VÝZKUMNÝ ÚSTAV
PIVOVARSKÝ A SLADAŘSKÝ V PRAZE
Pracoviště BRNO Mostecká 7

8

srpen 1969

ročník 15

Kvasný průmysl

ODBORNÝ ČASOPIS PRO PRACOVNÍKY V KVASNÝCH PRŮMYSLECH

Chemie polyfenolových látek (tříslovin) chmele a jejich pivovarský význam
I. Základní polyfenolové složky

JOSEF MOŠTEK, katedra kvasné chemie a technologie VŠCHT, Praha

663.423:547.98

Obecné vlastnosti polyfenolových látek chmele

Chmelové třísloviny, resp. polyfenolové látky, jsou proti sladovým mnohem početnější skupinou, nebo alespoň lépe probádanou skupinou rostlinných tříslovin. Chmelové třísloviny jsou na rozdíl od ječných ve vodě rozpustnější a pro svoji větší reaktivnost nestálejší. Chuťové rozdíly ječných a chmelových tříslovin způsobuje zejména rozdílný stupeň jejich disperzity. Chmelová tříslovina chrání svou snadnější oxidovatelností, a tím pak větší aktivitou srážet bílkoviny, před oxidací a tvorbou komplexů s bílkovinami hořké látky chmele, zejména α-hořké kyseliny. Svými dehydratačními účinky způsobuje aglutinaci i jinak nesrazitelných bílkovin (1). V tomto smyslu má rovněž stabilizační účinek (2). Z chemických vlastností vyniká jejich redukční schopnost, neboť se tyto látky samy snadno oxidují (3—8). Významná část jich náleží do skupiny flavonoidů. Kromě katechinů se v přírodě vyskytují zpravidla ve formě glykosidů, ojediněle i ve formě aglykonů (8, 9).

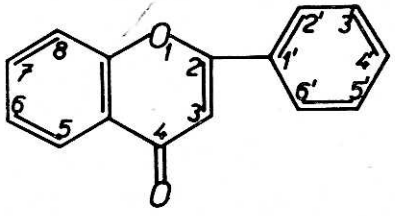
Dělení a chemismus chmelových látek polyfenolového typu

Základní práce v klasifikaci a identifikaci chmelových látek polyfenolového typu provedli v letech 1954 až 1957 *Bengough, Harris* a *Ricketts* (10—12). Jejich klasifikační systém používáme zde jako skelet, a to jak pro chemismus chmelových látek polyfenolového typu v širším smyslu, tak i pro jejich pivovarskotechnologický význam.

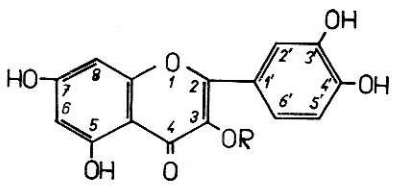
Harris (11) rozdělil chmelové třísloviny do pěti skupin:

I. *Skupina flavonolových glykosidů*

Typickým představitelem je zde rhamnosyl kvercetinu, zvaný kvercitrin. Dále sem patří ještě kaempferithrin, myricitrin a řada jiných, dosud přesně neidentifikovaných triglykosidů a polyglykosidů. Flavonoly ve formě aglykonů se vyskytovaly jen v nepatrné míře.



flavon, 2-fenyl-γ-benzopyron, základní skelet flavonových derivátů. Flavonol je pak 3-hydroxy-flavon (3, 8)



kvercetin (flavonol)

U glykosidu kvercitrinu je R = rhamnosyl a jeho výskyt ve chmelu nebyl dosud jednoznačně prokázán (9, 11, 13, 14). Cukernou složkou R u izokvercitrinu je glukosyl. β-L-rhamnozido-6-D-glykosylová složka (= R) je součástí rutinu (má obdobné antiskorbutické vlastnosti jako vitamín P (15). Pentahydroxyderivát, u něhož substituent v poloze 3' = = — H, je kaempferol.

Kaempferithrin má jako cukernou složku R rhamnozidorhamnosyl. Hexahydroxyderivát, u něhož substituent v poloze 5' je hydroxyl, je myricitrin. U myricitrinu je cukerná složka R zastoupena rhamnosylem. Jeho výskyt ve chmelu je zatím sporný.

