

Hodnocení vybraných vlastností mladiny vyrobené za podmínek vysokého tlaku

Bc. Ludmila Hostašová

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. Ludmila Hostašová**
Osobní číslo: **T20079**
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Hodnocení vybraných vlastností mladiny vyrobené za podmínek vysokého tlaku**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Základní suroviny pro výrobu piva.
2. Technologie výroby piva.
3. Moderní technologie aplikované v pivovarnictví.

II. Praktická část

1. Vytvořte modelové vzorky mladiny.
2. Proveďte vybrané analýzy.
3. Vyhodnoťte výsledky a formulujte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Haseleu, G., Intelmann, D., & Hofmann, T. (2009). Structure determination and sensory evaluation of novel bitter compounds formed from α -acids of hop (*Humulus lupulus* L.) upon wort boiling. *Food Chemistry*, 116(1), 71-81
- [2] Cortese, M., Gigliobianco, M. R., Peregrina, D. V., Sagratini, G., Censi, R., & Di Martino, P. (2020). Quantification of phenolic compounds in different types of crafts beers, worts, starting and spent ingredients by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1612
- [3] Öztürk, M. (2021). Evaluation of quality the pumpkin, wild plum, pear, cabbage traditional homemade vinegars using the spectroscopy and rheology methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 259
- [4] Lorencová, E., Salek, R. N., Černošková, I., & Buňka, F. (2019). Evaluation of force-carbonated Czech-type lager beer quality during storage in relation to the applied type of packaging. *Food Control*, 106

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 užít 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

Tato diplomová práce se zabývala vlivem podmínek chmelovaru na vzorky mladiny a pív. Vzorky se od sebe navzájem lišily podmínkami zpracováním: jeden vzorek byl připraven na laboratorní varně s chmelovarem za atmosférického tlaku trvajícím 90 minut. Chmelovar druhého vzorku byl proveden tak, že sladina připravena na varně byla nalita do skleněných lahví, byla přidána jedna várka chmele, následně ve vodní lázni za atmosférického tlaku byl proveden chmelovar. Další vzorky byly připraveny obdobným způsobem: sladina z varny byla nalita do skleněných lahví, jedenkrát chmelena, lahve byly uzavřeny a celý proces záhřevu, výdrže a chlazení byl proveden v autoklávu za přetlaku 0,34 MPa. Zde se od sebe tyto vzorky navzájem lišily dobou výdrže působení tepelného záhřevu, a to dobou 30, 45, 60 a 90 minut. Výsledky fyzikálně-chemických, reologických i senzorických analýz poukázaly na významný vliv podmínek chmelovaru zejména na hodnotu pH, stanovení celkových rozpuštěných látek, na velikost částic, dále na stanovení hořkosti, barvy a na chuťové vlastnosti.

Klíčová slova: pivo, mladina, chmelovar, autokláv, přetlak.

ABSTRACT

This diploma theses evaluated the influence of hop boiling conditions on the properties of wort and beers. The samples differed in processing conditions: the first sample was prepared in the laboratory with hop boiling under atmospheric pressure for 90 minutes. Hop boiling of the second sample was made using wort prepared in the laboratory which was poured into glass bottles, one batch of hop was added, followed with hop boiling in water bath under atmospheric pressure. The other samples were prepared using similar methods: wort from laboratory was poured into glass bottles, one batch of hop was added. Bottles were sealed and full cycle of warming, heat endurance and cooling was performed in autoclave under overpressure of 0.34 MPa. Herein the samples were differentiated by the period of heat treatment, that being of 30, 45, 60 and 90 minutes, respectively. The results of physico-chemical, rheological and sensory analyses presented a significant impact of the hop boiling conditions, primarily on the samples in pH value, total dissolved solids and the size of particles, furthermore in the bitterness, colour and sensory properties.

Keywords: beer, wort, hop boiling, autoclave, overpressure.

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu diplomové práce, panu doc. Ing. Richardosi Nikolaesu Salekovi, Ph.D. za odborný dohled, cenné rady a velkou trpělivost. Dále mé poděkování patří paní Ing. Evě Lorencové, Ph.D. za odborné rady při zpracovávání diplomové práce. A na závěr děkuji svým nejbližším, kteří mne podporovali.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ZÁKLADNÍ SUROVINY PRO VÝROBU PIVA	11
1.1 SLAD	11
1.1.1 Složení sladu	12
1.1.2 Výroba sladu	13
1.1.3 Sladové náhražky	14
1.2 CHMEL	14
1.2.1 Složení chmele	15
1.2.2 Zpracování chmele.....	18
1.3 VODA	18
1.4 PIVOVARSKÉ KVASINKY	19
1.4.1 Vlastnosti.....	19
1.4.2 Vitalita kvasinek.....	20
1.4.3 Divoké kvasinky.....	21
2 TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA	22
2.1 VÝROBA SLADINY	22
2.2 VÝROBA MLADINY	23
2.3 FERMENTACE	25
2.4 NÁSLEDNÉ ÚPRAVY PIVA.....	27
2.5 STÁRNUTÍ PIVA.....	28
3 MODERNÍ TECHNOLOGIE APLIKOVANÉ V PIVOVARNICTVÍ	29
3.1 VÝROBA NEALKOHOLICKÉHO PIVA	29
3.2 BEZLEPKOVÁ PIVA	31
3.3 ČIŘENÍ PIVA.....	32
3.4 BIODIVERZITA PIVA	33
3.5 MODERNÍ TRENDY VÝROBY MLADINY	35
II PRAKTICKÁ ČÁST	38
4 MATERIÁL A METODIKA	39
4.1 SUROVINY POTŘEBNÉ PRO VÝROBU VZORKŮ	39
4.2 VÝROBA VZORKŮ	40
4.2.1 Detailní průběh chmelovaru.....	42
4.3 ANALÝZA VZORKŮ	43
4.3.1 Analýza fyzikálně-chemická.....	43
4.3.2 Analýza reologická.....	46
4.3.3 Analýza senzorická	47

5	VÝSLEDKY A DISKUZE	48
5.1	REFRAKTOMETRICKÁ SUŠINA.....	48
5.2	HODNOTA PH.....	50
5.3	STANOVENÍ HUSTOTY.....	52
5.4	OBSAH ETHANOLU.....	53
5.5	MĚŘENÍ HMOTNOSTI VYPRODUKOVANÝM CO ₂	55
5.6	STANOVENÍ CELKOVÝCH ROZPUŠTĚNÝCH LÁTEK.....	57
5.7	VELIKOST ČÁSTIC.....	58
5.8	OSTATNÍ ZÍSKANÉ HODNOTY.....	59
5.9	STANOVENÍ HOŘKOSTI.....	60
5.10	STANOVENÍ BARVY MLADINY.....	62
5.11	REOLOGICKÁ ANALÝZA.....	64
5.12	SENZORICKÁ ANALÝZA.....	67
	ZÁVĚR	69
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	72
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	84
	SEZNAM OBRÁZKŮ	86
	SEZNAM TABULEK	87

