

KARAKTERIZACIJA ETERIČNEGA OLJA SORTE HMELJA BOBEK

Iztok Jože KOŠIR¹, Janja KLEZIN²

UDK / UDC 633.791:665.52:543(045)

izvirni znanstveni članek / original scientific article

prispelo / received: 13. november 2012

sprejeto / accepted: 27. november 2012

Izvleček

Hmelj je trajna dvodomna rastlina iz družine konopljev. Za proizvodnjo piva je pomemben zaradi svoje grenčice, arome in antimikrobnega učinka, ki vpliva tudi na obstojnost piva. Spojine eteričnega olja hmelja vplivajo na aromo piva v smislu sadne, cvetlične, citrusne, zeliščne in tipično hmeljne note. V raziskavi smo določali količino in sestavo posameznih frakcij eteričnega olja v odvisnosti od časa destilacije. Za vzorec smo izbrali slovensko sorto hmelja Bobek, letnik 2011. Glede na sestavo in aromo celotnega olja ter njegovih frakcij smo sorto Bobek ocenili kot zelo kvalitetno. Za eterično olje Bobka smo ugotovili, da ima prijetno sladk, zeliščni vonj. Najprijetnejši vonj med frakcijami je bil po 60 minutah destilacije - ta je bil svež, zeliščni in sladkast.

Ključne besede: hmelj, *Humulus lupulus* L., sorte, Bobek, eterična olja, arome, vonjave, pivovarstvo, analizne metode

CHARACTERISATION OF THE ESSENTIAL OIL OF HOP VARIETY BOBEK

Abstract

Hop is perennial dioecious plant classified in the family Cannabinaceae. Because of the bitterness, hop aroma and antimicrobial effect influencing its time stability it is important for brewing industry. Components of hop essential oil tend to provide fruity, floral, citrus, herbal and spicy/woody odours. In our work the quantity and composition of a particular essential oil fractions as a function of distillation time were determined. Selected samples in the research were those of Slovenian hop

¹ Doc. dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-pošta: iztok.kosir@ihps.si

² Univ. dipl. inž. kem. tehnol., Trojno 3, SI-3270 Laško, e-pošta: janja.klezin@gmail.com

variety Bobek, harvest 2011. Based on the composition and aroma of whole oils and its fractions, variety Bobek was estimated as high quality. For the essential oil of Bobek we found out that it has a pleasant sweet, herbal odour. Most pleasant smell of fractions was at 60 minutes of distillation - it was fresh, herbal and sweet.

Key words: hop, *Humulus lupulus* L., varieties, Bobek, essential oils, aromas, odours, brewing industry, analytical methods

1 UVOD

Hmelj velja za eno izmed najpomembnejših sestavin pri proizvodnji piva. Pivu daje grenčico in aromo, prav tako pa z antimikrobnimi lastnostmi pozitivno vpliva na obstoj piva. Najpomembnejša pokazatelja kakovosti hmelja sta vsebnost grenkih smol in količina eteričnega olja. Dodajanje hmelja v procesu varjenja je potrebno prilagajati glede na zelen okus in aromo končnega proizvoda. Okus piva je posledica nehlapnih spojin, predvsem izo-alfa-kislin, ki dajejo pivu grenčico, medtem ko je sama aroma piva odvisna od hlapnih komponent eteričnega olja hmelja (Briggs, 2004; Priest, 2006).

Dodajanje hmelja v sladico v različnih časovnih razdelkih omogoča, da pridobimo končni produkt s kvalitetnejšo grenčico in aromo. Za zeleno grenčico dodamo hmelj med vretjem, zaradi lažje izomerizacije alfa-kislin. Za končno aromo piva pa dodajamo hmelj v zadnjih minutah kuhanja ali tik pred filtracijo (Briggs, 2004; Priest, 2006).

Pri dovolj visoki temperaturi (100°C) in zadostnem času kuhanja sladice (1 do 1,5 ure) pride do izomerizacije alfa-kislin v izo-alfa-kislino. Izomerizirane kisline so lažje topne kot alfa-kislino ter dajejo boljšo grenčico pivu. Kasnejše dodajanje hmelja v pivino prispeva k boljši aromi piva, saj pivina med samim kuhanjem izgubi hlapne komponente hmelja. Hmelj lahko med samim postopkom dodajamo na več načinov: direktno v kotel, med kuhanjem sladice, proti koncu kuhanja z dodatkom aromatičnega kultivarja hmelja ali z dodatkom eteričnega olja tik pred koncem kuhanja pivine (Priest, 2006).

