

DOI: 10.18832/kp201836

The secret of dry hopped beers – Review

Tajemství výroby studeně chmelených piv – přehled

Lukáš JELÍNEK, Jana MÜLLEROVÁ, Marcel KARABÍN, Pavel DOSTÁLEK

Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague, Technická 5, Praha 6, 166 28, Czech Republic
Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

e-mail: pavel.dostalek@vscht.cz

Reviewed paper / Recenzovaný článek

Jelínek, L., Müllerová, J., Karabín, M., Dostálek, P., 2018: The secret of dry hopped beers – Review. Kvasny Prum. 64(6): 287–296

Dry hopped beers gain their characteristic flavour from hop products purposely added during the cold stage of production. Although the production of these beers has not so broad a tradition in the Czech Republic as for instant in Great Britain or the United States, their popularity increases every year. This study provides a complete set of theoretical and practical information about the production of dry hopped beers. The relevant sensory active compounds of hops creating the characteristic beer aroma and factors influencing their transfer into beer are introduced. The last part of the study deals with some important risk factors which must be considered during the production of dry hopped beers.

Jelínek, L., Müllerová, J., Karabín, M., Dostálek, P., 2018: Tajemství výroby studeně chmelených piv - přehled. Kvasny Prum. 64(6): 287–296

Studeně chmelená piva získávají svou charakteristickou vůni z chmelového materiálu, který je cíleně dávkován ve studeném úseku výroby (odtud pak název „studené chmelení“) a ačkoliv výroba těchto piv nemá v České republice tak bohatou tradici, jako například ve Velké Británii nebo Spojených státech, jejich obliba v tuzemsku každým rokem stoupá. Tato práce poskytuje ucelený soubor teoretických a praktických informací o výrobě studeně chmelených piv. Jsou zde představeny významné senzory aktivní látky chmele vytvářející charakteristické aroma a faktory ovlivňující jejich přestup do nápoje. Poslední část práce je věnována některým důležitým rizikovým faktorům, které je třeba při výrobě studeně chmelených piv brát v potaz.

Keywords: dry hopping, beer, hops, hop extractor, hop essential oils**Klíčová slova:** studené chmelení, pivo, chmel, chmelový extraktor, chmelové silice

1 INTRODUCTION

Currently, dry hopping is a very popular method for beer production. When compared with the traditional production processes, it enables to transfer considerably higher amounts of aromatic compounds from the hops, especially the essential oils into beverage. At the same time, it is, up to now the only technological process making beer in such a way that its final sensory profile approaches that of the hop product used.

The production of dry hopped beers is mostly based on hop wort prepared in the traditional way, during which the hops is added to a copper during the wort boiling (kettle hopping), and sometimes to a whirlpool tank (late hopping). The last hops dosage compensates for the most serious loss of essential oils by steam stripping during the wort boiling and is made during the cold stage of production, mostly after the primary fermentation or during beer maturation. The transfer of aromatic compounds into the beer by simple maceration at low temperature during the wort fermentation is a very slow process. Nevertheless, when compared with the wort boiling, the losses of essential oils and their transformation are minimal if the right technological procedure is used. In the course of dry hopping, minor fractions of the bitter acids and their derivatives are extracted, thus having an impact on the intensity and the character of the bitterness of the finished beer. Nevertheless, this process is not the main topic of this study. For a better understanding, the previously published articles are recommended (Jaskula et al., 2007; Maye et al., 2016b).

The process of dry hopping seems to be simple, however, from a physicochemical point of view it is a very complicated. It is influenced by a number of factors such as the amount of hops, type of hops product, the extraction method, the contact time with the beer, the presence of yeasts and other factors. The wort and the beer compositions are both very substantial factors. It is obvious that essential oils generally being non-polar compounds pass more easily into strong beers with high alcohol content. However, the impact of further important beer parameters such as colour or content of other volatile substances, which have not yet been studied, remain questionable.

In terms of the extraction process, the methods of dry hopping can be divided into static and dynamic methods. In the static method, the hop product is only added to the fermentation vessel and left to macerate, mainly for the whole fermentation and/or maturation time. However, the popularity of dynamic methods in which the beer is pumped through a layer of hops, is currently growing. It is apparent

1 ÚVOD

Studené chmelení (dry hopping) je v současné době velmi populární způsob výroby piva, který v porovnání s tradičními výrobními postupy umožňuje vnést do nápoje výrazně vyšší množství aromatických látek chmele (zejména silic). Zároveň se jedná o jediný dosud známý technologický proces, s jehož pomocí lze připravit pivo tak, aby se jeho výsledný senzorycký profil blížil profilu použitého chmelového materiálu.

Samotná výroba studeně chmelených piv zpravidla vychází z klasicky připravené mladiny, kdy je chmel přidáván do mladinové pánve v průběhu chmelovaru („kettle hopping“) a v některých případech i do vířivé kádě („late hopping“). Poslední dávka chmele, která nejvyšší měrou kompenzuje ztráty silic stripovaných vodní párou během chmelovaru, je aplikována až ve studené části výroby (nejčastěji po hlavním kvašení či zrání). Přečod aromatických látek do piva prostou macerací při nízkých teplotách, které panují během kvašení mladiny, je proces velmi pomalý, nicméně při použití správného technologického postupu jsou ztráty silic i jejich transformace minimální, v porovnání s chmelovarem. Během studeného chmelení dochází i k extrakci minoritního podílu hořkých kyselin a od nich odvozených látek, které mají vliv na intenzitu a charakter hořkosti výsledného piva. Tento děj ovšem není hlavním předmětem této práce a pro jeho bližší pochopení je možné doporučit dříve publikované články (Jaskula et al., 2007; Maye et al., 2016b).

Jakkoliv se proces studeného chmelení může zdát jednoduchým, z fyzikálně-chemického hlediska jde o proces značně komplikovaný, který je ovlivněn celou řadou faktorů, zejména pak dávkou použitého chmele, typem chmelového výrobku, způsobem extrakce, dobou kontaktu s pivem, přítomností kvasinek aj. Velmi podstatnou roli zde hraje rovněž složení použité mladiny/piva. Je zřejmé, že obecně nepolární látky, jakými chmelové silice bezesporu jsou, mnohem ochotněji přechází do silných piv s vysokým obsahem alkoholu. Otázkou však stále zůstává vliv dalších důležitých parametrů piva, které nebyly dosud studovány, jako například barva či obsah jiných než chmelových těkavých látek.

Z hlediska způsobu extrakce lze metody studeného chmelení rozdělit na statické a dynamické. Při statických metodách je chmelový materiál pouze vložen do kvasné nádoby, kde je macerován, zpravidla po celou dobu kvašení či zrání piva. V současné době však stále více roste popularita metod dynamických, při nichž je pivo čerpáno

that the dynamic dry hopping methods have plenty of advantages such as a significantly shorter extraction time (in order of minutes to hours), better transfer of the aromatic compounds and an easy integration in an automated production. However, special equipment, the hop extractor, must be used for this technology. The hop extractors are expensive and, they represent no negligible investment for the brewery.

In this study, both of these methods will be described in detail. However, for a better understanding it is necessary to be acquainted with the physicochemical aspects of the process and with the sensory characteristics of the hop essential oils.

2 THE CHARACTERISTICS OF HOP ESSENTIAL OILS

From a chemical point of view, the essential oils of hops mainly belong to a large class of terpenoids (isoprenoids) including hundreds of sensory active substances (Schonberger and Kostecky, 2011; Almaguer et al., 2014). They are easy to isolate by steam distillation (Steenackers et al., 2015). The essential oils together with hop resins are biosynthesized in the lupulin glands of the female cones (Wang et al., 2008) and their concentration ranges from a tenths to several percents by weight (Briggs, 2004).

In 1980, the hop essential oils were categorized into three basic fractions: hydrocarbon, oxidized and sulphur fractions (Sharpe and Laws, 1981). Compounds from the hydrocarbon fraction are present in the highest concentrations in hops and also have the highest sensory threshold values (Schonberger and Kostecky, 2011). On the contrary, the sulphur fraction is rather rare in hop varieties (Kosař and Procházka, 2000).

2.1 Hydrocarbon Fraction

This fraction counts for 50 to 80% of the total content of essential oils in hops (Briggs, 2004). It consists mainly of aliphatic hydrocarbons, monoterpenes and sesquiterpenes (Sharpe and Laws, 1981). A part of them already oxidize to the oxygen fraction during the cultivation and the hop processing and further during the production and storage of beer (Eyres and Dufour, 2008; Almaguer et al., 2014). However, the main losses happen during wort boiling due to the steam stripping (Almaguer et al., 2014). This fact in combination with a marginal solubility of the hydrocarbon fraction (ranging in order of 1 to 1000 µg/l) is the reason for their low concentrations in finished beer (Kishimoto et al., 2006). The use of dry hopping methods increases significantly the concentration of the essential oils from the hydrocarbon fraction in beer as the losses are lower and the alcohol produced during the primary fermentation increases their solubility (Briggs, 2004).

The most representative compounds from the hydrocarbon fraction are shown in Fig. 1. As the dominant monoterpene, β -myrcene can reach up to 70% rel. of the total content of essential oils in some hop varieties (Howard, 1953; Thompson et al., 2010). Limonene, β -pinene, β -ocimenes and terpinolene are other important monoterpenes contributing to the aroma of dry hopped beers, even though their concentrations are significantly lower.

2.2 Oxidized Fraction

This fraction is a mixture of monoterpene, sesquiterpene and aliphatic alcohols, aldehydes, ketones, esters, epoxides and carboxylic acids (Basařová et al., 2010). It can reach up to 30% rel. of the total essential oils (Aberl and Coelhan, 2012). These compounds can be formed by the oxidation of the hydrocarbon fraction during hop processing and beer production (Schönberger et al., 2015). For example, with the auto oxidation of β -myrcene during the drying and storage of hops leads to formation of up to forty different compounds, most of them essential oils of the oxygen fraction (Dieckmann and Palamand, 1974). During beer fermentation, β -myrcene can be biotransformed by yeasts into terpenic alcohols (Praet et al., 2012). The presence of oxygen in the chemical structure enhances the polarity of these compounds and thereby, the essential oils of the oxygen fractions are generally more soluble in water and weak alcohol solutions when compared with those of the hydrocarbon fraction (Van Opstaele et al., 2012). The most significant compounds of the oxygen fraction in terms of their contents and sensory characteristics are linalool and geraniol formed as mentioned above by biotransformation of β -myrcene. Further significant compounds are humulene epoxides I to III, caryophyllene epoxide, esters such as geranyl acetate and 2-methylbutyl isobutyrate (2MBIB) (Fig. 1).

skrz vrstvu chmele. Je zřejmé, že dynamické metody studeného chmelení přináší mnoho výhod, mezi které bezesporu patří výrazně nižší doba extrakce (minuty až hodiny), lepší přestup aromatických látek a snadná integrace a automatizace výroby. Na druhou stranu lze tuto technologii provozovat pouze ve speciálních zařízeních, tzv. chmelových extraktorech, jejichž pořízení představuje pro pivovar nezanedbatelnou investici.

