

K PROBLEMATICE ANALYTICKÉHO STANOVENÍ OBSAHU α -HOŘKÝCH KYSELIN VE CHMELU

Ing. KAREL KROFTA, Chmelařský institut, s. r. o., Žatec
JANA TICHÁ, Chmelařství, družstvo Žatec

Klíčová slova: chmel, α -hořké kyseliny, β -hořké kyseliny, konduktometrická hodnota, kapalinová chromatografie, index skladování chmele, spektrofotometrie

1. ÚVOD

Z pivovarského hlediska jsou nejdůležitější složkou chmele α -hořké kyseliny. Při chmelovaru dochází k jejich izomeraci a produkty této reakce zásadním způsobem ovlivňují hořkost piva a její charakter. Vývoj analytické chemie chmele se proto přirozeně zaměřil na vývoj metod jejich stanovení. Struktura α -hořkých kyselin, která je zobrazena na obr. 1, obsahuje základní aromatické jádro, které je ve všech polohách substituováno. Skládají se z několika analogů (kohumulonu, humulonů, adhumulonů a dalších, méně významných), které se liší postranním řetězcem na druhém uhlíku aromatického jádra. Poměrně složitá struktura dává fyzikální základ řadě metod jejich stanovení. Například dvojná vazba v aromatickém kruhu i postranních řetězcích způsobují silnou absorpci UV záření, přítomnost asymetrického uhlíku je základem polarimetrického stanovení atd.

Pro stanovení obsahu α -hořkých kyselin ve chmelu (a chmelových preparátech – granulě, extrakty) lze v odborné literatuře najít mnoho metod, které se liší především způsobem

sobem přípravy vzorku k analýze a principem stanovení aktivní složky. Jsou popsány metody gravimetrické, titrační, polarimetrické, spektrofotometrické a další. Spektrofotometrické stanovení se výhodně spojuje s předseparací jednotlivých analogů nejčastěji pomocí kapalinové chromatografie nebo kapilární elektroforézy.

Řada těchto metod je součástí oficiálních analytických metodik EBC, MEBAK a ASBC. Záměrem tohoto sdělení je napomoci pracovníkům z praxe (obchodníci, pěstitelé chmele, pivovarníci) se v této problematice orientovat. V článku jsou uvedeny stručné charakteristiky nejrozšířenějších metod stanovení α -hořkých kyselin v hlávkovém a granulovaném chmelu (princip stanovení, přednosti, nedostatky, systematické chyby). Dále je uvedeno porovnání výsledků stanovení jednotlivými metodami, které je podloženo řadou experimentálních dat.

2. CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÝCH METOD

Titrační metody

Princip titračních a gravimetrických metod je založen na srážecí reakci α -hořkých kyselin (humulonů) s ionty dvojmocného olova, při níž se tvoří žlutá sraženina humulonátu olovnatého. Původně se množství sraženiny a tím i obsah α -kyselin stanovoval vázkově. Později byl tento zdoluhavý a pracný postup nahrazen konduktometrickou titrací. Při titraci se měří vodivost titračního prostředí. Po přidávku octanu olovnatého do titrovaného roztoku zůstává vodivost roztoku stabilní do okamžiku, dokud se tvoří nerozpustný humulonát. Po vysrážení veškerého humulonů způsobuje nadbytek titračního činidla vzrůst vodivosti. Typický průběh titrační křivky je na obr. 2. Průsečík tečen obou větví titrační křivky je bodem ekvivalence, přičemž délka vodorovné větve je úměrná obsahu hořkých kyselin ve vzorku. Výsledek stanovení, označovaný jako **konduktometrická hodnota**,