ÚVOD

Pivo patří k oblíbeným nápojům lidstva již od nepaměti. Dříve však nemělo pivo takovou podobu, jakou známe dnes. Prapůvod piva spočíval ve spontánní fermentaci obilné kaše. Jednalo se o směs nadrceného obilí, vody a divokých kvasinek, které fermentovaly směs na mírně alkoholický obsah. Od této doby uplynulo mnoho času, během kterého se lidstvo s vývojem technologie i aplikovaných znalostí posunulo ke kvalitnímu nápoji. Ten je dnes vyráběn nejčastěji z ječného sladu, chmele, vody a pivovarských kvasinek. Mistři sládců jsou navíc schopni reprodukovat každou várku s téměř totožnými chemickými vlastnostmi. (Brennan a kol. 2006)

V současné době kladou zákazníci na pivovarské odvětví vysoké nároky, a to zejména ve složení piva, obsahu alkoholu, hořkosti i barvy. Současným trendem je výroba netypických druhů pív, mezi které patří nízkoalkoholická piva, nealkoholická piva, piva filtrovaná, dále různé pivní styly (typu *Ale*, *Indian Pale Ale*, *Indian Pale Lager*), pšeničná piva, rýžová či spontánně fermentovaná piva. (Basařová a kol. 2021)

Ovšem za nejdůležitější fázi výroby piva, s vlivem na výslednou chuť, lze považovat chmelovar. V průběhu chmelovaru je mladina sterilizována, sladové enzymy jsou denaturovány a enzymatické pochody zastaveny. Mladina je díky odparu podílu vody zakoncentrována na konečnou stupňovitost. Dále jsou během chmelovaru odpařeny těkavé sloučeniny a chmelové silice přechází do mladiny. Dávají tak pivu typické aroma. Nejdůležitějším dějem chmelovaru je však bezesporu převedení hořkých chmelových látek do roztoku, kde jsou vlivem působení vysoké teploty izomerovány. Cis- a trans- produkty iso- α -hořkých kyselin se významně podílejí na chuti hotového piva. (Šemík a kol. 2003)

V dobách minulých byl chmelovar veden na mladinové pánvi s přímým uhelným otopem, který posléze nahradily plynové vařáky. S vývojem technologie se pivovary snaží docílit optimalizace podmínek chmelovaru tak, aby pivo nemělo pozměněné vlastnosti a zároveň, aby nedocházelo k ekonomickým ztrátám. Z toho důvodu je tato práce zaměřena na chmelovar vedený za podmínek vysokého tlaku, neboť se jedná o jeden ze způsobů, jak výrobu optimalizovat, a to zejména zkrácením doby varu. V současné době zdražujících se energií tento fakt jednoznačně vede ke snížení nákladů, za současného zisku žádaných vlastností piva (požadovaný vzhled, hořkost a sensorická přijatelnost). (Šemík a kol. 2003)

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZÁKLADNÍ SUROVINY PRO VÝROBU PIVA

„Klasické pivo“ (bez použití náhražek sladu) je vyrobeno za použití sladu, chmele, vody, pivovarských kvasinek. Legislativa v jisté míře taktéž umožňuje použití náhražek sladu neboli surogátů, kdy jejich použití a složení musí být uvedeno na obale. (*Bioprocesy* 2010)

1.1 Slad

Každý druh ječmene má své charakteristické vlastnosti, které ve výsledku ovlivňují hotový produkt. Slad je získáván technologickou úpravou ječmene (nebo jiné obiloviny). Obilovina je máčena, ponechána řízenému klíčení. Tímto procesem je enzymaticky regulována biosyntéza, aktivita enzymů, degradace vysokomolekulárních látek a kyselost sladu. (*Pivovarství* 2004, Basařová a kol. 2021)

Sladové enzymy se liší mechanismem působení: působí uvnitř, nebo vně peptidového řetězce. Dále se liší svými vlastnostmi, jakými jsou například specifická, možnost využití, teplotní rozmezí nejvyšší aktivity a optimální hodnotou pH prostředí. Exopeptidázy štěpí řetězec od jeho konce a odštěpuje tak koncovou aminokyselinu. Významně působí na oligopeptidy a polypeptidy. V ječné obilce lze exopeptidázy nalézt zejména v klíčku, kořínku a střeľce. Během hvozdění a rmutování dochází k jejich degradaci. Endopeptidázy štěpí bílkoviny uprostřed jejich řetězce. Jsou silně specifické vůči vnitřním strukturním znakům polypeptidového řetězce. Uvnitř něj štěpí jen určitá místa. Endopeptidázy jsou technologicky významné, neboť během klíčení přechází 30 až 40 % (w/w) bílkovin do rozpustné formy a jejich činností vznikají nízkomolekulární látky. (Basařová a kol. 2021, Benešová a kol., 2018)

Současně se štěpením vysokomolekulárních látek probíhá syntéza nových proteinů. Část produktů vzniklých při štěpení jsou využity při klíčení, další nízkomolekulární látky jsou nutné jako výživa kvasinek. Produkty štěpení vysokomolekulárních látek ovlivňují v pozitivním smyslu pěnívost a plnost piva, v tom negativním způsobují zákal piva a horší filtrovatelnost. (Benešová a kol., 2018)

Odrůda ječmene použitá ve sladovnictví musí být schválena a registrována. Registraci surovin (jakožto ječmene i chmele) pro výrobu alkoholického nápoje, který nese označení „České pivo“, provádí Ústřední kontrolní a zkušební ústav zeměděľský na doporučení Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského. (*České pivo* 2022)

Státní zemědělská a potravinářská inspekce disponuje seznamem odrůd ječmene i chmele vhodných pro výrobu „Českého piva“. Odrůdy sladovnického ječmene se tak dělí na doporučené (například odrůda Bojos, registrace v roce 2005), předběžně doporučené (například Tocada, registrace v roce 2006) a nově zařazené (například Blaník, registrace v roce 2007) v České republice. (*České pivo – seznam odrůd ječmene a chmele* 2022)

1.1.1 Složení sladu

Chemické složení sladu ovlivňuje výrobu piva, ale také jeho organoleptické a chemické vlastnosti. Prvním podstatným kritériem je obsah vody, ta dosahuje při hvozdnění světlých sladů hodnoty asi 3,5 % (w/w), u tmavých sladů asi 2 % (w/w). Vyšší vlhkost sladu nad 6 % (w/w) může způsobit snížení extraktivnosti, mikrobiologické kontaminace při skladování, problémy v průběhu kvašení. (Basařová a kol. 2021, *Pivovarství* 2004)