V této práci budou oba zmíněné postupy popsány podrobněji, nicméně pro jejich lepší pochopení je nejprve nutné seznámit se blíže s fyzikálně-chemickou a do jisté míry i se senzoryckou povahou chmelových silic.

2 CHARAKTERISTIKA CHMELOVÝCH SILIC

Z chemického hlediska jsou chmelové silice skupinou převážně terpenických látek, zahrnující stovky senzorycky aktivních sloučenin (Schonberger a Kostecky, 2011; Almaguer et al., 2014), které lze snadno izolovat destilací vodní parou (Steenackers et al., 2015). Podobně jako pryskyřice i silice jsou biosyntetizovány lupulinovými žlázkami chmelových šištic (Wang et al., 2008), kde se jejich koncentrace pohybuje v rozmezí desetin až jednotek hmotnostních procent (Briggs, 2004).

V roce 1980 byly chmelové silice kategorizovány do tří základních frakcí: uhlovodíkové, kyslíkaté a frakci sírných sloučenin (Sharpe a Laws, 1981). Největší zastoupení ve chmelu a zároveň také nejvyšší prahové koncentrace senzoryckého vnímání vykazují látky patřící do první zmíněné frakce (Schonberger a Kostecky, 2011). Oproti tomu frakce sírných sloučenin je u většiny chmelových odrůd zastoupena jen málo (Kosař a Procházka, 2000).

2.1 Uhlovodíková frakce

Tato frakce tvoří 50-80% celkového obsahu silic ve chmelu (Briggs, 2004) a skládá se převážně z alifatických uhlovodíků, monoterpenů a seskviterpenů (Sharpe a Lewis, 1981). Část z nich oxiduje už během pěstování a zpracování chmele a v průběhu výroby a skladování piva na silice kyslíkaté frakce (Eyres a Dufour, 2008; Almaguer et al., 2014), avšak k jejich nejmarkantnějším ztrátám dochází při chmelovaru stripováním vodní párou (Almaguer et al., 2014). Tato skutečnost, v kombinaci s nepatrnou rozpustností v mladině (řádově jednotky až tisíce mikrogramů v litru), je příčinou jejich nízkých koncentrací v hotovém pivu (Kishimoto et al., 2006). Výrazně vyšších koncentrací silic uhlovodíkové frakce lze dosáhnout právě u studeně chmelených piv, neboť nedochází k tak markantním ztrátám a také alkohol vzniklý během hlavního kvašení napomáhá k jejich rozpustnosti (Briggs, 2004).

Nejvýznamnější zástupci uhlovodíkové frakce jsou uvedeni na obr. 1. Dominantní chmelový monoterpén β -myrcen může u některých odrůd tvořit až 70% rel. z celkového obsahu silic (Howard, 1953; Thompson et al., 2010). Limonen, β -pinen, β -ocimen a terpinolen, jsou další významné monoterpeny přispívající k aroma studeně chmelených piv, které se ovšem ve chmelu vyskytují v mnohem nižších koncentracích.

2.2 Kyslíkatá frakce

Tato frakce je směsí monoterpeneických, seskviterpeneických a alifatických alkoholů, aldehydů, ketonů, esterů, epoxidů a karboxylových kyselin (Basařová et al., 2010) a může tvořit až 30% rel. z celkového množství silic (Aberl a Coelhan, 2012). Při zpracování chmele a během výroby piva mohou tyto látky vznikat oxidací z uhlovodíkové frakce (Schönberger et al., 2015). Jako příklad poslouží autooxidace β -myrcenu (probíhající během sušení a skladování chmele), ze kterého může vzniknout až čtyřicet sloučenin - většinou silic kyslíkaté frakce (Dieckmann a Palamand, 1974). Během kvašení piva může pak být β -myrcen biotransformován kvasinkami na terpenické alkoholy (Praet et al., 2012). Přítomnost kyslíku v chemické struktuře zvyšuje polaritu těchto látek, díky čemuž jsou silice kyslíkaté frakce obecně snadněji rozpustné ve vodě a slabých alkoholických roztocích, než silice frakce uhlovodíkové (Van Opstaele et al., 2012). Z hlediska obsahu a senzoryckých vlastností patří mezi nejvýznamnější zástupce kyslíkaté frakce zejména linalool a geraniol, které vznikají převážně zmíněnou biotransformací z β -myrcenu, dále pak humulene epoxidy I až III, karyofylen epoxid a estery geranylacetát a 2-methylbutylisobutytrát (2-MBIB), viz obr. 1.

Je třeba též zmínit, že některé silice, a to nejen kyslíkaté frakce, se mohou ve chmelu nacházet také ve formě glykosidů, ze kterých lze odštěpit cukernou složku pomocí hydrolytických enzymů EC 3.2.1 (Kollmannsberger et al., 2006). Tyto enzymy lze přidávat do mladiny/piva a podpořit tak přechod silic z chmelového materiálu.

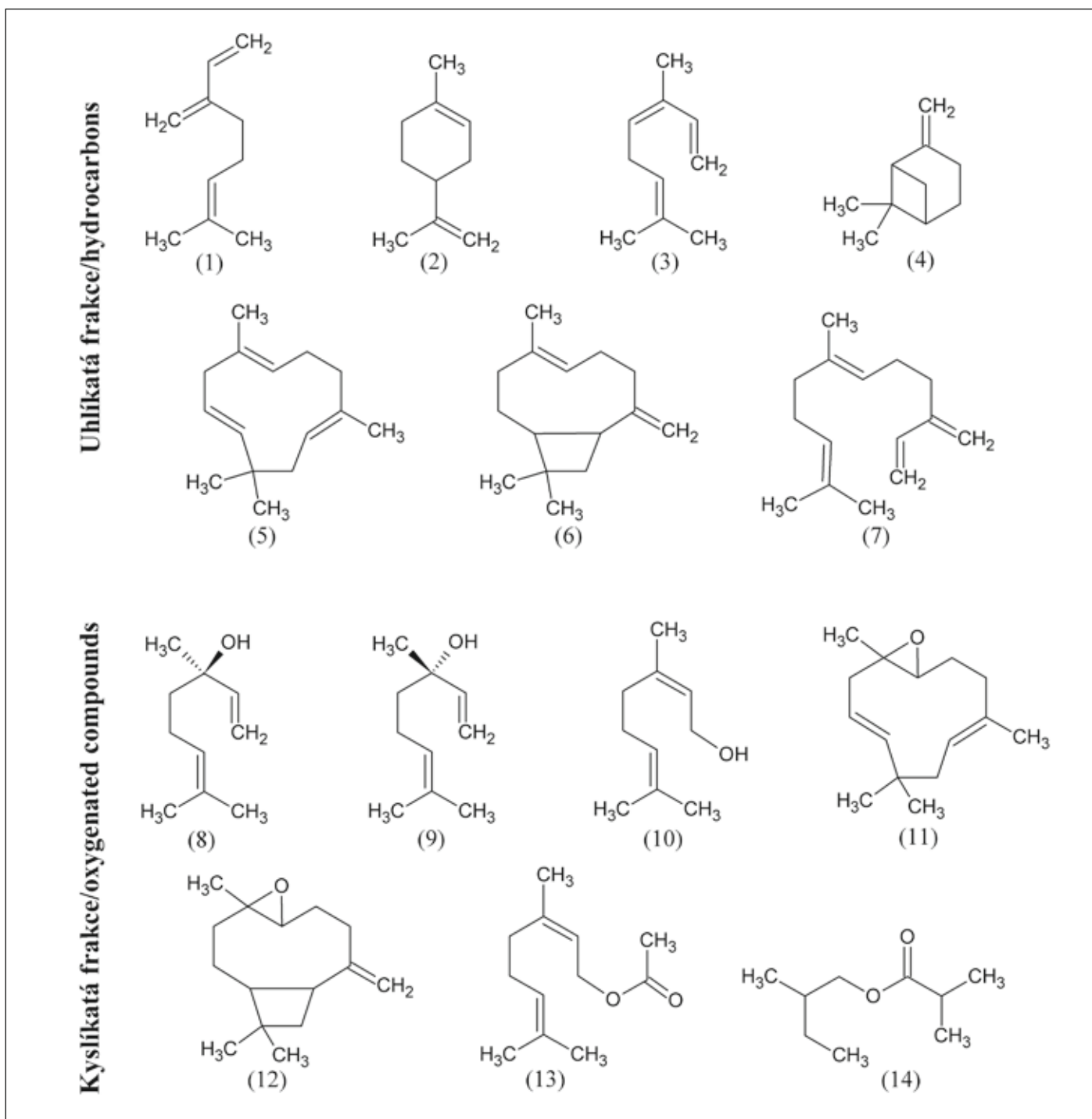


Fig. 1 Structure of some essential oils involved in the aroma of dry hopped beers (1) β -myrcene, (2) limonene, (3) β -ocimene, (4) β -pinene, (5) α -humulene, (6) β -karyofyllene, (7) β -farnesene, (8) R-linalool, (9) S-linalool, (10) geraniol, (11) humulene epoxide, (12) karyofyllene epoxide, (13) geranyl acetate, (14) 2-MBIB

Obr. 1 Struktura některých silic podílejících se na aroma studeně chmelových piv (1) β -myrcen, (2) limonen, (3) β -ocimen, (4) β -pinen, (5) α -humulen, (6) β -karyofylen, (7) β -farnesen, (8) R-linalool, (9) S-linalool, (10) geraniol, (11) humulen epoxid, (12) karyofylen epoxid, (13) geranylacetát a (14) 2-MBIB

It is worth mentioning that some of the essential oils in hops, mainly but not only from the oxygen fraction, can be present in form of glycosides. The carbohydrate part of the molecule can be cleaved by hydrolytic enzymes such as EC 3.2.1 (glycosidases) (Kollmannsberger et al., 2006). These enzymes can be added to the wort or the beer to support the transfer of the essential oils from the hop products.

