

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Porovnání obsahu hořkých kyselin v chmelových peletách  
v závislosti na odrůdě chmele**

**Diplomová práce**

**Bc. Karolína Ertlová**

**Výživa a potraviny**

**Ing. Jan Tábořský, Ph.D.**

© 2019 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Porovnání obsahu hořkých kyselin v chmelových peletách v závislosti na odrůdě chmele" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11. 4. 2019

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Janu Táborskému, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce a vřelý a trpělivý přístup při jejím zpracování. Dále bych ráda poděkovala doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, CSc. za odborný dohled, spolupráci a vedení v oblasti kapalinové chromatografie a poskytnutí potřebných informací při analýze. Děkuji také celému týmu sládků pivovaru BEER FACTORY s.r.o. v Plzni za poskytnutí potřebných materiálů k analýze, podporu a cenné rady při vypracování diplomové práce.

# Porovnání obsahu hořkých kyselin v chmelových peletách v závislosti na odrůdě chmele

## Souhrn

$\alpha$  a  $\beta$  hořké kyseliny obsažené chmelu a chmelových produktech a jejich obsah významně ovlivňují kvalitu chmele zejména z pivovarnického hlediska. Při výrobě piva mají nezastupitelnou funkci zejména z důvodu nezaměnitelné hořké chuti, kterou nápoji dodávají. Na obsahu hořkých kyselin v chmelu a chmelových produktech se podílí několik faktorů. Významnými faktory, které mohou ovlivňovat kvalitu chmele a chmelových výrobků, jsou například způsob skladování, tedy teplota, relativní vlhkost, přístup světla a vzduchu. Ostatní faktory, které mají vliv na kvalitu chmele, jsou faktory, které nelze ovlivnit, jedná se například o odrůdu, původ, šarži nebo rok sklizně.

Pro účely diplomové práce bylo pracováno s faktory, které není možno ovlivnit manipulací po sklizni. Konkrétně byl zkoumán vliv rozdílné odrůdy a šarže na obsah již zmíněných hořkých kyselin v chmelových výrobcích. Roky sklizně byly u různých odrůd odlišné (2013-2017). Jako nejvhodnější pro analýzu byly vybrány chmelové výrobky ve formě válcových pelet typu T90.

Extrahováno a dále analyzováno bylo celkem 6 odrůd chmele. Z tohoto počtu byly celkem tři odrůdy původu českého a tři odrůdy původu zahraničního. Každá odrůda byla analyzována ve třech různých sériích měření vždy v rozmezí minimálně jednoho a více měsíců v závislosti na dostupnosti u dodavatele. Každá série vzorků odpovídala vždy jedné šarži chmelových pelet. Pro přesnější výsledky byla každá série extrahována a analyzována paralelně ve dvou opakováních, z obou výsledků byl vypočítán aritmetický průměr, který byl použit pro výpočet obsahu hořkých kyselin.

Pro účely analýzy byla jako nejvhodnější zvolena metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole. Výsledky byly vyhodnoceny programem EMPOWER a dále přepočítány dle příslušného vzorce na procentuální obsah.

Výsledky diplomové práce skutečně potvrzují, že obsahy  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin se u některých odrůd výrazně liší od hodnot deklarovaných v literatuře, a to v případě polské odrůdy Lublin a české odrůdy Žatecký poloraný červeňák.

**Klíčová slova:** chmel; chmelové pelety; odrůdy chmele; hořké kyseliny; HPLC

# Comparison of bitter acids contents in hop pellets from miscellaneous hop varieties

## Summary

$\alpha$  and  $\beta$  acids included in hop and hop products have a significant impact on hop quality especially from the brewing point of view. In the beer production, the bitter acids have an irreplaceable function due to their bitter taste supplied to the beverage. There are many factors contributing to the bitter acids content in hop and hop products. Storage method (temperature, humidity, light and air access) is one of the most important factors. There are also factors unaffected by people, that are also important, for example variety, origin, batch or year of harvest.

For the purpose of this diploma thesis factors unaffected by people were focused. Specifically the impact of variety and batch on the bitter acids content were observed. Years of harvest were different in the different varieties of the hop (2013-2017). The T90 type of hop pellets was chosen as the most appropriate type of hop product for the analysis.

Six different varieties of hop were chosen for the extraction and analysis. Three of them were of Czech origin and three of them were foreign origin varieties. Each variety was extracted and analysed in three different series in the minimum period of one month and more depending of the availability by the supplier. Each series always corresponded to one batch of the hop pellets. For more accurate results, every sample was extracted and analysed in two independent repetitions, then the arithmetic mean was calculated and used to calculate the bitter acid content. A total of 18 samples was extracted and analysed in two replicates.

For the purpose of the analysis, high-performance liquid chromatography with a diode-array detector and a Nova-Pak column C18 was chosen as the most appropriate. The results were evaluated by the EMPOWER program and then were recalculated according to the appropriate formula to the percentage content.

Results of the diploma thesis confirm that contents of  $\alpha$  and  $\beta$  bitter acids noticeably vary in different varieties compared to the literature, specifically in Polish variety Lublin and Czech variety Žatecký poloraný červeňák.

**Keywords:** hop; hop pellets; hop varieties; bitter acids; HPLC

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Hypotéza .....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Charakteristika chmele a jeho využití.....</b>	<b>3</b>
3.1.1	Historie používání chmele člověkem.....	4
3.1.2	Taxonomické zařazení a morfologie chmele .....	4
<b>3.2</b>	<b>Chmelařské oblasti v České republice .....</b>	<b>6</b>
3.2.1	Žatecká chmelařská oblast.....	6
3.2.2	Úštěcká chmelařská oblast.....	7
3.2.3	Tršická chmelařská oblast.....	8
<b>3.3</b>	<b>Základní odrůdy chmele.....</b>	<b>8</b>
3.3.1	Charakteristika vybraných tuzemských odrůd chmele .....	8
3.3.2	Charakteristika vybraných zahraničních odrůd chmele.....	10
<b>3.4</b>	<b>Chmelové produkty a jejich skladování.....</b>	<b>11</b>
3.4.1	Chmelové pelety a chmelový prášek .....	11
3.4.2	Chmelové extrakty .....	12
<b>3.5</b>	<b>Chemické složení chmelu.....</b>	<b>13</b>
3.5.1	Chmelové silice .....	14
3.5.2	Chmelové pryskyřice .....	15
3.5.2.1	Alfa hořké kyseliny .....	16
3.5.2.2	Beta hořké kyseliny .....	17
3.5.2.3	Xanthohumol .....	18
<b>4</b>	<b>Materiály a metodika.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1</b>	<b>Použité analyzované vzorky .....</b>	<b>20</b>
<b>4.2</b>	<b>Výběr odrůd.....</b>	<b>20</b>
<b>4.3</b>	<b>Skladování chmelových pelet .....</b>	<b>21</b>
<b>4.4</b>	<b>Odběr vzorků pro analýzu .....</b>	<b>22</b>
<b>4.5</b>	<b>Příprava kalibračního extraktu .....</b>	<b>22</b>
<b>4.6</b>	<b>Příprava chmelových extraktů.....</b>	<b>23</b>
<b>4.7</b>	<b>Analýza extraktů pomocí metody HPLC .....</b>	<b>23</b>
<b>4.8</b>	<b>Použité materiály.....</b>	<b>25</b>
4.8.1	Chemikálie .....	25
4.8.2	Laboratorní zařízení a pomůcky .....	25
<b>5</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>26</b>
<b>5.1</b>	<b>Naměřené výsledky .....</b>	<b>27</b>
5.1.1	Agnus.....	27

5.1.2	Harmonie .....	28
5.1.3	Chinook.....	29
5.1.4	Lublin.....	30
5.1.5	Magnum.....	31
5.1.6	Žatecký poloraný červeňák – Saaz .....	32
<b>5.2</b>	<b>Statistické vyhodnocení výsledků a porovnání s literaturou .....</b>	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>37</b>
6.1	Variabilita analyzovaných vzorků v rámci odrůdy .....	37
6.2	Porovnání naměřených vzorků s hodnotami deklarovanými v literatuře	38
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>41</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>42</b>

# 1 Úvod

Chmel otáčivý je v mnoha desítkách odrůd pěstován po celém světě. Jen v České republice má pěstování chmele velice dlouhou historii. Chmel se pravděpodobně dostal do České republiky z oblasti Černého moře, odkud se v 5. století rozšířil do celé Evropy. První písemné záznamy o chmelu na území Čech pocházejí již z 8. a 9. století. Největším rozvojem chmelařství prošlo pravděpodobně v období za vlády Karla IV., kdy se zároveň hojně rozvíjelo i vinařství (Krofta & Nesvadba 2004). Historie chmelu jakožto konzervační látky a látky dodávající hořkost sahá až do středověku, od 12. – 13. století začal být chmel používán v prvních německých pivovarech. Pro komerční účely jsou však využívány pouze samičí chmelové šišťice (Krofta & Mikyška 2014). Do ostatních kontinentů se chmel jakožto pivovarnická surovina začal dostávat o mnoho později, přibližně v 17. století. (De Keukeleire & Verzele 2013).

Organoleptické charakteristiky chmele jsou určovány především obsahem  $\alpha$  a  $\beta$  kyselin, konkrétně izo- $\alpha$ -kyselinami, které se vytváří při procesu výroby piva z  $\alpha$  kyselin, které se v chmelu přirozeně vyskytují (De Keukeleire 1992).  $\alpha$  a  $\beta$  kyseliny jsou obsaženy v lupulinových žlázách a jsou součástí chmelových, takzvaných měkkých, pryskyřic. Na obsah těchto látek v chmelu a chmelových produktech používaných ve výrobě má vliv mnoho faktorů. V prostředí pivovarů se pro stanovení kvality chmele a odhadování ztrát  $\alpha$  a  $\beta$  kyselin používá index skladování chmele (HSI – hop storage index). Tato hodnota je stanovována z ultrafialové absorbance měřené spektrofotometrickou analýzou chmele. Index HSI je používán při hodnocení odrůdových rozdílů při skladování, měření propustnosti a hladin antioxidantů v lupulinových žlázách (Likens & Nickerson 1979).

Jedním z důležitých faktorů působících na obsah hořkých kyselin v chmelu jsou tedy posklizňové úpravy a manipulace (De Keukeleire & Verzele 2013). Dalšími faktory působícími na kvalitu chmele a obsah důležitých látek jsou faktory fyzikálně-chemické, tedy teplota, přístup světla a přístup vzduchu.

Pro hodnocení kvality chmelových produktů v praxi se nejčastěji využívá metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie, dle které je možno stanovovat jak obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin, tak například xantohumolu nebo desmethylxanthohumolu.



## **2 Cíl práce**

Účelem diplomové práce bylo kvantitativní porovnání obsahů alfa a beta hořkých kyselin v chmelových produktech, konkrétně chmelových peletách. Jako hlavní parametry a faktory působící na obsah těchto látek byly zkoumány odrůda a šarže jednotlivých vzorků. Pro účely extrakce a analýzy bylo po pečlivém přezkoumání vybráno celkem 6 odrůd chmele, z toho byly 3 odrůdy původu tuzemského a 3 odrůdy původu zahraničního.

Dalším cílem práce bylo vyhodnocení kvality analyzovaných vzorků v závislosti na naměřených obsazích jednotlivých skupin hořkých kyselin.

### **2.1 Hypotéza**

Šarže a odrůda jsou signifikantními faktory při porovnávání obsahu alfa a beta hořkých kyselin v chmelu. Skutečné obsahy hořkých kyselin ve chmelových peletách se v některých případech významně liší od hodnot deklarovaných v literatuře.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Charakteristika chmele a jeho využití

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) je dvoudomá rostlina řadící se do čeledi konopovitých (*Cannabaceae*) a je pokládána za významnou a nepostradatelnou surovinu při výrobě piva. Při jejím zpracování se využívá především samičích šištic této rostliny, které mohou být dále upravovány pro další použití v pivovarnictví (Stevens 1967). Právě tyto části rostlin jsou využívány v pivovarnickém odvětví díky svému vysokému obsahu hořkých kyselin, které jsou v nejvyšší koncentraci obsaženy ve žlázových chlupcích, jež tyto šištice vytvářejí (Edwardson 1952). Obsah těchto kyselin společně s dalšími látkami tvoří charakteristickou hořkou chuť piva. Nižší, ale nikoliv zanedbatelný obsah hořkých kyselin byl však analyzován i v listech a samčích květenstvích této rostliny (De Keukeleire et al. 2003).

Obecně lze říci, že je hořké chmelové aroma zapříčiněno komplexem několika látek, které jsou obsaženy ve chmelu a jeho produktech v nízkých koncentracích a ze sensorického hlediska vzájemně působí synergicky. Jedná se především o výše zmiňované hořké kyseliny, dále pak těkavé látky obsažené v chmelových silicích a látky netěkavé, které jsou obsaženy v polyfenolové frakci chmele. Vzájemné působení těchto látek napomáhá k plnému pocitu v ústech při ochutnávání kvašeného nápoje (De Keukeleire 2000).

Dle vědeckých poznatků však nelze chmel nazývat pouze jednoúčelovou plodinou. Samičí šištice chmelu se využívají v tradiční medicíně především k léčbě poruch spánku. Sedativní účinky rostliny se však dále zkoumají, aby bylo možné rozpoznat aktivní složky chmelu zodpovědné za neurofarmakologické účinky a jejich mechanismus. Jiné tradiční aplikace chmele a jeho účinky jakožto žaludečního, antibakteriálního a antifungálního léku byly prokázány metodami *in vivo* a *in vitro*. V minulých letech bylo také zjištěno, že xanthohumol a jeho prekurzor desmethylxanthohumol vykazují v *in vitro* experimentu chemopreventivní aktivitu proti rakovině, zatímco 8-prenylnaringenin, který je v malém množství v chmelu také obsažen, byl charakterizován jako jeden z nejúčinnějších izolovaných fytoestrogenů vůbec (Zanoli & Zavatti 2008). V současnosti se při šlechtění nových odrůd chmele klade důraz především na získávání vyššího obsahu látek využitelných pro farmacii (Kutňák 2011).

### 3.1.1 Historie používání chmele člověkem

Chmel otáčivý je popínavá rostlina, jejíž původní přirozené prostředí pro růst jsou bažinaté nebo vlhké půdy především v dubových lesích. Odvodnění těchto půd, stejně jako kácení lesů však způsobilo značné snížení počtu těchto rostlin v jejich přirozeném prostředí. Proto lze nyní chmel nalézt i jako divoce rostoucí pnoucí rostliny a houštiny, jakožto pozůstatek původního volně rostoucího lesního chmelu. Volně rostoucí chmel můžeme nalézt téměř po celé Evropě, s výjimkou některých jihoevropských ostrovů (Wilson 1975).

Pěstování chmele pro lékařské účely má velmi dlouhou historii. Jakožto léčivá rostlina je chmel zmiňován římským historikem Pliniusem již v 1. století př. n. l., v 8. století se chmel začal pěstovat především v okolí klášterů, a to pro své prokazatelné uklidňující a antimikrobiální účinky a také jako přírodní sedativum. Ve středověku se již chmel začal používat i při výrobě piva, a to jako konzervační a hořčící agens. Od té doby se chmel stal základní surovinou při výrobě piva a až 95 % veškeré jeho produkce je určeno právě pro pivovarnické účely (Krofta & Mikyška 2014).