Ugotovili so, da eterično olje hmelja sestavlja več kot 400 komponent. Vsebuje tako lahko-hlapne kot tudi težko-hlapne komponente. Komponente, ki sestavljajo eterično olje, uvrščamo v tri skupine: ogljikovodike, spojine s kisikom in spojine z žveplom. Eterično olje hmelja se pridobiva z metodo destilacije z vodno paro. Z analizo eteričnega olja hmelja so 26 komponent, glede na podoben tip arome, razvrstili v pet skupin. Te skupine so: cvetlična, sadna, citrusna, zeliščna in skupina s tipično hmeljno aromo. Vsaka sorta hmelja naj bi vsebovala komponente teh aromatičnih skupin, vendar le nekatere komponente olja v posamezni sorti

prevladujejo (Priest, 2006). Trend pridobivanja eteričnega olja hmelja je iz celotne količine eteričnega olja izolirati posamezno esenco olja, ki bi imela prevladujoč tip arome. Z dodatkom teh posameznih esenc olja k pivu ali k ekstraktu hmelja bi nadomestili izgubljeno olje med kuhanjem pivine ter pridobili pivo z bogatejšo in čistejšo aromo. Prav tako pa bi s takšno analizo olja pridobili natančnejše podatke o pravilnem časovnem hmeljenju v zadnjih minutah varjenja. Glede na to, da je količina porabljenega hmelja v pivu zelo majhna, nima velike vloge pri končni ceni piva, prav zato bi bil proces pridobivanja eteričnega olja iz hmelja smiseln.

Namen našega dela je bila separacija eteričnega olja sorte Bobek z metodo destilacije z vodno paro na posamezne frakcije pri različnih časih destilacije ter določiti količino in sestavo posameznih frakcij. Ker ni podatkov o sestavi frakcij eteričnega olja, pridobljenih z destilacijo z vodno paro po času, je bil cilj raziskave tudi na podlagi pridobljenih rezultatov okarakterizirati posamezne frakcije z ozirom na prevladujoči tip arome. Za pridobivanje hmeljnega eteričnega olja smo uporabljali destilacijo z vodno paro, ki predstavlja najboljši približek dejanskega procesa hmeljenja pri proizvodnji piva.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Vzorci hmelja

Za izvedbo eksperimentalnega dela smo uporabili vzorce storžkov hmelja sorte Bobek, ki so predstavljali povprečni vzorec za to sorto v letu 2011. Vzorci hmelja so bili nabrani v vseh hmeljiščih v Sloveniji. Storžke smo grobo zmleli v kamnem mlinčku, tako zmlete vzorce shranili v aluminijastih vrečkah ter jih vakuumirali. Tako pripravljen hmelj smo do uporabe shranili v hladilni komori pri 0–3°C in v temi.

2.2 Določanje vlage hmelja

Za določevanje vlage v suhem in zmlitem hmelju smo uporabili metodo po Analytica EBC 7.2. (Analytica-EBC, 1998). Metoda temelji na določevanju izgube mase vzorca med sušenjem eno uro v sušilniku pri temperaturi 103–104°C.

2.3 Določanje količine eteričnega olja v hmelju

Za določevanje količine eteričnega olja in posameznih frakcij smo uporabili metodo Analytica EBC 7.10. (Analytica-EBC, 2002). Za vse vzorce hmelja smo opravili destilacijo z vodno paro in modificirano frakcionirano destilacijo z vodno paro pri različnih časih. Obe metodi sta potekali na enak način.

Za izvedbo destilacije z vodno paro smo uporabili posušen zmlet hmelj, ki smo mu predhodno izmerili vlago. V 2000 mL destilacijsko bučko z okroglim dnom smo natehtali približno 50 g zmlatega hmelja in dodali 1000 mL demineralizirane vode. Bučko smo postavili v aparaturo z električnim grelom in jo povezali z destilacijskim nastavkom. Čas destilacije je bil 4 h.