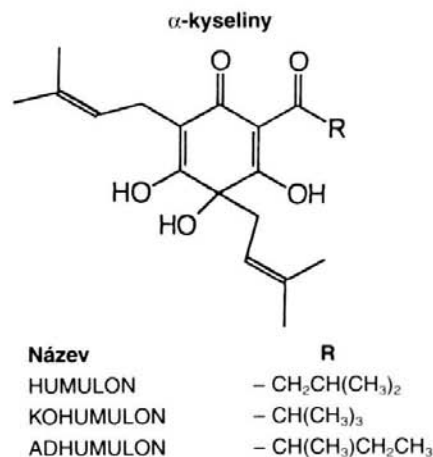
KH (KW = něm., LCV = angl.) se vyjadřuje v procentech hmotnostních, zpravidla přepočtených na sušinu. Přestože princip měření je poměrně jednoduchý, má celý analytický postup několik kritických operací, které významně ovlivňují výsledek analýzy:

a) extrakce chmelových pryskyřic

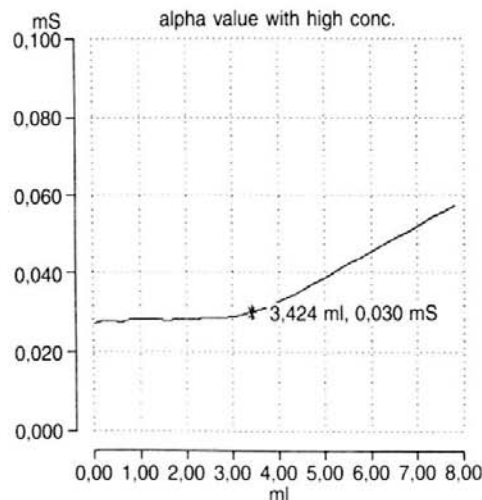
Převedení hořkých látek do roztoku se provádí extrakcí vhodným rozpouštědlem nebo směsí rozpouštědel za mechanického míchání, přičemž α -hořké kyseliny by měly být převedeny do roztoku pokud možno kvantitativně. Mezi organickými rozpouštědly se v literatuře uvádí nejčastěji methanol, diethylether, dichlormethan, chloroform, benzen, toluen, isopropylalkohol, dávkané samostatně nebo v kombinaci s vodnými roztoky kyselin, zásad nebo pufrů.

b) mechanické míchání

Důležitou úlohu při extrakci hraje způsob a doba mechanického míchání. K tomuto účelu se používají různé typy míchadel, mi-



Obr. 1 Struktura chmelových α -hořkých kyselin



Obr. 2 Konduktometrická titrační křivka α -hořkých kyselin

xerů, laboratorních extraktorů a třepaček. Svou roli hraje nejen poměr mezi navážkou vzorku a objemem extrakčního rozpouštědla, ale i další hydrodynamické parametry míchaného systému (průměr míchadla, rychlost otáček, výše hladiny apod.).

Jednotlivé parametry mohou být vzájemně kombinovány libovolným způsobem, čímž lze vytvářet velké množství různých kombinací.

c) selektivita srážecí reakce

Octan olovnatý může reagovat rovněž s jinými složkami rostlinného extraktu. Například některé organické kyseliny (kys. citronová, šťavelová) jsou olovnatými ionty nepochybně titrovatelné. Toto „rostlinné pozadí“ je méně výrazné při vyšším obsahu hořkých látek.

Analytická chemie chmele uvádí pro chmel i chmelové produkty řadu konduktometrických metod, z nichž žádná není zcela uspokojivá. Hlavní nevýhodou je nedostatečná selektivita a malá přesnost. Ta je způsobena řadou systematických chyb, jako jsou například odpařování rozpouštědla, ředící faktor rostlinného extraktu, objemová kontrakce směsných rozpouštědel aj. Hlavním důvodem pro existenci různých titračních metod jsou pokusy najít optimální kompromis mezi kvantitativním rozpuštěním α -hořkých kyselin na jedné straně a omeze-

ním extrakce balastních látek na straně druhé. Specifický a kvantitativní způsob extrakce α -hořkých kyselin z chmele však neexistuje.