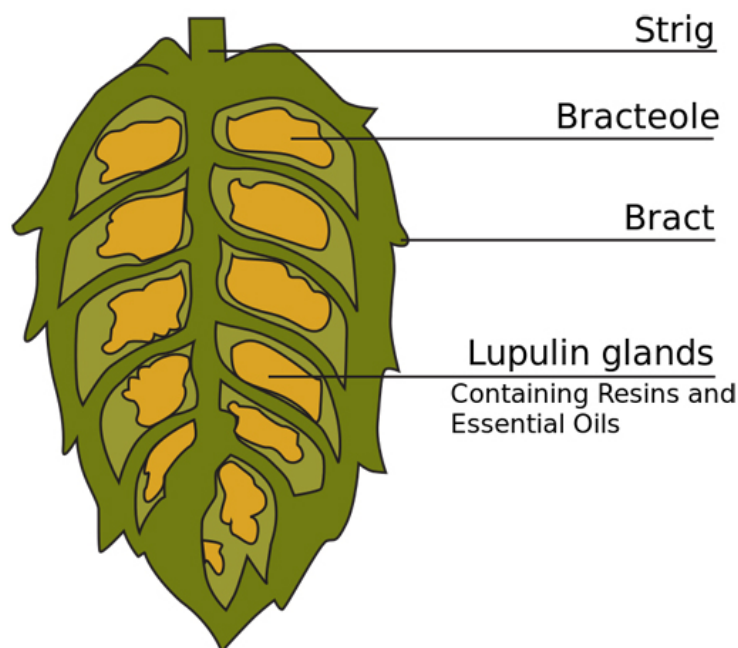
### 3.1.2 Taxonomické zařazení a morfologie chmele

Z taxonomického hlediska patří rod *Humulus* do čeledi *Cannabaceae* z řádu *Urticales*, stejně jako kupříkladu konopí seté. V roce 2003 byl však zahrnut do řádu *Rosales*. (Bremer et al. 2003). Rod *Humulus* se skládá ze tří druhů, jsou to *Humulus lupulus*, *Humulus japonicus* a *Humulus yunnanensis*. První ze jmenovaných, divoký chmel otáčivý, je široce rozšířen po celé severní polokouli, v Evropě, Asii i Severní Americe a je hojně využíván v pivovarnickém průmyslu. Zatímco chmel japonský nevykazuje žádnou pivovarnickou hodnotu a v současné době je pěstován pouze jako okrasná rostlina (De Keukeleire & Verzele 2013). V roce 1978 byly tyto jednotlivé rody klasifikovány do taxonomických odrůd, a to *lupulus* pro divoký evropský chmel, *cordifolius* pro japonský chmel, *neomexicanus*, *pubescens* a *lupuloides* pro severoamerický chmel. Jednotlivé druhy se liší ve svých morfologických charakteristikách, chmel severoamerický a japonský jsou si morfologicky podobné, zatímco chmel evropský se od těchto dvou morfologicky velmi liší (Murakami et al. 2006).

Obecně lze morfologicky rozdělit rostlinu chmele na část podzemní a část nadzemní. Část podzemní zajišťuje chmelu přežití během zimních měsíců a obsahuje pupeny, které jsou schopny přežít i několik let. Naopak část nadzemní, neboli réva, každý rok odumírá a na jaře je

schopna zpětné obnovy. Podzemní a nadzemní část rostliny spojuje soustava podzemních vytrvalých stonkových orgánů, takzvaná babka. Ta je složená ze starého, nového dřeva a čtyř generací pupenů. Obecně se tedy rostlina skládá ze soustav vytrvalých, tedy soustavy kořenové a babky, dále pak ze soustav jednoletých, mezi které řadíme soustavu vegetativních a generativních orgánů (Štrynclová 2010).

Z postranních větví, které se v letních měsících přeměňují na květenství, vznikají důležité chmelové hlávky. Ty jsou tvořeny stopkou, vřetenkem, čtyřmi pravými a dvěma postranními listy. Právě tyto listy tvoří na své spodní straně zrnka lupulinu, které obsahují velice cenné látky – chmelové pryskyřice a silice (Obrázek 1). Ostatní části šišťice jsou v pivovarnickém průmyslu prakticky nevyužitelné (Basařová 2010).



Obrázek 1: Chmelová šišťice (dostupné z <https://craftbeeracademy.com/hop-anatomy/> 14.8.2018).

## 3.2 Chmelařské oblasti v České republice

Česká republika je významným světovým producentem chmele. Téměř veškerá tuzemská produkce pochází celkem ze tří chmelařských oblastí, které dohromady zaujímají plochu necelých 5000 hektarů chmelnic (Obrázek 2). Největší ze zmiňovaných oblastí je chmelařská oblast žatecká, ve které se chmel pěstuje na 3815 hektarech. Následuje oblast tršická zaujímající plochu přibližně 600 hektarů. Oblast úštěcká se svými 530 hektary je nejmenší tuzemskou chmelařskou oblastí. (<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/trvale-kultury/skliznove-plochy-chmelnic-v-ceske.html>. 10.3.2019)



Obrázek 2: Chmelařské oblasti v ČR (Dostupné z: <http://www.chmelarskemuzeum.cz/cz/oblasti-pestovani-chmele-v-cr.htm>. 12.3.2019)

### 3.2.1 Žatecká chmelařská oblast

Žatecká chmelařská oblast se rozkládá v severní části země v okolí měst Žatec a Louny v nadmořské výšce od 200 do 350 metrů. Oblast tvoří souvislé celky na sever a jih od údolí řeky Ohře. Půdnímu reliéfu této oblasti dominují černozemní půdy, které se vyznačují vysokým obsahem kvalitního humusu. Agronomickou hodnotu těchto půd však může ovlivnit jejich složení. Pro pěstování chmele jsou nejvýznamnější půdy hlinité až jílovité. Další, pro chmelový porost vhodné půdy jsou půdy hnědozemní, které jsou agronomicky také velice významné a v této chmelařské oblasti se vyskytují ve velkých plochách. Dalším, pro Žatecko charakteristickým typem půdy, jsou rendziny. Rendziny jsou složeny převážně z karbonátosilikátových a bazických hornin a nejčastěji jsou zastoupeny v oblasti Lounska a Slánska.

Nejvýznamnější a nejvíce zastoupené jsou nivní půdy Ohře a Blšanky v severní části oblasti. Zbarvení těchto půd je hnědé až červené se střídáním hlinitopísčitých až jílovitých

zemín. Nivní půdy vykazují zásaditou reakci, jsou dobře zásobené živinami a mají střední obsah kvalitního humusu.

Jižní část oblasti se vyznačuje větším zastoupením lesních ploch a členitějším reliéfem než část severní. Nejrozšířenějším typem půd jsou zde půdy hnědé, v jejichž rámci se uplatňuje několik půdních forem. Největší význam pro pěstování chmele mají půdy v regionu Rakovnické plošiny. Půdy v tomto regionu mají nápadně načervenalou barvu, což je způsobeno vysokým zastoupením nesilikátových forem železa s převahou jeho krystalických složek.

Infiltrace vody, stejně jako propustnost půdního profilu, má v Žatecké chmelové oblasti střední až vysoké hodnoty díky poměrně nízké zrnitosti půd v této oblasti (Krofta et al. 2010).

### **3.2.2 Úštěcká chmelařská oblast**

Úštěcká chmelařská oblast je nejmenší chmelařskou oblastí u nás, její rozloha je asi 350 hektarů. Úštěcká oblast se, stejně jako oblast žatecká, rozkládá v severní části země, konkrétně kolem měst Litoměřice a Ústí nad Labem.

Typickým typem půdy v úštěcké chmelařské oblasti jsou černozemě. V závislosti na konkrétním místě se pak jedná o černozemě těžké vápnité nebo naopak lehké černozemě na písčích. Černozemě úštěcké oblasti se vyznačují vysokým obsahem kvalitního humusu s převahou huminových kyselin, vysokou sorpční kapacitou a velmi dobrým poutáním živin. Středně těžké černozemě navíc vykazují dobrý strukturní stav, porovitost, provzdušněnost, výbornou vododržnost spojenou s dostatečným uvolňováním vláhy pro potřeby plodiny. Středně těžké černozemě jsou nejčastějším typem půdy pro pěstování chmele.

Dále můžeme ve velkém zastoupení v této oblasti půdy šedozemní. Šedozemě se vyznačují obecně nižší agronomickou a fyzikální kvalitou vzhledem k sesunu jílovitých částic z povrchu do nižších vrstev. Pod povrchem tak vzniká ochuzený horizont a obohacený horizont se objevuje až v hlubších vrstvách půdy.

Stejně jako u žatecké oblasti, i zde se vyskytují velmi kvalitní hnědozemní půdy, a to konkrétně v severovýchodní části oblasti po pravé straně Labe. Tyto hnědozemně patří mezi naše nejlepší půdy, mají přiměřený obsah jílu a humusu.

Další kvalitní půdy jsou půdy nivní a lužní objevující se podél toku řeky Ohře. Půdy mají vysoký obsah humusu (až 3 %). V úštěcké oblasti jsou tyto typy půd po černozemních nejvýznamnější. Půdy nivní a lužní jsou převážně půdy lehké (Krofta et al. 2010).

### 3.2.3 Tršická chmelařská oblast

Tršická oblast je nejmladší chmelařskou oblastí u nás. Převážná většina oblasti se rozkládá v nadmořské výšce přibližně 260–300 metrů nad mořem a zaujímá plochu asi 600 hektarů, rozlohou se tedy jedná o druhou největší chmelařskou oblastí. Klima oblasti je mírně teplé, tedy ideální pro intenzivní zemědělské obdělávání.

Půdy tršické oblasti jsou především půdy hnědozemní, částečně černozemní. Optimální vododržnost místních půd v kombinaci s vyššími ročními úhrny srážek umožňují vznik poměrně vysoké rezervy zimní vláhy. Tršická chmelařská oblast se rozkládá v okolí města Olomouc a v severní části je lemována pohorím Jeseníky (Krofta et al. 2010).

## 3.3 Základní odrůdy chmele

Počet odrůd registrovaných v pivovarnictví se stále zvyšuje. Není proto možné počet odrůd přesně kvantifikovat. Sortiment kultivovaného chmele odpovídá změnám v pivovarnické technologii a ekonomice výrobního procesu. Kultivovaný chmel je rozdělen celkem do 4 skupin v závislosti na obsahu jednotlivých látek a jeho použití při výrobě jednotlivých druhů pív. Pro toto rozdělení bylo společností Vent a Vent vypracováno klasifikační schéma, dle kterého dělíme chmel na chmel s jemnou vůní, chmel s aromatem, hořké chmely (dvojitá hořkost) a chmely s vysokým podílem  $\alpha$  kyselin (vysokoobsažné). Odrůdy s různým využitím v pivovarnickém průmyslu jsou obvykle pěstovány v zemích s rozvinutým chmelovým průmyslem. Mezi tyto země patří například i Česká republika (Krofta 2003).

### 3.3.1 Charakteristika vybraných tuzemských odrůd chmele

Mezi nejznámější odrůdy pěstované na území České republiky patří odrůda Žatecký poloraný červeňák a dále hybridní odrůdy Bor, Sládek, Premiant, Agnus a Harmonie. Zatímco odrůda Žatecký poloraný červeňák byla na našem území pěstována jako původní, a to v první polovině 90. let., hybridní odrůdy Bor, Sládek, Premiant, Agnus a Harmonie zde začaly být pěstovány ve velkém množství až ve druhé polovině 90. let (Krofta 2003).

Odrůda Žatecký poloraný červeňák neboli Saaz byl získán klonovou selekcí v původních porostech v žatecké a ústecké oblasti. Je pěstován celkem v 9 klonech, a to Osvaldův klon 31, Osvaldův klon 72, Osvaldův klon 114, Siřem, Blato, Lučan, Zlatan, Podlešák a Blšanka.

Odrůda Žatecký poloraný červeňák se označuje jako standard kvality chmele. Má jemné chmelové aroma, které je v pivovarnickém průmyslu využíváno především ve formě sušených hlávek či chmelových pelet pro druhé a třetí chmelení, je vhodný také při chmelení za studena.

Celkový obsah pryskyřic u Žateckého poloraného červeňáku se pohybuje mezi 13 a 20% hmotnosti. Dále přibližně 2,5-4,5 % zaujímají  $\alpha$  kyseliny a 4,0-6,0 % hořké  $\beta$  kyseliny. V tomto množství  $\alpha$  kyselin je obsaženo přibližně 23-26 % kohumulonu a v celkovém množství  $\beta$  kyselin přibližně 39-43 % kolupulonu. Obsah xanthohumolu se pohybuje mezi 0,30-0,50 % a obsah desmethylxanthohumolu (DMX) mezi 0,05-0,12 % (Krofta & Nesvadba 2004).

Odrůda Sládek je hybridní odrůda, která vznikla šlechtěním odrůd Northern Brewer a Žatecký poloraný červeňák. Pod obchodním názvem Sládek byla registrována v roce 1994. Svě jméno získala pro svůj znamenitý vliv na vyváženou hořkost a chmelové aroma v pivu.

V pivovarnictví je využívána ve formě granulí především při druhém chmelení pro své jemné chmelové aroma.

Obsah pryskyřic u odrůdy Sládek se pohybuje mezi 17,0-24,0 % celkové hmotnosti. Z toho přibližně 4,5-7,0 % zaujímají  $\alpha$  hořké kyseliny a dalších 4,0-7,0 % kyseliny  $\beta$ . Kohumulonu, který je obsažený v  $\alpha$  hořkých kyselinách, je zde mezi 23,0-30,0 %, kolupulonu v  $\beta$  hořkých kyselinách pak přibližně 44-50 %. Obsah xanthohumolu je u odrůdy Sládek asi dvojnásobně vyšší než u odrůdy Žatecký poloraný červeňák, přibližně 0,50-0,75 %. Stejně tak obsah desmethylxanthohumolu je zde dvojnásobný, mezi 0,10-0,20 % (Nesvadba 2013).

Další významnou českou odrůdou chmele je hybridní odrůda Harmonie. Harmonie je několikanásobný kříženec odrůd Saaz, Premiant a Northern Brewer. Téměř 60 % jeho původu je však tvořeno právě Žateckým poloraným červeňákem. Jeho název byl odvozen od harmonického složení chmelových pryskyřic. Tato odrůda je poměrně mladá, registrována jako kultivovaný chmel byla v roce 2004.

Odrůda Harmonie má velice výrazné kořenité chmelové aroma. V pivovarech je většinou používán ve formě pelet pro druhé chmelení.

Obsah chmelových pryskyřic je však podobný spíše odrůdě Sládek, pohybuje se mezi 22,0-26,0 %, tedy podstatně výše než u odrůdy Saaz.  $\alpha$  a  $\beta$  hořké kyseliny jsou zde také zastoupeny v podobném množství, konkrétní obsah u obou látek je přibližně 5,0-8,0 %. Co se chmelových polyfenolů týče, obsah xanthohumolu u Harmonie je asi 0,4-0,7 %, obsah desmethylxanthohumolu přibližně 0,10-0,15 % (Krofta 2013).

Odrůda Agnus je hybridní odrůda vyšlechtěná z odrůd Sládek, Bor, Žatecký poloraný červeňák, Northern Brewer, Fuggle a dalších šlechtitelských materiálů. Tato odrůda byla vyšlechtěna na počest českého šlechtitele chmele Beránka a podle něj byla také pojmenována,



Agnus je volným překladem slova beránek z latiny. Odrůda Agnus byla prvně registrována jako kultivovaná odrůda chmele v roce 2001.

Jedná se o odrůdu chmele s velmi vysokou a výraznou hořkostí. Jeho aroma má silnou kořenitou intenzitu. Díky své výrazné hořkosti je používán pro první a druhé chmelení (dual purpose). Zpravidla je dodáván ve formě pelet či extraktů.

Odrůda Agnus má velmi vysoký obsah pryskyřic, přibližně 26,0-32,0 %, což mu dodává značnou intenzitu, co se aroma a hořkosti týče. Obsah  $\alpha$  hořkých kyselin se pohybuje okolo 9-12 % hmotnosti.  $\beta$  hořké kyseliny jsou zde zastoupeny v obsahu mezi 4,0-6,5 %. Obsah xanthohumolu a desmethylxanthohumolu je zde také podstatně vyšší než u předchozích odrůd, asi 0,7-1,1 % a 0,10-0,20 % (Krofta 2003).

### 3.3.2 Charakteristika vybraných zahraničních odrůd chmele

Chinook je hybridní odrůda chmele pocházející z USA, konkrétně ze státu Idaho a Washington, vyšlechtěná z chmelů Petham Golding, Brewer's gold a Utah wild hop v poměru 0,5:0,25:0,25. Hodnocení tohoto chmelu pro výrobu piva je příznivé. Odrůda Chinook je často pěstována pro svou odolnost vůči některým mikroorganismům napadajícím chmelové hlávky, jako je například Vřetenatka chmelová (*Pseudoperonospora humuli*) a další parazité.

Aroma odrůdy Chinook je charakterizováno jako pikantní bylinné s jemným náznakem květinové a ovocné vůně.

Obsah  $\alpha$  hořkých kyselin v tomto chmelu je přibližně 12 %, obsah  $\beta$  hořkých kyselin asi 3,5 %. Obsah xanthohumolu se pohybuje okolo 0,47 % hmotnosti (Kenny & Zimmerman 1986).

