



Šolski center Celje
Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo

DOLOČANJE ALFA KISLIN V VZORCIH HMELJA

Raziskovalna naloga



Avtor: Luka POVŠE, 4. letnik

Mentorica: Mihela JUG, univ. dipl. kem., dr. Iztok Jože Košir

Celje, marec 2015



Šolski center Celje
Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo

DOLOČANJE ALFA KISLIN V VZORCIH HMELJA

Raziskovalna naloga

Področje: Kemija

Avtor: Luka POVŠE, 4. letnik

Mentorica: Mihela JUG, univ. dipl. kem., dr. Iztok Jože Košir

Celje, marec 2015

Povzetek

Hmelj je rastlina, ki v pivovarstvu deluje kot začimba in daje pivu značilno grenkobo. Uporabljajo se le cvetovi hmelja, v katerih ob tehnološki zrelosti nastaja rumen prah – lupulin, ki vsebuje eterična olja in grenčične snovi. V množici kemijskih substanc, ki se nahajajo v hmeljevih storžkih, imajo najpomembnejšo vlogo alfa kisline. V različnih vrstah hmelja se nahajajo v različnih koncentracijah. V raziskovalni nalogi predstavljam dve različni metodi določanja količine alfa kislin v hmelju in ju med sabo primerjam. Uporabljena je konduktometrična metoda merjenja s toluensko ekstrakcijo (KVH-TE) in metoda po Wollmerju, obe se razlikujeta v uporabi topil za ekstrakcijo. Analiziral sem štiri različne vrste hmelja, v katerih sem ugotavljal različne deleže alfa kislin. Izmed sort Aurora, Savinjski Golding, Magnum in Perle vsebuje največ alfa kislin sorta Magnum. Poleg tega sem ugotovil, da se količina določenih alfa kislin razlikuje v odvisnosti od izbrane metode.

Ključne besede: hmelj, konduktometrična analiza, alfa kisline, pivo

Abstract

Hop is a vegetable that is used in a brewery as an herb since it gives beer a typical bitterness. Only the flowers of the hop are used due to the fact that yellow dust called lupulin occurs at flowers being technologically ripped. Lupulin contains etheric oils and bitter substances. The most important role among all chemical substances that are in hop's corns have the alpha acids. They appear in different types of hop and in different levels of concentration. In my research work I present two different methods that determine the amount of alpha acids in the hop and then I compare those two among each other. The conductometric method of measuring with toluene extraction (KVH-TE) and method after Wollmer are used and they both differ in using the solvents for extraction. I analysed 4 different types of hop (Aurora, Savinjska Golding, Magnum and Perle) to find out different levels of alpha acids. The highest amount of alpha acids was found in Magnum type of hop. Beside that I found out that the amount of certain alpha acids differs in dependence of chosen methods.

Key words: hop, conductometrical analysis, alpha acids, beer

Kazalo

1	Uvod	1
2	Hmelj	2
2.1	Botanika.....	2
2.2	Meteorologija	2
2.3	Pedologija	3
2.4	Geografska razširjenost	3
3	Vrste uporabljenega hmelja	4
3.1	Aurora.....	4
3.2	Savinjski Golding.....	4
3.3	Magnum	4
3.4	Perle.....	4
4	Uporaba hmelja v gospodarstvu	5
4.1	Hmeljni storžek.....	5
4.2	Alfa-kislina	6
5	Konduktometrična analiza.....	8
6	Empirični del.....	9
6.1	Inventar	9
6.2	Kemikalije	10
6.1	Delo.....	11
6.3.1	Standardizacija svinčevega acetata	11
6.3.2	Konduktometrična vrednost hmelja s toluensko ekstrakcijo	11
6.3.3	Metoda po Wollmerju	13
6.4	Rezultati.....	14
7	Komentar	19
8	Zahvala.....	20
9	Viri in literature	21
10	Priloge.....	22

KAZALO SLIK

- Slika 1: Splošna strukturna formula alfa kislin
- Slika 2: Splošna strukturna formula izoalfa kislin
- Slika 3: Hmelj in njegova uporaba
- Slika 4: Konduktometer pripravljen za uporabo
- Slika 5: Priprava vzorca na analizni tehtnici

KAZALO PREGLEDNIC

- Preglednica 1: Povprečna sestava zračno-suhega hmelja
- Preglednica 2: Rezultati
- Preglednica 3: Povprečne koncentracije alfa kislin po metodah

KAZALO GRAFOV

- Graf 1: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Aurora Žalec
- Graf 2: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Aurora Braslovče
- Graf 3: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Savinjskega Goldinga
- Graf 4: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Magnum 1
- Graf 5: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Magnum 2
- Graf 6: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Perle 1
- Graf 7: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Perle 2
- Graf 8: Povprečne vrednosti koncentracij po KVH-TE
- Graf 9: Povprečne vrednosti koncentracij po HVH-Wöll
- Graf 10: Primerjava metod

1 Uvod

Hmelj me spremlja že celo življenje, saj živim v hmeljarskem okolju. Tudi moji sorodniki se ukvarjajo s hmeljarstvom. Z raziskovalno nalogo imam možnost, da svoje znanje o tej rastlini poglobim in proučim še podrobneje. Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec sem opravljal delovno prakso in se dogovoril za sodelovanje pri svoji raziskavi.

Najpomembnejše sestavine hmelja pri varjenju piva so alfa kisline. Te se nahajajo v storžkih hmelja, v lupulinu. So del celokupnih smol, zato so topne v organskih topilih. V literaturi so navedene različne količine alfa kislin pri različnih sortah hmelja. Moja želja je spoznati, kako določajo količino alfa kislin v hmelju in za koliko se razlikujejo količine prisotnih alfa kislin pri različnih sortah. Obstajata dve metodi za določanje alfa kislin: konduktometrična vrednost hmelja s toluensko ekstrakcijo (KVH-TE) in metoda po Wöllmerju.

Postavil sem si dve hipotezi:

1. Različne vrste hmelja vsebujejo različne količine alfa kislin.
2. Ne glede na izbrano metodo določanja alfa kislin v hmelju bo količina le-teh enaka.

Analiziral sem štiri različne vzorce hmelja: Aurora, Savinjski Golding, Magnum in Perle. Po do sedaj izvedenih analizah ima sorta Magnum največji delež alfa kislin, najmanj pa Savinjski Golding. To sem skušal potrditi s svojo analizo, ki sem jo izvajal na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo v Žalcu.

Metodi s toluensko ekstrakcijo in po Wöllmerju sta si med seboj podobni, obe sta natančni in pri obeh uporabljamo konduktometer, ki nam ves čas podaja rezultate. Vse metode v pivovarstvu morajo biti natančne, saj zahtevajo točno določeno koncentracijo alfa kislin.

2 Hmelj

Hmelj (*Humulus lupulus* L.) je večletna industrijska rastlina, večinoma gojena za potrebe pivovarstva. Njegov glavni sekundarni metabolit in hkrati tržni produkt so alfa kisline v lupulinu. To je rumen prah na krovnih listih storžkov. Njegove glavne sestavine so smole (kamor spadajo tudi alfa kisline), aromatične snovi in polifenolne spojine (Narziß, 2004).

Hmelj je v različnih pogledih nepogrešljiv dodatek pivini. Da ji grenek okus, specifično aromo in povzroči čiščenje pивine z obarjanjem beljakovin. Nadalje pivu zboljša stabilnost pene in služi kot naravni konzervans. Polifenolne spojine, med katere spada tudi ksantohumul, delujejo kot antioksidanti (Narziß, 2004).