Dalším důležitým parametrem složení sladu je obsah škrobu, který je uložen v škrobových zrnech. Škrobová zrna se dělí dle rozměrů, a to na malá škrobová zrna: jejich velikost v rozmezí velikosti 1 až 5 μm , ta se podílejí na celkové hmotnosti zrna z 10 % (w/w). Velká škrobová zrna mají velikost v rozmezí 25 až 30 μm a tvoří 90 % (w/w) hmotnosti škrobu. Složení škrobových zrn není vždy stejné, nicméně literatura udává, že škrobové zrno je až z 98 % (w/w) tvořeno čistým škrobem, ve zbylých dvou procentech lze nalézt proteiny, lipidy a minerální látky, jako vápník nebo hořčík. Na degradaci škrobového zrna se podílejí amylolytické enzymy. V optimálně rozluštěných sladech jsou škrobová zrna dokonale degradována, což napomáhá lepšímu působení těchto enzymů. Naopak v hůře rozluštěných zrnech je škrob hůře výše zmíněnými enzymy degradován. Dalším důležitým faktorem pro optimální vlastnosti sladu je jeho extraktivnost, která ovlivňuje výsledky kvašení, chemického složení výsledného produktu, ale i jeho organoleptické vlastnosti. (Bamforth 2009, Basařová a kol. 2021, Chládek 2007)

Ve sladu jsou dále přítomny dusíkaté látky. Ty lze rozdělit na nerozpustné vysokomolekulární složky, polypeptidy, aminokyseliny. Všechny tyto zmíněné přispívají k plnosti chuti piva, podílejí se na jeho zabarvení, stabilitě pěny. Na druhou stranu mohou být také nežádoucí, neboť se vyskytují při tvorbě aldehydů, které se podílejí na vzniku netypické chuti piva. Ve sladu se během jeho klíčení tvoří makropeptidy, polypeptidy, nižší peptidy a aminokyseliny – jedná se o spektrum důležitých látek. Bílkoviny ječmene ve sladu tvoří asi 21 proteinogenních aminokyselin, které jsou díky vodíkovým můstkům poutány do šroubovitě struktury bílkoviny. Ve sladu jsou dále obsaženy složky neškrobového

charakteru, jako například celulóza, hemicelulóza, glykan a lignin. V zrně ječmene jsou v množství od 10 do 14 % (w/w). (Chládek 2007, Basařová a kol., 2021, Hui a kol. 2006)

Sladové polyfenoly jsou látky o různé molekulové hmotnosti a rozdílných vlastnostech. Vyskytují se především v obalových částech zrn a aleuronové vrstvě, kde je nosičem bílkovina hordein. Polyfenoly lze rozdělit na jednoduché fenoly, fenolové kyseliny (chlorgenová kyselina), barevné flavonoidy (diglykosidy anthokyanů), bezbarvé flavonoidy (flavan-3-oly), kumariny, chinony, kondenzované a polymerní polyfenoly. Polyfenoly mají antioxidační vlastnosti a oddalují tak stárnutí chuti piva a tvorbu zákalů nebiologické povahy, ale tyto antioxidační vlastnosti jsou závislé na prostředí. Dále mají polyfenoly schopnost vylučovat kaly během chlazení mladiny, podílejí se na plnosti a chuti piva. (Basařová a kol., 2021, Cortese a kol. 2020, García a kol. 2004, Chládek 2007)

1.1.2 Výroba sladu

Výroba sladu začíná příjmem ječmene na rampě z dopravního prostředku. Dříve než je celá várka přijata, jsou z ní odebrány dílčí vzorky k analýze, kde se hodnotí zejména obsah vody, bílkovin, klíčivost, podíl zlomků, nečistoty, napadení škůdci a mikrobiální jakost. Po provedené analýze je ječmen transportován na očištění a vytrídění pomocí mechanických či pneumatických dopravníků. Jedná se o odstranění prachu, nečistot, příměsí. To je provedeno na zařízeních zvaných triéry, aspirátory či cyklóny. Při skladování jsou metabolické procesy ve sladu utlumeny, aby ztráty polysacharidů byly co nejmenší. Dále je odváděn oxid uhličitý, který vzniká při dýchání. (Basařová a kol., 2021, Chládek 2007, Hui a kol. 2006, *Pivovarství* 2004)

Další důležitou fází výroby sladu je jeho máčení. Cíleně je zvýšen obsah vody v zrně na 42 až 48 % (w/w). Tato hodnota je optimální pro zahájení enzymatických reakcí podílejících se na klíčení zrna. Dosažený obsah vody v zrně se nazývá stupeň domočení a liší se dle typu vyráběného sladu. Tím, že je slad skladován v suchém stavu, je většina metabolických pochodů a enzymů inhibována. V důsledku kontaktu zrna s vodou dochází k aktivaci enzymů. Namáčení zrna je provedeno v určitých hodinových intervalech, mezi kterými je vždy přestávka. Zrno je namáčeno v takzvaných máčírňách v namáčecím náduvníku, do kterého je spuštěn koš s obilím. Během namáčení dochází ke zvýšení obsahu vody. Každé namočení je oddělené přestávkou. První namočení trvá obvykle 2 až 6 hodin s tím, že dochází ke zvýšení obsahu vody v zrně na 30 % (w/w). Dále následuje vzdušná přestávka trávající v rozmezí 14 až 20 hodin. Při druhém namočení, které trvá 6 až 10 hodin, je obsah

vody v zrně zvýšen na 38 až 40 % (w/w). Následuje další vzdušná přestávka, během které je z náduvníku odsáván oxid uhličitý a dochází k oschnutí zrna. Třetí namočení je poslední a slouží k finálnímu zvýšení obsahu vody po dobu 4 až 6 hodin na 44 % (w/w). Následuje přejímka do pneumatických klíčidel. Vymočený ječmen má, paradoxně, nižší obsah vody, než je potřeba pro jeho klíčení, takže bývá ve sladovadlech skrácen a převracen. Zde je rozdíl mezi potřebným obsahem vody pro slady světlé a tmavé: pro výrobu světlého sladu je potřebný obsah vody 43 až 45 % (w/w), pro výrobu sladů typu bavorského 48 až 50 % (w/w). Podle teploty prostředí při klíčení dělíme technologie následovně: při konstantní teplotě (neustále stejná teplota po celou dobu, buď nízká, nebo i vysoká) při vzestupné teplotě (teplota klíčení roste s každým dnem průměrně o 1 °C), při sestupné teplotě (teplota je od druhého dne klíčení postupně snižována), klíčení studené (teplota maximálně 12 °C), klíčení teplé (teplota do 22 °C). Následuje hvozdnění, jehož cílem je snížit obsah vody ve sladu pod 4 % a tím pozastavit metabolické procesy a tvorbu chuťových, barevných a oxidoredukčních látek. Nejdříve je nutné slad šetrně vysušit při teplotě 20 až 60 °C, následuje fáze sušení v teplejším vzduchu. Opět je zde rozdíl mezi potřebnými teplotami pro sušení světlého a tmavého sladu: teplotní rozmezí 60 až 105 °C je pro tmavý slad, teploty 60 až 80 °C je pro slad světlý. (Basařová a kol., 2021, Chládek 2007, *Pivovarství* 2004)