Odrůda Magnum je německá odrůda pocházející z bavorské oblasti, konkrétně z města Hallertau. Jedná se málo až středně výraznou odrůdu, co se aroma týče. Jeho hořkost, je velmi silná, ale čistá. Při výrobě piva se pro své zemité aroma a výraznou hořkost používá zejména pro první a druhé chmelení, kvůli dodání základní hořkosti pivu. Byl vyšlechtěn roku 1980 a je registrován od roku 1993. (Mudura 2009).

Magnum je vysokoobsažná odrůda chmele s vysokou hořkostí, jeho obsah  $\alpha$  hořkých kyselin se pohybuje mezi 11-14 %. I obsah  $\beta$  kyselin je poměrně vysoký, přibližně 5-7 % (<https://www.brelex.cz/magnum/>).

Odrůda Lublin pochází z odrůdy Žatecký poloraný červeňák a stejně jako Saaz se vyznačuje jemným a bylinným chmelovým aroma. Chmel odrůdy Lublin pochází z Polska a je

pěstován v oblasti Lublin, Poznaň a Opole. Jedná se o aromatickou odrůdu a pro své jemné aroma je využíván pro druhé a třetí chmelení, popřípadě chmelení za studena. Řadí se spíše mezi aromatické odrůdy chmele.

Obsah  $\alpha$  i beta kyselin tohoto chmele je poměrně nízký, stejně jako u Žateckého červeňáku.  $\alpha$  kyseliny jsou zde obsaženy v množství asi 3,0-4,5 % hmotnosti. Obsah  $\beta$  kyselin se pohybuje okolo 3,0-4,0 % hmotnosti (Kutňák 2011).

### **3.4 Chmelové produkty a jejich skladování**

Výrobky z chmele mají významnou a trvalou pozici na trhu s pivovarnickými surovinami. Chmelové pelety a extrakt z chmele jsou nejčastěji používanými chmelovými výrobky v pivovarnickém průmyslu a nabízejí tradičním pivovarům značné výhody. Konečným produktem chmele je však izomerovaný chmelový extrakt, který lze nyní vyrábět bez účasti organických rozpouštědel (Clarke 1986).

#### **3.4.1 Chmelové pelety a chmelový prášek**

Tento typ chmelového produktu je vyroben ze sušených chmelových hlávek. Ty jsou následně mlety nebo lisovány na jemný chmelový prášek. Tento chmelový prášek může být použit v pivovarnickém průmyslu, častěji je však dále lisován a tvarován do malých válečků neboli pelet (granulí).

Použití chmelového prášku a pelet v pivovarnickém průmyslu se v posledních letech pravděpodobně zvýšilo poměrně více než u jakéhokoli jiného druhu chmelového produktu, právě díky mnoha výhodám, které použití tohoto typu produktů nabízí. Při zpracování chmelových hlávek jsou tyto přeměněny na homogennější a snadněji zpracovatelnější produkt. Tyto vlastnosti jsou při použití v pivovaru velice důležité při dávkování do jednotlivých chmelení. Při zpracování chmelových hlávek na jemný prášek může docházet k narušení lupulinových žláz, což způsobuje, že pryskyřice a silice zde obsažené mohou rychleji dispergovat. Disperze, extrakce a izomerace alfa hořkých kyselin by tak mohla probíhat rychleji než u čerstvého nebo sušeného chmele v původní formě. Dalším negativním vlivem zpracování chmelových šištic může být větší náchylnost pryskyřic k oxidačním změnám kvůli výraznějšímu přístupu vzduchu k chmelovým pryskyřicím. Je proto nutné zabezpečit chmelové pelety nebo prášek před těmito nežádoucími změnami správným balením a skladováním. Před

použitím chmele by měly chmelové výrobky být uchovávány v původním balení v inertní atmosféře.

Nejčastější postup balení chmelových pelet a chmelového prášku zahrnuje použití bariérového flexibilního obalu z plastového laminátu nebo kombinace plastové a hliníkové folie kombinované s vakuovým balením bez nebo za použití oxidu uhličitého nebo dusíku jakožto inertního plynu (Clarke 1986).

V pivovarnictví je nejčastěji využíván typ chmelových pelet s názvem T90. Tyto pelety jsou nejčastěji baleny po 10 nebo 5kg hliníkových baleních a jsou skladovány při teplotách v rozmezí 4-8 °C (dostupné z [www.brex.com](http://www.brex.com)).

### 3.4.2 Chmelové extrakty

Chmelové extrakty začaly být ve velkém používány v pivovarnickém průmyslu na začátku 21. století. Koncept výroby chmelových extraktů byl opět postaven na zachování žádoucích látek ve chmelových hlávkách, tedy pryskyřic a silic. Přestože v tradičním způsobu chmelení je extrakčním médiem voda, nebo přesněji vodný roztok cukru, bylo zjištěno, že méně polární rozpouštědla jsou pro jeho extrakci vhodnější. Rozpouštědla, která byla pro tuto extrakci poté využívána, byly nízkomolekulární alkoholy, ketony, chlorované uhlovodíky, hexan nebo směsi těchto látek. Jak bylo zřejmé, s rostoucí znalostí o citlivosti chemických sloučenin, které by mohly vyvolat chemické změny během extrakčních procesů, byla zvolena rozpouštědla nejen pro jejich rozpouštěcí vlastnosti, ale také s ohledem na snadnost, s jakou by tato rozpouštědla mohla být odstraněna při nízkých teplotách s minimální ztrátou nebo změnou některé z důležitých složek extrahované frakce (Kutňák 2011).

Po znovuobjevení kapalného oxidu uhličitého se začalo upouštět od jiných, potenciálně nebezpečných organických rozpouštědel. Oxid uhličitý je dodnes považován za nejvhodnější rozpouštědlo, které má zároveň vynikající výsledky v problematice rozpustnosti chmelových výtažků. Při jejich výrobě je používán buď v kapalném, nebo superkritickém stavu společně s ethanolem, přičemž obě látky jsou produkty běžné pivovarské fermentace. Teplota extrakce při použití kapalného oxidu uhličitého je asi 10 °C, při použití nebo kombinaci superkritického oxidu uhličitého a ethanolu se extrakční teplota pohybuje okolo 22-55 °C.

Pro správné stanovení hořkosti, stejně jako stanovení správného postupu chmelení, je nutno mít hořkost odvozenou od konzistentního profilu složek chmele. V čerstvém chmelu jsou hlavními přispěvateli hořkosti  $\alpha$  hořké kyseliny. Každý chmelový extrakt by měl proto obsahovat maximální koncentraci těchto látek a nízký obsah ostatních složek chmelové

pryskyřice. Tyto složky jsou přítomné v měnicích se koncentracích vzhledem k alfa kyselinám v závislosti na stáří a ošetření chmele před nebo během extrakce. Prozatím nebylo objeveno rozpouštědlo, které by extrahovalo alfa hořké kyseliny z chmelu lépe, než je kapalný oxid uhličitý. Právě z tohoto důvodu, je toto rozpouštědlo při výrobě chmelových extraktů nejpoužívanější.

Dalšími typy chmelových extraktů jsou speciální chmelové extrakty, které jsou vyráběny s přidávkem anorganického materiálu nebo chmelového oleje. Dále je v praxi využíván také izomerizovaný chmelový extrakt, při jehož přípravě je využíváno možné izomerace alfa hořkých kyselin mimo varný proces (Clarke 1986).

### **3.5 Chemické složení chmelu**

Komerční odrůdy chmele mají v čerstvém produktu přibližné následující procentuální složení jednotlivých chemických komponentů (Hough et al. 1982):

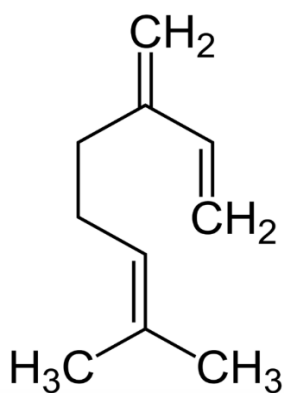
1. Voda – 10,0 %
2. Chmelové pryskyřice – 15,0 %
3. Chmelové silice – 0,5 %
4. Taniny – 4,0 %
5. Monosacharidy – 2,0 %
6. Pektin – 2,0 %
7. Aminokyseliny – 0,1 %
8. Bílkoviny – 15,0 %
9. Tuky a vosky – 3,0 %
10. Popel – 8,0 %
11. Celulóza, lignin atp. – 40,4 %

Z těchto látek jsou v následujících podkapitolách stručně charakterizovány 2 pivovarnicky nejdůležitější skupiny, tedy chmelové silice a pryskyřice.

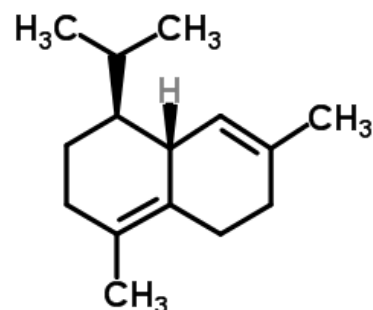
### 3.5.1 Chmelové silice

Éterické chmelové oleje neboli silice jsou důležitým komponentem chmele z pivovarnického hlediska. Dodávají pivu jeho charakteristické aroma. Kompozice těchto olejů je velice složitá, jedná se o komplex přibližně 1000 chemických sloučenin ze široké škály chemických tříd. Čerstvý éterický olej svým složením dominuje terpenovými uhlovodíky, a to především myrceny,  $\alpha$ -humulény a  $\beta$ -karyofylény. Obsah terpenových uhlovodíků v chmelové silici se pohybuje mezi 40-80 % v závislosti na konkrétní odrůdě (Zeković et al. 2007). Kompozice se mění v závislosti na vnitřních a vnějších faktorech během růstu, podmínkách zpracování a extrakční metodě použité k izolaci silice. Navíc oxidační a hydrolyzní reakce, ke kterým dochází během skladování, mění složení a chemickou strukturu těchto látek (Eyres & Dufour 2009).

Obsah silic v sušeném chmelu se pohybuje mezi 0,3-2,1 % hmotnosti, přičemž důležitým faktorem může být mimo jiné i rozsah opylení rostliny nebo doba sklizně chmelových hlávek. Chemické složení těchto silic je konvenčně charakterizováno jako směs uhlovodíkových a oxygenovaných složek a složek obsahujících síru. Uhlovodíky obsažené v chmelových silicích jsou dále děleny na 3 skupiny, a to alifatické uhlovodíky, monoterpeny a seskviterpeny. Nejvíce zde zastoupeným a významným monoterpenem je acyklický monoterpen myrcen (Obrázek 3). Seskviterpeny obsažené v chmelových silicích mohou být klasifikovány do 4 skupin na acyklické, monocyklické, bicyklické a tricyklické seskviterpeny. Z acyklických seskviterpenů je v chmelu zastoupen pouze seskviterpen farnesen. Dalšími terpenovými uhlovodíky obsaženými v chmelových silicích jsou například kadinen (Obrázek 4), tedy, především  $\alpha$ -kadinen a  $\delta$ -kadinen (Eyres & Dufour 2009).



Obrázek 3: Strukturální vzorec  $\beta$ -myrcenu. Dostupné z: <https://terpenesandtesting.com/%CE%B2-myrcene-profile-c10h16/> (7.3.2019)

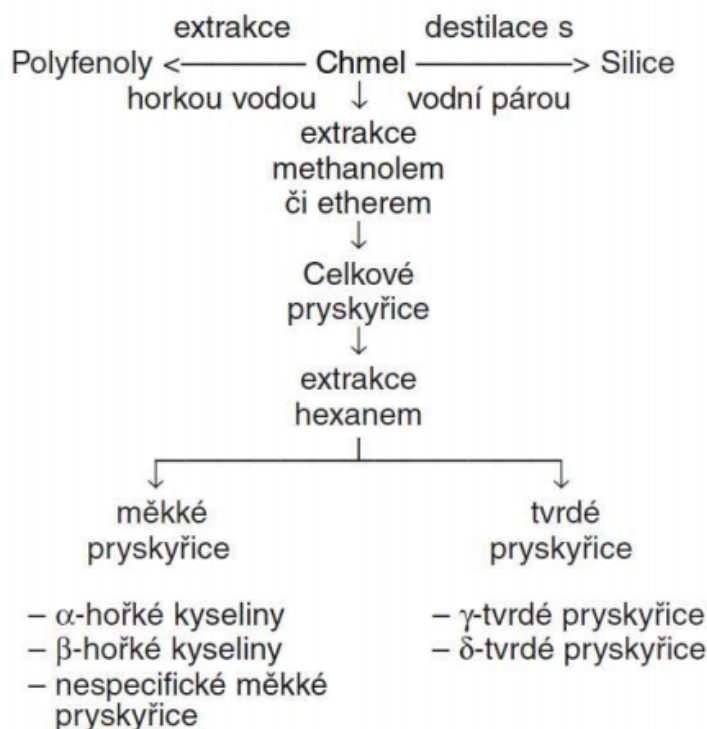


Obrázek 4: Strukturální vzorec  $\delta$ -kadinenu. Dostupné z: [https://www.chemsrc.com/en/cas/483-76-1\\_441933.html](https://www.chemsrc.com/en/cas/483-76-1_441933.html) (7.3.2019)

### 3.5.2 Chmelové pryskyřice

Chmelové pryskyřice jsou považovány za nejdůležitější chemický komponent chmelu a chmelových produktů. Jsou to látky odpovědné za hořkou chuť piva a jsou přítomny téměř výhradně v lupulinových žlázách chmelových šištic samičích rostlin chmelu. Jejich obsah v sušených chmelových hlávkách se pohybuje okolo 15 % hmotnosti (Palamand & Aldenhoff 1973).

Tyto pryskyřice jsou nejčastěji extrahovány a izolovány pomocí ethyléteru, ve kterém jsou dobře rozpustné. Dle rozpustnosti v n-hexanu dále dělíme chmelové pryskyřice na tzv. měkké a tvrdé. Mezi pryskyřice tvrdé řadíme  $\gamma$  a  $\delta$  tvrdé pryskyřice, mezi pryskyřice měkké patří významné  $\alpha$  a  $\beta$  hořké kyseliny a další nespecifické měkké pryskyřice (Obrázek 5). Mezi významné tvrdé pryskyřice se často řadí například i xanthohumol, i když jeho pozice v této chemické skupině je nejasná (Howard & Tatchell 1956). Pro přehlednost diplomové práce byl přesto zařazen mezi chmelové pryskyřice.



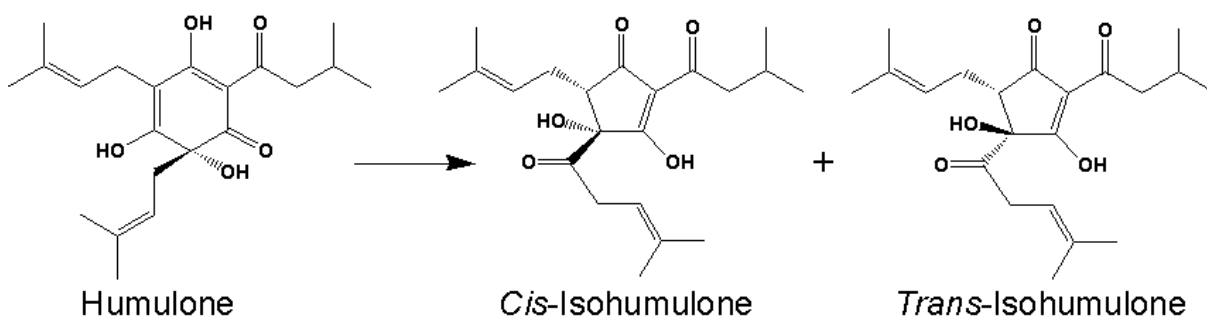
Obrázek 5: Schéma rozdělení chmelových pryskyřic. (Kosař a Procházka 2000)

### 3.5.2.1 Alfa hořké kyseliny

Alfa hořké kyseliny řadíme mezi tzv. měkké chmelové pryskyřice rozpustné v n-hexanu. Jsou charakterizovány jako nejvýznamnější poskytovatelé hořké chuti při výrobě piva a jsou proto v technologii výroby piva naprosto nepostradatelné. Jsou děleny celkem do 3 skupin (Howard & Tatchell 1956):

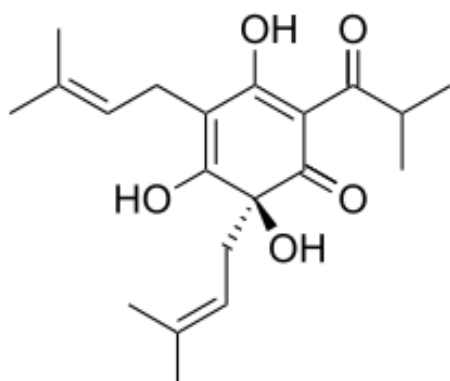
- Humulony
- Kohumulony
- Adhumulony

Obecně se uvádí, že hlavními nositeli hořké chuti při výrobě piva jsou humulony (Obrázek 6). Konkrétně se jedná o jeho izomerační produkt, který při výrobě piva vzniká vlivem různých faktorů, tedy isohumulon. Ten dále dělíme dle prostorového uspořádání na cis-isohumulon a trans-isohumulon. Obsah humulonu v chmelových hlávkách je asi 20-35 % z celkového obsahu  $\alpha$  hořkých kyselin (Aitken et al. 1970).