3 THE AROMA OF DRY HOPPED BEERS

The majority of essential oils have very low sensory threshold values. Therefore, they are able to significantly influence the beer aro-

3 AROMA STUDENĚ CHMELNÝCH PIV

Většina chmelových silic má velmi nízký sensorický práh vnímání, a proto jsou tyto látky schopny i při velmi nízkých koncentracích výrazně ovlivnit vůni piva (Benzo et al., 2007). Bylo by ovšem chybou se domnívat, že chmelové aroma je způsobeno pouhým součtem příspěvků jednotlivých sensoricky aktivních entit. Jak bylo v minulosti prokázáno (Takai et al., 2010), řada silic je schopna umocňovat, či naopak tlumit intenzitu některých vůní pomocí synergického respektive antagonického efektu, a tudíž lze prostřednictvím koncentrací a profilu zastoupení jednotlivých chmelových silic hodnotit chmelové aroma jen omezeně.

ma even at very low concentrations (Benzo et al., 2007). However, the hop aroma is not only the sum of the individual sensory active components. It was found that a number of essential oils are able to potentially increase or decrease the intensity of particular aromas by means of synergic or antagonistic effects. Consequently, the hop aroma can be evaluated through the concentration and the profile of particular essential oils present only to a limited extent.

It is necessary to take into account that the hop aroma passes through many changes during the wort boiling and late hopping, in terms both of its intensity and its character. Therefore, the hop aroma of beer produced by traditional methods corresponds only slightly to the aroma of hop product used (Van Opstaele et al., 2010). In the following text, the sensory features of some of the essential oils important in dry hopping and their behaviour during beer production will be described.

The monoterpene hydrocarbon **β -myrcene** is typical compound with characteristic intensive spice and herbal aroma (ASBC, 2018). In common beers, it is present in concentrations much below its sensory threshold value because of the significant losses during wort boiling (Sharpe and Laws, 1981). In dry hopped beers, however, β -myrcene is one of the key substances responsible for their individual tastes (Krottenthaler, 2009). Nevertheless, even during the cold stage of production it is difficult to prevent the evaporation of β -myrcene along with the carbon dioxide, and finally its absorption at the cell surface of the yeasts. For this reason, it is recommended to apply the dry hopping only after the end of the primary fermentation (Takoi et al., 2014).

During the dry hopping, sesquiterpenes **α -humulene**, **β -caryophyllene** and **β -farnesene** behave in a similar way to β -myrcene. The aroma of these compounds and of a number of their oxidation products are often described as spicy or noble hoppy (Van Opstaele et al., 2010). The Czech Saaz variety and the German Hallertauer Hersbrucker variety are the representative hop varieties for this aroma (Eyres and Dufour, 2008).

Due to its higher solubility in water and weak alcohol solutions, the oxygen fraction has a very distinctive impact on the beer aroma even at its generally lower sensory threshold values (Forster et al., 2015). The most important monoterpene alcohols present in dry hopped beers in relative high concentrations are in particular **linalool**, **β -citronellol** and **geraniol**. Linalool is known for its intensive citrus aroma. Nevertheless, due to a synergic effect in the presence of geraniol, the aroma changes to a rather floral type flavour (Eyres and Dufour, 2008). As shown in Fig. 1, linalool can be present in hops and beer in two stereo isomeric forms, whereas (R)-linalool is significantly more sensory active when compared with the (S)-form (Peacock, 2010). Geraniol has an intensive lime aroma (ASBC, 2018). In professional literature, this essential oil is often discussed in terms of bio-transforming changes to other sensory active substances. Geraniol can possibly be formed from geranyl acetate (Cori et al., 1986; Forster et al., 2014) and can be further transformed to β -citronellol. This could explain the significant decrease in geraniol concentration during the first four days of primary fermentation (Takoi et al., 2016).

Isobutyl esters, especially isobutyl isobutyrate, isoamyl isobutyrate or 2-methylbutyl isobutyrate, which are normally degraded during wort boiling, are often present in dry or late hopped beers (Takoi et al., 2010). These compounds provide the beer with a pleasant fruity and spicy aroma (ASBC, 2018). They occur in a broad spectrum of hop varieties but they are particularly typical for the German hop varieties Hallertauer Tradition or Nugget (Perpète et al., 1998; Takoi et al., 2010).

4 THE TECHNOLOGY OF DRY HOPPED BEERS

The production methods for dry hopped beer can be divided into **static** and **dynamic** methods. The basic difference between these two methods is the way and the speed in which the essential oils are extracted from the hop products. The general description of both methods is summarized in Table 1. By using a dry hopping technique, the addition of hop products can be applied during the primary fermentation, during the maturation (the most common way) or into the finished beer.

4.1 Static methods for dry hopping

The principal of the static methods for dry hopping is a simple addition of the hop products to the fermentation vessel (mostly the fermentation tank), where the sensory active compounds slowly diffuse

Dále je třeba si uvědomit, že aroma chmele prodělává během chmelovaru a pozdního chmelení řadu změn, a to jak z hlediska intenzity tak charakteru. Proto chmelové aroma klasicky připraveného piva odpovídá jen minimálně vůni chmelového materiálu, ze kterého bylo připraveno (Van Opstaele et al., 2010). V následujícím textu budou představeny sensorické vlastnosti některých důležitých silic, hrajících významnou roli při studeném chmelení a jejich chování během výroby piva.

Monoterpenický uhlovodík **β -myrcen** se vyznačuje intenzivním kořenitým a bylinným aroma (ASBC, 2018). V běžných pivech se tato látka vyskytuje v koncentracích mnohem nižších, než je jeho prahová hodnota sensorického vnímání, jelikož ve velké míře mizí z mladiny během chmelovaru (Sharpe a Laws, 1981). U studeně chmelovaných piv je však β -myrcen jednou z klíčových látek zodpovědných za jejich osobitou chuť (Krottenthaler, 2009), nicméně i ve studené části výroby je udržení této látky v pivu značně problematické a aby nedocházelo k jejímu vytěkání s oxidem uhličitým, případně sorpci na buněčný povrch kvasinek, je vhodné provádět studené chmelení ne dříve než na konci hlavního kvašení (Takoi et al., 2014).

Podobné chování jako v případě β -myrcenu bylo při studeném chmelení pozorováno také u seskviterpenů **α -humulenu**, **β -karyofylenu** a **β -farnesenu**. Aroma těchto sloučenin i celé řady jejich oxidačních produktů bývá často popisováno jako kořenité či ušlechtilé chmelové (Van Opstaele et al., 2010) a vyznačují se jím převážně české (Žatecký poloraný červeňák) a německé (Hallertauer Hersbrucker) odrůdy (Eyres a Dufour, 2008).

Kyslíkaté frakce má, zejména díky své vyšší rozpustnosti ve vodě a slabých alkoholických roztocích, velmi významný vliv na aroma piva, a to i přes své obecně nižší prahové hodnoty sensorického vnímání (Forster et al., 2015). Mezi nejvýznamnější monoterpennické alkoholy, které jsou zastoupeny ve studeně chmelovaných pivech v relativně vysokých koncentracích, se řadí zejména **linalool**, **β -citronellol** a **geraniol**. První jmenovaný je znám pro své intenzivní citrusové aroma, které však díky synergickému efektu v přítomnosti geraniolu nabývá spíše květinových tónů (Eyres a Dufour, 2008). Jak je patrné z obr. 1, linalool se ve chmelu i pivu může vyskytovat ve dvou stereoisomerních formách, přičemž (R)-linalool je, v porovnání se svou (S) formou, mnohem více sensoricky aktivní (Peacock, 2010). Geraniol je spojován s intenzivním limetkovým aroma (ASBC, 2018). Tato silice je v odborné literatuře často diskutována z hlediska bioformačních přeměn na jiné sensoricky aktivní látky. Geraniol může touto cestou v pivu vznikat z geranylacetátu (Cori et al., 1986; Forster et al., 2014) a může se dále přeměňovat na β -citronellol, což je také nepochybně důvodem dramatického poklesu koncentrace geraniolu, pozorovaného během prvních čtyř dnů hlavního kvašení (Takoi et al., 2016).

V pozdně či studeně chmelovaných pivech se často vyskytují **estery isobutylu**, konkrétně isobutylisobutyryát, isoamylisobutyryát či 2-methylbutylisobutyryát, které jsou během chmelovaru nestabilní (Takoi et al., 2010). Tyto látky, dodávající pivu příjemné ovocné a kořenité aroma (ASBC, 2018), se vyskytují v širokém spektru chmelových odrůd, nicméně charakteristické jsou zejména pro německé chmely Hallertauer Tradition či Nugget (Perpète et al., 1998; Takoi et al., 2010).

4 TECHNOLOGIE VÝROBY STUDENĚ CHMELNÝCH PIV

Metody výroby studeně chmelovaných piv lze rozdělit na **statické** a **dynamické**. Základní rozdíly mezi těmito dvěma skupinami metod jsou zejména způsob a rychlost extrakce silic z chmelového materiálu. Obecná charakteristika obou metod je shrnuta v tab. 1. V závislosti na technologickém úseku aplikace chmelového materiálu rozdělujeme studené chmelení během hlavního kvašení, během zrání (nejčastěji) a do hotového piva.

4.1 Statické metody studeného chmelení

Principem statických metod studeného chmelení je prosté vložení chmelového materiálu do nádoby s pivem (zpravidla kvasného tanku), kde dochází k pozvolné difuzi sensoricky aktivních látek do roztoku. Tento postup se obvykle provádí ve fázi hlavního kvašení či zrání, méně často pak v hotovém pivu, například vložním chmelového materiálu do sudů (Cocuzza a Mitter, 2013).

Po přidání chmele do nádoby je výhodné provést nejprve evakuaci vzduchu ze systému (včetně přítomného chmelového materiálu) pomocí inertního plynu a teprve poté nádobu naplnit pivem. Odstranění vzdušného kyslíku je z hlediska studeného chmelení klíčové,

Table 1 Comparison of static and dynamic dry hopping methods

	STATIC METHODS	DYNAMIC METHODS
Distribution of essential oils to beer	maceration	dynamic extraction
Technological part of application	fermentation, maturation, final beer	maturation, final beer
Contact time with hops	from days to months	from minutes to hours
Technological difficulty	unpretentious	difficult
Acquisition costs	minimal	high
Tools / Devices	bags, spikes, inserts	hop extractors

into the solution. This technique is normally done by adding the hop products to casks during the primary fermentation or maturation and only seldom to the finished beer (Cocuzza and Mitter, 2013).