2.1 Botanika

Hmelj spada v družino konopljevok (Cannabinaceae), je bližnji sorodnik konoplje in koprive ter je dvodomna rastlina. V nasadih gojimo le ženske rastline, moške rastline pa zatiramo, ker osemenjen pridelek ni zaželen. Podzemni del rastline, imenovan tudi štor, je korenika, nad zemljo pa hmelj požena steblo, imenovano trta, liste, zalistnike ali panoge, cvetove, ki se razvijejo v storžke, ti pa lahko vsebujejo tudi plodove (semena). Imenovani nadzemni organi so zeleni in se začnejo razvijati spomladi, jeseni pa odmrejo. Ženski cvetovi so združeni v socvetje na panogah. Najprej cvetijo spodnje, nato zgornje panoge. Socvetje je zgrajeno iz drobnega členkastega vretenca, ki ima na vsakem členku klasek, zgrajen iz dveh krovnih lističev in štirih cvetkov. Vsak cvetek je obdan s predlistom in ima plodnico z dvema resastima brazdama. Ko se ženski cvetovi odprejo, se naježijo. To nenavadno cvetenje imenujemo osip. Ko iz cvetkov pokukajo brazde, so pripravljeni na oprašitev. Moške rastline hmelja rastejo kot divjaki in jih moramo uničevati. V primeru, da pride cvetni prah z vetrom do cvetočih rastlin, se v storžkih razvije 1,5 do 2 mm veliko seme. (Kač, 1967).

2.2 Meteorologija

Pridelek in kakovost hmelja sta zelo odvisna od vremenskih razmer. Gojimo ga v območju zmerno toplega pasu; potrebuje zmerno toploto in dovolj padavin. Ustreza mu povprečna letna temperatura okoli 9 °C in nadmorska višina od 200 do 500 m. Za uspešen razvoj potrebuje v času rasti vsaj 600 mm padavin, v obdobju najbolj intenzivne rasti pa se pri nas

pogosto pojavljajo sušna obdobja, ki lahko močno zmanjšajo količino in kakovost pridelka, zato takrat hmelj namakamo. Najmanjši pridelek je v vročih in sušnih letih, največji v letih z dovolj toplote in vlage. Vročina in suša v času zorenja povzročita sušenje storžkov na rastlini, kar lahko zelo zmanjša pridelek, vlažna in hladna pomlad pospešuje razvoj kuštravcev (peronospora), suša in vročina poleti na lahkih tleh pospešita razvoj hmeljeve pršice (Majer, 1999).

2.3 Pedologija

Za pridelovanje hmelja so primerna tla, kjer lahko vsaj približno zagotovimo zadovoljive vodno-zračne razmere. Slabše rastne pogoje lahko omilimo s pravilno izbiro kultivarjev hmelja. Hmeljišče dodatno založimo z organsko snovjo, na osnovi kemične analize poskrbimo za optimalno založenost z makro hranili in apnom. Hmelj najbolje uspeva v dovolj globokih in rodovitnih, rahlo kislih do nevtralnih tleh, ilovnato peščene ali peščeno ilovnate teksture. (Knapič, 1996).

2.4 Geografska razširjenost

Največje svetovno področje pridelave hmelja je v Nemčiji, na Bavarskem. V Evropi najdemo hmeljišča še na Češkem, Poljskem, v Sloveniji, Angliji, Belgiji, Franciji, Španiji in Ukrajini. Združene države Amerike (ZDA), Kitajska, Avstralija, Južnoafriška republika in Nova Zelandija prav tako močno sodelujejo na svetovnem tržišču.

Hmelj delimo v dve skupini. Hmelj z visokim deležem alfa kislin uvrščamo v grenčično skupino, medtem ko sorte s kakovostno in poudarjeno aromo (terpeni, estri, karbonili, alkoholi) uvrščamo v skupino aromatičnih sort. V ZDA prevladujejo grenčične sorte, v Angliji, Sloveniji in na Češkem aromatične, na drugih hmeljarskih področjih pa gojijo praviloma oba tipa hmelja (Narziš, 2004).

3 Vrste uporabljenega hmelja

3.1 Aurora

Diploidni križanec. Vsebuje 7–13 % alfa kislin, od tega je 22–26 % kohumulona. Razmerje med alfa in beta kislinami je okoli 2,7. Vsebnost eteričnega olja je 0,9–1,6 ml/100 g suhe snovi (Hmeljni kultivarji).

3.2 Savinjski Golding

Tradicionalni kultivar v Sloveniji. Vsebuje 3–6 % alfa kislin, od tega je 27–33 % kohumulona. Razmerje med alfa in beta kislinami je okoli 1,5. Vsebnost eteričnega olja je 0,3–1,7 ml/100 g suhe snovi (Hmeljni kultivarji).

3.3 Magnum

Diploidni križanec. Vsebuje 11–16 % alfa kislin, od tega je 21–29 % kohumulona. Razmerje med alfa in beta kislinami je okoli 2,2. Vsebnost eteričnega olja je 1,6–2,6 ml/100 g suhe snovi (www.beerlegend.com).

3.4 Perle

Diploidni križanec. Vsebuje 6–10 % alfa kislin, od tega je 25–32 % kohumola. Razmerje med alfa in beta kislinami je okoli 1,1. Vsebnost eteričnega olja je 0,8–1,3 ml/100 g suhe snovi (www.beerlegends.com).

4 Uporaba hmelja v gospodarstvu

4.1 Hmeljni storžek

Ženske rastline hmelja poženejo socvetja, ki se kasneje razvijejo v hmeljne storžke. Hmeljni kultivarji se med seboj razlikujejo po obliki in velikosti storžkov. Zaradi različne oblike in zgradbe storžkov se pridelek različnih sort razlikuje tudi po nasipni gostoti, poroznosti sloja in specifični površini storžkov, kar so pomembni parametri v procesu sušenja (Zupanec, 1987). Za potrebe v pivovarstvu največkrat uporabljajo posušene hmeljne storžke. V teh storžkih je lupulin, ki vsebuje hmeljne smole in eterična olja ter so pomembna za nadaljnjo uporabo. Vsebnost posameznih sestavin podaja preglednica 1.

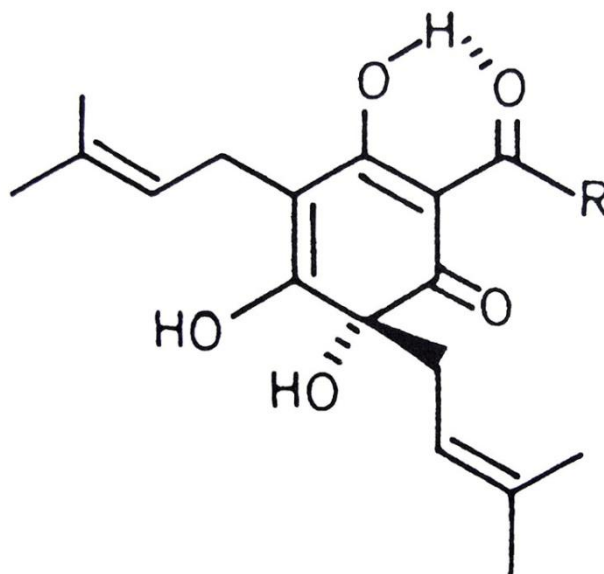
Preglednica 1: Povprečna sestava zračno suhega hmelja (Verzele, 1985)

Snov	Vsebnost (%)	Relativna pomembnost za pivovarstvo
Alfa kisline	2–12	xxx
Beta kisline	1–10	xx
eterično olje	0,5–1,5	xx
polifenoli	2–5	xx
olja in maščobne kisline	0–2,5	xx
parafini in steroidi	/	x
proteini	15	
celuloza	40–50	
voda	8–12	
klorofil	/	
pektin	2	
pepel	10	

Kot je razvidno iz preglednice, dajejo hmelju specifično uporabnost alfa kisline, beta kisline, eterična olja in polifenolne sestavine. Polifenoli so zelo močni antioksidanti in ščitijo rastlino pred boleznimi, hkrati pa varujejo naše telo pred oksidacijskimi stresii.