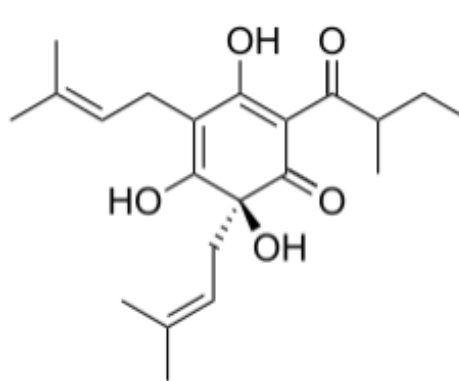


Obrázek 6: Izomerace humulonu na isohumulon. Dostupné z: <https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Reaction-degradation-humulone.png> (7.3.2019)

Kohumulon svou strukturou velmi zřetelně připomíná strukturu humulonu (Obrázek 7). Od humulonu se strukturně liší pouze přítomností některých postranních řetězců. Obsah kohumulonu v chmelu je velice proměnlivý v závislosti na odrůdě a dalších faktorech, obecně se však jeho obsah uvádí mezi 16-50 % celkového obsahu  $\alpha$  hořkých kyselin. Chmelové odrůdy s vysokým obsahem kohumulonu jsou v pivovarnictví používány často pro první chmelení pro jejich výraznou hořkost. Naopak chmelové odrůdy s nízkým obsahem kohumulonu jsou využívány pro své intenzivní aroma (Nickerson et al. 1984).



Obrázek 7: Strukturní vzorec kohumulonu.  
(Karabín et al. 2009)



Obrázek 8: Strukturní vzorec adhumulonů  
(Karabín et al. 2009)

Obdobně je na tom i poslední skupina alfa hořkých kyselin, adhumulon. Adhumulon má stejně jako kohumulon velice podobnou strukturu jako humulon (Rigby & Bethune 1955). Jeho obsah v chmelu a chmelových produktech se uvádí v rozmezí 1,5 až 8 % celkových alfa hořkých kyselin. Mezi odrůdy s vysokým podílem adhumulonů patří například německá odrůda Magnum, jeho obsah u této odrůdy se pohybuje okolo 9 % celkových alfa kyselin. Tato odrůda se díky vysokému obsahu kohumulonu i adhumulonů vyznačuje výraznou hořkostí a je používána výhradně pro první, popřípadě druhé chmelení (Mudura 2009).

### 3.5.2.2 Beta hořké kyseliny

Beta hořké kyseliny se, stejně jako alfa kyseliny, řadí mezi měkké chmelové pryskyřice. Stejně jako alfa hořké kyseliny jsou i tyto důležité z pivovarnického hlediska, protože jsou také částečně odpovědné za hořkou chuť piva. Během procesu vaření jsou tyto látky částečně oxidovány na hořké látky, takzvané hulupony. Tyto látky však představují pouze malou část hořkosti piva vařeného za použití čerstvého chmele. Pro zvýšení hořčícího účinku lze při vaření piva použít přímo oxidační produkty beta hořkých kyselin. Jejich obsah v chmelových hlávkách je v rozmezí 3,0 – 10,0 %.

Beta hořké kyseliny jsou děleny na tři základní skupiny (Drewett & Laws 1970):

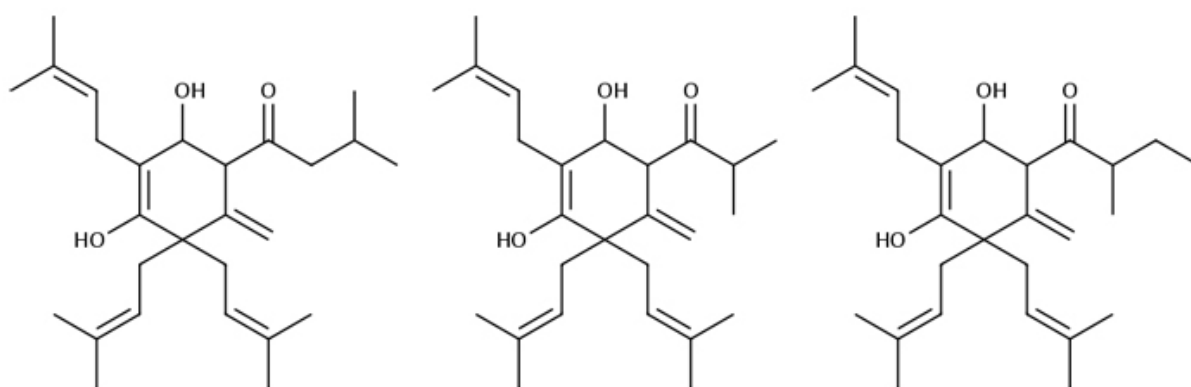
- Lupulony
- Kolupulony
- Adlupulony

Lupulon (Obrázek 9) se společně s humulonem řadí mezi významné antibiotické látky. Je to látka, která je dobře rozpustná v polárních i nepolárních organických rozpouštědlech, jako



je například methanol, ethanol nebo hexan. Není příliš stabilní při pokojové teplotě nebo při nedostatečném zabránění přísunu vzduchu a světla, z tohoto důvodu je také doporučováno chmel uchovávat v teplotách přibližně 5 °C (Lewis et al. 1949).

Kolupulon (Obrázek 9) bývá často označován jako majoritní skupina beta hořkých kyselin. Poprvé byl identifikován jako součást beta hořkých kyselin v roce 1914 (Wöllmer 1925). V sušeném chmelu je jeho obsah přibližně 35,0 – 62,0 % z celkových beta kyselin. Obsah adlupulonu (Obrázek 9) v komerčních odrůdách chmele je velice podobný jako obsah kolupulonu.



Obrázek 9: Strukturní vzorce lupulonu, kolupulonu a adlupulonu. (Karabín et al. 2009)

### 3.5.2.3 Xanthohumol

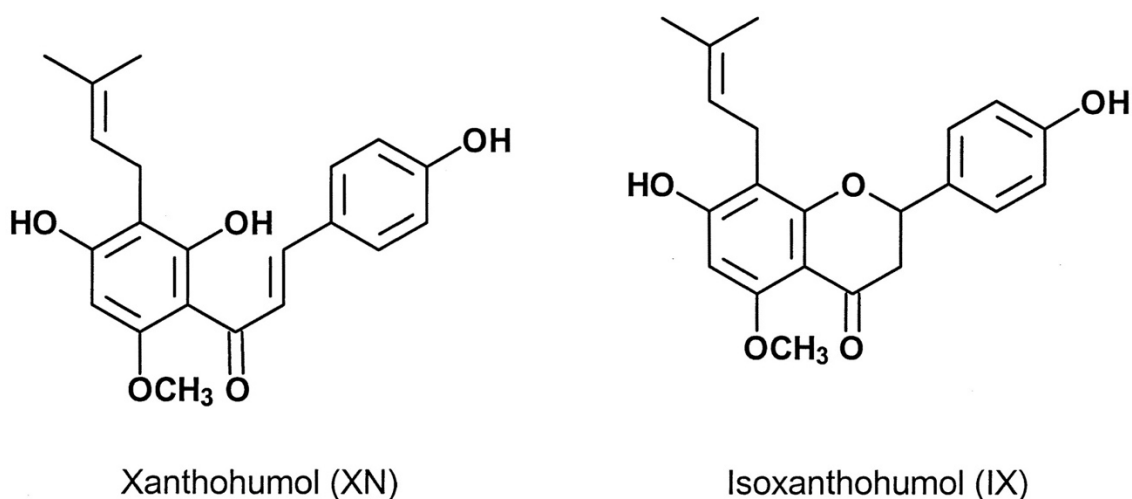
Xanthohumol náleží do skupiny chmelových polyfenolů chalkonové řady. Tvoří hlavní složku skupiny látek, tzv. prenylované flavonoidy, kde je jeho obsah asi 80–90 %. Vzhledem k tomu, že při biosyntéze se oddělují společně s chmelovými pryskyřicemi a silicemi, tvoří jakýsi přechod mezi pryskyřicemi a polyfenoly. S chmelovými pryskyřicemi mají i několik společných vlastností. Jednou z těchto vlastností je izomerace při chmelovaru nebo extrakce některými organickými rozpouštědly.

Obsah xanthohumolu v čerstvém chmelu bezprostředně po sklizni se pohybuje mezi 0,2 a 1,1 % a jeho obsah v chmelu a chmelových produktech v průběhu skladování klesá. Při výrobě chmelových extraktů xanthohumol téměř není extrahován a zůstává ve zbytku, chmelové produkty ve formě CO<sub>2</sub> extraktů tedy neobsahují téměř žádný xanthohumol. Naopak při extrakci ethanolem je extrahováno až 90 % všech prenylovaných flavonoidů.

Při chmelovaru ve vroucí mladině xanthohumol izomerizuje na iso-xanthohumol (Obrázek 10). Obecně ale při výrobě piva dochází k jeho výrazným ztrátám, a to díky adsorpci na jemné pivovarské kaly a také na pivovarské kvasinky. Dále dochází k značným ztrátám při filtraci a dalších úpravách piva. Je uváděno, že využití xanthohumolu může klesnout až na 10 % původního obsahu.

Xanthohumol a obecně prenylované flavonoidy jsou velice významnými látkami také z lékařského hlediska, a to proto, že u nich byly objeveny významné antioxidační, protizánětlivé a protirakovinné účinky. Konkrétně u xanthohumolu bylo prokázáno aktivační působení na chinonreduktázu, což je enzym, který chrání buňky proti toxickým xenobiotikům tím, že redukuje chinony na hydrochinony, které jsou v těle savců mnohem snadněji odbourávány.

Nejvhodnější metodou pro stanovení obsahu xanthohumolu v chmelu je metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie a k jeho detekci postačuje UV detektor (Krofta 2003).



Obrázek 10: Izomerace xanthohumolu na isoxanthohumol při chmelovaru (Dostupné z: <http://mct.aacrjournals.org/content/1/11/959>. 12.3.2019)

## 4 Materiály a metodika

### 4.1 Použité analyzované vzorky

Pro analýzu hořkých kyselin ( $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin) a xanthohumolu v chmelu bylo použito celkem 6 odrůd chmele. Z tohoto počtu byly celkem 3 odrůdy původu zahraničního a 3 odrůdy původu českého. Všechny vzorky byly ve formě válcových granulí (pelet) o průměru 6 mm a délce přibližně 8-10 mm. Tento typ zpracování chmele je v praxi označován zkratkou T90. Rok sklizně analyzovaných vzorků byl 2013 až 2017.

### 4.2 Výběr odrůd

Při výběru odrůd pro analýzu bylo rozhodováno tak, aby byl počet vzorků odrůd českého a zahraničního původu stejný a bylo tak možné jednodušší a přesnější porovnání obsahu  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu u českých a zahraničních odrůd. Odrůdy pro analýzu byly vybírány ve spolupráci s pivovarem BEER FACTORY s.r.o. pod odborným dohledem vrchního sládka v prostorách pivovaru.

Seznam odrůd pro analýzu byl následující:

Odrůdy českého původu:

- Agnus
- Harmonie
- Žatecký poloraný červeňák

Tabulka 1: Přehled odrůd analyzovaných vzorků českého původu

Odrůda	Rok sklizně	Chmelařská oblast	Hmotnost balení	Dodavatel	Typ zpracování
Agnus	2016	Žatec	5 kg	CHIŽ	T90
Harmonie	2017	Žatec	5 kg	CHIŽ	T90
ŽPČ	2016	Žatec	5 kg	Brelex	T90

(Pozn.: CHIŽ = Chmelařský institut Žatec)

Odrůdy zahraničního původu:

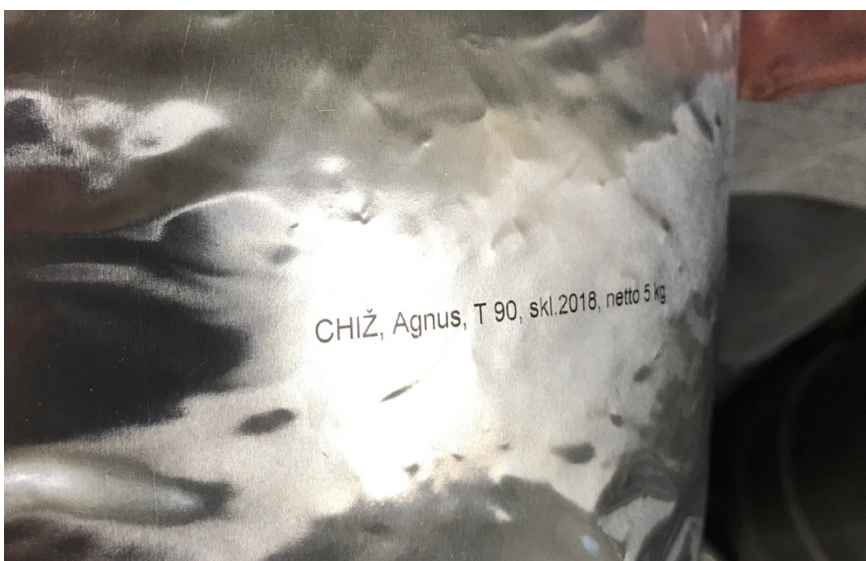
- Chinook
- Lublin
- Magnum

Tabulka 2: Přehled odrůd analyzovaných vzorků zahraničního původu

Odrůda	Rok sklizně	Země původu	Hmotnost balení	Dodavatel	Typ zpracování
Chinook	2016	USA	5 kg	Brelex	T90
Lublin	2013	Polsko	5 kg	Brelex	T90
Magnum	2016	Německo	5 kg	Brelex	T90

### 4.3 Skladování chmelových pelet

Chmelové pelety jsou dodávány do prostor pivovaru firmou Brelex s.r.o. a Chmelařským institutem Žatec zpravidla v 5kg a 10kg baleních, a to v závislosti na dostupnosti u dodavatele. Tato balení jsou vyráběna z aluminiových folií, které společně s inertní atmosférou chrání chmelové produkty před oxidačními změnami a ostatním znehodnocením. Pro účely analýzy rozumíme pod pojmem šarže (série) jedno toto pěti nebo desetikilogramové balení opatřené razítkem s názvem odrůdy, rokem sklizně, hmotností balení, oblastí původu a typem zpracování chmele (Obrázek 11). Tato balení jsou v pivovaru skladována při teplotě přibližně 5-8 °C. Po otevření konkrétního hliníkového balení a odebrání potřebného množství pro výrobu jedné várky piva je zbývající množství chmelových pelet umístěno do plastových folií po cca 1 kg. Tyto folie jsou dále podrobeny dalším úpravám tak, aby nedocházelo k nežádoucím změnám. V první fázi jsou tyto fólie zbaveny vzduchu pomocí automatické vakuovačky a poté zataveny. Na tyto folie je dále lihovým fixem vyznačen název odrůdy a poté jsou skladovány při stejné teplotě a ve stejných prostorách jako aluminiová balení.



Obrázek 11: Označení na aluminiovém balení chmelových pelet české odrůdy Agnus

#### 4.4 Odběr vzorků pro analýzu

Veškeré vzorky pro analýzu byly odebírány v plzeňském pivovaru BEER FACTORY s.r.o. po odborné konzultaci s vrchním sládkem pivovaru. Při odebrání vzorku bylo vždy otevřeno jedno hliníkové balení a odebráno potřebné množství chmelových pelet, toto množství se pohybovalo okolo 50–80 g. Odebrané množství bylo vždy umístěno do stejných plastových folií, které jsou používány pro skladování v prostorách pivovaru a dále upravovány stejným způsobem (odsání vzduchu, zatavení folie a označení vzorku odrůdou a číslem šarže).