After the addition of the hops to the vessel, it is advisable to evacuate the air from the whole system by means of an inert gas and only after this to fill the vessel with beer. The elimination of air-oxygen is crucial, as the essential oils oxidize in presence of air (Kuchel et al., 2006) and then, the final sensory profile of the beer corresponds only faintly to that of the hop variety used (Schönberger et al., 2015).

Cones or pellets can be added to the vessels in closable permeable covers such as bags, netting or small cages or only free. The addition of free hop products became currently unpopular because the vegetative hop remains settle at the bottom of the vessels and can cause a number of technical problems such as blocking of pipes, slowing of the filtration, difficulties with the regeneration of the yeasts and other problems (Cocuzza and Mitter, 2013; Schönberger et al., 2015).

As mentioned above, the essential oils of hops are generally non-polar compounds. Therefore, it can be expected that their diffusion into beer, also considering the low temperature will be a very slow process. It can take from days up to months, depending on the technological section where the dry hopping takes place. With static methods, time regulation of the contact between beer and hops is very difficult. If a cylindro-conical fermenter with freestanding hop products is used, the contact can be stopped instantly by 'blasting off' the hop products from conical bottom. If a fermenter with a flat bottom is used, it is necessary to pump the beer into an empty tank. If this option is missing then the hops must stay in contact with the beer for the time necessary to complete the technological step, where it was added (Schönberger et al., 2015).

The indisputable advantage of dry hopping at the stage of primary fermentation is the minimal concentration of oxygen in the wort or green beer. In addition, the remaining oxygen is immediately used up by yeast metabolism (Pires et al., 2014). Nevertheless, the effectiveness of this method, in terms of the transfer of the essential oils is not high because the carbon dioxide escaping from the fermentation vessels serves as a carrier gas and strips out substantial amounts of the aromatic substances (Rettberg et al., 2018).

A large amount of yeast biomass also has a significant influence as some of the essential oils can be absorbed to its surface (Praet et al., 2012; Takoi et al., 2014; Rettberg et al., 2018).

The difficulties mentioned above, can be partially or even totally eliminated by adding the hop products during the beer maturation. At this stage, the amount of yeast is significantly lower than during the primary fermentation. Therefore, its metabolic activity and consequently its production of carbon dioxide are reduced due to a shortage of nutrients. In addition, the transfer of the essential oils to the beer is supported by the presence of alcohol produced during fermentation (Durling et al., 2007).

Nowadays, an increasingly popular technique for the transfer of the hop aroma to the beer is the use of concentrates of the essential oils. Up to the end of the sixties in last century, these products were obtained by steam distillation (Wright and Connery, 1951). Nevertheless, this method was abandoned because of the thermal degradation of some essential oils (Marriott and Wilson, 2017). The classic distillation was progressively replaced by vacuum distillation, which provides essential oil products in the form of oils or oils emulsions. These were already used in the late seventies as an alternative to dry hopping (Pickett et al., 1977). In later experiments, the hop aro-

Tab. 1 Srovnání statických a dynamických metod studeného chmelení

	STATICKÉ METODY	DYNAMICKÉ METODY
Distribuce silic do piva	macerace	dynamická extrakce
Technologický úsek aplikace	kvašení, zrání, hotové pivo	zrání, hotové pivo
Doba kontaktu s chmelem	dny až měsíce	minuty až hodiny
Technologická náročnost	nenáročná	náročná
Požizovací náklady	minimální	vysoké
Nástroje/zařízení	sáčky, klíčky, inserty	chmelové extraktory

neboť v jeho přítomnosti dochází k oxidaci chmelových silic (Kuchel et al., 2006) a výsledný senzoričský profil piva pak jen málo koresponduje s použitou chmelovou odrůdou (Schönberger et al., 2015).

Hlávky nebo pelety se vkládají do nádoby v uzavíratelných permeabilních obalech (sáčky, sítky, klíčky aj.), nebo jen volně. Od druhého jmenovaného způsobu se však v současné době upouští, neboť vegetativní chmelové zbytky sedimentované na dně mohou způsobit řadu technologických problémů jako ucpávání potrubí, zpomalení filtrace, obtížnou regeneraci kvasinek aj. (Cocuzza a Mitter, 2013; Schönberger et al., 2015).

Jak již bylo zmíněno, chmelové silice jsou látky obecně nepolárního charakteru a lze tedy očekávat, že jejich difuze do piva, která navíc probíhá za nízkých teplot, je procesem velmi pomalým. V praxi lze hovořit o době v řádech dnů až měsíců, která je závislá zejména na technologickém úseku, kde je studené chmelení prováděno. Regulace doby kontaktu chmelu s pivem je u statických metod obtížná. V případě použití cylindrokonických tanků a volně loženého chmelového materiálu lze kontakt okamžitě ukončit „odstřelením“ chmele z kónického dna, v opačném případě je nutné pivo přečerpat do prázdného tanku. Jestliže ani tato možnost není k dispozici, musí chmel zůstat v kontaktu s pivem po celou dobu technologického kroku, kde byl aplikován (Schönberger et al., 2015).

Statické metody studeného chmelení se běžně provádí ve fázi hlavního kvašení, zrání a někdy též do hotového piva. Nespornou výhodou studeného chmelení ve fázi hlavního kvašení je minimální koncentrace kyslíku v mladném pivu, který je okamžitě spotřebováván kvasinkovým metabolismem (Pires et al., 2014). Účinnost této metody, z hlediska přestupu silic není ovšem nijak vysoká, neboť oxid uhličitý, unikající z kvasných nádob se chová jako nosný plyn a stripuje sebou velké množství aromatických látek (Rettberg et al., 2018). Nezanedbatelný vliv zde má i velké množství samotné kvasinkové biomasy, na jejíž povrch se některé silice mohou sorbovat (Praet et al., 2012; Takoi et al., 2014; Rettberg et al., 2018).

Výše zmíněná úskalí lze částečně, nebo zcela eliminovat přidáním chmelového materiálu ve fázi zrání piva, kdy je počet kvasinek oproti hlavnímu kvašení výrazně nižší a jejich metabolická aktivita, a tedy i produkce oxidu uhličitého, je utlumena důsledkem nedostatku živin. K přestupu silic do piva zde přispívá i alkohol vzniklý během hlavního kvašení (Durling et al., 2007).

V současné době se stává populárním využití tzv. silicových koncentrátů pro vnesení chmelového aroma do piva. Do konce šedesátých let minulého století se tyto přípravky získávaly destilací chmelového materiálu vodní párou (Wright a Connery, 1951), od které se však opustilo z důvodů termické degradace některých silic (Marriott a Wilson, 2017). Postupem času klasickou destilací nahradila destilace vakuová, poskytující silicové preparáty buď ve formě olejů, nebo olejových emulzí, které se již koncem sedmdesátých let používaly v Anglii, jako alternativa studeného chmelení (Pickett et al., 1977). Dále byly provedeny pokusy extrahovat aromatické látky chmele kapalným oxidem uhličitým (Sharpe a Lewis, 1981), nicméně i tato metoda byla později nahrazena účinnější extrakcí superkritickým oxidem uhličitým, která se s úspěchem používá dodnes (Van Opstaele et al., 2012). Kombinace této metody s chromatografickou frakcionací pak umožňuje přípravu preparátů s převažující citrusovou, květinovou bylinnou, či kofenitovou vůní (Van Opstaele et al., 2012). Dávkování silicových koncentrátů úzce souvisí s typem připravovaného piva a pohybuje se v řádech gramů na hektolitr. Marriott a Wilson (2017) například ve své práci uvádí, že dávka koncentráту 2 g/hl může zcela zastoupit studené chmelení 250g chmelových pe-

matic substances were extracted with liquid carbon dioxide (Sharpe and Laws, 1981). However, even this method was later replaced by a more efficient extraction with supercritical carbon dioxide that has been used up to now (Van Opstaele et al., 2012). The combination of this method with chromatographic fractionation allows the production of concentrates with distinct aromas such as citrus, floral, herbal or spicy ones (Van Opstaele et al., 2012). The dosage of the essential oil concentrates depends on the type of beer and varies in order of grams per hectolitre. In their study Marriot and Wilson (2017) mentioned that a dose of 2 g/hl can replace 250 g of hop pellets otherwise used for dry hopping. The concentrates can be added directly to the tanks or the whirlpool-tanks or even better to the turbulent beer flow during the pumping from the tanks to the filters. This would provide an even dispersion over the whole volume (Cocuzza a Mitter, 2013).

4.2 Dynamic methods for dry hopping

For dynamic dry hopping unlike for the static methods, the movement of the liquid initiated by pumping or stirring is necessary (Schnaitter et al., 2016). The flow supports significantly the extraction by a constant changing of the layers of the extraction agent (beer) around the hop particles, whereby it facilitates and accelerates the transfer of the essential oils (Podeszwa and Harasym, 2016). Due to the action of shear forces, it results in a faster break-up of the hop pellets and consequently to enlargements of the contact surface. This enhances the efficiency and accelerates the transfer of the aromatic substances (Engstle et al., 2016). It results, among other things, in significant savings of hops in comparison with the static methods (Michel et al., 2017). A number of factors such as the velocity and the characteristics of the liquid flow, the extent of the shear forces, the time of contact with the beer, the temperature and last but not least the properties of the beer and the hop products have an impact on the effectiveness of these dynamic techniques (Wolfe, 2012).

The simplest technique for dynamic dry hopping involves, as for the static method, an addition of the hop products to the tanks followed by an evacuation of the air by means of an inert gas. Then the tank is filled with beer and the whole content (including the hops) is circulated several times. This technique is currently often replaced by using hop extractors (Fig. 2). Several versions of commercially available equipment are already available. They vary in construction, in size and in price (internet sources). Nevertheless, most facilities consist of conical pressure vessels made from stainless steel equipped with a filter for solid particles thus ensuring the separation of hop remains from the beer. The fine sludge can be held on by an additional filter usually placed before the entry to the storage tank (Podeszwa and Harasym, 2016). Hop extractors are equipped with an inlet and an outlet for the beer and sanitizing solutions, with a carbon dioxide inlet and further with a number of sensors for monitoring pressure, temperature, flow rate and so on, and sometimes also with a peephole and with stirrers. For easier handling, the whole equipment often stands on wheeled legs.