4.2 Alfa-kislina

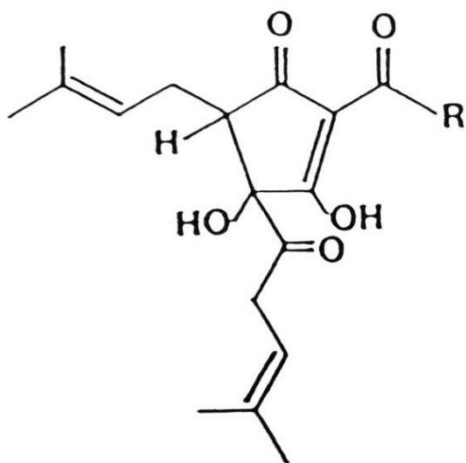
Vsebnost alfa kislin je primaren podatek o kvaliteti hmelja, ker so alfa kisline najpomembnejše sestavine hmeljnih smol in so izvor grenkega okusa v pivu. Kot derivati fluoroglucinola v enolni ali keto tautomerne obliki so zmes različnih analogov in izomernih oblik (Knorr in Kremkow, 1972, cit. po Zupanec, 1992). Splošna strukturna formula alfa kislin je prikazana na sliki 1.



Slika 1: Splošna strukturna formula alfa kislin (Verzele, 1985)

Alfa kisline so torej derivati 1,3,5-trihidroksibenzena oziroma njegove tautomerne oblike cikloheksana 1,3,5-triona. Na ogljikova atoma na mestih 4 in 6 so vezane izopentilne skupine. Analogi humulon, kohumulon, adhumulon, prehumulon in posthumulon se razlikujejo v funkcionalni skupini, ki je vezana na ogljikov atom na drugem mestu (Knorr in Kremkow, 1972, cit. po Zupanec, 1992).

Alfa kisline med hmeljenjem v vodnem mediju in pri povišani temperaturi izomerizirajo v izoalfa kisline. Izoalfa kisline so tiste spojine, ki dajejo grenak okus pivu, grenkoba ostalih sestavin hmelja je znatno manjša. Pri izomerizaciji alfa kislin v izoalfa kisline se šestčlenski obroč pretvori v petčlenskega, pri tem se radikali ne spremenijo (Zupanec, 1992). Splošna strukturna formula izoalfa kislin je prikazana na sliki 2.



$R = -\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	humulon
$R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	kohumulon
$R = -\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	adhumulon
$R = -\text{CH}_3$	posthumulon
$R = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	prehumulon

Slika 2: Splošna strukturna formula izoalfa kislin (Verzele, 1985)



Slika 3: Hmelj in njegova uporaba (www.kulturaobpaki.si)

Največji delež hmelja se v Sloveniji in drugod po svetu uporablja za pivovarstvo. Med ostale izdelke iz hmelja spadajo čaj iz hmelja, različna zdravila, kozmetični pripravki in eterična olja.

5 Konduktometrična analiza

Konduktometrija je analiza merjenja elektrolitske prevodnosti v odvisnosti od kemijske reakcije. Ta analiza ima močno vlogo v analizi tehniki, saj je konduktometrična titracija standardna tehnika. Analiza poteka tako, da sonda ves čas meri prevodnost raztopine. V tem času se dodaja specifičen reagent. Ta je odvisen od tega, kaj merimo in kaj želimo ugotoviti. Pri napravah, povezanih na računalnik, jim računalnik avtomatsko skonstruira graf in izračuna ekvivalentno točko. To je točka, kjer prevodnost hitro naraste. V svoji raziskovalni nalogi sem uporabljal svinčev acetat, ki se obarja z alfa kislinami. Ko na voljo ni več prostih alfa kislin, se prevodnost zaradi prostih svinčevih ionov nenadoma poviša.



Slika 4: Konduktometer pripravljen za uporabo (lastni vir)

Pri izvedbi raziskovalne naloge sem uporabljal metodo KVH-TE in po Wöllmerju. Metodi sta si podobni. Pri obeh zatehtamo določeno maso zmletga hmelja v čašo s topilom in tresemo. Nato naredimo ekstrakt in alikvotu ekstrakta dodamo drugo topilo za merjenje konduktometrične prevodnosti. Za te metode se uporablja svinčev acetat. Alfa kisline se ob dodajanju te raztopine začnejo razkrajati in sčasoma jih zmanjka. Graf prevodnosti nam pove, kolikšna koncentracija alfa kislin je v hmelju po računalniškem izračunu. Pri metodi s toluenom uporabljamo za topilo ves čas toluen. Pri Wöllmerju za prvo topilo uporabimo zmes klorovodikove kisline, dietiletra in metanola. Po ekstrakciji pa alikvotu dodamo še zmes etanol/DMSO, s katerima nato določimo koncentracijo.

6 Empirični del

V raziskovalni nalogi sem uporabil sorte: Aurora, Savinjski Golding, Magnum in Perle. Pri sorti Magnum in Perle sem uporabil po dva različna vzorca iz medlaboratorijskih testov. Pri Aurori pa sem uporabil en vzorec iz Žalca, drugi pa iz Braslovč. Savinjski Golding je iz okolice Inštituta.

6.1 Inventar

Za izvedbo naloge sem potreboval naslednji inventar:

1 KVH-TE (Konduktometrična vrednost hmelja s toluensko ekstrakcijo)

- polnilne pipete – kalibrirane: 5 ml, 10 ml, 15 ml, 50 ml,
- merilna pipeta 1 ml,
- merilna bučka 1 l,
- stekleničke z zamaškom 150 ml,
- filtrirni liji premera 100 mm,
- titracijske čašice 50 ml,
- filtrirni papir (črni trak),
- stresalnik,
- konduktometer 712 z dodatno opremo,
- precizna tehtnica s točnostjo $\pm 0,05$ g.

1. Metoda po Wollmerju

- polnilne pipete – kalibrirane: 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 40 ml, 100 ml,
- merilne pipete 1 ml, 10 ml, 30 ml,
- merilni valj 50 ml,
- stekleničke z zamaškom 150 ml,
- titracijske čašice 50 ml,
- filtrirni liji premera 100 mm,
- filtrirni papir (črni trak),
- urno steklo premera 80 mm,
- precizna tehtnica s točnostjo $\pm 0,05$ g,
- stresalnik,
- konduktometer 712 z dodatno opremo.

6.2 Kemikalije

Za izvedbo naloge sem potreboval naslednje kemikalije:

1 KVH-TE

- žveplova VI kislina, H_2SO_4 , $c(\text{H}_2\text{SO}_4)=0,05 \text{ mol/L}$,
- toluen, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, $\rho=0,86 \text{ g/mL}$,
- metanol, CH_3OH , $\rho=0,79 \text{ g/mL}$,
- svinčev acetat trihidrat, $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb} \times 3 \text{ H}_2\text{O}$, min 99,9%;
te kemikalije pripravimo $c(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb} \times 3 \text{ H}_2\text{O})= 20 \text{ g/L}$,
- očetna kislina, CH_3COOH , 99-100%.

iz

2 Metoda po Wollmerju

- žveplova VI kislina, H_2SO_4 , $c(\text{H}_2\text{SO}_4)=0,05 \text{ mol/L}$,
- metanol, CH_3OH , $\rho=0,79 \text{ g/mL}$,
- svinčev acetat trihidrat, $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb} \times 3 \text{ H}_2\text{O}$, min 99,9%;
iz te kemikalije pripravimo $c(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb} \times 3 \text{ H}_2\text{O})= 20 \text{ g/L}$,
- očetna kislina, CH_3COOH , 99-100%,
- dietileter, $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$, z največ 0,2% vode,
- klorovodikova kislina, HCl , 36-38%, $\rho=1,18 \text{ g/mL}$;
iz te kemikalije pripravimo $c(\text{HCl})=0,1 \text{ mol/l}$,
- dimetilsulfoksid, DMSO , $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$, >99%,
- pripravimo zmes etanol/DMSO; zmešamo 6 delov DMSO in 94 delov etanola.

