

Atypické pивní a sladové nápoje

Bc. Tomáš Rüll

Diplomová práce
2022

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Tomáš Rüll**
Osobní číslo: **T20822**
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Atypické pивní a sladové nápoje**

Zásady pro vypracování

Vypracujte literární rešerši týkající se následujících bodů

I. Teoretická část

1. Atypické pивní nápoje, sladové nápoje; definice z hlediska legislativy, charakteristika výrobků, jejich organoleptické vlastnosti a složení.
2. Výroba atypických pивních a sladových nápojů.
3. Symbiotická kultura vodního kefiru, její možnosti aplikace při výrobě nových druhů fermentovaných nápojů.

II. Praktická část

1. Vyroberte modelové vzorky atypických pивních a sladových nápojů.
2. Provedte vybrané analýzy.
3. Výsledky vyhodnoťte a zformulujte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] CORONA, Onofrio et al., 2016. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT – Food Science and Technology* [online]. **66**, 572-581 [cit. 2021-5-20]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2015.11.014
- GULITZ, Anna et al., 2011. The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **151**(3), 284-288 [cit. 2021-5-20]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.016
- [2] LAUREYS, D. a L. DE VUYST, 2017. The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology* [online]. **122**(3), 719-732 [cit. 2021-5-20]. ISSN 13645072. Dostupné z: doi:10.1111/jam.13370
- [3] Vyhláška č. 248/2018 Sb., o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. In: Sbíрка zákonů, 2018. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248/souvislosti>

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

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 18. února 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- 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 užit své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové 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 diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá potenciálem Tibi, při výrobě nápojů na bázi piva, jako alternativou za pивní kvasinky a dále jsou prototypy těchto nápojů podrobeny fyzikálně-chemické analýze, reologické analýze, posouzení koncentrace biogenních aminů a také sensorické analýze. Tyto analýzy byly provedeny na celkem čtyřech prototypch nápojů na bázi piva. Konkrétně se jednalo o fermentované sladové nápoje, které byly vyrobeny technologií infuzní a dekokční a atypické pивní nápoje vyrobené na základě infuzní a dekokční technologie výroby rmutu. Fyzikálně-chemickou analýzou byly pozorovány rozdíly hodnot související s druhem technologie výroby rmutu a vlivem přítomnosti chmele jako inhibiorem růstu bakterií mléčného a octového kvašení. Rozdíly byly pozorovány zejména u změny hodnoty pH, refraktometrické sušiny, hustoty, koncentrace etanolu a u sensorické analýzy. Tibi jako alternativa za pivovarské kvasinky má významnou schopnost produkce ethanolu. Ve vzorcích atypických pивních nápojů dosahovala koncentrace ethanolu po 96 hodinách fermentace hodnoty přibližně 5 % v/v, naopak u fermentovaných sladových nápojů byla hodnota koncentrace ethanolu a dosahovala hodnoty okolo 3,5 % v/v. Významný rozdíl byl dosažen také v hodnotě pH, kdy na základě nízkého pH (< 4) byly fermentované sladové nápoje vyloučeny ze sensorické analýzy. Hodnota koncentrace biogenních aminů dosahovala bezpečné hladiny a pro spotřebitele neznamenal žádná zdravotní riziko. Sensorickou analýzou byl zjištěn fakt, že Tibi má potenciál využití ve výrobě atypických pивních nápojů.

Klíčová slova: atypické nápoje, dekokce, infuze, chmelovar, Tibi, vodní kefir, fermentace

ABSTRACT

The thesis deals with the potential of Tibi grains application, in the production of beer-based beverages, as an alternative to brewer's yeast and the prototypes of these beverages were subjected to physicochemical analysis, rheological analysis, assessment of the concentration of biogenic amines and also sensory analysis. These analyses were carried out on a total of four prototypes of beer-based beverages. Specifically, the above-mentioned were fermented malt-based (barley malt) beverages that were produced by the infusion and decoction mashing technology and atypical beer-based beverages produced by the infusion and decoction mashing technology. From the physicochemical and sensory analyses, differences in values related to the type of mash production technology and the effect of the presence of hops were observed. Differences were observed in the changes in pH, refractometric dry matter, density, ethanol concentration and sensory analysis. Tibi grains as an alternative for brewer's yeast presented significant ethanol production ability. In the samples of atypical beer-based beverages, the ethanol concentration reached a value of approx. 5.0 % v/v after 96 hours of fermentation, whereas in the fermented malt-based beverages the ethanol concentration was around 3.5 % v/v. A significant difference was also obtained in the pH value, however, based on the low pH (< 4), the fermented malt-based beverages were excluded from the sensory analysis. The concentration of biogenic amines was at a safe level and did not pose any health risk to the potential consumer. The sensory analysis revealed that Tibi grains had potential for use in the production of atypical beer-based beverages.

Keywords: atypical beverages, decoction, infuzion, hopping, Tibi, water kefir, fermentation

Rád bych tímto poděkoval vedoucímu své diplomové práce panu doc. Ing. Richardosu Nikolaosu Salekovi, Ph. D. za odborné vedení, ochotu a věcné připomínky v průběhu vyhotovení této diplomové práce. Zároveň bych rád poděkoval, především za pomoc při vypracovávání teoretické části, paní Ing. Evě Lorencové, Ph. D., která byla vždy ochotná a věcně připomínkovala mou práci. V neposlední řadě patří mé upřímné poděkování také mé rodině, bez jejíž podpory bych tyto řádky nikdy nenapsal.

Český duch může sice na čas bloudit, rozmach mohutného jeho křídla může ho zanést někdy třeba až na kraj světa, ale k pivu vrátí on se najisto vždycky zase!

„Jan Neruda“

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ATYPICKÉ PIVNÍ A SLADOVÉ NÁPOJE	11
1.1 ATYPICKÝ PIVNÍ NÁPOJ	11
1.2 SLADOVÝ NÁPOJ.....	12
1.3 SORTIMENT ATYPICKÝCH NÁPOJŮ A SLADOVÝCH NÁPOJŮ V ČR	12
2 SUROVINY PRO VÝROBU PIVA, RMUTOVACÍ POSTUPY A CHMELOVAR	15
2.1 VODA	15
2.2 SLAD	15
2.3 CHMEL	17
2.4 PIVOVARSKÉ KVASINKY	18
2.5 TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA.....	20
3 VODNÍ KEFÍR.....	29
II PRAKTICKÁ ČÁST	34
4 CÍL PRÁCE	35
5 METODIKA	36
5.1 VÝROBA VZORKŮ	36
5.2 STANOVENÍ ZÁKLADNÍCH FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH PARAMETRŮ	38
5.3 REOLOGICKÁ ANALÝZA.....	39
5.4 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	40
5.5 SENZORICKÁ ANALÝZA	41
6 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	43
6.1 VÝSLEDKY FYZIKÁLNĚ CHEMICKÉ ANALÝZY	43
6.2 VÝSLEDKY REOLOGICKÉ ANALÝZY	54
6.3 VÝSLEDKY STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	58
ZÁVĚR	63
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	71
SEZNAM OBRÁZKŮ	72
SEZNAM TABULEK.....	73
SEZNAM PŘÍLOH	74

ÚVOD

V současné době je na trhu nabízeno nepřehledné množství nápojů. V posledních letech se také velmi rozšířila nabídka piv a to jak z produkce minipivovarů, tak z velkých komerčních pivovarů. Významným dodavatelem různých pivních stylů na našem trhu jsou pivotěky i různě velké nákupní řetězce, které nabízejí piva z celého světa.

V roce 2018 na tuto skutečnost zareagovala také česká legislativa vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 248/2018 Sb., která nahradila vyhlášku č. 335/1997 Sb. Vyhláška č. 248/2018 se zabývá požadavky na nápoje, kvasný ocet a droždí, kde především v souvislosti s pivem došlo ke změnám v názvosloví a přibyly také nové kategorie nápojů na bázi piva. Mezi tyto kategorie patří kvašený sladový nápoj, míchaný nápoj z piva a atypický pivní nápoj (Česko 248/2018 Sb.).

Atypické pivní nápoje a kvašené sladové nápoje jsou hlavním předmětem této práce. V praktické části práce byly vyrobeny prototypy těchto výrobků. Atypické pivní nápoje a sladové nápoje byly vyrobeny rozdílnou technologií výroby sladiny (infuzní a dekokční způsob přípravy) s/bez přídavku chmelu (sladina vs. mladina). Fermentace atypického pivního nápoje a sladového nápoje byla zajištěna Tibi kulturou, směsnou kulturou vodního keříru. Je to nový postup, který doposud v dostupné literatuře není k nalezení.

Běžně je pivo a jemu „příbuzné“ výrobky fermentovány čistými kulturami kvasinek (případně divokými). Kultura vodního keříru, zrna Tibi, jsou tvořena z dextranových exopolysacharidů (dále jen EPS) v nichž jsou přítomny především bakterie mléčného kvašení (dále jen BMK), kvasinky a bifidobakterie. Hlavními produkty metabolismu jsou etanol, kyselina mléčná, glycerol, kyselina octová a mannitol (Laureys et al., 2017).

Hlavním cílem této práce bylo nejen vyrobit prototypy nových výrobků, ale také vyhodnotit vybrané kvalitativní parametry zmíněných nápojů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ATYPICKÉ PIVNÍ A SLADOVÉ NÁPOJE

V roce 2018 Ministerstvo zemědělství vydalo vyhlášku č. 248/2018 Sb., která nahradila vyhlášku č. 335/1997 Sb. Vyhláška č. 248/2018 se zabývá požadavky na nápoje, kvasný ocet a droždí, kde především v souvislosti s pivem došlo ke změnám v názvosloví a přibyly také nové kategorie nápojů na bázi piva. Mezi tyto kategorie patří kvašený sladový nápoj, míchaný nápoj z piva a atypický pivní nápoj. Fyzikální a chemické požadavky na jakost piva a nápojů na bázi piva jsou definovány přílohou číslo osm vyhlášky č. 248/2018 Sb. a jsou uvedeny v tabulce 1 (Česko 248/2018 Sb.).

Tab. 1: Příloha č. 8 k vyhlášce č. 248/2018 Sb. Fyzikální a chemické požadavky na jakost piva a nápojů na bázi piva.

Ukazatel		Pivo						Nápoj na bázi piva				
		nealkoh olické	nízkoalkoh olické	stolní	výčepní	ležák	plné	silné	Kvašený sladový nápoj	Míchaný nápoj z piva	Atypický pivní nápoj	
Skutečné prokvašení v %	Tmavá piva spodně kvašená	Nestanoveno		Min. 45		-	Min. 45	Nestanoveno	Nestanoveno	Min. 45		
	Ostatní piva spodně kvašená	Nestanoveno		Min. 50		-	Min. 50					
	Piva svrchně kvašená	Nestanoveno		Min. 50	-	Min. 50						
Alkohol v % obj.		Max. 0,5	0,5 – 1,2	Více než 1,2						Pouze z pivovarské technologie		Více než 1,2
EPM v % hm.		Nestanoveno		Max. 6	7 až 10	11 až 12	11 až 12	Min. 13	Nestanoveno	Nestanoveno	Nestanoveno	

1.1 Atypický pivní nápoj

Atypický pivní nápoj je nápoj, který nesplňuje požadavky na pivo. Pivem je 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 u piva 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 248/2018 Sb).

Běžně je pivo a jemu „příbuzné“ výrobky fermentovány čistými kulturami kvasinek (případně divokými), avšak atypické pивní nápoje jsou definovány vyhláškou č. 248/2018 Sb. jako nápoje na bázi piva s modifikovaným podílem sladu, nebo modifikovaným způsobem kvašení (Česko 248/2018 Sb).

Do kategorie atypických pивních nápojů tedy spadají všechny nápoje na bázi piva vyráběná z vyššího podílu surogátů než jedna třetina hmotnosti celkového extraktu původní mladiny. Surogáty lze pak definovat jako suroviny nesladové, používané k částečné náhradě sladu a to jak z ekonomických, technologických, tak z obchodních důvodů. Surogáty se dělí na škrobnaté náhražky a cukerné náhražky. Mohou se skládat především z extraktu cukru, sladu, mladinových koncentrátů, obilného škrobu, bramborového škrobu, nesladovaných obilovin nebo rýže, ale také pseudocereálií, anebo pro pivo netypických zkvasitelných surovin (ságo, škrobovité prášky z asijských palem a podobné škroboviny), a rovněž všechna piva vyráběná pomocí nepивních kvasinek – kyselé *Brettanomyces*, vinné kvasinky, *Lactobacillus* a další (Eurozpravy.cz, 2019; Basařová et al. 2010; Basařová et al. 2015; Halecký, 2019).

1.2 Sladový nápoj

Kvašený sladový nápoj je nápoj vyrobený ze sladiny pivovarskou technologií, který může být ochucený. U tohoto výrobku není legislativně stanoveno skutečné prokvašení v %, množství alkoholu v [% v/v] (původ z pivovarské technologie), ani minimální extrakt původní mladiny (dále jen EPM) v [% w/w]. (Česko 248/2018 Sb).

1.3 Sortiment atypických nápojů a sladových nápojů v ČR

Atypické pивní nápoje, stejně jako kvašené sladové nápoje, jsou na trhu v České republice zastoupeny jen vzácně. K dostání jsou prakticky téměř výhradně u specializovaných prodejců a na e-shopech.

Mezi hlavní zástupce atypických pивních nápojů na našem trhu patří pивní styl Lambic, který pochází z Belgie (Obr. 1). Pro tato spontánně kvašená piva není v české legislativě jiné odpovídající označení a výrobci často označují atypické pивní nápoje odlišně. Pod samotný atypický pивní nápoj se dá schovat například pivo stylu „Sour ale“ s označením jako „Ovocné svrchně kvašené pšeničné pivo“. Pravdou je, že označení atypický pивní nápoj

zavání spíše dehonestací a proti tomuto označení se ohradil také Českomoravský svaz minipivovarů. Samotní producenti těchto nápojů se rádi tomuto legislativnímu označení vyhýbají, a to přes to, že ve vyhlášce 248/2018 Sb. Ovocná piva, nebo spontánně fermentovaná jako samostatnou kategorií opravdu v naší legislativě nenajdeme (Eurozprávy.cz, 2019).

V nabídce pivoték se můžeme setkat s atypickým pivním nápojem z produkce společnosti Mort Subite (Heineken Česká republika a.s.), či s atypickými pivními nápoji pivovaru Wild Creatures Brewery (český specialista na atypické pivní nápoje, Obr. 2). Dále jsou k mání piva pivního stylu Sour ale (kyseláče), anebo kvašený sladový nápoj pod obchodním názvem Sládkova limonáda (Pivovary Staropramen s.r.o.). Svůj výrobek v kategorii sladového nápoje má i nákupní řetězec Lidl Česká republika v.o.s. s názvem Malz Grafenwalder.



Obr. 1: Atypický pivní nápoj (Fér potravina, 2021)



Obr. 2: Atypické pивní nápoje v podání pivovaru Wild Creatures Brewery (Raven, 2022)

2 SUROVINY PRO VÝROBU PIVA, RMUTOVACÍ POSTUPY A CHMELOVAR

2.1 Voda

Pivovarství patří mezi průmyslová odvětví s největší spotřebou vody. Voda v pivovarství se dělí do tří skupin dle účelu využití.

Varní voda:

Pro přípravu piva jedna ze základních surovin. Musí splňovat svými vlastnostmi požadavky na vodu pitnou, především z hlediska zdravotní a hygienické nezávadnosti. Fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti této vody ovlivňují průběh přípravy, základní kvalitu i specifické vlastnosti určité značky piva. V pivě voda představuje 75 – 80 % hmotnosti podle druhu výrobku (Basařová et al. 2010).

Mycí a sterilační voda:

Tato voda musí být prostá mikroorganismů, chemických kontaminantů a nesmí zapáchat. Vodu pro výplachy a sterilaci se doporučuje chlorovat (Moll 1994).

Provozní voda:

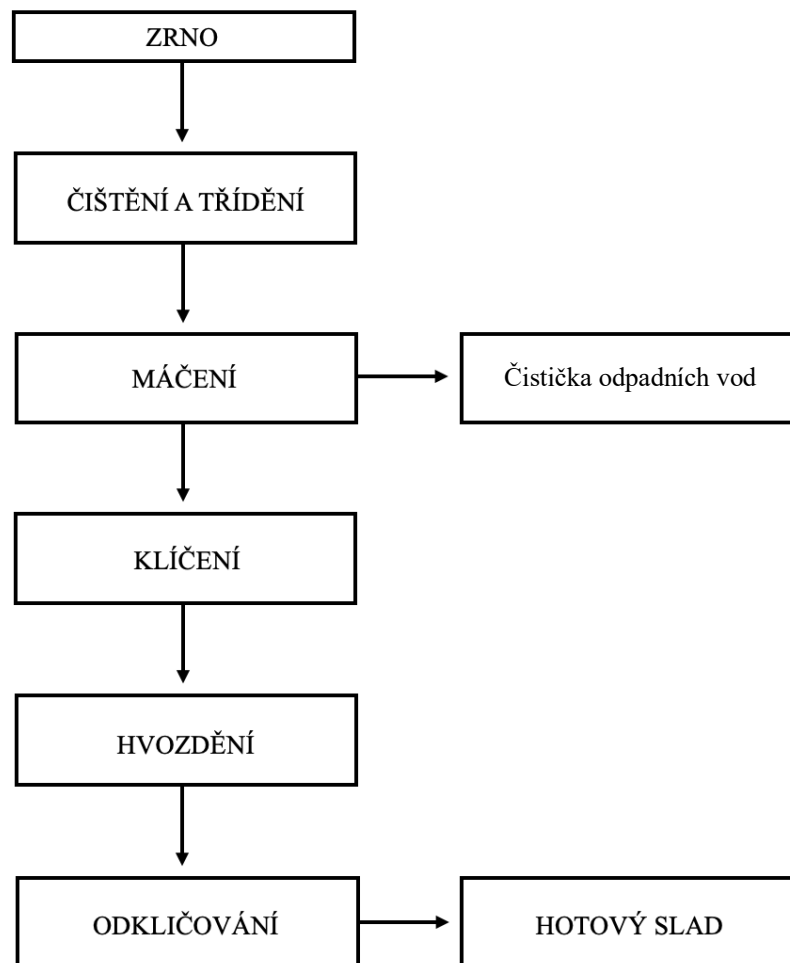
Musí odpovídat požadovaným standardům použití. Například voda pro parní generátory, pokud se pára injektuje přímo do pivovarských zařízení během varu mladiny, musí odpovídat předepsané potravinářské kvalitě. Naopak voda využívaná při pasteraci, nebo při chlazení se upravuje její chemické složení (Basařová et al. 2010).