Nejběžnější konduktometrické metody pro stanovení α -hořkých kyselin používají jako extrakční činidlo toluen. Vlastní zkouška je velmi jednoduchá. Navážka 5–10 gramů vzorku se přelije 50–100 ml toluenu a po protřepání se provede extrakce. Ta se provádí buď v laboratorní třepačce po dobu 90 minut (metoda ČSN 46 2520-15) nebo v laboratorním extraktoru (metoda EBC 7.3.2). V tomto případě je doba extrakce několik minut při frekvenci rotoru míchadla 6000 až 8000 min⁻¹. Po skončení extrakce se alikvotní podíl extraktu titruje roztokem octanu olovnatého. Nejrozšířenějšími laboratorními extraktory jsou zařízení Ultra-Turax od firmy Janke & Kunkel (Německo).

Další velmi rozšířená titrační metoda je součástí tzv. Ganzlinovy modifikace Wöllmerovy metody stanovení chmelových pryskyřic. Extrakce rozemletého chmele se v tomto případě provádí ve dvofázovém systému diethyleter-methanol + 0,1 M HCl. Chmelové pryskyřice se třepáním extrahují do etherové fáze. Po vytřepání se definovaný objem etherové fáze odpaří do sucha. Získaný odparek se rozpustí v methanolu a podchlazením roztoku se ze systému odstraní vosky. V takto získaném základním roztoku

se vedle vázkového stanovení celkových a měkkých pryskyřic stanoví obsah α -hořkých kyselin konduktometrickou titrací roztokem octanu olovnatého. Tato metoda má v analýze EBC číslo 7.3.4. V analýze MEBAK je uvedena (s drobnou úpravou) pod číslem 5.1.5.1.

Jak již bylo uvedeno, titrační metody nejsou pro α -hořké kyseliny specifické. Octanem olovnatým se sráží i některé minoritní složky chmelových pryskyřic a další látky rostlinného extraktu. Přesto jsou, i přes zatížení řadou systematických chyb, pro svou jednoduchost velmi rozšířené.

