

# Výroba piva pro jedince trpící celiakií

Ladislav Štěpánek

---

Bakalářská práce  
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2015/2016

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ladislav Štěpánek**  
Osobní číslo: **T13848**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Výroba piva pro jedince trpící celiakií**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Celiakie a zdravotní rizika plynoucí ze spotřeby piva jedinci trpících glutenovou enteropatií
2. Technologie výroby bezlepkových piv; odlišnosti ve výběru surovin a ve výrobních postupech v porovnání s produkcí běžných piv
3. Dostupnost piva pro celiaky v české tržní síti a ve světě; bezlepkové pivo z ječného sladu a jeho alternativy

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] BASAŘOVÁ, G., J. ŠAVEL, P. BASAŘ a T. LEJSEK. Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva. Praha: Nakladatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [2] MIKULÍKOVÁ, R., Z. SVOBODA, K. BENEŠOVÁ a S. BĚLÁKOVÁ. Pivo a celiakie. Kvasný průmysl. 2013, roč. 59, s. 321-323. ISSN 0023-5830.
- [3] DOSTÁLEK, P., J. DVOŘÁK a P. HULÍN. Alergeny v pivu. Kvasný průmysl. 2010, roč. 56, s. 105-108. ISSN 0023-5830.
- [4] PSOTA, V., O. DVOŘÁČKOVÁ a L. SACHAMBULA. Odrůdy ječmene registrované v České republice v roce 2010. Kvasný průmysl. 2010, s. 270-276. ISSN 0023-5830.
- [5] HAGER, A. S., J.P. TAYLOR, D.M. WATERS a E.K. ARENDT. Gluten Free Beer A Review. Trends in Food Science & Technology. 2014, s. 44-54. ISSN 0924-2244.
- [6] CIRILLO, Jennifer. Gluten-Free Beer Evolves. Beverage World. 2012, roč. 131, s. 6, 8, 10. ISSN 0098-2318.

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Eva Lorencová, Ph.D.**

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

**2. února 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**4. května 2016**

Ve Zlíně dne 2. února 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ/DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské/diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že bakalářská/diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou/diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – bakalářskou/diplomovou práci - nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské/diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské/diplomové práce využít ke komerčním účelům.

Ve Zlíně ..... 29. 6. 2016 .....

LADISLAV ŠTĚPÁNEK  
Jméno, příjmení, podpis

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47b Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělěčně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdětku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše, přitom se přihlídnou k výši výdětku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Cílem této bakalářské práce bylo vytvořit souhrnnou literární rešerši týkající se problematiky bezlepkového piva. Rozebírána je nejen vhodnost surovin, způsoby sladování, ale jsou diskutovány i rozdíly mezi technologií výroby běžného piva a bezlepkového piva

Klíčová slova: lepek, celiakie, surogáty, bezlepkové pivo

## **ABSTRACT**

The aim of this Bachelor thesis was to provide a summarizing literary research, dealing with the issue of gluten-free beer. Moreover, not only do I analyse the appropriateness of the ingredients, the way of storing but also differences in production technology of a common beer and gluten-free.

Keywords: gluten, Celiac disease, surrogates, gluten-free beer

Poděkování:

Děkuji všem, kteří mě inspirovali a pomáhali mi při tvorbě této práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně 28. 4. 2016

Ladislav Štěpánek

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>1 GLUTEN A CELIAKIE</b> .....	<b>9</b>
1.1 LEPKOVÉ BÍLKOVINY.....	9
1.2 GLUTENOVÁ ENTEROPATIE.....	10
1.2.1 Symptomatická střevní forma .....	11
1.2.2 Další formy celiakie .....	11
1.2.3 Diagnostika celiakie .....	12
1.2.4 Bezlepková dieta .....	12
<b>2 SUROVINY PRO VÝROBU BĚŽNÉHO A BEZLEPKOVÉHO PIVA</b> .....	<b>14</b>
2.1 SUROVINY PRO VÝROBU PIVA.....	14
2.1.1 Voda .....	14
2.1.2 Ječný slad a jeho výroba .....	15
2.1.3 Vybrané slady pro výrobu bezlepkového piva a možnosti jejich úpravy.....	19
2.1.4 Surogáty pro výrobu bezlepkového piva a jejich speciální úpravy.....	22
2.1.5 Podpůrné proteolytické enzymy pro výrobu bezlepkových piv.....	25
2.1.6 Chmel .....	26
2.1.7 Pivovarské kvasinky.....	27
<b>3 ROZDÍLY VE VÝROBĚ BEZLEPKOVÉHO A BĚŽNÉHO PIVA</b> .....	<b>29</b>
3.1 VÝROBA MLADINY .....	29
3.2 VÝROBA PIVA.....	32
<b>4 DOSTUPNOST BEZLEPKOVÝCH PIV V TRŽNÍ SÍTI V ČESKÉ REPUBLICI A VE SVĚTĚ</b> .....	<b>35</b>
4.1 LEGISLATIVNÍ RÁMEC.....	35
4.2 BEZLEPKOVÁ PIVA VE SVĚTĚ A V ČESKÉ REPUBLICI .....	36
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>43</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>44</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>51</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>52</b>

## ÚVOD

V posledních letech se zvyšuje výskyt jedinců trpících celiakií v populaci. Lidé trpící celiakií mají intoleranci na lepek, přesněji na prolaminovou sekvenci. Zatím jediným úspěšným řešením terapie je bezlepková dieta [1]. Z tohoto důvodu je třeba hledat možná řešení, které by zkvalitnily život celiakům. Proto jsou vyvíjeny nové produkty, které dle vyhlášky obsahují lepkové bílkoviny pod hranici 20 mg/kg potraviny v konečném stavu pro spotřebitele, nebo neobsahují lepkové bílkoviny vůbec [2].

Obsah glutenu lze ovlivnit různými postupy. Jedná se zvláště o zásah do samotné technologie výroby sladu nebo rmutovacích technologií. Další možností je využití „bezlepkových“ surovin, zesladovaných/nezesladovaných pseudocereálií, nebo využití speciálních enzymových přípravků [3].

Zákroky do technologie se mohou výrazněji promítnout do konečného výrobku.

Tato bakalářská práce představuje literární rešerši, která shrnuje problematiku výroby bezlepkových piv, resp. možností, které by výrobce piva měl uskutečnit, aby konečný výrobek mohl splňovat legislativou daná kritéria a zároveň byl schopen uspokojit chuťové nároky spotřebitele.



# 1 GLUTEN A CELIAKIE

## 1.1 Lepkové bílkoviny

Lepek, často také označován jako gluten, je z technologického hlediska gel z pšeničných bílkovin, který vzniká v procesu hnětení pšeničných těst z dvou základních frakcí bílkovin - gliadinu a gluteninu [4]. Za imunitní odezvu organismu jsou ale obecně odpovědné proteiny z prolaminové frakce zrn rostlin podčeledi *Triticeae* (zrna pšenice, ječmene, ovsa a žita) [5].

Dle Osbornova dělení rozpustnosti se dají cereální bílkoviny začlenit do čtyř skupin. Bílkoviny albuminy se rozpouští ve vodném prostředí; globuliny ve vodných roztocích; prolamininy v 70 – 90 % (v/v) etanolu a gluteliny ve zředěných roztocích kyselin a zásad. Gliadiny a globuliny představují zásobní bílkoviny, které se nachází v endospermu obilky, kde plní funkci při klíčení a vývoji rostlin [5].

Z tabulky č. 1 je patrné, že nejvyšším zastoupením prolaminové frakce disponuje pšenice a ječmen. Právě tyto plodiny se využívají nejčastěji k výrobě sladů, ze kterých se následně připravuje extrakt českých piv. Konkrétně u pšenice je složení prolaminů nejvíce prozkoumáno. Zde jsou zastoupeny ve velké míře aminokyseliny prolin 14 – 30 % (w/w) a glutamin 36 – 45 % (w/w). Ječmen je ale také poměrně dobrým zdrojem prolaminových frakcí (viz Tab. č. 1) Právě vysoký podíl prolinu a glutaminu v aminokyselinovém řetězci je odpovědný za imunitní odezvu u senzitivních jedinců [6].

Stanovení prolaminové frakce se provádí pomocí elektroforetických, chromatografických či imunochemických metod. Nejčastěji se využívají imunochemické metody. Analýzy jsou uskutečňovány většinou komerční sendvičovou soupravou ELISA [7].

Tabulka 1 Zastoupení jednotlivých skupin bílkovin v běžných obilovinách [6].

<b>Obilovina</b>	<b>Albumin</b> (%) w/w	<b>Globulin</b> (%) w/w	<b>Prolamin</b> (%) w/w	<b>Glutelin</b> (%) w/w
<b>Pšenice</b>	14,7	7,0	32,6	45,7
<b>Žito</b>	44,4	10,2	20,9	24,5
<b>Ječmen</b>	12,1	8,4	25,0	54,5
<b>Oves</b>	20,2	11,9	14,0	53,9

## 1.2 Glutenová enteropatie

Glutenovou enteropatii lze charakterizovat jako autoimunitní celoživotní onemocnění, které je dědičné [1]. Mechanismus onemocnění spočívá ve stimulaci B lymfocytů střevní sliznice k tvorbě protilátek IgA a IgG při příjmu glutenu, který je vyhodnocován buňkami imunitního systému T lymfocyty jako cizorodý. Enzym tkáňová transglutamináza (tTG) je uvolňován do oběhu kvůli zvýšené propustnosti membrán. Enzym tTG se přímo podílí na patogenezi u predisponovaných pacientů. Reaguje s prolaminovými peptidy a deamiduje je z glutaminu na glutamáty. Díky tomu se zvyšuje jejich reaktivita. Následuje stimulace tvorby protilátek antigenem, které poškozují sliznici tenkého střeva v duodenu a jejunu. Výsledkem takovéto změny je malabsorpce, malnutrice nebo maldigesce [8].

Určení diagnostiky se provádí velmi těžce, neboť klinické příznaky mohou být velmi rozdílné. Například u některých pacientů se projevují příznaky, aniž by jim byla určena diagnóza. V dalších případech se jedná o klasické symptomy jako je nechutenství, ztráta váhy, občasné průjmy. Příznaky se často mohou projevit již ve dvou letech stáří jedince, nebo v dospívání, či v pokročilém věku [9]. Glutenová enteropatie se může řadit dle publikace docenta Kohouta do několika kategorií: symptomatická (klasická), oligosymptomatická, silentní, latentní a potencionální [10].

### 1.2.1 Symptomatická střevní forma

Symptomatická (klasická) střevní forma glutenové enteropatie se poprvé objevuje u dětí starých 6 až 18 měsíců, kdy dochází k postupnému přecházení od kojení ke klasické stravě. Většinou se jedná o přídatné směsi obilovin do kaší. Problémy se dostávají v průjmech. Dítě neprospívá a může dojít až k podvyživení [9]. V dospělosti se vyskytují také průjmy. Avšak u dospělých jedinců dochází spíše k netypickým příznakům celiakie. Jedná se především o zácpu, občasné pobolívání břicha, neplodnost, plešatost. V ojedinělých případech může docházet až k osteoporóze a osteomalacii s vysokým rizikem lámání obratlů, dlouhých kostí a další. Choroba se může projevit až lámavostí kostí, perforací střeva nebo celkovým selháním střeva. Jedná se o nepřijímání veškerých živin střeva. Následně u pacienta dochází k parentální výživě a diagnóza je určena s těmito příznaky jako symptomatická forma celiakie [10].

### 1.2.2 Další formy celiakie

Oligosymptomatická forma se projevuje podobnými příznaky jako symptomatická forma (typické příznaky, pozitivní nález na sliznici tenkého střeva). Forma silentní nemá žádné klinické příznaky. Testy a vyšetření jsou podobná jako u předchozích forem. Latentní forma má pozitivní sérologické marker, ale na druhou stranu má negativní imunohistologická i histologická vyšetření [10].

Sérologické marker celiakie obsahují protilátky ke gliadinu třídy IgA a IgG, díky nimž lze diagnostikovat celiakie pomocí imunochemické metody ELISA [11].

Potencionální forma se neprojevuje klinickými příznaky. Histologické testy jsou negativní včetně sérologických marker. Celiakie se může projevovat i kožně jako Duhringova herpetiformní dermatitida. Symptomy jsou puchýřky v oblastech hlavy, které reagují pouze na sulfony. Klasické masti jsou neúčinné. Bezlepková dieta má pozitivní reakce na léčbu a umožňuje snížení či naprosté vysazení sulfonu [10].