Izokvercitin a rutin byly zjištěny také v japonských chmelech (11, 16). *Harris* (11) usuzuje, že ostatní flavonolové deriváty jsou pravděpodobně triglukosidy a polyglukosidy.

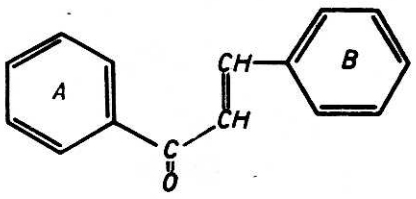
Významným příspěvkem k chemotaxonomii chmelů, zejména žateckých, podle obsahů flavonolových glykosidů a volných flavonolů jsou z posledních let práce *Hubáčka* a *Trojny* (9, 13, 14, 17). Kromě *Harrisem* (11) stanovených flavonolových glykosidů nalezli *Hubáček* a *Trojna* ve chmelu (čs. klon 126) ještě další čtyři flavonolové glykosidy: 1. kaempferol-3-rhamno-diglukosid, 2. kvercetin-3-rhamno-diglukosid, 3. kaempferol-3-rhamno-glukosid, 4. kaempferol-3-glukosid (astragalin).

Celkový obsah flavonolů (vyjádřeno jako rutin) zjišťovali v hlávkách několika odrůd chmele různé provenience *Umede a Koshihara* (16, 18), podle nichž má na obsah flavonolů ve chmelu vliv odrůda a půdní a klimatické podmínky; pohybuje se v širokém rozmezí, od 0,14 do 0,85 % v sušině. *Lebreton* (19) stanovil kvantitativní poměr kvercetinu: kaempferolu v průběhu zrání chmele na rozsah 1 : 2,17 až 1 : 3,58 při téměř konstantním celkovém absolutním množství 0,43 ± 0,06 %.

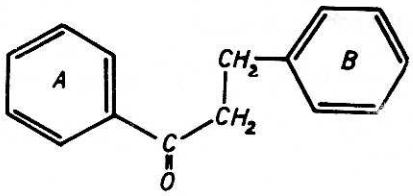
Poměr kaempferol : kvercetin v době technické zralosti u řady odrůd typu žateckého červeňáku, pěstovaných v ČSSR, SSSR, NSR, a u jiných zahraničních odrůd chmelů není konstantní. Tímto kritériem se podařilo odlišit odrůdy žateckého typu od hallertauského červeňáku a anglických odrůd typu Golding (13, 14). Nejnižší hodnoty, v rozsahu 1 : 1,5 až 1,9 ± 0,1, jsou charakteristické pro odrůdy pěstované v ČSSR, mezi nimiž vůbec nejnižší hodnotu má žatecký poloraný červeňák, u něhož hodnota kolísá od 1 : 1,90 do 3,60 ± 0,1. Maximální hodnoty dosahuje u typicky hrubých zeleňáků amerických (9, 13, 14, 17). Rozdílná tržní jakost téže odrůdy nevykazuje změny v poměru flavonolových aglykonů.

Samostatně mimo skupinu polyfenolů, resp. hydroxyflavonolových tříslovin, se řadí ještě látky jim velmi příbuzné, vzniklé rozštěpením vazby v poloze 1, 2, tj. chalkony, dihydrochalkony a aurony (3, 20, 21).

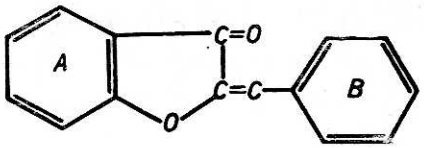
Chalkony ve chmelu stanovil *Burges* a *Tatchel* (21); z biogenetického hlediska tvoří spojovací můstek s hořkými látkami chmele.



chalkon



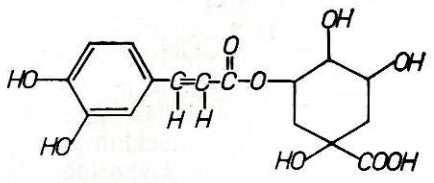
dihydrochalkon



auron

II. *Skupina látek typu kyseliny chlorogenové*

Skupina látek typu kyseliny chlorogenové tvoří značný podíl celkového obsahu chmelových tříslovin (11). Ve chmelu byla také identifikována kyselina neochlorogenová (22). Kyselina chlorogenová a její deriváty tvoří spojovací můstek se saponiny (8).