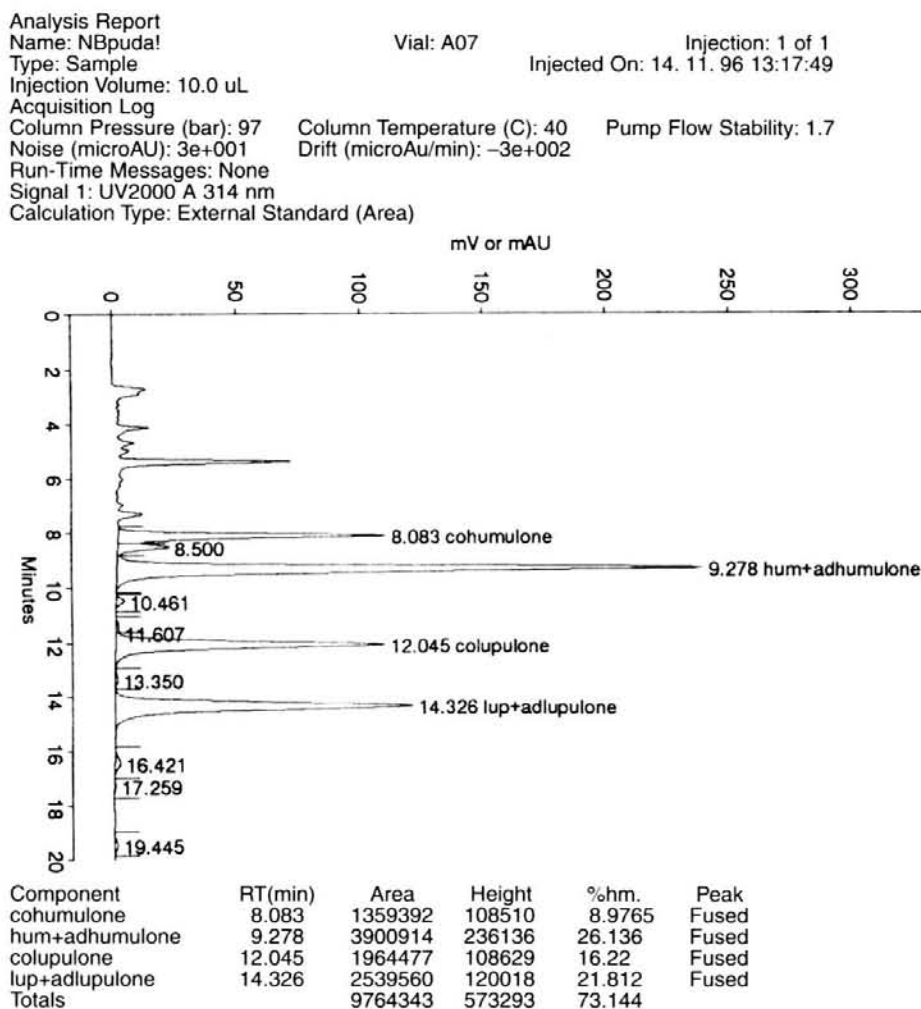
Kapalinová chromatografie

Měření obsahu α -hořkých kyselin kapalinovou chromatografií (HPLC) je jednou ze specifických metod stanovení těchto látek ve chmelu a chmelových produktech. Principem metody je chromatografické dělení chmelových pryskyřic na analytické kolony a následná detekce na principu absorpce UV světla. Při analýze lze vedle obsahu α -hořkých kyselin stanovit i obsah β -hořkých kyselin a zastoupení kohumulonu resp. kolupulonu v α - resp. β -hořkých kyselinách. Volbou experimentálních podmínek lze dosáhnout dělení α - a β -hořkých kyselin na 4–6 analogů. Při dělení na 4 analogy se u α -hořkých kyselin separuje kohumulon, n-humulon a adhumulon zůstávají nerozděleny a analyzují se jako jeden chromatografický pik. Podobně se dělí i β -hořké kyseliny. Při dělení na 6 analogů se oddělují i ad-analogy. Typický chromatogram dělení chmelových pryskyřic na 4 analogy je na obr. 3.

Podobně jako u titračních metod, i u metod chromatografických lze v literatuře nalézt řadu modifikací, které se odlišují přípravou vzorků a parametry chromatografického stanovení (typ a rozměry analytické kolony, složení mobilní fáze, vlnová délka detekce). Mobilní fáze se převážně skládá ze směsi methanol-voda nebo acetonitril-voda, doplněné fosfátovým pufrem nebo vhodným iontopárovým činidlem.

Jako separační materiály se dnes převážně používají sorbenty na bázi silikagelu s reverzní fází C₁₈(RP C₁₈). Ačkoli tyto fáze od různých výrobců vykazují odlišné separační vlastnosti, použití těchto analytických kolon dává podobné výsledky. Kvalitativním standardem je všeobecně uznána kolona o rozměrech 250×4 mm s náplní Nucleosil 5 μ m C₁₈ „Hop analysis“ od firmy Machery-Nagel. Standardizovanou HPLC metodou je v analýze EBC metoda s označením EBC 7.4.1.

α - a β -hořké kyseliny jsou z mletého hlávkového nebo granulovaného chmele extrahovány směsí diethyleter-methanol + 0,1 M kyselina chlorovodíková. Příprava vzorku je shodná s postupem uvedeným v metodě EBC 7.3.4. Stanovení se provádí přímo z etherové fáze v primárním výluhu, aniž se odstraňují vosky, které stanovení neruší. Chmelové pryskyřice se stanovují spektrofotometricky při vlnové délce 314 nm. Mobilní fáze se skládá ze směsi methanol-



Obr. 3 HPLC chromatogram chmelových pryskyřic (Žatecký poloraný červeňák)