Dle některých studií může mít celiakie vliv i na centrální nervovou soustavu. Bylo zjištěno, že pacienti trpící glutenovou enteropatií trpí až 20krát více epileptickými záchvaty oproti ostatním v populaci. Některé studie uvádí příklady, kdy byla zavedena glutenová dieta a u dětí trpícího touto nemocí došlo ke zlepšení chování a snížení podrážděnosti či emocionálním výpadkům [9].

### 1.2.3 Diagnostika celiakie

Diagnostika celiakie se zaměřuje na rizikové skupiny jedinců, a proto se označuje jako screening. Především je věnována zvýšená pozornost chorobám vyskytujícím se zároveň s celiakií. To jsou například autoimunitní choroby, autoimunitní tyreoiditidy nebo inzulindependentní diabetes mellitus. Screening se dále provádí u pacientů s podobnými příznaky, které se objevují u celiakie. Může se jednat o neobjasněný úbytek váhy, průjmy, anémii či neplodnost [10].

Nejběžnější metodou je vyšetření protilátek proti tkáňové transglutamináze systémem ELISA, kde se nejčastěji využívá antigen humánní rekombinantní transglutamináza. U rizikových skupin lidí během screeningu je navržen dvoustupňový postup vyšetření. Nejdříve se provádí v prvním stupni stanovení sérových protilátek k tkáňové transglutamináze ve třídě IgA [12]. Odběry jsou brány z periferní krve a musí se udělat test na celkové hladiny IgA, aby se potvrdil nebo vyloučil deficit IgA v séru. Při deficitu IgA u pacientů se mohou objevit falešně negativní hodnoty výsledku v této třídě [8]. Proto se při deficitu IgA provede stanovení protilátek ve třídě IgG. Jestliže v prvním stupni jsou pozitivní hodnoty sérologických markerů, nastává stupeň druhý, ve kterém se provádí endoskopicky biopsie sliznice z aborálního duodena [12].

Sérologické marker jsou IgA endomysální protilátky (IgA EMA). Endomysium je pojivový tkáňový protein hladké svaloviny. IgA EMA protilátky jsou vysoce specifické v 97 – 100 % a sensitivní v 85 – 98 %. Další protilátky jsou IgA tTG, které jsou také vysoce sensitivní v 90 – 98 % a specifické v 95 – 97 %. Občas je třeba provést vyšetření na transglutaminázu ve třídě IgG asi u 10 % pacientů z důvodu falešné negativity kvůli chybějící IgA [11].

### 1.2.4 Bezlepková dieta

Bezlepkovou dietu lze popsat jako speciálně upravený jídelníček, který v sobě nezahrnuje lepkové bílkoviny. Je třeba se vyvarovat i stopovému množství. Pacienti nesmí konzumovat výrobky z pšenice, ječmene, žita ani ovsu. Konzumace ovsu je velice sporná, byť je gliadinová frakce avenin ze zmiňovaných obilovin nejméně toxická, tak u některých pacientů může vyvolat imunologické reakce a díky tomu se může stále udržovat nemoc v aktivní formě [1].

Existuje řada potravin, ve kterých se nevyskytuje gluten. Především to jsou veškerá masa, mléčné výrobky, luštěniny, ovoce, zelenina, sójové boby, brambory. Používají se i obiloviny, které neobsahují prolaminu. Patří sem například pohanka, proso, kukuřice, rýže, amarant nebo quinoa, ze kterých lze vyrábět bezlepkové pivo [11].

Dle Nařízení komise (ES) č. 41/2009 ze dne 20. ledna 2009 o složení a označování potravin vhodných pro osoby s nesnášenlivostí lepku byl stanoven nejvyšší limit pro potraviny označené „Bez lepku“ na hodnotu 20 mg/kg v potravine ve stavu, kdy je prodávána konečnému spotřebiteli [2].

Z dostupných informací, dle studie Dostálka a kol. (2010) bylo zjištěno měřením sendvičovou metodou ELISA, že běžné pivo obsahuje nižší hodnoty lepkových bílkovin, než udává vyhláška. Naměřená data poukazují, že během pivovarského procesu dojde k téměř úplné eliminaci prolaminu z ječmene. Tento jev je z několika důvodů: prolaminu nejsou rozpustné ve vodě; během varného procesu dochází k „naštěpení“ proteinů na kratší řetězce a pouze některé nízkomolekulární látky jsou schopné extrakce; během kvašení se snižuje pH piva a dochází k další eliminaci; sorpce prolaminu na povrch kvasinek nebo eliminace prolaminu stabilizací piva [7]. Přesto není celiakům doporučována konzumace běžného piva, neboť v množství, v jakém je pivo běžně spotřebovááno, hrozí riziko překročení maximálního limitu denního příjmu rizikových prolaminových frakcí bílkovin [13].

## 2 SUROVINY PRO VÝROBU BĚŽNÉHO A BEZLEPKOVÉHO PIVA

Dle vyhlášky č. 335/1977 Sb. ve znění pozdějších předpisů lze pivo definovat jako pěnovitý nápoj vyrobený ze zkvašené mladiny připravené ze sladu, vody, neupraveného či upraveného chmele nebo chmelových produktů [14]. Po celém světě lze najít nespočet druhů piv, které se od sebe diametrálně liší použitými surovinami, recepturami a výrobními postupy. Setkat se můžeme např. s běžnými výčepními pivy, ležáky, pivy typu ale či porter, nealkoholickými pivy, pivy ochucenými a ovocnými. V posledních letech je věnována pozornost produkci piv pro celiaky [15].

Cílem výroby bezlepkového piva je úplné odstranění nebo maximální snížení lepkových bílkovin v produktu pod hranici, kterou udává legislativa [16].

Výroba piva právě pro jedince trpící celiakií je předmětem této bakalářské práce.

### 2.1 SUROVINY PRO VÝROBU PIVA

K výrobě piva určeného pro běžné spotřebitele i pro celiaky je používána voda, dobře rozluštěný slad, chmel nebo chmelové výrobky a pivovarské kvasinky. Místo klasického sladu lze pro výrobu piva využít zesladované pseudocereálie nebo surogáty. Tyto všechny složky budou rozebrány níže [17].

#### 2.1.1 Voda

Voda je jednou z hlavních složek piva. Objemově jí je v pivu nejvíce a výrazně ovlivňuje jeho chuť i kvalitu. Pivovarská voda má přesné dané parametry na kvalitu a její vlastnosti, které jsou potřebné k výrobě kvalitního a chutného piva. Pro každý typ piva jsou vhodné jiné parametry. Prvním důležitým faktorem kvality vody je množství rozpuštěných iontů: kationty ( $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$ ), anionty ( $OH^-$ ,  $Cl^-$ ,  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ , fosforečnany a křemičitany). Rozpuštěné ionty kovů alkalických zemin určují tzv. tvrdost vody. Tvrdost může být přechodná, daná např.  $Ca(HCO_3)_2$  a  $Mg(HCO_3)_2$  a trvalá, způsobená např.  $CaSO_4$  a  $MgSO_4$ . Dle množství rozpuštěných iontů je voda členěna do kategorií měkká až velmi tvrdá [17].

Tvrdost byla dříve určována v německých stupních, kdy jeden stupeň odpovídá obsahu 10 mg oxidu vápenatého na 1 l vody, ale existují i jiné metody např. vyjádření molár-

ní koncentrace v mmol/l rozpuštěných látek, která je užívána dnes. Na vaření českého piva je za nejvhodnější považována měkká voda, u které se tvrdost pohybuje okolo 0,10 mmol/l až 0,25 mmol/l. Tuto vodu lze bez větších úprav získat ze spodních vod nebo artéských studní. Jiné faktory, které ovlivňují chuť a kvalitu vody je například obsah manganu a železa, které může zapříčinit palčivou, kovovou chuť. V tomto případě je vhodné provést odželeznění a odmanganování. Ovlivnit chuť mohou i mikroprvky např. bor, měď, zinek aj. Zmíněné mikroprvky jsou důležité pro správné fungování enzymů [18].

Povrchová voda musí být před použitím změkčena. Změkčování probíhá většinou na iontoměničích, které pracují na principu chemické reakce, kdy se odstraňují kationty vápníku a hořčíku ( $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ ) a vyměňují se za kationty sodíku a vodíku. Anionty se vyměňují za hydroxidové ionty [19].

Důležitým parametrem pivovarské vody je v neposlední řadě její zdravotní nezávadnost. Pitná voda musí splňovat stálé chemické a fyzikální vlastnosti po celý rok, všeobecné podmínky zdravotní nezávadnosti a to i při dlouhodobém užívání. Nesmí obsahovat toxické škodlivé chemické látky a patogenní mikroorganismy. Důraz je kladen na maximální limity dusičnanů, které se mohou redukovat na dusitany. Dusitany se následně mohou měnit na N-nitrososloučeniny, které jsou karcinogenní a mutagenní [20].

### 2.1.2 Ječný slad a jeho výroba

Slad je nejčastěji vyráběn z ječmene jarního nebo z jiných plodin. Jedná se o upravené zrno, které prošlo řadou chemických, biochemických biologických a fyzikálních změn. Je připravován sladováním, které se stává z několika kroků, a to z máčení, klíčení, hvozdění a závěrečných úprav sladu. Pro výrobu piva je známo několik druhů sladů, které se liší průběhem a podmínkami sladování [21].

Částečná náhrada sladu surogáty ovlivní obsah amylolytických enzymů ve směsi. Pro navýšení obsahu amylolytických enzymů je pak možné použít slady diastatické. Přidání diastatických sladů poté vede k vyšší výnosnosti extraktu. Diastatický slad se vyrábí z ječných odrůd s vysokým obsahem dusíkatých látek. Postup technologie sladování se vyznačuje delším klíčením vedeným za studena a nízkými teplotami sušení (50 – 55 °C) [3].

Pro výrobu bezlepkového piva z ječného sladu je důležitým kvalitativním parametrem i obsah dusíkatých látek a schopnost proteolytického a cytolytického rozluštění zrna během sladování. V tabulce č. 2 jsou uvedeny vybrané zaregistrované odrůdy ječmene

z roku 2010 a 2014. V roce 2010 se jednalo o odrůdy Berlioz (A), Lilly (B) s Gladys (C). V roce 2014 se jednalo o odrůdy Britney (D), Overture (E), RTG Otakar (F), KWS Irina (G), Odyssey (H) a Montoya (CH). Kolbachovo číslo se u všech zmíněných odrůd pohybuje na velice dobré úrovni [22].

Kolbachovo číslo je procentní podíl dusíkatých látek rozpuštěných ve sladině vůči celkovému obsahu ve vzorku sladu. Jedná se o ukazatel kvality proteolytického rozluštění sladu, kdy více rozluštěné slady mají vyšší Kolbachovo číslo. Pro česká piva je volena ideální hodnota Kolbachova čísla mezi 39 – 41 %, protože více rozluštěné slady s vyšším Kolbachovým číslem mohou podporovat starou chuť piva [5].

Zajímavým faktem je například i to, že výše zmíněné odrůdy v roce 2014 vykazovaly nižší hodnoty dusíkatých látek ve sladu, než tomu bylo v roce 2010 [22, 23]. V případě výroby ječného sladu určeného pro produkci bezpečkových piv je tedy nutné sledovat obsah prekurzorů ve výchozí surovině.

*Tabulka 2 Srovnání vybraných odrůd z roku 2010 a 2014 pro výrobu bezpečkového piva [22, 23].*

Ročník	2010			2014					
Odrůda	A	B	C	D	E	F	G	H	CH
<b>Celkový obsah bílkovin v ječmeni [%]</b>	11,1	11,2	11,3	10,2	10,4	10,1	10,1	10,3	10,1
<b>Dusíkaté látky (bílkovin) ve sladu (%) w/w</b>	10,5	10,8	10,7	9,7	9,9	9,6	9,6	9,8	9,6
<b>Rozpuštěný dusík ve sladu (%) w/w</b>	0,842	0,905	0,841	0,725	0,735	0,713	0,690	0,701	0,679
<b>Kolbachovo číslo (%)</b>	50,3	52,9	49,6	46,4	46,6	46,3	45,2	45,0	44,2

### **Příjem, čištění, skladování**

Prvním krokem je příjem zrna do sladovny, kde je zrno zbaveno příměsí a nečistot pomocí čistícího systému. Dalším důležitým faktorem je úprava vlhkosti ječmene, kvůli správným podmínkám skladování. Zrna ječmene jsou skladována převážně v silech, kde je



regulována teplota, vlhkost a proudění vzduchu. Doba, po kterou je zrno potřebné skladovat, se stanovuje dle posklizňového dozrávání neboli dormanci, která trvá několik týdnů [24].