2.4 Izvedba modificirane frakcionirane destilacije z vodno paro v odvisnosti od časa

Ta vrsta modificirane frakcionirane destilacije ne sodi med analitične metode kot klasična destilacija z vodno paro. Njeno izvedbo smo načrtovali sami, z namenom ugotoviti, kako se količina in sestava eteričnega olja hmelja spreminjata s časom destilacije. Modificirano destilacijo smo izvedli enako kot destilacijo z vodno paro, le da smo vzorec destilirane eteričnega olja hmelja vzeli v različnih časovnih presledkih znotraj štirih ur destilacije. Do dveh ur destilacije smo vzorec vzeli vsakih 20 minut, po dveh urah pa vsakih 30 minut, tako smo za en vzorec hmelja dobili 10 frakcij eteričnega olja hmelja. Vsaki posamezni frakciji eteričnega olja vzorca smo določili volumen ter vzorce shranili v hladilniku v epruvetah z obrusom in plastičnim zamaškom. Kadar je bila količina olja tako majhna, da je bil volumen frakcije premajhen za analizo, smo merilni del sprali s 2,5 mL n-heksana ter kasneje za analizo uporabili tako dobljeni vzorec. Količino eteričnega olja v hmelju smo podali kot količino eteričnega olja na 100 g suhega vzorca. Vse vzorce hmelja smo destilirali v paralelkah.

2.5 Določanje sestave eteričnega olja hmelja

Za analizo sestave eteričnega olja hmelja smo uporabili metodo po Analytici-EBC 7.12. (Analytica-EBC, 2006). Celotno eterično olje in posamezne frakcije olja smo analizirali s plinskim kromatografom HP 5890 A, Hewlett Packard, ZDA. Vzorce smo do analize shranili v hladilniku, zato jih je bilo potrebno pred analizo temperirati na sobno temperaturo. Redčenje vzorcev smo izvedli tako, da smo v epruveto z obrusom (~10 mL) s polnilno pipeto (0,1 mL) odpipetirali 0,1 mL vzorca eteričnega olja in mu z merilno pipeto (5 mL) dodali 2,5 mL n-heksana (Sigma-Aldrich). Epruveto smo pretresli, da se je eterično olje raztopilo v topilu. Zgornjo fazo, ki se je ločila od vode, smo s siringo (10 μ m) injicirali približno od 1,2 do 1,4 μ l raztopine eteričnega olja v injektor kromatografa. Temperaturni program je bil sledeč; začetna temperatura 60°C, 1 min, hitrost spreminjanja temperature 2,5°C/min do 190°C, 1 min pri 190°C, dvig temperature 70°C/min do 240°C in 1 min pri 240°C. Temperatura injektorja je bila 180°C, temperatura FID (flame ionization detector) pa 280°C. Uporabljena kolona je bila HP-1, z

dimenzijami $25\text{ m} \times 0,2\text{ mm}$, $0,11\text{ }\mu\text{m}$. Nosilni plin je bil dušik, s pretokom 25 ml/min .

Identifikacijo posameznih komponent smo izvedli s primerjavo retenzijskih časov standardnih spojin z retenzijskimi časi vrhov v kromatogramih.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Preglednica 1 prikazuje imena, oznake komponente eteričnega olja hmelja in retenzijske čase posameznih kromatografskih vrhov. Oznake spojin oziroma zaporedne številke pomenijo oznake kromatografskih vrhov, ki jih uporabljamo na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. S pomočjo retenzijskih časov smo lahko natančno določili identiteto posameznih komponent eteričnega olja hmelja. Klasifikacija spojin v posamezne skupine je povzeta po Whittock in sod. (2011).

Količina skupnega eteričnega olja je znašala $1,54\text{ ml/100g}$ suhega hmelja, medtem ko je količina olja, pridobljena z modificirano frakcionirno destilacijo, predstavljena v preglednici 2 po posameznih frakcijah.

Količina frakcij olja po času destilacije pada. Največja količina olja se izloči v prvih dveh frakcijah po 20 in 40 min destilacije. V preglednici 3 so prikazane povprečne količine komponent eteričnega olja za posamezen tip arome.

Koncentracija sadnega tipa arome pri Bobku po času pada (slika 1). Najvišjo vrednost komponent s sadnim tipom arome sta imeli frakciji po 20 in 60 minutah destilacije ($11,94$ in $8,22\text{ }\mu\text{L/100 g}$). Najvišji koncentraciji v skupini s sadno noto sta imeli spojina undekanona in metil-deka-4-dienoata. Izo-butil-izo-butirata in nonanoata sta bila v zelo majhnih količinah ali pa ju celo ni bilo zaznati (preglednica 3).

