

VYUŽITÍ CHEMICKY MODIFIKOVANÝCH HOŘKÝCH LÁTEK V PIVOVARSTVÍ

MARCEL KARABÍN, TOMÁŠ BRÁNYIK,
RADIM KRULIŠ, MARKÉTA DVOŘÁKOVÁ
a PAVEL DOSTÁLEK

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha,
Technická 5, 166 28 Praha 6
karabinm@vscht.cz

Došlo 6.1.09, přijato 26.3.09.

Klíčová slova: pivo, chmel, hořké kyseliny, hořkost

Obsah

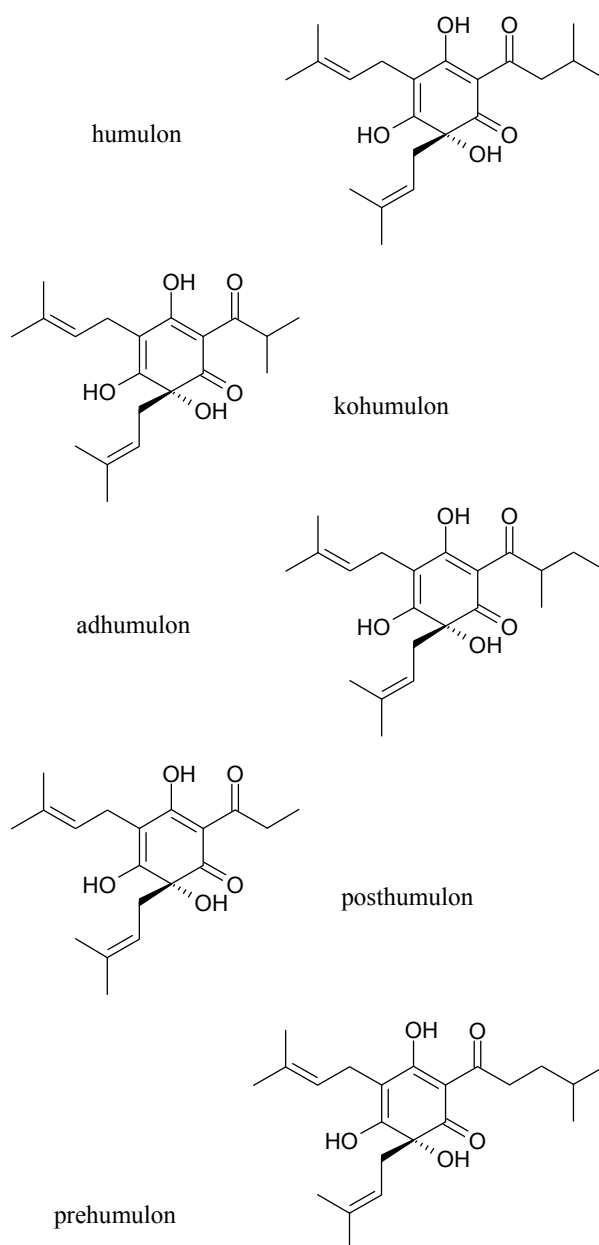
1. Úvod
2. Hořké kyseliny, jejich struktura a pivovarský význam
 - 2.1. α - a iso- α -hořké kyseliny
 - 2.2. Hydrogenované iso- α -hořké kyseliny
3. Legislativní rámec a technologické možnosti využití redukováných forem hořkých kyselin v pivovarství
 - 3.1. Současný stav legislativy
 - 3.2. Technologie použití redukováných hořkých kyselin
4. Metody stanovení iso- α -hořkých kyselin a jejich redukováných forem
5. Závěr

1. Úvod

Jedním z faktorů, ovlivňujících oblíbenost piva, je jeho specifická příjemná hořkost. Ta je způsobena zejména přítomností skupiny látek, tzv. iso- α -hořkých kyselin, které mají svůj původ ve chmelu¹ a během varného procesu přecházejí do mladiny a následně hotového piva. V posledních letech se při výrobě stále častěji používá průmyslově připravených výrobků, ať už v podobě různě upravených extraktů, které nahrazují chmel v „horké“ části pivovarské technologie, nebo i přípravků obsahujících chemicky modifikované (zejména hydrogenované) analogy iso- α -hořkých kyselin, které se využívají zejména k tzv. studenému chmelení v průběhu kvasného procesu, nebo i po něm. Motivem pro použití těchto přípravků jsou hlavně technologické a ekonomické důvody (skladování, dávkování, cena), ale i chemicko-fyzikální vlastnosti těchto látek, které mají za následek např. lepší stabilitu pивní pěny, vyšší senzoričnou hořkost a odolnost vůči světelné degradaci.

Vzhledem k tomu, že doposud používané metody

stanovení látek ze skupiny iso- α -kyselin neumožňovaly stanovení jednotlivých isomerů a hydrogenovaných iso- α -kyselin, a použití těchto látek není prozatím zahrnuto v odpovídající evropské legislativě, vyvstala nutnost vytvoření analytické metody schopné, pokud možno v jedné analýze, stanovit obsahy maximálního počtu látek odvozených od iso- α -hořkých kyselin.



