

# Moderní trendy v technologii výroby piva

Iveta Daňková

---

Bakalářská práce 2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Iveta Daňková**  
Osobní číslo: **T16295**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **Kombinovaná**  
Téma práce: **Moderní trendy v technologii výroby piva**

### Zásady pro vypracování

1. Základní charakteristika piva.
2. Popište suroviny pro výrobu piva.
3. Možnosti aplikace nových/netradičních surovin při výrobě piva.
4. Popište klasické technologické schéma pro výrobu piva.
5. Aplikace nových technologií/technologických postupů při výrobě piva, sekundárních produktu a odpadu.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] Brewing science: a multidisciplinary approach. New York, NY: Springer Berlin Heidelberg, 2016. ISBN 978-331-9463-933.
- [2] HARRISON, M. A., ALBANESE, J. B. Beer/Brewing . Reference Module in Life Sciences, 2017. Elsevier. ISBN 9780128096338.
- [3] KOSAŘ, K., PROCHÁZKA, S. et al. Technologie výroby sladu a piva. Výzkum-ný ústav pivovarský a sladařský. Praha. 2000. Vyd. 1, s. 398. ISBN 80-902658-6-3.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Richardos Nikolaos Salek, Ph.D.**  
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2020**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

# PROHLÁŠENÍ AUTORA

## BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou 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 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 práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce pojednává o moderních trendech ve výrobě piva. Cílem bylo vytvořit literární rešerši aplikace možných netradičních mikroorganismů, popsat výrobu bezlepkového piva pro jedince trpící celiakií a výrobu nealkoholických a nízkoalkoholických piv pomocí biologických a fyzikálních metod. Dále byla práce zaměřena na popsání nově objevených látek k čiření piva a možné zpracování odpadních surovin nejen pro zemědělské účely.

Klíčová slova: pivo, kvasinky, chmel, slad, bezlepkové pivo, nealkoholické pivo, čiření, mláto

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis deals with modern trends in beer production. The aim of the thesis was to create a literature research for the application of possible non-traditional microorganisms, to describe the production of gluten-free beer for individuals suffering celiac disease and the production of non-alcoholic and low-alcoholic beers using biological and physical methods. Furthermore, the work focuses on the description of newly discovered substances for beer clarification and possible processing of waste-materials; not only for agricultural purposes.

Keywords: beer, yeast, hops, malt, gluten-free beer, non-alcoholic beer, clarification, spent grains

Chtěla bych poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Richardosi Nikolaosi Salek, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady, které mi při práci poskytl.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# Obsah

|  |           |
|--|-----------|
| <b>ÚVOD.....</b>                                     | <b>9</b>  |
| <b>1. ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA PIVA.....</b>         | <b>11</b> |
| 1.1 HISTORIE PIVA .....                              | 11        |
| 1.1.1 HISTORIE VAŘENÍ PIVA V OBDOBÍ STAROVĚKU .....  | 11        |
| 1.1.2 HISTORIE VAŘENÍ PIVA V OBDOBÍ STŘEDOVĚKU ..... | 12        |
| 1.1.3 HISTORIE PIVA V ČESKÝCH ZEMÍCH .....           | 14        |
| 1.2 KLASIFIKACE PIVA .....                           | 16        |
| DEFINICE PIVA DLE VYHLÁŠKY 248/2018 SB. ....         | 16        |
| POŽADAVKY NA JAKOST.....                             | 17        |
| 1.3 VLASTNOSTI PIVA .....                            | 18        |
| 1.3.1 BARVA .....                                    | 18        |
| 1.3.2 PĚNA .....                                     | 18        |
| 1.3.3 VŮNĚ .....                                     | 19        |
| 1.3.4 CHUŤ.....                                      | 19        |
| 1.3.5 CHEMICKÉ SLOŽENÍ PIVA.....                     | 20        |
| OBSAH ALKOHOLU .....                                 | 20        |
| 1.3.6 ÚČINEK PIVA NA LIDSKÝ ORGANISMUS.....          | 21        |
| 1.4 SPOTŘEBA PIVA U NÁS A V EVROPĚ .....             | 24        |
| <b>2. SUROVINY PRO VÝROBU PIVA .....</b>             | <b>28</b> |
| 2.1 SLAD.....  | 28        |
| 2.2 VODA .....                                       | 30        |
| 2.3 CHMEL .....                                      | 31        |
| 2.4 KVASINKY .....                                   | 34        |
| <b>3. NETRADIČNÍ SUROVINY PRO VÝROBU PIVA .....</b>  | <b>36</b> |
| 3.1 POHANKA .....                                    | 36        |
| 3.2 OVES.....  | 37        |
| 3.3 QUINOA .....                                     | 37        |
| 3.4 ČIROK.....                                       | 38        |
| 3.5 KUKUŘICE .....                                   | 38        |
| 3.6 RÝŽE.....  | 39        |
| 3.7 DALŠÍ NETRADIČNÍ SUROVINY PRO VÝROBU PIVA .....  | 39        |
| 3.8 NETRADIČNÍ SUROVINY K OCHUCENÍ PIVA .....        | 40        |
| <b>4. TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA .....</b>              | <b>42</b> |
| 4.1 PŘÍPRAVA MLADINY .....                           | 42        |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 4.1.1     | ŠROTOVÁNÍ .....                                       | 42        |
| 4.1.2     | VYSTÍRÁNÍ .....                                       | 43        |
| 4.1.3     | RMUTOVÁNÍ .....                                       | 43        |
| 4.1.4     | SCEZOVÁNÍ .....                                       | 44        |
| 4.1.5     | CHMELOVAR .....                                       | 44        |
| 4.1.6     | ČIŠTĚNÍ A CHLAZENÍ MLADINY .....                      | 45        |
| 4.2       | FERMENTACE .....                                      | 45        |
| 4.3       | ZRÁNÍ.....  | 46        |
| <b>5.</b> | <b>MODERNÍ TRENDY V TECHNOLOGII VÝROBY PIVA .....</b> | <b>48</b> |
| 5.1       | APLIKACE NOVÝCH MIKROORGANISMŮ.....                   | 48        |
| 5.1.1     | „NON-SACCHAROMYCES“ KVASINKY .....                    | 48        |
| 5.1.2     | ZEFEKTIVNĚNÍ PIVOVARSKÝCH KVASINEK .....              | 52        |
| 5.1.3     | PROBIOTICKÉ BAKTERIE .....                            | 54        |
| 5.2       | VÝROBA BEZLEPKOVÝCH PIV .....                         | 55        |
| 5.2.1     | VÝROBA SLADU Z BEZLEPKOVÝCH SUROVIN.....              | 56        |
| 5.2.2     | ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA.....                            | 57        |
| 5.2.3     | DELŠÍ NAKLÍČENÍ SLADU .....                           | 57        |
| 5.2.4     | KO-FERMENTACE MLADINY S LAKTOBACILY .....             | 58        |
| 5.3       | ZEFEKTIVNĚNÍ RMUTOVÁNÍ.....                           | 58        |
| 5.3.1     | POUŽITÍ ENZYMŮ.....                                   | 58        |
| 5.3.2     | POUŽITÍ RÝŽE .....                                    | 59        |
| 5.4       | VÝROBA NEALKOHOLICKÝCH A NÍZKOALKOHOLICKÝCH PIV.....  | 60        |
| 5.4.1     | BIOLOGICKÉ METODY VÝROBY .....                        | 61        |
| 5.4.2     | FYZIKÁLNÍ METODY VÝROBY .....                         | 61        |
| 5.5       | APLIKACE LÁTEK PRO ČIŘENÍ.....                        | 63        |
| 5.5.1     | VYZINA („ISINGLASS“).....                             | 63        |
| 5.5.2     | PTAČÍ KOLAGEN .....                                   | 64        |
| 5.5.3     | EXTRAKT Z HRACHU .....                                | 64        |
| 5.5.4     | VAJEČNÉ SKOŘÁPKY A ŠNEČÍ PRÁŠEK .....                 | 64        |
| 5.5.5     | KARAGENAN („IRSKÝ MECH“) .....                        | 65        |
| 5.6       | ZPRACOVÁNÍ ODPADNÍCH PRODUKTŮ.....                    | 65        |
| 5.6.1     | ODPAD ZE SLADOVÁNÍ .....                              | 65        |
| 5.6.2     | MLÁTO.....  | 65        |
| 5.6.3     | KVASINKY.....   | 66        |
| 5.6.4     | FILTRAČNÍ KALY .....                                  | 67        |
| 5.6.5     | KŘEMELINA.....  | 68        |
|           | <b>ZÁVĚR .....</b>                                    | <b>69</b> |



|                                       |           |
|---------------------------------------|-----------|
| <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b> | <b>71</b> |
| <b>SEZNAM TABULEK.....</b>            | <b>80</b> |

## ÚVOD

Pivo je nejstarším a zároveň nejoblíbenějším alkoholickým nápojem na světě. Výroba prvního fermentovaného nápoje začala s rozvojem zemědělství a s pěstováním obilovin. Dříve se jednalo spíše o fermentovanou kaši a trvalo několik stovek až tisíců let, aby se pivo dostalo do podoby, v jaké ho známe teď. Historie a základní charakteristika piva včetně zdravotních účinků na lidský organismus jsou popsány v kapitole číslo 1.

Pivo je fermentovaný nápoj vyrobený ze základních surovin, jako slad, chmel, voda a kvasinky. Vlastnosti jednotlivých surovin jsou popsány v kapitole číslo 2. Slad může být vyroben také z netradičních obilovin, jako je například quinoa, kukuřice, amarant, širok, proso nebo rýže, které najdete ve 3. kapitole. Většina z nich jsou bezlepkové, a proto mohou být použity pro výrobu bezlepkových piv vhodných pro osoby trpící celiakií.

Ve 4. kapitole je stručně popsána tradiční výroba piva. Jedná se o složitý technologický proces, při kterém musí být dodrženy správné parametry výroby. Správně rozluštěný slad je jednou z nejdůležitějších vstupních surovin. Při rmutování je sešrotovaný slad smíchán s vodou a promícháván při dodržení přesně stanovených teplot. Cílem rmutování je rozštěpit škroby, obsažené ve sladu, na fermentované sacharidy, které jsou „potravou“ pro kvasinky. Následuje chmelovar (vaření piva), při kterém je přidán chmel pro své antibakteriální a antimykotické účinky a kvůli obsahu hořkých kyselin, které dodávají pivu typickou hořkost a aroma. Kvasinky zajistí fermentaci a výrobu alkoholu v nápoji. Následně je pivo filtrováno, pasterováno a je plněno do zákaznických obalů.

Inovace a zefektivňování výroby jsou zásadní pro všechny průmyslové odvětví a pivovarství není výjimkou. Poslední kapitola se věnuje vybraným moderním trendům ve výrobě piva. Jedním z nich je použití nových kmenů kvasinek, především non-*Saccharomyces*, které mohou pivu dodat netradiční ovocné, medové a květinové aroma. Nevýhodou výroby piva z netradičních kvasinek je ale horší pěnovost. Vzhledem k nízké produkci ethanolu je většina z nich vhodná k výrobě nealkoholických piv. Jsou zde popsány i metody zefektivnění kvasinek pomocí genetických mutací a genového inženýrství. Dalším trendem je výroba probiotických piv, které mají příznivé účinky na lidský organismus.

Dále se práce zabývá výrobou bezlepkových piv pomocí sladu z přirozeně bezlepkových obilovin, delším naklíčením ječmene, přidáním enzymů nebo ko-fermentací s bakteriemi mléčného kvašení. Výsledný obsah lepku v pivu musí být pod 20 mg/kg.

Roste popularita nealkoholických a nízkoalkoholických piv, které lze vyrobit pomocí biologických nebo fyzikálních metod. K biologickým metodám patří například fermentace speciálními kvasinkami, které produkují do 1 % obj. ethanolu. Zároveň mohou vytvářet speciální aroma. Dalším způsobem výroby je odstranění alkoholu z již vyrobeného piva pomocí destilace. Nevýhodou je odstranění žádoucích aromatických látek. Tento problém lze vyřešit extrakcí aromatických látek před dealkoholizací pomocí pervaporace.

Důležitou vlastností piva je jeho čírost, která je docílena pomocí speciálně určených látek. Nejčastěji se používá vyzina („isinglass“), ale existuje spousta studií, které se snaží objevit vhodnější látky k čiření. Vyzina totiž pochází ze schránek odumřelých ryb a vzhledem k nařízení se jedná o alergen.

S produkcí piva přichází také produkce odpadu, jako je mláto, kvasinky, křemelina a filtrační kaly. Mláto bylo dříve používáno jen pro zkrmování hospodářských zvířat, ale může být použito i pro lidskou obživu ve formě mouky, která se dá použít pro pekařské a pečivářské výrobky. Výhodou je, že obsahuje více živin s porovnáním s pšeničnou bílou moukou. Pivovarské kvasinky se rovněž používají jako doplněk krmiva pro hospodářská zvířata, ale pro jejich široké využití je lze použít i jako doplněk stravy pro lidi. Obsahují velké množství minerálních látek a mohou se použít například k léčbě alkoholismu, deprese a k hojení ran.

# 1. ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA PIVA

## 1.1 Historie piva

Pivo se obecně považuje za nápoj vzniklý jako vedlejší produkt při rozvoji zemědělství. Dle dostupných nálezů první fermentovaný nápoj vznikl v Mezopotámii asi 4 000-6 000 let př.n.l. Každopádně pivo mohlo vzniknout už mnohem dříve, a to 10 000 až 15 000 let př.n.l., kdy naši předkové přestali vést kočovný život a začali pěstovat obilí pro svou obživu. První kvašený nápoj z obilí vznikl nejspíše náhodou, kdy vyrobená kaše nebo těsto na chleba zvlhlo a znovu zkvasilo. Toto první „pivo“ nejspíš někomu zachutnalo a stalo se součástí jídelníčku. Zkvašené obilné nápoje byly vyráběny po celém světě. V Jihovýchodní Asii se pilo rýžové pivo, v Africe se vyráběl zkvašený nápoj z prosa a v Americe vyráběli alkohol z kukuřice. Zkvašené nápoje se našly z období Keltů, Germánů i Slovanů (Chládek, 2007; Speers 2006).

### 1.1.1 Historie vaření piva v období starověku

Ve starověku se vařením piva zabývaly většinou ženy v domácnosti a v Sumerské a Babylonské společnosti mohly pivo vyrábět pouze kněžky (Kunath, 2012).

## MEZOPOTÁMIE

První písemná památka lidstva o výrobě piva je z území Mezopotámie z roku 4 000 př.n.l. Jedná se o hymnu o bohyni Ninkasi, která popisuje vaření piva z chleba a ječmene. Vyrobený chléb zvaný „*bapiru*“ se rozdrobil do vody s přídavkem ječmene nebo pšenice a vzniklá kaše se nechala kvasit a poté se nápoj vypil. V této době ještě nebyl chmel znám, a proto se k docílení hořké chuti používalo pražení sladu v popelu. Sumerové považovali pivo neboli „*kaš*“ za „*božský nápoj*“, který dostali jako dar od bohů. Další písemnou památkou je „Epos o Gilgamešovi“ z roku 3 000 př.n.l. Epos vypráví o přeměně Enkida, primitivní bytosti, který se proměnil v člověka poté, co vypil sedm džbánů piva (Chládek, 2007).

Po zhroutilí Sumerské říše 2 000 let př.n.l. převzali vládu nad sumerskou kulturou, včetně vaření piva, Babyloňané. Podle historiků znali již více než dvacet druhů piv. Dochovaly se recepty na výrobu piv, např. *pivo husté*, *pivo černé* nebo *pivo červené*. Všechna piva byla kašovitá, a proto se k pití používaly slámky, aby se pil pouze čistý nápoj a zbylé kousky zůstávaly vespod poháru. Své pivo údajně dováželi do Egypta vzdáleného 1 000 km.

Babyloňané měli dokonale vybudovaný zavlažovací systém mezi řekami Tigrid a Eufkrat a žně probíhaly třikrát až čtyřikrát za rok. Z období starého Babylonu se dochoval nejstarší zákoník na světě, který vydal král Chammurapi. V jeho zákoníku jsou výslovně uvedeny tresty týkající se nesprávného čepování piva (Chládek, 2007; Hasík, 2003).

## STAROVĚKÝ EGYPT

Ve starověkém Egyptě bylo pivo považováno za dar od boha Re a bylo nazýváno „*hek*“, což v překladu znamená „*víno z ječmene*“. Pro dělníky pracující na stavbě pyramid bylo pivo, chleba a česnek s cibulí hlavním zdrojem obživy (Staněk, 1998).

Za vlády faraona Ramsese II. Velikého (1290-1224 př.n.l.) se pivo stalo nejoblíbenějším nápojem a dávalo se jako obětní dar k chrámům. Pivo nechybělo ani při starověkých bohoslužbách. Při pohřbu faraona se připravovaly čtyři druhy piva, které doprovázely mumifikovaného panovníka na posmrtné cestě. Pivo se také dochucovalo různým kořením (Chládek, 2007).

## ASIE

Indové znali výrobu piva již 3 000 let př.n.l. a staří Číňané a Tibetané vyráběli zkvašené nápoje z ječmene s přídavkem prosa nebo bambusových výhonků. Dokonce je možné, že používali chmel dříve než Evropané (Chládek, 2007).

## AMERIKA

První zmínky o výrobě piva v Americe jsou z roku 1000 našeho letopočtu. Archeologové našli velký výrobní závod, kde se vyráběl nápoj zvaný „*čiča*“, která vznikla fermentací rostlin, jako je kukuřice, třtinový cukr, javorový cukr a aloe. Namočená zrna obilovin se rozmělnila v ústech, smíchala se slinami, které obsahovaly potřebné enzymy a kvasinky a následně produkt kvasil v nádobě (Chládek, 2007; Hasík, 2003).

## PALESTINA

Židé nazývali pivo „*secha*“ a pili jej každý den. Při výrobě nepoužívali pivní chleby, ale usušený ječmen na slunci, který smíchali s vodou a nechali vykvasit. Poté přidávali různá koření např. šafrán a pelyněk (Chládek, 2007).

### 1.1.2 Historie vaření piva v období středověku

Rozvoj pivovarství nastal v 9. století našeho letopočtu, kdy církevní otcové doporučovali věnovat se zemědělství a výrobě piva, protože se pivo, jako jedna z mála

potravin, mohlo konzumovat při půstu, podobně jako třeba ryby. Právě kláštery začaly na svých pozemcích cíleně pěstovat chmel pro výrobu piva. Vůbec nejstarší a dosud fungující pivovar na celém světě se nachází v Německu poblíž Mnichova a nazývá se *Bayerische Staatsbrauerei Weihen Stephan*. Je v provozu již od roku 1040 a stojí na místě starého benediktinského klášterního pivovaru a nadále pokračuje v jeho tradici. Ve středověku bylo pivo podáváno i dětem, protože bylo vařeno s chmelem a bylo hygieničtější než voda (Chládek, 2007), protože hlavně ve městech byla voda zdravotně závadná a na rozdíl od piva se voda nijak neupravovala. Dříve se pivo vyrábělo několikanásobnou extrakcí stejné šťávy, aby se vyrobilo pivo s rozdílným obsahem alkoholu. Slabší piva byla vyráběna z druhého a třetího rmutu a jednalo se o každodenně konzumovaný nápoj (Speers, 2006; ANONYM, 2018).

Ve středověku se vařila také medicínální piva, u kterých se předpokládalo kladných účinků na lidský organismus. Vařilo se například pivo jalovcové (proti ledvinovým kamenům), fenyklové (proti nadýmání), rozmarýnové (proti depresi), levandulové (proti nemoci dna), šalvějové (pro zdravé zuby), pelyňkové (proti žloutence), bedrníkové (proti TBC) a višňové (proti močovým kamenům) (Chládek, 2007).

V průběhu 12.–16. století bylo v Bavorsku místními panovníky vydáno mnoho nařízení s cílem omezit používání pšenice, která měla být používána pouze na výrobu chleba. Nejznámějším nařízením je „*Zákon o čistotě piva*“ z roku 1516. Podle tohoto zákona se pivo smělo vyrábět pouze z chmele, sladu a vody. V západní Evropě se chmel začal používat až v 15. století (Chládek, 2007). Až do 16. století se vyráběly piva v otevřených nádobách, kdy kvasinky během fermentace stoupaly na povrch nádoby. Spodní kvašení začalo až v bavorských kláštrech na počátku 16. století, kdy kníže Maximilián I. zakazoval vaření piva v letních měsících a fermentace bylo prováděna v chladu. Vyrobená piva byla skladována a prodávána až na podzim (Bamforth, 2003).

V 17. století se objevily nové nápoje, začal se pít koňak a další alkoholické nápoje připravené macerováním bylinek v lihu, začala se pít i káva a čokoláda, nicméně na oblibu a konzumaci piva to nemělo žádný vliv (Chládek, 2007).

Velkým pokrokem ve výrobě piva byl vynález teploměru v roce 1762 (Michael Combrune), který umožnil regulaci teploty při sladování a fermentaci. Na konci 18. století došlo ke zvýšení produkce piva ve velkých pivovarech a domácí výroba byla omezena. S vývojem železnic se zvýšila distribuce piva do vzdálenějších oblastí. S příchodem parních

strojů (James Watt) v roce 1765 se zvýšila účinnost a efektivita výroby piva. Vývoj umělého chlazení (Von Linde) v roce 1876 umožnil přepravu piva do stále vzdálenějších oblastí. V roce 1879 byla provedena první filtrace piva, což zlepšilo vzhled i stabilitu výrobku. V roce 1883 se začaly používat první čisté izolované kmeny kvasinek pro fermentaci jednotlivých druhů piv. Dalším pokrokem bylo šlechtění ječmene a chmele, které trvalo několik desítek let. Byl také objeven vliv promíchávání ječmene při sladování, což snížilo dobu sladování o polovinu (Bamforth, 2003).

### 1.1.3 Historie piva v Českých zemích

Hlavním důvodem pěstování ječmene a chmelu na výrobu piva v Českých zemích mělo bezesporu vhodné klima pro pěstování těchto plodin a také to, že vhodné podmínky pro pěstování révy vinné byly dříve jen na jižní Moravě. Díky skvělým podmínkám se pivovarnictví stalo významnou složkou českého hospodářství a mělo vliv na kulturně-politický vývoj společnosti. (Kollár, 2012)

Pivovarníci uctívali svatého Václava, který se stal patronem sladovnického cechu a krále Gambrina, který byl dle pověstí prvním sládkem. Jeho jméno vzniklo zkomolením slov Jan Primus. První zmínka o sladovnicích v Praze je z roku 1000, kdy kníže Břetislav I. udělil nadační listinou ve Staré Boleslavi desátý díl z chmele od sedláků v Žatci a Staré i Mladé Boleslavi. Nejstarší zmínka o českém pivu je v legendě o svatém Vojtěchovi, který zakázal v Čechách pod trestem exkomunikace vařit pivo, protože neměl rád opilství. Zákaz zrušil až papež o 200 let později. (Novák, 2015)

Na rozvoj pivovarství na našem území měly vliv klášterní a církevní pivovary a zakládání královských měst, kdy panovník udělil obyvatelům města, kteří vlastnili dům, tzv. „*právo vářečné*.“ Mezi nejstarší královská města patří Svitavy, Žatec, České Budějovice, Plzeň a Tábor. V Táboře byl jeden pivovar na 25 obyvatel a v zimě se vařilo „*pivo bílé*“ z pšenice a v létě „*pivo staré*“ z ječmene (Chládek, 2007).

Během budování královských měst panovníci zavedli tzv. „*mílové právo*“, podle kterého se od hradeb města ve vzdálenosti 1 míle nesmělo vařit ani čepovat cizí pivo. Během 14. a 15. století se omezila domácí výroba piva a začaly se budovat městské pivovary. Měšťané z královských měst měli tak zaručen příjem jak pro sebe, tak pro královskou pokladnici. O několik let později začaly vznikat spory mezi měšťany a šlechtou. Ludvíkem Jagellonským byla proto založena Svatováclavská smlouva, podle které směla šlechta vařit vlastní pivo, ale nesměla jej prodávat. Poté bylo založeno i „*propinační právo*“ a šlechta si

začala budovat vlastní pivovary např. Krušovice. „*Milové právo*“ bylo zrušeno až v roce 1788 (Chládek, 2007).

V roce 1585 Tadeáš Hájek z Hájku napsal knihu: „*O pivě, jeho výrobě, povaze, silách a vlastnostech*“, která je považována za první pivovarnickou technologii na světě. Pomocí soli a chmele se zvyšovala trvanlivost piva, stejně jako v Anglii nebo u vína v Řecku (Novák, 2015).

Kvůli znečištěné vodě se ve středověku vařilo pivo ze znovu vylouhovaného mláta. Toto pivo bylo o 4 groše levnější než pivo z prvního louhování a také nemělo takovou chuť, ale jednalo se o celodenní zdravý nápoj (Novák, 2015).