kyselina chlorogenová (didepsid kyseliny kávové a chinové

Do této skupiny dále patří kyselina kávová, chinová, protokatechová, gallová, vanilínová, syringová, ferulová a řada dalších, dosud přesně neidentifikovaných aromatických hydroxykyselin a metoxykyselin; ty jsou zpravidla odvozeny od kyseliny *p*-hydroxybenzoové nebo kyseliny kávové.

Deriváty kyseliny *p*-hydroxybenzoové

Jestliže:

$R_1 = R_3 = -H$ a $R_2 = -OH$, jde o kyselinu *p* hydroxybenzoovou,

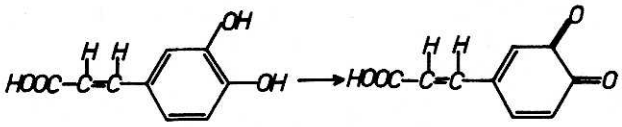
$R_1 = R_2 = -OH$ a $R_3 = -H$, jde o kyselinu protokatechovou,

$R_1 = R_2 = R_3 = -OH$, jde o kyselinu gallovou,

$R_1 = H$, $R_2 = -OH$ a $R_3 = -OCH_3$, jde o kyselinu vanilínovou,

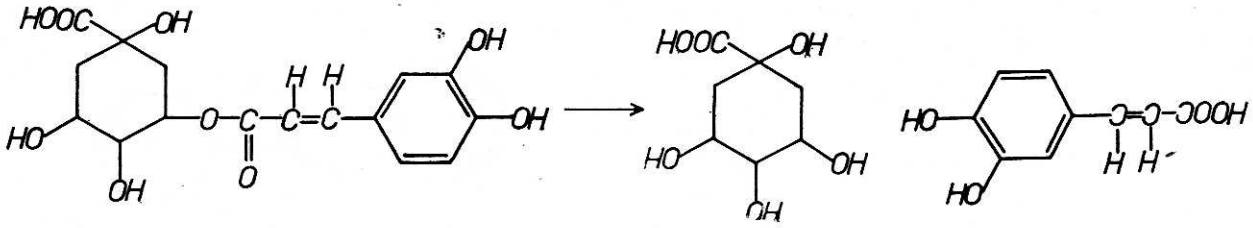
$R_1 = R_3 = -OCH_3$, $R_2 = -OH$, jde o kyselinu syringovou.

Oxidační změny těchto kyselin probíhají v prvním stupni zpravidla na *o*-chinony, které mohou dále tvořit oligomery a polymery obdobným chemismem, jak bude v části II. uvedeno pro flavonoidní látky [4].

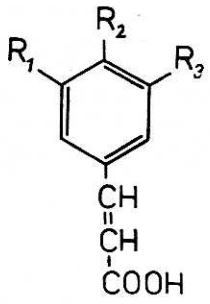


kyselina kávová *o*-chinon kyseliny kávové

Proces enzymové hydrolýzy látek typu kyseliny chlorogenové lze orientačně vyjádřit takto:



kyselina chlorogenová kyselina chinová kyselina kávová



deriváty kyseliny kávové

Jestliže:

$R_1 = R_2 = -OH$, $R_3 = -H$, jde o kyselinu kávovou,

$R_1 = R_3 = -H$, $R_2 = -OH$, jde o kyselinu kumarovou,

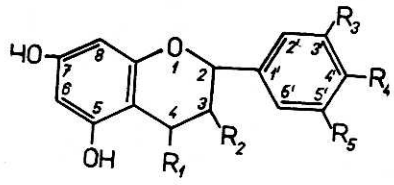
$R_1 = -H$, $R_2 = -OH$, $R_3 = OCH_3$, jde o kyselinu ferulovou.