Tabulka 1 Porovnání standardů E4 a ICE 1

Poř. číslo	E4				ICE 1				Rozdíl	
	α -kys.	β -kys.	kohu- mulon	kolu- pulon	α -kys.	β -kys.	kohu- mulon	kolu- pulon	E4-ICE/E4 (%)	
	(% hm.)	(% hm.)	(% rel.)	(% rel.)	(% hm.)	(% hm.)	(% rel.)	(% rel.)	α -kys.	β -kys.
1	1,93	3,88	27,1	46,7	1,88	4,22	26,9	45,8	+2,59	-8,76
2	4,41	4,60	26,6	44,4	4,32	4,99	26,3	42,8	+2,04	-8,48
3	4,83	4,94	25,7	44,0	4,73	5,39	25,5	42,9	+2,07	-9,11
4	5,03	5,27	24,9	42,1	4,93	5,75	24,5	41,0	+1,99	-9,11
5	7,75	3,61	36,5	58,3	7,58	3,88	36,2	56,7	+2,19	-7,48
6	8,44	4,48	34,5	60,4	8,22	4,85	34,2	59,5	+2,61	-8,26
7	9,21	3,58	24,5	53,0	9,04	3,88	24,3	51,7	+1,85	-8,38
8	9,39	3,53	22,1	44,7	9,22	3,78	21,9	42,8	+1,81	-7,08
9	11,86	4,48	22,8	47,1	11,62	4,88	22,5	45,9	+2,02	-8,93
10	14,60	5,64	27,1	47,3	14,20	6,05	26,9	46,1	+2,74	-7,27
Medián									+2,06	-8,43
Průměr									+2,19	-8,29

voda-kyselina fosforečná. Analýza trvá přibližně 20 až 30 minut.

Ke kvantitativnímu stanovení se používá certifikovaný chmelový extrakt s deklarovaným obsahem α - i β -hořkých kyselin. Do léta 1996 existovaly dva různé kalibrační extrakty, kalibrační extrakt E4, dostupný v EBC a standard ASBC, používaný většinou v USA. Používáním těchto extraktů jako externích standardů však byly získávány odlišné výsledky. Nový sjednocený kalibrační standard má označení ICE 1 (International Calibration Standard) a je platný od 1. července 1996 [4]. Obsahy α - a β -hořkých kyselin byly v tomto extraktu stanoveny na základě kruhové analýzy, přičemž jako kalibrační standardy byly použity čisté preparáty α - a β -hořkých kyselin. Kruhová analýza ukázala, že starší kalibrační standardy EBC/E4 a ASBC mají při chromatografické analýze v porovnání se standardem ICE 1 nižší odezvový faktor. Tyto rozdíly znamenají, že obsah α -hořkých kyselin s použitím nového standardu ICE 1 bude nižší, a to v průměru o 2,7 % v porovnání se standardem E4, jak ukázaly výsledky kruhových testů.

V tabulce 1 jsou uvedeny výsledky analýz chmelových pryskyřic metodou HPLC v několika vzorcích hlávkových chmelů ze sklizně 1996. Kvantitativní vyhodnocení bylo provedeno s použitím standardů E4 a ICE 1. Výsledky naměřené laboratořemi Chmelářského institutu a družstva Chmelářství potvrzují, že standard ICE 1 v porovnání s E4 skutečně poskytuje nižší hodnoty α -hořkých kyselin (rozmezí 1,8–2,7 %). Naпротив tomu obsah β -hořkých kyselin je u standardu ICE 1 v průměru o 8 % vyšší. Změny jsou i při hodnocení zastoupení koanalogue hořkých kyselin: standard ICE 1 dává o 0,2–0,4 % nižší obsahy kohumulonu a 1,1–1,9 % nižší zastoupení kolupulonu.