### Máčení

Máčení je základem při výrobě sladu. Jeho cílem je, aby zrno přijalo dostatek vegetační vody, která je potřebná pro správné vyklíčení obilky, pro průběh metabolických drah a k aktivaci a syntéze amylolytických enzymů [24].

Dodaná voda zvýší potřebnou vlhkost ze skladovací vlhkosti 8 – 10 % (w/w) na 30 % (w/w), což vede k podpoře klíčení [3]. Nejrychleji je schopný ječmen klíčit při vyzrálém fyziologickém stavu, kdy překonal první i druhou dormanci [25]. Dále je třeba dodat vodu pro rozpouštění endospermu, aktivaci hydrolytických enzymů, důležité metabolické a strukturní změny. Hodnoty vlhkosti se pohybují dle typu sladu. U světlého sladu musí být konečná vlhkost 40 – 44 % (w/w) a u tmavého sladu 45 – 48 % (w/w). Rychlost přijímání vody ječným zrnem je závislá na teplotě. Teplota, která podporuje příjem vody nejvíce, se pohybuje v rozmezí 10 – 16 °C, ale může být i vyšší o několik stupňů [26]. Při těchto teplotách se doba máčení pohybuje mezi 30 – 80 hodinami. Doba máčení je velmi proměnlivá a může se měnit dle požadovaného objemu vody v zrně, tlaku, přístupu kyslíku nebo teplotě [3].

### Klíčení

Během klíčení dochází k fyzikálním, chemickým, biochemickým změnám zrna. Aktivují a syntetizují se enzymy, které mění rezervní látky ze stabilních vysokomolekulárních látek na rozpustné nízkomolekulární produkty. Klíčení probíhá většinou okolo 7 – 10 dnů při teplotě 14 – 18 °C [18].

Při klíčení je potřeba vytvořit optimální podmínky pro enzymatickou aktivitu pro štěpení škrobových zrn, bílkovinných řetězců a rozrušení buněčné stěny endospermu. Výsledkem cytolytického rozluštění zrna je umožnění proniknutí dalších specifických enzymů do endospermu a umožnění jejich činnosti uvnitř zrna [17].

Při klíčení vzniká enzym  $\alpha$ -amyláza vedle již přítomné  $\beta$ -amylázy, která se nachází v nenaklíčeném ječmeni. Proteolytické enzymy štěpí bílkoviny a stupeň rozštěpení bílko-

vin na příslušné peptidy ovlivňuje kvalitu piva, plnost chuti, filtrovatelnost aj. Důležitým kritériem při klíčení je velikost stříčky. Ta by měla být u světlých sladů  $\frac{3}{4}$  délky zrna a u tmavých by měla odpovídat celé délce zrna. Výsledkem klíčení je tzv. zelený slad, který se dále upravuje dle variant sladu [3].

### Hvozdění a pražení zeleného sladu

Hvozdění je závěrečným krokem ve sladování. Probíhá ve třech fázích na tzv. hvozdu, který suší naklíčenou obilnou masu. Na hvozdu dochází k řízenému snížení obsahu vody a vytvoření sensoricky zajímavých látek pro obohacení organoleptických vlastností piva, uzamčení enzymů v zrně a zastavení vegetačních a fyziologických procesů [21]. V růstové fázi dochází k předsoušení, kdy je za mírné teploty do 40 °C snižována vlhkost zhruba nad 20 % (w/w). V této fázi dochází ještě k biochemickým procesům a klíčení [26]. V enzymové fázi dochází při teplotě 40 – 60 °C k zastavení vegetačních procesů. Vlhkost se v této fázi pohybuje pod 20 % (w/w) [3]. V chemické fázi je vlhkost snížena na 3 – 5 % (w/w) při teplotě 55 °C a slad je dotahován při 80 °C. Cílem je zachování co nejvyšší aktivity enzymů [17].

Při hvozdění vzniká nespočet nízkomolekulárních látek, které udávají charakteristickou vůni a chuť sladu. Některé aromatické látky se stávají prekurzory pro další reakce při vaření sladiny, chmelovaru nebo jsou metabolizovány kvasinkami a v konečném pivu se tak neuplatňují. Mezi zde přítomné aromatické látky patří aldehydy, ketony, alkoholy, kyseliny, estery, nebo heterocyklické sloučeniny obsahující dusík, kyslík či síru [21]. V chemické fázi probíhají Maillardovy reakce. Vznikají barevné látky melanoidiny, které dávají sladu jeho barvu a aroma [24]. Při tvorbě melanoidinů vzniká velké množství reduktů, které následně mohou reagovat s vodou na furany, s amoniakem na pyrroly. Díky tomu mohou navozovat starou chuť piva. Současně vznikají i aldehydy pomocí Streckerových degradací z aminokyselin, které mohou ovlivňovat aroma piva [25].

### 2.1.3 Vybrané slady pro výrobu bezlepkového piva a možnosti jejich úpravy

#### Ovesný slad

Pro výrobu bezlepkového piva lze využít slad z ovsa, který má vcelku pozitivní účinky na lidské zdraví díky vysokému obsahu  $\beta$ -glukanů a polyfenolů. Kvalitu sladu velmi ovlivňuje doba a teplota klíčení, kde jsou největší změny zaznamenány i u aktivity  $\alpha/\beta$ -amyláz a proteáz [3].

Mladina z ovesného sladu ve srovnání s ječným sladem má podobný trend v kvašení. Rozdíl lze pozorovat u vyššího pH a nižšího obsahu alkoholu v pivu z ovsa během kvašení. Oproti pivu z ječného sladu má pivo z ovsa velmi nestabilní pěnu, ale to je zřejmě důsledek poměrně vysokého obsahu tuku v zrně ovsa [27].

#### Čirokový slad

Výroba sladu z čiroku je prováděna na běžných pneumatických humnech. Máčení trvá mezi 6 a 24 hodinami při kontrolované teplotě a proudění vzduchu. Hvozďení je realizováno zpravidla do 50 °C kvůli zachování aktivity amylolytických enzymů. Konečná vlhkost je snížena na 10 % (w/w) [28].

Čirok má množství genetických variant. Voskovité varianty jsou nejvhodnější pro pivovarský průmysl. Mají vhodný poměr složení škrobu (95 % (w/w) amylopektin, 5 % (w/w) amyulóza), a tím dochází k rychlejšímu a snadnějšímu mazovatění škrobu během rmutování oproti jiným variantám čiroku [29].

Slad z čiroku se liší v mnoha parametrech od ječného. Jedná se především o rozdílnou teplotu mazovatění škrobu. Škrob čiroku mazovatel při vyšších teplotách až o 10 °C oproti ječnému sladu. Tyto teploty mohou způsobovat problémy během rmutování za běžných podmínek kvůli inaktivaci amylolytických enzymů [30].

Diastatická aktivita enzymů sladu čiroku je o polovinu nižší než ve sladu ječném z důvodu nízké aktivity  $\beta$ -amylázy. Proto je vhodná podpora diastatickými slady. Na druhou stranu z dat vyplývajících z tabulky č. 3 je u čiroku aktivita  $\alpha$ -amylázy vyšší než u ječmene [30].

Tabulka 3 Srovnání diastatické aktivity enzymů mezi sladem z čiroku a ječným sladem [30].

	Slad z čiroku	Ječný slad
Teplota mazovatění škrobu (°C)	64-68	55-59
Aktivita $\beta$ -amylázy (%)	18	100
Aktivita $\alpha$ -amylázy (%)	110	100

Čirok má nižší aktivitu enzymů  $\beta$ -amyláz a endo- $\beta$ -glukanáz než je v ječmeni. Kvůli nižší aktivitě těchto enzymů je rozklad buněčné stěny endospermu jiný než u ječmene [28]. Navíc buněčná stěna čiroku obsahuje arabinoxylany. Z toho důvodu je degradace buněčné stěny velmi ztížená [3]. Ani po exogenním přidání cytolytických enzymů se hodnoty nevyrovnají koncentracím enzymů u ječného sladu, což také ve výsledku ovlivňuje průběh a výsledek rmutování [28].

### Slad z prosa

Slad z prosa má podobné vlastnosti jako slad z čiroku. Proso má ale vyšší obsah  $\beta$ -amylázy a volného aminodusíku. To se jeví jako lepší varianta sladu pro bezlepkové pivo než slad z čiroku [31].

### Rýžový slad

Oproti běžným sladům se při použití sladu rýžového mohou vyskytovat problémy při rmutování za klasických podmínek, většinou způsobené nedokončeným mazovatěním škrobu kvůli vysoké teplotě mazovatění. Nízký obsah nízkomolekulárních látek může pak negativně ovlivňovat proces kvašení a ovlivňuje i organoleptické vlastnosti piva. U zrn rýže je obtížnější i cytolytické rozluštění zrna oproti ječmeni, kvůli jinému poměrovému složení buněčné stěny endospermu [32].

### Slad z laskavce a merlíku

Slad z laskavce (amarantu) se vyznačuje vysokou teplotou mazovatění škrobu a nízkou aktivitou amyláz oproti ječnému sladu. Merlík (quinoa) má příznivé složení sacharidů (D-xyulóza, maltóza a fruktóza) pro výrobu sladu. Oproti ječnému sladu je ale slad merlíku limitován nízkou enzymatickou aktivitou amyláz [29].

### Pohankový slad

Pohankový slad má velmi nízkou aktivitu amylolytických enzymů, a proto je nutné dodávat exogenně komerční enzymy. Někteří autoři uvádějí, že po přidání komerčních enzymů (celulázy, amyloglykozidázy a  $\alpha$ -amylázy) je evidentní zlepšení fermentace díky zvýšení koncentrace rozpustných látek a zvýšení rozpustného dusíku a aminokyselin [29]. Slad z pohanky obsahuje poměrně vysoké množství polysacharidů (např. celulózy a ligninu), které zvyšují viskozitu sladiny a tím je zhoršena filtrace u piva. Byl popsán laboratorní průběh sladování pohanky, kdy optimální vlhkost máčení se pohybovala kolem 40 – 45 % (w/w) po 12 hodinách při 10 °C máčení. Optimální aktivita enzymů byla získána až po čtyřech dnech klíčení při 15 °C. Výsledný slad měl výraznou karamelovou chuť, oříškové a sladové aroma. Těmito pokusy byla prokázána závislost teploty klíčení na kvalitě sladu. I režim hvozdění ovlivňuje enzymovou aktivitu [33].

### Alkalické máčení

Jako možná úprava surovin pro výrobu alternativních sladů se jeví alkalické máčení. Ve studii B. De Meo a kol. [34] byl proveden pokus máčení ve zředěném roztoku hydroxidu sodného. Alkalické máčení bylo provedeno u pseudocereálií (merlíku, amarantu, pohanky) a čiroku. U amarantu byla po alkalickém máčení zjištěna vyšší zkvasitelnost extraktu sladu, která se pohybovala okolo 56 %, oproti 20 % zkvasitelnosti bez alkalického máčení. Bylo zjištěno zvýšení rozpustného dusíku a aminokyselin ve sladu z pohanky, kdy se pohybovaly hodnoty rozpuštěného dusíku 500 – 1 000 mg/l a byla zvýšena diastatická mohutnost. Dále byly sníženy ztráty výtěžnosti vznikající během sladování. Alkalické prostředí ovlivnilo molekulární struktury neškrobových polysacharidů a díky tomu v zrně byla zvýšena dostupnost bílkovin a sacharidů bez jakýchkoliv negativních účinků na zrno, což urychlilo absorpci vody. Z této studie vyplývá, že alkalické máčení zlepšuje vlastnosti sladu z pseudocereálií a snižuje i mikrobiální riziko při sladování [34].