František Ondřej Poupě jako jeden z prvních na světě začal používat teploměr, moštové váhy a sachometr, jimiž zjišťoval obsah extraktu v pivu. V roce 1794 napsal odbornou knihu *Die Kunst des Bierbrauens* (umění vaření piva) a usiloval o to, aby se pivo vařilo dle čistotního zákona, ale hlavně z ječmene (Nováková a Richter, 2009).

Pivo se začalo stáčet do skleněných lahví už v 19. století v pražském pivovaru *U Křižovníků*. Láhve oproti sudům zlepšily manipulaci a trvanlivost (ANONYM, 2018).

Mezi nejdůležitější událost v českém i světovém pivovarství patří založení Měšťanského pivovaru v Plzni v roce 1839. V Plzni se do té doby vařilo pivo špatné kvality, a proto se měšťané rozhodli tuto skutečnost změnit. V roce 1842 se bavorskému sládkovi Josefu Grollovi podařilo v Plzni uvařit spodně kvašené pivo ledované přírodním ledem výjimečné kvality. Piva byla uchována v ledem vychlazených prostorách, pivo mělo při čepování vyšší obsah oxidu uhličitého a tím i lepší říz. Od této události se změnil pivovarský průmysl. Od roku 1884 se v Čechách vyrábějí pouze spodně kvašená piva (Rozinková, 2016).

V druhé polovině 19. století nastal masivní rozvoj českého pivovarnictví a byly založeny pivovary jako Staropramen (dříve Akcionářský pivovar), Braník, Gambrinus a také pivovar ve Velkých Popovicích. V Českých Budějovicích byl založen německý pivovar „*Administration Budweiser Burger Brau*“, který díky velkým zásobám ledu začal vyrábět velmi kvalitní spodně kvašené pivo a začal zásobovat císařský dvůr ve Vídni, později exportoval pivo do USA a pro Wittemberského krále Viléma II. Jako reakci na německý pivovar založili obyvatelé Český akciový pivovar (dnešní Budějovický Budvar). Kvalita piva byla taková, že ihned začali s exportem do USA (Rozinková, 2016).



V období první světové války v letech 1914-1918 byla velmi omezena výroba piva z 11 milionů hl na 1,5 milionů hl za rok. Zvládly to pouze velké pivovary, které se dokázaly rychle adaptovat na nové podmínky a dokázaly si sehnat vlastní suroviny. Pivovary se orientovaly také na výrobu náhražkových piv, limonád, cikorkové kávy a výrobu sušeného ovoce. V tomto období zaniklo přes 100 pivovarů (Rozinková, 2016).

Po válce se pivo exportovalo hlavně do Německa a po skončení prohibice v USA také do této země. V období druhé světové války v letech 1939-1945 došlo k Protektorátu Čechy a Morava a k poklesu výroby piva na 6 milionů hl. V tomto období se vařilo nízkostupňové pivo 3,5 %. V poválečném období vznikla „*Hospodářská skupina pivovarského a sladařského průmyslu*“ a později celostátní úřední orgán „*Československé pivovary, národní podnik*“ a pivovary se začaly znárodnovat. Po roce 1989 byly změny v pivovarském průmyslu. Vyrábělo se 18 milionů hl piva a začala privatizace pivovarů. (Chládek, 2007).

## 1.2 Klasifikace piva

### Definice piva dle vyhlášky 248/2018 Sb.

*„Pivem pěnivý nápoj vyrobený zkvašením mladiny připravené ze sladu, vody, neupraveného chmele, upraveného chmele nebo chmelových výrobků, který vedle kvasným procesem vzniklého etanolu a oxidu uhličitého obsahuje i určité množství neprokvašeného extraktu; slad lze do výše jedné třetiny hmotnosti celkového extraktu původní mladiny nahradit extraktem zejména cukru, obilného škrobu, nesladovaných obilovin nebo rýže; u piv ochucených může být obsah alkoholu zvýšen přidavkem lihovin nebo ostatních alkoholických nápojů.“* (Česko, 2018).

### Členění piva na skupiny:

- Stolní pivo – s extraktem původní mladiny do 6 % hmotnostních
- Výčepní pivo – s extraktem původní mladiny 7 až 10 % hmotnostních
- Ležák – spodně kvašené pivo s extraktem původní mladiny 11 až 12 % hmotnostních
- Plné pivo – svrchně kvašené pivo s extraktem původní mladiny 11 až 12 % hmotnostních
- Silné pivo – s extraktem původní mladiny 13 % hmotnostních a více
- Nízkoalkoholické pivo – s obsahem alkoholu 0,5 % až 1,2 % objemových
- Nealkoholické pivo – s obsahem alkoholu nejvýše 0,5 % objemových

Členění nápojů na bázi piva na skupiny:

- Kvašený sladový nápoj – vyroben ze sladiny pivovarskou technologií, může být ochucen
- Míchaný nápoj z piva – vyroben smícháním piva s nealkoholickým nápojem
- Atypický pivní nápoj – nápoj na bázi piva s modifikovaným podílem sladu nebo modifikovaným způsobem kvašení

Další druhy piva:

- Spodně kvašené pivo – vyrobeno za použití pivovarských kvasinek spodního kvašení
- Svrchně kvašené pivo – vyrobeno za použití pivovarských kvasinek svrchního kvašení
- Světlé pivo – vyrobeno ze světlých sladů
- Tmavé a polotmavé pivo – vyrobeno ze sladů tmavých, karamelových nebo barvených ve směsi se světlými slady
- Řezané pivo – vyrobeno stáčením světlých a tmavých piv dohromady
- Pivo z jiných obilovin – vyrobeno z více než 1/3 hmotnosti sladu jiné obiloviny než ječmene
- Kvasnicové pivo – vyrobeno dodatečným přídavkem čisté kvasničné kultury nebo podílu rozkvašené mladiny do hotového piva
- Ochucené pivo – s přídavkem látek a potravin k aromatizaci, lihovin nebo ostatních alkoholických nápojů (obsah alkoholu z jiných lihovin a alkoholických nápojů nesmí překročit obsah alkoholu v původním pivu) (Česko, 2018).

**Požadavky na jakost**

Tak jako každá surovina, tak i pivo musí splňovat fyzikální, chemické a smyslové požadavky na jakost. Tmavá a polotmavá piva se nesmějí vyrábět přibarvením piv světlých. Chuť, vůně a ostatní smyslové požadavky musí být charakteristické pro druh a skupinu výrobků a nesmí obsahovat cizí chuť a vůni (Česko, 2018).

### 1.3 Vlastnosti piva

*„Pivo patří mezi trojici nejžádanějších nápojů na světě spolu s vodou a čajem. Během posledních třiceti let přitahuje pozornost i tam, kde se dříve preferovaly jiné nápoje. Pivovarnictví se totiž začalo navracet k řemeslné výrobě a používat mimořádně kvalitní suroviny. Vznikají díky tomu piva výjimečných vlastností, která stojí za to poznávat a ochutnávat“ (Borowiec, 2017)*

#### 1.3.1 Barva

Barva je první vlastnost, která se na pivu hodnotí. Pomocí barvy se zjišťuje, jestli se jedná o pivo čiré nebo nefiltrované, a také jde-li o světlé, polotmavé nebo tmavé pivo. Barvu lze posuzovat dle stupnice EBC (European Brewery Convention), kde jsou stupnice od žluté, zlaté, oranžové, jantarové, měděné až po světle a tmavě hnědou a černou (Jednotky EBC od 4 až po 80, kdy 4 je světle žlutá a 80 je černá). Některé pivovary se snaží tmavou barvou nalákat na silnou a výraznou chuť piva, nicméně barva je pouze estetická vlastnost a neovlivňuje chuť a vůni (Borowiec, 2017),

Barva je ovlivněna použitými surovinami a podmínkami technologického procesu. Tmavé barvy vznikají při Maillardových reakcích, kdy vznikají melanoidy, dále při karamelizaci cukrů v chmelovaru a při oxidaci polyfenolů. Pro zvýšení tmavé barvy piva se přidávají karamelové a čokoládové slady (Boulton, 2013). Barvu konečného piva lze ovlivnit přidáním přírodních látek z ovoce, jako jsou například višně, třešně, černý rybíz a maliny (Borowiec, 2017). Světlá piva vznikají výrobou ze světlých sladů, ale také při nahrazení sladu přídatnými látkami, jako je například rýže. K částečné ztrátě barvy může dojít při membránové filtraci (Boulton, 2013).

#### 1.3.2 Pěna

Pěna odlišuje pivo od ostatních nápojů a naznačí nám, co od daného piva čekat. Země jako Česko, Německo, Rakousko, Nizozemsko nebo Irsko vyžadují hustou a krémovitou pěnu. Ta má například u ležáku význam v zachování vůně piva po aromatickém chmelu, naopak Velká Británie čepuje piva s minimálním množstvím pěny. Vysoký obsah alkoholu má na pěnu negativní vliv, a proto u těchto piv lze očekávat nižší pěnu. Pěnovost se podporuje přidáním různých látek, například ovsu (Borowiec, 2017).

Pěna je definována jako koloidní systém obsahující kapalnou a plynnou fázi. Tvorba pěny je iniciována tvorbou plynových bublin, které stoupají na povrch nádoby, kde se

shromažďují a vytvářejí pěnovou hlavu. Na množství vytvořené pěny má vliv úroveň sycení oxidem uhličitým a přítomnost dalších plynů, jako je dusík. Plyn se pohybuje od menších bublin k větším prostřednictvím disproportionace. Oxid uhličitý je relativně rozpustný a má rychlý pohyb a velikost bublin. U méně rozpustných plynů, jako je dusík, je vznik bublin pomalejší a velikost bublin je menší. Dusík má ale za následek vznik stabilní krémové pěny, která je charakteristická pro ležáky. Po načepování piva do sklenice může pěna rychle klesnout, což může být zapříčiněno hydrofobními kontaminanty, jako jsou lipidy, pocházejícími ze patně umytého skla (Boulton, 2013).

### 1.3.3 Vůně

Lidský čich dokáže rozeznat až 10 000 různých vůní a jen 1 300 z nich se nachází v pivu. Morten Meilgaard vytvořil schéma chutí a vůní. Profesionální degustátor pomocí čichu dokáže odhalit, proč cizí vůně v pivu vznikla. Hodnotí se základní vůně jako sladké, kyselé, hořké a dále přirozené přírodní a umělé. Přírodní vůně může být po ovoci, jako jsou třešně, černý rybíz nebo citrusy. Vůni piva může zásadně ovlivnit jeho staření v dřevěných sudech (Borowiec, 2017)

### 1.3.4 Chuť

Hodnocení chuti probíhá v ústech, kdy je nejprve vnímána chuť pocházející ze sladu a poté hořkost pocházející z chmele. Chuť piva může být sladká, hořká, kyselá, výjimečně umami a vzácně slaná. Ostrost a palčivost je vnímána při podráždění vysokou koncentrací. U piv se očekává vytříbená kombinace sladké a hořké chuti (Borowiec, 2017)

Jedna z nejdůležitějších charakteristik piva je jeho hořkost, která se měří v jednotkách hořkosti IBU (International Bitter Units). Lehká piva plzeňského typu mají kolem 25 IBU a hořčí plzeňská piva pocházející z Německa mohou mít okolo 40 IBU. S hořkostí se zvyšuje osobitost piva (Laudage, 2018).

Existují tisíce látek, které jsou v pivu v nízkých koncentracích, ale jakékoliv snížení či zvýšení obsahu může mít velký dopad na organoleptické vlastnosti piva. Velké pivovary zaměstnávají speciálně vyškolené ochutnávače, kteří jsou schopni identifikovat jakékoliv chuťové nedostatky. Všechny šarže piva jsou ochutnávány zvlášť a nejsou uvolněny, pokud chuť neodpovídá danému typu piva (Boulton, 2013).

Pro spotřebitele je velmi důležitá kombinace chuti, vůně ale také vzhledu. Například u světlého ležáku spotřebitel očekává podávání při nízké teplotě, jemné sycení oxidem uhličitým, dokonalou čírost a stabilní pěnu (Boulton, 2013).

### 1.3.5 Chemické složení piva

Chemické složení piv se liší podle druhu surovin a technologií výroby, ale obsahují většinou stejné sloučeniny jen v jiném množství. Pomocí Ballingových vzorců je možné vypočítat stupeň prokvašení a původní extrakt piva. Průměrné složení světlého ležáku v tabulce č. 1. (Basařová, 2010).

#### Obsah alkoholu

Ethanol v pivu se stanovuje následujícími způsoby:

- Destilací a měřením hustoty
- Spektrometrií NIR
- Kryoskopii
- Ebulioskopii
- Plynovou chromatografií
- Enzymovou analýzou
- Refraktometrií
- Ultrazvukem

Uvedené metody *se mohou* kombinovat dohromady, protože pro Ballingův vzorec je potřeba jak obsah alkoholu, tak skutečný extrakt.

$$E_p = \frac{100 (2,066 5A + E_s)}{100 + 1,066 5A}$$

$E_p$  = extrakt původní mladiny

$E_s$  = zbytkový extrakt

$A$  = obsah alkoholu

Vše v hmotnostních procentech.

Dnes jsou k dispozici automatické analyzátoary, které urychlují proces analýzy piva. Jeden z nejrozšířenějších přístrojů se nazývá SCABA a dokáže přesně změřit hustotu pomocí

denzitometru a obsah alkoholu pomocí spalovacího senzoru a zároveň změřit barvu piva a pH (Basařová, 2010).

### 1.3.6 Účinek piva na lidský organismus

Již řecký filosof Aristoteles považoval pivo za dobrý prostředek na spaní a řecký básník Palladás prohlásil: „*Ne bezdůvodně jsem řekl, že v pivu je obsažen jakýsi božský nápoj. Včera jsem jednomu, který trpěl čtyři dny horečkou, jeden takový dal a on se okamžitě uzdravil*“ (Otáhal, 2015).

V pivu je obsaženo až 2 000 látek včetně vitaminů a minerálů, jež jsou prospěšné pro lidský organismus. Denní doporučené množství je 0,5 l pro muže a 0,3 l pro ženy. Z vitaminů je v pivu obsažen B-komplex, biotin, cholin, dále nukleové kyseliny, bílkoviny, sacharidy, vláknina a křemík. Pivo dále obsahuje asi 400 kcal, což je méně než slazené nápoje (Vaněk, 2015).

Pivo se řadí mezi nápoje obsahující nízký obsah alkoholu. Účinky piva na lidský organismus mohou být příznivé, konzumuje-li se pivo v doporučených dávkách. V mozku způsobuje vyplavení endorfinů, což přináší pocit radosti, ale na druhou stranu může způsobit i depresivní stavy vlivem nervových přenašečů. Konzumace střídavého množství piva má pozitivní vliv na psychické zdraví člověka, příznivě ovlivňuje zažívání, trávení, má vliv na ledviny a plíce, ale především příznivě působí na kardiovaskulární soustavu (Kollár, 2012).

Pivo obsahuje také cizorodé látky, které se do piva dostávají se surovinami nebo vznikají při výrobě. Nejškodlivější látky v pivu jsou N-nitrosaminy, které vznikají oxidací dusíku a označují se jako těkavé nitrosaminy. V pivu může být obsaženo maximálně 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$  NDMA (N-nitrosodimethylamin). Mezi další nebezpečné nitrosaminy se řadí ATNC (jedná se o netěkavé nitrososloučeniny), které vznikají činností bakterií *Bacillus* nebo *Enterobacteriaceae* během hlavního kvašení. Tvorbu dusitanů se podařilo potlačit přidávkou cyklinu ke kvasící mladině. Obsah ATNX v pivu nesmí překročit 20 ppb (Basařová, 2010).

Další cizorodou látkou jsou těžké kovy a další prvky (Pb, Cd, Hg, Cr, Ni, As, Se, Sr, Be). Tyto látky se během výroby koncentrují v mlátu. Povolovaný obsah kovů a některých dalších škodlivých látek udává legislativa. Nežádoucí látky piva jsou uvedeny v tabulce číslo 2. (Basařová, 2010).

Činností plísní vznikají v pivu mykotoxiny, které se řadí mezi další nebezpečné látky obsažené v pivu. Je známo přes 350 druhů mykotoxinů. Tyto látky snadno přežívají běžné

technologické výrobní operace, a proto je potřeba jejich výskyt omezit už při příjmu suroviny pro sladování. Nejvýznamnějšími mykotoxiny jsou aflatoxiny a chratoxiny, které jsou silně karcinogenní. V poslední době se prokázal výskyt také skrytých mykotoxinů, které se nacházejí ve formě glukosidů a mohou se během výroby piva hydrolyzovat na mykotoxiny a zvyšovat tak jejich celkový obsah v pivu (Basařová, 2010).

K cizorodým látkám patří ještě biogenní aminy a polyaminy, které jsou důsledky mikrobiální kontaminace. Tyto látky zvyšují krevní tlak a mohou být nebezpečné pro pacienty užívající léky inhibující činnost detoxikačních enzymů. Mezi hlavní biogenní aminy patří tyramin, histamin, putrescin a spermidin (Basařová, 2010).

Lidé trpící celiakií, tedy nesnášenlivostí lepku, neboli glutenu, by měli být obezřetní, protože jak pšeničné pivo, tak pivo z ječmene lepek obsahuje. Obsah lepku lze snížit různými technologickými zásahy. Všechny nežádoucí látky obsažené v pivu viz tabulka č. 3. (Basařová, 2010).

### Tabulka č.3.

Nutriční a energická hodnota piva

| <b>energie</b>    | <b>1 600kJ<br/>(360 kcal)</b> |
|-------------------|-------------------------------|
| bílkoviny         | 4 g                           |
| celkové sacharidy | 27 g                          |
| jednoduché cukry  | 4 g                           |
| ethanol           | 37 g                          |
| tuk               | stopy                         |
| vláknina          | 3 g                           |
| sodík             | 0,04 g                        |

Vedlejší účinek nerozumné konzumace piva je vznik kocoviny, což jsou nepříjemné fyzické a duševní příznaky během střízlivění ze silné opilosti. Příznaky zahrnují bolesti hlavy, slabost, žízeň, nevolnost, zvracení, bolesti žaludku aj. Odborníci se neshodují, která ze složek piva způsobuje kocovinu, ale obecně se za ni označují kongereny, které můžou být v pivu jen ve stopovém množství (Basařová, 2010).

Mezi hlavní důvody konzumace piva se řadí:

- Tišení žízně (voda + minerální látky).
- Občerstvovací účinek (CO<sub>2</sub> + organické kyseliny).
- Uklidňující účinek (hořké látky z chmele a alkohol).

- Uspokojení chuťových požitků (aromatické látky z chmele, sladu a produkty kvašení).
- Nutriční hodnota (vyšší sacharidy, vitaminy, aminokyseliny, polyfenoly a hořké látky).
- Dietetický význam (diuretické účinky, stimulace chuti, podpora trávení).
- Zdroj přirozených antioxidantů (flavonoidy a fytoestrogeny) (ANONYM, 2007).

Mírná konzumace alkoholu se všeobecně považuje za prospěšnou, protože může zvyšovat hodnotu „dobrého“ cholesterolu HDL, který odvádí cholesterol z tkání a cév do jater, kde se odbourá a blokuje srážení krve. Látky přítomné v pivu, zejména polyfenoly, hořké látky a isoxanthohumul mohou mít vliv na snížení rizika vzniku kardiovaskulárních chorob. Polyfenoly a tzv. reduktory mohou vázat nebezpečné kovy a tím zpomalovat jejich nežádoucí efekt v lidském organismu. Peroxid vodíku se označuje jako toxický, ale v lidském organismu se nemusí jeho škodlivost projevit a může mít naopak kladnou funkci v podobě regulace funkce ledvin a antimikrobiální látka v moči (Basařová, 2010).

Pivo obsahuje také vyšší podíl vitaminů B, které jsou prospěšné jako prevence proti kardiovaskulárním chorobám. Zvláště u piv svrchně kvašených se prokázal vysoký obsah folátů (Basařová, 2010).

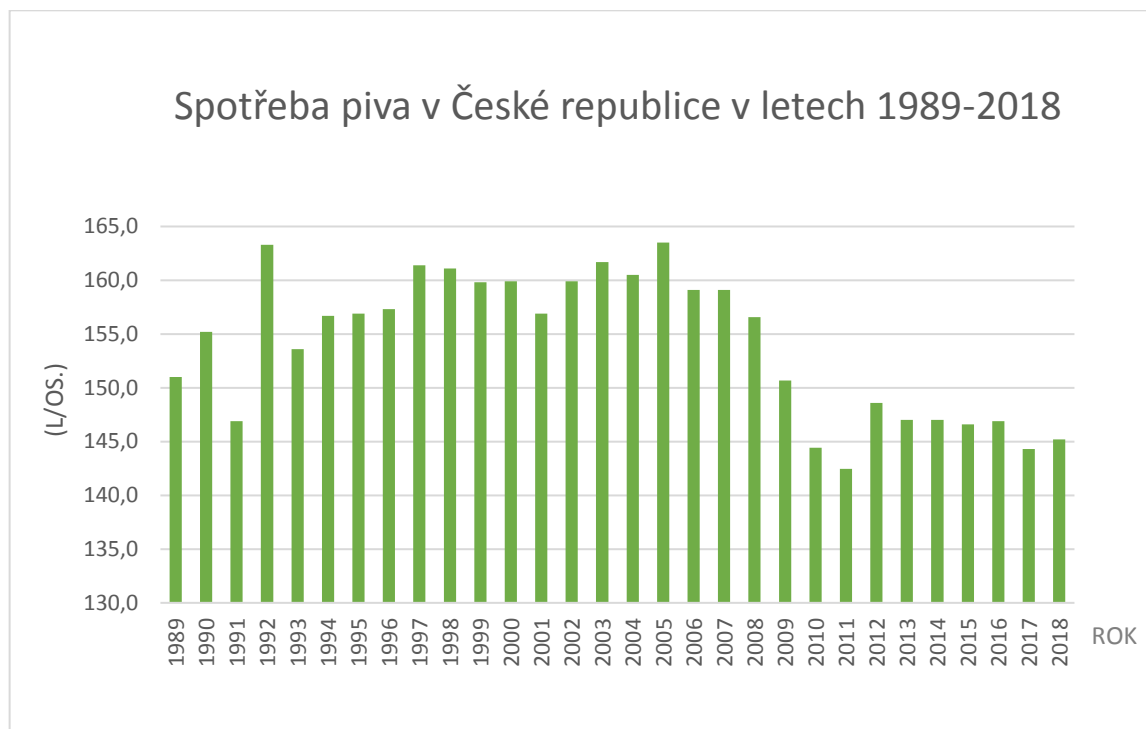
Polyfenolové látky v pivu dokáží vázat volné radikály, které jsou pro lidský organismus nebezpečné. Konzumaci střídavého množství piva se sníženým obsahem cukrů lze doporučit i diabetikům, jelikož mají antioxidační účinky na organismus. Látka obsažená v chmelu *xanthohumul* prokázal protirakovinné účinky. Obsah *xanthohumolu* v českém chmelu je 0,3-1,1 %. Pivo je také výborný iontový nápoj po fyzické zátěži nebo vyšší spotřebě energie (Basařová, 2010).