Spektrofotometrická metoda

Chmelové pryskyřice, díky své chemické struktuře, silně absorbují UV světlo. Absorpce světla závisí na pH roztoku a podle toho je měřena za definovaných podmínek v kyselém nebo zásaditém prostředí při několika vlnových délkách. Příprava vzorku

spočívá v extrakci vzorku mletého chmele v toluenu. Vyčištěný alikvotní podíl primárního extraktu se ředí předepsaným způsobem alkalickým roztokem methanolu a měří se jeho absorbance při vlnových délkách 275, 325 a 355 nm. Z absorpčních křivek byly stanoveny pro α - i β -hořké kyseliny regresní rovnice. Tato metoda se v Evropě příliš nepoužívá, běžnější je v USA, kde byla vypracována. Je obsažena výhradně v metodice ASBC pod označením Hops 6.

Při spektrofotometrickém stanovení chmelových pryskyřic lze získat další parametr, tzv. index skladování chmele. Chmelové pryskyřice podléhají časem oxidačním a transformačním přeměnám, zvláště v případech, kdy je chmel skladován za nevhodných podmínek. Dochází k postupnému poklesu obsahu α - i β -hořkých kyselin. Tento úbytek je doprovázen postupným růstem poměru absorbancí chmelového extraktu při 275 a 325 nm (A_{275} , A_{325}). Tento poměr se nazývá **index skladování chmele**, běžně označovaný jako HSI index z anglického překladu „hop storage index“. Jeho hodnota odráží stupeň degradačních změn ve chmelu. Čerstvý chmel má HSI přibližně v rozmezí 0,22–0,26, u zdegradovaných, špatně skladovaných chmelů lze naměřit hodnoty větší než 1,0. Například hlávkové chmele ze sklizně 1996 analyzované 2–3 měsíce po sklizni měly HSI v rozmezí 0,28–0,30. Granulovaný chmel ze sklizně 1988 uchovávaný v evakuované hliníkové fólii za normálních teplot měl HSI 0,70 a u archivního vzorku hlávkového chmele ze sklizně 1973 byla naměřena hodnota skladovacího indexu 1,76.

Tabulka 4 Porovnání výsledků analytických metod

Metody	Čerstvé chmele		Starší chmele		KUBÍČEK (10)	VERZELE (8)	ANDEREGG (9)	FOSTER (7)
	Aritm. průměr	Medián	Aritm. průměr	Medián				
(7.3.4 – ČSN)/ČSN	14,5	13,7	25,3	24,5	16,8	–	–	–
(7.4.1 – ČSN)/ČSN	5,9	5,7	12,8	15,8	14,9	6,8	–	–
(7.3.2 – ČSN)/ČSN	3,9	4,3	7,3	6,5	–	–	–	–
(7.3.4–7.3.2)/7.3.2	10,1	9,2	17,1	16,2	–	–	10,7	–
(7.4.1–7.3.2)/7.3.2	2,0	1,5	4,8	6,7	–	–	–	4,0
(7.3.4–7.4.1)/7.4.1	7,8	8,4	15,0	10,6	1,6	–	–	5,0

Údaje v tabulce jsou uvedeny v relativních %

3. POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ JEDNOTLIVÝCH METOD

Protože se jednotlivé metody stanovení α -hořkých kyselin ve chmelu liší jak ve způsobu přípravy vzorku, tak principu stanovení, je zcela přirozené, že výsledné hodnoty stanovení různými metodami u stejného výchozího materiálu se budou lišit.

V tabulkách 2 a 3 jsou uvedeny výsledky stanovení obsahu α -hořkých kyselin čtyřmi různými metodami v souboru čerstvých a starších chmelů. Rozdíly výsledků mezi jednotlivými metodami, vyjádřené jako střední hodnoty (P = aritmetický průměr, M = medián) jsou uvedeny v tabulce 4. Porovnání výsledných hodnot je ve stejné tabulce doplněno údaji z odborné literatury. Odborných prací na podobné téma sice existuje řada, ale vzájemné porovnání publiko-

Tabulka 2 Obsah α -kyselin v čerstvých chmelech (sklizeň 1996)