Některé z obou těchto řad kyselin jsou v malém množství přítomny ve chmelu v monomerní formě, ostatní vznikají jako produkt kyselé, alkalické nebo enzymové hydrolýzy polymerní chmelové třísloviny (podrobněji viz II. část).

Působením enzymu tyrozinázy se kyselina chlorogenová i kyselina kávová převádějí v *o*-chinony, které mohou dále deaminovat aminokyseliny za tvorby amoniaku. Tento typ enzymových přeměn je příčinou v pivovarské praxi dobře známého hnědnutí mladiny a piva [24]. Inhibičně pro tento typ reakcí, resp. na aktivitu polyfenoloxidáz, působí sirné sloučeniny [15]. Proto také se chmel při sušení síří. V pivě obdobně inhibičně působí cystein [25].

III. *Skupina antokyanogenů*

Tuto skupinu chmelových polyfenolů tvoří antokyanidiny a jejich leukoformy, představované zejména deriváty 5, 7-dihydroxyflavanových.

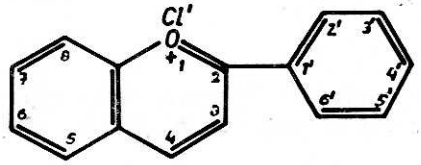


základní skelet 5, 7-dihydroxy-flavanových derivátů

Substituenty R_1 až R_5 jsou u chmelových třísloviny představovány zejména skupinami —H nebo —OH, zřídka také $-OCH_3$.

Patří sem kyanidin a delfinidin a jejich leukoformy leukokyanidin a leukodelfinidin. Tyto leukoformy zahříváním se směsí minerální kyseliny (na příklad HCl) a organického rozpouštědla (*n*-butanol, *n*-pentanol) dávají barevné zplodiny typu oxoniových solí, tj. např. kyanidinchlorid a delfinidinchlorid (viz dále).

Aglykony antokyaninů se v odborné literatuře označují jako antokyanidiny a odvozují se od flavylium-chloridu podobnou substitucí hydroxylovými skupinami, jak bylo uvedeno pro aglykony fenylbenzopyronové (8).



flavylium-chlorid

Všechny aglykony mají hydroxylovou skupinu v poloze 3, 5, 7 (s výjimkou gesneridinu) a v poloze 4'. Další hydroxylové skupiny v polohách 3' a 5' mohou být substituovány metoxyskupinou.

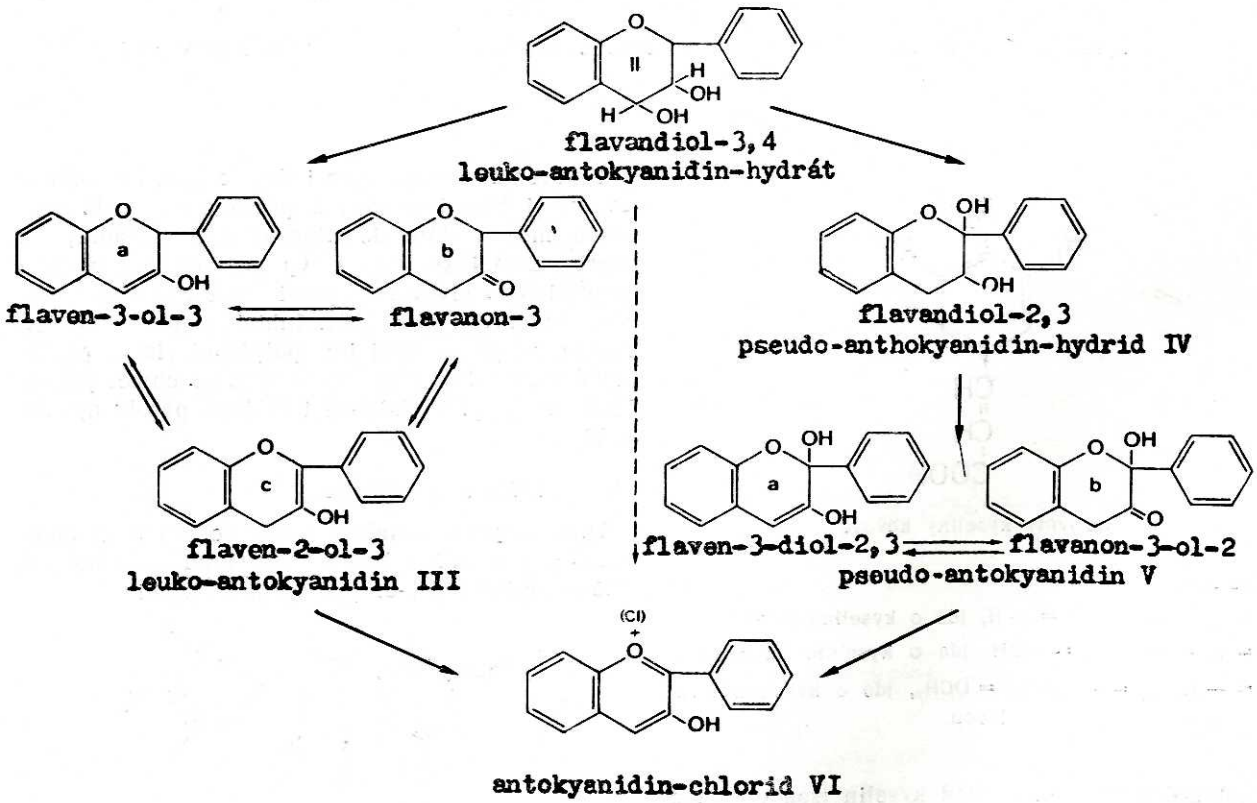
Podle názoru *Freudenberga* a *Weingese* [8a] nejsou bezprostředními předstupni tvorby antokyanidinů flavan-3,4-dioly, nýbrž tautomerní flavenoly (viz obr. 1, složky IIIa — c), resp. pseudoantokyanidinhydridy (viz obr. 1, složky IV a Va — b).