Najvišja koncentracija cvetličnega tipa arome je bila po 20 minutah destiliranja ($14,07\text{ }\mu\text{L/100 g}$). Najvišji prispevek h koncentraciji cvetlične arome je dala spojina linalol ($12,83\text{ }\mu\text{L/100 g}$) (preglednica 3). Koncentracije cvetličnih komponent skozi čas padajo, le v 60 minuti pride do rahlega odstopanja (slika 2).

Citrusne arome in s tem limonena je bilo največ v 20 minutni frakciji olja ($2,99\text{ }\mu\text{L/100 g}$) (preglednica 3). Koncentracija limonena je skozi čas padala (slika 3).

Najvišja koncentracija zeliščnega tipa arome je bila po 20 minutah destiliranja ($23,94\text{ }\mu\text{L/100 g}$), prav tako pa je bila precej visoka po eni uri destiliranja ($12,23\text{ }\mu\text{L/100 g}$). Spojina beta-pinen je največ prispevala k skupni koncentraciji

zeliščnega tipa arome. Med najnižjimi koncentracijami so bile spojine beta-selinen, gama-kadinen in humulen epoksid II (preglednica 3). Zeliščna koncentracija je med destilacijo padala, vendar z rahlim odstopanjem (slika 4).

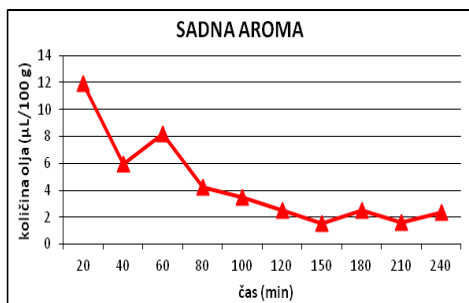
Preglednica 1: Prikaz spojin, oznak njihovih kromatografskih vrhov ter retenzijskih časov po posameznih aromatičnih skupinah

Table 1: Compounds, their chromatogram peak codes and retention times according to particular aroma groups.

Ime spojine	Retenzijski čas (min)	Oznaka vrha*
SADNE KOMPONENTE		
izo-butil-izo-butirat	5,73	18
2-nonanon	12,19	47
nonanoat	19,25	72
undekanon	22,60	83
metil-deka-4-dienoat	23,67	86
CVETLIČNE KOMPONENTE		
farnezol	43,59	F
linalol	12,80	51
geraniol	20,72	77
CITRUSNE KOMPONENTE		
limonen	9,73	37
ZELIŠČNE KOMPONENTE		
beta-pinen	7,73	28
beta-selinen	32,64	116
alfa-selinen	33,05	118
delta-kadinen	34,46	127
gama-kadinen	34,81	128
humulen epoksid I	37,90	142
humulen epoksid II	40,65	155
HMELJNE KOMPONENTE		
mircen	8,55	30
beta-kariofilen	29,44	104
alfa-humulen	31,20	108
farnezen	31,59	110

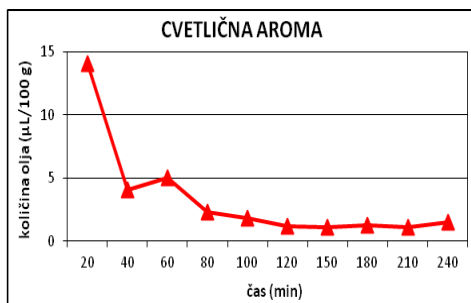
* Oznake vrhov pomenijo posamezen vrh v GC kromatogramu, kot ga označujemo na IHPS.

Na slikah 1 do 5 so prikazane koncentracije komponent eteričnega olja v odvisnosti od časa destilacije.



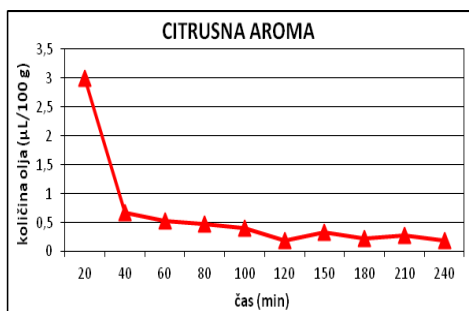
Slika 1: Prikaz količin sadnega tipa komponent v odvisnosti od časa destilacije.

Figure 1: Quantities of fruit type components as a function of distillation time.