6.1 Delo

6.3.1 Standardizacija svinčevega acetata

V titracijske čašice 50 mL odpipetiramo 5 ml $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/L}$ in dodamo 40 ml metanola. Čašico namestimo na nosilec elektrode. Na površini platinastih elektrod ne smejo biti prisotni zračni mehurčki. Nosilec elektrode mora biti med samo konduktometrično titracijo priključen na magnetni mešalnik, ki meša raztopino med dodajanjem svinčevega acetata. Približno 1 mL raztopine svinčevega acetata dodajamo preko ekvivalentne točke. Dopustna razlika med tremi ponovitvami za V_{ps} je 0,02 ml.

6.3.2 Konduktometrična vrednost hmelja s toluensko ekstrakcijo

1. Priprava vzorca

Hmelj oziroma hmeljne produkte najprej premešamo oz. homogeniziramo in nato zmeljemo v mlinčku. Grobe oz. slabo zmlete delce briketov hmelja izločimo. Kadar je vzorec med prenosom v laboratorij shranjen pri nižji temperaturi od sobne, ga moramo pred mletjem temperirati na sobno temperaturo. Isti vzorec hmelja razdelimo na več delov za pravilnost podatkov.

2. Izvedba ekstrakcije

Direktno v stekleničko 150 ml zatehtamo 5 g zmletih hmeljnih storžkov ali briketov, natančno na 0,1 g. Zatehtanemu vzorcu hmelja dodamo 50 mL toluena, stekleničko zapremo in v pokončnem položaju stresamo 6 minut na stresalniku. Po stresanju vsebino iz stekleničke filtriramo skozi filtrirni papir v stekleno kiveto, ki jo po izvedeni filtraciji pokrijemo z ustreznim zamaškom.



Slika 5: Priprava vzorca na analizni tehcnici (lastni vir)

3. Titracija vzorca

Titracijo vzorca izvedemo najkasneje v eni uri po filtraciji zaradi neobstoynosti alfa kislin v organskih topilih in zaradi hlapnosti samega topila. V titracijsko čašo odpipetiramo 10 mL filtrata in dodamo 30 mL metanola ter jo namestimo na nosilec elektrode. Nosilec elektrode mora biti med samo konduktometrično titracijo priključen na magnetni mešalnik, ki meša raztopino med dodajanjem svinčevega acetata. Raztopino svinčevega acetata dodajamo približno 1 mL preko ekvivalentne točke. Krivuljo prevodnosti dobimo s spreminjanjem koncentracije alfa kisline v vzorcu. Ekvivalentno točko določimo s pomočjo presečišča tangent na krivuljo pred spremembo naklona in po njej. Meritve se izvajajo v dveh ponovitvah. Dopustno odstopanje med dvema ponovitvama je $\pm 0,12\%$.

6.3.3 Metoda po Wollmerju

1. Priprava vzorca

Hmelj oziroma drobne hmeljne produkte najprej premešamo oz. homogeniziramo in nato zmeljemo v mlinčku. Grobe oz. slabo zmlete delce briketov hmelja izločimo. Kadar je vzorec med prenosom v laboratorij shranjen pri nižji temperaturi od sobne, ga moramo pred mletjem temperirati na sobno temperaturo. Isti vzorec hmelja razdelimo na več delov za pravilnost podatkov.

2. Izvedba ekstrakcije

Direktno v 250 mL stekleničko s precizno tehtnico zatehtamo 10 g zmletih hmeljnih storžkov, natančno na 0,1 g. Zatehtanemu vzorcu hmelja dodamo 20 mL metanola, 100 mL dietiletra, 40 mL raztopine HCl, stekleničko zapremo in v ležečem položaju stresamo 40 minut. Potem zmes stoji 10 minut, da se fazi ločita. Zgornji del tekočine v steklenički predstavlja eterne ekstrakt, spodnji del pa kislina metanolno-vodna raztopina zmletega hmelja. Za določitev KVH-Woll odpipetiramo 10 mL eterne faze.

3. Titracija vzorca

Titracijo vzorca izvedemo najkasneje v eni uri po filtraciji zaradi neobstoynosti alfa kislin v organskih topilih in zaradi hlapnosti samega topila. V titracijsko čašo s polnilno pipeto dodamo 10 mL eterne ekstrakta in z merilnim valjem dodamo še 30 mL zmesi etanol/DMSO ter čašo namestimo na nosilec elektrode. Nosilec elektrode mora biti med samo konduktometrično titracijo priključen na magnetni mešalnik, ki meša raztopino med dodajanjem svinčevega acetata. Dodajamo približno 1 mL raztopine svinčevega acetata preko ekvivalentne točke ali dokler titracijska krivulja ne prične enakomerno naraščati. Krivulja prevodnosti v odvisnosti od volumna dodane raztopine svinčevega acetata je sestavljena iz začetne ravne linije, katere naklon se po ekvivalentni točki močno spremeni. Ekvivalentno točko določimo s pomočjo presečišča tangent na krivuljo pred spremembo naklona in po njej.

Meritve se izvajajo v dveh ponovitvah. Dopustno odstopanje med dvema ponovitvama je $\pm 0,12\%$.

6.4 Rezultati

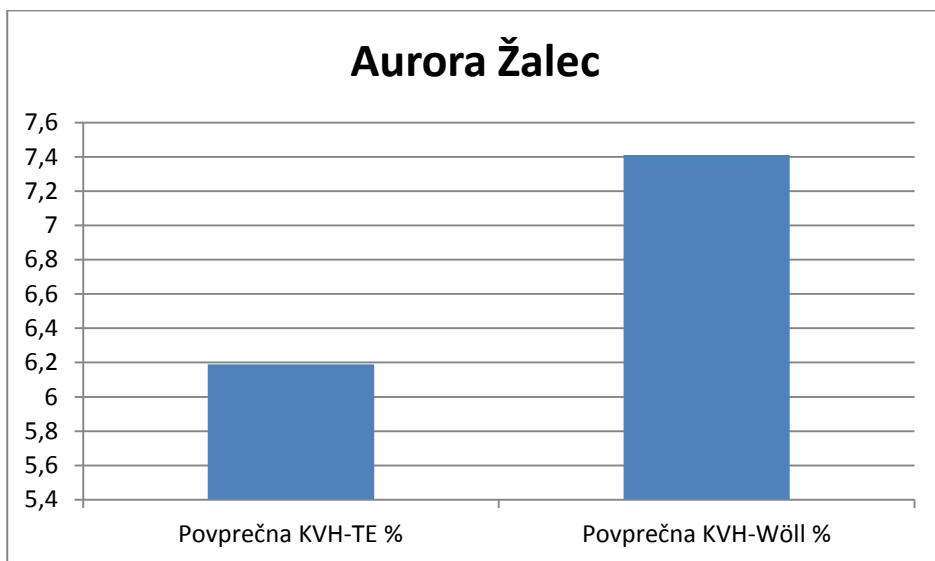
	KVH – TE %			KVH –Wöll %		
Aurora Žalec	6,20	6,20	6,18	9,86	9,90	10,04
Aurora Braslovče	5,64	5,75	5,71	9,75	9,56	9,77
Savinjski Golding	4,36	4,36	4,35	5,45	5,50	5,49
Magnum 1	14,09	14,22	14,05	15,63	15,74	15,65
Magnum 2	13,98	14,02	14,01	15,68	15,65	15,67
Perle 1	6,93	6,98	6,96	8,27	8,26	8,31
Perle 2	7,08	7,05	7,06	8,07	8,09	8,07

