

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

304 283

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C12C 3/00

(2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLového
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2013-76**
(22) Přihlášeno: **05.02.2013**
(30) Právo přednosti:
05.02.2013 CZ
(40) Zveřejněno: **12.02.2014**
(Věstník č. 7/2014)
(47) Uděleno: **02.01.2014**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **12.02.2014**
(Věstník č. 7/2014)

(56) Relevantní dokumenty:

US 4939189; 71318; 71319; 71320.

(73) Majitel patentu:

Chmelařský institut s. r. o., Žatec, CZ
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s.,
Praha 2, CZ

(72) Původce:

Krofta Karel Ing. Ph.D., Žatec, CZ
Mikyška Alexandr Ing., Praha 3 - Vinohrady, CZ

(74) Zástupce:

Mgr. Ing. Stanislav Babický, Budovatelů 2407,
Most, 43401

(54) Název vynálezu:

**Způsob přípravy hořčicích látek z beta
kyselin chmele**

(57) Anotace:

Způsob přípravy hořčicích látek z beta kyselin chmele spočívá v tom, že se roztok obsahující 20 hmotnostních dílů beta kyselin chmele a 60 až 120 hmotnostních dílů ethanolu o čistotě nejméně 99,9 % obj. smísí se suspenzí obsahující 100 hmotnostních dílů inertního nosiče a 200 až 300 hmotnostních dílů ethanolu, pak se směs zhomogenizuje, pak se s ní odpaří ethanolu za tlaku 60 až 80 kPa, a pak se nechá reagovat se vzdušným kyslíkem po dobu 20 až 200 hodin při teplotě -18 až 25 °C.

CZ 304283 B6

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele

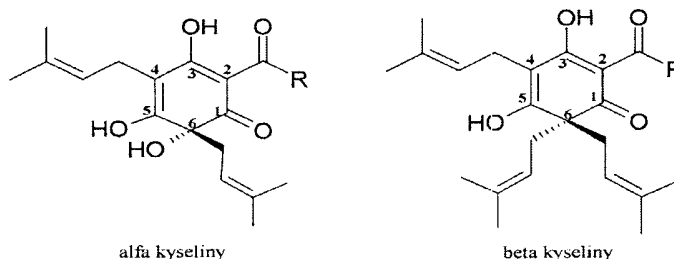
Oblast techniky

Vynález se týká způsobu přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele.

Dosavadní stav techniky

Chmelové pryskyřice jsou z pivovarnického hlediska nejdůležitější složky chmele. Jejich transformační produkty, které se tvoří při chmelovaru, jsou zdrojem typické hořkosti piva, stabilizují pивní pěnu a díky antiseptickým účinkům zvyšují biologickou trvanlivost piva (Haas, G. J.: J. Food Protection 57, 59–61, 1994). Nejdůležitější podíl na celkové hořkosti piva patří transformačním produktům alfa kyselin chmele, které se při chmelotvaru izomerují na příslušné cis- a trans-iso- α -kyseliny (Jaskula, B.: J. Am. Soc. Brew. Chem. 67, 44–57, 2009). Jejich hořkost, změny v průběhu stárnutí piva, autooxidační reakce a další vlastnosti jsou dobře popsány (Hughes, P.: J. Am. Soc. Brew. Chem. 54, 234–237, 1996). Byly také zpracovány kinetické studie izomerační reakce alfa kyselin chmele za různých podmínek chmelovaru (Malowicki, M. G.: J. Agric. Food Chem. 53, 4434–4439, 2005).

Chování beta kyselin chmele za stejných podmínek, je zcela odlišné. Vzhledem k tomu, že neobsahují terciální alkoholovou skupinu v aromatickém jádru, nemohou izomerovat jako alfa kyseliny chmele.