1.1.3 Sladové náhražky

Sladové náhražky neboli surogáty jsou využívány z ekonomických důvodů, při nedostatku surovin nebo v pivovarsky netradičních oblastech či pro výrobu specifických druhů piva. Sladové náhražky lze dělit na cukerné a necukerné (škrobové). Jako příklady škrobových surogátů lze zmínit nesladované obilí, tepelně opracované obilí jiné než ječmen, pšeničné a ovesné vločky, kukuřici, čirok a rýži. Mezi cukerné náhražky sladu patří řepný cukr, sladové výtažky, cukerné sirupy. (*Pivovarství* 2004)

1.2 Chmel

Chmel je surovina, která v dnešní době nebyla díky svým vlastnostem zcela nahrazena. Nejdůležitější složky chmele, které ovlivní pivo při jeho výrobě, jsou chmelové pryskyřice, silice a polyfenoly. Typickou chuť piva dodává komplex látek, zejména pak iso- α -hořké kyseliny. K výrobě piva je použit chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L.). Hlavní částí rostliny jsou kořeny, postranní větévky, listy a květenství. Pro pivovarské využití se pěstují pouze samičí chmelové hlávky, samčí bývají využívány při šlechtění. Virové nemoci chmele

můžou způsobit nízký výnos a snížení obsahu chmelových pryskyřic. (Basařová a kol., 2021, Ježek a kol. 2015)

Odrůdy chmele se dělí podle zabarvení chmelové révy na červeňáky a zeleňáky. Červeňáky jsou typicky pěstované v Evropě, zejména v České republice, Polsku, Německu. Zeleňáky se tradičně pěstují v Anglii, USA a na Novém Zélandě. Další dělení chmele je podle jejich vegetačního období. U poloraných chmelů (například Žatecký poloraný červeňák) je vegetační doba dlouhá 122 až 128 dní, u pozdních chmelů (například chmel Kazbek) je vegetační období dlouhé v rozmezí 131 až 140 dní. (Ježek a kol. 2015)

Hlávkový chmel jako takový se již příliš běžně nevyužívá, neboť je zde riziko nejednotnosti obsahu cenných látek, jakými jsou α -hořké kyseliny nebo silice, nehomogenita suroviny, přítomnost dusičnanů nebo reziduí pesticidů. Z výše uvedených důvodů jsou využívány chmelové výrobky, mezi které lze zařadit chmelové výrobky upravené mechanickou úpravou hlávkového chmele, chmelové výrobky upravené extrakcí hlávkového chmele, chmelové výrobky vyrobené chemickými úpravami a kombinované chemické preparáty. Mezi výhody chmelových výrobků patří snížení požadavků na podmínky skladování, vyšší chemická stabilita, snadnější manipulace a dávkování, snížení objemu při skladování. (Basařová a kol., 2021)

Již 71 let probíhá na českém území certifikace chmele vyprodukovaného na našem území. Tento postup má zajistit kvalitu chmele či chmelových výrobků, deklarovat jejich původ a průběh pěstování. Nárok na certifikaci má pouze chmel a chmelové výrobky, které splňují požadavky dané Evropskou unií. Certifikace a ověření probíhá za přítomnosti pěstitele a pod kontrolou Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského. Ověřování chmele probíhá na žádost producenta, ten však musí mít před započítím splněny laboratorní výsledky týkající se vlhkosti materiálu, příměsí chmelového a nechmelového charakteru a obsahu semen a balení chmele (chmelové produkty, lisovaný chmel, chmel v pěstitelských obalech), které bude podléhat ověřování. Kontroloři, kteří jsou přítomni ověřovacímu procesu dohlíží na to, že s chmelem nebylo nijak negativně manipulováno. Tak je garantován původ, chmelařská oblast, odrůda i ročník sklizně chmele. Následně je takto hotový produkt označen plombami a certifikátem o původu. (Chromý 2021a, Chromý 2021b)

1.2.1 Složení chmele

Podle druhu chmele se liší i jeho složení. Jako nejvýznamnější složku chmele pro pivovarství lze považovat α -hořké kyseliny. Ty nejsou samy o sobě hořké, nicméně při chmelovaru

dochází k jejich izomeraci – izomery se tak projevují typickou hořkou chutí. Koncentrace iso- α -hořkých kyselin v pivech je v rozmezí 10 až 100 mg/l a je závislá na druhu piva. (Algazzali a kol. 2018, Basařová a kol., 2021)

Výzkumem dle Krofta a kol. (2014) bylo experimentálně potvrzeno, že obsah β -hořkých kyselin v pivu nemá význam na jeho hořkost. Při experimentu byl do mladiny přidán ethanolový roztok β -hořké kyseliny, přičemž mladina nevykázala žádnou hořkost, která by měla vliv na senzorycké vlastnosti piva. Ovšem daleko významnější jsou oxidační produkty β -hořkých kyselin, neboť piva chmelená oxidačními produkty β -hořkých kyselin vykazují silnou a příjemnou hořkost piva. Vliv oxidačních produktů β -hořkých kyselin je při samotném chmelovaru zanedbatelný, neboť rozpustnost kyslíku v mladině za varu je velmi nízká. Proto dochází k transformaci na oxidační produkty jen zanedbatelná část β -hořkých kyselin, tudíž vliv na celkovou hořkost nápoje je taktéž zanedbatelný. Vysoký obsah β -hořkých kyselin, konkrétněji rozmezí 70 až 80 % (w/w), vzhledem k malé rozpustnosti, zůstává v mlátu a chmelových kalech. (Algazzali a kol. 2018, Haseleu a kol. 2009, Krofta a kol. 2014)

Rozdíl mezi α a β -hořkými kyselinami je následující:

- α hořké kyseliny zahrnují humulon, adhumulon, kohumulon v poměru 80:10:10. Snadno podléhají oxidaci, při které dochází k jejich přeměně na nespécifické měkké a tvrdé pryskyřice. Během chmelovaru podléhají izomeraci, což má za následek rozvoj hořké chuti u piva, následně mají vliv na stabilitu pěny. (Krofta a kol. 2017)
- β -hořké kyseliny zahrnují lupulon, kolupulon, adlupulon v poměru 60:20:20. V případě oxidačních produktů mají jemnější chuť, nepodléhají izomeraci během chmelovaru a jsou málo rozpustné ve vodě. (Cortese a kol. 2020)

Chmelové pryskyřice patří mezi nejdůležitějším složkám chmele, které zaujímají až 30 % (w/w) jeho hmotnosti. Jedná se o deriváty floroglucinolu. Během chmelovaru dochází k jejich izomeraci. Chmelové pryskyřice mají antimikrobní účinky vůči *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a *Escherichia coli*, přičemž z pokusů vyplynulo, že lepší antimikrobní vlastnosti mají právě β -hořké kyseliny. Antimikrobní účinky α a β -hořkých kyselin bývají využity v mlékárenství a cukrovarnictví, dále využití β -kyseliny v lihovarnictví, kde je využit jejich antimikrobní potenciál při výrobě lihu. (Cortese a kol. 2020, Leite a kol. 2013)