## 1.4 Spotřeba piva u nás a v Evropě

Češi se v dlouhodobých statistikách o spotřebě piva řadí na první místo ve světě. Pivo je v České republice nejoblíbenějším nápojem a je nejstarším a nejpopulárnějším nápojem na světě. Až 70 % z celého objemu vyrobených piv jsou piva vyrobená na plzeňský způsob. (Kollár, 2012)

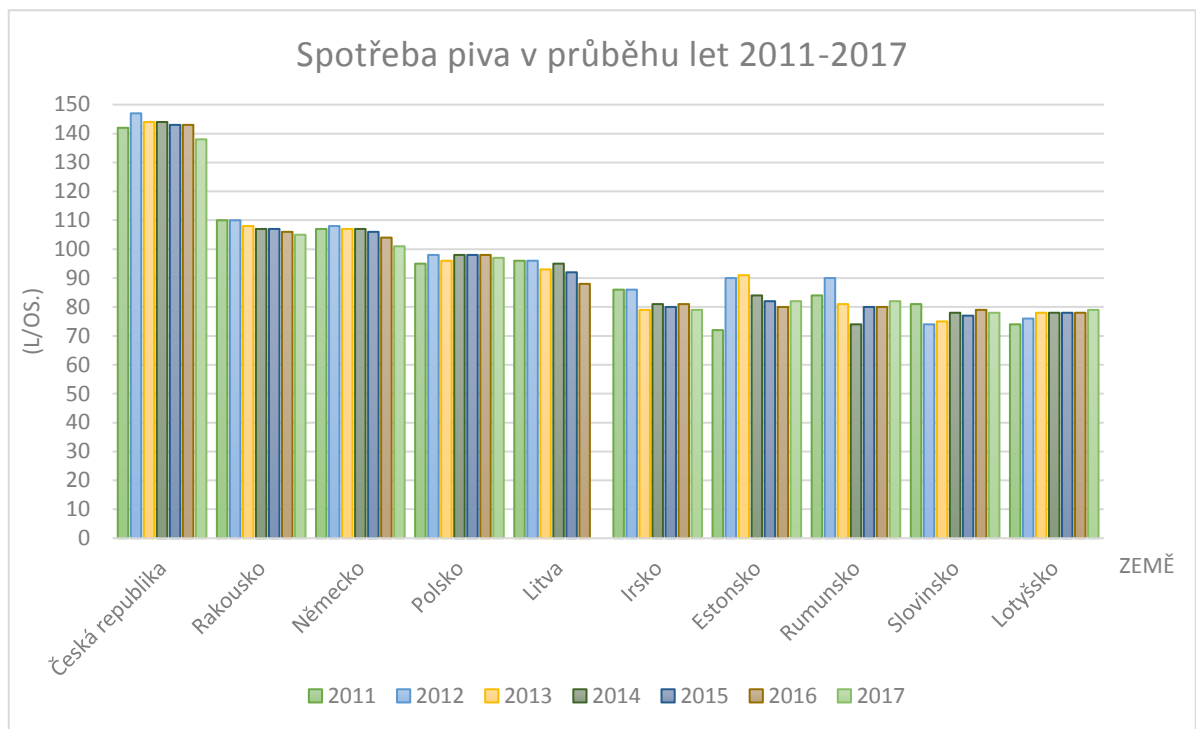
**Obrázek číslo 1.**



Spotřeba piva v České republice v letech 1989-2018 (ANONYM, 2019)

Od konce 80. let až do vzniku samostatného Českého státu v roce 1993 spotřeba piva kolísala od 146 l/os. až po 163 l/os. Po roce 1993 se spotřeba piva v České republice pohybovala od 153 l/os. až po 163 l/os. (ANONYM, 2019). Z grafu lze vyčíst také vliv finanční krize v roce 2008, která pokračovala až do roku 2011. Poté došlo ke zvýšení spotřeby, která se ustálila na hodnotě okolo 145 l na osobu (Kütner, 2015)

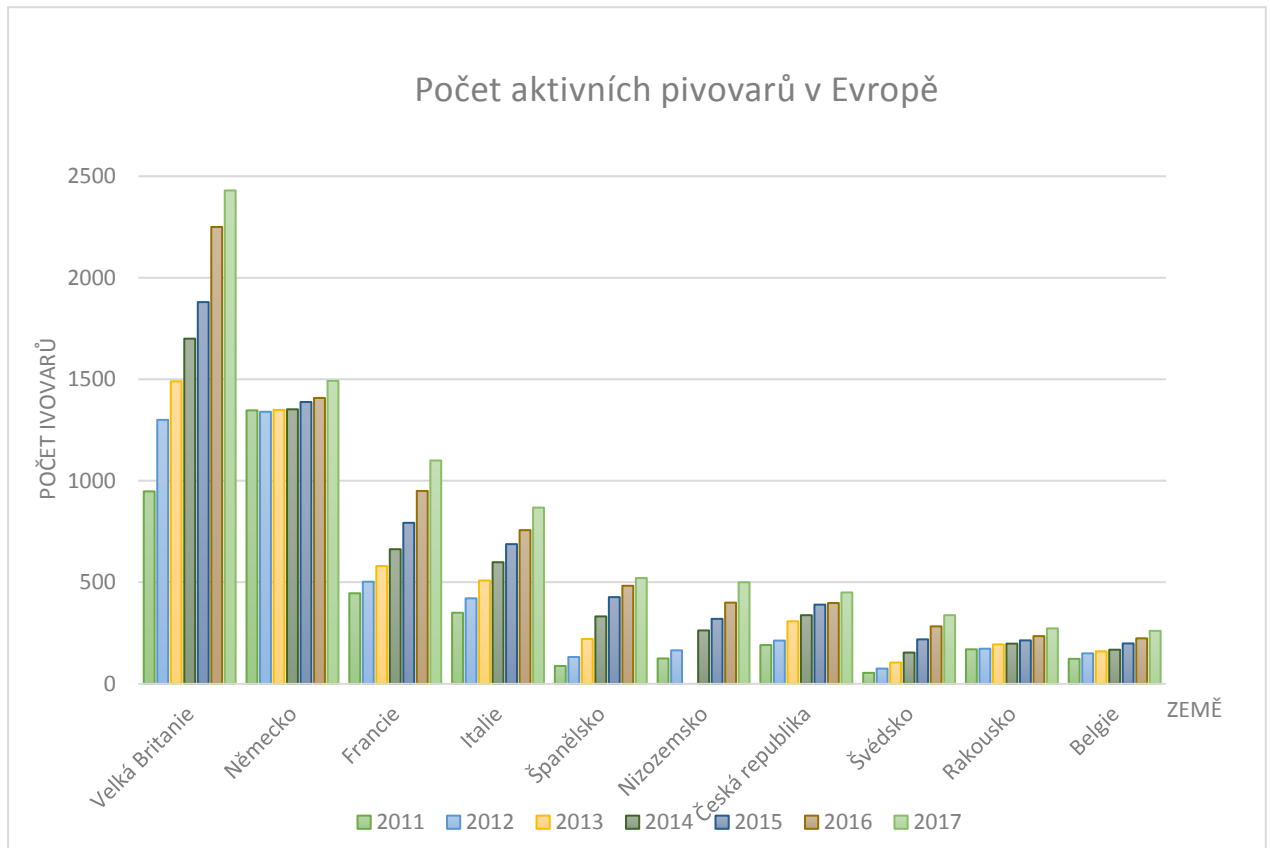
Obrázek číslo 2.



Spotřeba piva v Evropě v průběhu let 2011-2017 (ANONYM, 2018).

V grafu číslo 2. lze pozorovat, že v ostatních zemích nyní nedochází k výraznému poklesu ani růstu spotřeby piva. Graf také potvrzuje, že český národ je opravdu „zemí piva,“ protože spotřeba na obyvatele je o více než 30 l piva vyšší, než je tomu v ostatních evropských zemích. Průměrná spotřeba v Rakousku, Německu a Polsku je podobná, což dokazuje oblíbenost piva ve střední Evropě (ANONYM, 2018).

Obrázek číslo 3.



Počet aktivních pivovarů v Evropě (ANONYM, 2018).

V grafu číslo 3. lze sledovat stoupající tendenci počtu pivovarů. Prvenství obsadila Velká Británie, u které stoupl počet pivovarů za 7 let o více než dvojnásobek. V roce 2017 měli 2430 pivovarů, což je o 1980 více než má Česká republika, ale ve spotřebě jsou až na 18. místě. Většinou se tedy jedná o malé pivovary a jejich výroba jde většinou na export (ANONYM, 2018).

Podle posledních informací z 5. prosince 2019 existuje v EU více než 10 000 pivovarů a spotřeba piva se postupně zvyšuje. Objemy výroby piva poprvé za 10 let překročily 400 milionů hektolitrů. Neustále se zvyšuje kvalita výroby piva a spotřebitelé mají taky na výběr z více druhů výrobků (ANONYM, 2019).

V polovině roku 2018 bylo v České republice 451 pivovarů. Tím jsme se vrátili asi do roku 1930, kdy se pivo v Československu vařilo na 430 místech. Trend minipivovarů stále pokračuje a za několik let se může opakovat situace jako na začátku minulého století, kdy úřady evidovaly 804 pivovarů (Stratilík, 2018).

Domácí vaření piva neboli *řemeslné pivo* („craft beer“) má kořeny v USA. Milovníci piva byli zklamáni chutí piv z velkopivovarů, a tak koncem roku 1970 začali v garáži vyrábět

piva s výraznějším chmelovým a sladovým aroma (Laudage, 2018). Za rok 2015 vzrostl v USA trh s řemeslnými pivovary o 12,8 % a do konce roku 2020 chtějí dosáhnout 20 % celkového podílu na trhu s pivem (Basso et al, 2016).

## 2. SUROVINY PRO VÝROBU PIVA

### 2.1 Slad

Slad se vyrábí máčením, klíčením a následným hvozdením sladovnického ječmene. Sladování je proces, při kterém se zrna obiloviny nechají naklíčit za kontrolovatelných podmínek. Kromě ječmene se používají i jiné obiloviny, jako je kukuřice, proso, oves, žito, čirok, rýže nebo pšenice tritikale. Slad je zdrojem zkvasitelných cukrů a různých živin pro kvasinky, které se přidávají do procesu výroby piva ve fermentační fázi (Boulton, 2013; Jeantet, 2016).

Ječmen setý (*Hordeum vulgare* L.) je sladařskou surovinou patřící do čeledi lipnicovité, do které patří i všechny druhy obilovin s vysokým obsahem škrobu v plodu. Ječmen se seje po sklizni předplodiny (nejvhodnější je okopanina – cukrovka nebo brambory, nejméně vhodná předplodina je kukuřice). Důležitá je předseťová příprava půdy, aby byla půda dostatečně prokypřena. Potom se pozemek urovná a ječmen se zaseje do seťového lůžka. Ječmen začíná klíčit při 1-2 °C (může se tedy pěstovat i v chladnějších oblastech), ale optimální teplota je 15 °C. Obilka musí obsahovat 50-60 % vody. Doba vzejití je 7-10 dnů. Asi 15 dnů po opylení obilka nabývá charakteristického tvaru. Jarní ječmen se sklízí v plné zralosti zrna (optimální obsah vody v zrnech je 17 %), kdy jsou obilky slámově žluté, lesklé a tvrdé. Předčasná sklizeň snižuje výnos a kvalitu a při opožděné sklizni je vyšší riziko výskytu plísně v zrnech (Basařová, 2015).

Při příjmu ječmene do sladovny se musí předčistit od hrubých, kovových a jemných nečistot. Hlavní čištění probíhá na triéru, který odstraňuje půlky zrn a kulatá zrna různých plevelů. Ječmen se musí dosušit na vlhkost 15-17 %. Ječmen by neměl být sušen nad teplotu 60 °C, protože by mohlo dojít k poškození klíčku a aleuronové vrstvy. V případě nesprávného skladování může ječmen začít kvasit za vzniku toxických produktů, které mohou usmrtit zárodek ječmene (Basařová, 2015).

Optimální teplota máčení je 16 °C na obsah vody 45-46 %. Při vyšších teplotách (20 °C) jsou nedostatečné účinky proteolýzy. Při klíčení je důležitý dostatečný příjem kyslíku, a proto musí být promícháván (Speers 2006). Při klíčení ječmene probíhá řada chemických, biochemických, fyziologických a fyzikálních změn ječného zrna a tzv. rozluštění zrna je důležité v kvalitě vyráběných druhů sladů a následně v kvalitě vyráběných druhů pív. Mezi vnější růstové znaky patří tvorba kořínků, které představují 4 % sušiny

sladu. U tmavých sladů je požadována délka kořínků v délce zrna a u světlých jen  $\frac{3}{4}$  délky zrna. Ve stěelce (zárodek listů) jsou obsaženy látky, které příznivě ovlivňují pěnu, chuť a stabilitu piva. Oxidační změny lipidů především při skladování mohou nepříznivě snižovat pěnovost a chuť piva vlivem produktů kyseliny linolové (Basařová, 2015).

Další z technologických postupů výroby sladů je hvozdění neboli sušení. Cílem je snížit obsah vody na 3-4 % u světlých a 1,5-2 % u tmavých sladů, zastavit vegetační procesy a vytvořit chuťové a barevné látky. Hvozdění je prováděno na tzv. hvozdech, kde je zeleným sladem proháněn teplý vzduch. V růstové fázi se používá chladnější vzduch (40 °C), aby vlhkost dosahovala nad 20 % a zrno mohlo i nadále pomalu klíčit. V enzymové fázi se postupně se zvyšuje teplota na 40-60 °C a snižuje se vlhkost pod 20 %, čímž se zastaví vegetační procesy, ale enzymové reakce nejsou ovlivněny. V chemické fázi se snižuje vlhkost pod 10 % a jsou zastaveny všechny enzymové reakce, ale produkují se chuťové a barevné látky (Basařová, 2015).

Nižší teplota u světlých sladů chrání enzymy před denaturací. Slady bavorské, karamelové a pražené (barvící) mají skoro nulovou aktivitu  $\alpha$ -amylasy a  $\beta$ -amylasy. Při šetrném hvozdění klesá aktivita  $\alpha$ -amylasy o 30 % a  $\beta$ -amylasy o 40 %. Frytasa a glycerolfosfatasa ztrácí 50 %, aktivita xylanasy klesá až čtyřikrát. Mezi nejodolnější patří nukleotidasa a sacharofosfatasa (Basařová, 2015).

Během hvozdění při Maillardových reakcích vzniká řada barevných a aromatických látek, které spoluutvářejí charakter výsledného sladů. Mezi nejvýznamnější patří cykloten, norfuraneol, furaneol, maltol, 2-acetylpyrrol a  $\beta$ -damascenon (Basařová, 2015).

Karamelové a barvící slady se vyrábí pražením vyklíčeného zeleného sladů zahříváním za vysokých teplot bez přístupu vzduchu do té doby, než zkaramelizují nebo zuhelnatí (Basařová, 2015).

Mezi základní druhy sladů patří plzeňský, vídeňský, pšeničný, mnichovský, karamel světlý, karamel, karamel tmavý, karamel extra tmavý, karapils, barevný, čokoládový a diastatický. Speciální slady jako barvící a karamelové se přidávají k várce sladů tmavého nebo světlého pro zvýšení barvy, enzymové aktivity, kyselosti, a nebo pro výrobu whisky (Basařová, 2015).

Hydrolýzou obilovin se vyrábějí sladové výtažky, které se po přečištění koncentrují vakuovým odpařovacím procesem. Obsahují směs sacharidů, dusíkatých látek, minerálů, kvasinkových koenzymů a růstových faktorů. V případě zachování enzymatické aktivity se

jedná o diastatické sladové extrakty a pokud jsou enzymatické aktivity zcela zbaveny, nazývají se nediatatické sladové extrakty. Sladové extrakty se většinou používají v domácích pivovarech a minipivovarech (Boulton, 2013).

## 2.2 Voda

Voda je hlavní složkou piva a tvoří 90 až 98 % jeho objemu, a proto je velmi důležitá její kvalita. Ty největší pivovary spotřebují 76 000 hl až 230 000 hl vody denně a jsou často největšími spotřebiteli vody v jejich oblasti. Na výrobu 1 l piva je potřeba 3 až 10 l vody. Většina pivovarů se snaží dosáhnout poměru 3:1 (voda:pivo) (Bamforth a Ward, 2014).

V pivovaru se používají tři druhy vod – pivovarská (varní), procesní a užitková. Pivovarská voda je přidávána přímo v procesu rmutování a vaření piva. Procesní voda je používána k čištění potrubí a filtrů a může přijít do kontaktu s pivem. Užitková voda se používá k čištění prostoru pivovaru (Bamforth a Ward, 2014).

Dříve pivovary používaly výhradně vodu z pivovarských studní, ale s poklesem hladiny podzemních vod a se stoupající výrobou piva museli začít využívat i vodu povrchovou (Rop a Hrabě, 2009). Ve velmi vzácných případech mohou pivovary používat odsolenou mořskou vodu. Podzemní voda je tvrdší než povrchová, ale její složení závisí na hloubce vrtu. Složení vod povrchových zase může ovlivnit roční období (Bamforth a Ward, 2014).

Všechny vody jsou zředěnými roztoky pevných látek a plynů. Mezi nejdůležitější látky patří vápenaté a hořečnaté soli, které udávají výslednou tvrdost vody, která je důležitým ukazatelem kvality vody pro výrobu piva. Rozlišujeme tvrdost nekarbonátovou (stálou), která je tvořena vápenatými a hořečnatými solemi, jako jsou sírany, chloridy a křemičitany. Tvrdost karbonátovou (přechodnou) tvoří hydrogenuhličitan, které se varem rozkládají na uhličitán vápenatý a hořečnatý, oxid uhličitý a vodu. Dle celkové tvrdosti se vody dělí na měkké ( $< 1,4 \text{ mmol.l}^{-1}$ ), středně tvrdé ( $< 2,1 \text{ mmol.l}^{-1}$ ), tvrdé ( $< 5,3 \text{ mmol.l}^{-1}$ ) a velmi tvrdé ( $> 5,3 \text{ mmol.l}^{-1}$ ). Varní voda by neměla obsahovat alkalické uhličitany, chlór, větší množství železa, manganu a dusičnanů (Rop a Hrabě, 2009).

Světznámý světlý ležák vznikl z měkké vody, která má tvrdost do  $1 \text{ mmol.l}^{-1}$ . Pivo má díky tomu jemnou vyzrálou chuť a aroma. Naproti tomu piva typu Ale pochází z anglického města Burton, kde je voda velmi tvrdá až  $9,3 \text{ mmol.l}^{-1}$  a obsahuje velké množství

síranu vápenatého. Chuť piva Ale má díky tvrdé vodě agresivnější a plnou hořkou chuť (Novotný a kolektiv, 2016).

Iontové složení vody je důležité při rmutování a následné kvalitě piva. Vápník při rmutování stabilizuje enzymy, ovlivňuje pH rmutu, odstraňuje oxalát a je důležitý pro flokulaci kvasinek. Při rmutování a během vaření reaguje vápník s fosforečnany, peptidy a proteiny a ovlivňuje kyselost rmutu a mladiny. Vápník reaguje s fosforečnany za vzniku fosforečnanu vápenatého, který uvolňuje vodíkové ionty a tím snižuje pH rmutu. Hladina vápníku v rmutu by měla být 20-150 mg/l. Vzniká také fosforečnan hořečnatý, který ale není tak rozpustný, a proto je jeho účinek slabší. Hořčík hraje významnou roli v metabolismu kvasinek, které jsou důležité pro správnou funkci enzymů. Vyšší obsah sodíku (>150 mg/l) může pivu dodávat slanou a kyselou chuť, ale ve vyšších množstvích může bránit flokulaci kvasinek. V optimálním rozmezí (75–150 mg/l) dodává pivu plnou chuť. Kvasinky potřebují síran jako zdroj síry k výrobě oxidu siřičitého a sirovodíku, což také ovlivňuje výslednou chuť piva (Bamforth a Ward, 2014).

Výskyt dusičnanu v pivovarské vodě je nežádoucí, protože je indikátor znečištění odpadních vod. Přípustná hranice je 50 mg/l. Z dusitanů mohou vzniknout nitrosaminy, které jsou karcinogenní a jejich výskyt nesmí překročit 0,5 mg/l (Bamforth a Ward, 2014).

Filtrace odstraní z vody hrubé nečistoty a uhlíkový filtr odstraní pachy a zbytkový chlor. Voda může být sterilizována chlorem, oxidem chloričitým, ozonem nebo ultrafialovým filtrem. V menších pivovarech může být voda deionizována pomocí reverzní osmózy nebo pryskyřic a varných solí (Bamforth a Ward, 2014). Síran vápenatý pomůže směs vyčistit a podtrhne hořkou chuť piva. Používá se především u IPA, Ale a stoutů. Chlorid sodný zvýrazní chuť jiných přísad a dodá celkově vyváženou chuť. Použití sodíku a síranu by se nemělo kombinovat, protože by výsledné pivo mělo výrazně ostrou chuť (Kunath, 2011).

Pokud je voda použita jako ředidlo výsledného výrobku, musí být ošetřena oxidem uhličitým (Bamforth a Ward, 2014).

### 2.3 Chmel

Chmel (*Humulus lupulus*) je popínavá vytrvalá rostlina patřící do čeledi konopovitých, která se pěstuje pro produkci chmelových hlávek. *Humulus japonicus* je rozšířen v Číně a Japonsku, ale neobsahuje lupulinové žlázy a není vhodný pro



pivovarnictví. *Humulus lupulus* produkuje hořké kyseliny, které dodávají pivu hořkou chuť (Bamforth a Ward, 2014).

Kvašené nápoje typu piva se dříve ochucovaly různými bylinami a chmel začali používat ke kořenění a konzervování piva Slované asi 1 500 let před naším letopočtem. Přisuzuje se jim zavedení používání chmele pro „hořčení“ piva, ale doložené zprávy jsou až z 8. století našeho letopočtu. Další národy začaly chmelit pivo od 13. století a Anglie až od 15. století (Basařová, 2010).

Chmel je náročný na světlo, vláhu a teplotu, a proto jsou pro pěstování nejvhodnější oblasti se slunečním svitem 1 800 až 2 000 hodin a průměrnou roční teplotou 8 až 10 °C. Prudké kolísání teplot na začátku vegetace zpomaluje růst a později sklizený chmel zintenzivňuje barvu mladiny a piva a má snížený obsah polyfenolů, ale zvýšený obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin (Basařová, 2010).

Na chmelnici se pěstují pouze samičí rostliny, protože samčí snižují pivovarskou kvalitu piva. Chmelová réva vyrůstá každoročně ze středu babky, která má životnost 25 let, a dosahuje výšky až 8 m. Réva se vine po drátech po směru hodinových ručiček. Z babky vyrůstají také další oddenky (vlky), které jsou odstraňovány, aby nevyčerpávaly rostlinu. Chmelové hlávky se skládají z vřetenka a pravých a levých listenů, na kterých jsou lupulinové žlázy produkující hořké látky chmele (Novotný a kolektiv, 2016).

V České republice jsou uznávány tři chmelařské oblasti – Žatecko, Úštěcko a Tršicko. Nejvíce se pěstuje žatecký červeňák, který je aromatický a dodává pivům jemnější chuť (Macháč, 2010). Termínem Žatecký chmel mohou být označeny pouze aromatické odrůdy chmele *Saaz* nebo určené klony. Žatecký chmel je chráněn Označením původu dle předpisů Evropské unie (EU 2081/92). Další pěstované odrůdy chmele Saaz, na něž se vztahují právní předpisy, jsou Lucan (1941), Blato (1952), Osvaldovy klony 31, 72 a 114 (všechny registrované v roce 1952), Sirem (1969), Zlatan (1976), Podlesák (1989) a Blanka (1993). Jedná se o aromatické odrůdy s vysokým výnosem. Žatecký chmel dává pivům pšezněského typu charakteristickou delikátní chuť s jemnou hořkostí (Boulton, 2013).

Červeňáky jsou tradiční české, německé, polské a slovinské odrůdy. Země jako Anglie, USA a Austrálie pěstují především zelené odrůdy chmele (zeleňáky). Podle odrůdy se chmel dělí na raný, poloraný a pozdní, každopádně nejdůležitějším hlediskem je dělení chmele dle obsahu hořkých látek. Rozdělujeme jemné aromatické chmely a vysokoobsažené hořké chmely, které obsahují až 15 % hořkých látek. Například odrůda Dual purpose je hořká

i aromatická zároveň a Citral má citrusové aroma a vysoký obsah hořkých látek (Novotný a kolektiv, 2016).

Kvalitu chmelových látek ovlivňují fyziologická onemocnění, která mohou být způsobena špatnou výživou nebo klimatickými výkyvy, které způsobí zasychání chmele, kadeřavost chmele nebo úžeh. Mezi nejčastější houbová onemocnění patří padlí chmelové (*Sphaerotheca humuli*), které zapříčiňuje šedý povlak hlávek a jejich deformaci, a parenospora (*Pseudoperenospora humuli*), dále rody *Fusarium*, *Botrytis cynerea*, *Verticilium alboatrum* a *Verticilium dahliae*. Viry způsobují snížení výnosu a obsahu chmelových pryskyřic. Viroid zakrslosti chmele (HSVd) a latentní viroid chmele (HLVd) způsobují snížení výnosu a obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin. Chmel mohou napadat také bakterie (bakteriosa sazeček a výhonků) a škůdci jako lalokonoces libečkový (*Ortiorrhynchus ligustici* L.), dřepčík chmelový (*Psylliodes attenuata*) a mšice chmelová (*Tetranychus urticae*) (Basařová, 2010).

Po mechanické sklizni chmel obsahuje 72-82 % vody. Následně se suší při nižších teplotách (max 50 °C) ve vrstvě vysoké 20 cm, 5-8 hodin na obsah vody 8 %. Většina sklizeného chmele se zpracovává na různé chmelové výrobky, protože ty nejcennější látky v chmelu podléhají velmi rychle chemické degradaci. Následně se chmel skladuje a jeho vlhkost se zvyšuje na 11 %, poté se třídí, lisuje do žoků. Takhle připravený chmel je určen buď k přímé spotřebě do pivovarů nebo na následné zpracování (Rop a Hrabě, 2009).

Chmelové výrobky jsou koncentráty hořkých látek, jejich manipulace a skladování je jednodušší než s čistým chmelem, který je lisovaný do žoků a méně ovlivňují kvalitativní a organoleptické vlastnosti piva. Mezi nejpoužívanější chmelové výrobky patří chmelové prášky a pelety, dále chmelové přípravky vyrobené extrakcí hlávkového chmele (ethanolový chmelový extrakt a extrakt chmele pomocí oxidu uhličitého), přípravky z chmelových silic, chmelové izoextrakty a izopelety a huluponové extrakty (Basařová, 2010).