Beta kyseliny přítomné ve chmelu jsou citlivé k oxidačním reakcím iniciovaným vzduchem (Laws, D. R.: J. Inst. Brew. 74, 178–182, 1968). K oxidaci většího rozsahu dochází během dlouhodobého skladování nezpracovaných hlávek. Nejdéle známými oxidačními produkty rozkladu beta kyselin chmele jsou hulupony (Aitken, R. A.: J. Inst. Brew. 76, 29–36, 1970). Na rozdíl od jiných látek byla existence huluponů potvrzena i v nedávných studiích (Haseleu et al.: J. Agric. Food. Chem. 57, 7480–7489, 2009). Koncentrace huluponů v pивu je odhadována na 1 až 2 mg/l. Hulupony vznikají i ve chmelu během dlouhodobého skladování. V čerstvě sklizeném chmelu není obsah huluponů vyšší než 0,5 % hmotn., v průběhu stárnutí jejich obsah stoupá. Data o jejich obsahu ve chmelu se však rozcházejí.

V pivovarnictví se senzoricky uplatňují zejména rozkladné a transformační produkty beta kyselin chmele (Haseleu, G.: Food Chemistry, 116, 71–81, 2009). Zcela nové informace přinesly nejnovější práce, které již využily možnosti moderních chromatografických metod, např. kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC–MS) a detekčních systémů, např. analyzátor doby letu (TOF), nukleární magnetická rezonance (NMR) aj. Haseleu et al. (J. Agric. Food. Chem. 58, 7930–7939, 2010) objevili ve frakcionovaných chmelových extraktech, které podrobili modelovým chmelovarům, sedm dosud neznámých degradačních produktů beta kyselin chmele vykazující hořkou chuť. Kromě již dříve známých huluponů byly v médiu určeny struktury dalších látek, 2 epimery hydroxytricyklolupulonu, 2 epimery dehydrotricyklolupulonu, 2 epimery hydroperoxytricyklolupulonu a nortriacyklolupulon. Podle autorů studie vykazovaly všechny nově určené degradační produkty ulpívající hořkost se senzorickým prahem v rozmezí 38 až 90 $\mu\text{mol/l}$. Naproti tomu hulupony vykazovaly krátce doznívající mírnou hořkost podobnou hořkosti iso- α -

kyselin chmele. Ze všech zkoumaných látek měly hulupony nejnižší práh senzorické hořkosti v rozmezí 8 až 15 $\mu\text{mol/l}$.

Vliv beta kyselin chmele na senzorickou kvalitu piva však není dosud zcela objasněn. Významnou vlastností beta kyselin chmele jsou silné antibakteriální účinky proti mnoha kmenům bakterií. Tato vlastnost se průmyslově využívá v ochraně potravin proti bakteriální kontaminaci bakterií typu *Listeria monocytogenes*. Beta kyseliny chmele se aplikují v koncentracích 6 až 15 ppm ve formě alkalického roztoku (Millis, J., Schendel, M.: US Patent 5 286 506; 1992). Další oblastí využití antiseptických vlastností beta kyselin chmele je cukrovarnický průmysl, kde k potlačení bakteriální kontaminace ve výrobním procesu nahradily dosud používaný formaldehyd (Hein, W., Pollach, G.: Zuckerindustrie, 122, Nr. 12, 940–949, 1997). Aktivita beta kyselin chmele ve formulacích používaných v potravinářství se zvyšuje rozpuštěním aktivní substance v ethanolu či propylenglykolu potravinářské kvality s přidavkem organické kyseliny, draselné soli a antioxidantu (Seman, D., Hirschley, J. A., Milkowski, A., Barney, M.: British patent 2 399 484, 2003).

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele podle vynálezu použitelný při výrobě piva nebyl dosud v literatuře popsán.