2.2 Slad

Slad je za specifických podmínek naklíčená a usušená obilovina u které došlo k enzymatickým přeměnám endospermu a k vytvoření typických chuťových, aromatických a barvicích látek (Obr. 3). Teoreticky lze sladovat více druhů obilí, prakticky se však v České republice výhradně vyrábí několik druhů ječných sladů, z nichž naprosto převažuje výroba světlého sladu plzeňského typu (Česko 248/2018; Basařová et al. 2015; Prokeš 2018).

Sladování je složitý proces založený na průběhu řady vegetačních, strukturálních, fyzikálních, chemických a biochemických, především enzymových změn, které probíhají

v zrn. Tyto procesy jsou závislé na mnoha faktorech, především na genetických vlastnostech suroviny, více či méně ovlivněných klimatickými podmínkami daného roku, použitých technologických postupech a zařízeních. Podmínky procesů se upravují podle vlastností surovin a druhu vyráběného sladu. Základními úseky při výrobě sladu jsou máčení, klíčení, sušení (hvozdění) a závěrečné úpravy sladu (Basařová et al. 2015, Novotný et al. 2019).



Obr. 3: Schéma výroby sladu (vytvořeno dle Basařová et al. 2015)

Druhy sladů:

Slady řeší ČSN 56 6610 a dělí se dle použité obiloviny a způsobu výroby na slady:

Ječné slady

Slad pšeničný, slad vídeňský, slad mnichovský, slad diastatický.

Dle intenzity pražení na:

Karapils, světlý karamelový, tmavý karamelový, čokoládový, barvicí (černý).

Slady z jiných obilovin:

Slad z pšenice – světlý pivovarský, diastatický pekařský, karamelový a špaldový, slad ze žita, slad ze žitovce (triticale).

Existují další druhy sladů (například z ovsu nebo prosa), ale vzhledem k tomu, že se v České republice běžně nevyrábí a nepoužívají nejsou v této normě uvedeny (ČSN 56 6610, 2009).

2.3 Chmel

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) je jedna ze čtyř základních surovin pro výrobu piva. Chmel patří do čeledi konopovitých společně s konopím setým. Pro vaření piva se využívají především samičí rostliny, jejichž neopylené plody (šištice) obsahují typické hořké látky, polyfenoly a silice (Večerková et al. 2007; Vent 2002).

Ačkoliv je chmelu použito ve srovnání s ostatními surovinami v pivu méně, o to více má vliv na finální charakter piva (Pires et al. 2015)

Chemické složení chmele

Obsah jednotlivých chemických složek chmele je velmi proměnlivý a je ovlivňován mnoha faktory. Záleží především na odrůdě chmele, oblasti, ve které je pěstován, ročníku, stáří chmele, nebo i posklizňové úpravě. Mezi pivovarsky nejznámější látky se řadí chmelové polyfenoly, silice a pryskyřice (Kosař et al. 2000; Basařová et al. 2010; Novotný et al. 2019).

Chmelové pryskyřice

Jsou pivovarsky nejvýznamnější složkou chmele, protože jsou zodpovědné za hořkou chuť piva. Sestupně je lze dle jejich významu rozdělit na:

- a) α -Hořké kyseliny
- b) β -Hořké kyseliny
- c) Nespecifické měkké pryskyřice
- d) Tvrdé pryskyřice (Kosař et al. 2000; Basařová et al. 2010)

Chmelové pryskyřice tvoří až 30 % hmotnosti hlávek. α -Hořké kyseliny jsou analogy humulonu. Tyto látky jsou málo rozpustné, a proto je důležitá jejich isomerace, která probíhá při chmelovaru. Vzniklé iso- α -hořké kyseliny zajišťují obvykle asi 85 % hořkosti piva. Humulon je nejvíce zastoupenou α -hořkou kyselinou a zprostředkovává tak většinu hořkosti piva. Vykazuje také antibakteriální a antioxidační účinky. Význam β -hořkých kyselin není zdaleka tak důležitý jako u α -hořkých kyselin, avšak doplňují a mění celkový charakter hořkosti (Novotný et al. 2019).

Chmelové silice

Chmel obsahuje 0,5 – 1,2 % chmelových silic. Jedná se o 200 – 250 různých éterických látek, které jsou při varu velmi těkavé. Chmelové silice udělují chmelu jeho charakteristickou chuť a celkové aroma (Kunze 2014).

Silice v průběhu varu podléhají mnoha chemickým, fyzikálním i biochemickým procesům. Část silic vytéká s vodní parou a další se navážou na kvasinky. Právě tyto změny chmelových silic při výrobě piva umožňují výsledné příjemné aroma (Krofta 2013).

Polyfenolytické látky:

Chmel obsahuje 2 – 5 % polyfenolytických látek a plní důležitou úlohu při výrobě piva. Polyfenoly mají antioxidační účinky, čímž pozitivně ovlivňují stabilitu chuti. Skládají se především z taninů, flavonolů, katechinů a anthokyanidinů, které tvoří převážnou část (Kunze, 2014).

Fenolové sloučeniny piva mají *in vitro* schopnost inhibovat oxidativní modifikaci lidského lipoproteinu s nízkou hustotou (LDL). Není sice známo přesné působení *in vivo*, ale výsledky naznačují, že umírněná (kulturní) konzumace piva by mohla mít stejně jako pití červeného vína a zeleného čaje příznivý vliv na lidské zdraví například jako prevence kardiovaskulárních chorob (Basařová et al. 2010).

2.4 Pivovarské kvasinky

Dle klasifikace Kurzmanna a Fella z roku 1998 jsou aplikovány dva základní typy kmenů pivovarských kvasinek, a to *Saccharomyces pastorianus* (dříve *carlsbergensis*) na výrobu piva spodním kvašením a *Saccharomyces cerevisiae* pro svrchně kvašená piva. Kmeny *S.*

pastorianus se na základě molekulárně – genetických analýz dělí do dvou skupin: Saaz a Frohberg. Skupina Saaz zahrnuje kvasinky používané k výrobě plzeňského typu piva (Česká republika) a kmeny pivovaru Carlsberg (Dánsko). Do skupiny Frohberg patří holandské kmeny (Heineken), dánské kmeny (kromě těch ze skupiny Saaz) a například kmen Weihenstephan W34/70. Jsou přizpůsobené podmínkám kvašení při nízkých teplotách (8 – 14 °C) a využívají cukr melibiózu. Pro kvasinky druhu *S. cerevisiae*, které se používají na výrobu piva svrchním kvašením (například piva pšeničná, Ale, Altbier, Stout, aj.) je typická fermentace při vyšších teplotách (18 – 24 °C) a na rozdíl od spodních kvasinek melibiosu nevyužívají. Piva typu ležák (spodní kvašení) potom dozrávají 4 – 12 týdnů (Kresanková, 2015; Lorencová et al. 2019).

Svrchní a spodní pivovarské kvasinky se liší složením genetického materiálu, rozdílným složením buněčných stěn, stupeň zkvašování α -rafinózy, růstem na specifických půdách, obtížnou sporulací spodních kvasinek, rozdílnými technologicky významnými vlastnostmi, vyšší maximální teplotou růstu u svrchních kvasinek a vyšší tepelnou odolností svrchních kvasinek (Basařová et al. 2010).

Z celosvětové produkce piva se z 90 % využívají kvasinky spodního kvašení (pro výrobu ležáků) a 5 % produkce je zajištěna pomocí kvasinek svrchního kvašení. Zbýlých 5 % produktů je realizováno smíšenou fermentací kvasinek a bakterií (Boekhout et al. 2003)

Jedním ze zdrojů čistých produkčních kmenů je Sběrka pivovarských mikroorganismů Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského, a.s. v Praze (dále jen VÚPS), registrovaná pod názvem RIBM (Research Institute of Brewing and Malting) a číslem 655. Svým zaměřením na produkční kmeny pivovarských kvasinek je ojedinělá v oblasti Střední a Východní Evropy. Sběrka je průběžně doplňovaná a v současné době obsahuje 115 kmenů.

Jako paralelní sbírka je k ní přiřazena Sběrka „divokých“ kvasinek obsahující 14 kmenů vinných kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, 40 kmenů rodů *Brettanomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Pichia* a *Saccharomyces* a 23 izolátů kontaminujících kvasinek z pivovarů rodu *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* a *Saccharomyces*.

Další paralelní sbírkou je Sběrka bakterií mléčného kvašení izolovaných z pivovarských provozů v ČR a zatím obsahuje 63 kmenů rodů *Lactobacillus*, *Pediococcus* a *Leuconostoc* (Sběrka pivovarských mikroorganismů, 2021).

2.5 Technologie výroby piva

Příprava mladiny je velmi důležitým krokem z pohledu průběhu fermentace, ale i kvality hotového piva. Vlastnosti mladiny ovlivňují vstupní suroviny a technologický proces jejich výroby. Kvasinky a proces fermentace hrají velmi důležitou úlohu v procesu výroby piva, a proto je potřebné mladinu vyrobit tak, aby obsahovala všechny důležité živiny: zdroj uhlíku (zkvasitelné sacharidy), kyslík a lipidy (lipidy pro membránovou biosyntézu, které mohou uskutečňovat kvasinky za přítomnosti kyslíku), zdroj dusíku (aminokyseliny a peptidy jsou potřebné pro růst kvasinek a syntézu enzymů), růstové faktory – vitamíny, anorganické ionty (důležité pro metabolismus kvasinek) a vodu (Cvengroschová et al. 2004).

Šrotování sladu

Mechanické rozrušení zrna je potřebné pro zpřístupnění extraktivních látek sladu a urychlení jejich rozpouštění a fyzikální, chemické a biochemické změny, které probíhají při rmutování a v dalších fázích přípravy mladiny. (Kantelberg, 1992; Rychtera, 1985).

Vystírání

Cílem vystírání je dobře smíchat sladový šrot s nálevem varní vody tak, aby se obsažené látky, především škrob, převedly do roztoku a aby mohly být sladovými enzymy přeměněny ve směs nízkomolekulárních sacharidů, které později kvasinky zkvasí na etanol a oxid uhličitý. K zajištění potřebné kvality je třeba mechanické a fyzikální procesy při šrotování a vystírání optimálně regulovat pro chemické a biochemické reakce, které probíhají při rmutování, scezování a chmelovaru (Basařová, 2010; Masák 1992).

Pro světlá piva se volí větší nálev, aby se získal řidší rmut, ve kterém se při rmutování urychlí enzymové reakce, podporuje se činnost amylolytických enzymů a tím i rychlejší zcukření sladiny. Mladiny mají vyšší stupeň dosažitelného prokvašení, mláto zadržuje méně extraktu, a proto je i menší potřeba vyslazovací vody. Pro tmavá piva se naopak volí menší množství nálevu. Hustý rmut zachovává delší dobu působnost především proteolytických enzymů. Dekokční způsob rmutování hustšího roztoku zvyšuje převod látek z pluch, procesy karamelizace cukrů a zvýšení barvy, což má příznivý vliv na barvu i chuť tmavého piva. Důležitá je teplota vody použité na vystírku, která ovlivní rychlost průběhu rmutovacích postupů (Basařová et al. 2010).

Studené vystírání s teplotou vody pod 20 °C se volí u velmi špatně rozluštěných sladů s předpokladem delší doby uvolňování dusíkatých látek a zvýšené acidity rmutu.

Teplé vystírání s teplotou vody pod 35 až 38 °C je typické při výrobě českých piv. Tento postup je vhodný pro dobře rozluštěné slady s dekokčním způsobem rmutování. Dobře rozluštěný slad se snadněji zpracovává ve varně s vyšším varným výtěžkem a získaný extrakt sladiny je kvalitativně cennější.

Horké vystírání s teplotou vody 50 až 62 °C tento postup je vhodný pro přelustěné slady (Basařová et al. 2010; Cvangroschová et al. 2004).

Rmutování

Cílem rmutování je rozštěpit a převést optimální podíl extraktu surovin (sladu, event. sladových náhražek) do roztoku v potřebném zastoupení jednotlivých látek důležitých pro další technologický postup a kvalitu piva. Především se to týká zkvasitelných cukrů. Ztekucení škrobu a jeho zcukření je tím dokonalejší, čím pomaleji stoupá teplota a čím intenzivnější je povařování rmutů, které napomáhá uvolňovat škrobová zrna ze sladového šrotu (Kunze 2014; Basařová et al 2010).

Způsob rmutování ovlivňuje kvalitu mladiny, celý další proces výroby i základní charakteristické analytické a organoleptické vlastnosti piva. Jednotlivé postupy se liší teplotami vystírky a rychlostmi vyhřívání i prodlevami při určitých teplotách. V zásadě se postupy rmutování dělí na dekokční a infuzní. Dekokční postupy se realizují postupným vyhříváním podílů rmutu na technologicky důležité teploty a povařováním těchto podílů. Infuzní postupy zajišťují rozpouštění a štěpení extraktu sladu dlouhodobým účinkem sladových enzymů bez mechanického a tepelného působení povařování rmutů (Basařová et al 2010).

Důležité technologické teploty rmutování

Kyselinotvorná teplota (35 až 38 °C) podporuje rozpouštění látek extraktu a zpřístupňuje je působení sladových enzymů v další gradaci teplot při rmutování.

Peptonizační teplota (45 až 50 °C) podporuje se proteolýza a štěpení fosforečnanů a neškrobových polysacharidů typu β -glukanů, především obalových částí škrobových zrn.

Nižší cukrotvorná teplota (60 až 65 °C) zajišťuje působení amylolytických enzymů optimální podmínky pro aktivitu β -amylázy. V roztoku se zvyšuje především podíl redukujících cukrů.

Vyšší cukrotvorná teplota (70 až 75 °C) je důležitá pro optimální působení termostabilnějšího enzymu α -amylázy. Klesá viskozita roztoku, zvýšení redukujících cukrů je méně výrazné. U dobře rozluštěných sladů se dosáhne dokonalé zcukření do 10 minut.

Odrmutovací teplota (76 až 78 °C) je teplota, během které dochází k inaktivaci většiny enzymů. Složení sladiny je tak do jisté míry zafixováno. I po odrmutovací teplotě však zůstává aktivita α -amylázy, která je důležitá zejména pro docukření škrobu dodatečně uvolněného při povaření posledního rmutu u dekokčního rmutování (Basařová et al 2010; Novotný et al. 2019).

Komparace infuzního a dekokčního způsobu rmutování

Informace v literatuře o rozdílech mezi jednotlivými dekokčními postupy a infuzí jsou nedostatečné. Pokud jsou někde uvedeny příklady rmutovacích postupů. Většinou pouze schematicky popisují daný postup, případně uvádějí typické složení mladiny, ale nezabývají se vlivem daného postupu na složení mladiny. Při čerpání a povařování rmutů dochází k provzdušnění a narušení buněčné stěny, čímž se zapojí do celého procesu více enzymů což se projevuje zejména na sensorickém projevu dekokčních piv. Tím se liší infuze i jednotlivé dekokční postupy. Je pravděpodobné, že probíhající oxidačně-redukční procesy jsou velmi rozdílné (Enge et al. 2005; BeerSmith, 2008).

V českých zemích se běžně používají tradiční dekokční postupy, které jsou mimo jiné podmínkou v projektu České pivo. Cílem tohoto projektu je specifikovat charakteristické vlastnosti a odlišnosti českého piva a využít tento pojem v konkurenci zahraničních piv. V českém pivovarství má stále významné postavení hlávkový nebo granulovaný chmel, který pivu dodává dostatečné množství polyfenolů a typické chmelové aroma (Enge et al. 2005; Montanari et al. 2005).

Povařování rmutů (dekokční způsob):

- a) Zvyšuje jakost piva (pitelnost, plnost, zaokrouhluje se chuť, pivo má osobitý charakter

- b) Zlepšuje výtěžky (koagulace částí bílkovin, zvyšuje výtěžnost hořkých látek a zajišťuje vyšší množství polyfenolů)
- c) Vyšší obsah melanoidinů a polyfenolů dává lepší předpoklady pro vyšší antioxidační schopnost a pro senzoryckou stabilitu piva
- d) S počtem rmutů se zvýrazňují výhody dekokce (redukce mikroorganismů, odpaření některých nežádoucích sloučenin)
- e) Zvyšuje ústojnou (pufrovací) schopnost mladiny a piva

Nevýhodou těchto postupů jsou vyšší časové a energetické nároky (Enge et al. 2005).