Látky obsažené v chmelu jako chmelové pryskyřice, silice a polyfenoly dodávají pivu typickou hořkost a aroma odlišující pivo od ostatních alkoholických i nealkoholických nápojů (Basařová, 2010).

Mezi nejúčinnější pryskyřice v chmelu patří  $\alpha$ -hořké kyseliny skládající se z humulonů, kohumulonů a adhumulonů, které dodávají pivu typickou hořkost. Při nesprávném skladování oxidují na nespecifické tvrdé a měkké pryskyřice, které mají nižší pivovarskou hodnotu. Chmely s vyšším obsahem  $\beta$ -hořkých kyselin, které jsou tvořeny

lupulonem, kolupulonem a adlupulonem, jsou vhodnější pro výrobu pív plzeňského typu, protože dodávají pivu intenzivní jemnost, ale jsou méně účinné než  $\alpha$ -hořké kyseliny. Mezi další pryskyřice patří humulinové a hulupulinové kyseliny. Většina chmelových silic vytěká při chmelovaru a pouze část zůstane v mladině a přejde do hotového piva, kde vytváří specifické aroma. Polyfenoly piva jsou tvořeny z 20-30 % tříslovinami (antokyaniny, flavony a katechiny), které mají srážecí účinky na vysoko a středně molekulární bílkoviny a přispívají k výraznosti a říznosti piva (Rop a Hrabě, 2009).

## 2.4 Kvasinky

Kvasinky jsou mikroorganismy s eukaryotickou buňkou patřící do říše Fungi (Mycota). Společnost EBC (European Brewing Convention) definuje pivovarské kvasinky jako kulturní kvasinky používané k výrobě spodně nebo svrchně kvašených pív (Basařová, 2010). Kvasinky mají velký význam při kvašení mladiny, protože ovlivňují chemické složení piva, jeho trvanlivost a organoleptické vlastnosti (Bendová a Kahler, 1981).

V 17. století A. Leeuwenhoek informoval královskou společnost v Londýně o „kvasinkových kuličkách“ v pivu, ale jeho sdělení byla opomíjena a kvasinky byly považovány za kal piva, který se vylučuje při kvašení. Souvislost mezi kvašením a kvasinkami byla prokázána v 19. století. T. Schwann při pokusech výroby vína a různých hnilobných procesech popřel nutnost účasti kyslíku a Cagniard de Latour sdělil, že kvasinky mění ječmen v pivo. L. Pasteur zjistil, že každé kvašení potřebuje přítomnost mikroorganismu a jedná se o život bez kyslíku. Vydal první vědeckou publikaci o pivu (Etudes sur la biere), kde popisuje čistotu kvasnic, kvasných nádob, omezení přístupu vzduchu a přítomnost nižších teplot (Bendová a Kahler, 1981).

Alkoholová fermentace je prováděna kvasinkami patřící do rodu *Saccharomyces*, jejichž název se překládá jako cukerná houba. Kvasinky se dle chování ve fermentoru dělí na spodně kvašené a svrchně kvašené (Diestler, 2012).

Mezi svrchně kvašené patří druh *Saccharomyces cerevisiae*, které fermentují při 18 až 22 °C 3-4 dny. *S. cerevisiae* zkvašují fruktózu, ale nemohou využívat melibiózu a jsou schopny růst až do 37 °C (Bamforth a Ward, 2014). Kvasinky s vrchním kvašením se používají na výrobu piva ale, stout, porter, barely wine, abbey, saison, rogggenbier (žitné pivo), alt a pšeničná piva (hefeweizen a wit bier) (Diestler, 2012).

Mezi spodně kvašené patří *Saccharomyces pastorianus*, které fermentují při 8 až 15 °C 7-10 dní a dokáží zkvašovat melibiózu (Bamforth a Ward, 2014). Spodní kvasinky se používají k výrobě piva pils (plzeňské), bock, märzen, vídeňský typ a mnichovský typ (Diestler, 2012).

Pro výrobu spontánně kvašených piv se používají kvasinky *Brettanomyces*, které se někdy označují jako „divoké“. Jedná se o piva, které jsou stařená v dřevěných sudech (Borowiec, 2017). Mezi spontánně kvašená piva se řadí například gieuze, lambic, kriek, framboise a faro (Diestler, 2012).

Pivovarské kvasinky mají většinou oválný tvar a jejich buňky jsou dlouhé 6 až 10  $\mu\text{m}$  a široké 5 až 8  $\mu\text{m}$ . Při kvašení mladiny je v 1 ml kolem 15 miliónů buněk kvasinek. Rozmnožování je vegetativní tzv. multipolární pučení, kdy vznikají dva typy jizev: zárodečná a mateřská. Zárodečná vzniká na dceřinné buňce v místě oddělení a mateřská jizva vzniká v místech oddělení následujících pupenů. Podle počtu jizev se určuje stáří buněk (Bendová a Kahler, 1981).

Za vhodných podmínek mohou pivovarské kvasinky sporulovat (mění se ve vřECKA se sporami). Na začátku procesu se zvětšuje objem buňky, zrychluje se pohyb cytoplazmy, zvyšuje se počet granulí, které se shlukují do středu buňky, zvyšuje se sušina a DNA v buňkách, které se následně dělí. Od vegetativních buněk se liší vyšším obsahem glycidů a nižším obsahem proteinů, aminokyselin, RNA a volných ribonukleotidů. Sporulace je aerobní a lze ji charakterizovat jako restrikcí rozmnožování buněk (Bendová a Kahler, 1981).

### 3. NETRADIČNÍ SUROVINY PRO VÝROBU PIVA

#### 3.1 Pohanka

Pohanka setá (*Fagopyrum esculentum Moench*) je jednoletá dvouděložná rostlina patřící do čeledi rdesnovitých a je řazena mezi pseudoobiloviny. Pohanku je vhodné pěstovat v systému ekologického zemědělství, protože její kořeny vylučující organické kyseliny a dobře vážou živiny i z méně vyhnojených půd (Rysová, 2018). Pohanka pochází z jihovýchodní Asie a v ČR se začala pěstovat až v 90. letech 20. století. Plodem jsou nažky, které obsahují dostatek živin a vlákniny. Vzhledem k nízkému obsahu prolaminů a glutelinů se jedná o bezpečnou potravinu. Pohanka má rovněž antioxidační, antimutagenní, antikancerogenní a protizánětlivé účinky a celkově posiluje imunitní systém (Kopáčková, 2007).

Pohanka obsahuje až 18 % bílkovin (převážně albuminy a globuliny), které mají vysokou biologickou hodnotu. Z aminokyselin je nejvíce zastoupen arginin a lysin. Škrob (především amyulóza) tvoří 59-70 % sušiny zrna. Pohankové zrno obsahuje téměř 25 % vlákniny, ale opracováním na krupici obsah klesá na 4,5 %. Tuk (2-3 %) je tvořen především nenasycenými mastnými kyselinami (olejová a linolová). Pohanka prosperuje také vysokou využitelností minerálních látek jako je zinek, měď a mangan. Z vitamínů jsou v pohance zastoupeny především thiamin, riboflavin, niacin, kyselina panthotenová, pyridoxin. Dále obsahuje karotenoidy. Rutin je polyfenolická látka vyskytující se v zrnu a nati pohanky. Zvyšuje propustnost cév a je součástí léků a potravinových doplňků (Rysová, 2018).

Dle studie Phiarais et al, 2010 je pohanka zajímavou surovinou pro výrobu bezpečných piv. Byla stanovena fyzikálně-chemická charakterizace pohankového sladu, limitní aktivita  $\beta$ -amylázy, aromatické sladové sloučeniny byly stanoveny pomocí plynové chromatografie, dále se určila zkvasitelnost cukrů, postup rmutování a analýza pH. Při procesu rmutování byly zjištěny problémy kvůli nedostatku enzymů v pohance, a proto bylo nutné přidat komerční enzymy. Z technologického hlediska je výroba pohankového piva náročnější, protože se vyskytly problémy se scezováním a filtrací, což způsobilo problémy při fermentaci a filtraci piva. Konečný výtěžek extraktu z mladiny pohanky byl pouze 54,5 %. Dle chemické analýzy se pohankové pivo velmi podobá pšeničnému. Byly analyzovány běžně se vyskytující hladiny esterů, které dodávají pivu ovocnou příchut', dále byla detekována vysoká hladina ethyl kaprinátu (kokosová příchut') a kyseliny laurové (mastný zápach). Výsledky studie ukazují, že je pohanka vhodná surovina pro výrobu

bezlepkového piva vhodného pro osoby trpící celiakií. Z hlediska aroma, čistoty, chuti a hořkosti bylo čisté pohankové pivo akceptováno (Phiarais et al, 2010).

### 3.2 Oves

Oves setý (*Avena sativa*) pochází z Malé Asie, má podlouhlá pluchatá zrna. Díky vysokému obsahu bílkovin, esenciálních aminokyselin, vlákniny a obsahu  $\beta$ -glukanů mezi zdravotně nejzajímavější cereálií. Z hlediska pěstování se jedná o nenáročnou, odolnou obilovinu. Zpracovává se především na výrobu ovesných vloček a dětských cereálií RTE (Ready to eat) (Kopáčková, 2007).

Ve středověku se oves běžně používal při vaření piva, ale od roku 1516, kdy byl zaveden zákon o čistotě piva, bylo jeho použití omezeno. Většina pacientů trpících celiakií toleruje oves. Ve studii Klose, 2011 bylo zjištěno, že čistý ovesný slad je vhodný na výrobu různých druhů piv. Avšak kvůli vyššímu obsahu slupek nedošlo k efektivnímu prokvašení mladiny a výsledný nižší extrakt z mladiny měl za následek nižší obsahu alkoholu v ovesném pivu. Výsledné pivo mělo kvůli vyššímu obsahu tuku nižší pěnu, ale zajímavou ostružinovou příchutí. Studie ukázala, že chuť piva z ovesného sladu je podobná s pivem z ječmene (Klose, 2011).

### 3.3 Quinoa

Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) pochází z Jižní Ameriky (z oblasti And) a je jednou z nejstarších plodin v Americe. Patří do čeledi Chenopodiaceae, rod *Chenopodium*. Quinoa roste v nadmořské výšce od hladiny moře až po Andské pohoří (až 4 000 m n.m). Je odolná mrazu i vysokým srážkám (Jancurová et al, 2009).

Z energetického hlediska můžeme quinou srovnat s potravinami jako jsou fazole, kukuřice, rýže nebo pšenice. Obsahuje dostatek kvalitních bílkovin (10-17 %) se zastoupením všech osmi esenciálních aminokyselin, dále dostatek vlákniny, polynenasycených mastných kyselin (linoleová a linolenová) a minerálů (především železo, hořčík a zinek). Quinoa je také dobrým zdrojem vitamínu B (riboflavin, k. listová, thiamin, niacin) a vitamínu E, který je účinný antioxidant. Sacharidů obsahuje do 70 % (ANONYM, 2013).

Výroba piva z quinoi je náročná na správné technologické postupy. Byly optimalizovány přesné podmínky sladování (stupeň máčení, klíčení a správné teploty).

Quinoa obsahuje vysoký podíl xylózy, maltózy a fruktózy. Naopak obsahuje malý podíl amylotických enzymů, a proto proces rmutování trvá déle. Kvůli vysokému obsahu bílkovin má nižší extrakt z mladiny a obsahuje méně alkoholu. Vzhledem k malé velikosti zrn a nedostatečnému množství amylotických enzymů je vhodnost použití quinoi pro výrobu piva omezeno. Výsledné pivo má tmavě hnědou až černou barvu s ořechovou vůní a našedlou pěnou. Má plnou trpkou chuť, a proto se spíše jedná o pivo pro zvláštní příležitosti. Pivo z quinoi je ale mimořádně výživné (Deželak et al, 2014; Hager et al, 2014).

### 3.4 Čirok

Čirok (*Sorghum bicolor*) je bezlepková obilovina pocházející z Asie. Čirok má nižší úroveň aktivity  $\beta$ -amylázy a vyšší teplotu mazovatění škrobu, což může způsobit problémy při rmutování. Vosková odrůda čiroku je nejvhodnější pro pivovarské účely. V Africe se čirok běžně používá na výrobu piva za použití kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a *Lactobacillus leichmannii*. Jedná se spíše o viskózní nápoj se sladko-kyselou chutí. Barva závisí na pH, ale většinou je nažloutlá, při přidání prosa je barva narůžovělá. Studie naznačují, že pro uvaření kvalitního piva z čiroku lze upravit obsah vápníků, pH na 6,5 a přidat dostatečné množství enzymů (Hager et al, 2014).

### 3.5 Kukuřice

Kukuřice (*Zea mays*) je jednoděložná cizosprašná rostlina patřící do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*), rod *Zea*. Kukuřice se pěstovala již 5 000 let př.n.l. a pochází z Jižní Ameriky. Dle endospermu zrna se kukuřice dělí na koňský zub, tvrdou, polozubovitou, pukancovou, cukrovou, škrobnatou a voskovou. Kukuřice se pěstuje převážně pro krmivářské účely na výrobu siláží a senáží. Na lidskou obživu se pěstuje kukuřice cukrová (jako zelenina), která má zrno se sklovitým endospermem a obsahuje amyloextrin. Z kukuřice se dále vyrábí olej, škrob, glukóza, fruktózový sirup a bioethanol. Díky genetické modifikaci genem bakterie *Bacillus thuringiensis*, je kukuřice odolná vůči zavíječi a bázlivci kukuřičnému (Jancurová et al, 2009).

Při výrobě piva můžeme proces rmutování urychlit přidáním enzymů, které štěpí polysacharidy na nižší sacharidy, nebo můžeme přidat rýžový či kukuřičný sirup, což je v podstatě čistá dextróza. Dextróza je zkvasitelný monosacharid, který pivovarské kvasinky využívají při fermentačním procesu. Rýžové či kukuřičné sirupy se přidávají do piva typu *American Light Lager* pro zvýšení metabolismu kvasinek. Výsledkem je lehké osvěžující

pivo bez kukuřičné příchutě. Naopak je tomu u piva *Classic American Pilsner*, kde se přidává do sladu kukuřičná hrubá mouka, která dodá pivu lehce kukuřičnou chuť a vůni (Formanek, 2019).

Želatinace škrobu při výrobě piva ze 100 % kukuřičného sladu nastává o 10-20 °C později než při výroba piva z ječného sladu. Existují waxy odrůdy, které mají vyšší bobtnání zrn díky obsaženému amylopektinu. Výsledné kukuřičné pivo má silné popcornové aroma, které je způsobeno 6-acetyltetrahydropyridinem, 2-acetyl-1-pyrrolinovem a charakteristická vůně je díky přítomnému dimethylsulfidu (Taylor et al, 2013). Díky vyššímu obsahu tuku má kukuřičné pivo nižší pěnu, než je tomu u piva z ječmene (ANONYM, 2013).

### 3.6 Rýže

Rýže (*Oryza sativa*) pochází z Jihovýchodní Asie a patří k nejdůležitějším obilovinám pěstovaných pro přímou konzumaci (základní potravina pro 60 % populace). Asijské národy rýže zkonzumují až 180 kg/osoba/rok. Rýže obsahuje přes 85 % sacharidů, které jsou lehce stravitelné. Neobsahuje cholesterol, sodík ani lepek a obsahuje jen stopové množství tuku. Na našem trhu se můžeme setkat s rýží bílou, hnědou natural, pololoupanou, neloupanou, ve varných sáčcích, instantní, parboiled, basmati, jasmínová, divoká a carnaroli (Kopáčová, 2007).

Pivo vyrobené ze 100 % rýžového sladu má nižší extrakt z mladiny než pivo vyrobené z ječmene. Velmi záleží na výběru správné odrůdy rýže, ale většina má nižší enzymatickou aktivitu, a proto je potřeba přidání průmyslových enzymů. Pivo má také nízký Kolbachův index (poměr rozpustného/celkového proteinu), což znamená špatnou modifikaci během extrakce. Dále je problém s filtrací. Rýžové pivo se nazývá „Zutho“ a obsahuje 3,6-4,5 % objemových alkoholu. Běžně se vyrábí se v Indii a má ovocnou vůni a kyselou chuť. Vzhledem ke svým organoleptickým vlastnostem se nedá srovnat s pivem z ječmene, protože má naprosto odlišnou chuť (Hager et al, 2014).

### 3.7 Další netradiční suroviny pro výrobu piva

- Pšenice triticales a žito – zlepšují kvalitu pěny.
- Proso – bezlepková potravina. Při dodržení správného technologického procesu je srovnatelné s pivem z ječmene.



- Amarant – bezlepková potravina. Používá se většinou jako přídatná surovina, protože čistý slad z amarantu měl za následek nízkou stabilitu pěny piva. Projevil se také problém se scezováním a filtrací (Valentová, 2017).

### 3.8 Netradiční suroviny k ochucení piva

Za posledních 10 let se zvýšil zájem o speciální druhy pív z řemeslných pivovarů. Lidé upřednostňují originalitu menších pivovarů před komerčními ležáky. Většina pivovarů používá chmel pro své konzervační schopnosti a kvůli obsahu hořkých a aromatických látek, které skvěle vyváží sladkou chuť ječmene. Dříve se ale k prodloužení trvanlivosti piva přidávala řada bylin, jako je pampeliška (obsahuje antimikrobní peptidy), kopřiva (antioxidant) a šalvěj (antimikrobiální aktivita). Všechny tyto byliny dodávají pivu zelené až špenátové aroma (Hayward et al, 2019).

Pampeliška obsahuje seskviterpenové laktonové sloučeniny, které dodávají pivu jemnou hořkost. Pivo s přidavkem pampelišky a kopřivy má medovou a zemitou příchut'. Pivo se šalvějí je mírně kořeněné, travnaté, květinové až zázvorové. Ve výzkumu Hayward et al, 2019 dávali účastníci přednost spíše sladkým pivům s květinovým a citrusovým aroma. Negativně byl hodnocen pouze vzhled pšeničného piva, které je mírně zakalené. Ve studii bylo zjištěno, že muži preferovali kořeněné šalvějové pivo a ženy spíše sladší a jemnější pampeliškové (Hayward et al, 2019).

Mezi další netradiční suroviny k ochucení speciálních druhů pív patří například kakaové boby. Čokoládové pivo má černou barvu a stabilní pěnu. Jedná se o vyjimečné pivo, které má jemnou hořkost a říz s typickou čokoládovou vůní a chutí. Některé čokoládové piva mohou obsahovat také vanilku, kokos nebo chilli. Mnoho pivovarů vaří taky dýňové pivo, které je velmi kořeněné (hřebíček, badyán, skořice, muškátový oříšek) a vyniká karamelovou a dýňovou chutí. Má hustou, ale méně stabilní pěnu a jantarovou barvu. Existuje však také bezové, konopné, maté, čajové, kávové, pepřové, zázvorové, medové a ovocné pivo z nejrůznějších druhů ovoce (borůvka, brusinka, ostružina, jahoda, švestka, pomeranč, mandarinka, limeta a další) (Pivní styly).

Studie Gonadini et al, 2016 pojednává o vnímání speciálních druhů pív u obyvatel Itálie, Španělska a Polska. Třešně, brambory, citrusové plody, hrozny, kakaové boby, rýže, kaštiny a maliny jsou příchutě, které Italové mají rádi nejvíce. Zatímco nejméně mají rádi hřebíček a maniok jedlý. Španěly zase nejvíce oslovila příchut' kukuřice, pšenice, rýže, hroznu,

brambor, kakaových bobů, tropického ovoce a citrusových plodů. Podobně jako Italové nemají rádi maniok jedlý a dále pivo ochucené zázvorem. Poslední zkoumaný národ, Polsko, má dle průzkumu nejvíce rádo piva s příchutí malin, hroznů, kakaových bobů, citrusových plodů, třešní a tropického ovoce. Nejméně je oslovila příchut' hřebíčku a lékořice (Gonadini et al, 2016).

## 4. TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA

Jak již bylo popsáno v kapitole číslo 2, pivo se vyrábí ze základních surovin jako je slad, voda, chmel a pivovarské kvasinky. Výroba piva je složitý technologický proces. V pivovarském procesu dochází k přeměně vstupních surovin na sladinu, mladinu a po fermentaci a následném ležení na výsledný produkt, pivo (Speers, 2006).

### 4.1 Příprava mladiny

Mladina je sterilní vodný roztok, jehož příprava se skládá z několika po sobě jdoucích procesů. Nejprve je potřeba sešrotovaný slad smíchat s vodou a zahřát na požadovanou teplotu kvůli aktivaci enzymů, poté scedit sedimentované obalové vrstvy a povařit mladinu s chmelem. Mladina má příjemnou sladkou chuť a vůni. Barva může být od slámově žluté až po černou dle typu použitého sladu (Boulton, 2013).

#### 4.1.1 Šrotování

Šrotování neboli mletí sladu je mechanické narušení ječného zrna na sladový šrot. Hlavním cílem tohoto procesu je zmenšit velikost částic zrn kvůli extrakci aromatických látek ze sladu do rmutu a pro lepší průběh enzymatických změn při rmutování. Dle druhu vyráběného piva a typu separačního procesu se používají buď válcové nebo kladivové mlýny (pokud nám technologie filtrace umožňuje použití jemnější mouky). Drcením pomocí válců vznikne hrubší materiál se zachováním velikosti pluch, které jsou potřebné jako filtrační materiál. Tento typ mletí se nazývá „za sucha“ a optimální vlhkost sladu je 2,5-4 %. K mletí se používají dvouválcové až šestiválcové stroje s různým povrchem válců (hladké nebo rýhované). Mlýny s více válci obsahují také třídič, který oddělí obalový materiál a čistý endosperm, který se dále vymývá na krupici a mouku. Vzdálenost mezi válci je 1,3-1,5 mm. Drcení má dvě fáze – stlačení (tlak) a stříh (mechanická síla). Výhodou mletí za sucha je, že rozemleté vzorky můžeme kdykoli odebrat a zkontrolovat. (Jeantet et al, 2016; Speers, 2006).

K eliminaci poškození pluch, při šrotování, lze použít u šestiválcových šrotovníků kondicionování sladu horkou vodou nebo párou (Speers, 2006).

Dalším způsobem je šrotování sladu „za mokra.“ Slad se namáčí ve vodě do vlhkosti 30 %, tím se slupka stane pružnější a při mletí se může nastavit menší velikost mezi válci (0,35–0,45 mm) pro získání jemnějšího šrotu. Díky kombinaci velkých slupek a jemnému

endospermu dochází k rychlejšímu odtoku a vyššímu extraktu z mladiny. Při odstranění máčecí kapaliny dochází k odplavení některých enzymů, což patří mezi hlavní nevýhodu šrotování za mokra (Speers, 2006).

#### 4.1.2 Vystírání

Vystírání neboli louhování je smíchání odměřeného množství sladového šrotu (sypání) s vodou (nálev) ve vystírací kádě, kde probíhá neustálé promíchávání směsi (vystírky). Nejprve se ohřeje na kyselinotvornou teplotu 35-38 °C, a po důkladném působení fosfatáz část látek přechází do extraktu. Poté se vystírka ohřeje na peptonizační teplotu 48-52 °C, kdy proteolytické enzymy štěpí dusíkaté látky (bílkoviny a peptidy) na jednodušší. (ANONYM, 2012, Novotný, 2017).

#### 4.1.3 Rmutování

Rmutování je dalším stádiem výroby mladiny. Cílem rmutování je pomocí enzymů a vysoké teploty rozštěpit škrob ve sladu na zkvasitelné sacharidy – glukózu, maltózu a dextriny. Směs po vystírání je smíchána s přesně stanoveným množstvím vody a následně udržována ve zvoleném rozmezí teplot po určitou dobu za stálého míchání. Používají se dva způsoby rmutování. Infuzní (jednokotlový) nebo u nás více používaný dekokční (vícekotlový) proces rmutování. Infuzní rmutování se používá většinou pro svrchně kvašená piva a teplota rmutování nepřesáhne 80 °C (Boulton, 2013; Speers, 2006).

Dekokční rmutování je založeno na postupném povaření částí díla. Nejprve je 1/3 vystírky přečerpána do rmutovací pánve a ohřata na nižší cukrotvornou teplotu 60-62 °C. Během této teploty enzym  $\beta$ -amyláza štěpí amylozu a amylopektin na mosacharid maltózu. Dále je směs ohřata na vyšší cukrotvornou teplotu 70-75 °C, kdy je aktivována funkce enzymu  $\alpha$ -amylázy, která štěpí amylozu nejprve na oligosacharidy a postupně až na maltózu a glukózu. Dokonalé zcukření škrobu se stanovuje jodovou zkouškou (škrob se s jodem barví modře, s monosacharidy nereaguje). Poté je dílo přivedeno k varu a dojde k inaktivaci enzymů. Míchadlo se vypne, rozpuštěné látky zůstávají na povrchu nádoby a větší částice sedimentují ke dnu. Následně jsou přečerpány zpět do vystírací kádě. Celý proces se několikrát opakuje. Používá se dvourmutový nebo třirmutový postup. (Novotný, 2017; Speers, 2006).