Sacharidy zúčastněné na tvorbě glykosidické vazby jsou nejčastěji D-glukóza a D-galaktóza, méně L-rhamnóza a ojediněle D-xylóza. Z identifikovaných disacharidů lze uvést pouze gentiobiózu, disacharid složený z D-glukózy a L-rhamnózy je pravděpodobně rutinóza.

Na hydroxylové skupině cukerné části glykosidů nebo jejich aglykonů bývá někdy esterově vázána organická kyselina, jako kyselina *p*-hydroxybenzoová nebo malonová [8].

Polohy glykosidické vazby a dalších složek slouží za podklad pro klasifikační systém antokyaninů [8].

Ve chmelu se antokyaniny vyskytují především ve stonku révy červeňáků a poločervеňáků (smetanové chmely). V listenech a palistech chmelové hlávky jde zpravidla o leukoformy antokyaninů, tj. leukoantokyaniny. Barevnost těchto derivátů se vysvětluje vodivým uspořádáním elektronů flavyliového kruhu [3].

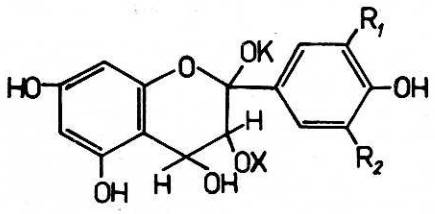


Obr. 1. Vzájemné vztahy látek flavonoidního typu podle Freudenberga a Weingese (8a).

Struktura leukoantokyanidinů jako pravděpodobných prekursorů antokyaninů, popř. antokyanidinů, není dosud zcela objasněna a látky tvořící zahříváním s minerálními kyselinami karmínově hnědé zbarvení rozpustné v *n*-amylalkoholu se proto souborně označují jako antokyanogeny, proantokyanidiny [4,12—14, 23, 26]. V pivovarské chemii se toto označení někdy zužuje na názvy kyanigen a delfinigen, jež označují látky poskytující antokyanidiny, kyanidin a delfinidin [27].

Haboucha [28] zavedl v pivovarské analytice pojem *rozpustné antokyanogeny,* které zůstávají v rozpustné formě po srážení 20% síranem amonným.