Obr. 1. Strukturální vzorce α -hořkých kyselin

2. Hořké kyseliny, jejich struktura a pivovarský význam

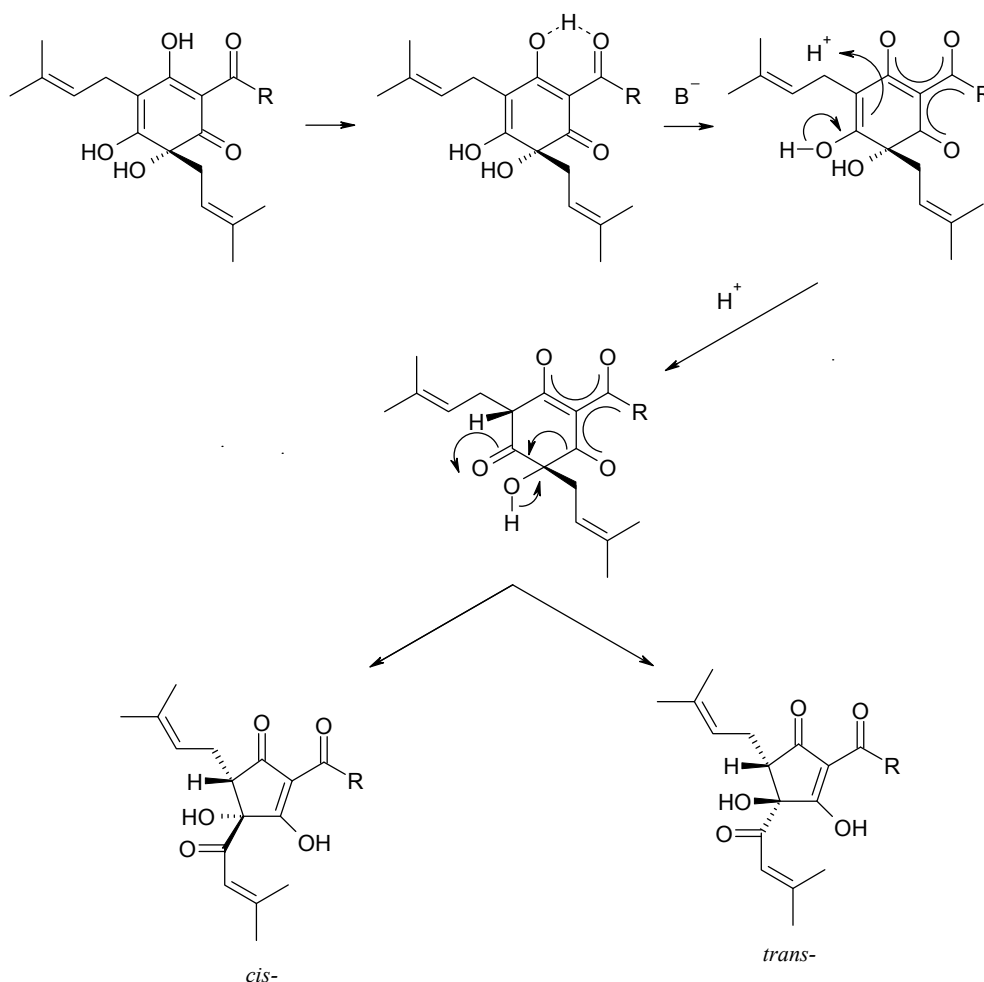
2.1. α - a iso- α -hořké kyseliny

α -Hořké kyseliny jsou základním prekurzorem iso- α -hořkých kyselin vznikajících během pivovarského procesu. Obsah α -hořkých kyselin ve chmelu otáčivém (*Humulus lupulus L.*) je značně závislý nejen na pěstebních podmínkách, ale zejména na odrůdě, takže se podle obsahu těchto látek jednotlivé odrůdy dělí i z hlediska jejich technologického využití². Obvykle se obsah α -hořkých kyselin pohybuje v rozmezí 3–10 hm.%. Struktury jednotlivých homologů se liší pouze postranním acylovým řetězcem a jsou uvedeny na obr. 1. Dominantními isomery ve chmelu jsou humulon, kohumulon a adhumulon, přičemž jejich poměry jsou u jednotlivých odrůd dosti odlišné³.

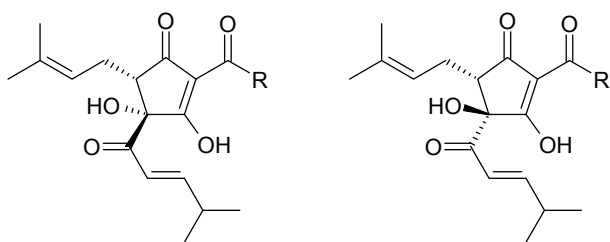
Během chmelovaru dochází k isomeraci α -hořkých kyselin na odpovídající iso- α -hořké kyseliny⁴ (obr. 2). Vý-

znam této reakce spočívá hlavně ve zvýšení rozpustnosti isomerovaných hořkých kyselin ve vodě (přibližně 120 mg l⁻¹ oproti 3 mg l⁻¹ u α -hořkých kyselin) a z toho vyplývající několikanásobně vyšší organoleptické hořkosti⁵. Intenzita a rychlost isomerace je příznivě ovlivněna vyšším pH, přítomností kovových (měďnatých a hořečnatých) iontů a v případě chmelení granulemi též velikostí fázového rozhraní⁶. Výsledkem reakce jsou dva geometrické isomery každé iso- α -hořké kyseliny, přičemž jejich poměr v pivu je prakticky neměnný a pohybuje se okolo 68:32 ve prospěch *cis*-isomerů. Je třeba také zdůraznit, že vzniklé iso- α -hořké kyseliny nejsou konečným produktem reakce a v průběhu chmelovaru se dále rozkládají na další produkty, které nebyly doposud přesně chemicky popsány⁷.