With dynamic extraction, the key factor for the transfer rate of the extracted compounds into

let. Koncentráty mohou být dávkovány buď přímo do tanků, nebo lépe do turbulentního toku piva, například při čerpání z tanků na filtr, který zajistí jejich rovnoměrné rozptýlení v celém objemu (Cocuzza a Mitter, 2013).

4.2 Dynamické metody studeného chmelení

Na rozdíl od statických metod, v případě dynamického studeného chmelení je nezbytný pohyb kapaliny vyvolaný čerpáním či mícháním (Schnaitter et al., 2016). Proudění výrazně podporuje extrakci neustálým obměňováním vrstvy extrakčního činidla (piva) v okolí chmelových částic, čímž usnadňuje a zrychluje přestup silic (Podeszwa a Harasym, 2016). V důsledku působení smykových sil zároveň dochází k rychlejšímu rozpadu chmelových pelet a tím pádem ke zvětšení extrakční plochy, což rovněž vede ke zrychlenému přestupu aromatických látek (Engstle et al., 2016). To má mimo jiné za následek i výrazné úspory chmele v porovnání s metodami statickými (Michel et al., 2017). Účinnost dynamických metod je ovlivněna řadou faktorů, zejména pak rychlostí proudění kapaliny, charakteristikou toku, velikostí smykových sil, kontaktním časem, teplotou a i samotnými vlastnostmi piva a chmelového materiálu (Wolfe, 2012).

Nejjednodušší metoda dynamického studeného chmelení spočívá, podobně jako v předchozím případě, v prostém vložení chmelového materiálu do tanku, ze kterého je poté vytěsněn vzduch inertním plynem, následně je tank naplněn pivem a celý jeho objem (včetně chmele) je několikrát recirkulován. V současnosti je však tato technika stále častěji nahrazována využíváním tzv. chmelových extraktorů (obr. 2). Na trhu se momentálně vyskytuje několik verzí těchto zařízení, lišících se konstrukcí, velikostí a cenou (internetový zdroj), nicméně ve většině případů jde o konické, tlakové nádoby z korozivzdorné oceli vybavené filtrem pevných částic, který zajišťuje oddělení piva od zbytků chmelového materiálu. Jemné kaly mohou být poté zadrženy přidávným filtrem, který bývá umístěn před vstupem do zásobního tanku (Podeszwa a Harasym, 2016). Kromě přívodu a odtoku piva, oxidu uhličitého a sanitálních prostředků je chmelový extraktor vybaven i řadou senzorů pro monitorování tlaku, teploty, průtoku apod., průřezem a v některých případech i lopatkovým míchadlem. Pro snadnější manipulaci může být celá konstrukce chmelového extraktoru opatřena kolečky.

Při dynamické extrakci je klíčovým faktorem ovlivňujícím rychlost přestupu extrahované látky do roztoku zejména turbulentní proudění způsobené čerpáním, či mícháním (Aubin et al., 2004). Po vstupu do extraktoru je proud piva usměrněn prostřednictvím spodního, ale častěji tangenciálního nátoku. V druhém případě může být přívodové potrubí umístěno kdekoli po celé výšce těla extraktoru a uspořádáno do tzv. křížového tangenciálního přívodu, kde se postupně střídá pravotočivý a levotočivý přítok. Takové uspořádání výrazně zesiluje turbulentní proudění a zároveň zamezuje tvorbě vřtů (Yu a Lee, 2009).

Konstrukce chmelových extraktorů umožňuje snadné cirkulační zapojení k přetlačným tankům, podle schématu znázorněném na obr. 3 a současně je kompatibilní s CIP (Clean-in-place) systémem, který umož-

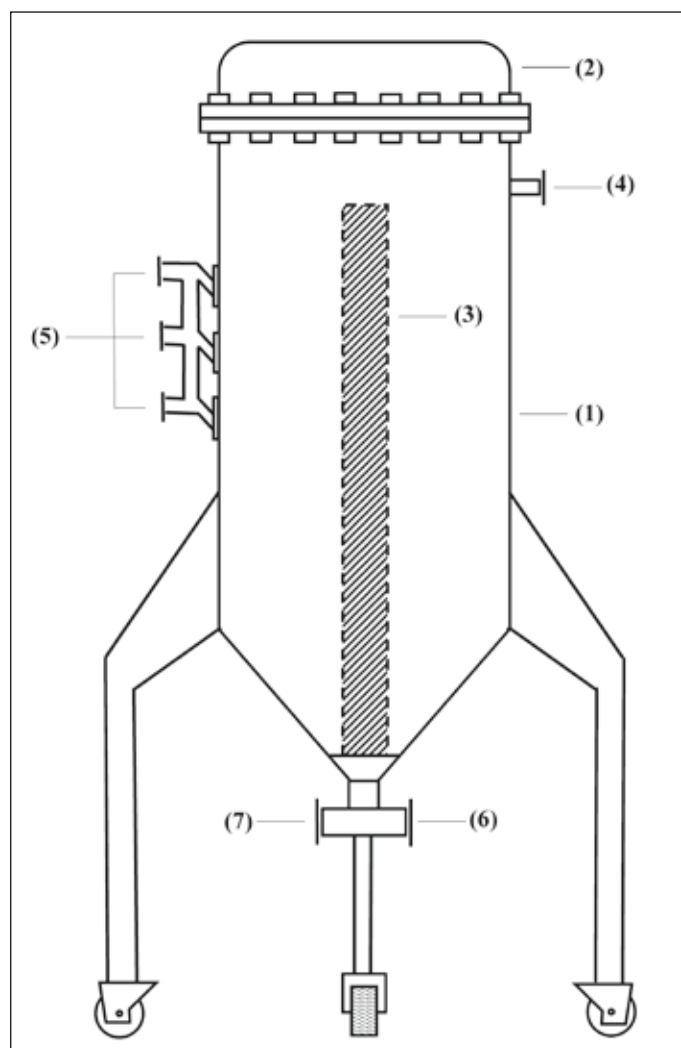


Fig. 2 Scheme of hop extractor (1) extractor body, (2) lid fitted with gasket and screws, (3) filter of particles, (4) inlet for carbon dioxide and CIP, (5) beer inlet, (6) a CIP outlet, and (7) beer outlet
Obr. 2 Schéma chmelového extraktoru (1) tělo extraktoru, (2) víko opatřené těsněním a šrouby, (3) filtr pevných částic, (4) vstup pro oxid uhličitý a CIP, (5) vstup pro pivo, (6) výstup pro CIP a (7) výstup pro pivo

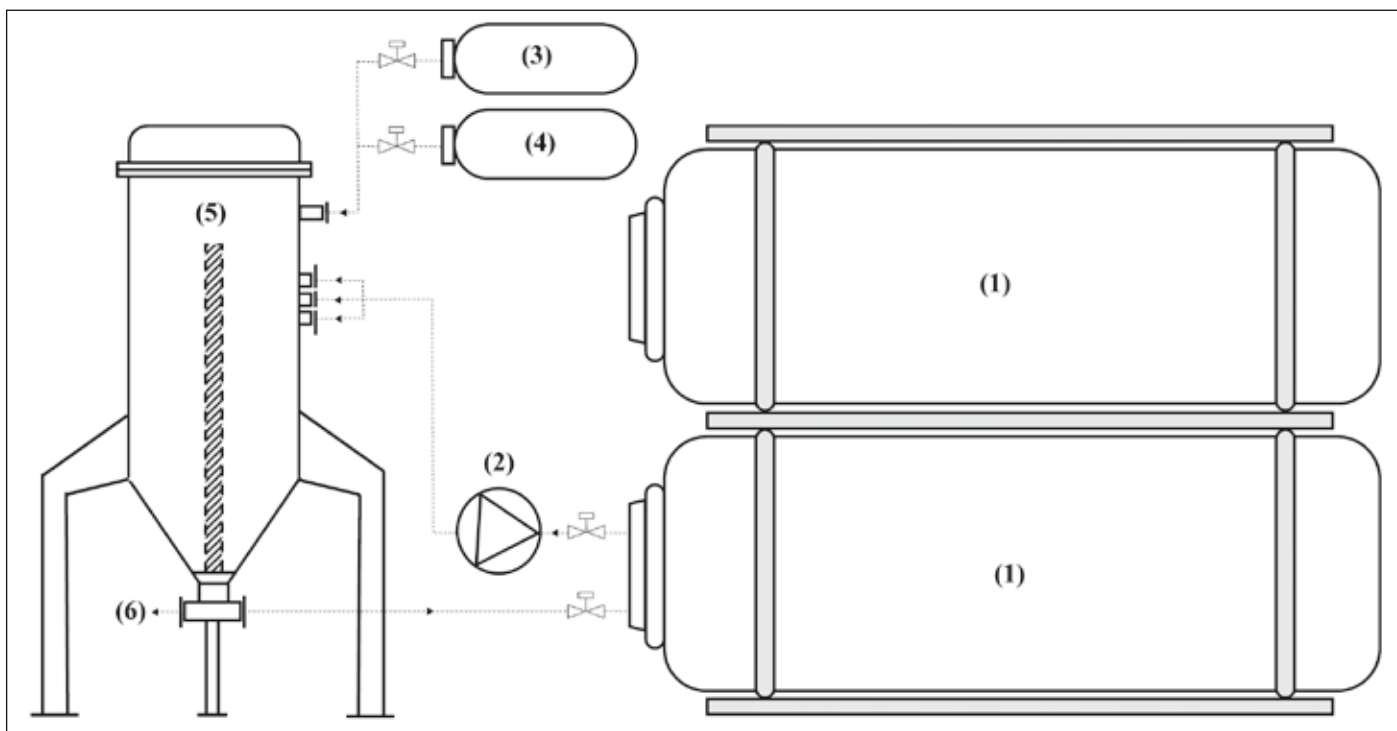


Fig. 3 Scheme of hop extractor connection (1) buffer tanks, (2) pump, (3) CO₂ reservoir, (4) CIP station, (5) hop extractor and (6) outlet for waste hop material

Obr. 3 Schéma zapojení chmelového extraktoru (1) přetlačné tanky, (2) čerpadlo, (3) zásobník CO₂, (4) CIP stanice, (5) chmelový extraktor a (6) vývod pro odpadní chmelový materiál

the solution is in particular the turbulent flow caused by pumping or stirring (Aubin et al., 2004). After entry into the extractor, the beer flow is regulated either by a bottom inlet, or more often by a tangential inlet. Alternatively, tangential inlet tubes with circular cross can be placed anywhere along the extractor and then, the beer flow changes alternatively from clockwise to anticlockwise. Such an arrangement intensifies significantly the flow turbulences and inhibits the formation of vortices (Yu and Lee, 2009).