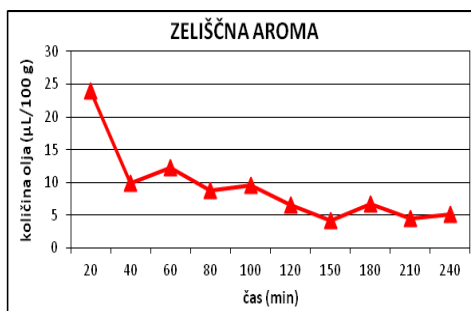
Slika 2: Prikaz koncentracij cvetličnega tipa komponent v odvisnosti od časa destilacije.

Figure 2: Quantities of flowery type components as a function of distillation time.



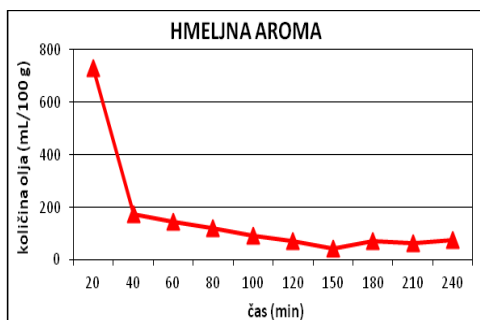
Slika 3: Prikaz koncentracij citrusnega tipa komponent v odvisnosti od časa destilacije.

Figure 3: Quantities of citrus type components as a function of distillation time.



Slika 4: Prikaz koncentracij zeliščnega tipa komponent v odvisnosti od časa destilacije.

Figure 4: Quantities of herbal type components as a function of distillation time.



Slika 5: Prikaz koncentracij hmeljnega tipa komponent v odvisnosti od časa destilacije.

Figure 5: Quantities of hop type components as a function of distillation time.

Preglednica 2: Količina eteričnega olja posameznih frakcij (50 g natehta vzorca hmelja)

Table 2: Quantity of particular fractions of essential oil (50g hop sample weight).

Čas odvzema frakcije (min)	20	40	60	80	100	120	150	180	210	240
Količina eter. olja (mL/100 g)	0,88	0,24	0,17	0,17	0,11	0,11	0,13	0,11	0,09	0,07

Od vseh tipov arom je prevladovala količina tipično hmeljne arome. V prvih 20 minutah destilacije je imela frakcija najvišjo koncentracijo hmeljne arome (728,22 $\mu\text{L}/100\text{ g}$) (preglednica 3). Visoka koncentracija hmeljne arome v prvi frakciji pa je posledica prisotnosti mircena. Koncentracija hmeljnih komponent skozi čas pada (slika 5).

Za celotno eterično olje Bobka smo ugotovili, da ima prijetno sladek, cvetlični in zeliščni vonj. Najprijetnejši vonj med frakcijami je bil po 60 minutah destilacije; ta je bil svež, zeliščni in sladkast.

Verjetno visoke koncentracije sadnih komponent v frakciji po 20 minutah vplivajo na sladek vonj olja pri Bobku. Olje Bobka (5,12 $\mu\text{L}/100\text{ g}$) pri 20 minutah ima relativno visoko koncentracijo undekanona. Spojina undekanon daje čist, sladek in mlečni vonj. Verjetno Bobek nima preveč izrazito sladke arome olja zaradi višjih koncentracij citrusne komponente limonen in cvetličnih komponent, še zlasti linalola, ki daje kislo sladek in cvetlični vonj.

4 ZAKLJUČEK

Na podlagi izvedenih analiz in dobljenih rezultatov lahko povzamemo, da se koncentracije komponent, ki sestavljajo skupino arom v smislu sadne, cvetlične, citrusne, zeliščne in tipično hmeljne note skozi čas destilacije z vodno paro zelo spreminjajo. Z uporabo modificirane destilacije z vodno paro po času lahko pridobimo frakcije, pri katerih se spreminja sestava lahko- in težko-hlapnih komponent eteričnega olja in je ves postopek primerljiv s postopkom hmeljenja sladice v pivovarskem procesu.

Sorto Bobek smo na osnovi analiz okarakterizirali kot sorto z izraženo cvetlično in zeliščno aromo, ki pa vsebuje tudi visoko koncentracijo sadnih in hmeljnih komponent.

Preglednica 3: Povprečne količine komponent eteričnega olja za posamezen tip arome

Table 3: Average hop essential component quantities of particular aroma group.