Strukturní vzorce leukoantokyanů [29] bývají často uváděny i pro antokyanogeny [30].



pravděpodobná strutura leukoantokyanu (antokyanogenu)

Význam symbolů:

X = — H nebo cukerná složka,

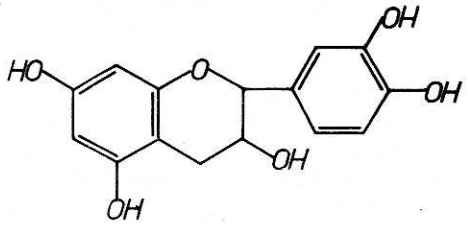
K = — H nebo hydroxyflavanol [23], pak jde o biflavonoidní antokyanogen,

R_1 a R_2 = —H, —OH, —OCH_3, viz např. dále pro kyanidin a delfinidin [31].

Typ chemické reakce antokyanogenů při zahřívání s minerálními kyselinami za vzniku oxoniových solí třešňově červeně zbarvených lze schematicky vyjádřit takto [32, 33]:

U divokých chmelů bylo nalezeno obdobné poměrné zastoupení leukokyanidinu k leukodelfinidinu jako u chmelů šlechtěných [11, 32].

Z pozdější práce *Harrise* a *Rickettse* [36] vyplynulo, že i chmel obsahuje d(+)—katechin, dále epikatechin a jejich polymerní formy. Leukoformy antokyaninů sladu a chmele jsou si svými vlastnostmi a strukturou velmi blízké, ne-li totožné. V roce 1936 zjistili *Rollman* a *Vancraenenbroeck* [23], že katechin je druhou stavební složkou hlavního biflavonoidního antokyanogenu chmele.

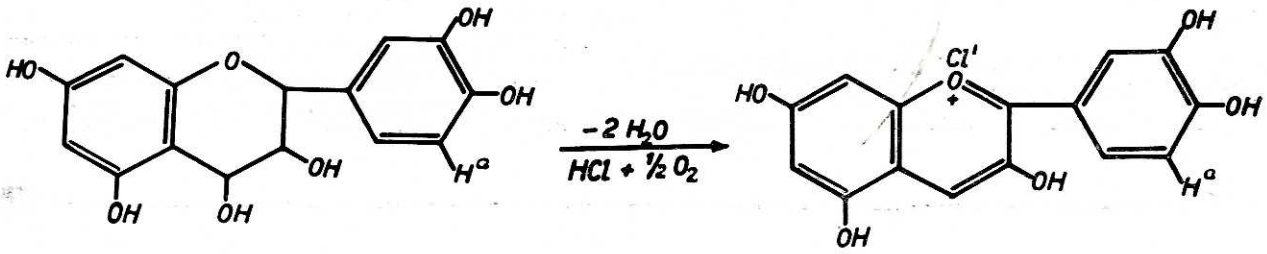


d(+)—katechin

Jestliže substituent v poloze 5' se místo —H rovná —OH, jde o gallokatechin.

Katechiny mohou tvořit řadu izomerů. Vzhledem k poloze vodíku na uhlíku 2 a 3 vznikají dva optické izomery typu trans- a dva izomery typu cis- (epikatechin).

Esterifikací hydroxylové skupiny na třetím uhlíku katechinu a gallokatechinu kyselinou gallovou vznikají 3-galloyl-katechin a 3-galloyl-gallokatechin [9, 37] (vzorec viz str. 174).



Je-li H^a = —OH, jde před reakcí o leukodelfinidin a po reakci o delfinidin (—chlorid).

leukokyanidol(-in), (antokyanogen, kyanigen) flavan-3-4-diol

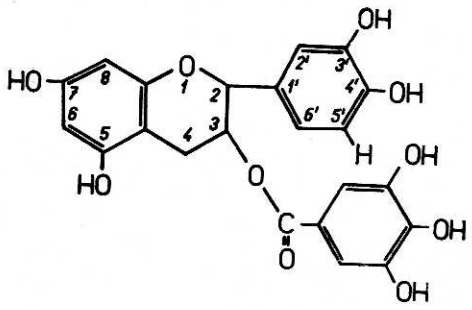
kyanidol(-in), chlorid kyanidin [12]

Tento typ reakce poukazuje na příbuznost antokyanogenů s další skupinou látek vyskytujících se v přírodě — antokyanidinových pigmentů. U většiny chmelů je několikanásobná převaha kyanidinů, resp. kyanigenů, nad delfinidinem, resp. dilfinigenem [11, 34]. *Bate-Smith* a *Lerner* [35] stanovili biogenetický vztah mezi antokyanogeny a ligniny.