#### 4.1.4 Scezování

Po skončení procesu rmutování je nutná filtrace, při které se oddělí sedimentované zbytky zrn od extraktu (voda + rozpuštěné látky). První tok mladiny je ve scezovací kádi filtrován přes pluchy a obalové vrstvy zrn sladu, které se následně několikrát proplachují vodou o teplotě 80 °C. Tento proces se nazývá vyslazování sladu. Dochází ke zvýšení podílu extraktivních látek ve výluhu. Sladina je následně filtrována přes látkový filtr. Vzniklá tekutina se nazývá mladina. Zbylé části zrn jsou odpadní materiál a nazývají se mláto (ANONYM, 2012; Jeantet et al, 2016)

#### 4.1.5 Chmelovar

Cílem chmelovaru je inaktivace přítomných enzymů (zabránění dalšího rozkladu sacharidů), sterilace mikrobiální flóry mladiny vařením a pomocí extrahovaných chmelových pryskyřic, extrakce vonných, chuťových a hořkých látek z chmele (izomerace  $\alpha$ -humulonů na isohumulony), koagulace proteinů a tvorba proteino-polyfenolových komplexů (zajistí sedimentaci ke dnu a zabrání nepříznivému zákalu), odpaření a koncentrace mladiny, tvorba barevných a chuťových látek a karamelizace cukrů u tmavé mladiny (Jeantet et al, 2016; Speers, 2006).

Při chmelovaru je mladina ohřívána v měděných pánvích na teplotu od 65 °C až do teploty varu. Mladina se nejprve pomalu předeřívá, aby se předešlo znečištění výluhu, a následně se přivádí k varu, který trvá 30-120 minut dle zvolené technologie a dle druhu vyráběného piva (Speers, 2006).

Jak již bylo řečeno, během chmelovaru dochází ke koncentraci mladiny odpařením až 10 % vody a odparu nežádoucích těkavých látek. U moderních návrhů pivovarů lze dobu varu zkrátit na 1-1,5 hodin, kdy dojde ke odpaření pouze 5 % vody, ale dostatečnému odpaření nežádoucích těkavých látek, protože jsou těkavější než voda. To má samozřejmě vliv i na snížení finančních nákladů na energii (Boulton, 2013).

Chmel se přidává v jedné nebo ve více dávkách. U piv s požadovanou nižší hořkostí a jemným chmelovým aroma lze chmel přidat v jedné dávce 20 minut po začátku varu. Nejčastěji se však přidává část dávky chmele během předeřívání mladiny. Díky přítomným éterickým olejům dochází k eliminaci pění mladiny (Speers, 2006). Během varu mladiny se přidává další část chmele kvůli zachování optimální hořkosti. Přidání poslední dávky

chmele na konci varu zajistí zachování vonných éterických olejů obsažených v chmelu (Boulton, 2013).

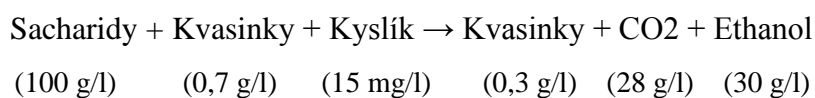
Vzhledem k vysokým finančním nákladům je důležité celý proces optimalizovat a zvolit správnou dobu a teplotu vaření piva. Sládek si musí změřit dobu varu, procento odpaření a spotřebovanou energii. To lze vypočítat metodou hmotnostního toku par (Speers, 2006).

#### 4.1.6 Čištění a chlazení mladiny

Před fermentací se musí mladina vyčistit od sedimentovaných chmelových částic, pomocí odstředivky nebo filtru, a ochladit z bodu varu na 7-10 °C u spodního kvašení nebo na 15-20 °C u svrchního kvašení pomocí protiproudového tepelného výměníku se studenou vodou. Následně je provzdušněna kyslíkem pro optimální průběh fermentace (Jeantet et al, 2016). Kyslík je limitující živina pro regulaci růstu kvasinek v první fázi fermentace a je tedy důležitý pro správnou chuť piva (Speers, 2006).

## 4.2 Fermentace

Po ochlazení se mladina naočkuje pivovarskými kvasinkami a začíná hlavní kvašení (fermentace). Mladina obsahuje zkvasitelné sacharidy, které kvasinky metabolizují na oxid uhličitý a ethanol. Výsledné množství reaktantů a produktů viz rovnice níže. Kvasinky vytváří také další aromatické látky, které se podílí na výsledné chuti a vůni piva. Během fermentace se mladina v důsledku mikrobiální aktivity mění na zkvašený nápoj, kterému se v této fázi říká „zelené pivo“ (Jeantet et al, 2016; Boulton, 2013).



Před naočkováním se může odebrat vzorek mladiny, aby se ukázalo, jestli obsahuje nějaké kontaminující látky (bakteriální kontaminanty jako je jako je *Pediococcus spp.* a *Lactobacillus spp.*, divoké kvasinky *Hansenula*, *Dekkera*, *Brettanomyces*, *Candia*, *Pichia* nebo jiné druhy *Saccharomyces*), které by bránily optimálnímu průběhu fermentace. Obsah kontaminujících látek může také způsobit vznik nežádoucích příchutí piva. Další příčinou nedostatečné fermentace (velkého úhynu kvasinek) může být také nízké pH nebo vysoká teplota mladiny při očkování (Speers, 2006).

Během prvních 6-10 hodin kvasinky spotřebovávají všechnu volný kyslík. Do 16 hodin začínají produkovat oxid uhličitý a jsou viditelné první známky fermentace. Kvasinky vytváří na povrchu nádoby bílou pěnu („zprašování“). Do 24 hodin lze sledovat nárůst buněk kvasinek („pučení“), pěna houstne a je odrážena od středu nádoby („odrážení“). Následuje hustá smetanová pěna („nejintenzivnější kvašení“), kdy je produkováno nejvíce oxidu uhličitého a tepla. Kvašení ustává propadem husté pěny (ANONYM, 2012; Speers, 2006).

Kmeny kvasinek jsou vybrány dle technologických a senzorických požadavků. Jak již bylo popsáno v 2. kapitole, u svrchních kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) probíhá fermentace 2-5 dnů při teplotě 15-25 °C a na konci fermentace kvasinky stoupají na povrch nádoby. Mohou se odebrat, propláchnout a znovu použít. U spodních kvasinek (*Saccharomyces carlbergensis*) probíhá fermentace 5-10 dnů při teplotě 7-12 °C. Na konci cyklu se může snížit teplota na 4 °C, aby se podpořila sedimentace kvasinek na dno nádoby. Rovněž se mohou odebrat a znovu použít (Jeantet et al, 2016; Boulton, 2013).

### 4.3 Zrání

Při zrání (dokvašování) pokračuje fermentace, produkce oxidu uhličitého, sedimentace suspendovaných částic a vývoj chutí. Zrání probíhá v ležáckých sklepech ve velkých tancích bez přístupu vzduchu při teplotě 5-8 °C po dobu 5-8 dní až do úplného snížení obsahu diacetylu, který je metabolizován kvasinkami. Také je odstraněn sirovodík a acetaldehyd. Poté je několik dnů až týdnů udržována teplota 1-3 °C. Doba zrání záleží na typu vyráběného piva. Na konci doby zrání je kvůli vysrážení polyfenol-proteinových komplexů teplota snížena na -1 °C po dobu alespoň 48 hodin (Jeantet et al, 2016; Boulton, 2013).

Je důležité správně určit konec ležení piva, protože v konečné fázi zrání probíhají autolyzační procesy kvasinek intenzivněji což má za následek produkci amino sloučenin, které nepříznivě ovlivňují kvalitu piva (Cuřín et al, 1976).

Po zrání je potřeba odstranit zbytky kvasinek a vytvořené suspendované částice pomocí filtrace. Hlavním cílem je odstranit zbylé mikroorganismy, odstranit polyfenol-proteinové komplexy a vyčeřit pivo, aby bylo průsvitné. V případě velkého rozptýlení kvasinek je možné použít i odstředivku. Při běžné technologii se používá filtrace pomocí filtračních desek s obsahem křemeliny nebo mikrofiltrace křížovým tokem (Jeantet et al, 2016).

Během zrání dochází k formulaci výsledného aroma piva. Pro zlepšení aroma lze přidat chmelové extrakty, obsahující iso- $\alpha$ -kyseliny, jejichž ztráta je při fermentaci velmi nízká. Nakonec se může zvýšit obsah oxidu uhličitého vstříkáním na požadovanou koncentraci pro lepší „říz“ a kvůli prodloužení trvanlivosti piva (Speers, 2006). Pro prodloužení trvanlivosti může být pivo také ošetřeno pasterací. Následně je lahvováno do skleněných lahví, PET lahví, plechovek, sudů nebo tanků (Jeantet et al, 2016).



## 5. MODERNÍ TRENDY V TECHNOLOGII VÝROBY PIVA

Inovace a moderní trendy jsou důležité pro všechny průmyslové odvětví a pivovarství není výjimkou. Spousta zákazníků preferuje tradiční „ležák,“ ale jsou zde i takoví, kteří hledají na trhu neustále nové výrobky. Mezi ně patří nealkoholická, nízkoalkoholická, ochucená, nízkosacharidová, bezlepková a speciální piva. Roste zájem o piva z minipivovarů, kteří vyrábí speciální druhy piv, mnohdy za použití speciálních kvasinek, které vytváří netradiční aroma (Speers, 2006).

V Japonsku je aktuálním moderním trendem výroba *Happoshu*, což je „šumivý likér,“ který obsahuje 25 % sladu a 75 % kukuřice nebo rýže. Důvodem výroby tohoto typu nápoje je nízká cena, kvůli nižší daňové třídě. V Japonsku se pivo definuje jako alkoholický nápoj, který obsahuje 66,7 % w/w sladu. *Happoshu* obsahuje stejný obsah alkoholu jako pivo, ale rozdíl je samozřejmě v jiné chuti. Japonští pivovarníci také experimentují s přidávkem různých druhů ovoce a zeleniny (Speers, 2006).

V USA, Anglii i Evropě roste trh s ochucenými pivními nápoji s přidávkem jiného alkoholického nápoje, jako je například rum nebo tequila. V Brazílii jsou oblíbená nealkoholická piva obsahující přídavek kofeinu, ženšenu nebo guarany a jsou ochucena malinou, třešní nebo ostružinou (Speers, 2006).

Některé pivovary vyrábí tzv. „ledové pivo.“ Po fermentaci je pivo ochlazeno na teplotu mrazu, dokud se nevytvoří ledové krystaly, které jsou následně odstraněny filtrací. Cílem je vytvořit jemnější pivo s vyšším obsahem alkoholu. Odebraná voda může být každopádně do piva následně přidána. Výhodou výroby ledového piva je také odstranění nežádoucích proteinů, vytvářejících zákal, a taninů, díky čemuž má pivo lepší stabilitu (Speers, 2006).

### 5.1 Aplikace nových mikroorganismů

#### 5.1.1 „Non-Saccharomyces“ kvasinky

Kvasinky „non-Saccharomyces“ vzbudily zájem o pivovarskou vědu jako inovativní a klíčový způsob vytváření nových chutí piva, výrobu nealkoholických, nízkoalkoholických a nízkosacharidových piv. Při zkoumání nového druhu kvasinek se analyzuje především fermentace mladiny, výtěžek ethanolu, vliv chmelových kyselin na jejich metabolismus a tolerance k ostatním druhům kvasinek. Výzkum kvasinek je dále zaměřen na produkci extracelulárních enzymů a zajímavých sekundárních metabolitů, které mohou dodávat

výslednému pivu zvláštní aroma. Důležité jsou samozřejmě také nežádoucí sekundární metabolity, které by zásadně ovlivnily jakost výrobku (Methner et al, 2019; Basso et al, 2016).

Nových druhů kvasinek pro výrobu speciálních a odlišných druhů pív je opravdu spousta. Velká část z nich byly dříve považovány jen za „špatné“ kazící se mikroorganismy. Rody jako je *Dekkera*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Torulasporea* a *Wickerhamomyces* se díky svým aromatickým vlastnostem mohou použít pro „bioflavoring“, dále pro výrobu nealkoholických a nízkosacharidových pív nebo dokonce funkčních pív, které navíc obsahují vyšší množství vlákniny, vitamínů, minerálních látek a polyfenolů (Basso et al, 2016).

Ve studii Methner et al, 2019 byly zkoumány kvasinky z rodu *Cyberlindnera*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Kazachstania*, *Kluyveromyces*, *Lachancea*, *Metschnikowia*, *Nakazawaea*, *Pichia*, *Saccharomycopsis*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspores*, *Zickeroscesca*, *Wickesyceszy* a *Wickerycesy*. Aplikované kvasinky byly kultivovány v médiu na základě glukózy a výsledné těkavé sloučeniny byly detekovány plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií. Dále bylo analyzováno využití maltózy, vliv iso- $\alpha$  a iso- $\beta$  kyselin a obsah ethanolu na růst kvasinek, aby se určilo, jestli existují omezení v určitých koncentracích, které by narušili velkoprodukcí piva (Methner et al, 2019).

Výsledky testů potvrdily dostatečně vysokou odolnost kvasinek vůči ethanolu a chmelovým kyselinám, a proto by se o nich mohlo uvažovat pro výrobu standardního piva. Screening odhalil, že kvasinky *W. anomalus*, *Z. rouxii*, *S. fibuligera*, *K. servazzii*, *L. kluyveri* a *T. microellipsoides* mají schopnost fermentovat melibiózu. Nicméně pouze 14 % ze 110 testovaných kvasinek bylo schopno tento druh cukru využít. Kmen *P. kluyveri* produkoval pozoruhodná množství příjemného isoamyl acetátu. Naproti tomu kmen *Z. florentina* způsobil zatuchlou vůni. Pivo fermentováno kvasinkou *Z. rouxii* obsahovalo vyšší množství diacetylu, ethylacetátu a mělo zřetelný charakter pšeničného piva (Methner et al, 2019).

Obecně lze shrnout, že kmeny *S. fibuligera* a *C. misumaiensis* jsou zajímavé pro výrobu nealkoholických pív. Kvasinka *S. fibuligera* dodala pivu příjemné ovocné aroma připomínající švestku a lesní plody. Přítomnost esterů (ethylbutyrát a ethylacetát) a isoamylacetátu mělo za následek sladkou a ovocnou příchut'. Kvasinka *C. misumaiensis* dodala pivu také významné množství těkavých látek, které měly sladké medové a ovocné aroma (Methner et al, 2019).

Screeningu byly podrobeny i kvasinky *K. lactis* a *K. Marxianus* používané pro mléčnou výrobu. Obě kvasinky mají schopnost produkovat aromatické sloučeniny, které pivu dodávají ovocné, květinové a medové aroma. Kvasinky jsou vhodné pro výrobu nealkoholických piv (Methner et al, 2019).

#### 5.1.1.1 *Saccharomyces ludwigii*

Studie Francesco et al, 2015 potvrdila vhodnost kvasinky *Saccharomyces ludwigii* pro výrobu nízkoalkoholických a nealkoholických piv kvůli neschopnosti metabolizovat maltózu. Všechny testované kmeny *S. ludwigii* produkovaly do 1 % alkoholu. Kvasinkou byly produkovány vyšší alkoholy (n-propanol, isobutanol, 2-methyl-1-butanol a 3-methyl-1-butanol), které dodávají „alkoholovou“ příchuť. Bylo produkováno dostatečné množství esterů, které dodaly jemnou ovocnou a květinovou chuť a vůni. Z dalších výhod použití *S. ludwigii* byla nízká produkce nežádoucího acetaldehydu a diacetylu. Výsledné pivo mělo nasládlou chuť (Francesco et al, 2015).

V další studii Adamenkoa et al, 2019 byla mladina fermentována kvasinkou *Saccharomyces ludwigii* po dobu 3 dnů a poté polovina ochucena šťávou z třešně Cornelian, čímž se pivo obohatilo o přírodní antioxidanty. Pivo mělo 3x vyšší antioxidační aktivitu než klasické pivo a také vyšší obsah polyfenolů. Ochucené pivo mělo jahodovou až malinovou barvu s intenzivní ovocnou chutí (malina, citrus, jahoda, třešeň, červený rybíz) a příjemnou kyselostí a hořkostí. Chuť byla osvěžující třešňová až rybízová. Pivo bylo ohodnoceno jako velmi dobré. Výsledné pivo se tak řadí do nové kategorie „non-alcoholic Sour Ale.“ Byly detekovány vysoké množství maltózy a maltotriózy, protože kvasinka *Saccharomyces ludwigii* je nedokáže metabolizovat. Neochucené pivo fermentované kvasinkou *Saccharomyces ludwigii* bylo popsáno jako lehké pivo s jemnou vůní ovoce (lesní plody a grep) a slámovou barvou. Hlavní nevýhodou obou piv bylo nedostatečné nesyacení (nedostatek CO<sub>2</sub>) a špatná pěnivost (Adamenkoa et al, 2019).

#### 5.1.1.2 *Dekkera/Brettanomyces*

Druhy kvasinek *Dekkera/Brettanomyces* jsou nejvýznamnějšími nekonvenčními kvasinkami. Běžně se používají na výrobu spontánně fermentovaného Lambicu. Při zrání piva vytváří od čtvrtého až do desátého měsíce řadu aromatických látek, jako je ethylfenol, ethylguaiacol, kyselina isovalerová, kyselina octová a ethylacetát, které Lambicu dodávají typickou chuť a vůni. Při očkování v čistých kulturách společně se *S. Cerevisiae* ovlivňují

smyslový profil ovocným a květinovým aromatem. Při zvolení správného očkovacího množství *S. Cerevisiae* a *Dekkera/Brettanomyces* se může minimalizovat vznik nežádoucích sekundárních metabolitů. Naopak při vysoké koncentraci mohou *Dekkera/Brettanomyces* vyvolat nepříjemné až fekální příchutě (Basso et al, 2016; Coelho et al, 2020).

V současné době je uznáno pět druhů *Dekkera*: *B. anomalus* (*D. anomala*), *B. bruxellensis* (*D. bruxellensis*), *B. custersianus*, *B. naardenensis*, a *B. nanus*. Kvasinky *D. bruxellensis* a *D. anomala* se běžně vyskytují v pivovarských procesech. Mají dobrou fermentační aktivitu, jsou odolné vůči osmotickému tlaku, prostředí s nízkou koncentrací kyslíku, s vysokou koncentrací sacharidů a ethanolu a také jsou odolné vůči nízkému pH. Při vysoké koncentraci sacharidů fermentují anaerobně (Crabtree efekt) a produkují malé množství kyseliny octové. Jejich metabolismus vede k zajímavým výsledkům při výrobě piva. *Dekkera/Brettanomyces* jsou schopny metabolizovat dextriny, což vede k nízkému zbytkovému cukru v pivu a tím pádem k nižšímu obsahu kalorií. Testy ukázaly, že *D. bruxellensis* je tolerantní až k 20 % ethanolu, naopak pro *D. anomala* je množství 8 % toxické. *Dekkera/Brettanomyces* mají schopnost produkovat enzym  $\beta$ -glukosidázu, která může mít za následek konkurenceschopnost *Dekkera/Brettanomyces* s ostatními mikroorganismy přítomnými v pivovarském prostředí a vznik nových příchutí. Enzymatická hydrolýza má za následek vznik zajímavého aroma, nicméně tato problematika zatím není dostatečně prozkoumána (Basso et al, 2016, ANONYM, 2017).

Za hlavní nevýhodu *Dekkera/Brettanomyces* se považuje schopnost metabolizovat kyselinu ferulovou, p-kumarovou a kávovou, které jsou přítomny ve zrně obilovin a mají na následek vznik fenolických příchutí (guma, spálený plast, kůže). Přítomnost těchto sloučenin nad prahem vnímání je nežádoucí (Basso et al, 2016).

### 5.1.1.3 *Wickerhamomyces anomalus*

Kvasinka *Wickerhamomyces anomalus* je tolerantní k extrémním podmínkám, jako je osmotický tlak a nízké pH. Naopak je ale citlivá k vyšším koncentracím ethanolu. Může růst bez přístupu kyslíku, za extrémního pH (2-12,4) a v rozmezí teplot 3-37 °C. *W. anomalus* dokáže metabolizovat širé spektrum cukrů, jako jsou hexózy, pentózy, disacharidy a polysacharidy, ale některé studie naznačují neschopnost metabolizovat malibiózu. *W. anomalus* má pro svůj inhibiční účinek na některé nežádoucí mikroorganismy potenciál ve využití při společné fermentaci s ostatními kvasinkami (Basso et al, 2016).

#### 5.1.1.4 *Torulaspora delbrueckii*

Kvasinka *Torulaspora delbrueckii* je vysoce osmotolerantní a dokáže růst za velmi nízkých teplot. Fermentuje aerobně. Dokáže metabolizovat glukózu, fruktózu, maltózu (pouze v přítomnosti enzymu maltáza) a některé kmeny dokonce i maltotriózu. Dokáže růst jen do 5 % ethanolu ale do vysoké koncentrace iso- $\alpha$ -kyselin (50 mg/l). Dle studií jsou některé kmeny schopny produkovat 2-fenyletanol (květinová příchut' po růžích), n-propanol, i-butanol a amylalkohol (aroma brandy). *Torulaspora delbrueckii* neprodukuje nežádoucí fenolové příchutě. Nápojům dodává sladkou medovou a hruškovou příchut' s lehkou vůní po citrusech (Michael et al, 2016; Basso et al, 2016).

#### 5.1.2 Zefektivnění pivovarských kvasinek

Fermentace a zrání jsou časově, a tedy i finančně, nejnáročnější procesy v pivovarnictví. Pro zefektivnění procesu lze použít hybridní, speciálně upravené nebo imobilizované kvasinky, které by dokázaly fermentovat vysoce koncentrovanou mladinu (nad 20 % hmotnostních). Fermentovaná mladina by měla více než 6 % objemových alkoholu a následně by se tedy zředila na požadovanou koncentraci.

U nízkosacharidových piv lze použít kvasinky s glykoamylázovou aktivitou, které dextriny degradují na glukózu a tu následně na ethanol.

Díky genetické kontrole lze vybrat druhy kvasinek, které při fermentaci produkují více oxidu siřičitého, který je silný přírodní antioxidant a přispívá k senzorické stabilitě piva (Krabín et al, 2017).

##### 5.1.2.1 Použití genetické modifikace kvasinek

Genetická modifikace kvasinek je velmi náročná. Kmeny kvasinek se modifikují za účelem prodloužení stejné chuti piva v průběhu skladování, stability pěny, snížení produkce ethanolu, zkrácení doby fermentace a zlepšení účinnosti výroby.

Používání genetických modifikací kvasinek má mezi odborníky mnoho obav a rizik. Například by to mohlo vést ke snížení mikrobiální rozmanitosti nebo horizontálního přenosu genů na jiné organismy, což by mohlo ohrozit lidské zdraví. Prováděné genetické změny jsou ale u kvasinek velmi malé, protože velké změny by mohly mít za následek produkci sekundárních metabolitů při fermentaci a zhoršení senzorických vlastností. Dále se odborníci obávají rizika poškození lidského zdraví kvůli rezistenci na antibiotika, zvýšené karcinogenity nebo alergicity související s modifikací genetického materiálu daného

mikroorganismu a neočekávanými účinky nově produkovaných proteinů. V případě filtrovaného piva je tato obava ale zbytečná, protože kvasinky jsou z nápoje prakticky odstraněny. Každopádně se ustupuje od izolačních postupů s následnou rezistencí na antibiotika. V některých nových metodách dokonce nebyly nalezeny stopy cizího DNA v modifikovaných kvasinkách.

V budoucnu lze očekávat, že genetické modifikace kvasinek zefektivní a zlevní výrobu piva (Krabín et al, 2017).

### 5.1.2.2 Použití tradičních metod

S ohledem na legislativní, marketingové, sociologické a etické vnímání genetické modifikace v předchozí kapitole lze kmeny kvasinek zefektivňovat i použitím tradičních metod, jako je hybridizace (křížení). Vzácné křížení může vést k produkci triploidních a více ploidních hybridů, kteří nesou genetické informace obou rodičů. Masové křížení je založeno na náhodném křížení velkého počtu buněk, je efektivnější než ostatní hybridizační metody, ale velké genetické změny mohou vést k technologickým a sensorickým změnám piva, což je v pivovarnictví nepřijatelné. Protoplastová fúze je založena na odstranění buněčné stěny rodičovských buněk, sloučení genetického materiálu a následné karyogamii (regenerace buněčné stěny). Protoplastová fúze byla například použita na kvasinky *S. eubayanus*, které byly následně schopny fermentovat při nižších teplotách než mateřské buňky kvasinek.

Křížení kmenů kvasinek má ale za následek vznik sekundárních metabolitů. Následná chemická nebo UV mutace může potlačit vznik nežádoucích esterů. Mutované kvasinky jsou také schopny produkovat vyšší množství ethanolu, méně kyseliny octové a méně acetaldehydu (trávová příchut'). Byla také sledována zkrácená doba fermentace. Při páření *S. cerevisiae* a *S. eubayanus* vznikl hybrid, který ztratil schopnost produkovat nežádoucí fenolové příchutě (Krabín et al, 2017).