Rmutování bez povařování rmutů (infuzní způsob)

Infuzní postupy jsou z pohledu českých sládků netradičním postupem, který poskytuje piva s nižší plností chuti, nižší pitelností, tzv. měkká a chuťově nevýrazná piva.

- a) Nevhodný pro odrůdy ječmene českého typu, které nebývají tak rozluštěné
- b) Dochází k problematické hydrolyze β -glukanů
- c) Nedostatečná separace negativních těkavých látek, ke které dochází až během chmelovaru
- d) Nižší varní výtěžky, horší zcukření
- e) Vyšší čirost hotových piv, nižší barva

Výhodou je nižší energetická a časová náročnost, která bývá ještě zvýrazněna použitím přelustěných sladů (Enge et al. 2005).

V roce 2004 byl proveden v podmínkách minipivovaru pokus Jana Engeho a jeho kolektivu s názvem Technologické aspekty infuzních a dekokčních způsobů rmutování, které byly následně v roce 2005 publikovány v odborném periodiku Kvasný průmysl (roč. 51/2005 – číslo 5). Zjištěné a naměřené hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce a níže dále popsány. Pokus se týkal komparace infuzního způsobu rmutování s jedno, dvou a tří stupňovým dekokčním způsobem rmutování.

Tab. 2: Fyzikální a chemické parametry při různých technologiích (dle Enge et al. 2005)

	Infuze	Jednormut	Dvourmut	Třírmut
Volný aminodusík / FAN [mg/l]				
Mladina	178	160	190	207
Mladé pivo	100	109	123	122
Pivo na konci ležení	106	104	130	124
Filtrované pivo	102	107	126	128
Celkový rozpustný dusík [mg/100ml]				
Mladina	93,5	92,4	98,3	91
Koagulovaný dusík [mg/l]				
Mladina	28	27	25	24
Barva [EBCU]				
Mladina	15,9	15,7	18,6	19,9
Mladé pivo	12,5	12,7	14,9	16,0
Pivo na konci ležení	12,7	12,6	14,9	17,3
Filtrované pivo	10,7	10,6	12,8	14,1
pH				
Mladina	5,39	5,51	5,37	5,53
Mladé pivo	4,65	4,57	4,60	4,62
Pivo na konci ležení	4,75	4,68	4,79	4,54
Filtrované pivo	4,65	4,62	4,71	4,53
Hořkost [IBU]				
Mladina	60,5	61,4	65,1	64,8
Mladé pivo	38,1	38,9	45,3	42,6
Pivo na konci ležení	42,2	43,2	45,9	43,7

Filtrované pivo	36,6	39,7	43,1	39,8
Studené kaly [g/50g]				
Mladina	0,449	0,418	0,34	0,313
Kaly ve válci dle Imhoffa [ml]				
Mladina	2,95	2,11	1,83	0,84
Celkové polyfenoly [mg/l]				
Mladina	226	267	293	286
Mladé pivo	177	233	256	241
Filtrované pivo	184	191	224	216
Oxidovatelné polyfenoly [mg/l]				
Mladina	7,25	7,81	9,89	8,03
Oxidované polyfenoly [mg/l]				
Mladina	4,12	3,37	4,76	3,64
Tanoidy [mg/l]				
Mladina	126	151	123	134
Mladé pivo	52,9	88,4	92,4	85,8
Filtrované pivo	28,5	35,6	37,8	36,8
Anthokyanogeny [mg/l]				
Mladina	44,2	79,4	90,4	88,2
Mladé pivo	55,2	70,2	73,4	75,1
Filtrované pivo	40,1	50,3	65,4	59,4
Alfa-glukany [mg/l]				
Mladina	0,59	0,21	0,16	0,09
Diacetyl [mg/l]				
Mladé pivo	0,352	0,261	0,231	0,294

Pivo na konci ležení	0,064	0,067	0,052	0,092
Filtrované pivo	0,062	0,058	0,045	0,068
Vyšší alkoholy [mg/l]				
Mladé pivo	75,2	75,6	79,4	64,5
Filtrované pivo	77,7	65,8	76,3	65,6
Estery [mg/l]				
Mladé pivo	18,27	17,9	17,78	14,21
Filtrované pivo	17,59	18,35	14,81	14,54
Poměr vyšší alkoholy/estery				
Mladé pivo	4,12	4,22	4,47	4,54
Filtrované pivo	4,42	3,59	5,15	4,51
Acetaldehyd [mg/l]				
Mladé pivo	11,3	10,2	8,1	7,2
Filtrované pivo	10,7	10	8,3	6
Dimethylsulfid (DMS) [mg/l]				
Mladina	18	15	14	12
Filtrované pivo	46	38	36	33
Prekursory dimethylsulfidu (PDMS) [mg/l]				
Mladina	42	38	26	23
Číslo kyseliny thiobarbiturové (TBA)				
Mladé pivo	50,4	52,4	57,6	63,2
Pivo na konci ležení	50,2	52,1	52,7	51,4
Filtrované pivo	48,2	49	50,6	46,6

Závěr Engeho práce:

- a) Infuze – nejnižší barva, nejvyšší obsahy alfa-glukanů, třetí místo v sensorickém hodnocení
- b) Jednormut – nebyly zaznamenány žádné extrémní výsledky, čtvrté místo v sensorickém hodnocení
- c) Dvourmut – nejvyšší obsahy celkového rozpustného dusíku, celkových polyfenolů a oxidovatelných a oxidovaných polyfenolů, druhé místo v sensorickém hodnocení
- d) Třírmut – nejnižší obsahy alfa-glukanů, nejvyšší hodnoty barvy, hořkosti, obsahu volného aminodusíku, koagulovatelného dusíku, tanoidů a anthokyanogenů, první místo v sensorickém hodnocení

Ačkoliv lze při rozdílných technologických postupech dosáhnout podobných analytických výsledků, je zřejmé, že výsledná kombinace účinků jednotlivých složek piva zásadně ovlivní celkové hodnocení při sensorické analýze. Zejména u českých piv, vyráběných dekokčním postupem, která mají vysokou pitelnost, může mít změna varního postupu fatální následky (Enge et al. 2005).

Chmelovar

Z technologického pohledu plní chmelovar několik základních funkcí a to sterilizace mladiny, denaturace enzymů a zastavení všech dobíhajících enzymových reakcí v sladince, převedení důležitých hořkých chmelových látek do roztoku a jejich izomerace, přechod chmelových silic odpovědných za chmelové aroma piva do roztoku, tvorba chuťových a aromatických látek, tvorba reduktonů, Odpar některých těkavých sloučenin odpovědných za nepříznivé sensorické vjemy piva, koagulace bílkovin, polyfenolů a některých dalších látek za tvorby lomu vypadávajícího z roztoku a zakoncentrování mladiny na konečnou stupňovitost (Šemík et al. 2003).

Mezi hlavní faktory ovlivňující mikrobiologickou stabilitu piva patří hořké chmelové látky, alkohol, CO₂, nízké pH a nízké koncentrace dusíku a užitelných živin. Mikroorganismy schopné růstu a množení v mladince a pivu patří do několika rodů. U mléčných bakterií je typický výskyt kmenů kazících pivo i kmenů nekazících. BMK, zvláště rody *Lactobacillus* (dále jen L.) a *Pediococcus* (dále jen P.), jsou považovány za nejvíce škodlivé. *L. brevis* je zodpovědný za přibližně 50 % případů mikrobiálního kažení piva. Hořké chmelové látky jsou ve své izomerované formě zodpovědné za hořkou chuť a aroma

piva a zároveň vykazují antimikrobiální účinky proti grampozitivním bakteriím a některým houbám. Účinek chmelových látek může být bakteriostatický nebo baktericidní, v závislosti na koncentraci a době expozice. Druh *P. damnosus* se nachází většinou v pivu při dokvácení a hotovém pivu, méně často v kvasnicích. Druhy *P. inopinatus* a *P. pentosaceus* jsou detekovány zejména jako kontaminace kvasnic a jen zřídka v pivu. Ostatní zástupci BMK jako *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* a *Enterococcus* rezistenci k hořkým chmelovým látkám nevykazují a v pivu se běžně nevyskytují. (Matoulková et al. 2010; Matoulková et al. 2015).

3 VODNÍ KEFÍR

Vodní kefir je tradiční kvašený nápoj vyráběný z vody a symbiotické kultury bakterií a kvasinek v polysacharidové biofilmové matici vytvořené bakteriemi. Zrna vodního kefiru jsou želatinové struktury o průměru 5 až 20 mm a nepravidelného, kvěťákovitého tvaru. Přibližný obsah sušiny v zrnech se může pohybovat od 10 do 14 % (w/w). Někdy je konzumován jako alternativa k probiotickým nápojům na bázi mléka, nebo výrobkům z čajových kultur, jako je kombucha. Příznivé účinky konzumace kefiru jsou spojovány s přítomností probiotických BMK. Vodní kefir je obvykle vyráběn jako probiotický domácí nápoj. Hotový výrobek, pokud je stáčen do lahví, vytváří sycený nápoj. Fermentovaný nápoj vodního kefiru je vhodný i pro veganské spotřebitele, nebo mají laktózovou intoleranci. Zrna vodního kefiru můžete vidět na obrázku 4 (Tibicos, 2022; Lynch et al. 2021).

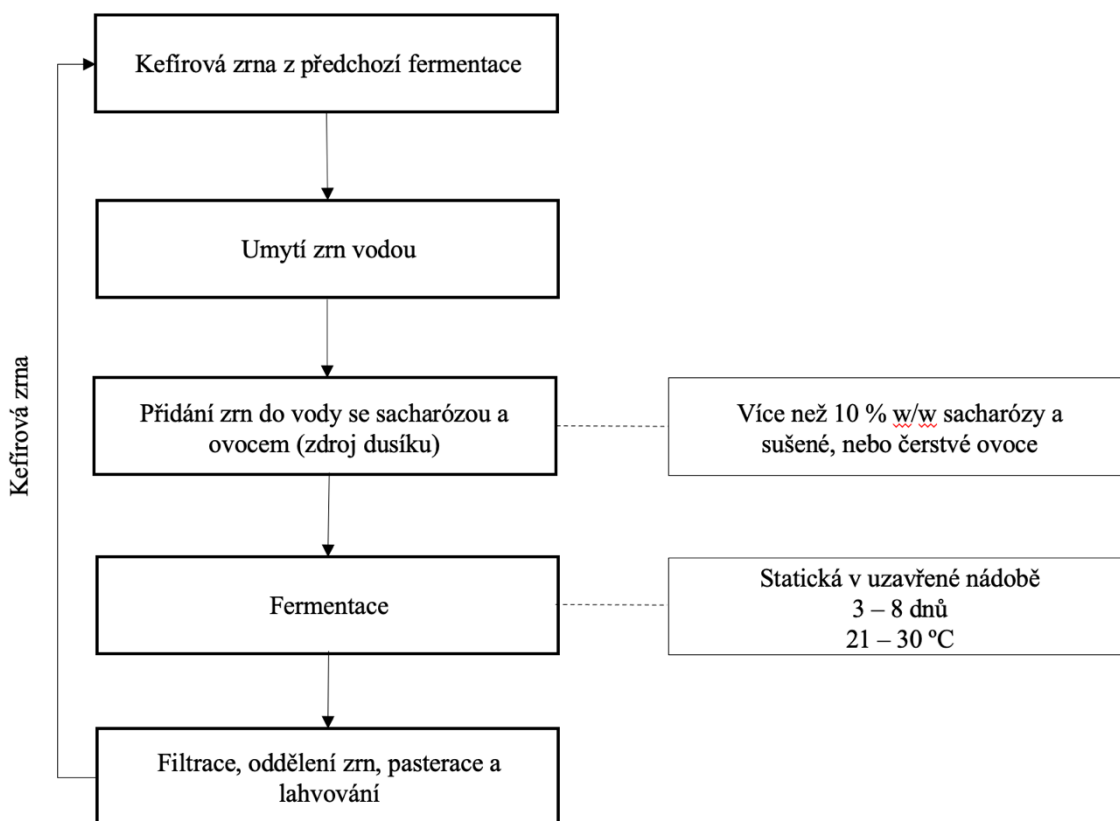


Obr. 4: Krystaly Tibi (snímek autora)

Vodní kefir se vyrábí přidáním kefirových zrn do směsi vody, (sušeného) ovoce a cukru fermentuje 2 – 4 dny při pokojové teplotě za anaerobních podmínek a následně se sítem oddělí zrna, která se mohou použít při dalším procesu fermentace (Obr. 5). Nálev je mírně sladký, kyselý, alkoholický a perlivý. Má nažloutlou barvu a ovocnou chuť a vůni. Jak zdroj uhlíku slouží obvykle a jako zdroj dusíku čerstvé nebo sušené ovoce. Obě tyto složky mají zásadní význam pro metabolismus a růst mikroorganismů v zrnech vodního kefiru a fermentační schopnost zrn jako celku, přičemž klíčové jsou trofické a kooperativní interakce

a výměna metabolitů mezi mikroorganismy v zrnech. Vodní kefir je náročné prostředí s vysokým obsahem cukru (na začátku může být až 100 g/l) a nízkým obsahem dusíku (aminokyselin), proto je důležitá vzájemná spolupráce mezi mikrobiálním společenstvím (Lynch et al. 2021).

Hlavní mikroorganismy, které se vyskytují ve vodním kefiru, jsou BMK, kvasinky, bifidobakterie a bakterie octového kvašení (dále jen BOK). Různé vodní kefir v sobě skrývají různou druhovou diverzitu. Stále není jasné, které druhy mikroorganismů (dále jen MO) jsou v průběhu fermentace klíčové a jak druhová diverzita ovlivňuje průběh fermentace. BMK *L. hilgardii* je často spojován s fermentací vodního kefiru a předpokládá se, že je zodpovědný za růst zrn vodního kefiru díky produkci EPS ze sacharózy. Na obrázku 3 je znázorněn výrobní proces vodního kefiru. (Laureys et al. 2016).



Obr. 5: Proces výroby vodního kefiru dle Lynch et al 2021

Symbiotická kultura vodního kefiru

Znalost složení mikroflóry a kvantitativního zastoupení jednotlivých MO vodního kefiru jsou základními předpoklady pro pochopení tvorby a interakci stabilního společenství těchto MO. V roce 2011 byl publikován článek na téma The microbial diversity of water kefir,

jejímž autorem byla Anna Gulitz et al., kde byly popsány výsledky studie tří různých v domácnostech kultivovaných zrn vodního kefiru. Ve vodním kefiru byly nalezeny druhy MO, které doposud nebyly zjištěny a identifikovány v jiných studiích vodního kefiru. Studie odhalila, že zrna vodního kefiru se skládala z BMK podporujících alkoholové kvašení a některých bakterií kyseliny octové, které případně oxidují vzniklý etanol. Kvasinky které u zkoumaných vzorků Tibi převažovaly byly *Zygorulaspora florentina*. Všechny identifikované kvasinky byly schopny fermentovat glukózu. Zdá se, že to, které druhy v mikrobiomu zrna převažují, závisí na zeměpisném původu zrna a na fermentačním substrátu a podmínkách (viz tabulka 3). Tyto faktory v konečném důsledku ovlivňují vlastnosti vyráběného nápoje, například pokud jde o vůni, chuť a kyselost. Lze je také kontrolovat a využívat při výrobě nápoje požadovaných vlastností. Výroba vodního kefiru probíhá tradičně v malém měřítku a používání definovaných kvasinových kultur není běžně praktikováno (Gulitz et al. 2011; Lynch et al. 2021).

Bakterie mléčného kvašení, zejména druhy rodu *Lactobacillus*, jsou hlavními členy komplexního bakteriálního společenstva zrna, přičemž bakterie kyseliny octové mají sekundární úlohu v závislosti na přítomnosti kyslíku. Dominantními členy jsou také kvasinky, a to nejen druhu *Saccharomyces*. Jak již bylo zmíněno, důležitý je původ zrn a stejně tak následně použitý substrát (zdroj uhlíku a dusíku), který může významně ovlivnit diverzitu a dominantní kmeny tvořící konkrétní kefirovou fermentaci. Níže v tabulce čtyři jsou znázorněny faktory ovlivňující průběh fermentace vodního kefiru (Lynch et al. 2021).