Poř. číslo	KH ČSN 462520	KH EBC 7.3.2	HPLC EBC 7.4.1	KH EBC 7.3.4
1	3,80	3,97	3,87	4,24
2	3,84	3,90	3,87	4,23
3	3,90	4,06	4,34	4,50
4	4,60	4,81	4,90	5,60
5	5,24	5,48	5,75	6,22
6	5,49	5,69	5,72	6,14
7	7,34	7,70	7,69	8,35
8	8,61	9,00	9,21	9,75
9	9,20	9,52	9,61	10,56
10	9,72	10,05	10,65	11,04

Údaje v tabulce jsou uvedeny v % hmotnostních

Tabulka 3 Obsah α -kyselin ve starších chmelech (sklizeň 1995)

Poř. číslo	KH ČSN 462520	KH EBC 7.3.2	HPLC EBC 7.4.1	KH EBC 7.3.4
1	2,34	2,75	2,71	3,26
2	2,89	3,10	2,93	3,37
3	3,02	3,05	2,72	3,30
4	3,58	3,88	3,73	4,54
5	4,75	5,06	5,64	6,24
6	4,90	5,21	5,27	6,10
7	5,41	5,94	6,61	6,87
8	6,10	6,62	7,18	7,49
9	7,82	8,43	8,64	9,76
10	8,72	9,96	10,13	10,18
11	9,00	9,25	10,49	11,53
12	9,48	10,14	10,82	11,73
13	10,50	11,08	11,90	12,87
14	12,29	13,05	14,87	15,71
15	12,74	13,52	15,57	17,82

Údaje v tabulce jsou uvedeny v % hmotnostních

vaných dat je někdy obtížné, protože například u konduktometrických hodnot není vždy jednoznačně uvedena metoda stanovení. Čerstvé chmele ze sklizně 1996 byly analyzovány v období 2–3 měsíců po sklizni, přičemž do zpracování byly uchovávány v mrazicím boxu. Starší chmele pocházející ze sklizně 1995 byly analyzovány zhruba 10 měsíců po sklizni, pouze 2–3 měsíce před zpracováním byly uchovávány v mrazicím boxu při -18°C .

Nejvyšší obsahy α -hořkých kyselin v čerstvých i starších chmelech poskytuje metoda EBC 7.3.4. Dvoufázový systém ether-metanol je schopen převést chmelové pryskyřice do roztoku kvantitativně. Současně s pryskyřicemi se však extrahuje i řada látek (např. organické kyseliny), které se rovněž sráží olovnatými ionty. Proto konduktometrická hodnota, získaná touto metodou, je poněkud vyšší než skutečný obsah α -hořkých kyselin ve vzorku.

Chromatografická HPLC analýza (metoda EBC 7.4.1) toto „rostlinné pozadí“ neměří, a proto poskytuje nižší hodnoty. Výsledek HPLC analýzy chmelových pryskyřic lze považovat za nejspolehlivější údaj o skutečném obsahu těchto látek v analyzovaném vzorku. Rozdíl výsledků mezi metodami 7.3.4 a 7.4.1 (HPLC) je u čerstvých chmelů přibližně 8 %, u starších chmelů 11%. Foster [7] uvádí rozdíl 5 %.

Toluen je z hlediska extrakce chmelových pryskyřic ze chmele považován za příliš „měkké“ rozpouštědlo, protože nedokáže převést tyto látky do roztoku kvantitativně. Proto metoda ČSN 46 2520 poskytuje hodnoty nižší, než je skutečný obsah α -hořkých kyselin ve vzorku. Jestliže za nejspolehlivější odhad skutečného obsahu α -hořkých kyselin považujeme výsledek HPLC analýzy (EBC 7.4.1), pak z titračních metod poskytuje nejshodnější výsledky metoda EBC 7.3.2. Je pravděpodobné, že u této metody je slabší rozpouštěcí schopnost toluenu kompenzována intenzivní extrakcí a díky vytit-

rování nespecifických složek rostlinného extraktu se výsledky metod EBC 7.3.2 a 7.4.1 liší u čerstvých chmelů zhruba o 2 %, u starších chmelů 5 až 6 %, podle Fostera [7] je tento rozdíl 4 %.