Iso- α -hořké kyseliny jsou zodpovědné za přibližně 70 % hořké chuti piva a ovlivňují zejména prvotní senzorický vjem⁸. Zbývající podíl hořké chuti piva je způsoben mimo jiné řadou vedlejších produktů isomerační reakce, označovaných jako allo-, anti- a abeo-iso- α -hořké kyseliny³. Allo-iso- α -hořké kyseliny (obr. 3) mají sensorickou

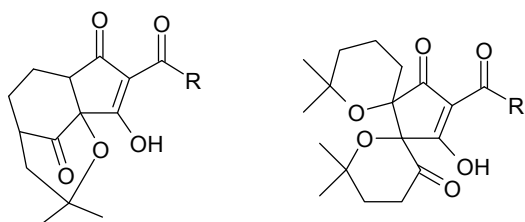


Obr. 2. Mechanismus isomerace humulonu³

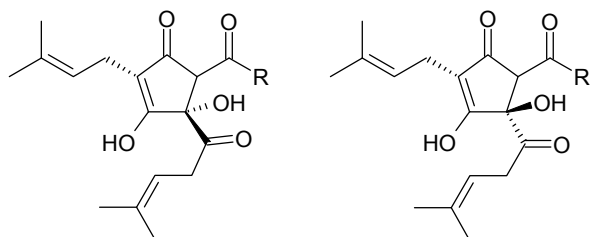


Obr. 3. Strukturální vzorce *cis*-allo-iso- α -hořké kyseliny a *trans*-allo-iso- α -hořké kyseliny

hořkost podobnou iso- α -hořkým kyselinám. Abeo-iso- α -hořké kyseliny (obr. 4) mají složité di- až tricyklické molekuly, nevykazují výraznou sensorickou hořkost, ale mají příznivý vliv na pěnivost piva a na přilnavost pивní pěny. Anti-iso- α -hořké kyseliny (obr. 5) se změněnou konfigurací řetězců na centrálním pětiuhlíkatém jádru vykazují až dvakrát vyšší hořkost než iso- α -hořké kyseliny. Jedná se o derivát iso- α -hořkých kyselin s nejvyšší sensorickou hořkostí.



Obr. 4. Příklady strukturálních vzorců abeo-iso- α -hořkých kyselin



Obr. 5. Strukturální vzorce *cis*-anti-iso- α -hořké kyseliny a *trans*-anti-iso- α -hořké kyseliny

2.2. Hydrogenované iso- α -hořké kyseliny

Struktura a průmyslová výroba^{3,9}

Látky ze skupiny redukováných iso- α -hořkých kyselin jsou odvozeny od iso- α -hořkých kyselin pocházejících z chmele a dělí se do skupin podle stupně redukce dvojných

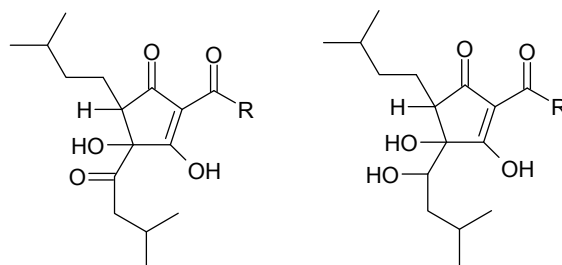
resp. karbonylových vazeb na postranních řetězcích na:

- dihydro-iso- α -hořké kyseliny (Rho),
- tetrahydro-iso- α -hořké kyseliny,
- hexahydro-iso- α -hořké kyseliny.

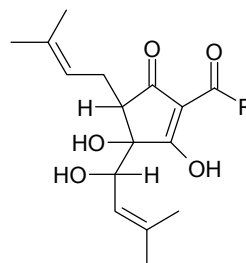
Struktury redukováných iso- α -hořkých kyselin jsou uvedeny na obr. 6 a 7. U rho-iso- α -hořkých kyselin je redukována primárně karbonylová skupina v postranním (4-methyl-3-pentenyl) řetězci za vzniku sekundárního alkoholu s novým chirálním centrem. Z každé iso- α -kyseliny tak vzniknou dva rho-isomery. Naproti tomu u tetrahydroiso- α -hořkých kyselin jsou redukovány v první řadě dvojné vazby na postranních řetězcích. Tento rozdíl se pak promítá i do odlišného způsobu výroby, jehož principem je použití sledu hydrogenačních a isomeračních reakcí, přičemž pořadí a způsob provedení se liší podle stupně hydrogenace hořké kyseliny⁹.