Podstata vynálezu

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele spočívá v tom, že se roztok obsahující 20 hmotnostních dílů čistých beta kyselin chmele a 60 až 120 hmotnostních dílů ethanolu o čistotě nejméně 99,9 % obj. smísí se suspenzí obsahující 100 hmotnostních dílů inertního nosiče a 200 až 300 hmotnostních dílů ethanolu, pak se směs zhomogenizuje, pak se z ní odpaří ethanol za tlaku 60 až 80 kPa a pak se nechá reagovat se vzdušným kyslíkem po dobu 20 až 200 hodin při teplotě -18 až 25 $^{\circ}\text{C}$.

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele podle vynálezu umožňuje nanášet beta kyseliny chmele na povrch inertního nosiče v tenké vrstvě. V takové formě jsou beta kyseliny chmele snadno a rychle oxidovatelné působením vzdušného kyslíku. Řízená oxidace, která je závěrečnou fází způsobu přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele podle vynálezu, se provádí ponecháním polotovaru při různých teplotách po definovanou dobu. Během expozice dochází k transformaci původních beta kyselin chmele na směs oxidačních produktů, které se po přidání do chmelovaru při výrobě piva projeví výraznou hořkostí.

Při teplotě 20 $^{\circ}\text{C}$ se za 24 hodin transformuje více než 95 % původních beta kyselin chmele. Transformace při nižších teplotách je znatelně pomalejší. Stupeň transformace se zjistí chromatografickou analýzou produktů na základě obsahu zbylých beta kyselin chmele. Transformační produkty představují složitou směs látek různých struktur, mezi nimiž převládají hulupony a polycyklické deriváty beta kyselin chmele.

Srovnávací varní pokusy ukázaly, že hořčící vydatnost látek vyrobených způsobem přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele podle vynálezu dosahuje přibližně 40 % hořkosti alfa kyselin chmele přídatných za srovnatelných podmínek.

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele podle vynálezu byl vytvořen na základě zjištění, že když se přidají do chmelovaru beta kyseliny chmele, vůbec nedojde k nahořčení piva. Teprve když se beta kyseliny chmele nechají zoxidovat na vzduchu, tak teprve produkty oxidace způsobí nahořčení piva. Hořčícími látkami jsou v tomto případě rozkladné produkty beta kyselin chmele.

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele podle vynálezu je založen na oxidaci beta kyselin chmele nanesených na pevný nosič. Rozptýlení beta kyselin chmele do tenké vrstvy na

povrchu inertního nosiče má za následek, že oxidace beta kyselin chmele je při teplotě 20 až 25 °C velmi rychlá. Regulací teploty při oxidaci lze rychlost transformace ovlivňovat.

5 Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1

- 10 Do kádinky o objemu 250 ml se naváží 20 gramů čistých beta kyselin chmele a rozpustí se v 80 g čistého ethanolu o koncentraci 99,9 % obj. V kádince o objemu 500 ml se souběžně připraví suspenze 100 gramů inertního nosiče, kterým je pevný sorbent, v tomto případě mikronizovaná celulóza, ve 240 g čistého ethanolu o koncentraci 99,9 % obj. Ethanolový roztok beta kyselin chmele se poté smísí se suspenzí pevného sorbentu v ethanolu. Směs se důkladně zhomogenizuje mecha-
- 15 nickým třepáním po dobu 2 minut. Po homogenizaci se ethanol odpaří za sníženého tlaku 60 až 80 kPa v rotačním vakuovém odpařováku. Výsledkem je sypký poloprodukt, který se ponechá na Petriho misce v temné místnosti při teplotě 20 °C reagovat se vzdušným kyslíkem po dobu 24 hodin.
- 20 Alternativně lze poloprodukt vložit do lednice při teplotě +4 °C, případně do mrazicího boxu při teplotě -18 °C, a ponechat jej volně na vzduchu reagovat se vzdušným kyslíkem, v těchto případech až po dobu 168 hodin.