Preglednica 2: Rezultati

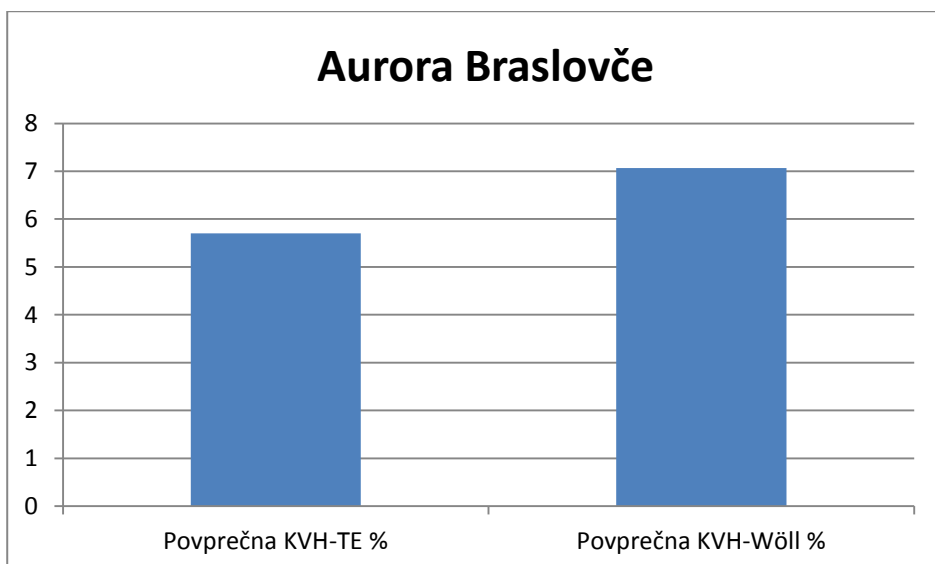
	Aurora Žalec	Aurora Braslovče	Savinjski Golding	Magnum 1	Magnum 2	Perle 1	Perle 2
KVH-TE	6,19	5,70	4,36	14,12	14,00	6,96	7,06
KVH-Wöll	7,41	7,07	4,72	14,63	14,57	7,40	7,39

Preglednica 3: Povprečne koncentracije alfa kislin po metodah

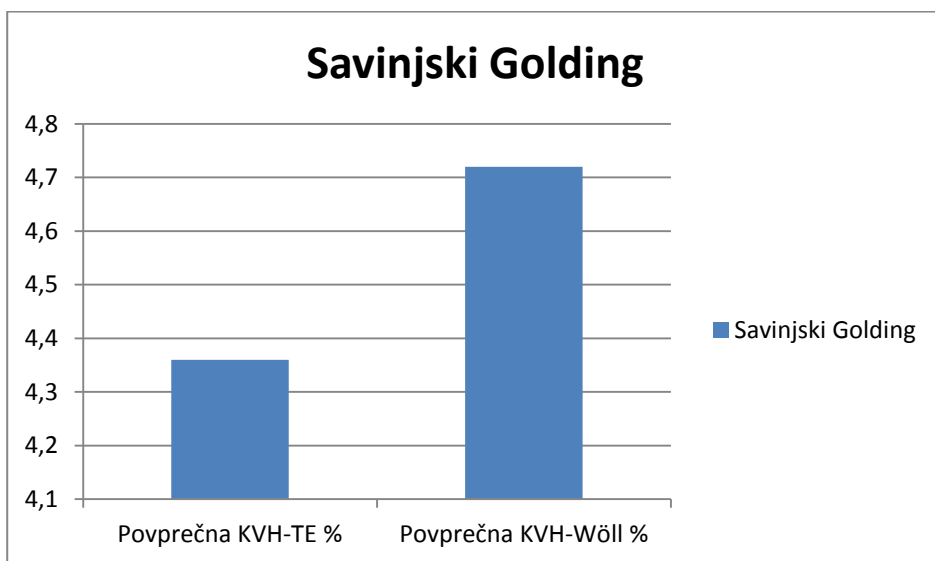
Iz dobljenih rezultatov konduktometrične analize lahko vidimo razliko med obema metodama. Razlika med njima ni velika, je pa zelo pomembna pri uporabi v pivovarstvu, saj imajo posamezne pivovarne različne zahteve glede kvalitete hmelja. Pivovarne pri naročanju hmelja podajo zahtevo po vsebnosti alfa kislin in hkrati navedejo metodo, po kateri mora biti vsebnost le-teh določena. Hmelja Magnum in Perle sta označena s številkami, saj sem imel dva različna vzorca iste vrste. Vidimo pa tudi, da hmelji nimajo enake koncentracije alfa kislin, ampak so si med seboj zelo različne.



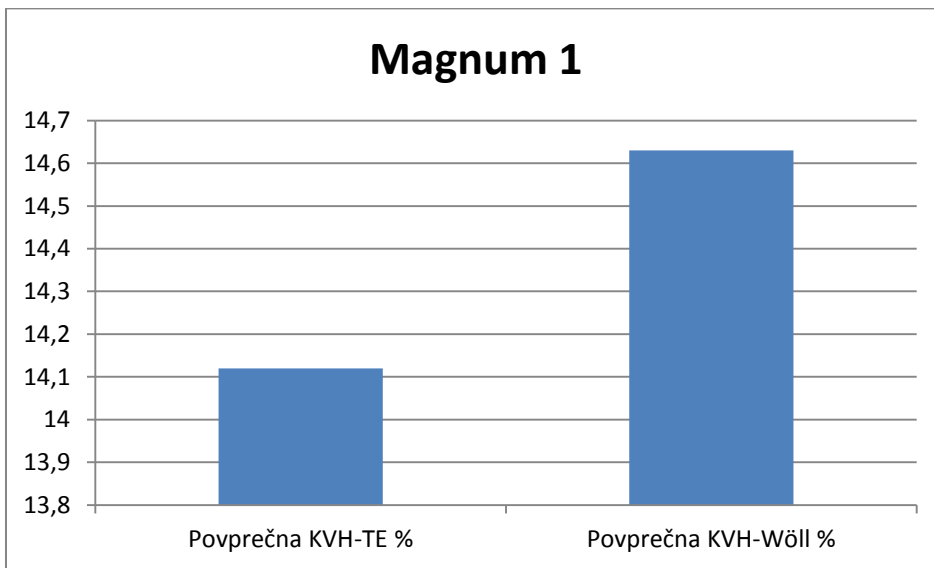
Graf 1: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Aurora Žalec. Pri tem vzorcu je bila razlika v koncentraciji med metodama 16,46 %.