Dělení chmelů podle obsahu α -hořkých kyselin je následující: aromatické chmele, hořké chmele a vysokoobsažené chmele. Aromatické chmele obsahují 3,5 až 6,5 % (w/w) α -hořkých kyselin, přičemž podíl kohumulonu činí 20 až 40 % (w/w), podíl farnesenu je do 5 % (w/w). Jedná se například o odrůdy Sládek a Cascadela. Do kategorie hořkých chmelů lze zařadit chmele s 8% (w/w) obsahem α -hořkých kyselin. Kohumulon je do 30 % (w/w) a farnesen do 2 % (w/w). Tyto chmele mají taktéž příjemné aroma. Jedná se například o chmel Bor a Premiant. Vysokoobsažené chmele se vyznačují vysokým podílem α -hořkých kyselin, a to až do obsahu 15 % (w/w), mohou mít ale horší aroma (proto se obvykle používá směs chmelů, kdy je kompenzováno aroma a hořká chuť). Jako příklad lze uvést chmely Magnum či Taurus. V roce 2008 byla v SRN vyšlechtěna odrůda chmele s obsahem α -hořkých kyselin nad 20 % (w/w). (Basařová a kol. 2021, Bland a kol. 2015)

Chmel neobsahuje pouze látky, které jsou zodpovědné za příjemnost chuti a hořkosti, ale taktéž látky nežádoucí, jako například dusičnany. Dusičnany se nachází nejen v chmelu, ale taktéž ve vodě. Obsah dusičnanů v chmelu může být ještě podpořen nesprávným hnojením nebo nesprávným zvolením odrůdy rostliny. Koncentrace dusíkatých látek v pivu nesmí překročit hodnotu 50 mg/l. (Olšovská a kol. 2014)

Během výroby piva může dojít k redukcí pomocí mikroorganismů (zejména rodu *Bacillus*) dusičnanů na dusitanové ionty, které jsou velmi dobře rozpustné ve vodě. Dalšími pochody vzniká kyselina dusitá, oxid dusíku, ty dohromady podporují vznik N-nitrosaminů. Důsledek dlouhodobé konzumace N-nitrosaminů jsou karcinogenní, teratogenní a mutagenní účinky na organismus. V pivu je výskyt N-nitrosaminů relativně malý, nicméně běžně se vyskytují i v dalších potravinách (například masné výrobky). Celkový obsah nitrosloúčenin není nijak legislativně omezen, nicméně bývá vyžadován obsah těchto sloučenin do maximálního limitu 20 μ g na jeden litr. Kvalitní piva mají obsah výše uvedených sloučenin pod nebo do této hodnoty. (Basařová a kol. 2021, Olšovská a kol. 2014)

Další problém při pěstování chmele může být jeho hnojení a ochrana rostlin, respektive výskyt reziduí pesticidů nebo těžkých kovů, jakými jsou například chrom, rtuť, olovo anebo měď. Měď je nezbytná pro správný růst rostlin. Její nadbytek obvykle plyne z dřívějších a opakovaných aplikací ochranných látek. V nízkých koncentracích je pro rostlinu esenciální, ve vyšších koncentracích může způsobit nedostatek železa v rostlině, neboť měď je silně konkurenční železu. Dále je měď v nízkých koncentracích nutná pro růst a metabolismus kvasinek, její vysoké koncentrace je pro kvasinky toxická. Dále způsobuje vyšší zakalenost piva a jeho rychlejší senzorické stárnutí. (Čejka a kol. 1989)

1.2.2 Zpracování chmele

Než je chmel dále zpracován a využit, je potřeba jej nejdříve vysušit. Nesprávné vysušení může mít za následek snížení údržnosti a také obtížnou skladovatelnost. Chmel by měl po vysušení obsahovat okolo 10 až 11 % (w/w) obsahu vody, nedostatečné vysušení může být příčinou plesnivění. Naopak příliš vysoké vysušení může způsobit křehkost až rozpad chmelových hlávek, a tak horšenou manipulaci a dávkování. Chmel je sušen buď v komorových nebo pásových sušárnách. Komorové sušárny vysouší chmel nejvýše při teplotě 60 °C, aby nedošlo k poškození chmelových pryskyřic, silic a polyfenolů. Pásové sušárny mají za sebou tři pásy, kde jsou rozdílné teploty: na nejvyšším pásu je chmel vystaven teplotě do 95 °C, na středním pásu teplotě 75 °C a na spodním pásu je teplota 60 °C. Při sušení chmele slouží jako médium sušení a odvodu vlhké páry zejména vzduch, nebo směs vzduchu se spaliny. Po sušení může být chmel zakonzervován oxidem siřičitým o koncentraci 0,25 až 0,60 kg SO₂ na 50 kg chmele. Konzervace není podmíněně nutná, jedná se obvykle o přání zákazníka, neboť chemická konzervace může způsobit vyšší podíl SO₂ v mladině. Proces zpracování chmele je ukončen jeho zabalením a skladováním, kdy je lisován a zabalen podle hmotnosti do žoků, balotů nebo kostek z juty. Každé balení chmele musí být zapečetěno, označeno původem chmele a musí být podle zákona oznámkováno. To vše výrobce dokládá ověřovací listinou. Chmel je posléze skladován při teplotách blízkých se k 0 °C v temnu, nesmí být v kontaktu s kondenzovanou párou. (Basařová a kol. 2021, Cortese a kol. 2020, Chládek 2007)

1.3 Voda

Voda v pivovarství má mnoho podob a využití, jedná se zejména o vodu na samotné vaření piva, dále mytí, sterilační voda a provozní voda. Pivovar je tak z hospodářského hlediska na vodu silně náročný. Varní voda musí být pitná a musí splňovat hygienická kritéria. Pivovary využívají vodu buď z vodovodního řadu, kde za hygienickou nezávadnost zodpovídají vodárny, nebo vodu studniční či povrchovou. Vody z těchto zdrojů mohou obsahovat suspendované látky nebo mikroorganismy, které mohou způsobit zdravotní závadnost konečného produktu. Povrchové zdroje vody jsou více náchylné na znečištění, mohou obsahovat větší množství suspendovaných látek, anorganických látek a dalších kontaminantů. Spodní zdroje vody jako jsou studny, prameny, vrty, jsou vhodnější, obsahují méně mikroorganismů, nicméně obsah iontů je zde obvykle vyšší. Dalším podstatným kritériem je tvrdost vody neboli obsah rozpuštěných iontů vápníku a hořčíku. Voda je pak

následně dělena právě podle obsahu výše uvedených látek na vodu měkkou (do 1,3 mmol/l), středně tvrdou (rozmezí 1,3 až 2,5 mmol/l), tvrdou (2,5 až 3,8 mmol/l) a velmi tvrdou (nad 3,8 mmol/l). (Chládek 2007, Basařová a kol. 2021)