Při výrobě sladu z alternativních plodin jsou uplatňovány technologické kroky, které se liší v mnoha aspektech. Jedná se o úpravy specifické vlhkosti, teploty, doby máčení až po rozdílné teploty a dobu trvání u hvozdění [3]. Při přidání nesladovaných surogátů do sladu výrobce musí dbát na správný postup tepelného ošetření ve speciálních tlakových varnách, zvláště u škrobnatých surogátů, aby došlo ke zmazování škrobu [5]. Stejně tak i

enzymové přípravky katalyzující hydrolýzu zásobních bílkovin jsou přidávány v závislosti na potřebě optimalizace obsahu prolaminů ve sladu [29].

#### 2.1.4 Surogáty pro výrobu bezlepkového piva a jejich speciální úpravy

##### Škrobnaté náhražky

Surogáty jsou náhražky klasického sladu z ječmene. Nejčastějším důvodem nahrazení ječného sladu při výrobě běžného piva je nižší cena. Kritériem pro surogáty při výrobě bezlepkového piva, je však nízká koncentrace dusíkatých látek, konkrétně absence prolaminové frakce [21].

Divoká rýže (*Zizania palustris* L.) pochází ze Severní Ameriky. Má podobnou extraktivnost jako slad a velmi nízký obsah bílkovin. Oproti klasické rýži má vyšší hodnoty železa a zinku. Nevýhodou surogace divokou rýží je, jak bylo zmíněno již výše, složitější technologie rmutování [35].

Proso (*Panicum*) je jedna z nejstarších známých a užívaných obilovin. Je především tvořeno škrobem, který zaujímá obsah 68 – 76 % (w/w). Dále jsou v obilce vysoce zastoupeny bílkoviny 12,0 – 13,4 % (w/w), vláknina 6,3 – 9,9 % (w/w), tuk 3,8 – 6,7 % (w/w) a minerální látky, které se zde nachází v rozmezí 2,4 – 4,2 % (w/w) [36].

Čirok (*Sorghum*) je velice podobný prosu. Jeho květenství se nazývá lata, kde může být obsaženo až 2 000 obilek. Největší podíl tvoří škrob, který činí až 70 % (w/w), dále bílkoviny 8 – 16 % (w/w). Čirok obsahuje i tanin, který vede ke špatné stravitelnosti výrobků z čiroku [36]. K potravě se semena čiroku loupají a je z nich mleta mouka, nejvíce je využívána pro přípravu kaší. Čirok je používán na výrobu alkoholických nápojů. Vzhledem k tomu, že neobsahuje lepkové bílkoviny, je velice vhodný pro výrobu bezlepkového piva. Toto čirokové pivo je velice opojné a představuje bohatý zdroj vitamínů B [37].

Kukuřice setá (*Zea Mays* L.) je pěstována skoro na celém světě. Patří do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) Je vhodná pro výrobu bezlepkového piva. Většinou je používána ve formě vloček nebo krupice z důvodu vysokého obsahu tuku, který činí až 25 % (w/w). Takto vysoký podíl tuku je pro pivovarství nežádoucí. Proto je zrno loupáno a zbavováno klíčku. Obilka je odlišná od klasických zrn svým charakteristickým tvarem a žlutou barvou [38]. Škrobu je v zrně okolo 70 % (w/w). Dále se v kukuřici nachází poměrně vysoký obsah vitamínu E a minerálních látek [39].

Zrna pseudocereálií lze také použít jako škrobnaté surogáty při výrobě bezlepkového piva. Pseudocereálie jsou dvouděložné rostliny podobné obilninám, ale z botanického hlediska se nejedná o čeleď lipnicovitých (*Poaceae*), kam se řadí obilniny. Díky podobnému chemickému složení je možno pseudocereálie technologicky zpracovávat a využívat jako obiloviny [40].

Laskavec (*Amaranthus*) obsahuje vyšší nenasycené mastné kyseliny a skvalen, který snižuje hladinu cholesterolu v krvi. Má jeden z nejvyšších obsahů vlákniny mezi rostlinami podobnými obilovinám. Všeobecně v nutričních hodnotách převyšuje obiloviny. Jeho semínka musí být bílá až žlutobílá, bez zápachu a hořkosti [35]. Semena laskavce jsou používána jako alternativní surovina pro výrobu piva [36].

Quinoa, nebo také merlík chilský (*Chenopodium quinoa* Willd.) patří do čeledi merlíkovitých (*Chemopodiaceae*). Semena mají bílou nebo žlutou barvu. Merlík obsahuje velké množství minerálních látek (fosfor, draslík, vápník, hořčík, síra, sodík, železo, zinek). Dále je merlík považován za zdroj  $\beta$ -karotenů, tiaminů, riboflavinu, niacinu a další. Bílkoviny obsahují velké množství esenciálních aminokyselin jako je lyzin a metionin [36]. Merlík je používán jako surovina pro výrobu piva nazývaného „chicha“ [41].

Pohanka setá (*Fagopyrum esculentum* Moech.) patří do čeledi rdesnovitých (*Polygonaceae*). Plodem je nažka. Tato nažka má velmi vysoké nutriční hodnoty. Obsahuje však i antinutriční látky, jako jsou inhibitory proteáz, taniny nebo fytáty. Ty mají za následek snížení stravitelnosti bílkovin a tím i jejich využitelnost. Pohanka obsahuje vysoké množství lyzinu, treoninu, tryptofanu nebo sirných aminokyselin [36].

### Cukerné náhražky

Při výrobě bezlepkového piva lze použít i cukerné náhražky, které snižují obsah dusíkatých látek v mladině. Mají dobrou rozpustnost a jsou přidávány během chmelovaru. Většinou je udáváno množství v mladině 5 – 10 % (w/w) sladového sypání. Při dobrém stupni rozluštění bílkovin mohou cukernaté náhražky negativně ovlivňovat pěnivost piva. Nejčastěji je používán cukr krystalový (řepný, třtinový), cukr se zbytky melasy, řepný sirup, cukrový kulér nebo cukerné sirupy z bramborového škrobu. Zkvasitelnost sirupů se pohybuje mezi 35 – 82 % [17]. Bylo zjištěno, že hodnoty lepku v glukózovém sirupu vyrobeného z pšenice neobsahují hodnoty detekovatelné metodou ELISA a lze glukózový sirup využívat jako surogát při výrobě bezlepkového piva [42].

### **Mletí škrobnatých surogátů**

Při použití různých surogátů je třeba brát na vědomí rozdílné vlastnosti surogátů, a proto musí výrobce piva při jejich použití dbát na vhodnou technologii zpracování. Při mletí surogátů jsou využívány kladívkové mlýny a dispergátory. Surogáty lze upravovat i vločkováním, které umožňuje lepší zmazovatění škrobu. Navíc u surovin s vysokým obsahem tuku (kukuřice) je třeba oddělit klíčky, které by negativně ovlivnily pěnivost piva [5].

Škrobnaté surogáty jsou zpravidla upravovány ve speciálních vařácích, kde dochází k zmazovatění škrobu za působení specifické teploty pro jednotlivé druhy surogátů. Jedná se především o suroviny s potřebnou vyšší teplotou mazovatění škrobu (čirok, rýže, amarant aj.) než je u ječmene. Dále je upraveno potřebné pH, jsou přidány enzymy či je upraven čas a teplota u rmutování [3]. Úprava spočívá i v množství surogátů u sypání várky. Do 10 % (w/w) nemusí být prováděny úpravy technologií při rmutování. Mezi 10 – 20 % (w/w) je nutno provádět úpravy a při 30 % (w/w) nahrazování sladu se musí dodávat enzymy a upravovat technologie. Samozřejmě záleží na druhu použitého surogátu [5].

### **Povaření škrobnatých surogátů**

Použijí-li se škrobnaté náhražky v určitém množství ve sladu, je nutno před samotným rmutováním tyto náhražky povařit na surogátové pánvi za normálního tlaku [43]. Škrobnaté náhražky jsou chudé na enzymovou aktivitu a díky tomu nemají degradované vysokomolekulární látky. Proto musí být jejich škrob, bílkoviny a hemicelulózy uvolněny tepelnou úpravou. Lze použít i tlakové nádoby na vaření surogátového rmutu. Celý proces mazovatění škrobu proběhne rychleji [5].

### **Řízené pražení škrobnatých surogátů**

Existuje řada speciálních postupů upravování navlhčených obilek. Řízené pražení (v angličtině „torrefication“) spočívá v zahřátí suroviny horkým vzduchem ve dvoustupňovém teplotním režimu. V prvním kroku je surovina zahřáta na 66 °C, ve druhém kroku na 260 °C. Následně je protlačena šnekem do expanzní komory se sníženým tlakem a dojde k rychlému uvolnění páry. Touto technologií dojde k narušení obilky (puknutí jako u popcornu). Cílem je částečné zmazovatění škrobu [3].



### **Mikronizace škrobnatých surogátů**

Mikronizace je radiální metoda, kdy infračervené záření proudící z rozpálených keramických dlaždic zahřívá obilky okolo 350 °C. Tato teplota je ideální pro pufování pohanky [44]. Principem je vysušení endospermu a iniciování želatinace škrobu při teplotě 140 °C [5].

### **Obrušování**

Obrušování (v angličtině „pearling“) je mechanická metoda, během které dochází k odstranění vnějších vrstev obilky obroušením. Následně se oddělené frakce mohou přidávat zpět během dalších technologických procesů jednotlivě dle potřeb [16]. Jedná se především o obalové vrstvy a aleuronovou vrstvu. V obalových vrstvách se nachází neškrobové polysacharidy (arabinoxylany,  $\beta$ -glukany, celulóza a hemicelulóza) [5]. Malá část lepkových bílkovin se nachází právě v aleuronové vrstvě, která tvoří vrstvu mezi obalovými vrstvami a endospermem [7]. Proto tuto metodu lze využít na snížení obsahu lepkových bílkovin jak u tradičních ječných sladů, tak u škrobnatých surogátů [16].

### **Působení vysokého tlaku při rmutování**

Použitím vysokého hydrostatického tlaku (300 – 700 MPa) ve vodném prostředí lze zajistit zgelovatění škrobu za nízkých teplot, což je šetrné pro organoleptické vlastnosti piva. Navíc touto metodou se dá snížit počet mikroorganismů a zlepšuje se i filtrovatelnost piva u špatně filtrovatelných piv [45].

#### **2.1.5 Podpůrné proteolytické enzymy pro výrobu bezlepkových piv**

Při výrobě bezlepkového piva z ječného sladu je důležité, aby byl ječný slad dobře rozluštěn proteolytickými enzymy. V zrně se přirozeně vyskytuje enzym prolin-specifická peptidáza. Jedná se o endogenní enzym. Tento enzym je schopen štěpit sekvence prolaminu, které jsou pro celiaky toxické. Jedná se o sekvence PQQQLPYPQQQLPY a SQQQFPQQPFPQQP. Při upravených podmínkách klíčení (vyšší vlhkost a teplota,

delší doba klíčení) se zvyšuje aktivita tohoto enzymu. Jedná se o nový kvalitativní parametr výroby bezlepkového piva [46].

I když je slad dobře rozluštěn, je třeba ještě dodat i komerční enzymy, které přímo štěpí prolaminovou sekvenci glutamin-glutamin-prolin-fenylalanin-prolin (QQPFP). Imunochemická metoda ELISA s použitím protilátky R5 měří přítomnost QQPFP sekvence, která je toxická pro celiaky. Dle výše hladiny QQPFP peptidové sekvence lze stanovit hladinu prolaminu v dané potravíně [29]. Komerční enzym prolin-specifická endoproteáza patřící do skupiny hydroláz je izolován z *Aspergillus niger*. Je využívána ke štěpení této toxické sekvence a výsledkem je velmi snížený obsah lepkových bílkovin detekovatelných pomocí ELISA. Frakce vyvolávající imunitní odpověď u pšeničného gliadinu, ječného hordeinu či žitného sekalinu, mají společnou sekvenci aminokyselin QQPFP. V ukázce u pšeničného gliadinu v rozmezí 31 – 43 aminokyseliny je vidět, jakým způsobem enzym štěpí danou sekvenci: LGQQQP ↓ FPPQQP ↓ YPQP ↓ QPF. Tučně je vyobrazena toxická sekvence a šipky znázorňují místo rozštěpení [47]. Tento enzym je doporučeno dodávat během rmutování a optimální pH se pohybuje v rozmezí 5,0 – 8,5 a ideální teplota aktivity enzymů je 50 – 57 °C [5]. Enzym prolin-specifickou endopeptidázu lze také využít pro stabilizaci piva, který je doporučeno dávkovat již po chmelovaru [48].