V průběhu stárnutí chmele dochází vlivem oxidace k degradaci α -hořkých kyselin. Rozpustnost degradačních produktů v rozpouštědlech může být jiná než původních α -kyselin. Řada produktů oxidačních změn je octanem olovnatým titrovatelná, a proto jejich obsah je zahrnován do konduktometrické hodnoty. HPLC analýza tyto produkty nepostihuje. To dokazuje i porovnání výsledků stanovení metodami EBC 7.3.2 a 7.4.1 u starších chmelů. Rozdíly výsledků těchto metod se pohybují ve velmi širokém rozmezí -11% až $+15\%$. Zejména u chmelů s nižším obsahem α -hořkých kyselin (aromatických) je výsledek HPLC analýzy nižší než KH stanovená metodou EBC 7.3.2. Je tedy patrné, že postupným stárnutím chmele a průběhem transformačních změn rozdíl výsledků metod EBC 7.3.2 a EBC 7.4.1 mizí a v mnoha případech metoda EBC 7.3.2 dává ve srovnání s HPLC metodou vyšší hodnoty. Tento výsledek je v souladu s výsledky práce [8].

Jestliže u čerstvých chmelů je rozdíl mezi nejnižším a nejvyšším odhadem obsahu α -hořkých kyselin (tj. mezi metodou EBC 7.3.4 a ČSN 46 2520) zhruba 15 %, pak u starších chmelů činí tento rozdíl v průměru 25 % a v jednotlivých případech může být i přes 30 %.

4. ZÁVĚR

Stanovení obsahu α -hořkých kyselin ve chmelu je nejběžnější analýzou nejen hlávkových chmelů, ale i chmele granulovaného a chmelových extraktů.

Každá z uvedených analytických metod má své výhody i nevýhody. Titrační metody, které v jednodušším provedení nevyžadují nákladné přístrojové vybavení, jsou poměrně rychlé, a jsou proto vhodné pro ru-

tiní analýzy. Používají se i v případech, kdy je nutno během krátké doby orientačně stanovit obsah α -kyselin ve velkém počtu vzorků. HPLC metoda vyžaduje nákladné přístrojové vybavení a klade vysoké nároky na obsluhu přístroje a čistotu použitých chemikálií. Je proto vhodná jako referenční metoda při sporných stanoveních jinými metodami, pro ověření pravosti odrůd, při stanovení výtěžků α -hořkých kyselin při zpracování chmele apod. **Při obchodních jednáních (nákup a prodej chmele), před zpracováním chmele na pelety či extrakty je vždy nutné přesně specifikovat metodu, jakou bude obsah α -hořkých kyselin ve chmelu stanoven.** Příčiny řady sporů a nedorozumění ohledně obsahu α -hořkých ve chmelu spočívají právě v neujasněnosti analytické metody jejich stanovení.

LITERATURA

- [1] ČSN 46 2520, část 15, Zkoušení chmele, 1996
- [2] ANALYTICA EBC, 4th edition, Zürich, 1987
- [3] Brautechnische Analysenmethoden, Verlag Freising- Weihenstephan, 1979
- [4] KELLNER, V.: Kvasný prům, **42**, 1996, s. 249
- [5] Methods of Analysis of the ASBC, 8th, edition, 1992
- [6] NICKERSON, G. B., LIKENS, S. T.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **37**, 1979, s. 184
- [7] FOSTER, A.: EBC Monograph XIII, Symposium on Hops, Freising, 1987, s. 84
- [8] VERZELE, M. et al.: J. Inst. Brew., **86**, 1980, s. 9
- [9] ANDEREGG, P., PFENNINGER, H. B.: EBC Monograph XIII, Symposium on Hops, Freising, 1987, s. 100
- [10] KUBÍČEK, J., LOOS, J.: Kvasný prům, **39**, 1993, s. 162