Rho-iso- α -hořké kyseliny se vyrábějí dvěma možnými cestami. První možností je redukce předem připravených iso- α -hořkých kyselin v podobě isomerizovaného chmelového extraktu, druhou cestou pak je souběžná isomerace a redukce α -hořkých kyselin, v obou případech je redukčním činidlem borohydrid sodný. Oba procesy probíhají při zvýšené teplotě v alkalickém prostředí, zbytky redukčního činidla jsou následně odstraněny okyselením HCl a vzniklé redukované iso- α -hořké kyseliny jsou následně převedeny na odpovídající soli hydroxidem draselným.

Tetra-iso- α -hořké kyseliny se vyrábějí celou řadou způsobů, lišících se počáteční surovinou, kterou mohou být jak α -, tak i β -hořké kyseliny. U výroby založené na



Obr. 6. Obecné vzorce tetrahydro- a hexahydro-iso- α -hořkých kyselin



Obr. 7. Obecný vzorec ρ -iso- α -kyseliny

použití α -hořkých kyselin jsou surovinou opět buď předem vyrobené iso-hořké kyseliny, méně často pak neisomerné hořké kyseliny. Na rozdíl od výroby rho-iso- α -hořkých kyselin jsou redukovány v kapalně fází plynným vodíkem na palladio-uhlíkovém katalyzátoru. Důvody pro využití β -hořkých kyselin k výrobě hydrogenovaných analogů jsou čistě ekonomické, protože β -hořké kyseliny jsou vedlejším produktem výroby iso- α -hořkých kyselin a neexistuje pro ně doposud jiné komerční využití. Celý postup, který je poměrně komplexní a výrazně složitější než výroba z α -hořkých kyselin, je zahájen hydrogenací na palladio-uhlíkovém katalyzátoru, následnou oxidací vzniklého produktu (tetrahydrodeoxy- α -hořkých kyselin) kyselinou peroctovou a nakonec isomerací vzniklých tetrahydro- α -hořkých kyselin.

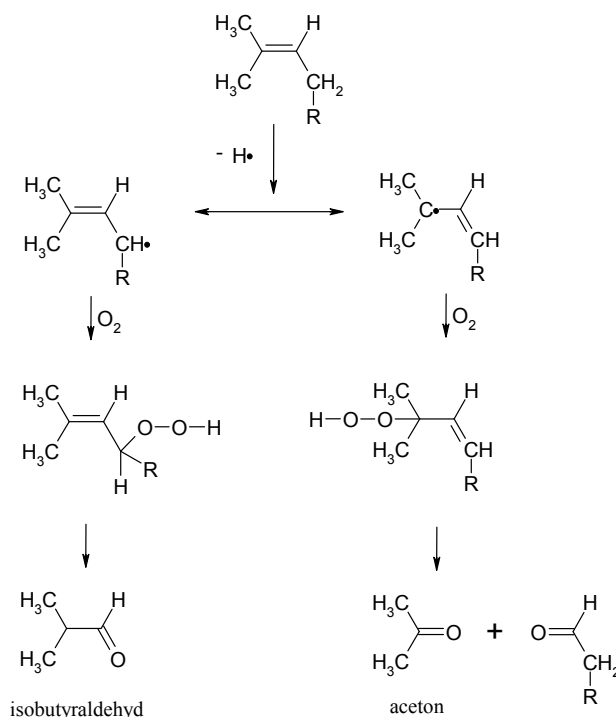
Surovinou pro výrobu hexahydroiso- α -hořkých kyselin jsou produkty předchozích redukčních postupů, přičemž je na každý z nich použit doplňkový hydrogenační krok, tj. rho-iso- α -hořké kyseliny jsou redukovány vodíkem na palladio-uhlíkovém katalyzátoru a tetrahydroiso- α -hořké kyseliny borohydridem sodným.

Výhody použití redukováných iso- α -hořkých kyselin

Z technologického hlediska přináší použití moderních chmelicích preparátů značné výhody. Proto také pivovary stále ve větší míře přistupují k náhradě granulovaného chmele chmelovými extrakty a zejména v poslední době i výrobky obsahujícími hydrogenované iso- α -hořké kyseliny¹⁰. Tyto výrobky se snadněji dávkuje, vzhledem k vysokým koncentracím vyžadují méně prostoru pro skladování, jsou zcela homogenní s přesně známým složením a oproti hlávkovému chmelu nebo chmelovým granulím mají výrazně vyšší chemickou stabilitu. Kromě toho poskytují redukované formy iso- α -hořkých kyselin řadu výhod souvisejících s jejich odlišnými fyzikálně chemickými vlastnostmi. Jedná se zejména o:

- vyšší hořkost (s výjimkou rho-kyselin),
- odolnost proti světelné degradaci,
- schopnost zlepšovat stabilitu pивní pěny.

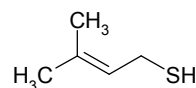
Rho-iso- α -kyseliny dodávají pивu slabší senzoričnou hořkost než ekvivalentní množství nemodifikovaných iso- α -kyselin (přibližně o 30 %), na druhou stranu je však tato hořkost při senzoričném hodnocení označována jako „jemnější“, což může znamenat lepší hodnocení pивa spotřebitelem. Naproti tomu tetrahydro-iso- α -hořké kyseliny sice poskytují hořkost výrazně intenzivnější (až o 70 % oproti nemodifikovaným iso-hořkým kyselinám), tato hořkost je však vnímána jako „drsnější“ a tudíž méně příjemná¹¹. Určitým kompromisem by mohlo být použití hexahydro-iso- α -hořkých kyselin, v dalším textu však budou zmíněny vlastnosti těchto látek, které omezují jejich použití pouze na adjustaci hořkosti. Vzhledem ke zmíněným skutečnostem je tedy vhodné, aby si každý výrobce našel svou vlastní cestu v používání těchto preparátů, tak aby co nejlépe vyhovovala specifickým senzoričným vlastnostem konkrétního výrobku.