Tab. 3: Mikrobiální složení vodního kefíru dle Lynch et al. 2021

Bakterie mléčného kvašení	Bakterie kyseliny octové	Ostatní bakterie	Kvasinky	Země původu
<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. hilgardii</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i> , <i>Lb. casei</i> ssp. <i>rhamnosus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>St. lactis</i> , <i>St. cremoris</i>	-	-	<i>Zygosaccharomyces florentinus</i> , <i>Torulaspora pretoriensis</i> , <i>Kloeckera (Hanseniaspora) apiculata</i> , <i>Candida lambica</i> , <i>C. valida</i>	Francie
<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. sunkii</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. satsumensis</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. buchneri</i>	<i>Gluconobacter G. liquefaciens</i> , <i>A. lovaniensis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Pichia cecembensis</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>P. membranifaciens</i> , <i>P. caribbica</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>C. valdiviana</i> , <i>Zy. (Lachancea) fermentati</i> , <i>Kz. aerobia</i>	Brazílie
<i>Lb. hilgardii</i> , <i>Lb. nagelii</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Leuc. pseudomesenteroides</i> , <i>Lb. harbinensis</i> , <i>Lb. mali/hordei</i> , <i>B. aquikefiri</i>	-	-	<i>S. cerevisiae</i> , <i>D. bruxellensis</i>	Belgie

Tab. 4: Důsledky faktorů na průběh fermentace dle Lynch et al. 2021

Ovlivňující faktor	Nízká úroveň	Vysoká úroveň
Živiny	<p>Pomalé kvašení</p> <p>Vysoký celkový obsah zbytkových sacharidů</p> <p>Nízká produkce metabolitů</p> <p>Vysoké hodnoty pH</p> <p>Nízký nebo žádný růst zrna</p> <p>Vysoký výskyt BOK</p>	<p>Rychlá fermentace</p> <p>Vysoká produkce metabolitů</p> <p>Vyšší koncentrace nezkašených sacharidů</p> <p>Vysoké (relativní) pH</p> <p>Nižší poměr BMK: kvasinky</p> <p>Nižší poměr k. octové: etanolu</p> <p>k. octové: kyselině mléčné</p>
Pufrovací kapacita	<p>Nízké hodnoty pH</p> <p>Nízký růst zrna</p>	<p>Vysoká produkce metabolitů</p> <p>Vysoký celkový zbytkový sacharid</p> <p>Vysoké (relativní) pH</p>
Kyslík	Nízký výskyt BOK	Vysoký výskyt BOK
pH	Nízký růst zrna	Vysoký růst zrna
Růst zrna	<p>Malá zrna:</p> <p>Vysoký počet vitálních zrn</p> <p>Vysoký obsah metabolitů</p>	<p>Velká zrna:</p> <p>Nižší počet životaschopných zrn</p>

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

- Hlavním cílem této diplomové práce bylo vyrobit prototypy atypického pivního a sladového nápoje na bázi infuzní sladiny (dále jen SLI), dekokční sladiny (dále jen SLD), infuzní mladiny (dále jen MLI) a dekokční mladiny (dále jen MLD) fermentované pomocí symbiotické kultury vodního kefiru jako alternativy za pivovarské kvasnice.
- Dílčími cíli bylo provedení základní fyzikálně-chemické analýzy, reologické analýzy, stanovení biogenních aminů pomocí derivatizace, sensorické analýzy a posouzení výsledků jednotlivých analýz s přihlédnutím k rozdílům u jednotlivých vzorků v závislosti na surovinové a technologické skladbě a podmínkách fermentace.

5 METODIKA

Za účelem zjištění vybraných kvalitativních parametrů atypických nápojů na bázi piva byly vyrobeny čtyři vzorky atypických pivních a sladových nápojů. Pro jejich zhotovení byla využita technologie výroby infuzním a dekokčním způsobem výroby sladiny.

U těchto vzorků byly stanoveny hodnoty refraktometrické sušiny (RS) v jednotkách °Brix, EPM, dále pH, stanovení hodnoty celkově rozpuštěných pevných látek (TDS), hustoty, obsah etanolu v objemových i hmotnostních procentech, reálný (Er) a zdánlivý (Ea) extrakt a nakonec reálný (Rdf) a zdánlivý (Adf) stupeň fermentace.

U analyzovaných vzorků byla také provedena reologická analýza a stanovení biogenních aminů. Na konci fermentace, tedy po uplynutí 96 hodin, byly vzorky podrobeny sensorické analýze.

5.1 Výroba vzorků

Analyzované vzorky byly vyrobeny v podmínkách domácího pivovaru s využitím některých základních technologií, a to zejména pro zpracování sladového zrna do podoby sladového šrotu. Výroba vzorků byla navržena tak, aby korespondovala s tradiční technologií dekokce na dva rmuty využívané ve většině průmyslových pivovarů a minipivovarů na území České republiky a dále technologií infuzní bez přídavku jakýchkoli náhražek (bližší specifikace je uvedena v tabulce 5 a 6). Výsledná mladina byla chmelena (bližší specifikace je uvedena v tabulce 5 a 6) a dále zpracována dle tradičních kroků odpovídajícím výrobě českého piva. Kvašení pomocí Tibi probíhalo 96 hodin ve sterilních skleněných lahvích typu OMNIO 3,7 litrů při laboratorní teplotě 20 ± 1 °C, kdy každých 24 hodin byly tyto vzorky podrobeny fyzikálně-chemické a reologické analýze.

Receptura byla zvolena tak, aby jednotlivé vzorky přesahovaly hodnotu 10,00 % (w/w) EPM. Pro výrobu analyzovaných vzorků byl použit slad plzeňského typu společnosti Soufflet Agro a.s. a využít teplotní gradient a časové prodlevy dle Basařová et al. (2010) (bližší specifikace je uvedena v tabulce 5 a 6).

Pro výrobu mladiny byl použit chmel odrůdy Žatecký poloraný červěňák (ŽPČ) s deklarovanou hodnotou 3,8 % (w/w) izo- α -kyselin. Každý tento vzorek byl v laboratorních podmínkách zaočkován 90 g Tibi a následně ponechán 96 hodinám fermentace při pokojové teplotě.

Tyto vzorky byly fyzikálně-chemicky hodnoceny před samotným zaočkováním Tibi a následně v průběhu 24, 48, 72 a 96 hodinách. Na konci fermentace byly podrobeny také senzorické analýze.

Tab. 5: Specifikace mísení a chmelení analyzovaných vzorků – dvoustupňová dekokce

Poměr varné vody k sladovému šrotu	[l/kg] 5,55/1
Vystírka	38,0 °C, 10 min
Zapárka	50,0 – 52,0 °C, 20 min
Rozdělení rmutu 1/3	
Nižší cukrotvorná teplota	62,0 – 65,0 °C, 20 min
Vyšší cukrotvorná teplota	72,0 – 74,0 °C, 10 min
Jódová zkouška	
Povaření	100 °C, 15 min
Spojení rmutu s výslednou teplotou 62 °C a prodlevou 10 min	
Rozdělení rmutu ¼	
Vyšší cukrotvorná teplota	72,0 – 74,0 °C, 10 min
Jódová zkouška	
Povaření	100 °C, 15 min
Spojení rmutu s výslednou teplotou 78 °C	
Scezování	
Obsah refraktometrické sušiny 11,2 °Brix	
Chmelovar pouze ze 3 litrů sladiny po dobu 90 min	
1. Chmelení	2 g / 90 min
2. Chmelení	4 g / 45 min
3. Chmelení	3 g / 10 min
Hodnota hořkosti po odparu byla 29 IBU	
Obsah refraktometrické sušiny po odparu 12,8 °Brix	

Tab. 6: Specifikace mísení a chmelení – infuzní způsob rmutování

Poměr varné vody k sladovému šrotu	[l/kg] 5,55/1
Vystírka	38,0 °C, 10 min
Zapárka	50,0 – 52,0 °C, 20 min
Nižší cukrotvorná teplota	62,0 – 65,0 °C, 20 min
Vyšší cukrotvorná teplota	72,0 – 74,0 °C, 10 min
Jódová zkouška	
Scezování	
Obsah refraktometrické sušiny 10,6 °Brix	
Chmelovar pouze ze 3 litrů sladiny po dobu 90 min	
1. Chmelení	2 g / 90 min
2. Chmelení	4 g / 45 min
3. Chmelení	3 g / 10 min
Hodnota hořkosti po odparu byla 32 IBU	
Obsah refraktometrické sušiny po odparu 13,6 °Brix	

5.2 Stanovení základních fyzikálně-chemických parametrů

V průběhu fermentace byla v čase 0 hod, 24 hod, 48 hod, 72 hod a 96 hod provedena fyzikálně chemická analýza vzorků. V rámci této analýzy bylo stanoveno pH, TDS (Total Dissolved Solids, dále jen TDS), refraktometrická sušina, obsah extraktu (zdánlivý a skutečný), stupeň prokvašení (zdánlivý a skutečný), koncentrace etanolu, hustota a kalorická hodnota. Obsah extraktu (zdánlivý a skutečný), stupeň prokvašení (zdánlivý a skutečný), koncentrace etanolu, hustota a kalorická hodnota byly měřeny pomocí hustoměru Anton Paar DMA 4500M s modulem Alcoalyzer Beer ME (Anton Paar GmbH Rakousko). Jednotlivé vzorky byly před analýzami odplyněny odstředěním. Analýzy byly provedeny dle standardních postupů Evropské pivovarské konvence (European brewery convention - EBC) společnosti Analytica (EBC 2007).

Stanovení pH

Hodnoty pH byly měřeny pomocí vpichového pH metru (pH meter, HI 99161, Foodcare, Hanna Instruments, USA) při laboratorní teplotě 25 ± 2 °C. Měření bylo provedeno před odstředěním vzorků a u každého vzorku bylo provedeno třikrát ($n = 3$).

Stanovení celkového počtu rozpuštěných pevných látek (TDS)

Stanovení hodnot TDS bylo provedeno pomocí elektrody konduktometru (CyberScan CON 110, Eutech Instruments, Thermo Scientific, USA). Měření bylo provedeno před odstředěním vzorku a u každého vzorku bylo provedeno třikrát ($n = 3$).

Stanovení refraktometrické sušiny

Měření refraktometrické sušiny bylo provedeno s využitím digitálního refraktometru (Digital refractometer Kern ORF 45BE, Kern & Sohn GmbH, Německo). Vzorky byly před měřením odstředěny. Měření bylo u každého vzorku provedeno třikrát ($n = 3$).

Stanovení hustoty, obsahu etanolu, kalorické hodnoty, zdánlivý a reálný extrakt a zdánlivý a reálný stupeň fermentace

Pomocí přístroje Anton Paar Density Meter DMA 4500 M s modulem Alcoalyzer Beer ME byly měřeny parametry jako obsah etanolu a hustota. Zdánlivý a reálný extrakt a zdánlivý a reálný stupeň fermentace, stejně tak jako energetická hodnota, byly dopočítány pomocí softwaru přístroje. Vzorky byly před stanovením centrifugovány. Měření bylo provedeno třikrát ($n = 3$).

5.3 Reologická analýza

Reologickou analýzou byly posuzovány následující veličiny. Smykové napětí (mez toku) a viskozita analyzovaných vzorků. Pro účely tohoto měření byl využit přístroj HAAKE RheoStress 1 od firmy Thermo Fisher Scientific. Pro analýzu všech vzorků byla zvolena geometrie válec-válec s vnitřním průměrem válce 34 mm a šěrbinou 7, 2 mm. Objem hodnocených vzorků byl vždy 40 ml a veškerá měření probíhala při teplotě 20 ± 1 °C. Měření bylo provedeno dvakrát ($n = 2$). Reologické chování analyzovaných vzorků bylo popsáno využitím modelu Oswalda de Waelea, jenž slouží zejména pro látky pseudoplastické a dilatantní (obrázek 4). Dochází-li k poklesu viskozity kapaliny s rostoucí

smykovou rychlostí, jedná se o kapaliny pseudoplastické. Pokud však naopak dochází k tomu, že viskozita s rostoucí smykovou rychlostí stoupá, jedná se o kapaliny dilatantní. (Pushpadass et al., 2019). Model Oswald de Waele bývá označován také jako model Power Law, či model mocninový. S tímto modelem je spjata rovnice:

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

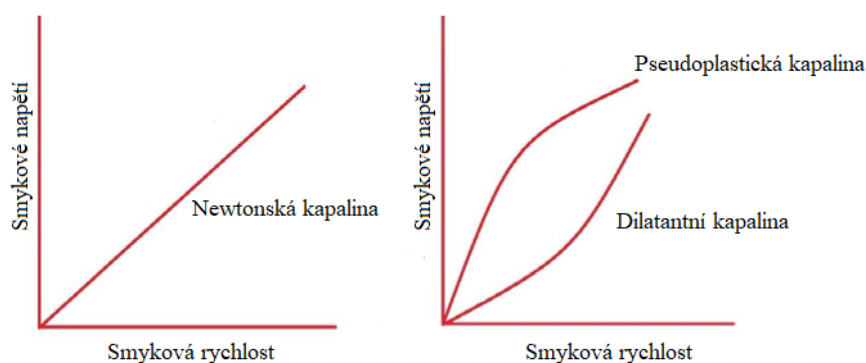
Kde:

τ ... smykové napětí [Pa],

K ... součinitel konzistence [Pa · sn],

n ... index tokového chování ($n > 1$ (látka dilatantní), $n < 1$ (látka pseudoplastická)),

$\dot{\gamma}$... smyková rychlost [s^{-1}]



Obr. 6: Závislost smykového napětí na smykové rychlosti Newtonských kapalin (vlevo) a kapalin pseudoplastických a dilatantních (vpravo). Vytvořeno dle Pushpadass et al., 2019.

5.4 Stanovení biogenních aminů

Vzorky byly derivatizovány dansylchloridem podle Dadákové et al. (2009) a následnou separací a detekcí biogenních aminů (dále jen BA) na reverzních fázích vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP-HPLC) s UV detekcí ($\lambda = 254$ nm).

Každý vzorek byl po 1 ml odpipetován z ependorfkové mikrozkušavky do derivatizačních vialek. Přidáno bylo dále 100 μ l vnitřního standardu o koncentraci 5 g/l, 1,5 ml karbonátového pufru pH 11,1 – 11,2 (uhličitanu sodného a draselného) a 2 ml roztoku

dansylchloridu v acetonu o koncentraci 5 g/l. Jako inertní standard posloužil 1,7-heptandiamin. Dále bylo zařazeno dvacetihodinové třepání v temnu. Tato reakce byla zakončena přidavkem 200 μ l prolinu s následným hodinovým třepáním. Intenzivním vytřepáním do 3 ml heptanu byly extrahovány dansylderiváty. Z vrchní heptanové vrstvy byl odpipetován 1 ml do vialky a následně odpařen pod dusíkem při teplotě 60 °C. Suchý odparek byl zředěn 1,5 ml acetonitrilu (100% koncentrovaný). Derivatizované vzorky byly před analýzou filtrovány pomocí stříkačkového filtru s porozitou 0,22 μ m. Samotná analýza byla provedena na zařízení RP-HPLC s UV/VIS DAD detektorem (Agilent Technologies; autosamplerem LabAlliance SHLA84000). Minimální mez detekce byla stanovena vzhledem k citlivosti přístroje na min. 2 mg/l. Tento postup byl opakován dvakrát (n = 2).

5.5 Senzorická analýza

Senzorická analýza byla provedena skupinou vybraných hodnotitelů (expertů), kteří byli vyškolení v popisu piva dle normy ISO 8586-1 (1993). Hodnotitelé byli ve věku 33-46 let (4 ženy a 6 mužů). Vzorky byly při hodnocení podávány ve sklenicích o objemu [50 ml], kódované trojmístnými čísly. Vzorky byly podávány v náhodném pořadí při teplotě 20 ± 2 °C v senzorické laboratoři vybavené senzorickými kabinami dle ISO 85862007.

Vzorky byly hodnoceny pomocí pětibodové stupnice dle následujících kritérií:

Off-flavors, úroveň nasycení a intenzita hořkosti (1 - sotva rozpoznatelná, 3 - středně silná, 5 - velmi silná).

Pro hodnocení celkové přijatelnosti (podobnost k mladému pivu po primární fermentaci ve spilce při výrobě klasicky vařeného piva) byla použita devítibodová stupnice, kde 1 - označuje vzorek jako mimořádně dobrý a 9 - mimořádně špatný. Definice výše uvedených kritérií uvádí Rüksam, Gastl a Becker (2013).

Senzorická analýza byla do studie zařazena především za účelem zjištění schopností chmele eliminovat senzoricky nežádoucí produkty fermentace pomocí Tibi a také posouzení potenciálu Tibi fermentovat nápoje vyrobené na bázi piva ve srovnání s pivovarskými kvasnicemi jako alternativou při výrobě atypických pivních a fermentovaných sladových nápojů.

V průběhu celého fermentačního procesu byly senzoricky zaznamenávány změny a pořizována fotodokumentace, která je uvedena níže. Na základě těchto průběžných

hodnocení byly ze sensorické analýzy vyloučeny vzorky SLI a SLD a to především pro jejich nepitelnost způsobenou výraznou aciditou ($\text{pH} < 4$).

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

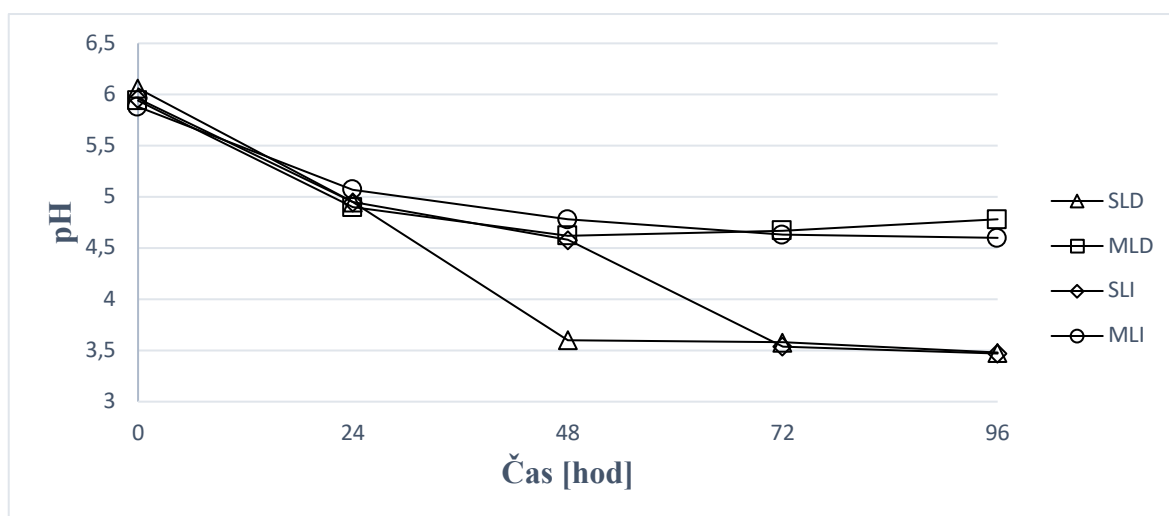
V rámci této diplomové práce byly vyrobeny nápoje na bázi piva. Jednalo se o kvašený sladový nápoj vyrobený dekokčním a infuzním způsobem výroby sladiny a atypické pивní nápoje vyrobené dekokčním a infuzním způsobem výroby mladiny, přičemž jako fermentační médium byly využity krystaly Tibi. Tibi bylo využito především proto, protože doposud nebyla zaznamenána žádná studie zabývající se fermentací Tibi v prostředí nápojů na bázi piva. V této části práce jsou uveřejněny výsledky všech provedených analýz v průběhu celého experimentu.