Při procesu vaření piva je také důležitá hodnota pH vody, tuto hodnotu ovlivňují hydrogenuhličitanu obsažené ve vodě, kdy při varu, tzn. vyšší teplotě dochází k reakcím za spotřebování vodíkových kationtů, sníží se acidita prostředí a uvolní se oxid uhličitý, kyselé reakce při rmutování zajišťují dihydrogenfosforečnany, hydrogenfosforečnany a fosforečnany obsažené ve sladu. (Chládek 2007, Basařová a kol. 2021)

1.4 Pivovarské kvasinky

Kvasinky jsou heterotrofní organizmy. Jejich buněčná stěna obsahuje chitin, mannan, glukany a proteiny. Jejich významnou schopností v biotechnologiích a potravinářství je fermentace mono, di- a trisacharidů na ethanol a oxid uhličitý. Vůči teplotním změnám jsou málo odolné, obvykle k jejich usmrcení stačí teplotní záhřev okolo 60 °C. (Walker a Stewart 2016)

1.4.1 Vlastnosti

Jedná se o buňky o velikosti 5 až 10 μm . Svými organelami jsou podobné eukaryotickým buňkám. Kvasinky jsou organizmy odolné vůči nízké aktivitě vody, kdy jsou schopny přežít i v prostředí s vodní aktivitou (a_w) okolo 0,65. Co se týče samotné fermentace, kvasinky jsou schopny metabolizovat v různých teplotních rozmezích – dle toho je dělíme na spodní pivovarské kvasinky a svrchní pivovarské kvasinky. (Walker a Stewart 2016)

Vhodná teplota pro metabolismus kvasinek se liší podle toho, zda se jedná o spodní, nebo svrchní pivovarské kvasinky. Jako příklad spodních pivovarských kvasinek lze uvést *Saccharomyces pastorianus*, pro svrchní pivovarské kvasinky pak *Saccharomyces cerevisiae*. Rozdíly mezi jednotlivými typy jsou patrné při potřebné teplotě fermentace, kdy svrchní vyžadují vyšší teplotu, a to až do 24 °C, spodní vyžadují teploty nízké, tj. v rozmezí 6 až 12 °C. (Basařová a kol. 2021, Lorencová a kol. 2019, Walker a Stewart 2016)

Kvasinky jsou v pivovarství využity až při procesu kvašení, kdy jejich metabolickou drahou dochází k přeměně sacharidů přítomných v mladině na oxid uhličitý, ethanol a další produkty metabolismu (například kyselinu mléčnou, octovou, máselnou). Mladina musí být ochlazená na optimální teplotu, aby činnost kvasinek nebyla inhibována. Dále musí být ochlazená mladina provzdušněna, aby byl obsah kyslíku optimální pro správnou činnost

kvasinek. Jedná se o obsah kyslíku v rozmezí 5 až 8 mg/l. (Basařová a kol. 2021, *Pivovarství* 2004, *Pozorování kvasinek* 2013, Sakamoto a kol. 2003)

1.4.2 Vitalita kvasinek

Vitalita kvasinek je jedním z důležitých ukazatelů, podle kterého se řeší možnost opakovaného použití násady, nebo jejich vyřazení z procesu. Metody, které sledují jejich vitalitu, jsou založeny na vlastnostech cytoplazmatické membrány živých buněk, schopnosti množit se a metabolizovat sacharidy. (*Pozorování kvasinek* 2013, Walker a Stewart 2016)

Při vitálním barvení je sledována schopnost semipermeabilní membrány nepohlit barevnou složku. Jako barvivo je často využívána je methylenová modř, methylenová violeť nebo fluorescein diacetát. Vitální barvení spočívá v odebrání vzorku kvasinek, který je smíchán v destilované vodě do suspenze. Kapka suspenze je kápnuta na podložní sklíčko, následně je zakápnuta barvivem, poté je vše přikryto krycím sklíčkem. Objekt je pozorován mikroskopem při zvětšení v rozmezí 100x až 500x v nejméně deseti zorných polích. Je spočítán počet živých i mrtvých buněk v procentech, včetně směrodatné odchylky. Pozorování by mělo proběhnout v relativně krátkém čase, neboť barvivo je pro kvasinky mírně toxické. V tomto pokusu jsou mrtvé buňky obarveny, neboť propustnost membrány již není regulována procesy v buňce. Tato metoda je poměrně jednoduchá, nenákladná s téměř okamžitými výsledky. Nevýhodou je, že je jedná o silně subjektivní metodu, která může být ovlivněna schopností rozeznat zbarvení laborantem, rychlostí provedení metody, dále zde může být problém v odebraném vzorku, který nemusí být reprezentativní. (Hollerová a kol. 2005, *Pozorování kvasinek* 2013)

Při stanovení reprodukční schopnosti buněk kvasinek je vyhodnocena tvorba kolonií na agaru. Nevýhodou je skutečnost, že tento test trvá v řádech dnů (2 až 3), takže vitalitu nelze zjistit v krátkém časovém úseku. (Hollerová a kol. 2005, *Pozorování kvasinek* 2013)

Dalším testem průkazu vitality kvasinek je stanovení jejich energetického stavu. Zde je využito toho, že na membráně probíhají chemické procesy za fyziologického stavu buňky. Pro toto zjištění se používá test acidifikační schopnosti, tzv. AP test. Při pokusu je pozorována schopnost poklesu pH vnějšího prostředí, činnost membránové ATP-ázy a vzniku dalších kyselin, které vznikají v průběhu metabolismu. V případě modifikace AP testu dle Hollerové je potřeba navázat určité množství kvasinek a resuspendovat je. Nejdříve pokus probíhá v destilované vodě, následně je přidáno určité množství glukózy a je zapsána hodnota pH roztoku. Následně je odečtena hodnota po dvacáté minutě pokusu. Výsledná

hodnota AP v určité minutě (v tomto případě ve 20. minutě měření, proto AP_{20}) hovoří o fyziologickém stavu kvasinek. Rozmezí vitality kvasinek jsou následující: nad hodnotu $AP_{20}=2,5$ hovoří o vysoké aktivitě a silné fermentační schopnosti kvasinek, $AP_{20}=2,5$ až $2,0$ jsou kvasinky aktivní a dobře fermentující, v rozmezí $AP_{20}=2,0$ až $1,5$ jsou kvasinky částečně poškozené a jejich metabolizační schopnost je poškozena. Pod hodnotu $AP_{20}=1,5$ jsou kvasinky poškozené a nevhodné pro další použití v procesu. (Hollerová a kol. 2005, Novák a kol. 2003, *Pozorování kvasinek* 2013)