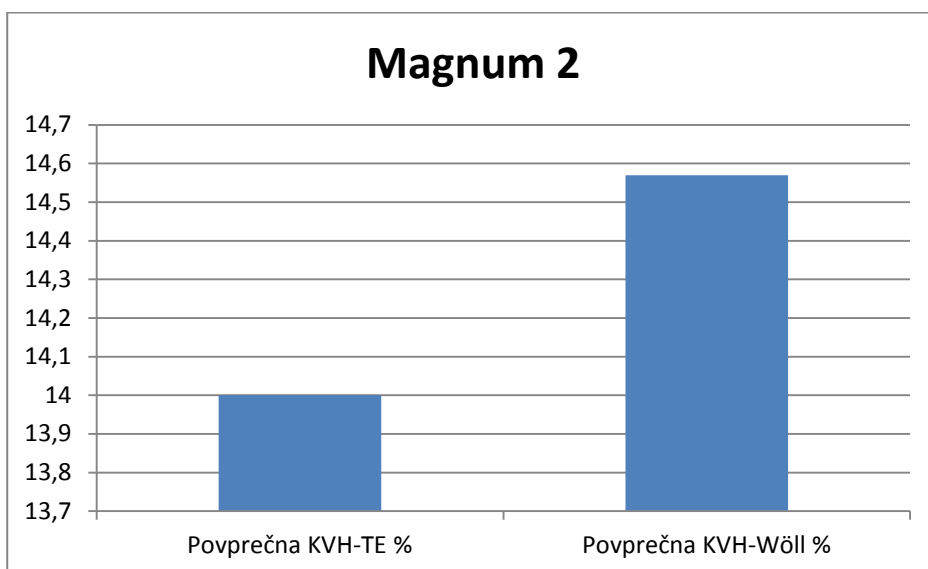
Graf 2: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Aurora Braslovče. Pri tem vzorcu je bila razlika v koncentraciji med metodama 19,38 %.



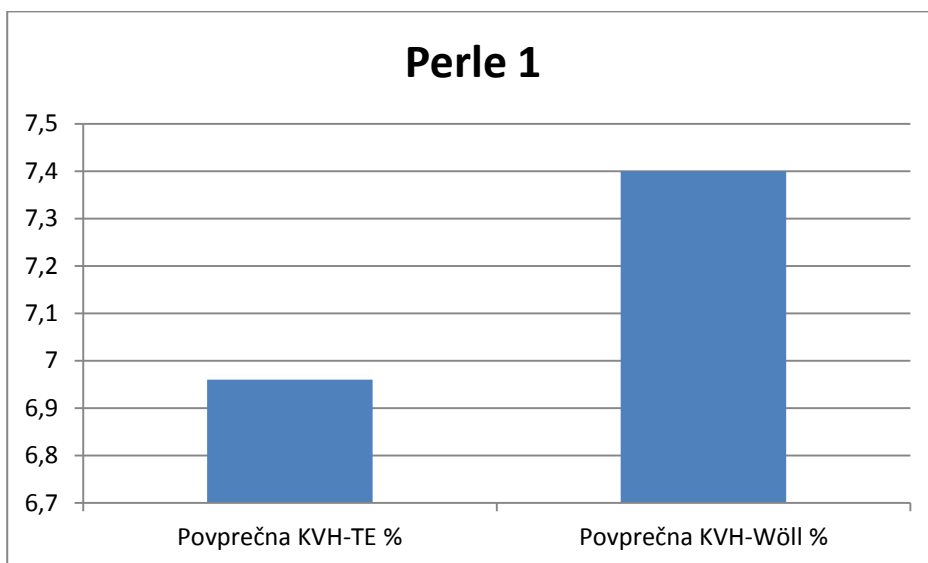
Graf 3: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Savinjskega Goldinga. Ta je ena pomembnejših vrst hmelja, ki se pri nas uporablja za varjenje piva. Pri tem vzorcu je bila razlika v koncentraciji med metodama 7,63 %.



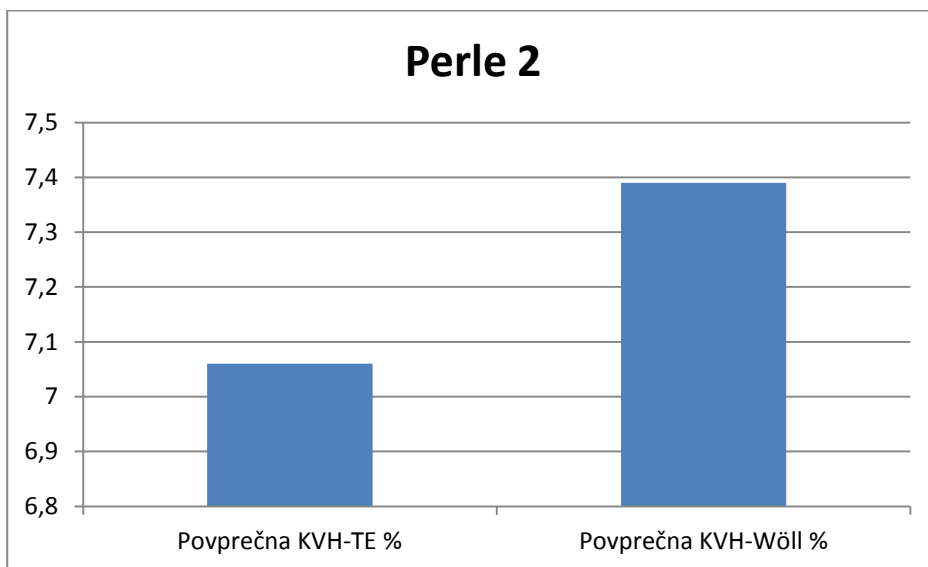
Graf 4: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Magnum 1. Magnum spada med hmelje z največjo koncentracijo alfa kislin. Pri tem vzorcu je bila razlika v koncentraciji med metodama 3,49 %.



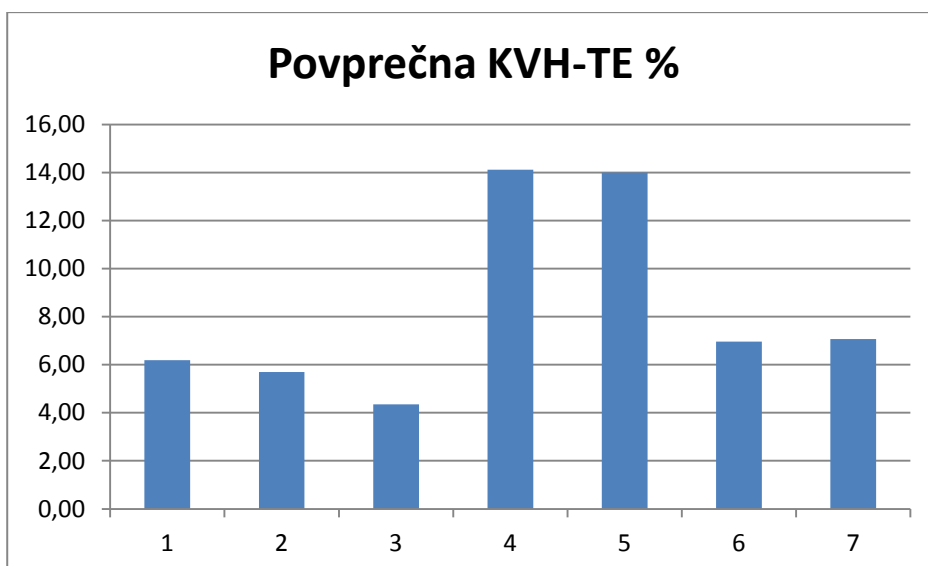
Graf 5: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Magnum 2. Pri tem vzorcu je bila razlika v koncentraciji med metodama 3,91 %. Vzorca Magnum 1 in Magnum 2 se razlikujeta za 0,42 %.