Bylo provedeno celkem 6 odběrů vzorků. První odběr se uskutečnil v únoru 2018, druhý odběr pak o dva měsíce později, a to v dubnu 2018, třetí odběr byl proveden v červnu 2018, odběr čtvrtý v červenci 2018, odběr pátý v září 2018 a odběr šestý v říjnu 2018. Všechny vzorky byly ihned po odběru přesunuty a umístěny do chladničky v laboratoři ČZU, uchovávány při teplotě přibližně 5 °C a poté analyzovány. Pelety byly analyzovány celkem ve třech sériích měření vždy do několika dní po odběru vzorku v pivovaru.

#### 4.5 Příprava kalibračního extraktu

Na přípravu kalibračního extraktu pro stanovení  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin ve chmelu byl použit kalibrační extrakt ICE–3 (International Calibration Extract). Vzorek extraktu byl nejprve zhomogenizován, poté bylo odváženo takové množství extraktu, které obsahovalo přibližně 0,5 g veškerých pryskyřic (v našem případě se jednalo o 0,726 g kalibračního extraktu). Toto

množství extraktu bylo vloženo do 50ml kádinky a společně s 30 ml methanolu bylo rozpuštěno v ultrazvukové lázni. Po rozpuštění byl vzniklý roztok převeden kvantitativně do 100ml odměrné baňky a doplněn methanolem po rysku. Obsah baňky byl poté důkladně protřepán a skleněnou pipetou bylo odebráno 10 ml roztoku do odměrné baňky o objemu 50 ml. Obsah baňky byl opět důkladně protřepán. Takto připravený hotový kalibrační extrakt je stabilní maximálně po dobu 1 měsíce při skladování v mrazničce při teplotě -18 °C.

#### **4.6 Příprava chmelových extraktů**

Pro přípravu extraktu bylo potřeba chmelové pelety uvést do dostatečně homogenního stavu pomocí rozemletí. Před samotným rozemletím vzorku bylo nejprve odváženo potřebné množství, tedy 10 g. Vzhledem k tomu, že příprava extraktu i samotné měření bylo prováděno ve dvou opakováních (od každé odrůdy každé série byly připraveny dva extrakty), bylo toto množství naváženo dvakrát. Pro rozemletí pelet byl zvolen jako nejvhodnější mlýnek ETA.

Po dostatečném rozemletí vzorku byl tento chmelový prášek přemístěn do skleněných lahví se šroubovacím uzávěrem o objemu 250 ml. Do těchto skleněných lahví bylo dále postupně přidáváno 20 ml methanolu, 100 ml diethyletheru a 40 ml 0,1mol kyseliny chlorovodíkové. Poté byly lahve umístěny na třepačku, kde byly promíchávány 40 minut při stupni třepání 1. Po vyjmutí lahví z třepačky bylo potřeba nechat lahve minimálně 10 minut odstát pro dostatečné oddělení horní étherové fáze. Po deseti minutách bylo pomocí nedělené skleněné pipety opatrně odebráno 5 ml vyčerené étherové fáze do 50ml odměrné baňky. Toto množství bylo dále doplněno methanolem po rysku. Odměrné baňky byly dostatečně promíchány a bylo z nich odebráno přibližně 2-3 ml extraktu pomocí injekční stříkačky a celokovové jehly. Odebrané množství bylo přefiltrováno přes stříkačkový diskový filtr do předem připravených a popsanych vialek a dále analyzováno metodou HPLC.

Při extrakci a analýze vzorků bylo postupováno dle evropského předpisu Analytica EBC (European Brewery Convention), který obsahuje analytické metody pro chmel, část 7 – Chmel a chmelové výrobky, zkráceně EBC 7.7 (Krofta 2013).

#### **4.7 Analýza extraktů pomocí metody HPLC**

Pro analýzu hořkých kyselin a xanthohumolu byl použit kapalinový chromatograf Waters s detektorem diodového pole a kolonou Nova-Pak C<sub>18</sub> (150 mm x 3,9 mm, velikost částic

4  $\mu\text{m}$ ). Směs mobilní fáze byla pro lepší separaci modifikována, a to na poměr 766:230:4 (methanol : deionizovaná voda : kyselina orthofosforečná). Průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,8 ml/minuta. Objem nástřiku byl nastaven na 10  $\mu\text{m}$  a teplota termostatu na 40 °C. Kalibrace byla prováděna při každé analýze, a to dvakrát (vždy před a po analýze).

Obsah xanthohumolu byl vyhodnocován při vlnové délce 370 nm, obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin byl vyhodnocován při vlnové délce 314 nm.

Vyhodnocení obsahu hořkých kyselin a xanthohumolu bylo provedeno na základě plochy elučních pásů jednotlivých analogů ve vzorku pelet a kalibračního extraktu. Hodnoty byly stanoveny dle kalibrační závislosti a retenčních časů látek.

Obsahy jednotlivých složek jsou běžně v praxi vypočítány na základě následujícího vztahu (s využitím tzv. jednobodové kalibrace):

$$c_i = F \cdot m_{CS} \cdot c_{iC} \cdot A_i / m_S \cdot A_{iC}$$

kde:

$c_i$  = koncentrace složky  $i$  ve vzorku vyjádřená v % hm.

F = faktor ředění, F = 2 pro hlávkový a granulovaný chmel

$m_{CS}$  = hmotnost kalibračního extraktu (g)

$c_{iC}$  = koncentrace složky  $i$  v kalibračním extraktu vyjádřená v % hm.

$A_i$  = plocha elučního pásu složky  $i$  ve vzorku

$m_S$  = hmotnost vzorku (g)

$A_{iC}$  = plocha elučního pásu složky  $i$  v kalibračním roztoku

V našem případě byla místo jednobodové kalibrace využita metoda vícebodové kalibrační přímky, kde bylo stanoveno 5 kalibračních bodů, které byly získány definovaným naředěním kalibračního standardu  $m_{CS}$  a proměřením odezvy detektoru na jednotlivých koncentračních úrovních. Jeden z kalibračních bodů byl pro výrazné vychýlení vyřazen.

## **4.8 Použité materiály**

### **4.8.1 Chemikálie**

- Deionizovaná voda pro HPLC
- Diethyéter p.a. (Lach – Ner)
- Kalibrační chmelový extrakt (ICE – 3, Labor Veritas)
- Kyselina chlorovodíková 35–38 % (Lachema)
- Kyselina orthofosforečná 85 % (Lach – Ner)
- Methanol HPLC (Fisher Chemical)
- Methanol p.a. (Lach – Ner)

### **4.8.2 Laboratorní zařízení a pomůcky**

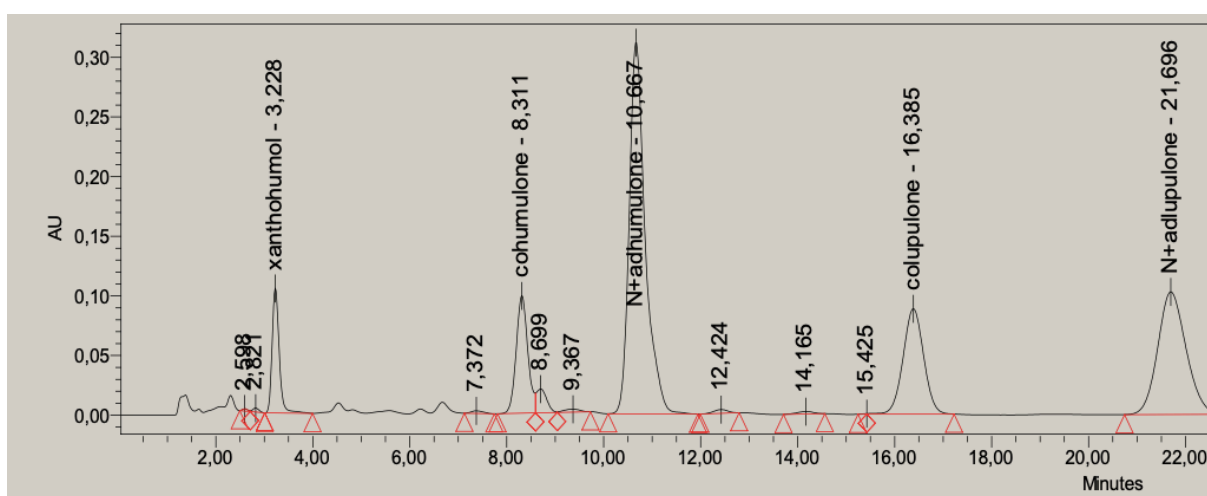
- Analytické váhy
- Mlýnek (ETA)
- Nálévka/násypka
- Skleněné lahve s uzávěrem 250 ml
- Odměrné válce 100 ml
- Kádinky 50–100 ml
- Třepačka (Lověna Praha)
- Skleněné nedělené pipety 5 a 10 ml
- Automatická pipeta 5 ml
- Nasávací balónky
- Odměrné baňky 50 a 100 ml
- Injekční stříkačka a celokovová jehla
- Filtry (PVDF; 0,45  $\mu\text{m}$ , 30 mm)
- Vialky a víčka (vialky čiré, 2 ml, víčka s gumovým septem)



## 5 Výsledky

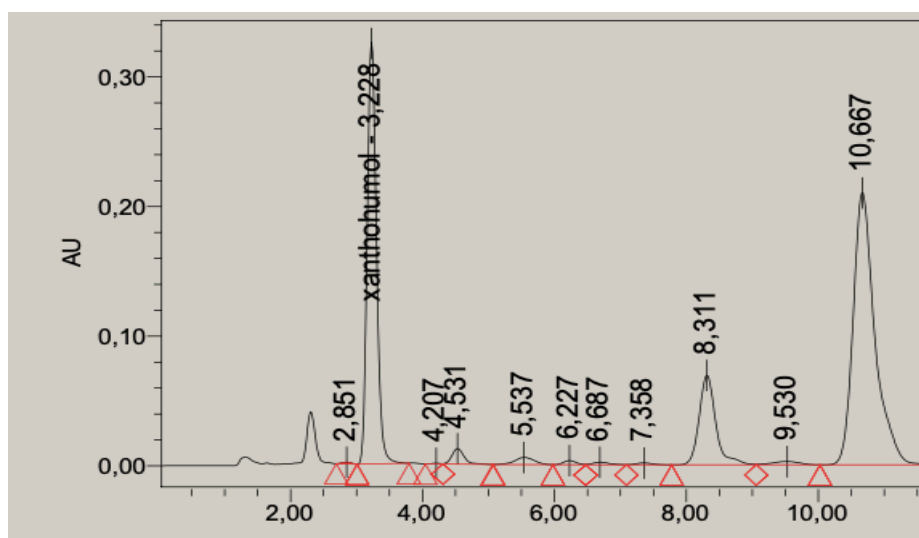
U analyzovaných odrůd chmele byl kvantitativně stanoven obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu. Vzhledem k tomu, že vzorky byly extrahovány a analyzovány ve dvou opakováních, bylo nutné nejprve vypočítat průměr naměřených výsledků.

Obsah  $\alpha$  hořkých kyselin v chmelu byl analyzován na základě dvou píků, z nichž pík první představoval obsah kohumulonu a pík druhý směs dvou látek, tedy humulonu a adhumulonu. Stejně tak tomu bylo v případě  $\beta$  hořkých kyselin, kde pík první představoval obsah kolupulonu a pík druhý směs lupulonu a adlupulonu. Obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin je stanovován při vlnové délce 314 nm (Obrázek 12).



Obrázek 12: Ukázka chromatogramu odrůdy Harmonie při vlnové délce 314 nm.

Obsah xanthohumolu tvoří samostatný pík a je stanovován při vlnové délce 370 nm (Obrázek 13).



Obrázek 13: Ukázka chromatogramu odrůdy Harmonie při vlnové délce 370 nm.

V následujících tabulkách č. 3 až 8 a odpovídajících grafech č. 1 až 6 jsou uvedeny průměrné hodnoty obsahů  $\alpha$  a  $\beta$ -hořkých kyselin (ze dvou paralelních stanovení) pro tři různé šarže téže odrůdy. V tabulkách je dále uveden poměr  $\alpha/\beta$ , relativní zastoupení kohumulonu v  $\alpha$ -kyselinách, relativní zastoupení kolupulonu v  $\beta$ -kyselinách a obsah xanthohumolu. Grafické vyhodnocení obsahů xanthohumolu je pro lepší přehlednost uvedeno samostatně v kapitole 5.1.7 (graf č. 7).

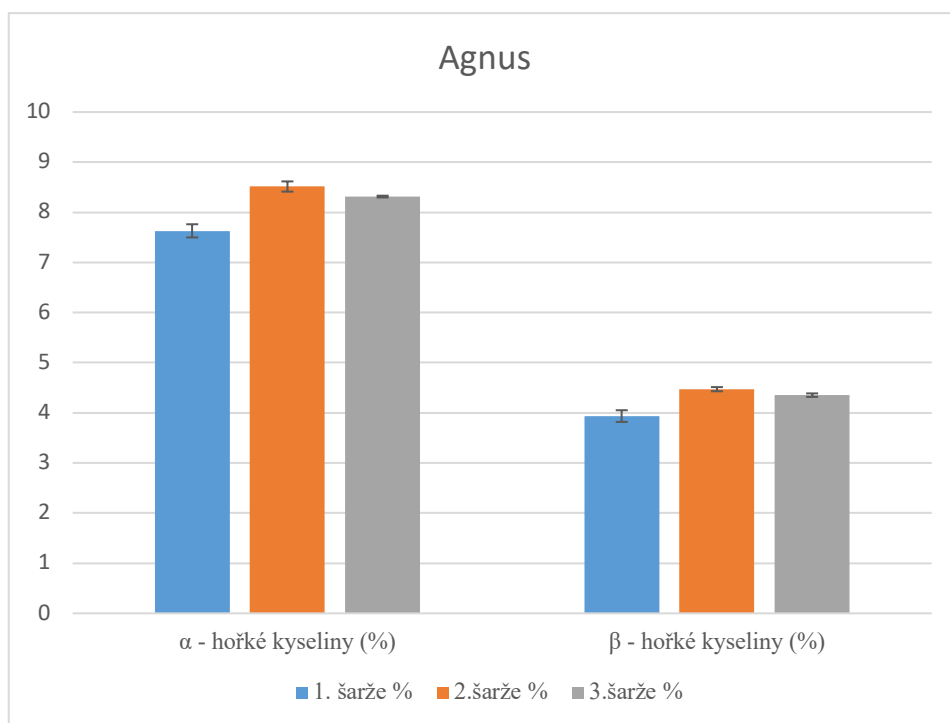
## 5.1 Naměřené výsledky

### 5.1.1 Agnus

Tabulka 3: Obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu u odrůdy Agnus

Agnus	1. šarže (n=2)		2.šarže (n=2)		3.šarže (n=2)	
	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.
$\alpha$ - hořké kyseliny (% hm.)	7,63	0,13	8,52	0,10	8,31	0,02
$\beta$ - hořké kyseliny (% hm.)	3,94	0,12	4,48	0,04	4,35	0,03
poměr $\alpha / \beta$	1,94	0,02	1,90	0,01	1,91	0,01
kohumulon (% rel.)	32,79	0,70	33,00	0,10	33,13	0,02
kolupulon (% rel.)	57,76	0,00	57,02	0,10	56,45	0,26
xanthohumol (% hm.)	0,320	0,007	0,320	0,007	0,305	0,000

Odrůda Agnus nevykazovala příliš velké odchylky v druhé a třetí šarži. Větší rozdíl byl zaznamenán mezi šarží první a druhou, kde se obsah  $\alpha$  hořkých kyselin lišil téměř o celé jedno procento obsahu. Obsah  $\beta$  hořkých kyselin se v případě první a druhé šarže lišil o přibližně půl procenta obsahu. Obsah xanthohumolu byl u všech tří šarží téměř shodný, přičemž nejnižší obsah vykazovala šarže číslo 3. Hořké kyseliny byly obsaženy v nejnižším množství v první šarži vzorků.