6.1 Výsledky fyzikálně chemické analýzy

Základní fyzikálně-chemické parametry vzorků kvašených sladových nápojů a atypických pivních nápojů na bázi piva jsou uvedeny v níže uvedených tabulkách a grafech. U zkoumaných fyzikálně chemických vlastností byly pozorovány jisté podobnosti/rozdíly. Zejména se jedná o hodnoty obsahu etanolu, obsahu extraktu, stupně fermentace, hustoty a pH testovaných vzorků. Zjištění těchto hodnot je nezbytné k základnímu porovnání vzorků a mají přímou souvislost s organoleptickými vlastnostmi hodnocených vzorků (Lorencová et al. 2019).

Výsledky stanovení pH

Výsledky stanovení pH u hodnocených vzorků v časových intervalech 0 hod, 24 hod, 48 hod, 72 hod a 96 hod jsou graficky znázorněny na obrázku 6.



Obr. 6: Změna pH v průběhu fermentace

Klesající hodnota pH u vzorků dekokční a infuzní sladiny indikuje pravděpodobně rozvoj BMK, bifidobakterií a BOK. Těmto MO se dařilo ve sladinách lépe zejména proto, protože jejich růst nebyl inhibován silicemi a pryskyřicemi chmele. Z tohoto důvodu lze pozorovat u mladiny dekokční i infuzní výrazně nižší pokles pH.

Nejrazantnější pokles pH u vzorku sladiny byl patrný v rozmezí 48 – 72 hodin fermentace. Po 72 hod se pokles pH u vzorku sladiny stabilizoval a z původní hodnoty u SLD pH 6,06 a SLI pH 5,96 dosahoval hodnot v rozmezí pH 3,47 – 3,48.

U vzorku mladiny byl pokles pozvolný a po 48 hod dosahoval téměř stabilních hodnot. Původní hodnoty u MLD dosahovaly hodnoty pH 5,94 a u MLI pH 5,88 a na konci fermentace (96 hod) byly hodnoty u MLD na pH 4,78 a MLI na hodnotě pH 4,60.

V kapitole 2.5 Technologie výroby piva je zmíněn pokus Enge et al. (2005). V této publikaci byly mimo jiné zmíněny hodnoty pH u mladiny vyrobené dekokčním a infuzním způsobem rmutování, kdy před zahájením fermentace dosahovala hodnota pH u MLD hodnoty pH 5,37 (dvourmut) a u MLI hodnoty pH 5,39. Na konci primární fermentace (mladé pivo) byla hodnota pH u MLD na hodnotě pH 4,60 (dvourmut) a u MLI na hodnotě pH 4,65.

Z výše uvedených hodnot je patrná značná podobnost výsledných pH po primární fermentaci u prototypů atypických pivních nápojů a piva uvedeného ve studii Enge et al. (2005). U fermentovaných sladinových nápojů byla hodnota pH výrazně nižší, což se výrazně negativně podepsalo i na samotném senzoryckém projevu těchto nápojů.

Výrazný pokles pH byl také pozorován u studie Laureys et al. (2021), kdy došlo k poklesu pH v průběhu fermentace u vodního kefíru (voda, sušené a čerstvé ovoce, sacharóza a Tibi) z hodnoty 4,82 na 3,34.

Většina kvasinek je schopna růstu při pH nad 3,5 Kurtzman et al. (2011), avšak optimální pH pro růst *Saccharomyces cerevisiae* je 4,2 až 5 a maximální hodnota se pohybuje kolem 7,5 (Šilhánková, 2002).

Dle současných legislativních předpisů musí být pH piva v rozmezí 4,0 – 4,9. Hodnoty pH piva mimo tento interval znamenají nějakou vadu piva. Piva s pH pod 4 jsou již chuťově kyselá a nepitelná. Takto nízké pH je důsledkem infekce octových bakterií. K tomuto jevu může dojít u starých piv, které dlouho leží ve sklepě při dozrávání při teplotách nad 4 °C.

V praxi se pH piva pohybuje nejčastěji v rozmezí hodnot 4,3–4,7 (Bezpecnostpotravin.cz, 2022).

Výsledky stanovení TDS

Stanovením TDS se sleduje celkový obsah rozpustných látek ve vodě. Výsledné hodnoty TDS jsou znázorněny v tabulce 7.

Tab. 7: Hodnoty TDS u analyzovaných vzorků

Vzorek	TDS [ppm]
SLD 0 hod	4,37
SLD 24 hod	4,72
SLD 48 hod	4,54
SLD 72 hod	4,70
SLD 96 hod	4,82
Vzorek	TDS [ppm]
MLD 0 hod	5,18
MLD 24 hod	4,72
MLD 48 hod	5,34
MLD 72 hod	4,43
MLD 96 hod	5,15
Vzorek	TDS [ppm]
SLI 0 hod	4,83
SLI 24 hod	4,73
SLI 48 hod	4,68
SLI 72 hod	4,63
SLI 96 hod	5,13
Vzorek	TDS [ppm]
MLI 0 hod	6,15
MLI 24 hod	5,90
MLI 48 hod	5,95
MLI 72 hod	5,24
MLI 96 hod	5,96

U dekokční sladiny byly naměřeny hodnoty TDS v rozmezí byly naměřeny hodnoty v rozmezí 4,37 – 4,82 ppm. U vzorku MLD byly naměřeny hodnoty TDS v intervalu 4,43 – 5,34 ppm. U vzorku SLI byly naměřeny hodnoty v rozmezí 4,63 – 5,13 ppm a u MLI v rozpětí 5,24 – 6,15 ppm.

Změny v naměřených hodnotách TDS jsou způsobeny měnícím se množstvím elektrolytů, a nebo také ve vodě rozpustěných pevných látek, které mají za následek vyšší vodivost výrobku (Sheng-Dun et al., 2013).

Změny hodnot TDS u vzorků lze vyhodnotit jako zanedbatelné, jelikož se jedná o velmi malé jednotky (ppm z angl. „parts per million“ = „částice na jeden milion“, „miliontina v celkovém množství“).

Výsledky stanovení refraktometrické sušiny

Tab. 8: Hodnoty refraktometrické sušiny u analyzovaných vzorků

Vzorek	RS [° Brix]
SLD 0 hod	11,2
SLD 24 hod	10,6
SLD 48 hod	7,1
SLD 72 hod	6,3
SLD 96 hod	5,6
Vzorek	RS [° Brix]
MLD 0 hod	12,8
MLD 24 hod	11,9
MLD 48 hod	9,4
MLD 72 hod	7,2
MLD 96 hod	6,3
Vzorek	RS [° Brix]
SLI 0 hod	10,6
SLI 24 hod	9,2
SLI 48 hod	7,3
SLI 72 hod	6,1
SLI 96 hod	5,6
Vzorek	RS [° Brix]
MLI 0 hod	13,6
MLI 24 hod	12,5
MLI 48 hod	10,1
MLI 72 hod	8,1
MLI 96 hod	7,7

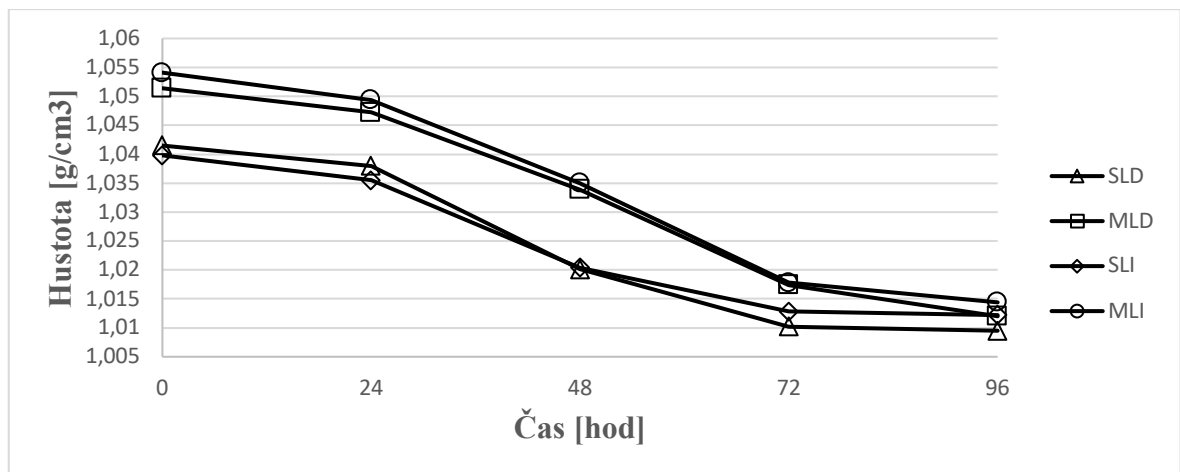
Z naměřených hodnot lze vyčíst, že u všech prototypů nápojů na bázi piva docházelo k velice podobnému průběhu poklesu hodnot RS. U vzorku SLD došlo k poklesu RS z původní hodnoty 11,2 ° Brix o 50 % (5,6 ° Brix) na hodnotu 5,6 ° Brix. U MLD klesla hodnota RS z hodnoty 12,8 ° Brix o 51 % (6,5 ° Brix) na 6,3 ° Brix. Hodnota RS u SLI během 96 hodin fermentace klesla z původní hodnoty 10,6 ° Brix o 48 % (5,0 ° Brix) na hodnotu 5,6 ° Brix a

u MLI z původní hodnoty RS 13,6 ° Brix o 43 % (5,9 ° Brix) na výslednou hodnotu 7,7 ° Brix.

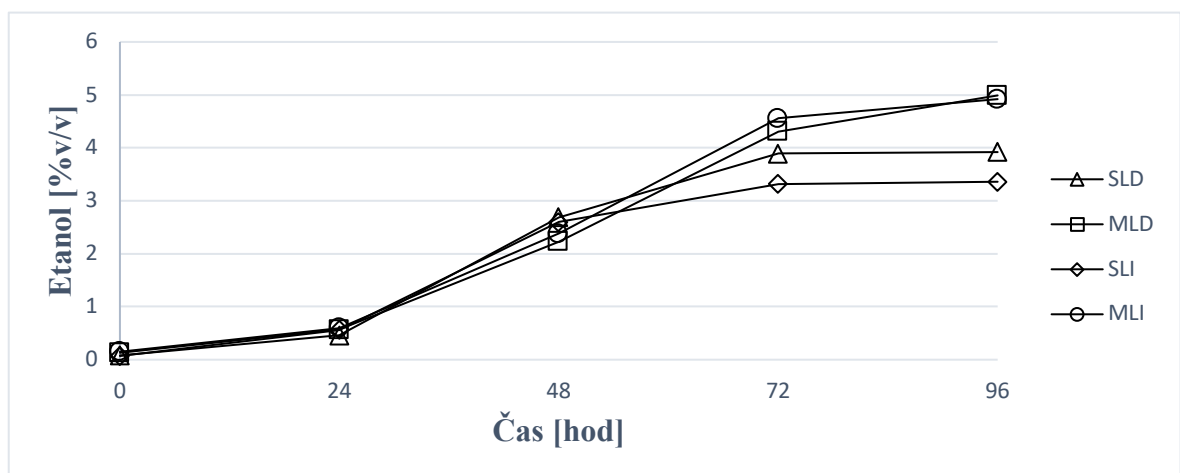
Vyšší úbytek hodnoty RS byl naměřen u vzorků atypických pivních nápojů (mladin). U MLD byl naměřen nejvyšší pokles RS za 96 hodin, a to o hodnotu 6,5 ° Brix. Nižší pokles RS byl naopak naměřen u fermentovaných sladových nápojů. Nejnižší pokles RS byl zaznamenán u SLI a to o hodnotu 5,0 ° Brix.

Výsledky stanovení hustoty a obsahu etanolu

Hustota a obsah etanolu byly stanoveny přístrojem Anton Paar s modulem Alcoalyzer Beer ME a jejich hodnoty jsou graficky znázorněny na obrázcích 7 a 8.



Obr. 7 Změna hustoty v průběhu fermentace



Obr. 8 Změna koncentrace etanolu v průběhu fermentace

V průběhu fermentace docházelo u vzorků k nárůstu koncentrace etanolu. U SLD byla nejvyšší naměřená hodnota koncentrace etanolu 3,96 % v/v. U MLD byla nejvyšší naměřená hodnota obsahu etanolu 4,99 % v/v. U vzorku SLI byla naměřena nejvyšší hodnota obsahu etanolu 3,36 % v/v a u MLI 4,92 % v/v. U všech nápojů na bázi piva koresponduje nárůst koncentrace etanolu s poklesem refraktometrické sušiny, tedy s poklesem obsahu zkvasitelných sacharidů.

Na základě výsledků naměřených hodnot etanolu by musely všechny tyto výrobky nápojů na bázi piva splňovat požadavky na označování potravin a uvádět na svém obalu hodnotu naměřené koncentrace alkoholu v objemu (Česko, 1997).

Průběh fermentace lze také sledovat různými způsoby, včetně měření snížení specifické hmotnosti mladiny, vývinu CO₂, pH a tvorbu etanolu stejně tak i kamerou ve fermentoru (Zhuang et al., 2017).

Dalším sledovaným parametrem byla hustota analyzovaných nápojů v průběhu fermentace. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 9.

Tab. 9: Hustota analyzovaných vzorků v průběhu fermentace

Vzorek	Hustota [g/cm³]
SLD 0 hod	1,0415
SLD 24 hod	1,038
SLD 48 hod	1,0201
SLD 72 hod	1,0102
SLD 96 hod	1,0095
Vzorek	Hustota [g/cm³]
MLD 0 hod	1,0514
MLD 24 hod	1,0472
MLD 48 hod	1,0339
MLD 72 hod	1,0174
MLD 96 hod	1,012
Vzorek	Hustota [g/cm³]
SLI 0 hod	1,0398
SLI 24 hod	1,0355
SLI 48 hod	1,0204
SLI 72 hod	1,0128
SLI 96 hod	1,0122
Vzorek	Hustota [g/cm³]
MLI 0 hod	1,0541
MLI 24 hod	1,0494
MLI 48 hod	1,035
MLI 72 hod	1,0178
MLI 96 hod	1,0144

V případě vzorku SLD byla naměřena hodnota hustoty v rozmezí 1,0415 – 1,0095 [g/cm³]. U vzorku MLD se pohybovala naměřená hodnota hustoty v rozmezí 1,0514 – 1,012 [g/cm³]. SLI měla hustotu v rozmezí 1,0398 – 1,0122 [g/cm³] a u MLI 1,0541 – 1,0144 [g/cm³]. Z naměřených hodnot v tabulce 8 je patrný postupný pokles hustoty u všech sledovaných vzorků. K poklesu hodnoty hustoty u všech vzorků nápojů na bázi piva došlo s největší pravděpodobností z důvodu intenzivní produkce etanolu a také snížení extraktu v průběhu fermentace.

Výsledky zdánlivého a reálného extraktu a zdánlivého a reálného stupně fermentace

V tabulce 10 jsou uvedeny hodnoty reálného a zdánlivého extraktu a hodnoty reálného a zdánlivého stupně fermentace zkoumaných vzorků nápojů na bázi piva.

Tab. 10: Průběh reálného a zdánlivého extraktu v průběhu fermentace

Vzorek	Čas [hod]	Er [%w/w]	Ea [%w/w]	Rdf [%w/w]	Adf [%w/w]
SLD	0	10,85	10,82	1,14	1,35
SLD	24	10,14	9,97	6,65	7,87
SLD	48	6,56	5,57	39,62	47,55
SLD	72	4,50	3,08	58,25	70,55
SLD	96	4,34	2,90	59,36	71,95
SLI	0	10,43	10,41	1,04	1,24
SLI	24	12,91	12,71	6,32	7,37
SLI	48	6,60	5,65	38,65	46,38
SLI	72	4,96	3,74	51,90	62,74
SLI	96	4,82	3,58	52,91	64,01
MLD	0	13,23	13,18	1,50	1,75
MLD	24	12,39	12,18	6,69	7,82
MLD	48	9,78	8,98	26,46	31,27
MLD	72	6,45	4,89	50,06	62,09
MLD	96	5,33	3,53	60,15	72,48
MLI	0	13,87	13,82	1,65	1,91
MLI	24	12,92	12,71	6,73	7,85
MLI	48	10,10	9,24	27,08	31,95
MLI	72	6,67	4,99	52,44	62,81
MLI	96	5,90	4,14	57,26	68,81

Ze získaných dat lze pozorovat, že se snižováním reálného extraktu vzorků docházelo k nárůstu reálného stupně fermentace. U vzorku SLD došlo k poklesu reálného extraktu z hodnoty 10,85 [%w/w] na 4,34 [%w/w] to je o 60 % a naopak k nárůstu reálného stupně fermentace z hodnoty 1,14 [%w/w] na 59,36 [%w/w], tedy o 52 %. U SLI byla počáteční hodnota reálného extraktu 10,43 [%w/w] na klesla na 4,82 [%w/w], tedy o 54 %. Reálný stupeň fermentace vzrostl z hodnoty 1,04 [%w/w] na 52,91 [%w/w]. Nárůst reálného stupně fermentace SLI byl tedy o 51 %. MLD začínala na 13,23 [%w/w] reálného extraktu a končila po 96 hodinách fermentace na hodnotě 5,33 [%w/w]. Došlo tedy k poklesu o 60 %. Hodnota reálného stupně fermentace při tom vzrostla z původních 1,50 [%w/w] na 60,15 [%w/w]. Došlo tedy k nárůstu o 40 %. A u MLI se změnila původní hodnota reálného extraktu z 13,87 [%w/w] na 5,90 [%w/w]. Došlo tedy k poklesu reálného extraktu o 58 %. Reálný stupeň fermentace u MLI vzrostl z hodnoty 1,65 [%w/w] na 57,26 [%w/w], to je o 35 %. Atypické pивní nápoje tedy splnili podmínku o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí, která stanovuje hodnotu prokvašení u atypických pivních nápojů na hodnotu minimálně 45 % (Česko, 2018).