1.4.3 Divoké kvasinky

Jedná se o kvasinky, které jsou jiné než kvasinky kulturní nebo jsou v určitém druhu technologie nežádoucí. Divoké kvasinky se mohou vyskytovat jako kontaminanty v různých fázích výroby piva, nicméně největší problém mohou způsobit při hlavním kvašení. Jejich výskyt lze detekovat tvorbou nežádoucí chuti a aromat, dále se projevují tak, že zpomalují nebo až zastavují kvašení kulturních kvasinek. Dále mohou způsobovat hluboké prokvašení hotového výrobku, což má za následek obsah jen malého zbytkového množství extraktu původní mladiny s vysokou koncentrací alkoholu. (Suiker a Wösten 2022)

Divoké kvasinky lze zařadit do dvou skupin, a to na kvasinky rodu *Saccharomyces* a non-*Saccharomyces*. Divoké kvasinky rodu *Saccharomyces* mohou být považovány v technologii za více škodlivé, neboť jim nevadí anaerobní prostředí. Fermentují sacharidy a mohou být přímá konkurence pro kulturní kvasinky. Dále produkují aromatické látky, fenolové kyseliny a kyselinu skořicovou. Skupina non-*Saccharomyces* je různorodá. Patří do ní rody *Candida*, *Debaromyces*, *Kluyveromyces*, *Torulaspora*, *Zygosaccharomyces* a další. Jejich rizikovost v pivu je nižší, neboť mají omezený metabolismus v anaerobním prostředí. Pokud není tato skupina kvasinek odstraněna filtrací či pasterací, může v pivu přežít, ale zásadně ho nepoškodí. Detekce této skupiny v pivu může značit nízkou hygienickou úroveň provozu. (Vaughan, O'Sullivan a Sinderen 2005)

2 TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA

Výroba piva má následující etapy: výroba sladiny, výroba mladiny, zakvašení, fermentace mladiny, finální úpravy piva. Každá etapa zahrnuje velké množství biochemických procesů, každá se liší dobou trvání (v rozmezí hodin až týdnů), v použitých teplotách (nejvyšší teploty jsou při vaření, nejnižší při ležení). (Chládek 2007, Basařová a kol. 2021)

2.1 Výroba sladiny

Proces výroby mladiny začíná u sladu, který je potřeba našrotovat. Při procesu šrotování je obilka šrotována na optimální velikost, aby následně plochy z obilky mohly sloužit při scezování jako filtrační vrstva. Šrotování sladu může probíhat za sucha, za mokra, s kondicionáním, ve vakuové atmosféře. Dále je sladový šrot (obvyklé množství na jednu várku světlého piva – 100 kg sladového šrotu) smíchán s vodou (obvykle 400 l na jednu várku) a dochází k vystírání neboli smíchání rozemletého sladu (popř. surogátu) s hlavním nálevem vody. Cílem vystírání je převést ze sladu látky rozpustné ve vodě. Takto rozpustné jsou zejména sacharóza, maltóza, glukóza, gumovité látky a nízkomolekulární dusíkaté látky, lipidy, polyfenoly a malé množství sladových enzymů. Dále se liší vystírání dle teplotních režimů na studené, teplé a horké. Proces studeného vystírání probíhá za teploty pod 20 °C. Dříve byla tato teplota doporučena pro špatně rozluštěné slady, u kterých se předpokládala delší doba pro uvolnění látek a potenciální zvýšení hodnoty pH rmutu. Teplé vystírání probíhá za teplot v rozmezí 35 až 38 °C. Jedná se o postup pro dobře rozluštěné slady s dekokčním způsobem rmutování. Horké vystírání probíhá za teplot v rozmezí 50 až 62 °C a je vhodné pro přelouštěné slady. Doba vystírání se odvíjí od použitého postupu i surovin, obecně lze však říct, že se jedná o dobu 10 až 30 minut. (Basařová a kol. 2021, Chládek 2007, Hui a kol. 2006)

Následuje rmutování, při kterém jsou výše zmíněné extraktivní látky ze sladu převedeny do vodného roztoku. Je důležité převést škrob do roztoku tak, aby byl vhodně zpracovatelný pro enzymy – amylolytické, proteolytické. Tím je zajištěna přeměna na směs nízkomolekulárních sacharidů zkvasitelných pivovarskými kvasinkami. Pro světlá piva je nálev větší, aby byl rmut řidší, zde dochází k rychlému zcukření sladiny. Pro tmavá piva je volen hustý rmut, který zachovává po delší dobu aktivitu enzymů. Štěpení škrobu má tři fáze, jedná se o bobtnání a mazovatění, ztekucení škrobu a jeho zcukření. Při záhřevu cukerného roztoku dochází k bobtnání a mazovatění škrobu, tímto se mění cukerný roztok na viskózní kapalinu. Takto zmazovatěný škrob snadno pohlcuje sladové enzymy. Optimální

teplota pro mazovatění sladového škrobu je v rozmezí 50 až 57 °C, tyto teploty se při porovnání se surogáty liší i o desítky stupňů (například rýžový surogát má teplotu mazovatění až 85 °C). Další fáze ztekucení je pod účinkem sladové α -amylázy za vzniku amyloextrinu. Optimální teplotní rozmezí pro ztekucení škrobového mazu ve rmutech je při 65 až 75 °C při hodnotě pH 4,6. K inaktivaci amylázy dojde při teplotě 80 °C. Během záhřevu postupně roste teplota, která je optimální pro určité skupiny enzymů. Tyto teploty jsou následující:

- kyselinotvorná teplota: rozmezí 35 až 38 °C
- peptonizační teplota: 48 až 52 °C
- nižší cukrotvorná teplota: 60 až 65 °C
- vyšší cukrotvorná teplota: 70 až 75 °C
- odrmutovací teplota: 78 °C.

Následně je rmut přečerpán do vystírací kádě. Proces je opakován dvakrát až třikrát. Následuje scezování, které probíhá ve scezovací kádi. Cílem je oddělit sladinu, což je roztok extraktivních látek, od našrotovaného sladu, tj. mláta, získat čirý roztok bohatý na vyluhované látky. Scezování probíhá samofiltrováním přes sladové pluchy, proto, jak bylo zmíněno výše, nesmí být slad našrotován na zcela jemný prášek, jinak dochází k zacpání zařízení a filtrace neprobíhá správně. (Basařová a kol. 2021, Bamfort 2009, De Schepper, Courtin 2022, Hui a kol. 2006)

2.2 Výroba mladiny

Faktory, které se podílejí na vybraných vlastnostech mladiny jsou: doba chmelovaru, jeho intenzita, pohyb vařící mladiny (tzv. whirlpool), odpar vody (dochází k odpaření asi 10 % (w/w) objemu vody) a změna pH. Hodnota pH se sníží během chmelovaru o hodnotu 0,15 až 0,25. Zvýšení kyselosti mladiny je dáno rozpuštěním chmelových kalů, působením vápenatých a hořečnatých iontů a vyloučení fosforečnanů z roztoku. (Pivovarství 2004)