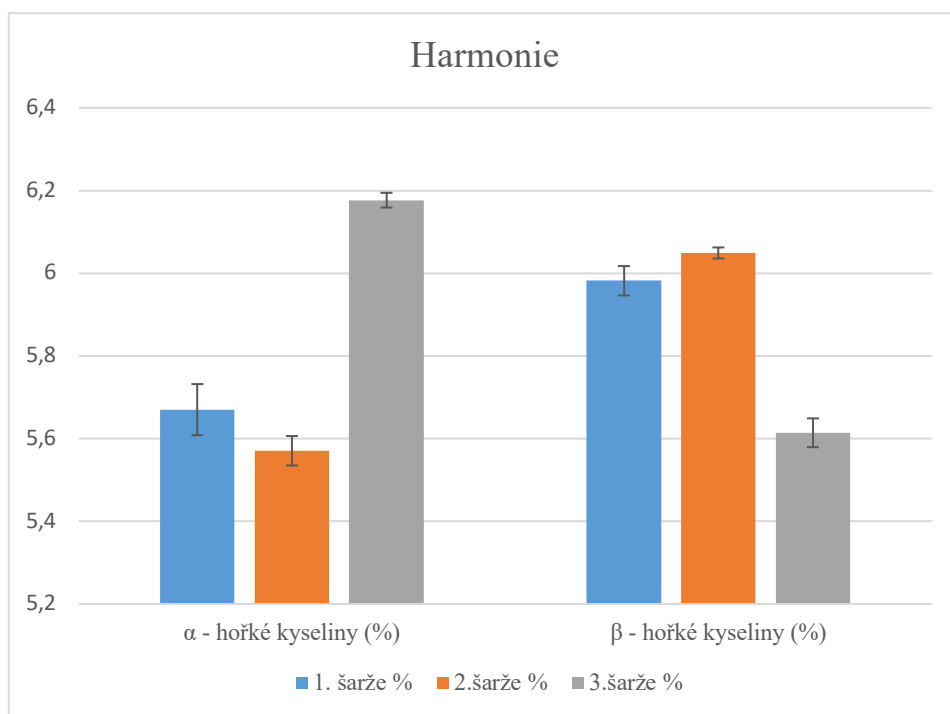
Graf 1: Grafické vyobrazení obsahu hořkých kyselin odrůdy Agnus

### 5.1.2 Harmonie

Tabulka 4: Obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu u odrůdy Harmonie

Harmonie	1. šarže (n=2)		2. šarže (n=2)		3. šarže (n=2)	
	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.
$\alpha$ -hořké kyseliny (% hm.)	5,67	0,06	5,57	0,04	6,18	0,012
$\beta$ -hořké kyseliny (% hm.)	5,98	0,04	6,05	0,01	5,61	0,04
poměr $\alpha / \beta$	0,95	0,02	0,92	0,01	1,10	0,00
kohumulon (% rel.)	17,77	0,10	17,82	0,11	17,96	0,01
kolupulon (% rel.)	38,66	0,06	38,38	0,05	39,70	0,29
xanthohumol (% hm.)	0,207	0,00	0,215	0,000	0,223	0,001

Obsah hořkých kyselin u odrůdy Harmonie byl téměř shodný v případě první a druhé šarže. Vyšší hodnoty těchto látek byly naměřeny u třetí série, a to přibližně o půl procenta celkového obsahu. Obsah xanthohumolu byl stejně jako u odrůdy Agnus velice podobný, největší obsah této látky byl obsažen v třetí šarži vzorků.



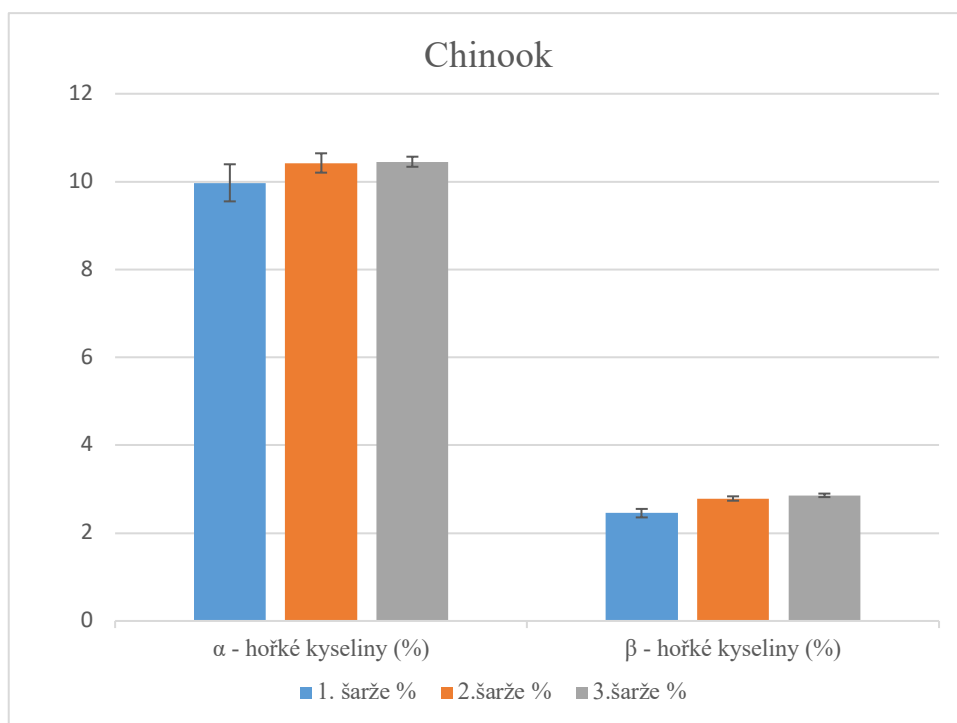
Graf 2: Grafické vyobrazení obsahu hořkých kyselin odrůdy Harmonie

### 5.1.3 Chinook

Tabulka 5: Obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu u odrůdy Chinook

Chinook	1. šarže (n=2)		2. šarže (n=2)		3. šarže (n=2)	
	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.
$\alpha$ - hořké kyseliny (% hm.)	9,97	0,42	10,42	0,22	10,45	0,12
$\beta$ - hořké kyseliny (% hm.)	2,45	0,10	2,79	0,05	2,86	0,04
poměr $\alpha$ / $\beta$	4,06	0,01	3,74	0,01	3,66	0,01
kohumulon (% rel.)	28,84	0,03	28,37	0,01	28,42	0,02
kolupulon (% rel.)	55,12	0,02	54,39	0,11	54,07	0,09
xanthohumol (% hm.)	0,190	0,007	0,190	0,007	0,197	0,004

Stejně jako v případě odrůdy Agnus, ani americká odrůda Chinook nevykazovala příliš velké odchylky v případě druhé a třetí šarže, obsahy hořkých kyselin, a to  $\alpha$  i  $\beta$ , zde byly téměř shodné. První šarže vzorků obsahovala těchto látek asi o půl procenta méně. Obsah xanthohumolu byl shodný v případě první a druhé šarže, vyšší obsah xanthohumolu byl naměřen v případě šarže třetí.



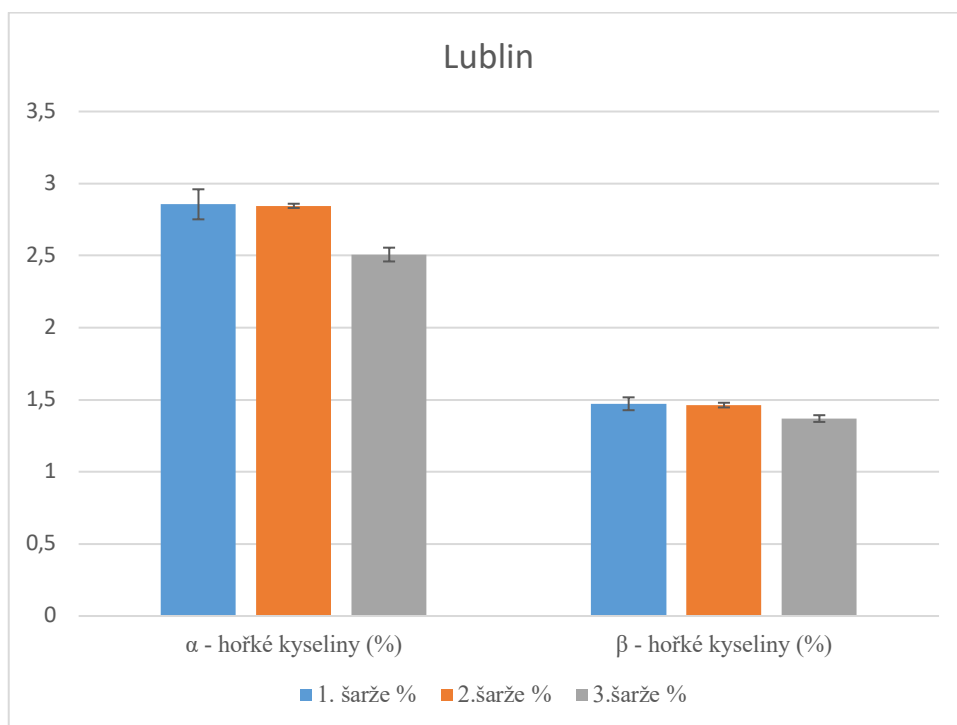
Graf 3: Grafické vyobrazení obsahu jednotlivých látek odrůdy Chinook

#### 5.1.4 Lublin

Tabulka 6: Obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu u odrůdy Lublin

Lublin	1. šarže (n=2)		2. šarže (n=2)		3. šarže (n=2)	
	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.
$\alpha$ - hořké kyseliny (% hm.)	2,86	0,10	2,85	0,02	2,51	0,05
$\beta$ - hořké kyseliny (% hm.)	1,47	0,05	1,46	0,02	1,37	0,02
poměr $\alpha$ / $\beta$	1,94	0,01	1,94	0,01	1,83	0,00
kohumulon (% rel.)	26,67	0,08	24,01	0,03	23,81	0,17
kolupulon (% rel.)	50,09	0,08	49,82	0,11	48,09	0,02
xanthohumol (% hm.)	0,117	0,004	0,120	0,000	0,120	0,000

Rozdíly v obsahu hořkých látek i xanthohumolu u tří šarží polské odrůdy Lublin byly velice minimální. Obsah  $\beta$  hořkých kyselin byl nejnižší v případě třetí šarže a nejvyšší případě šarže první. Obsah  $\alpha$  hořkých kyselin šarže první byl téměř shodný s obsahem těchto látek šarže druhé. Třetí šarže vykazovala v případě  $\alpha$  hořkých kyselin hodnoty asi o 0,35 % nižší. Obsah xanthohumolu byl shodný u druhé a třetí šarže, první šarže vzorků těchto látek obsahovala méně, přesto však rozdíl nebyl příliš výrazný.



Graf4: Grafické vyobrazení hořkých kyselin odrůdy Lublin

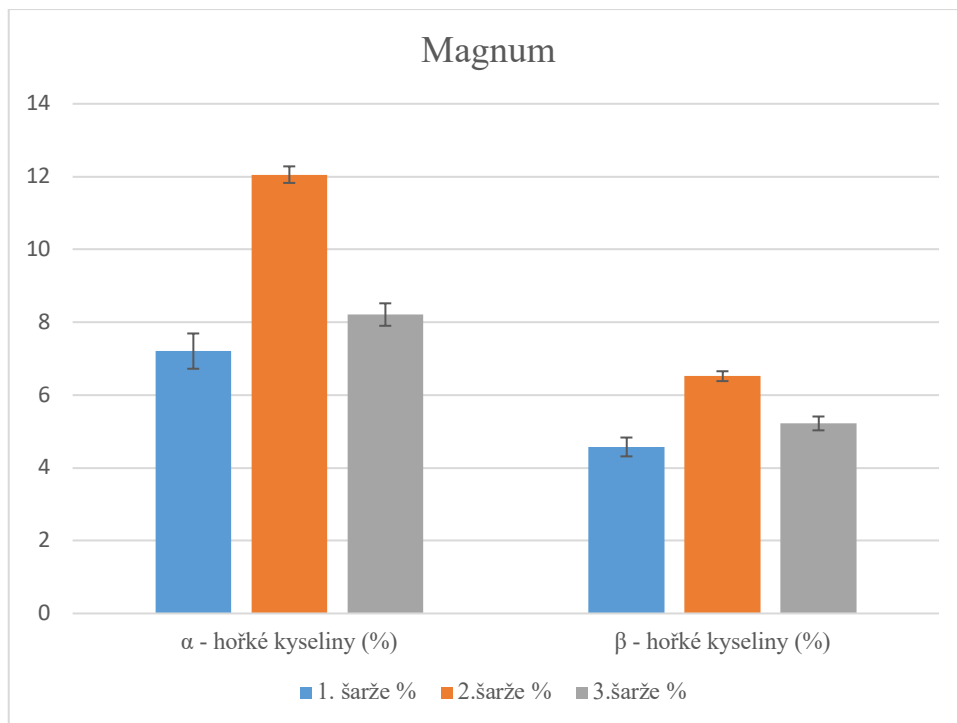
### 5.1.5 Magnum

Tabulka 7: Obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu u odrůdy Magnum

Magnum	1. šarže (n=2)		2. šarže (n=2)		3. šarže (n=2)	
	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.
$\alpha$ - hořké kyseliny (% hm.)	7,21	0,49	12,05	0,23	8,21	0,31
$\beta$ - hořké kyseliny (% hm.)	4,57	0,26	6,52	0,14	5,22	0,19
poměr $\alpha / \beta$	1,58	0,02	1,85	0,00	1,57	0,00
kohumulon (% rel.)	29,49	0,02	25,85	0,02	29,69	0,10
kolupulon (% rel.)	49,91	0,17	47,30	0,01	49,52	0,07
xanthohumol (% hm.)	0,162	0,011	0,197	0,003	0,180	0,000

Německá odrůda Magnum vykazovala poněkud výraznější rozdíly všech analyzovaných látek. Nejvyšší obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu byl naměřen u vzorku z druhé šarže. Obsah  $\alpha$  hořkých kyselin zde byl téměř o pět procent celkového obsah vyšší než v případě šarže první a téměř o čtyři procenta vyšší než v případě šarže třetí. Stejně tak obsah xanthohumolu obsaženého ve vzorku třetí šarže byl vyšší než u ostatních vzorků.

První a druhá šarže se v obsahu hořkých kyselin lišila přibližně o 1 a 0,7 %, přičemž nejnižší obsah těchto látek byl naměřen ve vzorku první šarže.



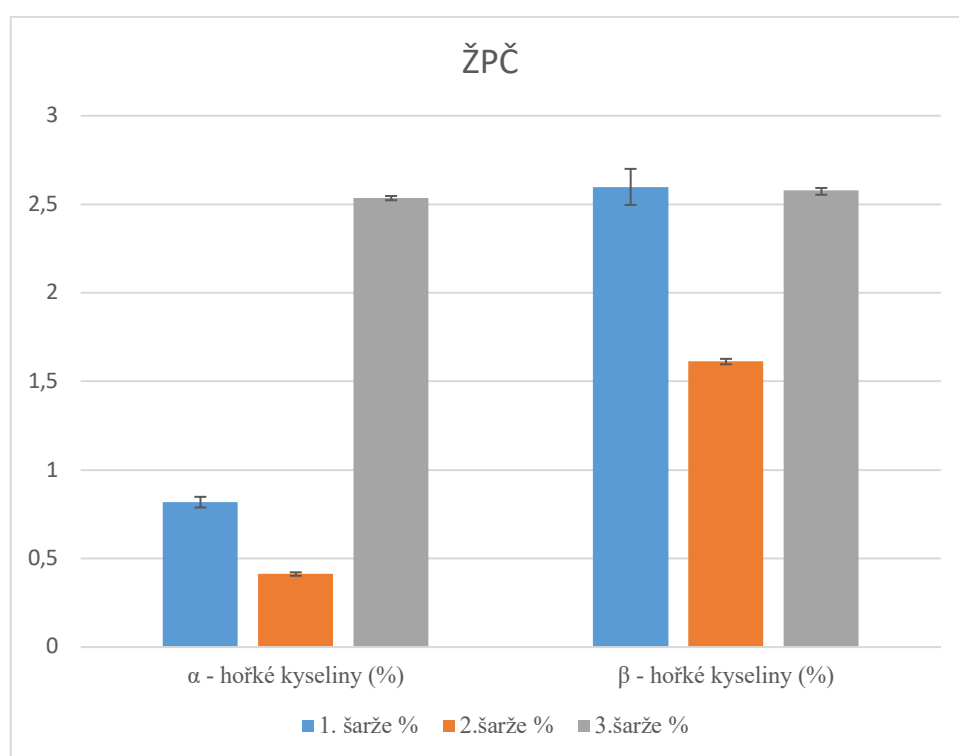
Graf 5: Grafické vyobrazení obsahu jednotlivých látek odrůdy Magnum

### 5.1.6 Žatecký poloraný červeňák – Saaz

Tabulka 8: Obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin a xanthohumolu u odrůdy Žatecký poloraný červeňák