The construction of the hop extractor enables a simple circular integration to the bright beer tanks as shown in the chart presented in Fig. 3 and it is compatible with the CIP (Clean-In-Place) system that guarantees easy sanitization. When buying such equipment, it is necessary to pay extra attention to the existing filtration systems, particularly to the size of the filtration mesh. Sometimes, only coarse filters for the elimination of hop cones are available; however, they are not useful for retaining fine particles from the pellets. Such filters must have a mesh in order of maximum tens of millimetres (Wolfe et al., 2012). The hop products are placed directly into the extractor and then, the air in the extractor is replaced with an inert gas. The beer circulation must be done under increased pressure in order to maintain the saturation. The hop products can be easily removed and because they still contain small traces of the resins, they can be re-used in the next wort boiling (Oladokun et al., 2017).

5 THE FACTORS AFFECTING THE PRODUCTION AND FEATURES OF DRY HOPPED BEERS

The production conditions for dry hopped beers have a vital impact on the quality and the stability of the final product. Besides the content and the profile of the essential oils present in the hop products, the quality of dry hopped beers is also strongly influenced by the type and form of these products. Dry hopping can be made in the traditional way using fresh or dried hop cones or with pellets Type 90 or Type 45. Currently, the hop plugs – dried hop cones pressed into the form of a hockey puck, sometimes called pellets Type 100, have gained in popularity (Schonberger and Kostecky, 2011). Nowadays, the use of hop pellets is preferred over using hop cones. The reasons are, in particular, higher homogeneity, easier handling and longer shelf life. Technological research focussed on a comparison of the quality of dry hopped beer produced using cones and pellets of the same variety showed that the essential oils are transferred more easily from hop granulates due to better accessibility than with dry hops, where the

ňuje jeho snadnou sanitaci. Při pořizování tohoto zařízení je ovšem nutné věnovat zvýšenou pozornost zabudovaným filtračním systémům, respektive jemnosti jejich sít, jelikož v některých případech jsou k dispozici pouze síta hrubá, určená pro odstranění chmelových hlávek, nikoliv však drobných částíček pelet, které vyžadují velikost filtračních mezer v řádech maximálně desetin milimetrů (Wolfe et al., 2012). Chmelový materiál je vkládán přímo do těla extraktoru, ze kterého je následně inertním plynem vytěsněn vzduch. Samotný oběh piva je nutné provádět za zvýšeného tlaku, aby nedošlo ke ztrátě nasycení. Chmelový materiál po extrakci lze pak snadno vyjmout, a jelikož stále obsahuje nezanedbatelný podíl zbytkových pryskyřic, je možné ho opětovně použít při chmelovaru (Oladokun et al., 2017).

5 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VÝROBU A VLASTNOSTI STUDENĚ CHMELENÝCH PIV

Podmínky, při kterých jsou studeně chmelená piva vyráběna, mají zásadní vliv na kvalitu a trvanlivost výsledného produktu. Krom obsahu a zastoupení silic ve chmelovém materiálu, má na kvalitu studeně chmelených piv nemalý vliv také typ, respektive forma tohoto materiálu. Studené chmelení je možné provádět tradičně chmelovými hlávkami (čerstvými i sušenými) a peletami typu 90 či 45. Na oblibě v současnosti získávají i tzv. hop plugs, někdy též označované jako pelety typu 100, což jsou sušené chmelové hlávky slisované do tvaru hokejových puků (Schonberger a Kostecky, 2011). V současné době se upřednostňuje používání chmelových pelet před hlávkami, zejména z důvodů vyšší standardnosti a snadnější skladovatelnosti a manipulovatelnosti. Technologický výzkum zaměřený na porovnání kvality studeně chmelených piv vyrobených z hlávek a pelet stejné odrůdy navíc prokázal, že z granulovaného chmele přechází silice do piva snadněji, a to zejména díky lepší přístupnosti lupulinových zrn, které jsou u sušeného chmele chráněny listy (Cocuzza a Miller, 2013). V případě pelet je dalším důležitým faktorem jejich rychlost rozpadu v pivo. Částičky vyskytující se na povrchu při kontaktu s kapalinou okamžitě bobtnají a postupem času se odlupují. Rychlost příjmu vody je podmíněna strukturou povrchu částíček, která je závislá na procesu peletizace (Engstle et al., 2016). Pro účely studeného chmelení se doporučuje používat tzv. měkké pelety, které jsou vyráběny za použití mnohem nižšího tlaku, než je tomu v případě pelet klasických (Forster et al., 2017).

Dávkování chmelového materiálu závisí pouze na obsahu aromatických látek. Běžná dávka se pohybuje v řádech stovek gramů

lupulin corns are protected with bracteoles (Cocuzza and Mitter, 2013). In addition, the pellets disintegrate faster in the beer. The particles at the surface swell immediately after the contact with the fluid and successively peel off. The rate of water intake depends on the structure of the particle surface which in turn depends on the pelletizing process (Engstle et al., 2016). For dry hopping, it is recommended to use the so-called soft pellets produced under much lower pressure than normal pellets (Forster et al., 2017).

The dosage of hop products depends only on the content of the aromatic compounds. The usual dosage varies in order of hundreds of grams per hectolitre of beer. Nevertheless, in practice it seems to be more useful to recalculate it to a dosage of essential oils ranging normally between 1 - 4 g/hl of beer (Cocuzza and Mitter, 2013). This dosage should not be significantly exceeded as the relationship between the sensory intensity of the hop flavour and the content of the essential oils is not linear. From a certain amount, the sensory intensity does not increase, on the contrary, in extreme conditions it can even decrease (Lafontaine and Shellhammer, 2018).

Dry hopping is usually done during fermentation and maturation of the beer; this means at temperatures in range from 0 to 20°C. Within this range, the extraction rate of most aromatic compounds increases proportionally with the temperature (Cussler, 2009; Engstle et al., 2016). The temperature also has an indirect impact on the extraction of the essential oils due to the increased solubility of the wax structures in the hops leading to a faster disintegration of the pellets (Engstle et al., 2016).

Another important factor in dry hopping is the type of beer. Sometimes, dry hopping is only supposed to “refresh” the beer or make it special (lager beers) but for some beers such as India Pale Ale a hop flavour (a characteristic feature of this beer) is obtained by means of dry hopping. The individual beer types differ in their chemical composition, for example in different pH values and the content of alcohol (Kaltner et al., 2013), which significantly influences the transfer of the essential oils into the beer. It is worth mentioning that dry hopping can even slightly increase the alcohol content in the beer due to the extraction of small amounts of fermentable carbohydrates from the hop products, which are then metabolized by the yeasts (Oladokun et al., 2017). The pH values of beer vary mostly between 4.0 and 4.4 (Kaneda et al., 1997). However, pH values even in this range can affect the transfer of the sensory active compounds in the course of dry hopping. By lowering the pH values, the essential oils become more hydrophobic. This causes lower solubility in the beer and a higher absorption by the yeast cells due to easier transfer through the lipid double layer of the cytoplasmic membrane (Burt, 2004).

6 THE RISKS LINKED TO DRY HOPPING

The current issue with dry hopping is in particular microbiological contamination. The hops itself has proven anti-microbial effects, which in combination with low water activity and relatively difficult to exploit nutrition sources do not provide a proper environment for the proliferation of microorganisms (Zanoli and Zavatti, 2008; Bokulich and Bamforth, 2013). Still, it is far from being a sterile material. Already in the past, a number of microorganisms such as yeasts of the genus *Saccharomyces* and *Candida* and bacteria of the genus *Pantoea*, *Bacillus* and *Micrococcus*, which can contaminate beer were identified in hop granulates (Guinard et al., 1990).

Due to the potential health risks, another factor to be discussed is pesticide residues. Some of the polar ones can easily penetrate into the wort and the beer (Inoue et al., 2011; Kippenberger et al., 2014). In the study by Hengel et al. (2002) it was proven that the majority of these substances were eliminated from the beer during wort boiling and the following fermentation. However, in the case of a hops application at a later stage of the production, pesticides could become a risk again, particularly in the presence of ethanol, which helps to transfer even the less polar compounds (Hengel et al., 2016). Further studies showed only a minor transfer of azoxystrobin, dimethomorph and myclobutanil during dry hopping. Their concentrations in the finished beer ranged between 2 and 9 µg/l, even at relatively high hop dosages of up to 500 g/hl. A part of that study was the analysis of six commercial samples of dry hopped beers, in which the concentrations of the pesticides of importance were under the value of 2 µg/l (Kippenberger et al., 2014).

Due to the relatively high solubility in water and weak alcohol solutions, large amounts of nitrates can be transferred from the hop products into the beer. Although these compounds are not very dangerous for human health, they can be easily reduced to nitrites and then

chmele/hl piva, nicméně v praxi se ukázalo jako velmi užitečné přepočítat tuto dávku na dávku silic, která se používá v rozmezí 1-4 g/hl piva (Cocuzza a Miller, 2013). Její výrazné překročení není obvykle vhodné, neboť závislost sensorické intenzity chmelového aroma na použitém množství silic není lineární a od určité dávky se již nezvyšuje, v extrémních případech může začít i klesat (Lafontaine a Shellhammer, 2018).

Studené chmelení je nejčastěji prováděno během kvašení a zrání piva, což odpovídá teplotnímu rozmezí 0–20 °C. Obecně lze konstatovat, že v tomto rozsahu roste rychlost extrakce většiny aromatických látek s teplotou (Cussler, 2009; Engstle et al., 2016). Nepřímo teplota ovlivňuje extrakci silic i tím, že zvyšuje rozpustnost voskovitých struktur chmelu, což vede k rychlejšímu rozpadu pelet (Engstle et al., 2016).