Ze studie tedy vyplývá, že k největšímu poklesu došlo u vzorku SLD a MLD a to o 60 %. K podobnému poklesu došlo u MLI (58 %) a k nejnižšímu poklesu u SLI (54 %).

Hodnota původního reálného extraktu byla s ohledem na surovinovou skladbu u atypických pivních nápojů (mladin) vyšší než u fermentovaných sladových nápojů. Na konci fermentace, tedy po 96 hodinách, byly však výsledné hodnoty reálného extraktu u všech zkoumaných vzorků téměř identické. U atypických pivních nápojů tedy docházelo k intenzivnějšímu úbytku hodnoty reálného extraktu, což se nakonec také projevilo na vyšších výsledných hodnotách koncentrace etanolu (MLD 4,99 % v/v a MLI 4,92 % v/v) oproti fermentovaným sladovým nápojům (SLD 3,96 % v/v a SLI 3,36 % v/v).

Největší nárůstu reálného stupně fermentace byl zaznamenán u fermentovaných sladových nápojů, a to konkrétně u SLD 52 % a u SLI 51 %. U atypických pivních nápojů by nárůst reálného stupně fermentace podstatně nižší, a to pouze u MLD 40 % a u MLI 35 %.

Takto nízké hodnoty reálného stupně fermentace byly u atypických pivních nápojů MLD a MLI zapříčiněny pravděpodobně přítomností hořkých chmelových látek (zejména pryskyřic), které mají antimikrobní a antioxidační účinek a tím dochází k inhibování BMK, BOK a bifidobakterií.

Výsledky kalorické hodnoty

Softwarem přístroje Anton Paar byla vypočtena také energetická hodnota zkoumaných vzorků atypických pivních a sladových nápojů. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 9.

Tab. 11: Průběh kalorické hodnoty závislosti na čase

Vzorek	Čas [hod]	Cal [kJ/100ml]
SLD	0	171
SLD	24	168
SLD	48	162
SLD	72	157
SLD	96	155
SLI	0	164
SLI	24	216
SLI	48	161
SLI	72	151
SLI	96	150
MLD	0	212
MLD	24	208
MLD	48	203
MLD	72	197
MLD	96	195
MLI	0	223
MLI	24	217
MLI	48	211
MLI	72	206
MLI	96	202

U DSL byla naměřena kalorická hodnota v intervalu 155 – 171 Cal [kJ/100ml]. U vzorku SLI byla kalorická hodnota naměřena v intervalu 150 – 216 Cal [kJ/100ml]. MLD se pohybovala v rozpětí 195 – 212 Cal [kJ/100ml] a MLI v rozmezí 202 – 223 Cal [kJ/100ml].

Změny v naměřených kalorických hodnotách lze vyhodnotit jako zanedbatelné, jelikož ke změnám docházelo spíše v jednotkách [kJ/100ml].

6.2 Výsledky reologické analýzy

V grafech na obrázcích 11 – 14 a tabulkách 12 – 15 jsou uvedeny výsledky reologické analýzy u všech analyzovaných vzorků atypických pivních a fermentovaných sladových nápojů.

Tab. 12: Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku dekokční mladiny.

Vzorek	K (Pa s)*	n (-)*	R ²
MLD (0 hod)	0,390	0,113	0,9631
MLD (24 hod)	0,380	0,12	0,9401
MLD (48 hod)	0,370	0,106	0,9391
MLD (72 hod)	0,396	0,112	0,9644
MLD (96 hod)	0,331	0,159	0,9623

Tab. 13: Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku infuzní mladiny.

Vzorek	K (Pa s)*	n (-)*	R ²
MLI (0 hod)	0,442	0,091	0,9945
MLI (24 hod)	0,337	0,158	0,9462
MLI (48 hod)	0,541	0,015	0,9563
MLI (72 hod)	0,432	0,08	0,9102
MLI (96 hod)	0,376	0,116	0,8406

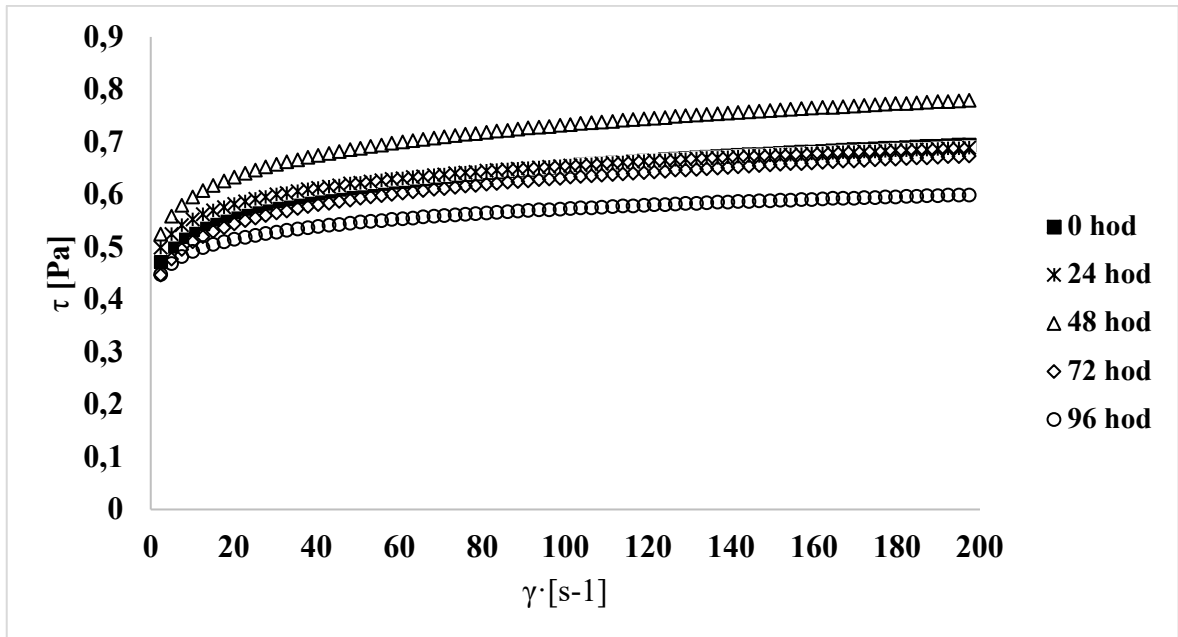
Tab. 14: Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku dekokční sladiny.

Vzorek	K (Pa s)*	n (-)*	R ²
SLD (0 hod)	0,472	0,051	0,9544
SLD (24 hod)	0,478	0,064	0,9879
SLD (48 hod)	0,541	0,015	0,9563
SLD (72 hod)	0,432	0,08	0,9102
SLD (96 hod)	0,376	0,116	0,9406

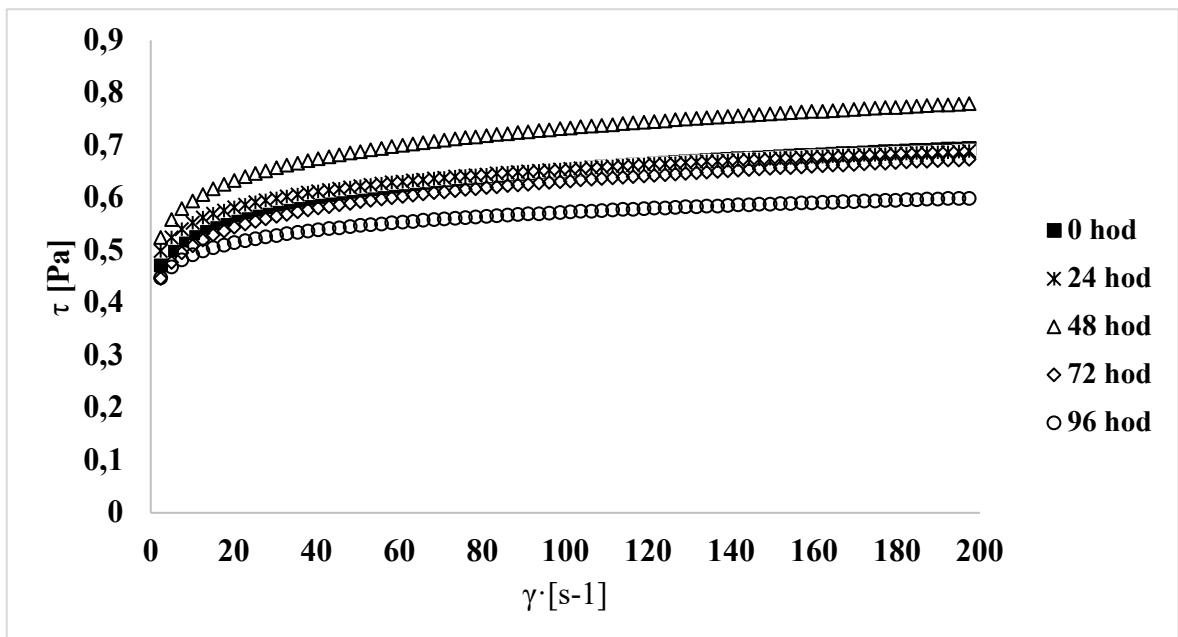
Tab. 15: Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku infuzní sladiny.

Vzorek	K (Pa s)*	n (-)*	R ²
SLI (0 hod)	0,434	0,089	0,9316
SLI (24 hod)	0,466	0,074	0,9081
SLI (48 hod)	0,482	0,091	0,9164
SLI (72 hod)	0,41	0,094	0,9547
SLI (96 hod)	0,421	0,067	0,9948

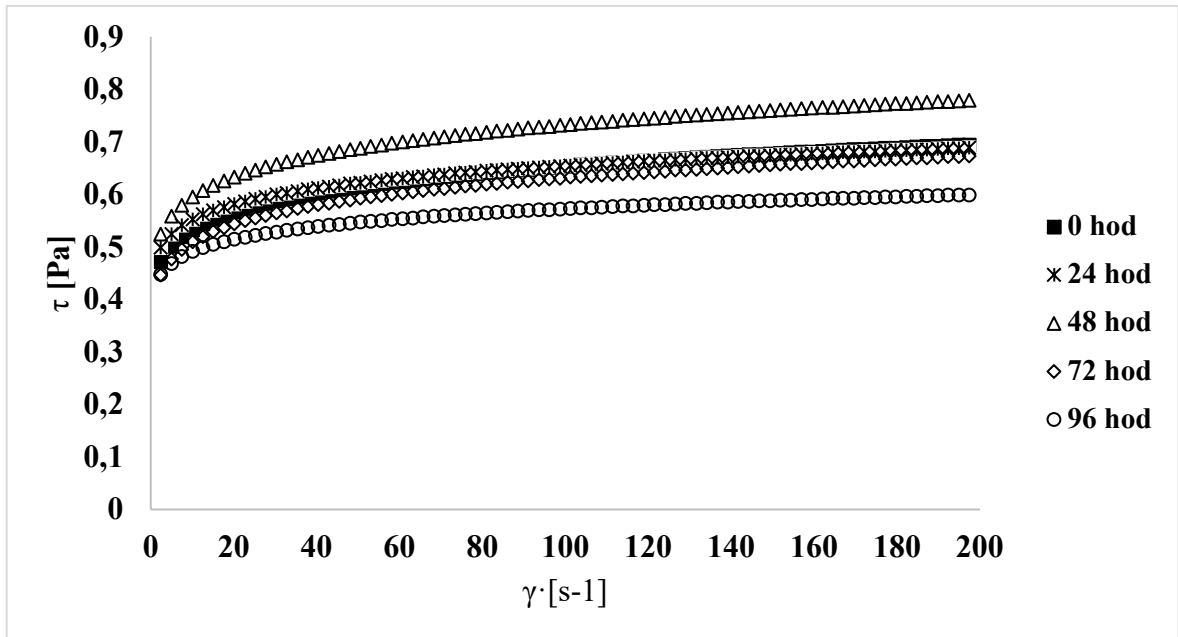
Z hodnot uvedených v tabulkách 12 – 15 je patrné, že v případě všech hodnocených nápojů na bázi piva se se jednalo o kapaliny pseudoplastické. Vychází to z indexu tokového chování značeného „n“. V případě že $n < 1$, jedná se o kapalinu pseudoplastickou. Pokud je $n > 1$, jedná se o kapalinu dilatantní. Naměřené hodnoty „n“ u všech sledovaných vzorků nápojů na bázi piva se pohybovaly v rozmezí od 0,015 do 0,159.



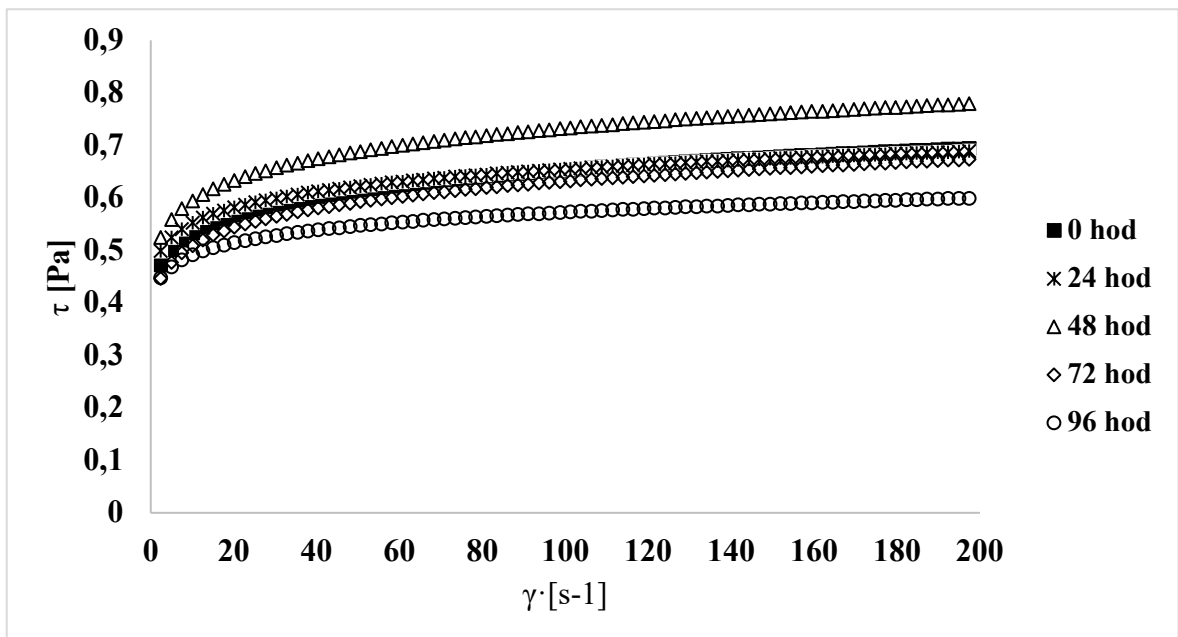
Obr. 9: Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace dekokční mladiny



Obr. 10: Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace infuzní mladiny



Obr. 11: Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace dekokční sladiny



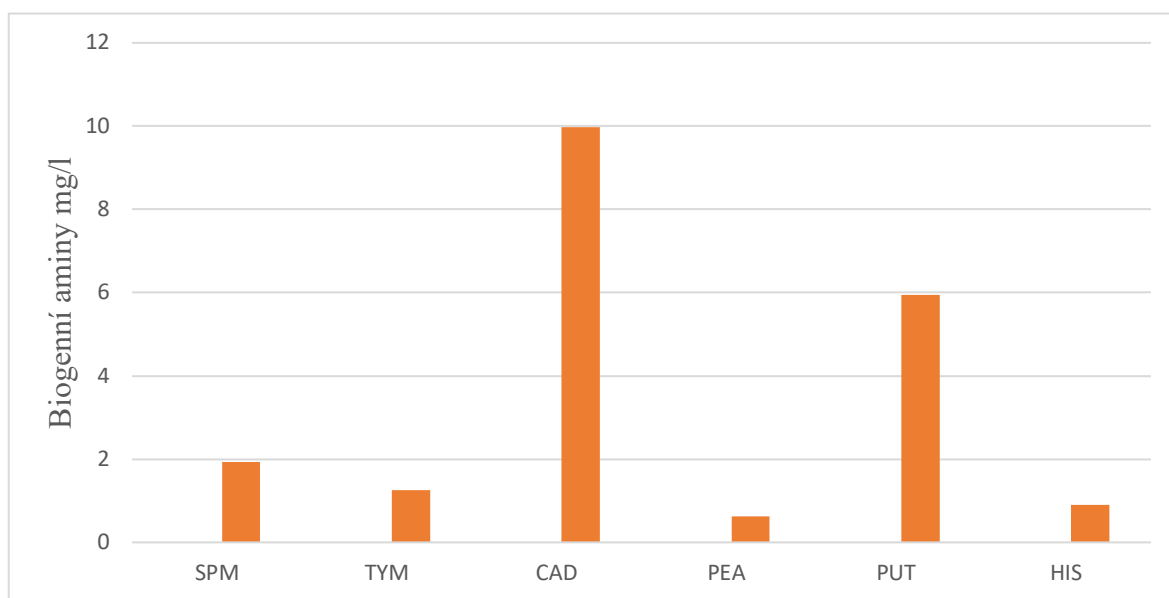
Obr. 12: Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace infuzní sladiny

Z grafů (obrázky 9 – 12) vývoje smykového napětí v závislosti na době fermentace lze vyvodit, že všechny vzorky nápojů na bázi piva vykazují velice podobné hodnoty a svým chováním se podobají pseudoplastickým kapalinám, to znamená, že s rostoucím gradientem rychlosti docházelo k řidnutí kapaliny.