ŽPČ	1. šarže (n=2)		2.šarže (n=2)		3.šarže (n=2)	
	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.	průměr	sm.odch.
$\alpha$ - hořké kyseliny (% hm.)	0,82	0,03	0,41	0,01	2,54	0,01
$\beta$ - hořké kyseliny (% hm.)	2,60	0,10	1,61	0,02	2,58	0,03
poměr $\alpha$ / $\beta$	0,31	0,00	0,26	0,00	0,98	0,01
kohumulon (% rel.)	2,53	0,34	29,68	0,15	24,13	0,27
kolupulon (% rel.)	43,84	0,21	46,26	0,09	25,54	0,19
xanthohumol (% hm.)	0,112	0,004	0,092	0,004	0,092	0,004

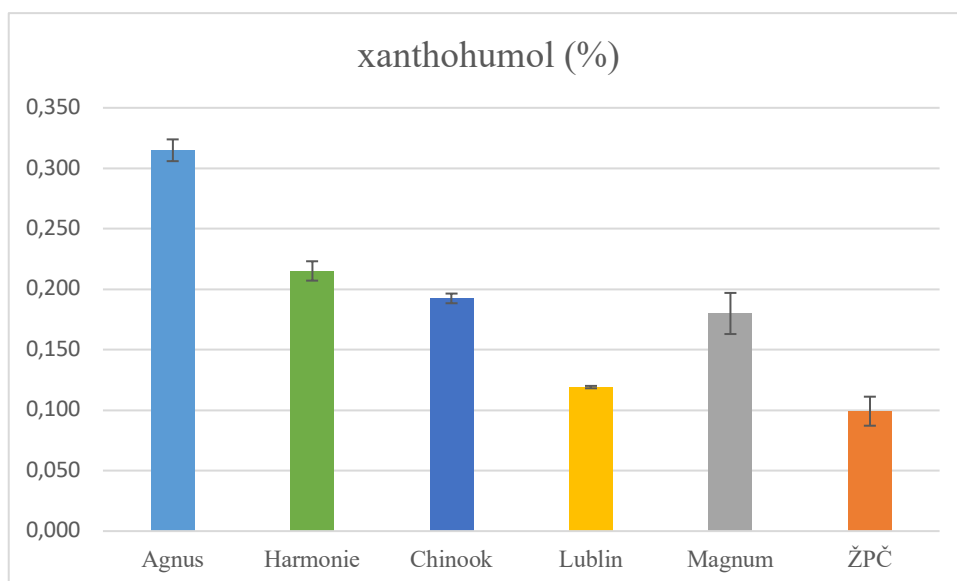
Stejně jako v předchozím případě, i odrůda Žatecký poloraný červeňák vykazovala velké rozdíly v rámci tří analyzovaných šarží vzorků. Nejnižší obsah některých analyzovaných látek byl naměřen ve druhé šarži. Naopak obsah nejvyšší byl naměřen v šarži třetí. Za povšimnutí však stojí, že velké rozdíly v celkovém obsahu se týkají pouze hořkých kyselin, přičemž obsah xanthohumolu zůstává u všech vzorků téměř shodný. Nejnižší obsah hořkých kyselin byl zaznamenán u vzorku druhé šarže. Obsah  $\beta$  hořkých kyselin zde byl obsažen asi v polovičním množství, obsah  $\alpha$  hořkých kyselin v méně než pětinaovém množství oproti třetí šarži.



Graf 6: Grafické vyobrazení obsahu hořkých kyselin odrůdy Žatecký poloraný červeňák

Průměrný obsah xanthohumolu byl u jednotlivých odrůd v rozmezí přibližně 0,1 až 0,3 % hmotnosti. Rozdíly v jeho obsahu u jednotlivých šarží byly minimální, pouze v případě odrůdy Magnum byly tyto odchylky o něco zřejmější. Nejnižší obsah xanthohumolu byl zaznamenán u odrůdy Žatecký poloraný červeňák, a to přibližně 0,1 % hmotnosti. Naopak nejvyšší obsah xanthohumolu byl naměřen v případě odrůdy Agnus, kde byl jeho obsah více než trojnásobný, tedy 0,315 % obsahu. Průměrné obsahy xanthohumolu v jednotlivých odrůdách jsou uvedeny v grafu č. 7.





Graf 7: Průměrný obsah xanthohumolu u jednotlivých odrůd chmele

## 5.2 Statistické vyhodnocení výsledků a porovnání s literaturou

Následující tabulky (č. 9 a 10) obsahují základní popisné a statistické údaje o analyzovaných chmelových odrůdách a statistické porovnání s hodnotami deklarovanými v literatuře. Tyto údaje jsou aritmetický průměr ze tří vzájemně nezávislých šarží chmelových pelettáže odrůdy (n=3), směrodatná odchylka, relativní směrodatná odchylka, míra shody s nejnižšími hodnotami rozmezí uvedeného v literatuře a logická hodnota shody s těmito údaji. Míra shody byla testována pomocí pravostranného Studentova rozdělení (t-rozdělení) pomocí programu Excel. Minimální akceptovatelná shoda byla stanovena na 10 %, tato hodnota se pro srovnání běžně v praxi používá. V tabulce první jsou popsány obsahy  $\alpha$  hořkých kyselin, tabulka druhá popisuje obsahy  $\beta$  hořkých kyselin.

Tabulka 9: Základní statistické údaje o obsahu  $\alpha$  hořkých kyselin (n=3)

odrůda	průměr (%)	sm.odch.	RSD (%)	míra shody s liter. (%)	závěr o shodě
Agnus	8,15	0,46	5,69	4,40	NE
Harmonie	5,81	0,35	5,60	97,50	ANO
Chinook	10,28	0,27	2,62	2,20	NE
Lublin	2,74	0,20	7,25	7,40	NE
Magnum	9,16	2,56	27,94	15,90	ANO
ŽPČ	1,26	1,13	89,76	9,80	NE

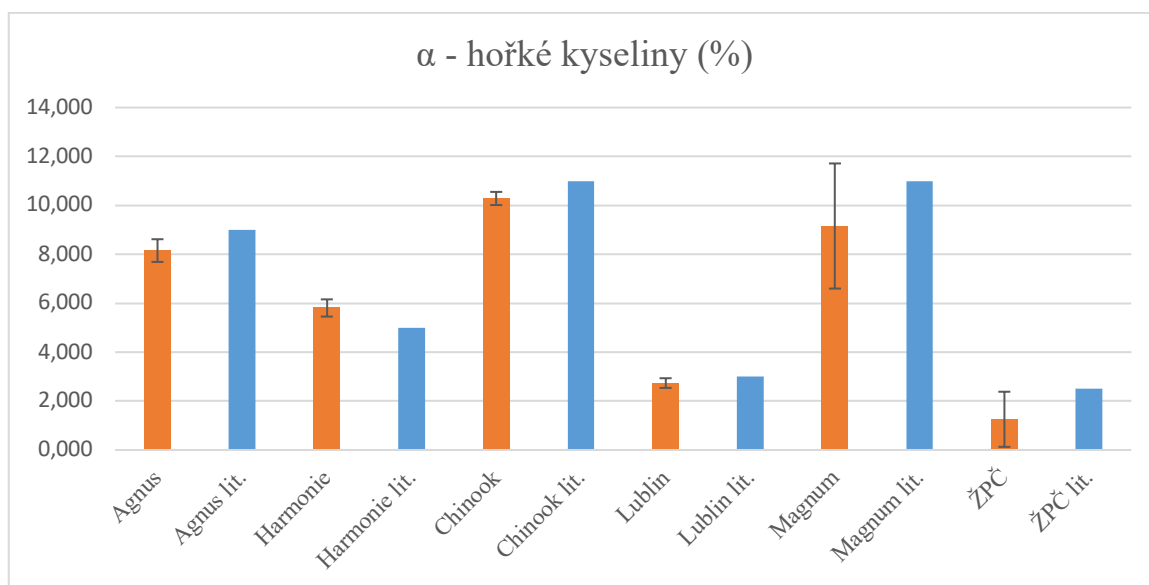
Tabulka 10: Základní statistické údaje o obsahu  $\beta$  hořkých kyselin (n=3)

odrůda	průměr (%)	sm.odch.	RSD (%)	míra shody s liter. (%)	závěr o shodě
Agnus	4,25	0,28	6,62	87,00	ANO
Harmonie	5,88	0,23	3,98	98,90	ANO
Chinook	2,70	0,22	8,01	98,50	ANO
Lublin	1,44	0,06	3,96	0,00	NE
Magnum	5,44	0,99	18,21	73,80	ANO
ŽPČ	2,26	0,56	24,93	1,70	NE

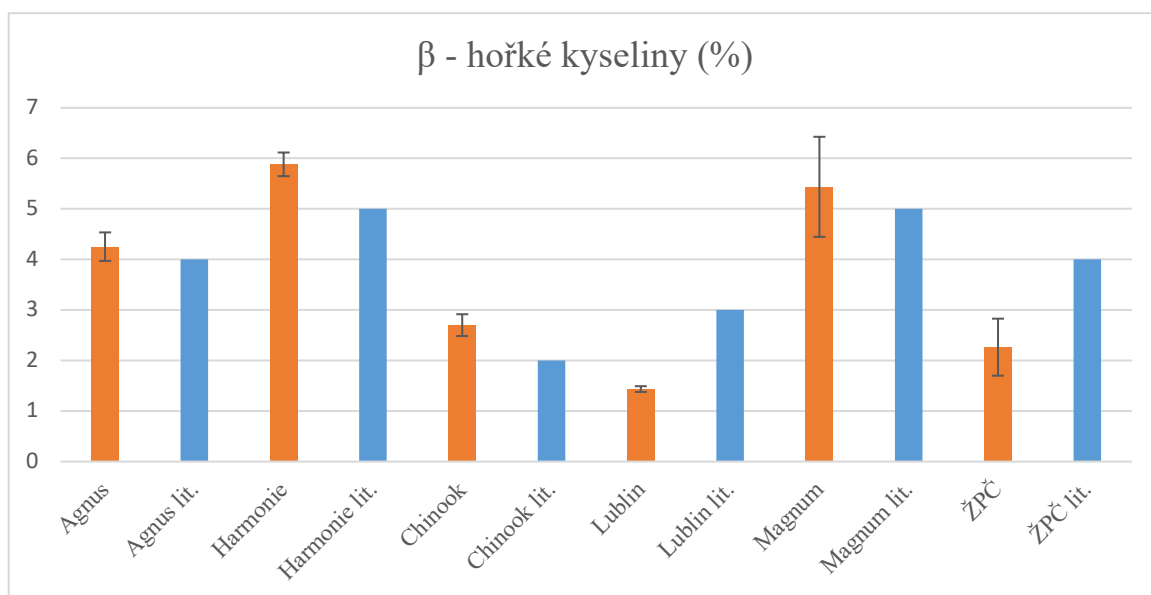
V následujících grafech č. 8 a 9 jsou vyobrazeny průměrné naměřené hodnoty  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin v porovnání s nejnižšími obsahy těchto látek deklarovanými v literatuře (Krofta 2003). Graf č. 8 znázorňuje porovnání  $\alpha$  hořkých kyselin, graf č. 9 znázorňuje porovnání  $\beta$  hořkých kyselin.

Z grafu č. 8 je patrné, že některé průměrné obsahy  $\alpha$  hořkých kyselin u některých odrůd se zcela neshodují ani s hodnotami, které jsou v literatuře uváděny jako minimální. Jediná odrůda, která tyto hodnoty mírně přesahovala, byla odrůda Harmonie. Naopak obsahy těchto látek u odrůdy Žatecký poloraný červeňák a Magnum byly zřetelně nižší.

Na grafu č. 9 lze vidět, že  $\beta$  hořké kyseliny analyzovaných vzorků byly u většiny odrůd dle požadavků. Nižší obsah těchto látek byl naměřen u odrůd Lublin a Žatecký poloraný červeňák.



Graf 8: Porovnání naměřeného obsahu  $\alpha$  hořkých kyselin s hodnotami uvedenými v literatuře



Graf 9: Porovnání naměřeného obsahu  $\beta$  hořkých kyselin s hodnotami uvedenými v literatuře

## 6 Diskuze

### 6.1 Variabilita analyzovaných vzorků v rámci odrůdy

Účelem analýzy vybraných českých a zahraničních vzorků chmele bylo kvantitativní porovnání několika konkrétních látek v chmelu obsažených. Těmito látkami jsou myšleny chmelové pryskyřice, a to  $\alpha$  a  $\beta$  hořké kyseliny. Jakožto v pivovarnictví velice významná látka byl dále navíc analyzován i prenylflavonoid xanthohumol. V návaznosti na to bylo provedeno i kvalitativní zhodnocení analyzovaných vzorků a porovnání variability vzorků v rámci jedné odrůdy, tedy rozdílů mezi třemi šaržemi těchto vzorků.

V první řadě je třeba zdůraznit a připomenout, že šarže jednotlivých odrůd pocházely ze stejného roku sklizně, lze proto vyloučit, že by výraznější variabilita v rámci odrůdy byla způsobena rozdílným rokem sklizně. Dle provedených statistických testů lze říci, že nejvyšší variabilitu vzorků mezi jednotlivými šaržemi vykazovaly odrůdy Magnum (RSD = 27,94) a Žatecký poloraný červeňák (RSD = 89,76). Zatímco míra shody mezi jednotlivými šaržemi v rámci odrůdy Magnum se pohybovala mezi 0,7-1,0 % pro  $\beta$  hořké kyseliny a 0,3-0,4 % pro  $\alpha$  hořké kyseliny, míra shody v rámci odrůdy Žatecký poloraný červeňák byla u obou látek téměř nulová. Nejvyšší obsah  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin v případě Žatecký poloraný červeňák byla zaznamenána u třetí šarže vzorků, zde byly naměřené hodnoty až pětinasobně vyšší, než tomu bylo u předchozích šarží. Odrůda Magnum vykazovala nejvyšší obsah hořkých kyselin ve druhé šarži vzorků.

Tyto odchylky mohly být způsobeny několika faktory. Vzhledem k tomu, že u obou odrůd s vysokou variabilitou se jednalo o rok sklizně 2016, nelze s jistotou říci, že skladování jednotlivých balení, ať už v prostorách pivovaru nebo u dodavatele produktu, probíhalo po celou dobu v ideálních podmínkách. Stáří chmele je také významným faktorem při hodnocení obsahu hořkých kyselin i v případě, že je chmelový produkt správně skladován (Krofta et al. 2017). Dalším důvodem by mohlo být i použití nekvalitního chmele pro výrobu chmelových pelet nebo poškození chmelových hlávek, jakožto i nešetrné posklizňové úpravy tohoto chmele, například příliš vysoká teplota skladování nebo sušení (Weber et al. 1979). S jistotou nelze vyloučit ani mechanické poškození některého z obalů a porušení inertní atmosféry vlivem nešetrné manipulace během transportu, což by vysvětlovalo i extrémně nízké hodnoty naměřené u některých šarží vzorků. Příliš dlouhé prodlevy během transportu mohou mít také za následek snížení obsahu některých látek.

Naopak poměrně stabilní hodnoty v rámci odrůdy byly naměřeny u odrůd Harmonie (RSD = 5,60 %), Agnus (RSD = 5,69 %), Chinook (RSD = 2,62 %) a Lublin (RSD = 7,25 %).

Vzhledem k tomu, že v případě českých odrůd Agnus a Harmonie se jedná o stejného dodavatele (Chmelařský institut Žatec), který je, na rozdíl od ostatních odrůd, zároveň i výrobcem těchto chmelových produktů, může být i toto jedním z důvodů poměrně konstantního obsahu hořkých kyselin – chmelové produkty se v tomto případě transportují od výrobce (pěstitele) přímo do pivovaru, a to bez mezistupně v podobě dodavatele neboli obchodníka s chmelovými produkty, jakým je kupříkladu firma Brelex. Míra shody mezi šaržemi odrůdy Chinook a Lublin byla také poměrně vysoká, přestože se jedná o odrůdy zahraniční a podléhají tedy poměrně zdlouhavému transportu a manipulaci s jednotlivými baleními.

## 6.2 Porovnání naměřených vzorků s hodnotami deklarovanými v literatuře

Pro porovnání jednotlivých hořkých kyselin s údaji uváděnými v literatuře bylo využito pravostranného t-rozdělení (Studentova rozdělení). Pomocí této statistické metody byla vypočítána míra shody (minimálně 10 %) s deklarovanými hodnotami, jak je uvedeno v tabulce č. 9 a 10 v kapitole Výsledky.