Důležitou vlastností katechinů je jejich schopnost kondenzovat ve větší molekuly s výraznějším třísloviným charakterem. Tuto kondenzaci podporuje sluneční záření a vzdušný kyslík (viz část II).

IV. Skupina látek typu kumarinů

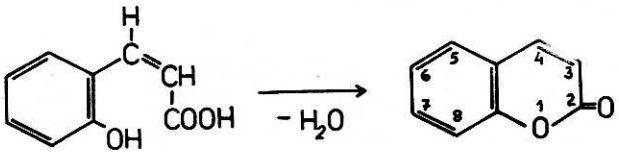
Kumariny jsou většinou rozšířeny ve formě aglykonů, neboť mnohdy jejich struktura ani glykosidic-



3-galloyl-katechin

Jestliže substituent v poloze 5′ se místo —H rovná —OH, jde o 3-galloylgallokatechin. Možnosti uspořádání substituentů jsou velmi početné.

kou vazbu nepřipouští. Pokud jsou glykosidy s kumarinovým jádrem známy, odvozují se od níže uvedeného kumarinu, substituovaného hydroxylovými skupinami v polohách 6, 7, nebo 8, z nichž jedna zprostředkuje glykosidickou vazbu. Nejčastěji jde o β-D-glukosidy (8).



kyselina *o*-hydroxyskořicová kumarin

V. Skupina volně přítomných kyselých fenolů

Tuto skupinu tvoří velká směs různých volně přítomných látek fenolového typu kyselé povahy [11].

Souhrn

V rámci Harrisova klasifikačního systému polyfenolových látek chmele je podána jejich chemická a fyzikálně chemická charakteristika. U nejdůležitějších z nich je posouzen jejich pivovarský význam. Jsou uvedeny odlišné znaky ve skladbě polyfenolových látek chmele žatecké provenience od chmelů zahraničních.

