung des Bitter-Säuregehalts in Hopfenextrakten geht von der in den Analytica EBC enthaltenen Methode aus, die für die Applikation der inländischen Kolonne TESSEK SEPARON SGC C18 und die Kalibration mittels reiner Bittersäuren-Präparate modifiziert wurde. Die beschriebene Methode ermöglicht eine schnelle, genaue und reproduzierbare Bestimmung der α -Bittersäuren und β -Bittersäuren. Die Ergebnisse der Analysen in- und ausländischer Hopfenextrakte zeigten Unterschiede in dem Gehalt der α -Bitter- und β -Bittersäuren sowie auch in ihrer relativen Vertretung. Der höchste Gehalt an α -Bittersäuren, der bis 54,9 % betrug, wurde in den CO₂-Extrakten festgestellt. Die Äthanolextrakte sowie auch die inländischen im Ein-Stufen-Verfahren hergestellten Extrakte enthielten ungefähr 30 % der α -Bittersäuren. Den niedrigsten Gehalt der α -Bittersäuren wiesen die inländischen im Zwei-Stufen-Verfahren hergestellten Extrakte (mit Polyphenolfraction) auf. Das Verhältnis der Gehalte der α -Bitter- und β -Bittersäuren in Hopfenextrakten hängt von ihren Herkunft ab.