### 5.1.2.3 Použití metabolického inženýrství

V roce 1991 byly vyčleněny geny z *S. diastaticus* kódující glukoamylázu a geny z *Bacillus amyloliquefaciens* kódující  $\alpha$ -amylázu, které degradovaly až 93 % škrobu na glukózu a maltázu, což postupně vedlo k vývoji amylotických kmenů kvasinek. Mladina fermentovaná rekombinantními kvasinkami obsahovala až o 76,8 % méně reziduálních cukrů ve srovnání se standardně fermentovanou mladinou. Díky racionálnímu inženýrství se také podařilo potlačit předčasnou flokulaci kvasinek (Krabín et al, 2017).

### 5.1.3 Probiotické bakterie

První probiotické pivo vzniklo v České republice pod vedením moravských mikrobiologů a Vysokého učení technického v Brně. Pivo obsahuje laktobacilové a probiotické kultury, jež příznivě působí na náš zažívací trakt. Při dodržení DDD (denní dávka pro muže je 0,5 l a pro ženy 0,3 l), je pivo prospěšné pro zvýšení imunity a zlepšení zažívání. Pivo obsahuje sto milionů prospěšných bakterií a na konci expirace jich dle výrobce obsahuje minimálně jeden milion. Probiotické pivo je kombinace jednotlivých složek piva s živnou probiotickou kulturou, která nemá žádný negativní vliv na chuť piva (ANONYM, 2020).

Do kyselejších druhů piv jako je Belgická lambics a Flanders red ales se laktobacily nebo octové bakterie běžně přidávají. Kvůli dlouhé fermentaci a nestálé chuti se ale čisté nebo smíšené kultury laktobacilů nepoužívají jako startovací kultury. Studie Mei Thi Alcine et al, 2019 potvrdila, že lze použít laktobacily jako startovací kultury pro výrobu piva. Probiotika vykazují antioxidační, antimikrobiální a antikancerogenní účinky. Dále posilují imunitu a jsou prevencí symptomů způsobených rotavirem (Mei Thi Alcine et al, 2019).

Udržet živé probiotické bakterie v pivu je ale technologickou výzvou, protože hořké iso- $\alpha$ -kyseliny z chmele mají silné antimikrobiální účinky a inhibují růst grampozitivních laktobacilů. Proto byl růst *Lactobacillus paracasei* L26 spolu se *Saccharomyces cerevisiae* S-04 sledován v neošetřené mladině. Chmelový extrakt byl přidán až po fermentaci. Cílem bylo vyvinout pivo s živými probiotickými bakteriemi (Mei Thi Alcine et al, 2019).

Společná fermentace mladiny probíhala 2 dny při teplotě 30 °C, aby se namnožilo co nejvíce probiotických kultur. Poté byla teplota snížena na 20 °C na 8 dní, aby se zahájila fermentace kvasinek. Bylo sledováno, že přítomnost kvasinek neovlivnila životaschopnost laktobacilů. Po fermentaci byl přidán chmelový extrakt (27 IBU). Dále byl sledován i pokles pH na konečných 3,62 kvůli produkci kyseliny mléčné. V pivu byl detekován nižší obsah ethanolu ve srovnání s čistou kvasinkovou kulturou, ale rozdíl byl zanedbatelný. To dokazuje, že probiotikum neohrozilo metabolismus kvasinek. Byly také detekovány vyšší hladiny 2-fenylethylalkoholu a isoamylalkoholu, které dodaly pivu jemné medové aroma (Mei Thi Alcine et al, 2019).

Po přidání chmelového extraktu byla úmrtnost probiotických bakterií závislá na teplotě skladování. Při 25 °C klesl obsah *L. paracasei* L26 po 3 dnech pod 7 log CFU/ml.

Při skladování do 5 °C klesl obsah *L. paracasei* L26 pod hodnotu 7 log CFU/ml až 22 den po skladování. Z toho vyplývá, že životaschopnost probiotik lze zvýšit nízkými skladovacími teplotami, ale také přítomností živých kvasinek (Mei Thi Alcine et al, 2019).

Předmětem dalších výzkumů by bylo vyšlechtit probiotický kmen odolný vůči hořkým chmelovým kyselinám. Tím by se rozšířila možnost vytvoření dalších probiotických stylů výroby piva (Mei Thi Alcine et al, 2019).

Další studie Akaa et al, 2020 potvrzuje, že laktobacily jsou vhodné jako startovací kmény pro kvašený nápoj z čiroku. *Lactobacillus fermentum* S6 a *P. acidilactici* S7 fermentují kyselou mladinu a inhibují růst potencionálních kontaminantů a škodlivých patogenů, čímž se zvyšuje bezpečnost produktu. Ani u jednoho kmene se bohužel nepotvrdila probiotická aktivita, ale u *L. fermentum* S6 byla sledována produkce vitamínů (Akaa et al, 2020).

## 5.2 Výroba bezlepkových piv

Celiakie je vrozené onemocnění, které se projevuje nesnášenlivostí lepku. Podstatou tohoto onemocnění je neadekvátní reakce imunitního systému na lepek. Nejedná se však o alergickou reakci. Aby se celiakie projevila je zapotřebí genetická predispozice abnormální vnímavosti na lepek, na rozdíl od alergické reakce, která není závislá na genetice. U jedince postiženého celiakií dochází ke vzniku chronického zánětu sliznice tenkého střeva a postupné ztrátě slizničních klků. Příznakem onemocnění je například změněná stolice, bolesti břicha, nadýmání, nechutenství, úbytek hmotnosti, chudokrevnost nebo problémy se spaním. Neléčená celiakie může vést k podvýživě a k dehydrataci organismu (ANONYM, 2001). Celiaci mají navíc zvýšené riziko cukrovky, osteoporózy a rakoviny tlustého střeva (Kerpes et al, 2017).

Trh s potravinami bez lepku je jedním z nejrychleji rostoucím potravinářským odvětvím, a proto lze očekávat nárůst výroby bezlepkových piv (Hager et al, 2014). Bezlepkové pivo musí být označeno „bez lepku“ a obsahovat nejvýše 20 mg/kg (ppm) lepku. Pro stanovení obsahu prolaminů v pivu slouží metoda *ELISA* (enzyme-linked immunosorbent assay), která dokáže odhalit množství nad 4,6 ppm pšeničného gliadinu, ječného hordeinu a žitného sekalinu (Gabrovská, 2019). Jedná se o imunitest s protilátkou R5, která dokáže rozpoznat několik opakujících se etiopů (QQPFP, LQPFP, QLPYP, QLPTP, QQSFP, QQTFP, PQPFP, QQPYP a PQPFP). Většina testů *ELISA* bohužel nedokáže



přesně identifikovat lepek, který byl během výroby částečně hydrolyzován na fragmenty s jedním nebo více epitopy. Pro tyto technologie je vhodná metoda *RIDASCREEN gliadin* (Hager et al, 2014). Piva „bez lepku“ musí být v ČR analyzována v laboratoři Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského nebo jinými akreditovanými laboratořemi a pravidelně kontrolována SZPI (Gabrovská, 2019).

První bezlepkové pivo bylo v ČR uvařeno v roce 2008. Jednalo se o pohankové nefiltrované 9 % pivo. Chuť byla velmi dobrá, ale vzhledem k vysokým výrobním nákladům a složité technologii byla výroba ukončena. Následně byl k dostání 11 % kukuřičný ležák s přídavkem ibišku a karamele. Dnes jsou v ČR k dostání i bezlepková piva uvařena z ječného sladu. Například Žatecký pivovar má patentovanou technologii na výrobu bezlepkového piva. Lepek je z ječmene odstraněn a část sladu je nahrazena speciálními odrůdami prosa. Bezlepkové pivo z Žateckého pivovaru se nazývá *Celia*. Jedná se o chuťově velmi jemné až nevýrazné pivo s nízkou pěnou. Má světle zlatou barvu a jemnou chmelovou vůni. Naproti tomu Rodinný pivovar BERNARD vyrábí bezlepkový ležák se zlatohnědou barvou, který má příjemně sladkou a jemně hořkou chuť s vysokou a stabilní pěnou (Pro alergiky, 2014). Mezi další pivovary vyrábějící pivo „bez lepku“ patří Pivovar Ferdinand, s.r.o. (bezlepkový světlý ležák Premium 12 % a nealkoholické pivo 0,5 %), Plzeňský Prazdroj, a.s. (Bezlepkový Birell) a Pivovar Clock s.r.o. (Gluten free PALE ALE) (Gabrovská, 2019).

### 5.2.1 Výroba sladu z bezlepkových surovin

K výrobě bezlepkových piv lze použít přirozeně bezlepkové potraviny, jako je pohanka, rýže, proso, quinoa, čirok, kukuřice nebo amarant. Jednotlivé suroviny jsou popsány v kapitole číslo 3. Nejčastěji používanou bezlepkovou surovinou pro výrobu piva je vzhledem k nízké ceně rýže a kukuřice. Pivo vyrobené z bezlepkových surovin se velmi liší v chuti a v kvalitě, což může být negativně hodnoceno spotřebiteli. Problémem netradičních surovin je, že musí být správně upraveny technologické parametry výroby (teplota a pH rmutování, vaření, podmínky fermentace, správný výběr kmenů kvasinek, rychlost míchání a podmínky skladování). Dalším problémem je delší doba klíčení sladu, což může mít za následek vznik plísní. Při sladování není vytvořeno dostatečné množství enzymů jako u sladu z ječmene nebo z pšenice, a proto musí být dodány průmyslové enzymy nebo bezlepkové doplňky, jako je invertní nebo agávový sirup nebo kukuřičná zrna. Problémem je také vyšší teplota mazovatění škrobu (nad 65 °C), což může vést k deaktivaci

$\beta$ -amylázy ještě před rozštěpením škrobu. Tento problém lze vyřešit přidáním exogenních průmyslových enzymů (Hager et al, 2014).

### 5.2.2 Enzymatická hydrolýza

K degradaci peptidových sekvencí obsahujících prolin se může použít enzym *propyl endopeptidáza* (AN-PEP), který hydrolyzuje peptidové vazby a proteiny. Je stabilní do teploty 50 °C a obsahu alkoholu 9,1 % objemových. Použití enzymu nevyžaduje úpravu technologických postupů výroby piva, ale musí být zachována mikrobiální čistota. Podle prováděných studií byla prokázána 100 % účinnost snížení obsahu lepku. Enzym *propyl endopeptidáza*, pocházející z *Aspergillus niger*, se používá v pivovarství jako prevence zákalu piva. Enzym se může přidat během fermentace nebo do hotového produktu, aniž by to mělo negativní dopad na výslednou chuť a stabilitu pěny. Při inkubaci 90 hodin při 25 °C byl snížen obsah lepku na 3,1 mg/kg (Hager et al, 2014; Kerpes et al, 2017).

Dle studie Taylor et al, 2018 lze ke snížení obsahu lepku v pivu použít i enzym *transglutaminázu* (mTG). Pivo bylo ošetřeno různými koncentracemi mTG a nebyly zaznamenány velké rozdíly v chuti ani ve stabilitě pěny. Výsledné testování obsahu hordeinu v pivu bylo prováděno za pomoci protilátky antigliadinu. Ukázalo se, že aplikace 231 g/hl mTG měla za následek snížení obsahu lepku na 5 ppm, což znamená, že pivo může být označeno „bez lepku.“ Při aplikaci mTG 92,5 g/hl byl obsah lepku snížen jen na 12 ppm, což je z legislativního hlediska taky přijatelné. Při aplikaci pouze 9,2 g/hl se obsah lepku snížil na 45 ppm. Obsah lepku v neošetřeném pivu vykazoval hodnotu 88 ppm (Taylor et al, 2018).

Další alternativou je použití enzymu *endoproteáza A* (EPA) (optimální pH 4,5-5 a teplota 45 °C) a *endoproteáza B2* (EPB) (optimální pH 4,5-4,6 a teplota 44 °C), které degradují jednotlivé hordeiny efektivněji než ostatní enzymy. Oba zmíněné enzymy jsou schopny úplně degradovat C a D-hordeiny, zatímco B1 a B3 štěpí jen částečně. Při kombinaci *endoproteázy B2* a *propyl endopeptidázy* v poměru 1:1 se dosáhlo lepších výsledků štěpení hordeinů (Kerpes et al, 2017).

### 5.2.3 Delší naklíčení sladu

Dalším způsobem, jak snížit obsah lepku v pivu, je delší naklíčení pšenice, žita nebo ječmene. Při klíčení se zvyšuje obsah hydrolytických enzymů (proteáz), které degradují zásobní proteiny, jako jsou prolaminy. U pšenice bylo prokázáno snížení gliadinových

frakcí, ale nedošlo k jejich úplné eliminaci. U ječmene došlo také ke snížení obsahu hordeinu, ale ne na takovou úroveň, aby výrobek mohl být nazván „bez lepku,“ protože ječmen je odolnější vůči hydrolýze (Hager et al, 2014).

Studie Taylor et al, 2018 potvrzuje vliv delšího klíčení na obsah hordeinu v ječném sladu. Tyto proteiny se při klíčení štěpí na aminokyseliny. Bylo vyrobeno pivo ze sladu klíčeného 3, 5 a 7 dnů. Ječmen byl ponořen do vody o teplotě 14 °C po dobu 5 hodin. Poté 19 hodin odpočíval při stejné teplotě. Následně byl opět namočen na 3 hodiny a dalších 21 hodin odpočíval na vzduchu do vlhkosti 45 %. Klíčení při této vlhkosti trvalo 3, 5 a 7 dní. Při delším klíčení byla pozorována vyšší sladová ztráta (snížení hmotnosti zrna – 5 dnů=10 % ztráta, 7 dnů=11 % ztráta), drobitost a také zvýšená endoproteolytická aktivita. Extrakt z mladiny se výrazně nelišil (při klíčení 3 dny byl 83 % a při klíčení 7 dnů jen o 1 % méně, tedy 82 %), naopak efektivita fermentace byla nejvyšší u sladu klíčeného 7 dnů a to 83 % oproti 80 % u sladu klíčeného 3 dny. Výsledný obsah hordeinu ve filtrovaných modelových pivech byl analyzován metodou ELISA a vynásoben 2, aby se zohlednily nerozpustné proteiny glutenu. V pivu ze sladu klíčeného 3 dny byl obsah hordeinu 32 mg/kg, při 5 dnech byl obsah jen 23 mg/kg a při klíčení 7 dnů byl obsah 18 mg/kg, což znamená snížení obsahu lepku o 44 %. Výsledku studie potvrzují, že lze připravit pivo „s nízkým obsahem lepku“ jen pomocí delší doby klíčení ječmene (Taylor et al, 2018).

#### 5.2.4 Ko-fermentace mladiny s laktobacily

Další možností snížení obsahu lepku v pivu je fermentace mladiny s přidáním mléčných bakterií (laktobacilů), jejichž peptidázy metabolizují (tráví) glutenové peptidy. V pšeničném a žitném těstě byl snížen obsah lepku z původních 400 ppm pod 10 ppm. Jedná se tedy o účinnou metodu. Problémem je, že aromatické sloučeniny produkované laktobacily mohou ovlivnit chuť piva (Hager et al, 2014).

### 5.3 Zefektivnění rmutování

#### 5.3.1 Použití enzymů

Ve studii Xueqiang et al, 2020 byl esenciální hydrolytický enzym *P-1,3-1,4-glukanáza* (známý také jako lichenáza) izolován z houby *Aspergillus awamori*. DNA z *Aspergillus awamori* bylo klonováno do kvasinky *Pichia pastoris* pomocí elektroporace (metoda genového inženýrství). *Pichia pastoris* je jedním z nejpopulárnějších heterologních expresních hostitelů používaných pro produkci enzymů. Aktivita  $\beta$ -1,3-1,4-glukanázy byla

měřena pomocí kyseliny 3,5-dinitrisalicyové (DNS) a glukózy (standart). Každý reakční roztok obsahoval 50 g rmutu. Přidáním enzymu  $\beta$ -1,3-1,4-glukanáza do procesu rmutování byla snížena viskozita o 9,61 %, čímž se i urychlila a zefektivnila následná filtrace. Výsledkem studie je, že enzym  $\beta$ -1,3-1,4-glukanáza je potencionálně použitelný v pivovarském průmyslu (Xueqiang et al, 2020).

### 5.3.2 Použití rýže

Na celém světě se v pivovarnictví používají doplňky ke snížení výrobních nákladů, jako je rýže, pšenice nebo čirok. V asijských státech se nejčastěji používá vzhledem k dostupnosti rýže. Procento nahrazovaných přídatných látek ke sladu je v afrických zemích 50 až 70 %, v USA je to 35-45 % a v EU se slad nahrazuje z 10-25 % jinými obilovinami. Použitý podíl přídatných látek závisí na požadované kvalitě vyrobeného piva, na technologii rmutování, doby fermentace a zda jsou použity externí enzymy. Většina přídatných látek ale obsahuje méně dusíku, což může vést k delší fermentaci. Proto se musí celkový obsah dusíku udržovat v požadovaných koncentracích. Optimalizace procesu rmutování je zásadní pro ziskovost v pivovaru. Pro zvýšení účinnosti výroby piva je nutné maximalizovat přeměnu škrobu na zkvasitelné cukry (Mallawarachchi et al, 2016).

Rýže je ve srovnání se sladem (58-64 %) vynikajícím zdrojem sacharidů (70-75 %). Nahrazením části ječného sladu rýžovým sladem se zvýší koloidní stabilita a sníží se obsah proteinových zákalů, což má za následek lepší čistotu piva. Hlavním problémem je, že rýže neobsahuje enzym *amylázu*, které je potřebná k rozštěpení škrobu na jednoduché sacharidy. Tento problém sice lze vyřešit přidáním komerčních enzymů, tím by se ale zvýšila výrobní cena produktu. Přidání enzymů může mít taky za následek snížení pěnivosti (Mallawarachchi et al, 2019).

Ve studii Mallawarachchi et al, 2016 byla zkoumána závislost teploty a koncentrace přidané rýže na efektivitu rmutování. Při rmutování na 60 °C byla nejvyšší koncentrace sacharidů při přídávku 30 % rýže. Při aplikaci 40 % rýže byla snížena využitelnost cukrů z 12,2 g/l na 10,4 g/l. Naopak při aplikaci pouze 15 % rýže byla výtěžnost snížena na 6,4 g/l. Se snižující se teplotou (55 °C) rmutování klesl výtěžek sacharidů o 29,5 %. Podle numerické hodnoty byla stanovena optimální teplota rmutování 62 °C při přídávku 30,75 % rýže. Podle této metody lze získat maximální výnos sacharidů z rýže *Sudu kekulu* bez použití komerčních enzymů (Mallawarachchi et al, 2016).

Ve studii Mallawarachchi et al, 2019 zkoumali vliv teploty a pH na enzymatickou aktivitu během rmutování. K ječnému sladu bylo přidáno 30 % bílé rýže (*Oryza sativa*). Slad i rýže byly šrotovány 5 sekund na 14 000 otáček/minutu. Slad byl šrotován bez porušení obalových vrstev a pluch a slupka rýže byla předem odstraněna. Poté probíhalo samotné rmutování. Výsledky studie ukazují, že maximální efektivita rmutování je u rýže při teplotě 56 °C a pH 6,5. Protože se ale kyselost roztoku během rmutování zvyšuje s tvorbou organických kyselin, doporučuje se pro zvýšení maximálního výkonu rmutování použít rostoucí teplotní profil od 50 do 70 °C. Tato studie je velkým přínosem pro asijské země, které rýži často používají jako náhradu sladu, kvůli snížení výrobních nákladů (Mallawarachchi et al, 2019).

#### 5.4 Výroba nealkoholických a nízkoalkoholických piv

Výroba nealkoholických piv je v mnoha zemích stále populárnější. Jedná se o zdravý nápoj, který obsahuje mnoho živin, a mohou ho konzumovat sportovci i kojící ženy. Může pomoci lidem trpícím úzkostí a nespavostí a pro pacienty s kardiovaskulárními onemocněními. Nealkoholické a nízkoalkoholické pivo (do 2 % obj.) je vhodné při regeneraci po sportovní námaze. Je důležité však upozornit, že pivo nad 2 % obj. alkoholu má naopak diuretický (močopudný) účinek. Pro kojící ženy je pití alkoholických nápojů nežádoucí. Je inhibována laktace (produkce mléka) a snížení produkce hormonu oxytocinu. Naopak nealkoholické pivo (0,0 % obj.) stimuluje sekreci hormonu prolaminu, který zvyšuje produkci mateřského mléka. Konzumace nealkoholického piva také zvyšuje antioxidační vlastnosti mateřského mléka. Extrahované látky z chmele mají sedativní účinek na lidský organismus a jsou účinné proti nespavosti a úzkosti. Dvě studie potvrdily snížení krevního tlaku až o 16 % u mužů 55-75 let při konzumaci nealkoholického piva o dobu 4 týdnů. Všechny prováděné studie ohledně pozitivních účinků nealkoholického piva je ale potřeba ještě prozkoumat (ANONYM, 2020).

Bylo prokázáno, že pravidelná konzumace piva s nízkým obsahem alkoholu a tím pádem i s nízkou energetickou hodnotou nemá žádný významný vliv na zvýšení denního příjmu energie a nemá žádný negativní dopad na lidské zdraví (Adamenko et al, 2019).

Nealkoholická a nízkoalkoholická piva lze vyrobit pomocí biologických nebo fyzikálních metod. K biologickým metodám patří fermentace speciálními kvasinkami, omezená fermentace, speciální způsob rmutování nebo kontinuální fermentace. Z fyzikálních metod lze použít například tepelné metody (rektifikace, odpařování) nebo

použití membrány (dialýza, reverzní osmóza). Při fyzikálních metodách se v podstatě odstraní již vzniklý ethanol. Hlavní nevýhodou fyzikálních metod je odstranění části příznivých aromatických látek (Basso et al, 2016).

Dalším způsobem výroby nealkoholického piva je použití mladiny s vysokou koncentrací nefermentovatelných sacharidů. Do mladiny lze přidat kukuřičný nebo jiný sirup obsahující nefermentovatelné sacharidy nebo se používá vysokoteplotní rmutování (vysoká teplota deaktivuje amylázy, které vytváří fermentovatelné sacharidy) (Speers, 2008).

Nevýhodou piv s nižším obsahem alkoholu je obecně snížená charakteristická vůně a nedostatečná „plnost“ (plná chuť piva). Dále je nutná správná teplota skladování (musí se zabránit mrazu) a ošetření pasterací a CO<sub>2</sub> pro zajištění mikrobiologické stability. Nefermentované sacharidy totiž mohou způsobit mikrobiální kontaminaci (Speers, 2008).

#### 5.4.1 Biologické metody výroby

Jak již bylo popsáno v kapitole 5.1. výroba nealkoholických a nízkoalkoholických piv je možná pomocí speciálních druhů kvasinek (především non-*Saccharomyces*), které produkují malé množství ethanolu. Jedná se například o *T. Delbrueckii*, *Wickerhamomyces subpelliculosus*, *Cyberlindnera Saturnus*. Hlavní nevýhodou je ale ve většině případů sladší chuť a vyšší obsah diacetylu. Ve srovnání s tepelnou výrobou nealkoholických a nízkoalkoholických piv je biologická metoda šetrnější a je zachováno nejvíce žádoucích aromatických látek (Adamenkoa et al, 2019).

#### 5.4.2 Fyzikální metody výroby

Existuje spousta technik, jak snížit nebo odstranit vyrobený alkohol v pivu. Jedná se například o vakuovou, parní nebo nízkotlakou destilaci. Pro získání lepší příchutě nealkoholického piva lze použít deesterifikaci. Při výrobě nízkoalkoholického piva lze nealkoholické pivo smíchat s alkoholickým na požadovanou koncentraci pro získání více aromatických látek. Další metodou odstranění alkoholu z piva je reverzní osmóza a dialýza, které jsou založeny na membránové technice (Speers, 2008).

Odstředivá destilace (SCC) je nejpoužívanějším způsobem odstranění alkoholu z nápoje. Jedná se o vakuovou destilaci, která je založena na protiproudovém zařízení (plyn-kapalina), kdy vodní pára extrahuje ethanol z nápoje. Mezi hlavní výhody použití destilace SCC patří rychlost procesu, velká kontaktní plocha mezi kapalinou a párou, nízký pokles tlaku a mírná teplota, což minimalizuje tepelný dopad na nápoj. Nevýhodou je snížení aroma

konečného produktu (těkavé aromatické sloučeniny se odstraňují společně s ethanolem). Tento problém lze částečně vyřešit extrakcí aromatických látek z nápoje ještě před dealkoholizací a následně je do dealkoholizovaného piva přidat (Catarino a Mendes, 2011).