### 2.1.6 Chmel

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) je víceletá, popínavá rostlina, která je řazena do čeledi konopovitých. Tato čeleď má tři druhy: chmel planý, chmel japonský a chmel otáčivý, do kterého patří poddruh chmel evropský. Tento poddruh je vyšlechtěn do mnoha odrůd a je pěstován pro výrobu piva. Pravděpodobně pochází z Číny. Pěstuje se na severní polokouli v mírném pásmu. Jedná se o dvoudomou rostlinu, ale pouze samičí rostliny mají květy, což jsou nažloutlé šupinovitě šištice o velikosti asi dvou centimetrů, které jsou využívány v pivovarnictví [49]. Chmel je uplatněn i v medicíně díky obsahu protizánětlivých látek prenylflavonoidů například xantohumulonu [18]. Chmel má jedinečné charakteristické složení dle oblasti, ve které byl vypěstován. Toho lze využít při výrobě sensoricky zajímavých piv [50].

Látky, které jsou obsaženy v chmelových šišticích, jsou důležité nejen pro organoleptické vlastnosti piva, ale i pro jeho mikrobiologickou stabilitu. Tyto látky představují

převážně pryskyřice, které jsou velmi důležité pro tvorbu hořké chuti piva. Konkrétně se jedná o  $\alpha$ -hořké kyseliny, které jsou velmi málo rozpustné ve vodě. Většinou je zastoupen humulon, adhumulon a kohumulon. Alfa-hořké kyseliny velice snadno oxidují a mění se na nespecifické měkké pryskyřice humulinony a luputriony a nespecifické tvrdé pryskyřice humulinové a hulupinové kyseliny. Tyto nespecifické měkké a tvrdé pryskyřice nejsou tolik hodnotné pro pivo. Z tohoto důvodu je chmel uchováván v temnu, chladu a za nepřístupu vzduchu [51]. Beta-hořké kyseliny představují druhou nejvíce zastoupenou frakci chmelových pryskyřic, ale není tak důležitá pro pivovarské účely jako  $\alpha$ -hořké kyseliny [17].

Další skupinou chmelových látek jsou silice. Chmelové silice dodávají pivu typické chmelové aroma. Skládají se převážně z několika set organických látek, z nichž největší podíl tvoří terpenické uhlovodíky asi ze 75 % (w/w) (monoterpenické  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, myrcen, limonen či seskviterpenické  $\beta$ -karyofylen,  $\alpha$ -humulen,  $\alpha$ -selinen,  $\beta$ -farnesen aj.). Méně zastoupenou frakcí jsou kyslíkaté látky, které tvoří asi 25 % (w/w) (metylestery vyšších mastných kyselin od C<sub>6</sub>-C<sub>11</sub> a alifatické 2-ketony, epoxidy, alkoholy) [52]. Nejmenší podíl asi 0,1 % (w/w) silic tvoří frakce sirných sloučenin (sulfidy, thioly, thioestery) [17]. Chmel obsahuje i polyfenolové látky. Ty přispívají k chuti piva (říz, hořkost). Podílejí se na tvorbě barvy piva a vzniku tříslovino-bílkovinných komplexů a přispívají tak k fyzikální stabilitě piva [49]. V chmelu se nacházejí i přirozené antioxidanty. Jedná se například o prenylflavonoidy (např. xantohumuly, izoxantohumuly), které tvoří přechod mezi chmelovými pryskyřicemi a polyfenoly. V posledních letech jsou předmětem zkoumání v oblasti lékařství, neboť byl u nich zjištěn pozitivní účinek na lidské zdraví [53].

### 2.1.7 Pivovarské kvasinky

Zkvašením mladiny vzniká mladé pivo. Bez kvasinek by tento proces nebylo možné zrealizovat. Kvasinky přeměňují monosacharidy, disacharidy, trisacharidy anaerobním kvašením na produkty: etanol, oxid uhličitý a řadu dalších sensoricky významných látek [18]. Pivovarské kvasinky mají většinou kulovitý až oválný tvar. Jsou to jednobuněčné, heterotrofní eukaryotické organizmy z říše houby (*Fungi*), oddělení vřeckovýtrusné (*Ascomycota*), pododdělení *Saccharomycotina*, třída *Saccharomycetes*, řád *Saccharomyces*, čeleď *Saccharomycetaceae*, rod *Saccharomyces* [54].

K výrobě piva lze použít typy kvasinek spodního a svrchního kvašení. Výsledkem jsou piva s různými organoleptickými vlastnostmi. Pro výrobu ležáků jsou použity kvasinky spodního kvašení *Saccharomyces pastorianus* [55]. Proces hlavního kvašení je realizován při 6 až 12 °C. Na konci procesu kvasinky flokulují a vytvářejí tím jemné vločky. Sedimentují na dně kvasné nádoby v podobě jemného kalu. Následně jsou proprány studenou vodou a mohou být použity pro další fermentaci [54].

Kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* jsou typické pro svrchně kvašená piva typu Ale, porter nebo pro pšeničná piva. Teplota hlavního kvašení je poněkud vyšší a pohybuje se mezi 16 až 25 °C. Na konci kvašení se kvasinky vznášejí a vytvářejí na povrchu hustou pěnu [56].

Vedlejší produkty kvasinek ovlivňují organoleptické vlastnosti piva. Produkují vyšší alkoholy, jako jsou alifatické alkoholy (*n*-propanol, izopropanol, 2-metylbutanol aj.) a aromatické (2-fenyletanol, tyrosol, aj.). V pivu jich bylo popsáno více jak 35. Alifatické vyšší alkoholy navozují alkoholovou a vařivou chuť piva v ústech. Aromatický vyšší alkohol 2-fenyletanol má sladké aroma a celkově přispívá k zajímavému aroma, zatímco tyrosol je nežádoucí. Další velmi podstatnou složkou jsou estery, které mají efekt ovocného/rostlinného aroma (např. kyseliny octová, mléčná, jablečná, citronová, jantarová, pyroglutamová,  $\alpha$ -ketoglutarová a  $\alpha$ -hydroxyglutarová), které vznikají při fermentaci ze základních surovin (chmel, slad). Ovlivňují kromě chuti a vůně i pH piva. Při kvašení vznikají i diketony, např. diacetyl (2,3-butadion) a 2,3-pentadion, které pivu dodávají nežádoucí máslové a mléčné aroma [57].

### 3 ROZDÍLY VE VÝROBĚ BEZLEPKOVÉHO A BĚŽNÉHO PIVA

Výroba bezlepkového piva se od výroby běžného piva může lišit již výchozí surovinami (viz kapitola 2), ale také odlišným procesem výroby. Během samotného procesu výroby extraktu (mladiny) jsou použity speciální postupy rmutování ječného sladu například s přídavkem proteolytických enzymů [3]. Technologie rmutování je optimalizována na patřičnou surovinu, u které je třeba použití specifické teploty a doby trvání [5].

#### 3.1 Výroba mladiny

##### Mletí sladu a surogátů

Před samotným rmutováním je slad včetně surogátů rozdrcen pomocí mlýnku na šrot. Před mletím se slad většinou kondiciuje, aby došlo k oddělování obalových vrstev ve větších kusech [5]. Cílem kondicionování je tedy snížit odpor mletí a získání co nejmenšího poškození pluch při mletí. Rozemleté pluchy prodlužují filtrační proces, snižují výtěžek extraktu [17].

S ohledem na různé vlastnosti surovin je třeba brát zřetel i na drcení sladu před rmutováním, které musí mít své specifické parametry dle suroviny. Při špatném nadrcení surovin se snižuje výtěžek [5].

##### Vystírání

Samotnému rmutování předchází vystírání. Šrot (sypání) je smíchán s varní vodou (hlavní nálev). Vystírka je podrobena rmutování. Probíhá ve vystírací kádi. Hlavní nálev je na začátku vystírání rozdělen na dvě části. Jedna část hlavního nálevu o teplotě 37 °C se smíchá se sladovým šrotem, aby se aktivovaly amylolytické enzymy. Druhá část hlavního nálevu (zapárka) se přidá do vystírky o teplotě okolo 80 °C. Zapařováním se docílí peptonizační teplota 50 – 52 °C [5].

Pro výrobu bezlepkového piva je vhodné během zapařování podporovat aktivitu proteolytických a cytolytických enzymů, což vede k degradaci obalových vrstev škrobu a lepšímu zpřístupnění škrobu pro amylolytické enzymy. Pro výrobu běžného i bezlepkového piva, pokud jsou dobře rozluštěny slady, je vhodný tento postup vystírání (teplé vystírání) [17]. Při smíchání sladu s vodou již dochází k postupnému uvolňování jednotlivých

látek do roztoku [18]. Pro zachování co nejdélejší aktivity proteolytických enzymů jsou vhodné husté rmuty [5].

Je důležité dodržovat optimální pH, kvůli zajištění správné aktivity enzymů [29]. Optimální pH rmutů se pohybuje okolo 5,4 až 5,5. U mladiny je pH 5,2. Nižší pH u rmutů a mladin podporuje enzymatické reakce a intenzivní štěpení vysokomolekulárních látek. Pro snížení pH se přidává kyselina mléčná nebo se používají kyselé (proteolytické) slady [5].

### **Rmutování**

Cílem rmutování je převést extrakt rozpustných látek ze sladu nebo surogátů do vodného roztoku. Během rmutování působí amylolytické a proteolytické enzymy. Existuje řada různých technologických postupů rmutování (jednormutový, dvourmutový, třirmutový dekokční postup a infuzní postup) [43]. Dekokční postupy rmutování jsou typické postupným povařením dílčích rmutů na technologicky důležité teploty [18]. V Evropě se používá většinou dvourmutový dekokční proces. Ten je typický pro spodně kvašená piva typu ležák [43].

Vlastnosti hotového piva jsou ovlivněny výrazným způsobem během rmutovacího procesu. Rozdílné podmínky během rmutování (teplota a doba výdrže) ovlivňují barvu mladiny [58]. Při výrobě běžných piv u dvourmutového dekokčního procesu jsou nastaveny technologické podmínky (postupná zahřívání, dané teploty, doby zahřívání aj.), které se mohou lišit a upravovat dle stavu rozluštění sladu, hustotou vystírky a jiných aspektů [17]. Při výrobě bezlepkových piv jsou během rmutování převážně upravovány teploty vyhřívání, doby prodlev či doba celkového rmutování. Tyto úpravy jsou rozdílné na základě různých druhů sladů (slady z náhražek, slady s přidáním náhražek či slady z vhodných odrůd ječmene) [5]. Během povaření rmutu zkoaguluje část bílkovin, které se následně odejmou při scezování. Výsledkem je tak nižší obsah lepkových bílkovin ve sladině [58].

Infuzní rmutování je specifické pro svrchně kvašená piva typu Ale a je vhodné pro dobře rozluštěné slady. U tohoto typu nedochází k postupnému povaření rmutů, ale k celému ohřátí díla na odřmutovací teplotu [59]. Během infuzního rmutování působí dlouhodobě sladové enzymy bez povařování rmutů. Tento postup lze využít při výrobě bezlepkových piv, při které došlo k přidání škrobnatých surogátů a použití komerčních enzymů. Teplota vystírky na začátku infuzního rmutování je okolo 35 až 50 °C. Pro velmi dobře

rozluštěné slady je používána teplota vyšší. Následuje 30 minutová proluka, během které jsou štěpeny bílkoviny, následně je dílo vyhřáto na 62 až 65 °C a znovu následuje 30 minutová proluka. Po této proluce je dílo vyhřáto na teplotu 70 až 72 °C. Tato teplota trvá až do dokonalého zcukření. Následně se dílo vyhřeje na odmutovací teplotu 78 °C [5].

### Scezování sladiny

Scezování je fyzikální proces, kdy dochází k filtraci pevných částic z extraktu a probíhá na scezovací kádi [60]. Scezování je prováděno ve dvou fázích. V první fázi jsou odděleny pevné zbytky (mláto) od suspenze pomocí filtrace. Vzniká tzv. předek. V druhé fázi probíhá vylouhování mláta horkou vodou (vyslazování). Vzniká zředěná sladina (výstřelky) [17]. Technologie scezování je během výroby běžného či bezlepkového piva nejvíce ovlivněna použitím různých druhů náhražek, kvalitou sladu, mírou degradace vysokomolekulárních látek aj. [5].