Obr. 8. Autooxidace 3-methylbut-2-enylových postranních řetězců³

Je známo, že při skladování pивa dochází k rozkladu iso- α -kyselin vlivem autooxidace¹² a reakcí s reaktivními formami kyslíku¹³. Tyto reakce neprobíhají ve významné míře při nízkých teplotách, avšak nabývají na významu během expedice a skladování v prodejních řetězcích. Bylo zjištěno, že *trans*-iso- α -kyseliny podléhají rozkladu v daleko větší míře než *cis*-iso- α -kyseliny^{14,15}. To je pravděpodobně způsobeno bližší vzájemnou polohou dvojných vazeb v 3-methyl-2-butenylových a 4-methyl-3-pentenyllových postranních řetězcích¹⁶. Nenasycené postranní řetězce jsou napadány volnými radikály na uhlíku sousedícím s dvojnou vazbou a vzniklé hydroperoxy se štěpí na isobutyraldehyd a acetone (obr. 8).

Další možnou cestou vzniku senzoričnou nežádoucích produktů je reakce 3-methyl-2-butenylového radikálu s thiolovou skupinou siričných aminokyselin za vzniku 3-methylbut-2-en-1-thiolu (obr. 9), látky s velice nízkým prahem vnímání (2–20 ng l⁻¹)¹⁷, která je zdrojem charakteristické „letinkové“ příchuti¹⁸. Redukované iso- α -kyseliny (di-, tetra- i hexahydro-) v důsledku nepřítomnosti reaktivní α -hydroxyketoskupiny, resp. nasycení postranního řetězce



Obr. 9. 3-Methylbut-2-en-1-thiol

Tabulka I
Srovnání jednotlivých látek ovlivňující hořkost piva³

Produkt	Relativní hořkost	Zlepšení pěnivosti při ekvivalentní hořkosti	Fotostabilita
Iso- α -kyseliny	1,00	*	ne
ρ -Iso- α -kyseliny	0,65	*	ano
Tetrahydro-iso- α -kyseliny	1,7	***	ano
Hexahydro-iso- α -kyseliny	1,1	**** (nepřirozeně hustá)	ano

tězce, těmto degradačním reakcím nepodléhají¹⁹. Využívají se proto často při výrobě piv se zvýšenou odolností proti senzorickým vadám způsobeným těmito procesy (piva stáčená do čirých lahví).

Druhou významnou předností redukováných iso- α -kyselin je jejich schopnost zlepšovat tvorbu pивní pěny a prodlužovat dobu jejího rozpadu, zvláště za přítomnosti hydrofobních polypeptidů. Vzhledem k nepolárnímu charakteru jsou iso- α -kyseliny hydrofobní a společně s kationty dvojmocných kovů a bílkovinami tvoří základ stabilního povrchu membrán pěnových bublin. Další zvýšení hydrofobicity u redukováných iso- α -hořkých kyselin dále pozitivně ovlivňuje hustotu pивní pěny a její přilnavost ke stěně pивní sklenice, čímž brzdí její rozpad²⁰. Nevýhodou zejména hexahydro-iso- α -hořkých kyselin je skutečnost, že při nadměrném používání těchto látek vzniká pěna nepřirozeně hustá a stálá, která je spotřebitelem vnímána spíše negativně²¹. Tento fakt je dalším argumentem pro opatrné využívání těchto derivátů při výrobě piva.

Některé technologické vlastnosti redukováných iso- α -kyselin jsou shrnuty v tab. I.

3. Legislativní rámec a technologické možnosti využití redukováných forem hořkých kyselin v pivovarství

3.1. Současný stav legislativy

Legislativní rámec použití redukováných forem iso- α -hořkých kyselin pro výrobu piva se značně liší pro Evropskou unii a pro země, pro které je závazné rozhodnutí U.S. Food and Drug Administration (FDA).

Prozatím neexistuje žádná směrnice Evropské unie, která by upravovala použití chemicky modifikovaných chmelových výrobků, obsahujících hydrogenované formy iso- α -hořkých kyselin, takže se jejich použití řídí místní legislativou jednotlivých zemí, podle toho, zda jsou tyto výrobky považovány za aditiva, nebo za modifikované chmelové extrakty. Typickým historickým příkladem nulové tolerance k používání jiných než čistě přírodních surovin může být německý zákon o čistotě piva (Reinheitsgebot). Toto ustanovení pocházející ze 16. století, přestože bylo již v roce 1982 odmítnuto Evropskou komisí, stále přetrvává ve zvykové podobě i jako součást německých daňových zákonů a prakticky zapovídá použití

všech chemicky upravených chmelových výrobků pro pivovarské účely v Německu²². V současné době je připravována společná evropská směrnice²³, která podle svého aktuálního znění předpokládá zařazení výrobků obsahujících redukované iso- α -hořké kyseliny mezi potravinářská aditiva. V souvislosti s touto skutečností bude zřejmě nutno vyznačovat použití těchto výrobků na obalech a lze tedy očekávat snahu o vytvoření uzančných analytických metod pro stanovení redukováných iso- α -hořkých kyselin.