Nejúčinnějším procesem regenerace aroma jsou membránové procesy. Oproti extrakci teplem nebo pomocí rozpouštědla mají nižší spotřebu energie a není potřeba aplikovat chemické látky. Membránové procesy mohou být aplikovány i při nízkých teplotách, což je důležité pro oddělení aromatických sloučenin. Nejpoužívanější membránovou technikou je pervaporace. Pervaporační proces se používá například pro získání aromatických sloučenin z ovocného nápoje a následné přidání do stejné šťávy po zahuštění (Catarino a Mendes, 2011).

Ve studii Catarino a Mendes, 2011 byly zkoumány techniky odstranění alkoholu z vyrobeného piva. Dealkoholizované pivo se smísilo s alkoholickým a byly přidány extrahované aromatické látky pomocí pervaporace (membrány POMS/PEI). Při pervaporaci jsou frakce původního piva čerpány přívodním čerpadlem přes tepelný výměník (pro regulaci teploty) do čtyř membránových modulů. Rotační vakuová pumpa udržuje membránové moduly pod atmosferickým tlakem. Vakuum zajišťuje přenos aromatických látek z piva a jejich následné odpařování ze spodní strany membrán. Látky jsou poté vedeny do sady dvou kondenzátorů, kde probíhá kondenzace při  $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ . V kondenzátorech následně proudí horká voda a extrahované látky se shromažďují v tanku a skladují se v uzavřených nádobách. Nekondenzované sloučeniny, jako je oxid uhličitý, jsou vytlačovány přes vývěvu vakuové pumpy. Pivo po pervaporaci je následně dealkoholizováno pomocí SCC. Dealkoholizované pivo je z kolony vypouštěno čerpadlem do tepelného výměníku, kde je ochlazováno. Pivo je následně smícháno s čerstvým na koncentraci alkoholu 0,3 % objemových a jsou do něj přidány aromatické látky z pervaporace. Následně je syceno oxidem uhličitým. Takto vyrobené nealkoholické pivo je chutí velmi blízké běžnému alkoholickému pivu. Jedná se o nejlepší metodu odstranění alkoholu piva se zachováním co nejvíce aromatických látek. Výsledky studie potvrdily, že destilace SCC je účinný proces odstranění ethanolu z piva. Nejlepší účinnost pervaporace byla při vstupní teplotě  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  a průtokové rychlosti 500 l/h (Catarino a Mendes, 2011).

## 5.5 Aplikace látek pro čiření

Čiření je proces odstranění koloidů a dispergovaných částic ve fermentovaných nápojích. Nečistoty jako zbytkové proteiny, suspendované kvasinkové buňky a polyfenoly se odstraňují pomocí nejrůznějších čiřících látek, jako jsou například enzymy, kasein, vaječný albumin, alginát, polyvinylpolypyrrolidon, nylon, taniny a betonit. Pro efektivní průběh čiření je potřeba zvolit správnou koncentraci použitých látek. Proteiny, jako želatina, vyzina, kasein a vaječný albumin, nesou kladný náboj, a proto vysráží negativně nabitě „nečistoty.“ Polysacharidy mají záporný náboj a nižší pH a mohou být rovněž použity pro vysrážení pozitivně nabitých proteinů. Nečistoty jsou z piva částečně odstraněny filtrací, ale je zapotřebí i následné čiření pomocí speciálně určených látek (Walker et al, 2007; Scharma et al, 2019).

### 5.5.1 Vyzina („Isinglass“)

Vyzina je komerčně používaná látka k čiření alkoholických nápojů, které jsou znečištěny odumřelými kvasinkami a dalšími nerozpustnými látkami. Vyzina obsahuje především bílkovinný kolagen a je vyráběná z plovacích měchýřů určitých tropických a subtropických ryb pocházejících z Asie a Jižní Ameriky. Jedná se o čeleď *polyne-midae*, *sciaenidae* a *siluridae*. Vyzina je více rozpustná ve srovnání s hovězím kolagenem, který má stabilní vazby, a proto musí být před rozpuštěním enzymaticky rozštěpen. Vzhledem k nižšímu obsahu hydroxyprolinu dochází k tepelné denaturaci při 29 °C, ve srovnání s jinými živočišnými bílkovinami, které denaturují až při 40-41 °C. Vyzina se používá ve formě prášku nebo viskózního gelu a způsobuje agregaci kvasinkových buněk a dalších nečistot, které se usazují na dno nádoby a jsou odstraněny filtrací (Walker et al, 2007; Hickman et al, 2000).

Jelikož byly rybí výrobky klasifikovány jako alergeny, lidé s alergií na ryby a rybí výrobky se obávají konzumace piva, u kterého bylo provedeno čiření pomocí vyziny. Proto se hledají nové látky vhodné k čiření piva. Ve studii Walker et al, 2007 bylo pivo čiřeno ptačím kolagenem a extraktem z hrachu. Pivo čiřeno novými látkami bylo k nerozeznání od piva, které bylo čiřeno vyzinou (Walker et al, 2007).



### 5.5.2 Ptačí kolagen

Ptačí kolagen byl extrahován z kuřecí kůže pomocí roztoku kyseliny citronové při 4 °C. Před použitím byl kolagen pasterizován při 71,4 °C na 15 sekund. Do hotového piva bylo přidáno 141 mg/l ptačího kolagenu. Pivní sudy byly promíchány a inkubovány 24 hodin při teplotě 10 °C. Poté bylo pivo filtrováno a pasterizováno. Dle laboratorních, sensorických a analytických pokusů bylo potvrzeno, že ptačí kolagen nemá negativní vliv na kvalitu piva a má srovnatelnou čířící schopnost s vyzinou. Je však třeba upozornit, že ptačí kolagen vykazoval dobré výsledky v laboratorním měřítku a pro případné použití v pivovaru jsou třeba další pokusy. Velkou nevýhodou je také živočišný původ kolagenu, což je pro vegetariány a vegany nepřijatelné (Walker et al, 2007).

### 5.5.3 Extrakt z hrachu

Hrách žlutý (*Pisum sativum*) byl smíchán v acetátovém pufru (poměr 1:10) při pH 5 a teplotě 4 °C po dobu 20 minut. Poté byla suspenze centrifugována. Do hotového piva bylo přidáno 20 mg/l extraktu hrachového proteinu. Pivní sudy byly promíchány a inkubovány 24 hodin při teplotě 10 °C. Poté bylo pivo filtrováno a pasterizováno. Krátce po přidání hrachového extraktu bylo pozorováno zvýšení zákalu, což bylo zapříčiněno srážením hrachových bílkovin. Následně došlo k sedimentaci částic a vyčiření piva. Z výsledků studie vyplývá, že hrách je vhodná alternativa místo vyziny. Pivo bylo čiré a nebyly pozorovány velké změny v chuťových vlastnostech. Jedná se o rostlinou bílkovinu, tudíž je vhodná pro vegetariány a vegany. Každopádně i v tomto případě je potřeba dalších studií, aby mohla být hrachová bílkovina použita při výrobě piva. I přes dobré výsledky čiření byly v pivu dispergované hrachové částice, proto je potřeba zefektivnit extrakci hrachové bílkoviny (Walker et al, 2007).

### 5.5.4 Vaječné skořápky a šnečí prášek

Ve studii Iwouno et al, 2019 byla zkoumána čířící schopnost vaječných skořápek a šnečího prášku v pivu z čiroku. Výsledky studie potvrzují dobrou čířící účinnost vaječných skořápek a jedná se o potencionální filtrační materiál. Každopádně výsledky nebyly tak dobré, jako při čiření piva čistou křemelinou. Sledovaný zákal u použití vaječné skořápky byl 21,88-23,42 NTU, oproti tomu při čiření křemelinou byl zákal pouze 2,72-8,28 NTU. Pro představu, průměrné plzeňské pivo má 7,2 NTU. Šnečí prášek byl hodnocen taky kladně,

ale nedosahoval takových čiřících schopností jako křemelina nebo vaječné skořápky. Jeho zákal byl až 26,56 NTU (Iwouno et al, 2019).

### 5.5.5 Karagenan („Irský mech“)

Irský mech neboli *Purchatka kadeřavá* patří mezi mořské řasy a vyskytuje se v Irsku, Francii a na Islandu. Sušený karagenan se používá v potravinářství, ve farmacii a v průmyslu. Používá se jako stabilizátor a želírující prvek. Při zahřátí vytváří gel, který adsorbuje 20-100 krát více vody, než je jeho původní objem. Jeho barva může být žlutozelená přes červenou až k tmavě fialové. Karagenan se na rozdíl od kolagenů může použít i po chmelovaru (ANONYM, 2012).

## 5.6 Zpracování odpadních produktů

S výrobou piva přichází také vznik vedlejších produktů, jako je mláto, kvasinky, filtrační kaly a křemelina. Průměrný pivovar vyprodukuje na 1 hl 10 kg mláta, 2,5 kg kvasinek, 0,125 kg odpadu z čištění a filtrace a 2 kg křemeliny (Basařová, 2010).

### 5.6.1 Odpad ze sladování

První odpady při výrobě piva vznikají již při procesu sladování, kdy je ječmen několikrát máčen ve vodě. Po sladování ječmen vyklíčí a kořínky jsou odděleny. Jedná se o cennou přísadu pro krmiva zvířat, jelikož obsahuje velké množství bílkovin (až 25 %). Ze směsi kořínků, ječných a sladových zbytků se vyrábí pelety, které obsahují 18 % bílkovin. U některých zvířat, hlavně u koní, působí hordein jako droga a může mít negativní dopad na jejich zdraví. Hordein je v koňském průmyslu klasifikován jako zakázaná látka (Charlton a Vriesekoop, 2018).

### 5.6.2 Mláto

Jako mláto se označují neextrahované zbytky obilovin a ostatní sedimentované částice (pluchy, endosperm, koagulované látky) po procesu rmutování, které jsou odděleny filtrací. Mláto by nemělo obsahovat celá zrna. Mláto je šnekovým dopravníkem přepraveno do sběrné nádrže. Může sloužit jako zdroj energie v bioplynových stanicích nebo jako přídavek do stavebních materiálů. Nejvíce se však mláto používá jako přísada krmiva pro hospodářská zvířata a může být prodáváno v suché, mokré nebo částečně odvodněné formě. Do mláta se mohou přidat další vedlejší produkty výroby piva, jako je použitý chmel a kvasinky. Vzhledem k vysoké vlhkosti (až 81 %) musí být mokré mláto co nejdříve

přepraveno na farmu pro zkrmení zvířat. Při teplém a vlhkém počasí může dojít k růstu plísní (především mykotoxinů), což je pro hospodářská zvířata nežádoucí a mohlo by také dojít ke snížení jejich produktivity. S vývojem lepších filtrů může mít mláto vlhkost jen 50 %, čímž dojde k lepší manipulaci a ke snížení nákladů za přepravu. Mokrý mláto se používá většinou pro prasata nebo drůbež (Charlton a Vriesekoop, 2018; Basařová, 2010).

Mláto obsahuje přes 20 % bílkovin, 17 % celulózy, 28 % necelulóзовých zbytků a 28 % ligninu. Jedná se tedy o bohatý zdroj živin jak pro přežvýkavce, tak pro koně (Charlton a Vriesekoop, 2018).

Byly provedeny pokusy, aby se zjistil vliv zkrmování mláta na hospodářská zvířata. U slepic a kuřat byla stanovena maximální doporučená dávka 10 % z přijímaného krmiva. U jatečných prasat bylo klasické krmivo nahrazeno 30 % mláta. Byly sledovány nižší hladiny tuku v mase, což mělo pozitivní vliv na cenu vykupovaného masa. Navíc při aplikaci enzymu *xylanáza*, může zvíře získat z vedlejšího pivovarského produktu více energie a živin. U přežvýkavců má zkrmování mlátem smíchaným s kukuřicí podobnou výživovou hodnotu jako dražší krmiva obsahující sójové boby, jako hlavní zdroj bílkovin. Mláto bylo také potvrzeno jako vhodné krmivo pro koně (Charlton a Vriesekoop, 2018).

Mláto lze také použít pro lidskou obživu. Z něho připravená mouka se může přidat do pekárenských a pečivářenských výrobků a tím zvýšit jejich výživovou hodnotu. Má o 50 % nižší obsah sacharidů než bílá mouka z pšenice, ale o 50 % více vlákniny. Dále má vysoký obsah bílkovin a minerálních látek (Ca, P, Fe, Cu, Zn, Mg) a připravené těsto neadsorbuje tuk (prospěšné) (Charlton a Vriesekoop, 2018).

### 5.6.3 Kvasinky

Odpadní kvasinky jsou druhým největším vedlejším produktem pivovaru. Velký nadbytek kvasinek je zapříčiněn tím, že při fermentaci naočkované kvasinky zvýší svůj objem až na pětinasobek. To znamená, že na každé použité 1 kg kvasinek vzniká 4-5 kg nových. Malá část vyprodukovaných kvasinek je zpětně použita ve výrobě, ale ostatní množství se stává přebytkem. Spodně kvašené kvasinky mají o 50 % nižší životnost než svrchní kvasinky, což znamená, že se z nich stane „odpad“ dříve (Charlton a Vriesekoop, 2018).

Pivovarské kvasinky mohou být využity jako přídavek do krmiva pro hospodářská zvířata v neporušené nebo v sušené formě. Kvasinky jsou zdrojem různých derivátů se

specifickými vlastnostmi a mohou být použity jako náhrada za antibiotika, které byly v mnoha zemích zakázány. Kvasinky obsahují až 50 % bílkovin v sušině, 5 % MOS (mannan-oligosacharid), peptidy, vitamíny skupiny B, nukleové kyseliny, aminokyseliny, estery a organické kyseliny. Složení nezávisí jen na druhu kvasinek, ale také na zvoleném fermentačním procesu. Bylo prokázáno, že přidavek MOS v krmivu zvyšuje imunitu zvířat a u březích samic má za následek zvýšené hladiny imunoglobulinů v kolostru. Imunoglobuliny jsou důležité pro správný vývoj imunity a střev u mláďat (Charlton a Vriesekoop, 2018).

„Odpadní“ pivovarské kvasinky je možné aplikovat i pro lidskou výživu. Vyrábí se z nich extrakty, které mají silné masové (vepřové a kuřecí) aroma, nebo sušené kvasnicové hydrolyzáty.  $\beta$ -glukany a mannoproteiny obsažené v buňce kvasinky jsou účinnými emulgátory. Lze je použít jako náhradu tuku do majonéz nebo do nízkotučných sýrů.  $\beta$ -glukany navíc snižují obsah cholesterolu. Kvasinky také udržují správnou hladinu glukózy v krvi a mohou snižovat akné. Obsahují vysoké množství chromu, hořčíku a selenu, který snižuje záněty a je důležitý pro správnou funkci reprodukce. Kvasniční hydrolyzát, přirozeně obsahující SAME (S-adenosyl-L-methionin), má stejné účinky jako konvenční antidepresiva. Může být rovněž použit k léčbě alkoholismu a obecných poruch jater, při léčbě hormonálních změn, artritidy a anémie. Mezi další prospěšné látky patří vyčištěný kvasnicový glukán, který může být použit na hojení ran, popálenin a infekce. Spolu s kolagenem může dokonce chránit pokožku před UV-A (ultrafialové A) zářením. Kvasinky také zvyšují imunitní systém a působí proti nádorovým buňkám (Charlton a Vriesekoop, 2018).

#### 5.6.4 Filtrační kaly

Filtrační kaly vznikají přirozenou sedimentací částic při chlazení mladiny před fermentací. Nejdříve se oddělují hrubé (horké) kaly a až při ochlazení na 60-40 °C jsou odděleny jemné (chladové). Množství oddělených hrubých kalů závisí na technologii výroby, ale pohybuje se v rozmezí 150-400 g/hl mladiny. Při delším chmelovaru se zvyšuje podíl hrubých kalů. Důležité jsou také polyfenoly chmele, které pomáhají vysrážení kalů při chlazení. Při nedokonalém odstranění hrubých kalů by nastaly problémy při fermentaci a mělo by to vliv na zhoršenou pěnivost a chuť piva. Jemné kaly se vylučují nejvíce při 30-10 °C. Při zpracování jemného a špatně rozluštěného šrotu je obsah jemných kalů vyšší. Vylučování podporuje promíchání mladiny. Dokonalé oddělení jemných kalů zvyšuje

efektivitu fermentace. Odpadní vody obsahující filtrační kaly se musí přecistit v síti čistírnách odpadních vod (ČOV), ale některé větší pivovary mají zřízenou vlastní čističku. Znečištěné vody nesmí být vypuštěny do kanalizace (Basařová, 2010).

### 5.6.5 Křemelina

Křemelina je nejrozšířenější práškový filtrační materiál, jehož hlavní složkou je křemík. Křemelina pochází ze schránek odumřelých sladkovodních nebo mořských *rozsivek* (mikroskopické vodní rostliny patřící k jednobuněčným řasám). V ČR se těží v jižních Čechách, největší ložiska se ale nachází v Kalifornii, Nevadě, Itálii, Španělsku a ve francouzském středohoří. Křemelina používaná pro filtraci piva obsahuje 80-90 % oxidu křemičitého, dále železo, hliník, titan, vápník, hořčík a alkalické kovy. Mezi její hlavní fyzikální vlastnosti patří průzračnost, objem za mokra (naplavovací objem), sypaná hmotnost, podíl těžších částic, granulometrické složení a měrná hmotnost (Basařová, 2010).

Křemelinové prášky se pro pivovarnické účely připravují sušením a mletím suroviny. Používá se křemelina sušená (k nejtěsnější filtraci), kalcinovaná (nejvíce používaná) a tekutá kalcinovaná (s přidavkem chloridu sodného a uhličitanu sodného, vhodná pro první náplavu) (Kosař, 2000).

S postupným nárůstem výroby piva a tím pádem i spotřeby křemeliny nastává problém s její likvidací. Část pivovarů ji přidává do sladového odpadního mláta, které pak přenáší na zemědělské plochy, část pivovarů ji prodává výrobcům stavebních materiálů, každopádně o křemelinu není velký zájem. Do budoucna by měly pivovary použití křemeliny omezit a najít vhodnější filtrační materiály (Basařová, 2010).

## ZÁVĚR

K výrobě piva lze použít netradiční non-*Saccharomyces* kvasinky, které pivu dodávají netradiční aroma. Lze je například použít v ko-fermentaci se *S. Cerevisiae* pro bioflavoring. Kvasinka *S. fibuligera* dodala pivu ovocnou příchut' připomínající švestky a lesní plody. *C. misumaiensis* vytvořila ovocnou a medovou příchut'. Pivo fermentované pomocí *Torulaspora delbrueckii* mělo květinovou vůni po růžích a aroma brandy díky přítomnému amylalkoholu. *Saccharomycodes ludwigii* a *Wickerhamomyces anomalus* produkují méně ethanolu a jsou citlivé k jeho vysokým koncentracím, a proto je lze použít pro výrobu nealkoholických a nízkoalkoholických piv. Nealkoholická a nízkoalkoholická piva lze vyrobit i pomocí kvasinek používaných pro výrobu mléčných výrobků, jako je *K.lactis* a *K. Marxianus*, které pivu dodaly ovocnou, medovou a květinovou příchut'.

Novinkou ve světě pivovarnictví je výroba probiotických piv, které příznivě působí na zažívací systém. Probiotické pivo obsahuje miliony probiotických a laktobacilových bakterií, které mají antioxidační, antimikrobiální a antikancerogenní účinky na lidský organismus. Pivo se vyrábí ko-fermentací se *S. Cerevisiae*. Největší problém výroby probiotického piva je nízká odolnost bakterií vůči hořkým kyselinám pocházející z chmele. Velkou pomocí výroby probiotického piva by bylo objevit nové bakterie odolné vůči hořkým chmelovým kyselinám. Bakterie by mohly být šlechtěny pomocí genového inženýrství nebo upraveny pomocí genetické modifikace.

Dalším moderním trendem je výroba bezlepkových piv pro osoby trpící celiakií. Piva neobsahující lepek je sice možné vyrobit se sladu z přirozeně bezlepkových obilovin, ale takto vyrobená piva mají odlišnou chuť, která je pro spotřebitele nesrovnatelná s pivem vyrobeným z ječného sladu. Podle nejnovějších studií lze vyrobit bezlepkové pivo pomocí enzymatické hydrolýzy. Po fermentaci je do piva přidán enzym *propyl endopeptidáza*, *transglutamináza*, *endoproteáza*, nebo *endoproteáza B*, která hydrolizuje peptidové vazby. Další metodou výroby je delší naklíčení ječného sladu. Tato metoda neodstraní všechny lepek z piva, ale lze jeho obsah snížit pod 20 ppm.

Bylo objeveno, že konzumace nealkoholického piva je prospěšná pro lidské zdraví. Jedná se o vhodnou alternativu pro sportovce pro regeneraci organismu, je také vhodné pro kojící matky pro zvýšení produkce mateřského mléka díky obsaženému hormonu prolaminu, který příznivě působí na úzkost a nespavost, a dokonce může snížit vysoký krevní tlak. Pro přesné potvrzení všech příznivých účinků jsou ale zapotřebí další studie. Nejúčinnější

výrobou nealkoholického piva je odstředivá destilace (SCC) s následnou pervaporací. Jedná se o neúčinnější metodu se zachováním nejvíce aromatických látek.

Jsou zkoumány látky, které by dokázaly nahradit vyzinu, používanou pro čiření piva. Dle laboratorních studií by vhodnou alternativou mohlo být použití vaječných skořápek, ale pro aplikaci ve výrobě jsou potřeba další studie. Byla také zkoumána účinnost hrachového proteinu a ptačího kolagenu. Vzhledem k rostlinnému původu je použití hrachového proteinu příznivější, ale vyrobené pivo obsahovalo malé množství dispergovaných hrachových částic, proto je pro uvedení do výroby potřeba zdokonalit extrakci proteinu z hrachu.

V poslední kapitole byly popsány možnosti využití odpadních produktů. Vzhledem k vysokému obsahu proteinů, minerálních látek a vlákniny by bylo vhodné zařadit mouku vyrobenou z mláta do lidské stravy. „Odpadní“ pivovarské kvasinky mohou mít také příznivé účinky na lidské zdraví. Obsahují  $\beta$ -glukany, které podporují imunitu, dále mannoproteiny, díky kterým se mohou použít jako emulgátory do nízkotučných majonéz a sýrů, a v neposlední řadě obsahují S-adenosyl-L-methionin (SAME), který má stejné účinky jako antidepresiva. Dalším odpadním produktem je křemelina, jejíž použití by mělo být vzhledem k problému s likvidací omezeno.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] CHLÁDEK, Ladislav. *Pivovarnictví*. Praha: Grada, 2007. Řemesla, tradice, technika. ISBN 978-80-247-1616-9.
- [2] STANĚK, Josef. *Blahoslavený sládek: kapitoly z dějin piva*. 2. upr. vyd. Litomyšl: Paseka, 1998. ISBN 80-7185-188-4.
- [3] ANONYM. *Pivo a zdraví: "lidstvo zatím lepší nápoj nevymyslelo!"*. Plzeň: Nava, 2007. ISBN 978-80-7211-253-1.
- [4] BASAŘOVÁ, Gabriela a Ivo HLAVÁČEK. *České pivo*. Praha: Nuga, 1998. ISBN 80-85903-08-3
- [5] ROZINKOVÁ, Kateřina. *Úspěšnost českých piv v zemích střední Evropy v době mezi dvěma světovými válkami*. Praha: Národohospodářský ústav Josefa Hlávky, 2016. Studie (Národohospodářský ústav Josefa Hlávky). ISBN 978-80-88018-10-0
- [6] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [7] NOVÁK VEČERNÍČEK, Jaroslav. *Dějiny piva: od zrození až po konec středověku*. 2. vydání. V Brně: CPress, 2015. ISBN 978-80-264-0879-6.
- [8] KLUGE, Heideleore. *Léčivá síla piva*. Praha: Naše vojsko, 2015. ISBN 978-80-206-1523-7.
- [9] KOLLÁR, Anton. *Pivo: zdraví, souvislosti, žízeň, obezita, alkoholismus, kuriozity*. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2012. ISBN 978-80-7204-795-6.
- [10] ZÝBRT, Věnek. *Velká kniha piva: vše o pivu*. Olomouc: Rubico, 2005. ISBN 80-7346-054-8.
- [11] BOROWIEC, Pavel a Marcela TITZLOVÁ. *Knih o pivu: jak pivo poznávat, ochutnávat a párovat s jídlem*. Praha: Smart Press, 2017. ISBN 978-80-87049-96-9.
- [12] KUNATH, Brian. *Pivní bible*. Praha: Mladá fronta, 2012. ISBN 978-80-204-2665-9.
- [13] VANĚK, Roman. *Jídlo s.r.o.* Praha: Prakul Production, 2015. Už vím proč. ISBN 978-80-87737-20-0.
- [14] NOVOTNÝ, Petr. *Pivařka: tajemství domácího pivovarství*. V Brně: Jota, 2017. Populárně naučná. ISBN 978-80-7565-108-2.