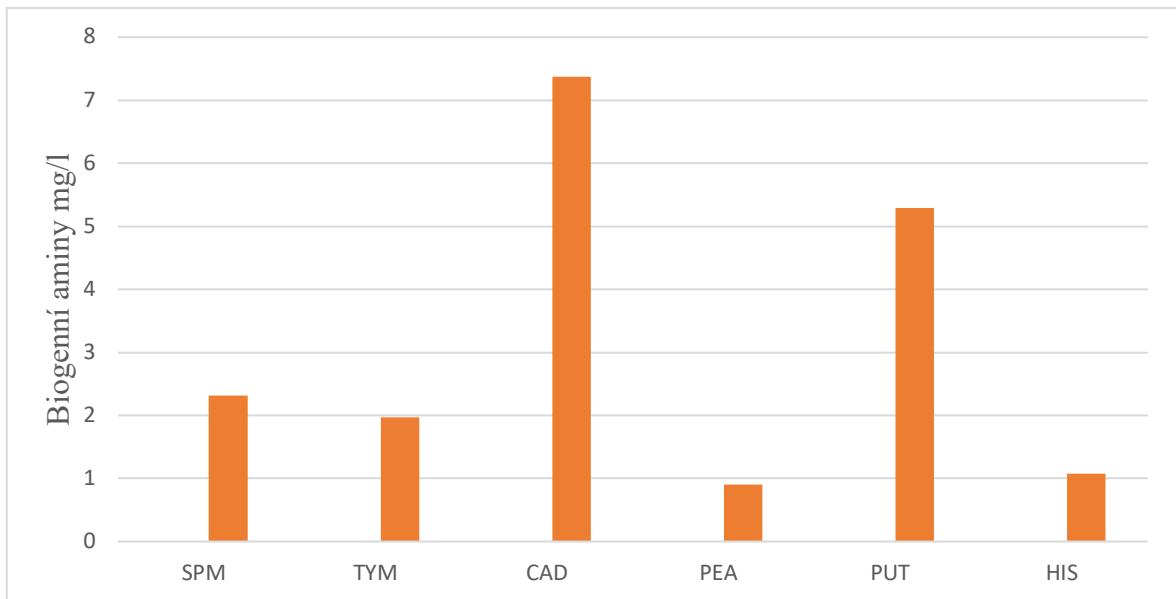
6.3 Výsledky stanovení biogenních aminů

BA jsou skupinou dusíkatých nízkomolekulárních sloučenin odvozených od aminokyselin. Lidské tělo je schopno BA metabolizovat, avšak při vysokém příjmu BA může být detoxikační mechanismus nedostatečně účinný a může dojít k ohrožení zdraví spotřebitele a v krajním případě i k úmrtí. Z tohoto důvodu jsou BA v potravinářství běžně stanovovány (Buňková et al. 2013; Loret et al. 2005).

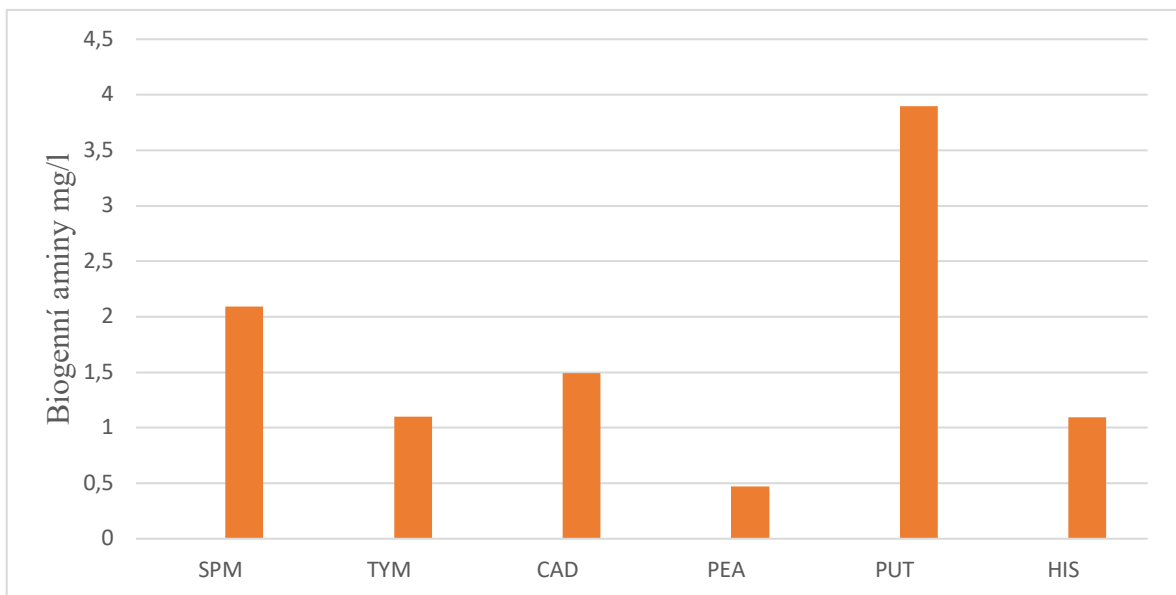
Z analyzovaných vzorků atypických pivních a fermentovaných sladových nápojů bylo 6 biogenních aminů (tyramin (TYM), spermin (SPM), tryptamin (TRY), phenyl-ethylamin (PEA), putrescin (PUT) a cadaverin (CAD)). Výsledky analýzy jsou graficky zobrazeny na obrázku 15.



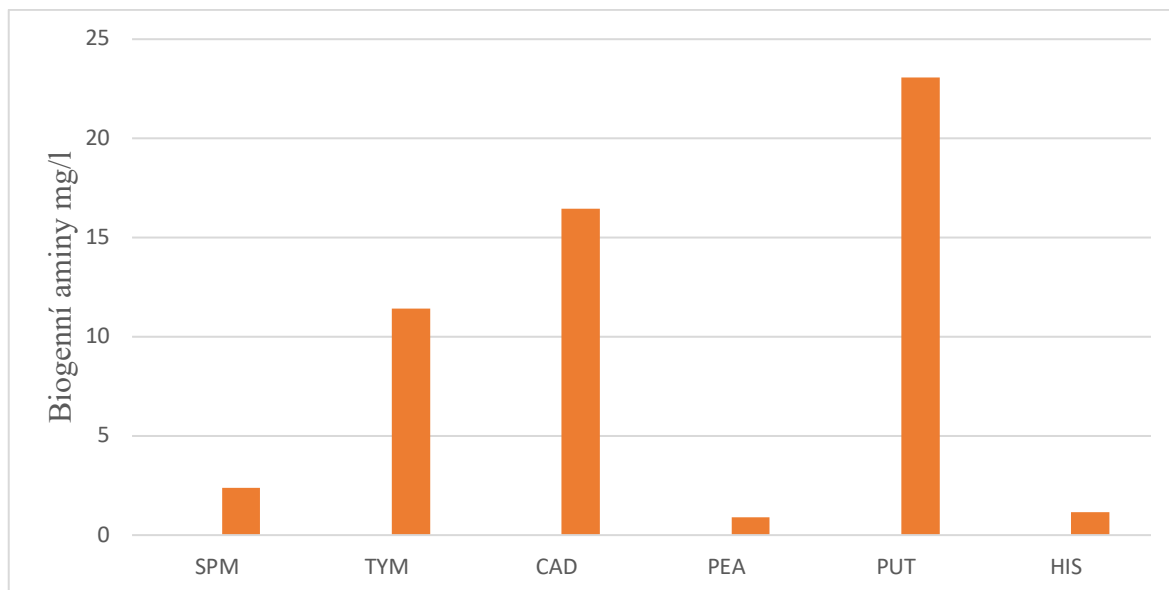
Obr. 12: Koncentrace biogenních aminů ve vzorku MLD



Obr. 13: Koncentrace biogenních aminů ve vzorku MLI



Obr. 14: Koncentrace biogenních aminů ve vzorku SLD



Obr. 15: Koncentrace biogenních aminů ve vzorku SLI

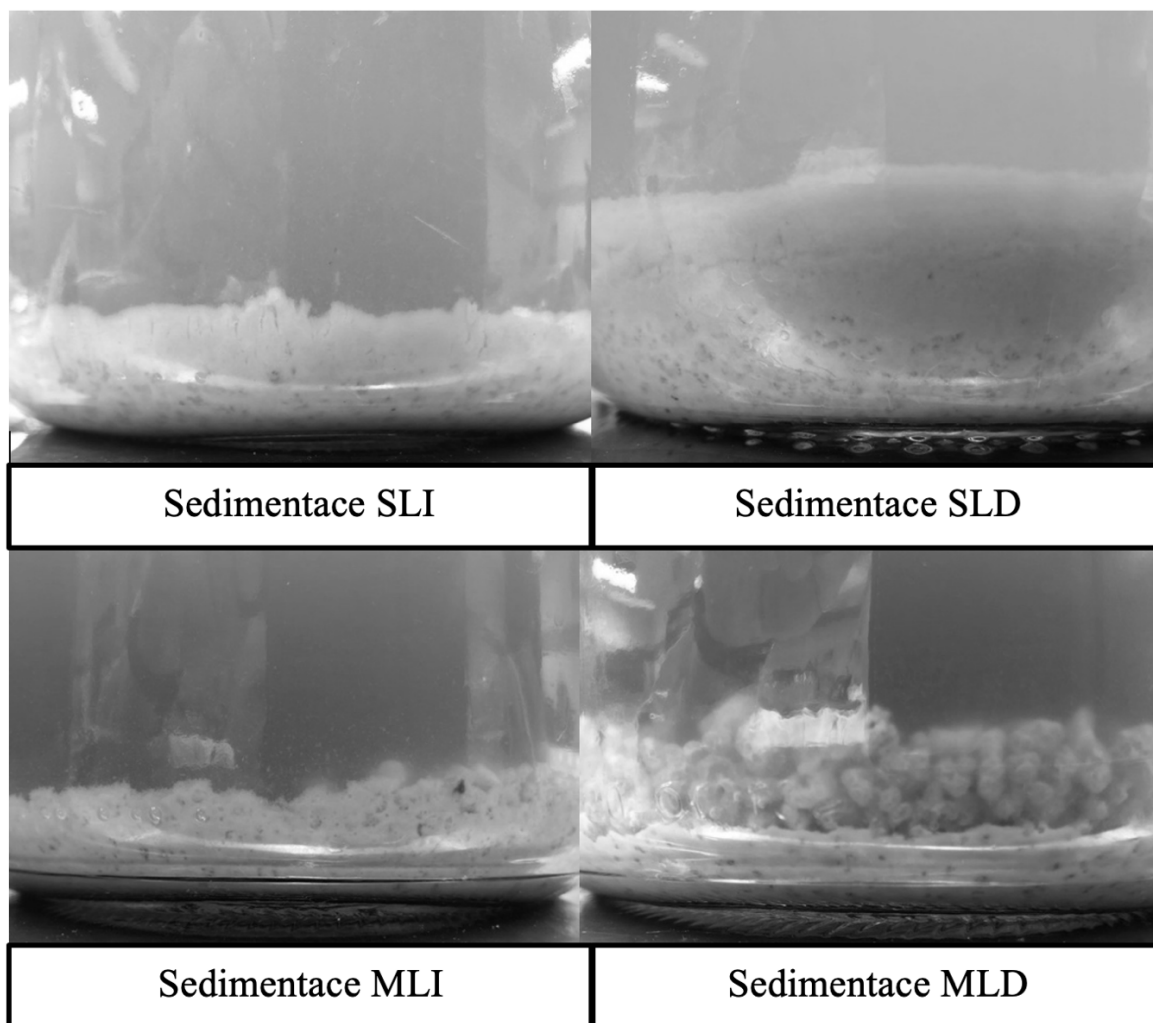
Z analýzy BA u sledovaných vzorků atypických pivních a fermentovaných sladových nápojů bylo zjištěno, že majoritně byly zastoupeny především PUT a CAD. Za bezpečnou hladinu koncentrace BA je obecně považována koncentrace 100 mg/l (Lorencová et al. 2021).

Nicméně koncentrace všech hodnocených BA u všech hodnocených vzorků se pohybovala v bezpečné hladině a pro spotřebitele z toho nevyplývala žádná rizika. Potravina byla tedy z tohoto hlediska pro spotřebitele hodnocena jako bezpečná.

Pokud bychom komparovali naměřené výsledky BA u atypických pivních a fermentovaných sladových nápojů se studií Výskyt biogenních aminů v pivech vyráběných v českých minipivovarech od Lorencová et al. (2021), můžeme konstatovat, že v naměřených hodnotách koncentrace BA docházelo k jisté podobnosti, a to zejména v dominanci přítomnosti PUT a CAD.

6.4 Výsledky senzorické analýzy

Na obrázku 19 je znázorněna sedimentace u jednotlivých vzorků atypických pivních a fermentovaných sladových nápojů. Z tohoto obrázku je patrný značný rozdíl v konzistenci sedimentu u jednotlivých druhů nápojů na bázi piva, kdy lze pozorovat výrazně jemný sediment u fermentovaných sladových nápojů a naopak hrubý (zejména u MLD) sediment u atypických pivních nápojů. Zejména u MLD lze v sedimentu jednoznačně identifikovat zrna Tibi.



Obr. 16: Sedimentace vodního kefíru u analyzovaných vzorků (foto autora)

V tabulkách 16 a 17 se nachází výsledky sensorické analýzy MLI a MLD. Sensorickou analýzou byla odhalena značná podobnost obou hodnocených vzorků atypických sladových nápojů, která se lišila zejména v intenzitě hořkosti.

Tab. 16: Výsledky sensorické analýzy infuzní mladiny

Off-flavors: 1 – sotva rozpoznatelné; 3 - střední; 5 – velmi silné.	1
Úroveň nasycení: 1 – sotva rozpoznatelné; 3 - střední; 5 – velmi silné.	1
Intenzita hořkosti: 1 – sotva rozpoznatelné; 3 - střední; 5 – velmi silné.	5
Celkové hodnocení: 1 – mimořádně dobré; 9 – extrémně špatné.	3

Tab. 17: Výsledky sensorické analýzy dekokční mladiny

Off-flavors: 1 – sotva rozpoznatelné; 3 - střední; 5 – velmi silné.	1
Úroveň nasycení: 1 – sotva rozpoznatelné; 3 - střední; 5 – velmi silné.	2
Intenzita hořkosti: 1 – sotva rozpoznatelné; 3 - střední; 5 – velmi silné.	4
Celkové hodnocení: 1 – mimořádně dobré; 9 – extrémně špatné.	2

Nejzásadnější poznatek ze sensorické analýzy je však především celková přijatelnost atypických pivních nápojů, respektive jejich podobnost s mladým pivem po primární fermentaci ve spilce při tradičním způsobu vaření piva. Hodnotitelé si po sensorické analýze vůbec nepřipouštěli, že by se mohlo jednat o atypický pivní nápoj, ale naopak byli přesvědčeni, že se jedná o mladé pivo fermentované pivovarskými kvasnicemi. Toto je zřejmé také z celkového hodnocení obou vzorků atypických pivních nápojů.

ZÁVĚR

Předmětem této práce byly atypické pивní a fermentované sladové nápoje pro jejichž fermentaci byly jako alternativa za pivovarské kvasinky použity Tibi krystaly. Teoretická část potom shrnuje informace o atypických pивních a fermentovaných sladových nápojích, o surovinách nezbytných pro výrobu piva, rmutovacích postupech infuzní a dekokční technologie a o výrobě vodního kefiru z Tibi. Praktická část se potom zabývá výrobou prototypů atypických pивních a fermentovaných sladových nápojů a jejich analýze.