V České republice se problematika klasifikace těchto výrobků řešila pouze v rámci projektu přidělování značky kvality „Klasa“. Ministerstvo zemědělství v rámci posuzování žádostí poskytla administrátorovi projektu, Zemědělskému garančnímu a intervenčnímu fondu, jednoznačné vyjádření (respektující právní názor resortu). V něm konstatuje, že s ohledem na prohlášení výrobce a vzhledem k závěrům vyplývajícím z odborné literatury (výrobky, obsahující redukované iso- α -hořké kyseliny mohou být použity k produkci ke světlu stabilních piv a přidávány do piva v malých množstvích ke zlepšení vzhledu pěny i její stability)⁹, i s ohledem na skutečnost, že jde o chemicky významně pozmeněné produkty, které nelze chemicky identifikovat s hořkými látkami ve chmelu ani v mladině, je třeba považovat je za přídatné látky typu stabilizátorů pěny, které je nutno před aplikací nechat schválit a uvádět na etiketě jako aditivum.

Jednodušší je situace ve Spojených státech amerických, kde byly rozhodnutím FDA tyto výrobky zařazené mezi modifikované chmelové extrakty a jejich používání se řídí stejnými právními úpravami jako používání isoextraktů²⁴.

3.2. Technologie použití redukováných hořkých kyselin

Jak už bylo uvedeno, na rozdíl od přírodního nebo mechanicky a fyzikálně upraveného chmele nebo chmelového výrobku, jehož použití se prakticky bez výjimky omezuje na varní část pivovarské technologie²⁵, je možno chemicky modifikované preparáty aplikovat i v pozdějších fázích výroby²³. Rho-iso- α -hořké kyseliny, obvykle dodávané v podobě 35 hm.% roztoku draselných solí je možno přidávat buď během chmelovaru, nebo častěji po naředění (10 hm.%) přímo do hotového piva po ukončení kvašení²⁶. Další alternativou je použití směsi rho-iso- α -hořké kyselin, β -hořkých kyselin a chmelových silic (tzv. „light sta-

ble kettle extract“), jejímž použitím přímo na varně získá pivo intenzivnější chmelové aroma, které je v případech, kdy je pro chmelení piva použito výhradně chmelových extraktů, často potlačeno^{27,28}. Tetra- a hexahydro-iso- α -hořké kyseliny jsou dodávány v koncentracích okolo 10 hm.% a po ředění na 2 až 5 hm.% jsou dávkovány buď do prokvašeného piva, nebo je možné i dávkování až během stáčení²⁶. Nevýhodou dávkování těchto preparátů do hotového piva jsou ekonomické náklady spojené s nutností instalace speciálního dávkovacího zařízení při stáčení.

4. Metody stanovení iso- α -hořkých kyselin a jejich redukovaných forem

Klasickou metodou pro stanovení iso- α -hořkých kyselin v pivovarství je metoda podle EBC (European Brewery Convention), spočívající ve spektrofotometrickém stanovení v UV oblasti po předchozí extrakci do iso-oktanu²⁹. Přestože tato metoda plně postačuje pro orientační určení obsahu hořkých látek, přináší s sebou její použití řadu obtíží. V prvé řadě se jedná o skupinové stanovení všech hořkých látek, takže nejenže není možno stanovit obsahy jednotlivých isomerů, ale výsledek stanovení je ovlivněn přítomností dalších chemicky podobných látek. Navíc není tato metoda použitelná pro odlišení redukovaných analogů hořkých kyselin. Stejně tak pomocí dříve používaných chromatografických metod³⁰ nebylo možno oddělit *cis*- a *trans*-isomery. Tak vznikl požadavek na metodu, schopnou přesně detegovat a kvantifikovat iso- α -kyseliny a redukované iso- α -kyseliny v pivu, která by mohla poskytnout širší spektrum informací o obsahu látek použitých ke chmelení piva.

Základem pro tyto nové metody je obvykle HPLC, i když v literatuře jsou zmiňovány i metody založené na SDS-kapilární elektroforéze v kombinaci s diode-array (DAD) detekcí³¹. Většina současných prací však využívá vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii na kolonách s reverzní (nejčastěji C18) fází v kombinaci s UV (DAD) nebo MS¹ detekcí^{32–34}. Kvantifikace jednotlivých látek je značně zjednodušena dostupností komerčních standardů iso-, dihydro-, tetrahydro- i hexahydro-iso- α -kyselin³⁵.