### Chmelovar

Ve chmelovaru je předek společně s výstřelky vařen s přidavkem chmelu. Tímto krokem se převedou hořké látky, aroma a chuť chmele do sladiny [50]. Chmelovar se provádí na mladinové pánvi. Doba varu se na mladinové pánvi s ohřevným dnem pohybuje v rozmezí 90 – 120 minut. Dochází k odparu vody okolo 8 – 10 %. Důležitým faktorem při chmelovaru je pokles pH o 0,15 – 0,25 z důvodu tvorby melanoidinů. Melanoidiny jsou považovány za reduktory, které chrání pivo před oxidací. Pokles pH pozitivně ovlivňuje srážení bílkovin. Vysrážení bílkovin v chmelovaru je dalším přirozeným snížením lepkových bílkovin v konečném produktu [5].

Při tepelném záhřevu vznikají produkty Maillardových reakcí, které vytvářejí starou chuť piva, proto je důležité sledovat tepelné zatížení mladiny a korigovat ho [17]. Během procesu dochází k izomeraci  $\alpha$ -hořkých kyselin z šestiuhlíkatého jádra na pětiuhlíkaté. Díky tomu jsou  $\alpha$ -hořké kyseliny rozpustné i ve studené mladině. Vyprchávají nežádoucí těkavé látky. Příkladem je dimetyl sulfid, který dává pivu nepříjemnou zeleninovou chuť. Veškeré zbylé aktivní enzymy a mikroorganismy jsou v tomto kroku inaktivovány a dochází ke stabilizaci piva [61]. Na základě dostupných zdrojů v této fázi výroby nejsou patrné žádné rozdíly v procesu výroby piva běžného a bezlepkového.

### Zpracování mladiny před zakvašením

Horká mladina je čerpána do různých zařízení (vířivá kád', chladicí stoky, sběrače kalů, odstředivky), kde dochází k filtraci a separaci kalů. Kaly představují vysrážené bílkoviny, zbytky chmelu nebo sladu [18]. Existují hrubé a chladové (jemné) kaly. Separace hrubých kalů probíhá pomocí sedimentace, rotační sedimentace, odstředování a filtrace. Horkou mladinu je třeba zchladit na teplotu 8 °C u spodně kvašených typů, kvůli následnému přidání kvasinek. Během tohoto zchlazení vypadávají chladové kaly [17]. K separaci chladových kalů je využívána technologie flotace mladiny, kdy se přesycuje vzduchem. Další možností je využití filtrů s křemičitým gelem nebo na použití polyamidových látek [5].

Látky na bázi polyamidů zachytávají polyfenoly. Křemičitý gel úspěšně zachytává dusíkaté látky. Zachycené bílkoviny jsou v nejčastější míře prolin a glutamin, což jsou lepkové bílkoviny. Tímto způsobem se snižuje obsah lepkových bílkovin v pivo a zároveň je pivo stabilizováno. Křemičitý gel musí mít adekvátní pórovitost danou pro příslušné bílkoviny, aby byl úspěšný stabilizační účinek [48].

## 3.2 Výroba piva

Zchlazená mladina je přečerpána do spilky nebo do cylindrokónických tanků (CKT), kde probíhá kvašení. Mladinu je třeba dostatečně provzdušnit sterilním vzduchem, aby byl optimálně nastartován metabolismus kvasinek. Takto provzdušněná mladina obsahuje okolo 7 – 10 mg/l kyslíku. Provzdušňuje se pouze během zakvašování [17]. Většinou se kvasinky do mladiny dávají v podobě řídké suspenze v množství 0,5 l na 100 hl. V jednom mililitru mladiny je zhruba 10 milionů buněk kvasinek [18].

Dříve probíhalo hlavní kvašení v otevřených spilkách. Nevýhodou byla možná kontaminace a produkce CO<sub>2</sub> do prostředí, který je nebezpečný pro obsluhu. CO<sub>2</sub> je těžší než vzduch a drží se při zemi, proto bylo dříve nutné ventilovat místnost u podlahy. Moderní technologie vyžadují kvašení v uzavřených velkoobjemových tancích různých tvarů. Nejčastěji se používají tanky cylindrokónického tvaru z nerezů [5]. Odtud je jímán vzniklý CO<sub>2</sub>, který je přečištěn a použit na odstraňování vzdušného kyslíku ve výrobě nebo slouží k jiným účelům [18].



Během hlavního kvašení probíhají metabolické procesy, kdy se přeměňují zkvasitelné cukry na alkohol a CO<sub>2</sub> a vznikají díky činnosti kvasinek i další organolepticky důležité látky ovlivňující chuť [57].

Hlavní kvašení trvá okolo 6 dnů a během prvních 6 – 10 hodin je spotřebován kyslík. Mezi 8 – 16 hodinami se začínají objevovat první bubliny CO<sub>2</sub>. Většinou do 24 hodin se objeví viditelná pěna na povrchu mladiny [62]. Pěna se soustřeďuje uprostřed od stěn z důvodu proudící kvasící mladiny. Toto stadium se nazývá zaprašování a odrážení [17]. Mezi 24 – 48 hodinami dochází k nejintenzivnějšímu kvašení a tvoří se hustá pěna [62]. Během třetího a čtvrtého dne se mění bílá pěna na lehce hnědou až hnědou z důvodu poklesu pH na 4,4 a do pěny jsou vynášeny kaly a mrtvé kvasinky. V CKT je snižován obsah kalů většinou pomocí dekantérů. Zabraňuje se takto zpětnému rozpouštění a zhoršení kvality piva. Kvasinky aglutinují a sedimentují na konci hlavního kvašení na dně CKT [17].

Oproti klasickému postupu, kdy jsou kvasinky odpouštěny až po ukončení hlavního kvašení, jsou kvasinky v CKT a velkoobjemových kvasných nádobách jsou odtahovány (odstřelovány) během průběhu hlavního kvašení. První odtažení probíhá těsně před začátkem zchlazení piva. Odtahování pokračuje i během dokvašování piva v intervalu tří až pěti dnů. Poslední odtažení je provedeno před ukončením dokvašování a tažením piva na filtraci. Tento proces je prováděn během kvašení z důvodu, aby se předešlo v CKT autolýze kvasinek působením vysokého hydrostatického tlaku. Kvasinky jsou ve výrobě použity znovu maximálně třikrát až pětkrát. Při klasickém výrobním postupu jsou použity vícekrát. Takto nízké použití je preventivním opatření proti zhoršenému fyziologickému stavu buněk vlivem vysokého hydrostatického tlaku v CKT [5].

U kvašení piv typu Ale se používají kvasinky svrchního kvašení *Saccharomyces cerevisiae*, které vyžadují vyšší zákvasnou teplotu okolo 15 – 18 °C. Maximální teplota kvašení se pohybuje mezi 25 až 28 °C. Minimálně 1/3 kvasné nádrže je třeba zachovat prázdnou pro tvorbu pěny [17]. Na konci kvašení se kvasinky svrchního kvašení shlukují u hladiny mladého piva. Kvašení u tohoto typu piva trvá okolo 3 dnů z důvodu vyšší teploty a přístupu vzduchu [62].

Během kvašení se snižuje obsah dusíkatých látek a v mladém pivu je snížen obsah v průměru o 30 mg/l oproti zakvašované mladině. Nízkomolekulární dusíkaté látky jsou spotřebovávány kvasinkami na stavbu nových tkání a vysokomolekulární dusíkaté látky jsou během hlavního kvašení vylučovány vlivem snížení pH, adsorpci na kvasinky a bub-

linky CO<sub>2</sub> a sedimentují společně s kvasinkami na dně kvasných nádob nebo tvoří společně s odumřelými kvasinkami deku. Tímto krokem je dále snížen obsah lepkových bílkovin v konečném pivu [5].

### **Dokvašení**

Mladé pivo po hlavním kvašení je přečerpáno do ležáckých tanků, kde pivo dokvašuje na začátku při teplotě 4 – 6 °C a postupně je teplota snižována. Pivo zraje při stabilní teplotě okolo 0 – 3 °C a dotváří se zde organoleptické vlastnosti, sytí se CO<sub>2</sub> díky přetlaku 0,2 MPa v ležáckém tanku. Následně je zde pivo vyčeřeno a zbytek kalů sedimentuje na dno. Každé pivo má svoji dobu zrání a ta se může lišit v rámci 1 až 10 týdnů [17].

### **Filtrace a stáčení**

Zralé pivo je čerpáno z ležáckých tanků do přetlačných tanků, kde je pivo uchováno a následně je stáčeno do sudů KEG nebo je lahvováno [18]. Než se dostane do přetlačného tanku, tak je zfiltrováno pomocí křemelinového filtru. Tím se oddělí zákalotvorné látky, zbytky kvasinek a bakterií. Zbylé bílkoviny se ještě jednou zde filtrují a zachytávají se, čímž se opět snižuje obsah lepku v pivu [5]. Výsledkem je stabilní pivo v obalu po dobu několika měsíců a netvoří se zde zákaly. Pivo se může také pasterovat, aby byla prodloužena doba trvanlivosti [18].

## 4 DOSTUPNOST BEZLEPKOVÝCH PIV V TRŽNÍ SÍTI V ČESKÉ REPUBLICE A VE SVĚTĚ

### 4.1 Legislativní rámec

Codex Alimentarius (CA) je mezinárodní organizace, jejímž cílem je vypracování mezinárodních sjednocených norem, které definují jednotlivé potraviny a mají za úkol chránit zdraví spotřebitele. Normy vydané CA nejsou právně závazné, ale jsou postaveny na základě vědeckých studií a Evropská Unie tato ustanovení používá jako základ pro své vlastní normy [63]. Například v roce 1983 vydal Codex Alimentarius standard stanovení 0,05 g/100 g celkových bílkovin v potravině speciálně vyrobené pro bezlepkovou dietu v Irsku. V roce 2007 bylo vydáno v Irsku novější nařízení, které udává maximální obsah lepku 20 mg/kg potraviny ve stavu, kdy je prodávána konečnému spotřebiteli, aby mohla být brána jako bezlepková [64]. Evropská komise vydala NAŘÍZENÍ KOMISE č. 41/2009 ze dne 20. ledna 2009 o složení a označování potravin vhodných pro osoby s nesnášenlivostí lepku, kde je pevně dán maximální limit obsah lepku 20 mg/kg potraviny ve stavu, kdy je prodávána konečnému spotřebiteli, aby mohla být potravina označena „Bez lepku“ [2]. Tímto nařízením byla nahrazena vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 54/2004 Sb. o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich využití z roku 2004 [14].

## 4.2 Bezlepková piva ve světě a v České republice

Každý národ má své specifické požadavky na chuť piva. To samé platí i o bezlepkovém pivu. Proto lze najít v různých koutech světa rozdílná bezlepková piva chutí, vůní, barvou, obsahem alkoholu, způsobem výroby či použitím rozdílných surovin. V Americe se nachází řada pivovarů, které produkují bezlepková piva. Jedná se o giganty ve svém oboru, ale existují zde i minipivovary, které se zabývají problematikou výroby bezlepkového piva. Mezi prvními výrobci bezlepkových piv v USA patří značka Omission. Toto bezlepkové pivo je vyráběno z ječného sladu, kvasnic, vody a chmele. Jedná se o ležák. V průběhu kvašení je do kvasného tanku přidán enzym BrewersClarex. Díky tomu je obsah lepku nižší než 20 mg/kg. Pivo Omission je na trhu od roku 2012 [65].



*Obrázek 1 Bezlepkové pivo vyráběno v USA s obsahem max. 20 mg/kg lepku, výrobce Omission [65].*

Bezlepková piva ze 100% bezlepkových surovin vyrábí v USA mimo jiné i společnost New Planet Brewery. Jako surogáty tento výrobce používá čirok, přírodní rýži a maltodextrin. Pro ochucení piva výrobce používá pomerančové kůry a maliny, čímž je rozšířen sortiment produktů pro koncové zákazníky v obchodech [66].



Obrázek 2 Bezlepkové pivo v USA, výrobce New Planet Brewery [67].

V USA lze najít i produkty, které jsou vyrobeny z jednoho druhu surogátu. V případě společnosti Bard's se jedná o pivo vyrobené ze 100% sladu čiroku [68].



Obrázek 3 Bezlepkové pivo vyrobené ze 100% sladu z čiroku [68].