Lektoroval J. Hubáček

Literatura

[1] MOŠTEK, J. - DYR, J.: Sborník VŠCHT v Praze, Potravin. technol. **6**, část 2, 1962, 195.
[2] MOŠTEK, J. - TOLAR, J.: Sborník VŠCHT v Praze, E 16 Potraviny, 1967: 5.
[3] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. - LUKÁŠOVÁ-NOVOTNÁ, M.: Kvasný průmysl **5**, 1959: 153.
[4] STOCKER, H. R.: Schweitzer Brauerei-Rundschau, **78**; 1937: 33.
[5] HATHWAY, D. E. - SEAKINS, J. W. T.: Biochem. J. **65**, 1957: 32.
[6] HATHWAY, D. E. - SEAKINS, J. W. T.: Biochem., J. **65**, 1957: 239.
[7] LHOEST, W. a SPOL.: Bull. Assoc. Etud., Ecole super brass. univ. Louvain, 1953: 3.
[8] VYSTRČIL, A.: Rostlinné glykosidy, Praha SNTL, 1957.
[8a] FREUDENBERG, K. - WEINGES, K.: Lieb. Ann. Chem. **61**, 1958: 613.
[9] HUBÁČEK, J.: Kandidát. disert. práce na VŠCHT v Praze, 1964.
[10] BENGHOUGH, W. J. - HARRIS, G.: J. Inst. Brew. **61**, 1955: 134.
[11] HARRIS, G. - RICKETTS, R. W.: J. Inst. Brew. **62**, 1956: 390.
[12] HARRIS, G. - RICKETTS, R. W.: J. Inst. Brew. **64**, 1958: 22.
[13] HUBÁČEK, J. - TROJNA, M.: Kvasný průmysl **10**, 1964: 169.
[14] HUBÁČEK, J. - TROJNA, M.: Kvasný průmysl **10**, 1964: 193.
[15] HENNIG, K. - BURGHARDT, R.: Weinberg und-Keller, 1957: 374.
[16] UMEDA, Y. - KOSHIHARA, M.: Proc. Jap. Acad. **30**, 1954: 387.
[17] HUBÁČEK, J. - TROJNA, M.: Coll. Czech. Chem. Comm. **29**, 1964: 1259.
[18] UMEDA, Y. - KOSHIHARA, M.: ref. J. Inst. Brew. **65**, 1963: 57.
[19] LEBRETON, P.: Thesis presentes a la fakulté des scientes de l' Universites de Lyon, No d'ordre **118**, Lyon 1960.
[20] PREECE, J. A.: Brew. Digest **41**, 1959.
[21] BURGES, A. H. - TATCHEL, A. R.: Dept. Hop. Res. Wye Col. **21**, 1950.
[22] CORSE, J.: Nature, Lond. **172**, 1953: 771.
[23] ROLLMAN, B - VANCRAENENBROECK, R.: Arch. Inter. Physiol. et Biochem. **74**, 1966: 715.
[24] KLEBER, W. SMID, P.: Brauwissenschaft **12**, 1959: 115.
[25] BAYER, E.: Zeitschr. f. Lebensmitteilungen u. - Forschung **105**, 1957: 77.
[26] SILBEREISEN, K. - KRAFFCZYK, F.: Naturwiss. **52**, 1965: 395.
[27] REYNOLDS, T. - POLLOCK, J. R. A.: ref. Brauwiss. **14**, 1961: 341.
[28] HABOUCHA, J.: Brass. Malt. Belg. **15**, 1965: 108.
[29] BATE-SMITH, E. C. - SCHWAIN, A.: Chem. and Ind. 1958. 377.
[30] HALL, R. D.: J. Inst. Brew. **64**, 1958: 90.
[31] KRAFFCZYK, F.: Monatsschr. f. Brau. **20**, 1967: 249.
[32] LEBRETON, P.: Petit. J. Brass, 1957: 253.
[33] LEBRETON, P.: Brasserie 1958: 104.
[34] MACFARLANE, W. D. - WYE, E. - GRANT, H. L.: Proc. Eur. Brew. Conv. Baden-Baden, 1955: 298.
[35] BATE-SMITH, E. G. - LERNER, E. H.: Biochem. J. **58**, 1954: 126.
[36] HARRIS, G. - RICKETTS, R. W.: Chem. and Ind. 1958: 686.
[37] MIKSCHIK, E.: Mitt. d. Verschs. St.-Gär.-gew. Wien 1933: 153.

МОШТЕК И.: ХИМИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ, ОБРАЗУЮЩИХ ХМЕЛЕВОЕ ДУБИЛЬНОЕ ВЕЩЕСТВО И ИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ПИВОВАРЕННОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Придерживаясь классификационной системы предложенной Харрисом для полифеноловых веществ, автор рассматривает их химическую и физико-химическую характеристику. У ряда полифенолов отмечается их значение для пивоваренной промышленности. Перечисляются особенности, отличающие состав полифеноловых веществ в хмеле, возделываемом в Жатецком районе от состава в заграничных сортах хмеля.

MOŠTEK, J.: CHEMICAL PROPERTIES OF POLYPHENOLS (TANNING MATTERS) PRESENT IN HOPS AND THEIR ROLE IN BREWING INDUSTRY

Adhering to the Harris classification system of polyphenols present in hops the author describes their chemical and physical properties and evaluates the importance of some of them for brewing industry. He underlines also specific features of hops from the Žatec region. The composition of polyphenols in the Žatec hops differs from that of foreign varieties.

MOŠTEK, J.: DIE CHEMIE DER POLYPHENOLSTOFFE (GERBSTOFFE) DES HOPFENS UND IHRE BRAUTECHNOLOGISCHE BEDEUTUNG

Im Rahmen des klassischen, von Harris ausgearbeiteten Klassifikationssystems der Polyphenole des Hopfens wird die chemische und physikochemische Charakteristik dieser Stoffe angeführt. Bei den wichtigsten von ihnen wird ihre brautechnologische Bedeutung bewertet. Es werden im weiteren diejenigen Merkmale in der Struktur der Polyphenolstoffe angeführt, die den Hopfen saazer Provenienz von den ausländischen Hopfen unterscheiden.