- [15] ROP, Otakar a Jan HRABĚ. Nealkoholické a alkoholické nápoje. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009. ISBN 978-80-7318-748-4.
- [16] BAMFORTH, Charles W. a Robert E. WARD. The Oxford handbook of food fermentations. New York: Oxford University Press, [2014]. ISBN 978-0-19-974270-7.
- [17] BAMFORTH, C.W. BEERS | History and Types. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* [online]. Elsevier, 2003, 2003, s. 418-422 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/00086-9. ISBN 9780122270550. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B012227055X000869>
- [18] MACHAČ, František. Uvařte si pivo doma!: příručka pro začátečníky a mírně pokročilé. Praha: Svojtka & Co., 2014. ISBN 978-80-256-1172-2.
- [19] BOULTON, Chris. *Encyclopaedia of brewing*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2013. ISBN 978-1-4051-6744-4.
- [20] LAUDAGE, Ferdinand. Vaříme si vlastní pivo. Přeložil Helena UHROVÁ. Líbeznice: Víkend, 2018. ISBN 978-80-7433-237-1.
- [21] STRATILÍK, Ondřej. České minipivovary: kapesní průvodce pro milovníky dobrého piva. Praha: Mladá fronta, 2018. ISBN 978-80-204-4823-1.
- [22] ANONYM. Boží dar: příběhy českých potravin. V Praze: Česká televize, 2018. Edice České televize. ISBN 978-80-7404-310-9.
- [23] NOVÁKOVÁ, Jolana a František RICHTER. Pivo jako křen: [domácí vaření piva a vše o pivu. Praha: Radioservis ve spolupráci s Českým rozhlasem, 2009. ISBN 9788086212692.
- [24] DIESTLER, Radek, ed. Pivopédie: encyklopedie českého a slovenského piva. Praha: Knižní klub, 2012. ISBN 9788024236735.
- [25] BENDO VÁ, Olga a Miroslav KAHLER. Pivovarské kvasinky. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981.
- [26] RYSOVÁ, Jana. Přehledová práce: *Nutriční hodnota a využití pohanky*. Výživa a potraviny 4/2018 [online]. Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i. [cit. 2020-03-08]. Dostupné z: [https://www.vupp.cz/wp-content/uploads/2018/09/Nutricni\\_hodnota\\_a\\_vyuziti\\_pohanky\\_Rysova.J..pdf](https://www.vupp.cz/wp-content/uploads/2018/09/Nutricni_hodnota_a_vyuziti_pohanky_Rysova.J..pdf)
- [27] KOPÁČOVÁ, Olga. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům* [online]. Ústav zemědělských a potravinářských informací,

- 2007 [cit. 2020-03-08]. ISBN 978-80-7271-184-0. Dostupné z: [https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kopov\\_Cerelie%20web.pdf](https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kopov_Cerelie%20web.pdf)
- [28] Blaise P. Nic PHIARAIS, Alexander MAUCH, Beatus D. SCHEHL, Martin ZARNKOW, Martina GASTL, Markus HERRMANN, Emanuele ZANNINI and Elke K. ARENDT. *Processing of a Top Fermented Beer Brewed from 100% Buckwheat Malt with Sensory and Analytical Characterisation* [online]. Publication no. G-2010-1118-1090 © 2010 The Institute of Brewing & Distilling [cit.2020-03-08]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00430.x>
- [29] Christina KLOSE, Alexander MAUCH, Sascha WUNDERLICH, Frithjof THIELE, Martin ZARNAKOW, Fritz JACOB and Elke K. ARENDT. *Brewing with 100% Oat Malt* [online]. Publication no. G-2011-1018-1152 © 2011 The Institute of Brewing & Distilling. [cit. 2020-03-08]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00487.x>
- [30] ANONYM. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO OSN). *What is quinoa?* [online]. Regional office for Latin America and the Caribbean, Chile, 2013 [cit. 2020-03-10]. Dostupné z: <http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/nutritional-value/en/>.
- [31] Michala JANCUROVÁ, Lucia MINAROVÍČOVÁ a Alexander DANDÁR. *Quinoa – a Review* [online]. Department of Food Science and Technology, Slovak Republic, 2009, vol. 27, No 2:71-79 [cit. 2020-03-10]. Dostupné z: [https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/32\\_2008-CJFS.pdf?](https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/32_2008-CJFS.pdf?)
- [32] Matjaž DEŽELAK, Martin ZARNKOW, Thomas BECKER a Iztok Jože KOŠIR. *Processing of bottom-fermented gluten-free beer-like beverages based on buckwheat and quinoa malt with chemical and sensory characterization* [online]. © 2014 The Institute of Brewing & Distilling J. Inst. Brew. 2014; 120: 360–370 [cit. 2020-03-10]. Dostupné z: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jib.166?fbclid=IwAR0FI4hTsJGgzAFom3feyPzWuz\\_cq58oLdYqKdUuVDm2a0qDW-T3TngQEYw](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jib.166?fbclid=IwAR0FI4hTsJGgzAFom3feyPzWuz_cq58oLdYqKdUuVDm2a0qDW-T3TngQEYw)
- [33] ANONYM. Yeast Culturing for brewing and baking. *100 % Malted Popcorn Ale* [online]. DC Yeast LAB, 2013 [cit. 2020-03-16]. Dostupné z: <https://dcylab.wordpress.com/2013/07/26/100-malted-popcorn-ale/>

- [34] John R. N. TAYLOR, Bhekisisa C. DLAMINI a Johanita KRUGER. *125<sup>th</sup> Anniversary Review: The science of the tropical cereals sorghum, maize and rice in relation to lager beer brewing* [online]. Copyright © 2013 The Institute of Brewing & Distilling [cit. 2020-03-16]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jib.68>
- [35] FORMANEK Joseph, 2019. *The Truth About Brewing Beer with Corn Syrup* [online]. © 2020 The Beer Connoisseur [cit. 2020-03-16]. Dostupné z: <https://beerconnoisseur.com/articles/truth-brewing-beer-corn-syrup>
- [36] Lydia HAYWARD, Adrienne WEDEL, Matthew B. McSWEENEY. *Acceptability of beer produced with dandelion, nettle and sage* [online]. School of Nutrition and Dietetics, Acadia University, Canada, 2019 [cit. 2020-03-16]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S1878450X19301088>
- [37] ANONYM. Pivníci. *Pivní styly* [online]. © 2011-2020 Marley & Bludice [cit. 2020-03-18]. Dostupné z: <https://www.pivnici.cz/pivni-styly/>
- [38] Dušan KÜTNER, 2015. *Češi si v konzumaci piva udrželi světový primát, spotřeba ale stagnuje* [online]. © 2001 - 2020 Copyright CZECH NEWS CENTER a.s. [cit. 2020-18.3.]. Dostupné z: <https://www.e15.cz/byznys/obchod-a-sluzby/cesi-si-v-konzumaci-piva-udrzeli-svetovy-primat-spotreba-ale-stagnuje-1180706>
- [39] ANONYM. Brewers of Europe, 2019. *PRESS RELEASE: Number of breweries in the EU hits 10,000* [online]. © THE BREWERS OF EUROPE, Brussels, Belgium [cit. 2020-03-18]. Dostupné z: [https://brewersofeurope.org/site/media-centre/post.php?doc\\_id=983](https://brewersofeurope.org/site/media-centre/post.php?doc_id=983)
- [40] ANONYM. Brewers of Europe, 2018. *Beer statistics 2018 edition* [online] © THE BREWERS OF EUROPE, Brussels, Belgium [cit. 2020-03-18]. Dostupné z: [https://brewersofeurope.org/site/media-centre/index.php?doc\\_id=969&class\\_id=31&detail=true](https://brewersofeurope.org/site/media-centre/index.php?doc_id=969&class_id=31&detail=true)
- [41] G. DONADINI, M.D. FUMI, E. KORDIALIK-BOGACKA, L. MAGGI, M. LAMBRI, P. SCKOKAI. *Consumer interest in specialty beers in three European markets* [online]. Food Research International 85 (2016) 301–314 [cit. 2020-03-18]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996916301697>

- [42] Česko. Vyhláška č. 248/ 2018 Sb. ze dne 31.10.2018 o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. Částka 125/2018 [cit. 2020-03-18]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248#cast4>
- [43] ANONYM. Český statistický úřad, 2019. *Spotřeba alkoholických nápojů na 1 obyvatele v České republice* [online], [cit. 2020-03-22]. Dostupné z: [https://www.czso.cz/csu/czso/graf-spotreba-alkoholickych-napoju-na-1-obyvatele-v-ceske-republice?fbclid=IwAR1Nxim\\_jIGwJIXoELscssyV2coVbm7OK\\_rfQoqmzmytiIDCjMAqMxpXPM4](https://www.czso.cz/csu/czso/graf-spotreba-alkoholickych-napoju-na-1-obyvatele-v-ceske-republice?fbclid=IwAR1Nxim_jIGwJIXoELscssyV2coVbm7OK_rfQoqmzmytiIDCjMAqMxpXPM4)
- [44] JEANTET, Romain, Thomas CROGUENNEC, Pierre SCHUCK a Gerard BRULE. Handbook of food science and technology. Hoboken, NJ: John Wiley, 2016. Food science and technology series (London, England). ISBN 978-1-84821-934-2
- [45] SPEERS, Alex. Handbook of Brewing, edited by Priest, F. G., & Stewart, G. G. (2nd ed.), Published by: CRC Taylor and Francis, 853 pages, 2006, ISBN. Trends in Food Science [online]. 2008, 19(1), 51-51 [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1016/j.tifs.2007.09.004. ISSN 09242244.
- [46] CUŘÍN, Jiří, ČERNOHORSKÝ, Vladimír, ŠTICHAUER, Josef. *Klasické dokvašování a organoleptické zrání piva* [online]. Kvasný průmysl, Praha, 1977 [cit. 2020-04-11]. Dostupné z: <https://www.kvasnyprumysl.cz/pdfs/kpr/1977/10/02.pdf>
- [47] ANONYM. Pivovar Černý Orel. Technologie výroby piva [online]. Kroměříž, 2012. Dostupné z: [https://www.youtube.com/watch?v=wI\\_ayV-XuQU&t=773s](https://www.youtube.com/watch?v=wI_ayV-XuQU&t=773s)
- [48] KRABÍN, Marcel, Lukáš JELÍNEKA, Pavel KOTRBAB, Rudolf CEJNARA a Pavel DOSTÁLEK. Enhancing the performance of brewing yeasts. Science Direct [online]. Prague: University of Chemistry and Technology, 2017 [cit. 2020-04-14]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975017301660?via%3Dihub>
- [49] MEI THI ALCINE, Chana, Chuaa JIAN YONG, Toha MINGZHAN a Liu SHAO-QUAN. Survival of probiotic strain *Lactobacillus paracasei* L26 during co-fermentation with *S. cerevisiae* for the development of a novel beer beverage. *Science Direct* [online]. China, 2019 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z:

- [https://www.sciencedirectcom.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S074000201930111X? via%3Dihub](https://www.sciencedirectcom.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S074000201930111X?via%3Dihub)
- [50] ANONYM. *Probiotické pivo* [online]. Bohumín: AQM, 2020 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://www.probiotickepivo.cz/>
- [51] AKAA, Solange, Bedis DRIDIC, Alexandre BOLOTINC, Elysée Armel YAPOA, Marina KOUSSEMON-CAMARAA, Bassirou BONFOHB a Pierre RENAULTC. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a traditional Ivoirian beer process to develop starter cultures for safe sorghum-based beverages: International Journal of Food Microbiology 322 (2020) 108547. *Science Direct* [online]. France: Elsevier, 2020 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0168160520300416?via%3Dihub>
- [52] ADAMENKOA, Kinga, Joanna KAWWA-RYGIELSKAA a Alicja Z. KUCHARSKAB. Characteristics of Cornelian cherry sour non-alcoholic beers brewed with the special yeast *Saccharomyces ludwigii*. *Science Direct* [online]. Poland: Elsevier, 2019 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814619321107#s0005>
- [53] METHNER, Yvonne, Mathias HUTZLER, Dagmar MATOULKOVÁ, Fritz JACOB a Maximilian MICHEL. Screening for the Brewing Ability of Different Non-Saccharomyces Yeasts. *Fermentation*. 2019, 5(4). DOI: 10.3390/fermentation5040101. ISSN 2311-5637. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2311-5637/5/4/101>
- [54] BASSO, Rafael Felipe, André Ricardo ALCARDE a Cauré Barbosa PORTUGAL. Could non-Saccharomyces yeasts contribute on innovative brewing fermentations?: *Food Research International* 86 (2016) 112–120. *Science Direct* [online]. Brazil: University of São Paulo, 2016 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0963996916302332>
- [55] MICHEL, Maxmilian, Jana KOPECKÁ, Martin ZARNKOW, Tim MEIER-DORNBERG, Fritz JACOB a Mathias HUTZLER. Screening for new brewing yeasts in the non-Saccharomyces sector with *Torulasporea delbrueckii* as model: 33: 129–144. *Scopus* [online]. John Wiley, 2016 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/yea.3146>

- [56] FRANCESCO, Giovanni De, Benedetta TURCHETTI, Valeria SILEONI, Ombretta MACRONI a Giuseppe PERRETTI. Screening of new strains of *Saccharomyces ludwigii* and *Zygosaccharomyces rouxii* to produce low-alcohol beer: 121: 113–121. *The Institute of Brewing & Distilling* [online]. Wiley Online Library, 2015 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jib.185>
- [57] COELHO, Eduardo, Mário AZEVEDO, José A. TEIXEIRA, Teresa TAVARES, José M. OLIVEIRA a Lucília DOMINGUES. *Evaluation of multi-starter S. cerevisiae/ D. bruxellensis cultures for mimicking and accelerating transformations occurring during barrel ageing of beer: FOCH 126826. Food Chemistry* [online]. Elsevier, 2020 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814620306889>
- [58] ANONYM. *Brewing Microbiology: Current Research, Omics and Microbial Ecology* [online]. Caister Academic Press, 2017 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.21775/9781910190616. ISBN 9781910190616.
- [59] POLZER, Mudr. Oldřich. Celiakie a bezlepková dieta. Státní zdravotnický ústav [online]. Praha, 2001 [cit. 2020-04-20]. Dostupné z: [http://www.szu.cz/uploads/documents/czpz/edice/letaky\\_pdf/Celiakie.pdf?fbclid=IwAR1gFoPt2GGJl3oE7eGhI4CNHKqbUzbWF-gK4FV2Vta-4gntO6IhrC0iV60](http://www.szu.cz/uploads/documents/czpz/edice/letaky_pdf/Celiakie.pdf?fbclid=IwAR1gFoPt2GGJl3oE7eGhI4CNHKqbUzbWF-gK4FV2Vta-4gntO6IhrC0iV60)
- [60] TAYLOR, Joshua P., Emanuele ZANNINI, Fritz JACOB a Elke K. ARENDT. A study on malt modification, used as a tool to reduce levels of beer hordeins. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 2018, **124**(2), 143-147 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1002/jib.482. ISSN 00469750. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jib.482>
- [61] ANONYM. *Vyzkoušeli jsme za vás: Česká bezlepková piva* [online], 2014 [cit. 2020-04-24]. Pro alergiky. Dostupné z: <https://www.proalergiky.cz/magazin/clanek/vyzkoušeli-jsume-za-vas-ceska-bezlepkova-piva>
- [62] GABROVSKÁ, Dana. *Pivo a bezlepková dieta* [online]. Celiak, 2019 [cit. 2020-04-24]. Dostupné z: <https://www.celiak.cz/pivo-a-bezlepkova-dieta>
- [63] TAYLOR, Joshua P., Fritz JACOB a Elke K. ARENDT. Fundamental Study on the Impact of Transglutaminase on Hordein Levels in Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* [online]. 2018, **73**(3), 253-260 [cit. 2020-04-24]. DOI:

- 10.1094/ASBCJ-2015-0527-01. ISSN 0361-0470. Dostupné z:  
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1094/ASBCJ-2015-0527-01>
- [64] KERPEŠ, Roland, Susann FISCHER a Thomas BECKER. The production of gluten-free beer: Degradation of hordeins during malting and brewing and the application of modern process technology focusing on endogenous malt peptidases. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2017, **67**, 129-138 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.07.004. ISSN 09242244. Dostupné z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224417300808>
- [65] XUEQIANG, Liu, Jiang ZHENGQIANG, Ma SHUAI, Yan QIAOJUAN, Chen ZIXIAN a Liu HAIJIE. High-level production and characterization of a novel  $\beta$ -1,3-1,4-glucanase from *Aspergillus awamori* and its potential application in the brewing industry. *Science Direct* [online]. China, 2020 [cit. 2020-04-14]. Dostupné z:  
<https://www.sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S1359511319309791>
- [66] CHARLTON, Patric a Frank VRIESEKOOOP. *Handbook of brewing: Chapter 19* [online]. Third edition. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742: Taylor & Francis Group, 2018 [cit. 2020-04-25]. ISBN 978-1-4987-5191-9. Dostupné z: <https://www.routledge.com/Handbook-of-Brewing/Stewart-Russell-Anstruther/p/book/9781498751919>
- [67] KOSAŘ, Karel. *Technologie výroby sladu a piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000. ISBN 80-902658-6-3.
- [68] ANONYM. Health aspects of non-Alcoholic beer. *Beer and health* [online]. The Netherlands, 2020 [cit. 2020-04-27]. Dostupné z: <https://beerandhealth.eu/beer-and-health/health-aspects-of-non-alcoholic-beer/?age-verified=aac5e82d0c>
- [69] CATARINO, Margarida a Adélio MENDES. Non-alcoholic beer—A new industrial process. *Separation and Purification Technology* [online]. 2011, **79**(3), 342-351 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.1016/j.seppur.2011.03.020. ISSN 13835866. Dostupné z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586611001705>
- [70] Walker, S.L., Camarena, M.C.D. and Freeman, G. (2007), Alternatives to Isinglass for Beer Clarification. *Journal of the Institute of Brewing*, 113: 347-354. doi:10.1002/j.2050-0416.2007.tb00761.x

- [71] HICKMAN, D, T.J SIMS, C.A MILES, A.J BAILEY, M DE MARI a M KOOPMANS. Isinglass/collagen: denaturation and functionality. *Journal of Biotechnology* [online]. 2000, **79**(3), 245-257 [cit. 2020-04-28]. DOI: 10.1016/S0168-1656(00)00241-8. ISSN 01681656. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165600002418>
- [72] IWOUNO, Jude O., Chigozie E. OFOEDU a Arinze F. OFOEDUM. Potentials of Egg Shell and Snail Shell Powder in Sorghum Beer Clarification. *Archives of Current Research International* [online]. 2019, , 1-10 [cit. 2020-04-28]. DOI: 10.9734/acri/2019/v16i430093. ISSN 2454-7077. Dostupné z: <http://www.journalacri.com/index.php/ACRI/article/view/30093>
- [73] ANONYM. Želatina a Irský mech jako „projasňovače“: Vltavotýnské pivo Ležák Francek. *Tour the beer* [online]. 2012 [cit. 2020-04-28]. Dostupné z: <https://www.tourdebier.cz/francek/zelatina-a-irsky-mech-jako-projasnovace/>
- [74] SHARMA, Harsh P., Aditya MADAN a D.C. JOSHI. Clarifying Agents. *Encyclopedia of Food Chemistry* [online]. Elsevier, 2019, 2019, s. 53-60 [cit. 2020-04-28]. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.21614-4. ISBN 9780128140451. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081005965216144>
- [75] MALLAWARACHCHI, Samavath. MODELING AND OPTIMIZATION OF MASHING PROCESS IN BEER PRODUCTION WITH RICE ADJUNCT. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* [online]. 2019, **9**(1), 104-110 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.15414/jmbfs.2019.9.1.104-110. ISSN 13385178. Dostupné z: [https://www.jmbfs.org/issue/august\\_septmeber\\_2019\\_vol-9\\_no1/jmbfs\\_154\\_mallawarachchi/?issue\\_id=5954&article\\_id=18](https://www.jmbfs.org/issue/august_septmeber_2019_vol-9_no1/jmbfs_154_mallawarachchi/?issue_id=5954&article_id=18)
- [76] K. S. Mallawarachchi, L. R. L. M. Bandara, S. K. D. H. S. Dilshan, T. U. Ariyadasa and S. H. P. Gunawardena, "Optimization of mashing process in beer production using rice as an adjunct," 2016 Moratuwa Engineering Research Conference (MERCCon), Moratuwa, 2016, pp. 289-292. DOI: 10.1109/MERCCon.2016.7480155. Dostupné z: [https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/7480155?fbclid=IwAR0aXbDeBdxCICIGofZlsmEavrM8ddNn\\_OKdoyCJoOGV3i4J5GRkTRDcwY](https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/7480155?fbclid=IwAR0aXbDeBdxCICIGofZlsmEavrM8ddNn_OKdoyCJoOGV3i4J5GRkTRDcwY)



**SEZNAM TABULEK****Tabulka č. 1.**

Průměrné složení světlého ležáku s obsahem původní mladiny do 12 % hmotnostních:

|  |      |
|--|------|
| Původní extrakt v % hmotnostních (g/100g) (tj. extrakt mladiny před prokvašením)                       | 11,8 |
| Alkohol v % hmotnostních (g/100 g roztoku)   | 3,9  |
| Alkohol v % objemových (g/100 ml)  | 5    |
| Skutečný extrakt % hmotnostních (g/100 g) (tj. zbytkový extrakt po prokvašení)                         | 3,7  |
| Obsah vody (g/l)   | 920  |
| Hořké látky chmele - isohumulon (mg/1000 ml)   | 27   |
| CO <sub>2</sub> v % hmotnostních (g/1000 ml)   | 5    |
| pH   | 4,5  |
| Energický obsah (kJoul/1000 ml)  | 1820 |
| Energický obsah (kcal/1000 ml)   | 440  |
| Sacharidy celkové (g/1000 ml)  | 30   |
| Dextriny (g/1000 ml)   | 25   |
| Zkvasitelné cukry (g/1000 ml)  | 5    |
| Beta-glukany (mg/1000 ml)  | 250  |
| Pentosany (mg/1000 ml)   | 250  |
| Bílkoviny (g/1000 ml)  | 4,3  |
| Aminokyseliny (mg/1000 ml) (85 % slad, 15 % kvasinky)  | 140  |
| Nukleové kyseliny (mg/1000 ml)   | 1    |
| Polyfenoly (mg/1000 ml) (75 % slad, 25 % chmel)  | 185  |
| Antioxidační kapacita (mmol/l)   | 3,3  |
| Organické kyseliny celkem (mg/1000 ml), (octová, citronová, glukonová, mléčná, malonová, pyrohroznová) | 450  |
| <b>Vitaminy:</b>   |      |
| Thiamin B1 (μg/1000 ml)  | 70   |
| Riboflavin B2 (μg/1000 ml)   | 250  |
| Niacin B3 (μg/1000 ml)   | 5000 |
| Kyselina pantotenová B5 (μg/1000 ml)   | 1200 |
| Pyridoxin B6 (μg/1000 ml)  | 300  |
| Kobalamin B12 (μg/1000 ml)   | 2    |
| Kyselina listová (μg/1000 ml)  | 200  |
| Estrogeny (μg/1000 ml)   | < 40 |
| <b>Minerální látky (mg/1000 ml):</b>   |      |
| Draslík  | 360  |
| Sodík  | 60   |
| Vápník   | 35   |
| Hořčík   | 85   |

|  |      |
|--|------|
| Forfor   | 500  |
| <b>Cedlejší produkty kvašení (mg/1000 ml):</b> |      |
| Glycerol                                       | 1500 |
| Alifatické a aromatické alkoholy               | 100  |
| Estery   | 25   |
| Celkový SO <sub>2</sub>                        | 5    |

(Basařová, 2010)

## Tabulka číslo 2.

Nežádoucí látky obražené v pivu:

| Látka                                     | Limitní obsah (mg/kg <sup>-1</sup> ) |
|---|--------------------------------------|
| arsen                                     | 0,2                                  |
| cín                                       | 100                                  |
| hliník                                    | 5                                    |
| chrom                                     | 0,1                                  |
| kadmium                                   | 0,01                                 |
| měď                                       | 5                                    |
| nikl                                      | 1                                    |
| olovo                                     | 0,05                                 |
| rtuť                                      | 0,003                                |
| zinek                                     | 50                                   |
| železo                                    | 20                                   |
| duičnany                                  | 50                                   |
| chlorované alifatické uhlovodíky          | 0,07                                 |
| polyaromatické uhlovodíky                 | 0,0005                               |
| ftaláty                                   | 2                                    |
| polychlorované bigenoly                   | 0,5                                  |
| histamin                                  | 20                                   |
| alfatoxin B1                              | 0,02                                 |
| alfatoxiny (celkem obsah B1, B2, G1 a G2) | 0,008                                |
| sterigmatocystin                          | 0,005                                |
| patulin                                   | 0,06                                 |
| ochratoxin A                              | 0,005                                |

(Basařová 2010)