Z výsledků analýzy v praktické části této diplomové práce lze konstatovat následující:

- V průběhu fermentace došlo k výraznému poklesu pH zejména u fermentovaných sladových nápojů, na jejichž nízkých hodnotách bylo rozhodnuto o vyjmutí fermentovaných sladových nápojů ze senzorické analýzy. Naopak u atypických pивních nápojů došlo k poklesu pH výrazně nižšímu a svou hodnotou pH odpovídaly hodnotám pH Českých piv. Tímto zjištěním byla potvrzena schopnost chmelových pryskyřic inhibovat BMK a BOK.
- Hodnoty TDS u všech studovaných vzorků nápojů na bázi piva nedosahovaly významných změn, což se shoduje s výsledky dostupných studií věnovaných výzkumu tradičních živných pив pro výrobu těchto fermentovaných nápojů jako je čaj či sacharózový roztok s ovocem.
- V průběhu fermentace také došlo k výraznému poklesu refraktometrické sušiny, kdy inokulum Tibi bylo schopno snížit hodnotu RS u všech analyzovaných vzorků o přibližně 50 %.
- Dalším sledovaným aspektem byla hustota a obsah etanolu. K největšímu poklesu hustoty došlo u atypických pивních nápojů, což také odpovídalo nejvyššímu nárůstu etanolu u těchto nápojů. K vyššímu nárůstu etanolu u atypických pивních nápojů oproti fermentovaným sladovým nápojům mohlo dojít také z důvodu příznivější hodnoty pH v průběhu fermentace. Schopnost Tibi produkovat etanol je také popsána v dostupných studiích.
- U všech nápojů na bázi piva došlo poklesu reálného a zdánlivého extraktu přibližně o 60 % a mezi jednotlivými vzorky nebyly naměřeny významné rozdíly stejně tak, jako u nárůstu stupně fermentace, která se pohybovala v intervalu 53 až 60 %.

- Z pohledu kalorických hodnot nedošlo u nápojů na bázi piva k významným změnám v průběhu fermentace.
- Z reologické analýzy, kde byla sledována zdánlivá viskozita a smykové napětí, bylo zjištěno, že všechny studované nápoje na bázi piva měli povahu pseudoplastických kapalin.
- Koncentrace sledovaných biogenních aminů u všech zkoumaných nápojů na bázi piva odpovídala dostupným studiím zabývajících se koncentrací BA u piva.
- Senzorická analýza odhalila Tibi z pohledu alternativy za pivovarské kvasnice jako symbiotickou kulturu s potenciálem využití při výrobě atypických pivních nápojů. Pro využití fermentovaných sladových nápojů se však Tibi příliš nehodí a to zejména z důvodu přítomnosti BMK a BOK, které významně stojí za výrazným poklesem pH. Respektive by se pro výrobu fermentovaných sladových nápojů musela nutně zkrátit doba fermentace a to pouze na 24 hodin s mnohem nižším stupněm fermentace a hodnotou etanolu.
- Naměřené hodnoty odpovídají legislativou stanoveným parametrům.

Tato diplomová práce přispívá k rozšíření poznatků o symbiotické kultuře Tibi a její schopnosti při využití k výrobě atypických pivních a fermentovaných sladových nápojů. Prototypy těchto nápojů byly také popsány z hlediska fyzikálně-chemických, reologických, výskytu biogenních aminů a senzorické analýzy.

Samotné Tibi není doposud příliš popsané a vzhledem k tomu, že se složení samotných zrn Tibi od jednotlivých držitelů značně liší (například země, či oblast původu Tibi), nabízí se zde značný prostor k dalšímu výzkumu.

Jako doporučení k dalšímu výzkumu v oblasti nápojů na bázi piva si dovoluji navrhnout zejména způsoby fermentace atypických pivních nápojů (s využitím pivovarské spilky, ležáckých tanků a cylindrokónických tanků s vhodnou dobou ležení (sekundární fermentace)).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- LAUREYS, D. a L. DE VUYST, 2017. The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology* [online]. **122**(3), 719-732 [cit. 2021-5-20]. ISSN 13645072. Dostupné z: doi:10.1111/jam.13370
- ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. In: *Sbírka zákonů*. Praha, 2018, ročník 1, 248/2018 Sb. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248>
- Moll, M. *Beer and Coolers*. Andover, Hampshire: Intercept Ltd., 1994. 495 p. ISBN 1-898298-2.
- BASAŘOVÁ, Gabriela, et al. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- LORENCOVÁ, Eva, Richardos-Nicolaos SALEK, Iveta ČERNOŠKOVÁ a František BUŇKA. Evaluation of force-carbonated Czech-type lager beer quality during storage in relation to the applied type of packaging. *Food Control* [online]. 2019, vol. 106 [cit. 2022-03-27]. ISSN 0956-7135. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713519302877>.
- ISO 8586-1 (1993)
- BASAŘOVÁ, Gabriela, et al. *Sladařství: Teorie a praxe výroby sladu*. Vyd 1. Praha: Havlíček Brain Team, 2015. ISMN 978-80-87109-47-2.
- NOVOTNÝ, Petr, et al. *Pivařka 2: průvodce domácího sládka*. Druhé. Brno: Jota, 2019. ISBN 978-80-7565-4.
- KOSAŘ, Karel. *Technologie výroby sladu a piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000. ISBN 80-902658-6-3.
- VEČERKOVÁ, Hana, et al. *Abeceda piva*. 1. vydání. Praha: Česká televize, 2007. ISBN 978-80-85005-86-8.
- VENT, L. 2002. *Zelené zlato*. 1. vydání. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2002. ISBN 80-86576-03-5.

- PROKEŠ, J. 2018. Druhy sladů. In: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský [online]. Praha: VÚPS, a.s. [cit. 2018-08-31]. Dostupné z: <https://beerresearch.cz/download/druhy-sladu/>
- PIRES E., BRÁNYIK T., 2015: *Biochemistry of Beer Fermentation*, Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London, 80 s. ISBN 978-3-319-15188-5.
- KUNZE, W., 2014: *Technology Brewing and Malting, 5th ed.*, Berlin: VLB. ISBN 978-3-921690-77-2.
- KROFTA, K., 2013: Uplatnění českých odrůd chmele v pivovarnictví, *Sborník přednášek a výsledky degustací piv ze semináře konaného dne 30.5.2013* [online], Žatec: Chmelařský institut s. r. o., 58 s. [vid. 2019-02-09]. Dostupné z: <http://www.chizatec.cz/download/page6056.pdf>.
- KRESCANKOVÁ, Katarína, Jana KOPECKÁ, Miroslav NĚMEC a Dagmar MATOULKOVÁ. Characterization of Technologically Utilized *Saccharomyces* Yeast. *Kvasny Prumysl*. 2015, **61**(6), 174-185. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2015019
- CVENGROŠCHOVÁ, Mariana a Daniela ŠMOGROVIČOVÁ. Wort Preparation and its Influence to Fermentation and Beer Properties. *Kvasny Prumysl* [online]. 2004, **50**(3), 70-75 [cit. 2022-03-27]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2004005
- KANTELBERG, B. a H. HERRMANN. Present state of crushing and mashing techniques. *Kvasny Prumysl* [online]. 1992, **38**(1), 3-5 [cit. 2022-03-27]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1992002
- RYCHTERA, M.: *Bioinženýrství kvasných procesů*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1985, 154 s.
- MONTANARI, L., Floridi, S., Marconi, O. *et al.* Effect of mashing procedures on brewing. *Eur Food Res Technol* **221**, 175–179 (2005). <https://doi.org/10.1007/s00217-005-1166-8>
- ENGE, Jan, Pavel ŠEMÍK, Josef KORBEL, Jiří ŠROGL a Miroslav SEKORA. Technological aspects of infusion and decoction mashing. *Kvasny Prumysl* [online]. 2005, **51**(5), 158-165 [cit. 2022-03-27]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2005008

- Evropská pivovarská konvence (2007). Analytika-EBC. *Norimberk: Fachverlag hans karl*(5. vydání)
- Eurozpravy.cz: *Atypický pivní nápoj? To si nikdo nekoupí, kritizuje svaz novou vyhláškou.* [online]. 2019 [cit. 2022-04-03]. Dostupné z: <https://eurozpravy.cz/ekonomika/ceska-republika/260953-atypicky-pivni-napoj-to-si-nikdo-nekoupí-kritizuje-svaz-novou-vyhlasku/>
- HALECKÝ, Martin. Předměty magisterských oborů: Magisterský studijní program: Biochemie a biotechnologie Studijní obor: Biotechnologie. *Vysoká škola chemicko technologická: Ústav biotechnologie* [online]. Praha: VŠCHT, 2022, 12.11.2019 [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: <https://ub.vscht.cz/studium/magisterske/predmety-mgr>
- ČSN 56 6610 (566610). *Slad: 5666 - Pivo, slad a sladařské výrobky.* Praha, 2009.
- MASÁK, Jan, Jana PELECHOVÁ a Jiří PLACHÝ. *Speciální mikrobiální technologie.* Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1992. ISBN isbn80-7080-142-5.
- ŠEMÍK, Pavel. et al, Možnosti ovlivnění kvalitativních parametrů mladiny připravené rozdílným způsobem chmelovaru. *Kvasný průmysl* [online]. Praha, 2003, 2003 [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://kvasnyprumysl.cz/artkey/kpr-200310-0002_Moznosti_ovlivneni_kvalitativnich_parametru_mladiny_pripraveno_rozdilnym_zpusobem_chmelovaru.php?back=%2Fsearch.php%3Fquery%3Dchmelovar%2BIn%253Aauth%2Bname%2Bkey%2Babstr%26sfrom%3D0%26spage%3D30
- BOEKHOUT, T. et al, Yeasts in Food. *Elsevier* [online]. 2003, 2003 [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: <https://www.elsevier.com/books/yeasts-in-food/boekhout/978-1-85573-706-8>
- MATOULKOVÁ, Dagmar, Karel SIGLER a Miroslav NĚMEC. Effect of tetrahydroiso- α -acids on the growth of beer-spoiling and -nonspoiling bacteria. *Kvasny Prumysl* [online]. 2010, **56**(10), 396-403 [cit. 2022-04-10]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2010041
- MATOULKOVÁ, Dagmar a Petra KUBIZNIAKOVÁ. Lactic acid bacteria and cultivation methods of their detection - Part I. *Kvasny Prumysl* [online]. 2015, **61**(3), 76-88 [cit. 2022-04-10]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2015012

- Tibicos. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2022, 2022 [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Tibicos>
- LYNCH, Kieran M., Stuart WILKINSON, Luk DAENEN a Elke K. ARENDT. An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2021, **345** [cit. 2022-04-11]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128

DADÁKOVÁ, E., KRÍŽEK M. A T. PELIKÁNOVÁ. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*. 2009, roč. 116, s. 365-370. ISSN: 0308-8146.

- Raven: Wild Creatures. *Raven* [online]. 2022, 2022 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://shop.pivovar-raven.cz/wild-creatures/>
- Fér potravina. *Fér potravina* [online]. Praha, 2021, 2021 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://www.ferpotravina.cz/pivo/pivna-napoj-ochuceny-mort-subite>
- BeerSmith: Decoction Mashing for Beer Recipes. *BeerSmith* [online]. 2008, 1 September 2008 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <http://beersmith.com/blog/2008/09/01/decoction-mashing-for-beer-recipes/>
- Bezpečnosti potravin.cz: pH piva. *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2021 [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92132.aspx>
- BUŇKOVÁ, Leona, Gabriela ADAMCOVÁ, Kateřina HUDCOVÁ, Helena VELICHOVÁ, Vendula PACHLOVÁ, Eva LORENCOVÁ a František BUŇKA. Monitoring of biogenic amines in cheeses manufactured at small-scale farms and in fermented dairy products in the Czech Republic. *Food Chemistry* [online]. 2013, **141**(1), 548-551 [cit. 2022-04-28]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2013.03.036
- LORET, S., P. DELOYER, G. DANDRIFOSSE, Helena VELICHOVÁ, Vendula PACHLOVÁ, Eva LORENCOVÁ a František BUŇKA. Levels of biogenic amines as a measure of the quality of the beer fermentation process: Data from Belgian

samples. *Food Chemistry* [online]. 2005, **89**(4), 519-525 [cit. 2022-04-28]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2004.03.010

- LORENCOVÁ, Eva, Richardos Nikolaos SALEK, Leona BUŇKOVÁ, Marie SZCZYBROCHOVÁ, Michaela ČERNÍKOVÁ a František BUŇKA. Assessment of biogenic amines profile in ciders from the Central Europe region as affected by storage time. *Food Bioscience* [online]. 2021, **41** [cit. 2022-04-20]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.100957
- SHENG-DUN, Lin, Yang JOAN-HWA, Hsieh YUN-JUNG, Liu EN-HUI a Mau JENG-LEUN. Effect of Different Brewing Methods on Quality of Green Tea. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 38. 2013, (3), 1234-1234 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1111/jfpp.12084>
- ČESKÁ REPUBLIKA. Zákon o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. In: *Sbírka zákonů*. Praha, 1997, verze 37, 38/1997, 110/1997 Sb. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110/zneni-20220101>
- ZHUANG, Shiwen, Radhakrishna SHETTY, Mikkel HANSEN, Arvid FROMBERG, Preben Bøje HANSEN a Timothy John HOBLEY. Brewing with 100 % unmalted grains: barley, wheat, oat and rye. *European Food Research and Technology* [online]. 2017, **243**(3), 447-454 [cit. 2022-05-04]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-016-2758-1
- LAUREYS, David, Frédéric LEROY, Tom HAUFFMAN, Marc RAES, Maarten AERTS, Peter VANDAMME a Luc DE VUYST. The Type and Concentration of Inoculum and Substrate as Well as the Presence of Oxygen Impact the Water Kefir Fermentation Process. *Frontiers in Microbiology* [online]. 12. 2021 [cit. 2021-4-25]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2021.628599>
- KURTZMAN, C.P., J.W. FELL a Teun BOEKHOUT. *The Yeasts: A Taxonomic Study* [online]. 5th. Amsterdam: Elsevier Science, 2011 [cit. 2022-05-04]. ISBN 9780080931272. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/book/9780444521491/the-yeasts>

- ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia, 2002. ISBN 80-200-1024-6.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

EPS	Exopolysacharid
BMK	Bakterie mléčného kvašení
EPM	Extrakt původní mladiny
RIBM	Research Institute of Brewing and Malting
VÚPS	Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského
BOK	Bakterie octového kvašení
MO	Mikroorganismus
SLI	Sladina infuzní
SLD	Sladina dekokční
MLI	Mladina infuzní
MLD	Mladina dekokční
RS	Refraktometrická sušina
TDS	Total dissolved solids
Er	Reálný extrakt
Ea	Zdánlivý extrakt
Rdf	Reálný stupeň fermentace
Adf	Zdánlivý stupeň fermentace
ŽPČ	Žatecký poloraný červěňák
IBU	International bitterness units
BA	Biogenní aminy
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
TYM	Tyramin
SPM	Spermin
TRY	Tryptamin
PEA	Phenyl-ethylamin
PUT	Putrescin
CAD	Cadaverin

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Atypický pivní nápoj (Fér potravina, 2021).....	13
Obrázek 2 Atypické pivní nápoje v podání pivovaru Wild Creatures Brewery (Raven, 2022).....	14
Obrázek 3 Schéma výroby sladu (vytvořeno dle Basařová et al. 2015).....	16
Obrázek 4 Krystaly Tibi (snímek autora).....	29
Obrázek 5 Proces výroby vodního kefíru dle Lynch et al 2021.....	30
Obrázek 6 Změna pH v průběhu fermentace.....	43
Obrázek 7 Změna hustoty v průběhu fermentace.....	48
Obrázek 8 Změna koncentrace etanolu v průběhu fermentace.....	48
Obrázek 9 Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace dekokční mladiny.....	56
Obrázek 10 Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace infuzní mladiny.....	56
Obrázek 11 Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace dekokční sladiny.....	57
Obrázek 12 Vývoj smykového napětí v průběhu fermentace infuzní sladiny.....	57
Obrázek 13 Koncentrace biogenních aminů ve vzorku MLD.....	58
Obrázek 14 Koncentrace biogenních aminů ve vzorku MLI.....	59
Obrázek 15 Koncentrace biogenních aminů ve vzorku SLD.....	59
Obrázek 16 Koncentrace biogenních aminů ve vzorku SLI.....	60
Obrázek 17 Sedimentace vodního kefíru u analyzovaných vzorků (foto autora).....	61

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Příloha č. 8 k vyhlášce č. 248/2018 Sb. Fyzikální a chemické požadavky na jakost piva a nápojů na bázi piva	11
Tabulka 2 Fyzikální a chemické parametry při různých technologiích dle Enge et al. 2005.....	24
Tabulka 3 Mikrobiální složení vodního kefíru dle Lynch et al. 2021.....	32
Tabulka 4 Důsledky faktorů na průběh fermentace dle Lynch et al. 2021.....	33
Tabulka 5 Specifikace mísení a chmelení analyzovaných vzorků – dvoustupňová dekokce.....	37
Tabulka 6 Specifikace mísení a chmelení – infuzní způsob rmutování.....	38
Tabulka 7 Hodnoty TDS u analyzovaných vzorků.....	45
Tabulka 8 Hodnoty refraktometrické sušiny u analyzovaných vzorků.....	47
Tabulka 9 Hustota analyzovaných vzorků v průběhu fermentace.....	50
Tabulka 10 Průběh reálného a zdánlivého extraktu v průběhu fermentace.....	51
Tabulka 11 Průběh kalorické hodnoty závislosti na čase.....	53
Tabulka 12 Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku dekokční mladiny.....	54
Tabulka 13 Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku infuzní mladiny.....	54
Tabulka 14 Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku dekokční sladiny.....	55
Tabulka 15 Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorku infuzní sladiny.....	55
Tabulka 16 Výsledky senzorické analýzy infuzní mladiny.....	61
Tabulka 17 Výsledky senzorické analýzy dekokční mladiny.....	62

SEZNAM PŘÍLOH