SADNE KOMPONENTE (μL olja/100 g suhega hmelja)										
t (min)	20	40	60	80	100	120	150	180	210	240
Kom.										
18	0,10	0,04	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
47	2,16	0,59	0,11	0,29	0,13	0,00	0,01	0,12	0,05	0,09
72	0,10	0,02	0,03	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,02
83	5,12	2,53	2,77	2,02	1,78	1,19	0,90	1,30	0,85	1,37
86	4,46	2,76	5,30	1,93	1,55	1,30	0,64	1,07	0,69	0,85
Σ_{S.K.}	11,94	5,94	8,22	4,25	3,46	2,50	1,57	2,49	1,59	2,33
CVETLIČNE KOMPONENTE (μL olja/100 g suhega hmelja)										
t (min)	20	40	60	80	100	120	150	180	210	240
Kom.										
F	0,28	0,31	0,58	0,46	0,35	0,39	0,46	0,56	0,43	0,99
51	12,83	3,48	4,11	1,63	1,25	0,77	0,53	0,54	0,60	0,40
77	0,96	0,31	0,30	0,24	0,21	0,00	0,11	0,13	0,04	0,12
Σ_{C.K.}	14,07	4,10	4,99	2,33	1,80	1,16	1,10	1,23	1,07	1,51
CITRUSNE KOMPONENTE (μL olja/100 g suhega hmelja)										
t (min)	20	40	60	80	100	120	150	180	210	240
Kom.										
37	2,99	0,68	0,53	0,47	0,40	0,18	0,33	0,22	0,28	0,19
ZELIŠČNE KOMPONENTE (μL olja/100 g suhega hmelja)										
t (min)	20	40	60	80	100	120	150	180	210	240
Kom.										
28	13,44	2,84	1,92	1,57	0,91	0,57	0,26	0,60	0,57	0,44
116	0,55	0,28	0,30	0,26	0,24	0,45	0,08	0,15	0,17	0,19
118	1,65	1,02	1,42	1,12	0,75	0,62	0,57	0,75	0,43	0,82
127	2,84	1,22	1,38	1,42	1,54	1,37	0,91	1,30	1,04	1,86
128	0,19	0,10	0,05	0,06	0,17	0,04	0,08	0,10	0,08	0,14
142	4,69	4,05	6,51	3,83	5,03	2,76	1,75	3,12	1,62	0,65
155	0,58	0,41	0,65	0,57	0,86	0,74	0,46	0,74	0,51	1,09
Σ_{Z.K.}	23,94	9,92	12,23	8,83	9,50	6,55	4,11	6,76	4,42	5,19
HMELJNE KOMPONENTE (μL olja/100 g suhega hmelja)										
t (min)	20	40	60	80	100	120	150	180	210	240
Kom.										
30	622,94	128,15	94,21	77,98	49,09	32,67	20,26	36,30	36,97	26,14
104	23,05	8,48	10,08	8,70	7,83	6,54	4,71	7,27	5,34	8,76
108	61,99	27,86	31,89	27,24	26,88	23,09	14,37	22,83	16,26	29,34
110	20,24	8,67	9,92	8,49	8,93	7,56	4,17	7,20	5,15	9,87
Σ_{H.K.}	728,22	173,16	146,10	122,41	92,73	69,86	43,51	73,60	63,72	74,11
(%)_{L.O.}	89,11	83,96	82,48	83,46	82,73	80,90	76,70	76,96	81,07	74,38

Kot najprijetnejše frakcije olja, pridobljene z modificirano destilacijo z vodno paro pri različnih časih, smo ocenili tiste, ki smo jih pridobili do ene ure destiliranja. Med frakcijami smo izbrali frakcijo po 60 minutah destilacije kot optimalno. Olje je imelo svežo, cvetlično in zeliščno aromo, zato smo kot najoptimalnejši čas za hmeljenje z Bobkom ocenili čas 60 min pred koncem hmeljenja. Bobek bi dal tako varjenemu pivu aromo, ki bi vključevala sladek, cvetlični in zeliščni vonj s citrusno noto.

5 LITERATURA

Analytica EBC metoda 7.2, 1998.

Analytica EBC metoda 7.10, 2002.

Analytica EBC metoda 7.12, 2006.

Briggs D.E., Boulton C.A., Brookes P.A., Stevens R. Brewing: Science and practice.

Woodhead Publishing Limited in CRC Press, Cambridge. 2004; 863.

Priest F.G., Stewart G.G. Handbook of Brewing, Second Edition. CRC Press in Taylor & Francis Group, London. 2006; 829.

Whitlock S.P., Koutoulis A. New hop (*Humulus lupulus*) aroma varieties from Australia.

Proceedings of the Scientific Commission, International Hop Growers Convention

I.H.G.C. Lublin, Poland. 2011; 10-13.