Graf 6: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Perle 1. Perle je med najbolj priljubljenimi vrstami hmelja v Nemčiji. Je mešanica dveh vrst hmelja. Pri tem vzorcu je bila razlika v koncentraciji med metodama 5,95 %.

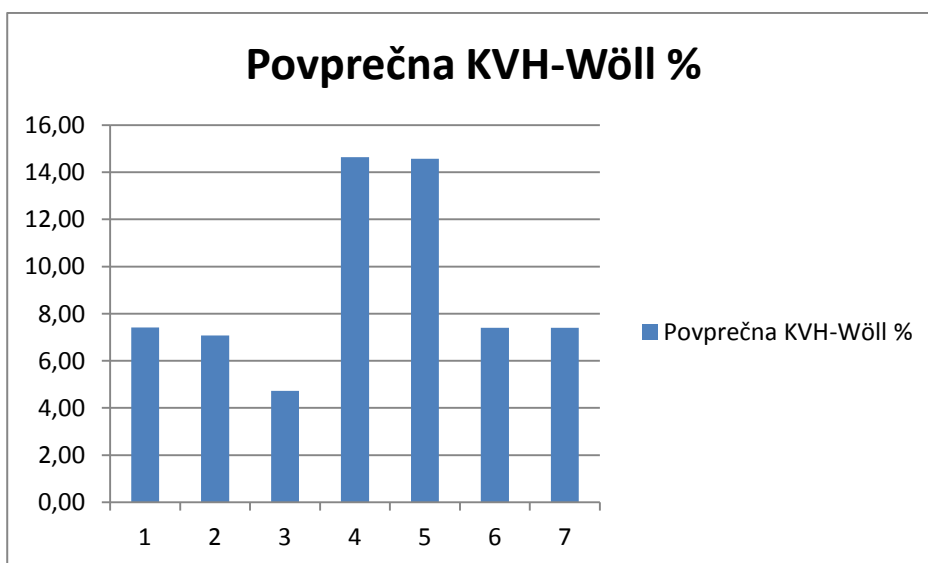


Graf 7: Koncentracija alfa kislin v vzorcu Perle 2. Pri tem vzorcu hmelja so bile koncentracije alfa kislin zelo nizke. Pri tem vzorcu je bila razlika v koncentraciji med metodama 4,47 %. Vzorca Perle 1 in Perle 2 se razlikujeta za 1,48 %.



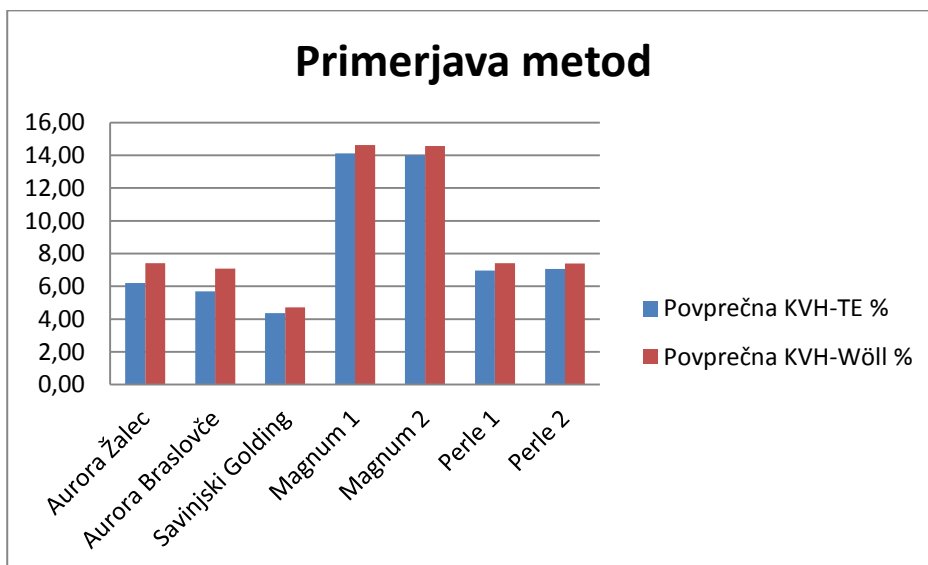
Graf 8: Graf prikazuje povprečne vrednosti posamezne vrste hmelja za metodo s toluenom.

Najbogatejša vrsta hmelja z alfa-kislinami Magnum 1, se od najrevnejše Savinjski Golding razlikuje za 9,76 %.



Graf 9: Graf prikazuje povprečne vrednosti posamezne vrste hmelja za metodo po Wöllmerju.

Najbogatejša vrsta hmelja z alfa-kislinami Magnum 1, se od najrevnejše Savinjski Golding razlikuje za 9,91 %.



Graf 10: Graf prikazuje obe metodi skupaj. Koncentracije, ki jih dobimo z analizo, se uporabljajo za nadaljnjo prodajo hmelja. Opažam, da je vrednost alfa kislin vedno višja pri metodi po Wöllmerju. V povprečju se razlikuje za 8,76 %.

7 Komentar

Iz dobljenih rezultatov lahko vidimo, kakšne različne koncentracije imata ti dve metodi. Glavni razlog za takšno spremembo alfa-kislin so topila. Pri toluenski ekstrakciji smo uporabili samo toluen. Pri metodi po Wollmerju pa smo za ekstrakcijo uporabili zmes metanola, dietiletra ter klorovodikove kisline. Za titracijo pa smo dodali zmes etanol/DMSO. Zaradi teh sprememb so se v topilo izločile različne koncentracije alfa-kislin. Poleg alfa-kislin so ta topila raztopila tudi ostale spojine, ki so v hmelju, ampak nimajo takšne močne vloge.

Moramo pa tudi vedeti, da so te metode neselektivno določene, saj pri tem, ko uporabljamo svinčev acetat v raztopini, ne obarjamo samo alfa-kisline, temveč tudi ostale prisotne spojine.

Prvo hipotezo, ki se glasi, da različne vrste hmelja vsebujejo različne količine alfa-kislin, potrjujem. Hmelji, ki sem jih uporabljal za raziskovalno nalogo, se med seboj razlikujejo po vsebnosti alfa-kislin po metodi s KVH-TE 9,76, pri Wöllmerju pa do 9,91 % s čimer lahko potrdim pravilnost hipoteze. Ugotavljamo, da se ista vrsta hmelja (Magnum 1 in Magnum2) razlikuje največ za 0,12 % v vsebnosti alfa-kislin ne glede na izvor. Vsebnost alfa-kislin v slovenski sorti Aurora pa se med vzorcema iz različnih krajev razlikuje za 0,49 %, kar je neverjetneje odvisno od rastišča hmelja.

Drugo hipotezo, ki pravi, da ne glede na metodo določanja alfa-kislin, bo količina le-teh enaka, pa ne morem potrditi. Najmanjša razlika med metodama je 3,49 %, najvišja pa 19,39 %. Razlike med koncentracijami alfa-kislin so močno soodvisne od ostalih spojin, ki so prisotne v ekstrakcijski tekočini. Ker pri metodah ne uporabljamo enakih topil, se v enem ekstraktu raztopi več snovi in ne samo alfa-kisline.

Z raziskovalno nalogo sem ugotovil, da imajo različne vrste hmelja različno koncentracijo alfa-kislin. Hkrati sem izvedel, da se metodi med seboj razlikujeta po koncentraciji ravno zaradi topila, ki ga uporabljamo pri določeni metodi.

Mislím, da bi metode za določevanje alfa-kislin še izboljšali. Glavni problem je izbira topila, saj se poleg alfa-kislin v topilu raztopijo še ostale snovi, ki so v hmelju. Idealno bi bilo najti topilo, oziroma poiskati metodo, ki bi določala izključno alfa kisline, vse ostale prisotne snovi pa bi lahko izločili.