Prvním, obvykle nezbytným krokem stanovení, je koncentrování stanovovaných látek. Klasická extrakce kapalina-kapalina je vzhledem ke zdlouhavosti procesu nahrazována šetrnější extrakcí na pevné fázi (SPE), kde zatím největší uplatnění našly sorbenty s různými reverzními fázemi obvykle vázanými na silikagel. Harms³³ ověřil použitelnost oktylových, oktadecylových, fenylových modifikovaných silikagelů a polystyrenových SPE sorbentů, přičemž zjistil, že ačkoli všechny fáze jsou pro stanovení daných analytů použitelné, nejvhodnější se jeví reverzní fáze oktylové, resp. oktadecylové. Výhodou postupů založených na SPE je kromě menší časové náročnosti i omezení chyb vyplývajících z oxidace a světelné a termické degradace analyzovaných látek v důsledku použití poměrně krátkého a k analytu citlivého postupu. Určitou nevýhodou

může být určitá nejednotnost v kvalitě jednotlivých šarží kolonek³⁶.

HPLC eluce je nejčastěji gradientová, přičemž vzhledem k počtu a chemické podobnosti stanovovaných látek byla odzkoušena celá řada mobilních fází na bázi směsi methanolu, acetonitrilu nebo ethanolu s nejrůznějšími pufrů, tak aby se pH mobilní fáze pohybovalo v neutrální nebo mírně alkalické (pH 6–9) oblasti^{33,35}. Konkrétně byla ověřena srovnatelnost získaných výsledků získaných za použití pufrů na bázi mravenčanu amonného, octanu amonného a fosforečnanu, citrátu a octanu sodného³⁷. K analýze je možno použít široké spektrum běžně komerčně dostupných kolon, jejichž reverzní fáze je tvořena oktadecylovým silikagelem. Nejnovější metodika stanovení a kvantifikace iso- α -kyselin se opírá o využití nových typů kolon s rigidní „monolitickou“ strukturou silikagelu umožňujících analýzy s vysokým průtokem mobilní fáze. Použití těchto kolon by umožnilo zvýšit celkovou rychlost analýzy nejen zkrácením doby zdržení vzorku na přístroji, ale také možností vynechat předchozí krok SPE³⁸.

K detekci se využívá nejčastěji UV detektorů, přičemž v poslední době se stále více prosazují detektory na bázi diodového pole, které umožňují měření profilu absorbancí v celé šíři UV spektra, který je pro látky více či méně charakteristický a v důsledku toho umožňují i kvalitativní charakteristiku neznámého vzorku. Spektra všech analogů iso- α -kyselin byla již změřena a i přes určité problémy způsobené opět značnou fyzikálně-chemickou podobností jednotlivých iso- α -kyselin, která má za následek zaměnitelnost jejich spekter, nám využití DAD detektoru umožňuje zbavit se chyb způsobených případnou koelucí jiných látek^{37–39}. Někteří autoři využili při analýze hmotnostního detektoru v negativním módu, po předchozí „electrospray“ ionizaci. Takto byly stanoveny nominální hmoty (*m/z*) i pro několik dalších isomerů hydrogenovaných iso- α -kyselin, jejichž analýza nebyla pomocí jiných metod možná³⁷.

Intenzivní snaha jednotlivých pracovišť vyústila ve vznik řady nových metodik, schopných v průběhu jedné analýzy spolehlivě stanovit obsahy redukovaných i neredukovaných iso- α -hořkých kyselin, včetně obsahů *cis*- a *trans*-isomerů⁴⁰, takže bude v budoucnu možné kontrolovat použití isomerovaných a redukovaných chmelových výrobků během procesu výroby piva a ověřit tak způsob chmelení a původ surovin deklarovaných výrobcem.

Závěr

V současné době je možno pro výrobu piva použít nejen přírodních, minimálně upravených chmelových výrobků, ale také velké množství preparátů, obsahujících široké spektrum sloučenin, které se v původní pivovarské surovině, chmelu, vůbec nevyskytují. Tyto chemicky modifikované látky poskytují při výrobě celou řadu technologických výhod, např. zlepšení pěnivosti, hořkosti a senzorycké stability. Na druhou stranu jejich použitím ztrácí pivo

svůj charakter „přírodního“ nápoje.

V souvislosti s těmito skutečnostmi probíhá v současnosti široká diskuse, týkající se zařazení těchto preparátů do legislativního rámce výroby nápojů tak, aby bylo jednoznačně stanoveno, zda se jedná o modifikované chmelové výrobky, nebo o potravinářská aditiva.

Pokud by tyto látky byly zařazeny do skupiny aditiv, přineslo by to automaticky požadavky na vyvinutí nových moderních analytických metod, schopných jednoznačně prokázat přítomnost látek nepocházejících z přírodních surovin. Tyto postupy, založené na HPLC by měly být schopny v jedné analýze souběžně stanovit iso-, dihydro-, tetrahydro- i hexahydro-iso- α -hořké kyseliny včetně jejich geometrické isomery a poskytnout tak komplexní informaci o obsazích nejdůležitějších látek, odpovědných za hořkou chuť i celou řadu dalších sensorických vlastností piva.

Tato práce vznikla za finanční podpory MŠMT ČR (1M0570 a MSM6046137305).