Sortiment 100% bezlepkových piv je poměrně různorodý i v Kanadě. Tato piva jsou vyráběna z prosa, kukuřice, demerara (přírodní třtinový cukr), merlíku, pohanky, kaštanů a melasy. Kombinací těchto používaných surogátů vzniká celá řada výrobků s rozdílnou chutí. Díky tomu má spotřebitel k dispozici široký sortiment bezlepkového piva, které je vyrobeno ze 100 % surogátů [69].



Obrázek 4 Bezlepkové pivo vyrobené ze 100% bezlepkových surovin v Kanadě [69].

Oproti Americe, kde je pivo vyráběno většinou z bezlepkových surovin, jsou evropská piva vyráběna převážně z ječných sladů, a přesto se mohou považovat za bezlepková díky speciálním postupům během výroby. V zemích Evropské Unie platí od roku 2009 nařízení o maximální hodnotě 20 mg/kg lepku v potravine, aby se potravina mohla nazývat „Bez lepku“. Tímto nařízením se musí řídit všechny členské státy. Ve Španělsku v roce 2006 bylo uvedeno první bezlepkové pivo na světě pod názvem DammDaura. Výrobek Daura má hladinu lepku 3 mg/kg. Na etiketě je logo s přeškrtnutou obilkou symbolizující „Bez lepku“, což je symbol certifikátu, který výrobek Daura obdržel od mezinárodní organizace Coeliac UK [70].



*Obrázek 5 První bezlepkové pivo ve světě DauraDamm [70].*

Svrchně kvašená piva typu Ale jsou typická především v Belgii. Nyní se trend výroby svrchně kvašených piv typu Ale zvyšuje i v jiných státech EU. Například britská společnost Green's produkuje bezlepková piva z tradičních surovin s upraveným ječným sladem, u kterého je snížen obsah lepku. Lidé trpící celiakií mají k dispozici široký sortiment bezlepkových piv v Belgii a to nejen bezlepková piva typu Ale. Zákazníci mohou v sortimentu v Belgii i najít piva vyráběna převážně z bezlepkových surovin (proso, pohanka, rýže aj.) [71].



*Obrázek 6 Zleva: Bezlepkové pivo typu Ale, bezlepkové pivo typu Ale tmavé; bezlepkové pivo z bezlepkových surovin (proso, pohanka, rýže aj.) [71].*



V evropských zemích je převážně zvyšující se trend výroby bezlepkových piv. Například v Německu vznikají nové produkty tradičních značek jako je nové bezlepkové pivo Carlsberg [72].

Na severu Evropy ve Švédsku vyrábí společnost Carlsberg Breweries bezlepkový ležák Saxon. Tento ležák je vyráběn z běžných surovin (voda, ječný slad, chmel, kvasinky). Jako surogát je zde použit škrob. Má autentickou chuť ležáku. Technologie výroby byla optimalizována na co největší snížení lepkových bílkovin v konečném produktu [73].



*Obrázek 7 Švédský  
bezlepkový ležák  
Saxon [72].*

Nabídka piva na trhu je stále dostupnější zákazníkovi a sortiment bezlepkových piv se stále rozšiřuje a lze bezlepkové pivo najít většinou v obchodních supermarketech. Dříve se jednalo spíše o specializované obchody pro celiaky. V České republice se nachází dva pivovary, které vyrábějí produkty typické pro českého spotřebitele. Jedná se o bezlepková piva typu ležák, která jsou vyráběna ze sladového ječmene a obsah lepkových bílkovin je upravován pomocí enzymů a speciálních postupů. Jedná se o pivo Celia z Žateckého pivovaru a o bezlepkový ležák vyráběný v Rodinném pivovaru Bernard [74, 75].



*Obrázek 8 Zleva: Bezlepkové pivo Celia, Bezlepkový ležák Bernard [74, 75].*

## ZÁVĚR

Bezlepkové pivo lze vyrobit několika způsoby:

- Absolutní náhražka ječného sladu pomocí surogátů (kukuřice, rýže, pohanka, proso, čirok, oves, merlík, čekanka, aj.). V tomto případě má bezlepkové pivo naprosto jiné organoleptické vlastnosti ve srovnání s běžným pivem. Především se jedná o jinou barvu, špatnou pěnivost, odlišnou chuť, aj. Tyto vlastnosti jsou odvíjeny dle použití suroviny.
- Částečná náhrada ječného sladu pomocí surogátů. Většinou u této metody je ječný slad nahrazován do 10 % sypání, což nikterak neovlivňuje vlastnosti piva a nemusí se upravovat technologie výroby. Lze nahrazovat i 20 % nebo 30 % sypání, což ale může způsobovat již problémy během výroby. Proto se musí upravovat postup výrobních technologií a je potřeba přidávat popřípadě komerčně vyráběné podpůrné enzymy, které dokážou štěpit prolaminovou sekvenci. Bezlepkové pivo vyrobené touto cestou může mít podobné organoleptické vlastnosti běžnému pivu, ale také se může lišit kvalita pěny či různá barva piva. Všechny tyto aspekty závisejí na druhu používaného surogátu a použitého množství surogátu.
- Použití ječných sladů, které byly vyrobeny ze speciálních odrůd ječmene s nízkým obsahem dusíkatých látek. U této metody je upraven postup sladování a je upravena i část výroby piva (mletí, vystírání, rmutování, aj.). Během výroby může být přidáván komerčně vyráběný enzym prolin-specifická peptidáza. Při jednotlivých krocích výroby je systematicky snižován obsah lepkových bílkovin až pod hranici 20 mg/kg. Organoleptické vlastnosti takto vyrobeného piva se shodují s vlastnostmi běžných piv. Pro českého spotřebitele je toto důležitým faktorem, neboť český spotřebitel je převážně zvyklý na ležák a právě takto vyrobené pivo splňuje dané požadavky.

Během pivovarského postupu je snižování obsahu lepkových bílkovin běžně se vyskytujícím jevem. Většinou je ale obsah lepkových bílkovin kolísavý a nejednoznačný, mnohdy překračuje povolené limity udávané vyhláškou, a proto je třeba vyrábět bezlepkové pivo s určitými úpravami, které mají kontrolovaný obsah lepkových bílkovin. Díky tomu může být takto vyrobené pivo bráno jako bezlepkové.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] DVOŘÁK, MILOŠ. Celiakie-refrakterní formy. *Postgraduální medicína*. 2014, roč. 15, s. 53. ISSN 1212-4184.
- [2] Nařízení komise (ES) č. 41/2009 ze dne 20. ledna 2009 o složení a označování potravin vhodných pro osoby s nesnášenlivostí lepku. *Úřední věstník Evropské unie*. 2009, s. 1-3.
- [3] BASAŘOVÁ, G. a kol. Sladařství. Teorie a praxe výroby sladu. Havlíček Brain Team. 2015. Vyd. 1, s. 151, 154 – 155, 211 – 241, 243 – 298, 305, 372, 392. ISBN 978-80-87109-47-2.
- [4] GUANDALINI, S. a I. POLANCO. Nonceliac Gluten Sensitivity or Wheat Intolerance Syndrome? *The Journal of Pediatric*. 2014, roč. 166, s. 805 – 811. ISSN 0022-3476.
- [5] BASAŘOVÁ, G., J. ŠAVEL, P. BASAŘ a T. LEJSEK. Pivovarství. Teorie a praxe výroby piva. VŠCHT Praha, 2010. Vyd. 1, s. 19 – 21, 29 – 35, 100, 118 – 133, 137 – 162, 179, 206 – 223, 349 – 407, 430 – 477. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [6] DOSTÁLEK, P., I. HOCHEL a P. HULÍN. Metody stanovení lepkových bílkovin v potravinách. *Chemické listy*. 2008, roč. 102, s. 327 – 337. ISSN 1213-7103.
- [7] DOSTÁLEK, P., J. DVOŘÁK a P. HULÍN. Alergeny v pivu. *Kvasný průmysl*. 2010, roč. 56, s. 105 – 108. ISSN 0023-5830.
- [8] PROKEŠOVÁ, JITKA. Celiakie- opomíjená diagnóza. *Nemocniční listy - Fakultní nemocnice Brno*. 2014, roč. 15, s. 11 – 12. ISSN 1802-0224.
- [9] PIETZAK, M.M. a A. FASANO. Celiac Disease: A New Paradigm of an Immune-Mediated Disorder Due to Dietary Gluten. *Reviews in Food and Nutrition Toxicity*. 2005, roč. 3, s. 2 – 3. ISBN 978-1-4200-3753-1.
- [10] KOHOUT, PAVEL. Diagnostika a léčba celiakie. *Interní medicína pro praxi*. 2006, roč. 8, s. 324 – 326. ISSN 1212-7299.
- [11] PÍSKOVSKÁ, MARTA. Celiakie – projevy mimo gastrointestinální trakt v dospělosti. *Medicína pro praxi*. 2011, roč. 8, s. 333. ISSN 1803-5310.
- [12] LATTA, JIŘÍ. Celiakie- od screeningu k diagnóze. *Interní medicína pro praxi*. 2012, roč. 13, s. 221-223. ISSN 1803-5256.
- [13] SCHAEFER, J.JOEL. Serving People with Food Allergies. Kitchen Management and Menu Creation. *CRC Press*. 2011, s. 71 – 100. ISBN 978-1-4398-2804-5.

- [14] Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb., kterou se provádí §18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí. Oddíl 3, § 8. [online]. [cit. 2016-4-4]. Dostupné z: [www.zakonyprolidi.cz](http://www.zakonyprolidi.cz)
- [15] HASÍK, TOMÁŠ. Svět piva a piva svět. Grada Publishing a. s. 2013. Vyd. 1, s. 7 – 28. ISBN 978-80-247-8613-1.
- [16] DONKELAAR, L. H. G., T. R. NOORDMAN, R. M. BOOM a A. J. GOOT. Pearling Barley to Alter The Composition of The Raw Material Before Brewing. *Journal of Food Engineering*. 2015, roč. 150, s. 44 – 49. ISSN 0260 – 8774.
- [17] KOSAŘ, K., S. PROCHÁZKA a kol. Technologie výroby sladu a piva. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. Praha. 2000. Vyd. 1, s. 61 – 62, 73, 93 – 126, 141 – 148, 161 – 163, 199 – 203, 211 – 213, 239. ISBN 80-902658-6-3.
- [18] ŠAVEL, JAN. „Technologie výroby piva.“ MZLU v Brně. 2010, s. 3 – 13.
- [19] NEISER, J. a kol. Základy chemických výrob. Státní pedagogické nakladatelství Praha. 1987, s. 253.
- [20] MÜLLEROVÁ, D. a kol. Hygiena, preventivní lékařství a veřejné zdravotnictví. Karolinum Press. 2014. Vyd. 1, s. 102, 181 – 192. ISBN 978-80-246-2510-2.
- [21] CEJPEK, KAREL. Vonné a chuťové složky sladů. *Chemické listy*. 2014, roč. 108, s. 426 – 435. ISSN 1213-7103.
- [22] PSOTA, V., O. DVOŘÁČKOVÁ, L. SACHAMBULA a M. NEČAS. Odrůdy ječmene registrované v České republice v roce 2014. *Kvasný průmysl*. 2014, roč. 60, s. 114 – 122. ISSN 0023-5830.
- [23] PSOTA, V., O. DVOŘÁČKOVÁ a L. SACHAMBULA. Odrůdy ječmene registrované v České republice v roce 2010. *Kvasný průmysl*. 2010, roč. 56, s. 270 – 276. ISSN 0023-5830.
- [24] QUIDO, F. L. a M. M. MOREIRA. Malting. CRC Press. 2013, s. 51 – 68. ISBN 978-1-4398-8702-8.
- [25] JANOUŠEK, J. a G. BASAŘOVÁ. Význam aminokyselin v technologii a kvalitě piva. *Kvasný průmysl*. 2000, roč. 46, s. 314 – 318. ISSN 0023-5830.
- [26] PALMER, H. GEOFFREY. Barley and Malt. CRC Press. 2006. Vyd. 2, s. 151. ISBN 978-08247-2657-7.