Co se týče odrůdy Agnus, průměrný obsah  $\alpha$  hořkých kyselin analyzovaných vzorků byl 8,14 %, zatímco Nesvadba (2004) a Krofta (2013) uvádí obsah těchto látek v rozmezí 9-12 % celkové hmotnosti. Míra shody s nejnižší uvedenou hodnotou zde byla 4,4 %, což dokazuje, že obsah  $\alpha$  hořkých kyselin se s údaji v literatuře neshoduje. V případě  $\beta$  hořkých kyselin vykazovaly naměřené výsledky poněkud příznivější hodnoty. Průměrný obsah  $\beta$  hořkých kyselin vzorků byl 4,25 % celkové hmotnosti, což koresponduje s údaji v literatuře (4-6,5 %) na 87 %. Pro porovnání obsahu xanthohumolu nebylo využito statistické metody, jeho obsah v analyzovaných vzorcích však byl méně než poloviční oproti literatuře (Krofta 2003). Přesto byl průměrný obsah xanthohumolu u odrůdy Agnus nejvyšší v porovnání s ostatními odrůdami.

Odrůda Harmonie vykazovala poměrně dobré výsledky, co se týče  $\alpha$  i  $\beta$  hořkých kyselin. Průměrný naměřený obsah  $\alpha$  hořkých kyselin u této odrůdy byl 5,81 % hmotnosti. Krofta (2013) uvádí obsah těchto látek v rozmezí 5-8 % hmotnosti. Při porovnání naměřené hodnoty s nejnižší deklarovanou byla vypočítána shoda 97,5 %. Podobné hodnoty vykazovaly i  $\beta$  hořké kyseliny, jejich průměrný obsah v analyzovaných vzorcích byl 5,88 %, přičemž Krofta (2013) a Nesvadba (2004) uvádí tento obsah, stejně jako v případě  $\alpha$  hořkých kyselin, v rozmezí 5-8 %. I zde byla míra shody poměrně vysoká, a to 98,9 %. Obsah hořkých kyselin u této odrůdy byl tedy v naměřených vzorcích odpovídající, což je pravděpodobně způsobeno kvalitním zpracováním chmele v místě sklizně a bezprostředním dodáním produktu do prostor pivovaru Chmelařským institutem Žatec. Co se týče xanthohumolu, jeho naměřené hodnoty byly opět poloviční oproti údajům, které uvádí Krofta (2003).

Při analýze americké odrůdy Chinook byl naměřen poměrně vysoký průměrný obsah  $\alpha$  hořkých kyselin, a to 10,28 %. Tato odrůda se vysokým obsahem  $\alpha$  hořkých kyselin, a tedy i výraznou hořkostí, vyznačuje, nicméně i přesto tyto naměřené hodnoty s hodnotami v literatuře příliš nekorespondovaly. Kenny a Zimmerman (1986) uvádí obsah těchto látek asi 12 %. Naopak obsah  $\beta$  hořkých kyselin naměřený ve vzorcích byl poměrně vysoký, jeho průměrná hodnota byla 2,70 %, přičemž uváděné hodnoty jsou okolo 3 %. Obsah  $\beta$  hořkých kyselin na rozdíl od  $\alpha$  hořkých kyselin tedy literatuře poměrně odpovídal.

Polská odrůda Lublin vykazovala nejhorší výsledky všech analyzovaných odrůd, co se všech látek týče. Vzhledem k tomu, že uvedený rok sklizně této odrůdy byl 2013, lze předpokládat, že ke snížení obsahu těchto látek došlo vlivem stárnutí chmelových pelet, přestože byly tyto pelety správně skladovány. Obsah  $\alpha$  hořkých kyselin analyzovaných vzorků byl 2,74 %, přičemž literatura uvádí tento obsah v rozmezí 3-4,5 %. Míra shody s literaturou se zde pohybovala okolo 7,4 %. Stejně tak  $\beta$  hořké kyseliny nevykazovaly v analyzovaných vzorcích příliš vysoké hodnoty, jejich průměrný obsah zde byl 1,44 %, literatura přitom uvádí obsah v rozmezí 3-4 % hmotnosti (Kosař et al. 2000). Míra shody s literaturou zde byla nulová, obsah hořkých kyselin u této odrůdy z roku 2013 tedy neodpovídá hodnotám uvedeným v literatuře. Průměrné obsahy xanthohumolu pro tuto odrůdu nebyly k dispozici, k porovnání naměřených hodnot tedy nedošlo. Naměřené obsahy této látky jsou uvedeny v kapitole Výsledky.

Německá odrůda Magnum, přestože vykazovala poměrně vysokou variabilitu v rámci jednotlivých šarží, obsahovala v porovnání s literaturou poměrně velké množství  $\alpha$  i  $\beta$  hořkých kyselin. Průměrný obsah  $\alpha$  hořkých kyselin zde byl 9,16 % hmotnosti, literatura přitom uvádí rozmezí 11-14 % hmotnosti. Míra shody 16,9 % byla pravděpodobně způsobena vysokým obsahem těchto látek v druhé šarži vzorků, kde byl naměřený obsah 12,05 %. Na základě této shody lze říci, že obsah  $\alpha$  hořkých kyselin odpovídá údajům, které deklaruje webová stránka firmy Brelex (2018), přestože naměřený průměrný obsah byl poněkud nižší. Obsah  $\beta$  hořkých kyselin zde byl poměrně vyšší a lépe odpovídal deklarovaným údajům. Jeho průměrná hodnota byla 5,44 %, přičemž firma Brelex, která produkty z tohoto chmele dodává, deklaruje obsah v rozmezí 5-7 %. Průměrné obsahy xanthohumolu nebyly opět pro tuto odrůdu k dispozici.

Jak již bylo řečeno na začátku kapitoly, stejně jako Magnum, i odrůda Žatecký poloraný červeňák vykazovala velké rozdíly v měření jednotlivých šarží vzorků. Na rozdíl od odrůdy Magnum však tyto hodnoty byly výrazně nižší než deklaruje literatura. Obsah  $\alpha$  hořkých kyselin analyzovaných vzorků tohoto chmele byl v průměru 1,26 %. Nesvadba (2004) přitom uvádí průměrný obsah těchto látek v rozmezí 2,5-4,5 % hmotnosti. Míra shody byla i přesto poměrně vysoká, a to 9,8 %, což bylo pravděpodobně způsobeno vysokým obsahem  $\alpha$  hořkých kyselin

naměřeným v druhé šarži vzorků. Naměřené hodnoty pro  $\beta$  hořké kyseliny zde činily průměrný obsah 2,27 %, Nesvadba (2004) přitom uvádí průměrní obsah 4-6 % hmotnosti. Míra shody zde byla v podstatě zanedbatelná. Obsah xanthohumolu u této odrůdy byl přibližně třetinový oproti minimální hodnotě, kterou uvádí Nesvadba (2004) i Krofta (2013). V případě odrůdy Žatecký poloraný červeňák tedy obsah ani jedné z analyzovaných látek nekorespondoval s obsahem uváděným v literatuře. Důvodem této skutečnosti může být špatné skladování chmelových pelet nebo špatnou posklizňovou manipulací, jakožto i pochybení při procesu výroby chmelových pelet. Dalším důvodem mohou být i nepříznivé klimatické podmínky.

Za povšimnutí také stojí velmi podobné deklarované hodnoty obsahu hořkých kyselin odrůdy Lublin a Žatecký poloraný červeňák. Kromě toho, že odrůda Lublin je vyšlechtěná ze žateckého chmele, během období extrémně nízkého výnosu Žateckého poloraného červeňáku v roce 2013 byla odrůda Lublin v pivovarnictví využívána jako náhrada za tento český chmel právě pro své velmi podobné parametry.

Obecně lze konstatovat, že pouze dvě odrůdy splňovaly požadavky na obsah hořkých kyselin, a to Harmonie a Magnum. U odrůdy Agnus a Chinook byly v normě pouze  $\beta$  hořké kyseliny, což lze zdůvodnit vyšší stabilizací  $\beta$  hořkých kyselin během granulace chmele (Krofta et al. 2003).

## 7 Závěr

Výsledky diplomové práce, které popisují obsahy hořkých kyselin a xanthohumolu ve vybraných tuzemských a zahraničních odrůdách chmele, konkrétně v chmelových peletách typu T90, potvrzují stanovenou hypotézu. Obsahy hořkých kyselin, na které byla diplomová práce zaměřena především, se v některých případech skutečně výrazně neshodují s hodnotami deklarovanými v literatuře.

Česká odrůda Harmonie a německá odrůda Magnum jako jediné z analyzovaných odrůd splňovaly požadavky. Hodnoty uváděné v literatuře s naměřenými výsledky velmi dobře korespondovaly. Co se týče odrůd Agnus a Chinook, zde vykazovaly poměrně dobré výsledky pouze  $\beta$  hořké kyseliny, jejichž obsah korespondoval s obsahy uváděnými v literatuře. Odrůdy Lublin a Žatecký poloraný červeňák vykazovaly velmi nízké obsahy v případě  $\alpha$  i  $\beta$  hořkých kyselin. Obsah xanthohumolu byl relativně nízký u všech analyzovaných odrůd chmele v porovnání s literaturou.

Důvodem nízkého obsahu hořkých kyselin u některých analyzovaných odrůd by mohlo být nevyhovující skladování v prostorách pivovaru nebo u dodavatele chmelových produktů. Technologické pochybení během procesu sklizení, sušení nebo balení by stejně tak mohlo mít za následek výrazné snížení obsahu některých látek.

Stejně tak lze potvrdit, že šarže chmelových pelet může být signifikantním faktorem při porovnávání obsahu hořkých kyselin vzhledem k tomu, že variabilita mezi šaržemi v rámci některých odrůd byla poměrně vysoká. Různé obsahy ve vzorcích různých šarží v rámci jedné odrůdy by také mohly být způsobeny špatnými skladovacími podmínkami nebo též absencí inertní atmosféry vlivem mechanického poškození některého z balení chmelových pelet.



## 8 Literatura

Aitken RA, Bruce A, Harris J, Seaton JC. 1970. The bitterness of hop-derived materials in beer. *Journal of the Institute of Brewing* **76**:29-36.

Basarová G. 2010. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Vydavatelství VŠCHT, Praha.

Brex s.r.o. 2018. Chmelové produkty. Praha. Available from <https://www.brex.cz/chmelove-produkty/> (accessed February 2019).

Clarke BJ. Hop products. 1986. *Journal of the Institute of Brewing* **92.2**:123-130.

De Keukeleire J. et al. 2003. Formation and accumulation of  $\alpha$ -acids,  $\beta$ -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol during flowering of hops (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51.15**:4436-4441.

Hough JS, Briggs DE, Stevens R, Young TW. 1982. The chemistry of hop constituents. *Malting and Brewing Science*. 422-455.

Verzele M, De Keukeleire D. 2013. *Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids*. Elsevier, Amsterdam.

Chmelařské muzeum Žatec. 2015. Oblasti pěstování chmele. Žatec. Available from <http://www.chmelarskemuzeum.cz/cz/oblasti-pestovani-chmele-v-cr.htm> (accessed March 2019)

Craft Beer Academy. 2012. Hop Anatomy. Available from <https://craftbeeracademy.com/hop-anatomy/> (accessed January 2019).

De Keukeleire D. 2000. Fundamentals of beer and hop chemistry. *Quimica nova* **23.1**:108-112.

De Keukeleire D et al. 1992. The history and analytical chemistry of beer bitter acids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. **8**:275-280.

Drewett KG, Laws DJ. 1970. Chemistry of hop constituents. An improved synthesis of hop  $\beta$ -acids (lupulones). *Journal of the Institute of Brewing* **2**:188-190.

Edwardson JR. 1952. Hops—their botany, history, production and utilization. *Economic Botany* **6.2**:160-175.

Eyres G, Dufour JP. 2009. Pages 239-254 in *Hop essential oil: Analysis, chemical composition and odor characteristics*. In *Beer in Health and Disease Prevention*. Academic Press.

Howard GA, Tatchell AR. 1956. Evaluation Of Hops: New Approach to the Detailed Analysis of Hop Resins. *Journal of the Institute of Brewing* **1**:20-27.

- Karabín M, Brányik T, Kruliš R, Dvořáková M, Dostálek P. 2009. Využití chemicky modifikovaných hořkých látek v pivovarství. *Chemické listy. Ústav kvasné chemie a bioinženýrství. VŠCHT Praha* **103**:721–728.
- Kenny ST, Zimmermann CE. 1986. Registration of 'Chinook' hop. *Crop Science* **26.1**:196-197.
- Kosař K, Procházka S. a kol. 2000. Technologie výroby sladu a piva. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s., Praha.
- Krofta K. 2003. Comparison of quality parameters of Czech and foreign hop varieties. *Plant Soil and Environment* **49.6**:261-268.
- Krofta K, Nesvadba V, Tichá J, Urban J, Čepička J. 2003. Kvalitativní a ekonomické aspekty stárnutí českých odrůd chmele. *Kvasný průmysl*. **11-12**:326-335.
- Krofta K. 2003. Contents of xanthohumol in Czech hops. *Kvasný průmysl*, **49**:62-69.
- Krofta K, Míkyška A. 2014. Beta kyseliny chmele, význam a využití. Hop beta acids: Properties, Significance and Utilization. *Kvasný průmysl* **4**:96-105.
- Krofta K. 2013. Hodnocení kvality chmele–Metodika pro praxi. *Chmelařský institut, Žatec*.
- Brynda M, Krofta K, Nesvadba V. 2010. Rajonizace českých odrůd chmele. *Chmelařský institut s.r.o., Žatec*.
- Krofta K et al. 2017. Determination of Bitter Compounds in Hops–Effect of Crop Year and Hops Age. *Kvasný průmysl* **63.5**: 241–247.
- Kutňák M. (2011) Vlastnosti a využití chmele a chmelového extraktu. [BSc Thesis] Univerzita Tomáše Bati, Zlín.
- Lewis JC, Alderton G, Carson JF, Reynolds DM, Maclay WD. 1949. Lupulon and humulon-antibiotic constituents of hops. *The Journal of clinical investigation*, **5**:916-919.
- Mudura E et al. 2009. The evaluation of hop utilisation in brewing process. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* **15.2**:249-252.
- Murakami A et al. 2006. Molecular phylogeny of wild Hops, *Humulus lupulus* L. *Heredity* **97.1**:66.
- Krofta K, Nesvadba V. 2004. Atlas českých odrůd chmele. *Chmelařský Institut, Žatec*.
- Likens ST, Nickerson GB. 1979. Hop storage index. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **37**:184-187.
- Nickerson GB, Williams PA, Haunold A. 1986. Varietal differences in the proportions of cohumulone, adhumulone, and humulone in hops. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **2**:91-94.

- Palamand SR, Aldenhoff JM. 1973. Bitter tasting compounds of beer. Chemistry and taste properties of some hop resin compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **4**:535-543.
- Rigby FL, Bethune JL. 1955. Components of the Lead-precipitable Fraction of *Humulus lupulus*. *Adhumulone*. *Journal of the American Chemical Society* **10**:2828-2830.
- Stevens R. 1967. The chemistry of hop constituents. *Chemical Reviews* **67.1**:19-71.
- Štrynclová B. 2010. Analýza vybraných znaků rostlin chmele ovlivňujících rychlost transpirace. [BSc Thesis]. Masarykova univerzita, Brno.
- Piraneo TG, Bull J, Morales MA, Lavine LC, Walsh DB, Zhu F. 2015. Molecular mechanisms of *Tetranychus urticae* chemical adaptation in hop fields. *Scientific reports* **5**:17090.
- Kršková I. 2017. Sklizňové plochy chmelnic v České republice 2017. ÚKZÚZ. Available from <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/trvale-kultury/skliznove-plochy-chmelnic-v-ceske.html> (accessed January 2019).
- Weber KA, Jangaard NO, Foster RT. 1979. Effects of postharvest handling on quality and storage stability of cascade hops. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **37.2**: 58-60.
- Wilson DG. 1975. The history of *Humulus*: Plant remains from the Graveney boat and the early history of *Humulus lupulus* L. in W. Europe. *New Phytologist* **75.3**:627-648.
- Wöllmer W. 1925. Über die Bitterstoffe des Hopfens. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* **4**:672-678.
- Zanoli P, Zavatti M. 2008. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *Journal of ethnopharmacology* **116.3**:383-396.
- Zeković Z, Pfaf-Šovljanski I, Grujić O. 2007. Supercritical fluid extraction of hops. *Journal of the Serbian Chemical Society* **72.1**.