Dalším z důležitých věcí, která musí být při studeném chmelení zohledněna, je pivní styl. U některých typů piva je studené chmelení používáno pouze pro osvěžení či pouhé ozvláštňení produktu (ležáky), v jiných případech je chmelové aroma dodané studeným chmelením charakteristickým znakem (India Pale Ale). Jednotlivé typy piv se liší svým chemickým složením, mimo jiné i hodnotou pH a obsahem alkoholu (Kaltner et al., 2013), a je to právě alkohol, který výrazně ovlivňuje přechod silic do piva. Je zajímavé, že i samotné studené chmelení může mírně zvýšit obsah alkoholu v pivu prostřednictvím extrakce malého množství zkvasitelných cukrů z chmelového materiálu a jejich následným metabolizováním kvasinkami (Oladokun et al., 2017). Hodnota pH panující v pivu se nejčastěji pohybuje v rozmezí 4,0 – 4,4 (Kaneda et al., 1997), nicméně i v tomto rozmezí mohou ovlivnit přechod sensoricky aktivních látek během studeného chmelení. S klesající hodnotou pH se silice stávají hydrofobnější, což vede jednak k jejich nižší rozpustnosti v pivu a naopak k vyšší absorpci buňkami kvasinek v důsledku snadnějšího přechodu lipidovou dvouvrstvou cytoplazmatické membrány (Burt, 2004).

6 RIZIKA SPOJENÁ SE STUDENÝM CHMELENÍM

V současnosti je stále aktuální zejména otázka mikrobiální kontaminace v souvislosti se studeným chmelením. Je pravda, že chmel sám o sobě má prokazatelné antimikrobiální účinky, které v kombinaci s nízkou vodní aktivitou a relativně obtížně využitelnými zdroji živin nevytváří vhodné prostředí pro růst a množení mikroorganismů (Zanoli a Zavatti, 2008; Bokulich a Bamforth, 2013), nicméně i přesto ani zdaleka nejde o materiál aseptický. V minulosti byla na chmelových granulích identifikována řada mikroorganismů, které mohou kontaminovat pivo. Jednalo se zejména o kvasinky rodu *Saccharomyces* a *Candida* a bakterie rodu *Pantoea*, *Bacillus* a *Micrococcus* (Guinard et al., 1990).

Díky svým potenciálním zdravotním rizikům jsou dalším diskutovaným faktorem rezidua pesticidů, z nichž některá polární snadno přechází do mladiny a piva (Inoue et al., 2011; Kippenberger et al., 2014). V práci Hengela a kolegů (2002) bylo sice prokázáno, že velké množství těchto látek je z piva odstraněno chmelovarem a následným kvašením, nicméně v případě aplikace chmele v pozdějších fázích výroby mohou pesticidy opět představovat riziko, a to zejména díky přítomnosti etanolu, který může napomoci přechodu i méně polárními látkami (Hengel et al., 2016). V dalším výzkumu byl při výrobě studeně chmelených piv prokázán jen nepatrný přechod azoxystrobinu, dimethomorphu a myclobutanilu. Jejich koncentrace v hotovém pivu se pohybovala v rozmezí 2-9 µg/l, a to i při relativně vysokých dávkách chmelu ~ 500 g/hl. Součástí tohoto výzkumu byla i analýza šesti komerčních vzorků studeně chmelených piv, kde se koncentrace studovaných pesticidů pohybovala pod hodnotou 2 µg/l (Kippenberger et al., 2014).

Díky relativně vysoké rozpustnosti ve vodě a slabých alkoholických roztocích, může do piva z chmelového materiálu přecházet velké množství dusičnanů. Samotné tyto látky nejsou příliš nebezpečné lidskému zdraví, nicméně po jejich snadné redukci na dusitany se mohou podílet na vzniku karcinogenních nitrosaminů a nitroamidů (Bedale et al., 2016). V České republice je proto vyhláškou č. 376/2000 Sb. stanoven limit pro obsah dusičnanů v pitné vodě a z ní připravených nápojů 50 mg/l. Ve studii z roku 2014 (Kippenberger et al., 2014) bylo zjištěno, že obsah dusičnanů ve studeně chmelených pivech je přímo úměrný dávce použitého chmelu, přičemž přestup těchto látek do piva činí až 81 rel. %. Z hlediska dynamiky přestupu dusičnanů z chmele bylo dále zjištěno, že majoritní podíl těchto látek přechází do piva během prvního týdne studeného chmelení (Kaltner et al., 2013).

partake in the formation of cancerogenic nitrosamines and nitroamides (Bedale et al., 2016). Therefore, in the Czech Republic the concentration of nitrates in drinking water and drinks using drinking water is limited to 50 mg/l by Regulation Nr.376/2000 Sb. In the study from 2014 (Kippenberger et al., 2014) it was found that the content of nitrates in dry hopped beers is directly proportional to the dosage of the hops used. The transfer of nitrate compounds into the beer reached up to 81 % rel. In terms of the dynamics behind this transit it was discovered that the majority of the nitrates transfer into the beer during the first week of dry hopping (Kaltner et al., 2013).

Another frequently discussed topic is the negative influence of dry hopping on foam stability. This issue is currently the subject of intensive research and up to now, no clear opinion exists. It was believed until recently that high dosage of hops products and a high temperature during dry hopping have an unfavourable impact on the stability of the beer foam due to an enhanced extraction of fatty acids (Maye et al., 2016a; Hopsteiner, 2017). Nevertheless, the situation is obviously more complicated. The latest research indicates that the stability of the beer foam is highly dependent on the hop variety used (Maye, 2017). The probable reason is the loss of some foam-forming precursors from the family of bitter acid derivatives, apparently due to adsorption onto spent hops.

7 CONCLUSIONS

The production of dry hopped beers has been of interest to home producers and small breweries associated to brasseries for a long time. Now, dry hopped beer is so popular with customers that even large international companies have taken up production. The intensive research into dry hopped beer already enabled the understanding of the basic principles in terms of chemical engineering. However, a number of important technological questions remain open. Currently, the main interest is focused on the maximum extraction of the essential oils, on the standardization and effectiveness of production and finally yet importantly on the development of more effective hop extractors. Dry hopping is undoubtedly a very interesting subject, which has contributed to the attractiveness of beer and will certainly contribute in the future as well.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was carried out with the support of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic as a part of the project QJ1610202 'The development of new plants targeting the production of foodstuff with higher nutritional value'.

REFERENCES / LITERATURA

- Aberl, A., Coelhan, M., 2012: Determination of volatile compounds in different hop varieties by headspace-trap GC/MS-in comparison with conventional hop essential oil analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 60: 2785-2792.
- Almaguer, C., Schonberger, C., Gastl, M., Arendt, E. K., Becker, T., 2014: *Humulus lupulus* - a story that begs to be told. A review. *J. Inst. Brew.*, 120: 289-314.
- ASBC, 2018: [online]. Methods of analysis: Hop flavor database. http://methods.asbcnet.org/eXtras/Hop_Flavor_Database.pdf [accessed 2018-09-11].
- Aubin, J., Fletcher, D. F., Xuereb, C., 2004: Modeling turbulent flow in stirred tanks with cfd: The influence of the modeling approach, turbulence model and numerical scheme. *Exp. Therm. Fluid Sci.*, 28: 431-445.
- Basařová, G., Šavel, J., Basař, P., Lejsek, T., 2010: Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva. Vydavatelství VŠCHT Praha, Prague, Czech Republic, 571-572.
- Bedale, W., Sindelar, J. J., Milkowski, A. L., 2016: Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. *Meat Sci.*, 120: 85-92.
- Benzo, M., Gilardoni, G., Gandini, C., Caccialanza, G., Finzi, P. V., Vidari, G., Abdo, S., Layedra, P., 2007: Determination of the threshold odor concentration of main odorants in essential oils using gas chromatography-olfactometry incremental dilution technique. *J. Chromatogr.*, 1150: 131-135.
- Bokulich, N. A., Bamforth, C. W., 2013: The microbiology of malting and brewing. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 77: 157-172.
- Briggs, D. E., 2004: *Brewing: Science and practice*. Woodhead Pub. Ltd., Cambridge, England. ISBN 0849325471 (CRC Press).
- Burt, S., 2004: Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 94: 223-253.
- Cocuzza, S., Mitter, W., 2013: Revival of a process: Dry-hopping - basics and techniques. *Brewing and beverage industry international*, 3: 28-30.
- Cori, O., Chayet, L., Perez, L. M., Bunton, C. A., Hachey, D., 1986: Rearrangement of linalool, geraniol, and nerol and their derivatives. *J. Org. Chem.*, 51: 1310-1316.
- Cussler, E. L., 2009: *Diffusion: Mass transfer in fluid systems*. Cambridge university press, ISBN 0521871212.
- Dieckmann, R. H., Palamand, S. R., 1974: Autoxidation of some constituents of hops .1. Monoterpene hydrocarbon, myrcene. *J. Agric. Food Chem.*, 22: 498-503.
- Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y., Perry, N. B., 2007: Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chem.*, 101: 1417-1424.
- Engstle, J., Kuhn, M., Kohles, M., Briesen, H., Foerst, P., 2016: Disintegration of hop pellets during dry hopping. *BrewingSci.-Monatsschr. Brauwiss.*, 69: 123-127.
- Eyres, G., Dufour, J.-P., 2008: Hop essential oil: Analysis, chemical composition and odor characteristics. In *Beer in health and disease prevention*. Elsevier, London, UK. 239-254.
- Forster, A., Gahr, A., Schmidt, R., Faltermeier, A., 2015: The behaviour of the stereoisomers of linalool during beer ageing. *BrewingSci.-Monatsschr. Brauwiss.*, 68: 146-152.
- Forster, A., Gahr, A., Van Opstaele, F., 2014: On the transfer rate of geraniol with dry hopping. *BrewingSci.-Monatsschr. Brauwiss.*, 67: 60-62.
- Forster, A., Schüll, F., Gahr, A., Lenz, R., 2017: Are different hop pellet properties for dry hopping and hop dosing in the brewhouse justified? Presentováno na 36th Congress EBC, Ljubljana, 14-18 May 2017: http://www.ebc2017.com/inhalt/uploads/P023_Schuell.pdf.