- [27] KLOSE, CH., A. MAUCH, S. WUNDERLICH, F. THIELE, M. YARNKOW, F. JACOB a E. A. ARENDT. Brewing with 100% Oat Malt. *Journal of The Institute of Brewing*. 2011, roč. 117, s. 411 – 421. ISSN 2050 – 0416.
- [28] TAYLOR, JOHN. R. N. Fermented Foods. Beverages from Sorghum and Millet. Academic Press. 2003. Vyd. 2, s. 2352 – 2359. ISBN 978-0-12-227055-0.
- [29] HAGER, A. S., J. P. TAYLOR, D. M. WATERS a E. K. ARENDT. Gluten Free Beer- A Review. *Trends in Food Science & Technology*. 2014, roč. 36, s. 44 – 54. ISSN 0924- 2244.
- [30] STEWART, G.GRAHAM. Adjuncts. CRC Press. 2006. Vyd. 2, s. 161 – 175. ISBN 978-1-4200-1517-1.
- [31] PELEMBE, L. A. M., J. DEWAR a J. R. N. TAYLOR. Effect of Germination Moisture and Time on Pearl Millet Malt Quality- With Respect to Its Opaque and Lager Beer Brewing Potential. *Journal of The Institute of Brewing*. 2004, roč. 110, s. 320 – 325. ISSN 2050 – 0416.
- [32] MAYER, H., D. CECCARONI, O. MARCONI, V. SILEONI, G., PERRETTI a P. FANTOZZI. Development of an all Rice Malt Beer: A Gluten Free Alternative. *LWT- Food Science and Technology*. 2016, roč. 67, s. 67 – 73. ISSN 0023-6438.
- [33] BAMFORTH, W. CHARLES. Brewing, New Technologies. CRC Press. 2006. Vyd. 1, s. 53 – 54. ISBN 978-0-8493-9159-0.
- [34] MEO, B. D., G. FREEMAN, O. MARCONI, C. BOOER, G. PERRETTI a P. FANTOZZI. Behavior of Malted Cereals and Pseudo-Cereals for Gluten Free Beer Production. *Journal of The Institute of Brewing*. 2011, roč. 117, s. 541 – 546. ISSN 2050 – 0416.
- [35] ALEMAYEHU, F.R., M.A. BENDEVIS a S. E. JACOBSEN. The Potencial for Utilizing the Seed Crop Amaranth (*Amaranth usspp.*) in East Africa as an Alternative Crop to Support Food Security and Climate Change Migration. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2015, roč. 201, s. 321 – 329. ISSN 0931-2250.
- [36] BUREŠOVÁ, I. a E. LORENCOVÁ. Výroba potravin rostlinného původu, Zpracování obilovin. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 2013, s.79 – 88. ISBN 978-80-7454-278-7.
- [37] HERMUTH, J., D. JANOVSÁ, Z. STRAŠIL, S. UŠŤAK a J. HÝSEK. Čirok obecný, *Sorghum bicolor* (L.) možnosti využití v podmínkách České republiky. Výzkumný ústav rostlinné výroby. 2012, s. 26 – 31. ISBN 978-80-7427-093-2.

- [38] SKLÁDANKA, JIŘÍ. Kukuřice setá, *Zea mays* L. Ústav výživy zvířat a pícninářství MZLU v Brně. 2006. Dostupné z: [www.web2.mendelu.cz](http://www.web2.mendelu.cz).
- [39] *Kukuřice setá (Zea mays (L))* [online]. České Budějovice [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: [http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/Kukurice\\_seta.htm](http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/Kukurice_seta.htm)
- [40] SOCHA, P., A. RAŽDÍKOVÁ a D. URMINSKÁ. Optimilizácia stanoveni a prítomnosti celiakálne aktívnych bielkovín v cereáliách a pseudocereáliách. *Potravinárstvo*. 2010, roč. 4, s. 497 – 508. ISSN 1337-0960.
- [41] BAVEC, F. a M. BAVEC. Organic Production and Use of Alternative Crops. CRC Press. 2006. Vyd. 2, s. 65 – 107. ISBN 978-1-57444-617-3.
- [42] DOSTÁLEK, P., D. GABROVSKÁ, J. RYSOVÁ a kol. Determination of Gluten in Glucose Syrup. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009, roč. 22, s. 762 – 765. ISSN 0889-1575.
- [43] EATON, BRIAN. An Overview of Brewing. CRC Press. 2006. Vyd. 2, s. 77 – 89. ISBN 978-0-8247-2657-7.
- [44] BATHAM, J. G. K. SHARMA, M. A. KHAN a T. GOVINDARAJ. Effect of Micronisation on Properties of Buckwheat Seed (*Fagopyrum esculentum*). *International Journal of Agriculture and Food Science*. 2013, roč. 3, s. 22 – 27. ISSN 2249 – 8516.
- [45] BUZRUL, SENCER. High Hydrostatic Pressure Treatment of Beer and Wine: A Review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2012, roč. 13, s. 1 – 12. ISSN 1466 – 8564.
- [46] KERPES, R., V. KNORR, S. PROCOPIO, P. KOEHLER a T. BECKER. Gluten-specific Peptidase Activity of Barley as Affected by Germination and Its Impact on Gluten Degradation. *Journal of Cereal Science*. 2016, roč. 68, s. 93 – 99. ISSN 0733 – 5210.
- [47] ZANDYCKE, VAN, SYLVIE. Gluten- Reduced Beers Made with Barley. *The New Brewer*. 2013, roč. 33, s. 80 – 84. ISSN 0741- 0506.
- [48] DOSTÁLEK, P., B. KOTLÍKOVÁ, J. FIALA, L. JELÍNEK, Z. ČERNÝ, B. ČÁSENSKÝ a J. MIKULKA. Stabilizační prostředky pro zvýšení koloidní stability piva. *Kvasný průmysl*. 2011, roč. 57, s. 290 – 295. ISSN 0023 – 5830.
- [49] ROBERTS, T.R. a R.J.H WILSON. Handbook of Brewing. Hops. Taylor&Francis Group. 2006. Vyd. 2, s. 177 – 279. ISBN 978-0-8247-2657-7.

- [50] PAPAŽIAN, CHARLES. Handbook of Brewing. Beer Styles: Their Origins and Classification. Taylor&Francis Group. 2006. Vyd. 2, s. 39 – 75. ISBN 978-0-8247-2657-7.
- [51] *Chmel a chmelové výrobky* [online]. Praha: VŠCHT [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://uprt.vscht.cz/ucebnice/mb/MB43-v2.HTM>
- [52] KROFTA, K. a J. ČEPIČKA. Stanovení chmelových silic metodou mikroextrakce na tuhou fázi (SPME). *Kvasný průmysl*. 2000, roč. 46, s. 235 – 241. ISSN 0023-5830.
- [53] KROFTA, KAREL. Obsah prenylovaných flavonoidů chmele v českých a zahraničních pivech. *Kvasný průmysl*. 2010, roč. 56, s. 2 – 8. ISSN 0023-5830.
- [54] KOPECKÁ, J., D. MATOULKOVÁ a M. NĚMEC. Kvasinky a jejich využití. *Kvasný průmysl*. 2012, roč. 58, s. 326 – 335. ISSN 0023-5830.
- [55] *Výzkumný ústav pivovarský a sladařský* [online]. [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: [http://beerresearch.cz/index.php?option=com\\_content&view=article&id=47%3Asba-kvasinek&catid=99%3Avyzkum-obecne&Itemid=110&lang=cs](http://beerresearch.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=47%3Asba-kvasinek&catid=99%3Avyzkum-obecne&Itemid=110&lang=cs)
- [56] MUSSATTO, S. I. a kol. Beer. CRC Press. 2013, s. 429 – 444. ISBN 978-1-4398-9545-0.
- [57] WILLAERT, RONNIE. Biochemistry and Fermentation of Beer. CRC Press. 2005, s. 14. ISBN 978-0-8493-9847-6.
- [58] ENGE, J., P. ŠEMÍK, J. KORBEL, J. ŠROGL a M. SEKORA. Technologické aspekty infuzních a dekokčních způsobů rmutování. *Kvasný průmysl*. 2005, roč. 51, s. 158 – 165. ISSN 0023 – 5830.
- [59] LEIPER, K.A. a M. MIEDL. Brewhouse Technology. CRC Press. 2006. Vyd. 2, s. 383 – 445. ISBN 978-0-8247-2657-7.
- [60] LENZ, B. a H. HERRMANN. Scezovací kád' nové konstrukce. *Kvasný průmysl*. 1992, roč. 38, s. 6. ISSN 0023-5830.
- [61] BARNES, C.ZANE. Brewing Process Control. CRC Press. 2006. Vyd. 2, s. 447 – 486. ISBN 978-0-8247-2657-7.
- [62] MUNROE, H. JAMES. Fermentation. CRC Press 2006, Vyd. 2, s. 487 – 524. ISBN 978-0-8247-2657-7.
- [63] *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2012 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z:



<http://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/codex-alimentarius-zakladni-informace.aspx>

- [64] Food Safety Authority of Ireland. *Gluten-Free-Foods*. Dublin. 2008, s. 33. ISBN 1-904465-56-0.
- [65] *Omission* [online]. Portland (USA): Omission Beer, 2016 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://omissionbeer.com/>
- [66] GOLD, ELIZABETH. *Gluten-free Beer. Boulder County Business Report*. 2010, roč. 29, s. 10. ISSN 1528-6320.
- [67] *New Planet Brewery* [online]. USA: New Planet Beer, 2015 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.newplanetbeer.com/>
- [68] *Bard's* [online]. USA [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.bardsbeer.com/>
- [69] *Glutenberg* [online]. Kanada: Brasseurs Sans Gluten, 2013 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <https://glutenberg.ca/en>
- [70] *Damm* [online]. Španělsko: S. A. Damm, 2009 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: [http://damm.es/wps/portal/webdamm?WCM\\_GLOBAL\\_CONTEXT=/wps/wcm/connect/migratewcm\\_1/WebPublica/Aguas](http://damm.es/wps/portal/webdamm?WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/migratewcm_1/WebPublica/Aguas)
- [71] *Greens gluten free beers* [online]. Anglie: Cooper, 2016 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://glutenfreebeers.co.uk/en/page/index.html>
- [72] *Carlsberg Group* [online]. Německo [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.carlsberggroup.com/Pages/default.aspx>
- [73] *Saxon* [online]. Švédsko [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: [http://www.saxonbeer.com/Saxon\\_beer.html](http://www.saxonbeer.com/Saxon_beer.html)
- [74] *Žatecký pivovar* [online]. Žatec: Žatecký pivovar [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.zateckypivovar.cz/cs/>
- [75] *Bernard* [online]. Humpolec: Rodinný pivovar Bernard, 2016 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.bernard.cz/cs/index.shtml>

**Seznam použitých symbolů a zkratk**

tTG	Enzym tkáňová transglutamináza
QQFPF	Glutamin-glutamin-prolin-fenylalanin-prolin
CKT	Cylindrokónický tank
CA	Codex Alimentarius
ELISA	Imunochemická sendvičová metoda používána na stanovení a měření koncentrace látek peptidového či proteinového charakteru v biologických vzorcích

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obrázek 1 Bezlepkové pivo vyráběno v USA s obsahem max. 20 mg/kg lepku, výrobce Omission [65].</i>	36
<i>Obrázek 2 Bezlepkové pivo v USA, výrobce New Planet Brewery [67].</i>	37
<i>Obrázek 3 Bezlepkové pivo vyrobené ze 100% sladu z čiroku [68].</i>	37
<i>Obrázek 4 Bezlepkové pivo vyrobené ze 100% bezlepkových surovin v Kanadě [69].</i>	38
<i>Obrázek 5 První bezlepkové pivo ve světě DauraDamm [70].</i>	39
<i>Obrázek 6 Zleva: Bezlepkové pivo typu Ale, bezlepkové pivo typu Ale tmavé; bezlepkové pivo z bezlepkových surovin (proso, pohanka, rýže aj.) [71].</i>	40
<i>Obrázek 7 Švédský bezlepkový ležák Saxon [72].</i>	41
<i>Obrázek 8 Zleva: Bezlepkové pivo Celia, Bezlepkový ležák Bernard [74, 75].</i>	42

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tabulka 1 Zastoupení jednotlivých skupin bílkovin v běžných obilovinách [6].</i> .....	10
<i>Tabulka 2 Srovnání vybraných odrůd z roku 2010 a 2014 pro výrobu bezlepkového piva [22, 23].</i> .....	16
<i>Tabulka 3 Srovnání diastatické aktivity enzymů mezi sladem z čiroku a ječným sladem [30].</i> .....	20