LITERATURA

- Opletal L., Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 895 (2007).
- Verzele M., De Keukeleire D.: *Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids*. Elsevier, Amsterdam 1991.
- Briggs D. E., Boulton C. A., Brookes P. A., Stevens R.: *Brewing Science and Practice*, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge 2004.
- De Keukeleire D., Verzele M.: *Tetrahedron* 27, 4939 (1971).
- Peacock V.: *Tech. Q. - Master Brew. Assoc. Am.* 35, 4 (1998).
- Kunze W.: *Technology Brewing and Malting*, VLB, Berlin 1999.
- Malowicki M. G., Shellhammer T. H.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 4434 (2005).
- Techakriengkrai I., Paterson A., Taidi B., Piggot J. R.: *J. Inst. Brew.* 110, 51 (2004).
- Roberts T. R., Wilson R. J. H.: *Handbook of Brewing*, (Priest F. G., Stewart G. G., ed.), 2. vyd. Taylor and Francis, London 2006.
- De Cooman L., Aerts G., De Rouck G., Syryn E., Van Opstaele F., Goiris K., De Ridder M., Joos P., De Keukeleire D.: *Proc. Congr. – Eur. Brew. Conv.* 24, 276, 2003.
- Todd P. H., Johnson P. A., Worden L. R.: *Tech. Q. - Master Brew. Assoc. Am.* 9, (1972).
- Kaneda H., Kano Y., Osawa T., Kawakishi S., Kameda K.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 47, 49 (1989).
- Wackerbauer K., Hardt R.: *Brauwelt Int.* 4, 320 (1997).
- De Cooman L., Aerts G., Witters, A., De Ridder, M., Boeykens A., Goiris K., De Keukeleire D.: *Cerevisia* 26, 155 (2001).
- Araki S., Takashio M., Shinotsuka K.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 60, 26 (2002).
- De Cooman L., Aerts G., Overmeire H., De Keukeleire D.: *J. Inst. Brew.* 106, 169 (2000).
- Irwin A. J., Bordeleau J., Barker R. L.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 51, 1 (1993).
- Sakuma S., Rikimaru Y., Kobayashi K., Kowaka M.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 49, 162 (1991).
- Huvaere K., Andersen, M. L., Skibsted L. H., Heyrick, A., De Keukeleire, D.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 1489 (2005).
- Čížková H., Dostálek P., Fiala J., Kolouchová I.: *Chem. Listy* 100, 478 (2006).
- Bamforth C. W., Kanauchi M.: *J. Sci. Food Agric.* 8, 1045 (2003).
- Donhauser S., v knize: *Modern Methods of Plant Analysis – Beer Analysis* (Linskens H. F., Jackson J. F., ed.), sv. VII, Springer-Verlag, Heidelberg 1988.
- Amended proposal for a: REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on food additives, COM(2007) 673 final, http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/com/2007/com2007_0673en01.pdf, staženo 9.10.2008.
- FDA: Code of Federal Regulations, 21CFR - Food and drugs, 172.560 (U.S. FDA 2008), <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fi=172.560>, staženo 18.9.2008.
- Cvengroschová M., Šmogrovičová D.: *Chem. Listy* 101, 287 (2007).
- http://www.barthhaasgroup.com/cmsdk/content/bhg/hop_products.htm, staženo 18.9.2008.
- <http://www.hopsteiner.com/pdf/products/LSKE04.pdf>, staženo 18.9.2008.
- Wilson R. J. H., Roberts T., Smith R. J., Biendl M.: *Tech. Q. - Master Brew. Assoc. Am.* 38, 11 (2001).
- European Brewery Convention – Analytica EBC*, kap. 7.8, Getränke Fachverlag, Nürnberg 1998.
- European Brewery Convention – Analytica EBC*, kap. 9.8, Getränke Fachverlag, Nürnberg 1998.
- Royle L., Ames J. M., Hill C. A., Gardner D. S. J.: *Food Chem.* 74, 225 (2001).
- Vanhoeacker G., De Keukeleire D., Sandra P.: *J. Chromatogr., A* 1035, 53 (2004).
- Harms D., Nitzsche F.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 59, 28 (2001).
- Hofta P., Dostálek P., Sýkora D.: *J. Inst. Brew.* 113, 48, (2007).
- Biendl M., Hartl A.: *Monatsschr. Brauwiss.* 48, 102 (1995).
- Jurková M., Kellner V., Čulík J.: *Kvasny Prum.* 49, 258 (2003).
- Ting P. L., Kay S., Ryder D.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 65, 9 (2007).
- Bolívar A., Gasparri M., Zufall C.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 64, 39 (2006).
- Khatib A., Kyong K. H., Wilson E. G., Verpoorte R.: *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 29, 293 (2006).
- Straková L., Hofta P., Dostálek P., Průcha P.: *Kvasny Prum.* 53, 70 (2007).

M. Karabín, T. Brányik, R. Kruliš, M. Dvořáková, and P. Dostálek (*Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **Application of Chemically Modified Bitter Compounds in Brewing**

Iso- α -acids or isohumulones are hop-derived beer constituents formed in the brewing process. Iso- α -acids are light-sensitive; they play a key role in the origin of the well-known light-struck off-flavour of beer. To prevent the

negative effect of light, beers are generally stored in light-proof cans or dark bottles. Alternatively, reduced iso- α -acids, resistant to light-induced degradation, can be added to beer. These substances also show a positive effect on foam stability. This paper describes the impact of iso- α -acids, reduced iso- α -acids, tetrahydro-iso- α -acids, and hexahydro-iso- α -acids on brewing; their food legislation frame is also mentioned. Chemical and physical methods of analysis of the substances are also reviewed.