8 Zahvala

- Za uspešno izvedbo raziskovalno naloge bi se rad zahvalil šolski mentorici Miheli Jug in mentorju na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo dr. Iztoku Jožetu Koširju.
- Rad bi se še zahvalil ge. Mariji Hribernik iz Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, ki mi je pomagala pri delu.
- Zahvaljujem se tudi ge. Valentini Hrastnik, ki je lektorirala nalogo in ge. Klavdiji Špur Jereb, ki je lektorirala povzetek v angleščini.
- Posebna zahvala Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, na katerem sem lahko opravljal praktični del raziskovalno nalogo.

9 Viri in literature

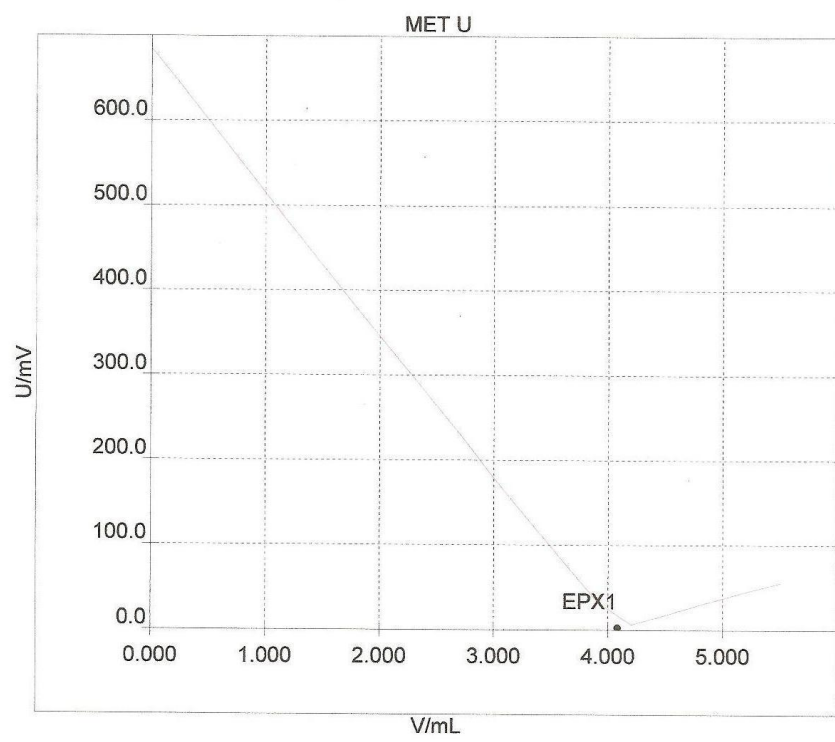
- 1) Narziß L. 2004. Abriß der Bierbrauerei. Weinheim, Wiley-VCH: 439 str.
- 2) Kač M. 1967. Bolezni in škodljivci na hmelju. Žalec, Kmetijska proizvodjalna in poslovna zveza Žalec: 201 str.
- 3) Majer D. 1999. Vpliv vodnega stresa na pridelke hmelja (*Humulus lupulus* L.). Hmeljarski bilten, 6: 21–30.
- 4) Hmeljni kultivarji. Žalec, Hmeljna komisija Slovenije: 22 str.
- 5) Verzele M. 1985. Centenary review: 100 years of hop chemistry and its relevance to brewing. Journal of the Institute of Brewing, 92: 32–48.
- 6) Knorr F., Kremkow C. 1972. Chemie und Technologie des Hopfens. Nürnberg, Verlag Hans Carl: 183 str. Cit. po: Zupanec J. 1992. Vpliv procesnih parametrov pri optimizaciji sušenja in superkritični ekstrakciji na kvaliteto hmeljnega ekstrakta. Doktorska disertacija. Maribor, Univerza v Mariboru, Tehniška fakulteta Maribor, Oddelek za kemijsko tehnologijo: 6–22.
- 7) Zupanec J. 1992. Vpliv procesnih parametrov pri optimizaciji sušenja in superkritični ekstrakciji na kvaliteto hmeljnega ekstrakta. Doktorska disertacija. Maribor, Univerza v Mariboru, Tehniška fakulteta Maribor, Oddelek za kemijsko tehnologijo: 119 str.
- 8) www.beerlegend.com
- 9) Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec
- 10) www.kulturaobpaki.com

10 Priloge

K raziskovalni nalogi prilagam titracijske rezultate obeh metod in krivuljo standardizacije svinčevega acetata.

1. Standardizacija svinčevega acetata
2. Metoda KVH-TE2(toluen)
3. Metoda po Wöllmerju

'fr
Date 27.10.2014 Time 11:42:07
Method KWH-Vst
Id1 1/3
No. 1
TiNet 2.50
Endpoints:
MET U.Endpoint1 4.0805 ml 2.5 mV
Common variables:
Vps 4.29 ml
=====



'fr
Date 28.10.2014 Time 13:15:11

No. 35
TiNet 2.50

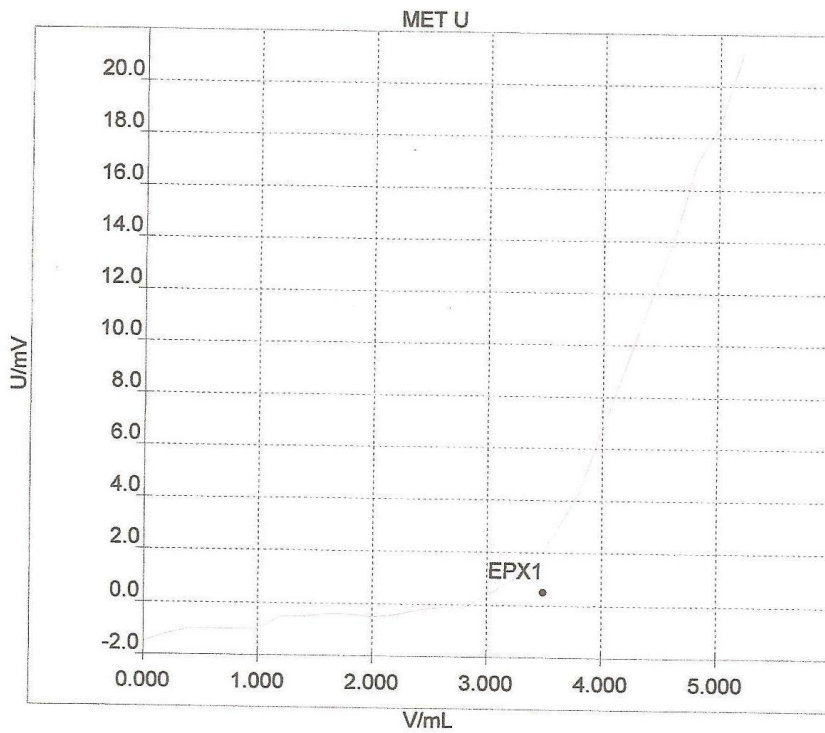
Method KWH-TE2
Id1 2876/14
SmplSize 10

Endpoints:

MET U.Endpoint1 3.4912 ml 0.5 mV

Results:

%KVH-TEhmelj 6.96 %
=====



'fr
Date 29.10.2014 Time 12:43:57 No. 34
TiNet 2.50
Method KWH-TE WOLL 2
Id1 2819/14
SmplSize 10
Endpoints:
MET U.Endpoint1 3.2638 ml -1.6 mV
Results:
%KVH-WOLL 6.51 %
=====