- Během oxidace dochází k transformaci původních beta kyselin chmele na směs oxidačních produktů, které lze použít při chmelení piv k dosažení požadované senzorické hořkosti.
- 25

- Tabulka 1 uvádí hodnoty vyjadřující rychlost oxidace beta kyselin chmele vzdušným kyslíkem jako relativní úbytek původních beta kyselin chmele v čase (% rel) po nanesení beta kyselin chmele na mikronizovanou celulózu, což charakterizuje dynamiku transformace v závislosti na
- 30 teplotě a reakční době.

Tabulka 1 – Rychlost oxidace beta kyselin chmele na vzduchu po nanesení na inertní nosič – mikronizovaná celulóza (% rel.)

35

Umístění	Teplota (°C)	Doba oxidace (hodiny)			
		24	48	96	168
temná místnost	20	96,9 %	98,3 %	98,6 %	98,8 %
lednice	+4	32,2 %	85,7 %	94,0 %	95,5 %
mrazicí box	-18	11,1 %	17,0 %	25,7 %	29,8 %

- Tabulka 2 uvádí hořkosti mladín, mladých piv a hotových piv po přidavku látek vyrobených způsobem přípravy hořčicích látek z beta kyselin chmele podle vynálezu do chmelovaru v různých časových okamžicích.
- 40

Tabulka 2 – Analytické hořkosti mladín, mladých piv a piv

Doba a teplota oxidace, čas dávkování při chmelovaru	Dávka* (g/hl)	Hořkost (IBU**)		
		mladina	mladé pivo	pivo
48 hodin oxidace při teplotě 20 °C, dávkování na začátku chmelovaru	20,0	39,7	28,5	26,6
48 hodin oxidace při teplotě 20 °C, dávkování 15 minut před koncem chmelovaru	20,0	38,2	29,3	28,5

* množství původních beta kyselin chmele před transformací

**IBU – mezinárodní jednotka hořkosti

Příklad 2

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele se provádí stejně jako v příkladu 1, pouze místo mikronizované celulózy se jako inertní nosič použije mletý chmel po extrakci chmele oxidem uhličitým či ethanolem. Tabulka 3 uvádí hodnoty vyjadřující rychlost oxidace beta kyselin chmele vzdušným kyslíkem jako relativní úbytek beta kyselin chmele v čase (% rel) po nanesení beta kyselin chmele na jemně mletý odhořčený chmel.

Tabulka 3 – Rychlost oxidace beta kyseliny chmele na vzduchu po nanesení na inertní nosič – jemně mletý odhořčený chmel (% rel.)

Umístění	Teplota (°C)	Doba oxidace (hodiny)			
		24	48	96	168
temná místnost	20	50,0 %	73,1 %	86,0 %	97,4 %
lednice	+4	20,1 %	45,5 %	66,8 %	93,3 %
mrazicí box	-18	7,8 %	10,1 %	18,9 %	25,9 %

Rychlost oxidace beta kyselin chmele je v porovnání s příkladem 1, v němž byla použita mikronizovaná celulóza, pomalejší, protože síla vrstvy beta kyselin chmele na povrchu částic mletého chmele je silnější, a tudíž jsou beta kyseliny chmele obtížněji přístupné oxidačnímu působení vzdušného kyslíku.

Průmyslová využitelnost

Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele je průmyslově využitelný v pivovarské výrobě ke chmelení speciálních piv.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob přípravy hořčících látek z beta kyselin chmele, **vyznačující se tím**, že se roztok obsahující 20 hmotnostních dílů beta kyselin chmele a 60 až 120 hmotnostních dílů etha-

nolu o čistotě nejméně 99,9 % obj. smísí se suspenzí obsahující 100 hmotnostních dílů inertního nosiče a 200 až 300 hmotnostních dílů ethanolu, pak se směs zhomogenizuje, pak se z ní odpaří ethanol za tlaku 60 až 80 kPa, a pak se nechá reagovat se vzdušným kyslíkem po dobu 20 až 200 hodin při teplotě -18 až 25 °C.

5

10

Konec dokumentu