7 ZÁVĚR

Produkce studeně chmelených piv už dávno není předmětem zájmu pouze domovarníků a malých restauračních pivovarů. V současné době je tento fenomén u zákazníků natolik oblíbený, že ho do svých provozů začínají zařazovat i velké nadnárodní společnosti. Intenzivní výzkum studeného chmelení z hlediska chemicko-inženýrského sice umožnil pochopení základních principů tohoto procesu, ovšem řada důležitých technologických otázek zůstává stále nezodpovězena. Velký důraz je v současnosti kladen na maximalizaci výtěžku aromatických látek chmelu, standardizaci a zefektivnění výroby a v neposlední řadě i na vývoj účinnějších chmelových extraktorů. Studené chmelení je bezesporu mimořádně zajímavým fenoménem, který výrazně přispěl a v budoucnu ještě dozajista přispěje k atraktivitě piva a rozmanitosti vyráběného piva.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie vznikla za podpory Ministerstva zemědělství ČR v rámci projektu QJ1610202 „Vývoj nových plodin s cílem produkce potravinářských výrobků s vyšší výživovou hodnotou“.

- Guinard, J., Woodmansee, R., Billovits, M., Hanson, L., Gutierrez, M., Snider, M., Miranda, M., Lewis, M., 1990: The microbiology of dry-hopping. Technical quarterly-Master Brewers Association of the Americas (USA).
- Hengel, M. J., Miller, D., Jordan, R., 2016: Development and validation of a method for the determination of pesticide residues in beer by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 74: 49–52.
- Hengel, M. J., Shibamoto, T., 2002: Method development and fate determination of pesticide-treated hops and their subsequent usage in the production of beer. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 3412–3418.
- Hopsteiner, 2018: [online]: Breaking down the science of dry hopping and its effects on bitterness. <https://www.hopsteiner.com/blog/breaking-science-dry-hopping-effects-bitterness/> [accessed 2018-09-11].
- Howard, G. A., 1953: Evaluation of hops. I. A review. *J. Inst. Brew.*, 59: 36–52.
- Inoue, T., Nagatomi, Y., Suga, K., Uyama, A., Mochizuki, N., 2011: Fate of pesticides during beer brewing. *J. Agric. Food Chem.*, 59: 3857–3868.
- Jaskula, B., Syryn, E., Goiris, K., De Rouck, G., Van Opstaele, F., De Clippeleer, J., Aerts, G., Cooman, L., 2007: Hopping technology in relation to beer bitterness consistency and flavor stability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 65: 38–46.
- Kaltner, D., Forster, C., Flieher, M., Nielsen, T., 2013: The influence of dry hop-ping on three different beer styles. *Brauwelt International*, 6: 355–359.
- Kaneda, H., Takashio, M., Tomaki, T., Osawa, T., 1997: Influence of pH on flavour staling during beer storage. *J. Inst. Brew.*, 103: 21–23.
- Kippenberger, M., Hanke, S., Biendl, M., Stettner, G., Lagemann, A., 2014: Transfer of nitrate and various pesticides into beer during dry hopping. *BrewingSci.-Monatsschr. Brauwiss.*, 67: 1–9.
- Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kono, K., Shibata, K., 2006: Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 8855–8861.
- Kollmannsberger, H., Biendl, M., Nitz, S., 2006: Occurrence of glycosidically bound flavour compounds in hops, hop products and beer. *Monatsschr. Brauwiss.*, 5: 83–89.
- Kosař, K., Procházka, S., 2000: Technologie výroby sladu a piva. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha., 398 s. ISBN 80-902-6586-3
- Krottenthaler, M., 2009: Hops. *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*: 85-104.
- Kuchel, L., Brody, A. L., Wicker, L., 2006: Oxygen and its reactions in beer. *Packag. Technol. Sci.*, 19: 25–32.
- Lafontaine, S. R., Shellhammer, T. H., 2018: Impact of static dry-hopping rate on the sensory and analytical profiles of beer. *J. Inst. Brew.*, v tisku: <https://doi.org/10.1002/jib.517>
- Marriott, R., Wilson, C., 2017: Dry hopping - a new look at techniques, utilisation and economics. 36th Congress EBC, Ljubljana, 14-18 May, 2017: http://www.ebc2017.com/inhalt/uploads/P063_Marriott.pdf.
- Maye, J. P., 2017: Dry hopping and its effects on beer bitterness, the ibu test, beer foam, and pH. 36th Congress EBC, Ljubljana, 14-18 May 2017: <http://www.ebc2017.com/inhalt/uploads/WEDL49-MA-YE.pdf>.
- Maye, J. P., Smith, R., Leker, J., 2016a: Dry-hopping effect on beer foam. 2016 World Brewing Congress, Denver, 13-17 August: <https://www.asbcnet.org/events/archives/2016/proceedings/Pages/130.aspx>.
- Maye, J. P., Smith, R., Leker, J., 2016b: Humulinone formation in hops and hop pellets and its implications for dry hopped beers. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 53: 23–27.
- Michel, R., Scheller, L., Vetterlein, K., 2017: The use of hops in brewhouse and cold block. 36th Congress EBC, Ljubljana, 14-18 May 2017: <http://www.ebc2017.com/inhalt/uploads/TUE-L21-MI-CHEL.pdf>.
- Oladokun, O., James, S., Cowley, T., Smart, K., Hort, J., Cook, D., 2017: Dry-hopping: The effects of temperature and hop variety on the bittering profiles and properties of resultant beers. *BrewingSci.-Monatsschr. Brauwiss.*, 70: 187–196.
- Peacock, V. E., 2010: The value of linalool in modeling hop aroma in beer. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 47: 29–32.
- Perpète, P., Mélotte, L., Dupire, S., Collin, S., 1998: Varietal discrimination of hop pellets by essential oil analysis I. Comparison of fresh samples. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 56: 104–108.
- Pickett, J. A., Peppard, T. L., Sharpe, F. R., 1977: Recent developments in low-temperature steam distillation of hop oil. *J. Inst. Brew.*, 83: 302–304.
- Pires, E. J., Teixeira, J. A., Branyik, T., Vicente, A. A., 2014: Yeast: The soul of beer's aroma—a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98: 1937–1949.
- Podeszwa, T., Harasym, J., 2016: New methods of hopping (dry-hopping) and their impact on sensory properties of beer. *Acta Innovations*, no. 21: 79-86. ISSN, 2300–5599.
- Praet, T., Van Opstaele, F., Jaskula-Goiris, B., Aerts, G., De Cooman, L., 2012: Biotransformations of hop-derived aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* upon fermentation. *Cerevisia*, 36: 125–132.
- Rettberg, N., Biendl, M., Garbe, L.-A., 2018: Hop aroma and hoppy beer flavor: Chemical backgrounds and analytical tools—a review. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 76: 1–20.
- Sharpe, F. R., Laws, D. R. J., 1981: The essential oil of hops - a review. *J. Inst. Brew.*, 87: 96–107.
- Schnaitter, M., Kell, A., Kollmannsberger, H., Schull, F., Gastl, M., Becker, T., 2016: Scale-up of dry hopping trials: Importance of scale for aroma and taste perceptions. *Chem. Ing. Tech.*, 88: 1955–1965.
- Schönberger, C., Biendl, M., Schmidt, R., Mitter, W., Gahr, A., Forster, A., Engelhard, B., Lutz, A., 2015: Hops: Their cultivation, composition and usage. *Fachverlag Hans Carl*. ISBN 3418009042.
- Schonberger, C., Kosteletzky, T., 2011: 125th anniversary review: The role of hops in brewing. *J. Inst. Brew.*, 117: 259–267.
- Steenackers, B., De Cooman, L., De Vos, D., 2015: Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. *Food Chem.*, 172: 742–756.
- Takoi, K., Itoga, Y., Takayanagi, J., Kosugi, T., Shioi, T., Nakamura, T., Watari, J., 2014: Screening of geraniol-rich flavor hop and interesting behavior of β -citronellol during fermentation under various hop-addition timings. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 72: 22–29.
- Takoi, K., Koie, K., Itoga, Y., Katayama, Y., Shimase, M., Nakayama, Y., Watari, J., 2010: Biotransformation of hop-derived monoterpene alcohols by lager yeast and their contribution to the flavor of hopped beer. *J. Agric. Food Chem.*, 58: 5050–5058.
- Takoi, K., Tokita, K., Sanekata, A., Usami, Y., Itoga, Y., Koie, K., Matsumoto, I., Nakayama, Y., 2016: Varietal difference of hop-derived flavour compounds in late-hopped/dry-hopped beers. *BrewingSci.-Monatsschr. Brauwiss.*, 69: 1–7.
- Thompson, M. L., Marriott, R., Dowle, A., Grogan, G., 2010: Biotransformation of beta-myrcene to geraniol by a strain of *Rhodococcus erythropolis* isolated by selective enrichment from hop plants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 85: 721–730.
- Van Opstaele, F., De Rouck, G., De Clippeleer, J., Aerts, G., De Cooman, L., 2010: Analytical and sensory assessment of hoppy aroma and bitterness of conventionally hopped and advanced hopped pilsner beers. *J. Inst. Brew.*, 116: 445–458.
- Van Opstaele, F., Goiris, K., De Rouck, G., Aerts, G., De Cooman, L., 2012: Production of novel varietal hop aromas by supercritical fluid extraction of hop pellets-part 1: Preparation of single variety total hop essential oils and polar hop essences. *J. Supercrit. Fluids*, 69: 45–56.
- Wang, G. D., Tian, L., Aziz, N., Broun, P., Dai, X. B., He, J., King, A., Zhao, P. X., Dixon, R. A., 2008: Terpene biosynthesis in glandular trichomes of hop. *Plant Physiol.*, 148: 1254–1266.
- Wolfe, P., Qian, M. C., Shellhammer, T. H., 2012: The effect of pellet processing and exposure on dry hop aroma extraction. In *Flavor chemistry of wine and other alcoholic beverages*. American Chemical Society, Washington DC, 203–215.
- Wolfe, P. H., 2012: A study of factors affecting the extraction of flavor when dry hopping beer.
- Wright, R. G., Connery, F. E., 1951: *Studies of hop quality*. Taylor & Francis, ISBN 0096-0845.
- Yu, D., Lee, J. H. W., 2009: Hydraulics of tangential vortex intake for urban drainage. *J. Hydraul. Eng.-Asce*, 135: 164–174.
- Zanoli, P., Zavatti, M., 2008: Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *J. Ethnopharmacol.*, 116: 383–396.

Translated by Eva Paterson

Manuscript received / Do redakce došlo: 14/09/2018
Accepted for publication / Přejato k publikování: 24/10/2018