Při chmelovaru je sladina vařena na mladinové pánvi za atmosférického tlaku tak, aby dosáhla teploty 100 °C. V průběhu chmelovaru jsou do sladiny přidávány dílčí přísady chmele, obvykle bývá chmelení dvakrát až třikrát (tzv. dvojí či trojí chmelení), v závislosti na typu vyráběného produktu (obvyklé množství je 100 až 200 g chmelových granulí na jeden hektolitr sladiny). Chmelovar při běžných podmínkách (tj. atmosférickém tlaku) trvá v rozmezí 90 až 120 minut, odpar vody činí až 10 % (w/w). Výsledkem chmelovaru je

mladina, která může mít různé vlastnosti, v závislosti na použitých surovinách. Dříve byly taktéž pokusy o provedení chmelovaru za nízkého tlaku. Zde byl aplikován čas 55 až 60 minut při tlaku 0,108 MPa při teplotě 102 až 105 °C. Další možností vedené chmelovaru je za použití vysokých teplot, a to 130 až 145 °C při výdrži 2,5 až 3 minuty. Mladina je následně ochlazena pod tlakem na teplotu do 100 °C. Za těchto podmínek chmelovaru je pouze 8% (w/w) odpar vody. Cílem chmelovaru je převedení hořkých látek chmele do roztoku. Dále vysoká teplota sterilizuje mladinu, inaktivuje enzymy a dochází ke koagulaci bílkovin. Teplota v průběhu varu působí na chmelové pryskyřice a na kyseliny chmele, zejména pak α -hořké kyseliny. V průběhu chmelovaru dochází k izomeraci již zmíněných α -hořkých kyselin. (Bland a kol. 2015, Cortese a kol. 2020)

Během izomerace α -hořkých kyselin vznikají následující produkty, které zodpovídají za intenzitu hořkosti piva:

- produkty s izomerací cis: α -hořké kyseliny \rightarrow cis-iso- α -kyseliny \rightarrow cis-allo-iso- α -kyseliny.
- produkty s izomerací trans: α -hořké kyseliny \rightarrow trans-iso- α -kyseliny \rightarrow trans-allo-iso- α -kyseliny. (Cortese a kol. 2020, *Pivovarství* 2004)

Při chmelovaru dochází k izomeraci α -hořkých kyselin, ze kterých vznikají cis- a trans-stereoizomery, které se liší svými fyzikálními vlastnostmi. Běžný poměr stereoizomerů cis:trans je 25:75. Při izomeraci β -hořkých kyselin vznikají hulupy. Jako vedlejší produkty vznikají lupdepy, lupoxy a lupdoly. Další reakce, které při chmelovaru probíhají, jsou Maillardovy reakce (neboli soubor reakcí sacharidů a aminosloučenin za vzniku hnědých pigmentů), které jsou spojeny s tvorbou barevných a chuťových látek. (Almaguer a kol. 2014, Cortese a kol. 2020)

Chmelové silice se podílejí na typické chuti a vůni piva a dodávají mu kořenitou až dřevitou vůni. Obsah chmelových silic se liší podle chmele, neboť různé druhy mají různá složení. Složení se se dále liší na podmínkách růstu, skladování, zpracování. Nicméně chmelové silice obsahují až 1000 chemických látek. Čerstvé chmelové silice jsou zejména terpenové uhlovodíky, myrcen, α -humulen, β -karyofylen, geranila, neral, nonanal či kyselina izovalerová. I po více než 50 letech výzkumu nebyly identifikovány veškeré látky. Silice chmele jsou těkavé látky, které se podílejí na typické chuti piva. Část silic (a to asi 0,001 % (w/w) přechází do piva, kterému udává typickou kořenitou vůni a chuť. Ostatní složky silic, které jsou těkavé, jsou odpařeny. (Eyres a Dufour 2009)

V pivu se dále nachází fenolické látky, jejichž hlavním zdrojem je ječný slad, a to ze 70 až 80 % (w/w). Byť tvoří asi 0,2 % (w/w) sušiny sladu, výrazně se podílejí na chuti, stabilitě a trvanlivosti piva. Mezi významné fenolické látky patří kyselina gallová, kyselina ferulová, kyselina sinapinová či kyselina vanilová. Dále jsou v pivu přítomny fenolické látky původem z chmele, a to z 10 až 20 % (w/w). Jedná se zejména o prenylflavonoidy, isoxanthohumol, katechin, epikatechin, kvercetin, deriváty kyseliny skořicové, benzoové a další. Chmelové pryskyřice lze rozdělit na měkké (rozpustné v n-hexanu, obsahují α - a β -hořké kyseliny) a tvrdé (prenylflavonoidy a flavanony). (Hrnčič a kol. 2019, Narwal, Kumar a Verma 2016, Wannemacher, Gastl a Becker 2018)

Dále se v mladině nachází proteiny, které se podílejí na tvorbě zákalu. Jedná se o hydrofilní polypeptidy tzv. hordeiny původem z ječmene. Jelikož mají proteiny slabé vodíkové můstky, mohou se tak na ně vázat polyfenoly. Z počátku chmelovaru se jedná o reverzibilní vazby, následně jsou přeměněny na vazby kovalentní. V průběhu chmelovaru jsou vlivem vysoké teploty koagulovány. (Zhao a kol. 2019)

Koncentrace extrahovaných látek z mladiny musí odpovídat vyráběnému pivu, pro příklad: pro výrobu 12% piva musí pivo obsahovat 12 % (w/w) extraktu původní mladiny (neboli EPM). Obvykle se hodnota extraktu původní mladiny zaokrouhluje směrem dolů, takže pro další příklad, obsah EPM 11,7 % (w/w) je ve výsledku pivo 11% (w/w). (McCaig a kol. 2018, *Pivovarství* 2004)

Chlazení mladiny se dříve provádělo v otevřených nádobách, dnes je již takový postup není běžně používán, neboť zde mohlo dojít k mikrobiální kontaminaci. Novější způsob chlazení mladiny je v uzavřené vířivé kádi, kde při teplotě nad 60 °C dojde k usazení hrubých chmelových kalů na dně nádoby. Chmelové kaly již nemají další využití a jsou likvidovány. Následuje chlazení mladiny na výměnících tepla tak, aby došlo k poklesu teploty na hodnotu okolo 8 °C, což je tzv. zákvasná teplota. Před samotným zaočkováním kvasinek je potřeba mladinu ještě prosytit kyslíkem, aby zde byly optimální podmínky pro fermentaci. (Brennan a kol. 2006)

2.3 Fermentace

Současným trendem ve kvašení či dokvašování je využití cylindricko-kónických tanků z nerezavějící oceli. Jedná se o uzavřené tanky, které, při dodržení veškerých hygienických podmínek zabraňují kontaminaci mladiny (oproti spilkám s otevřenými vanami, které se dnes již běžně nevyužívají, pouze ve velmi malém měřítku řemeslné výroby).

Cylindricko-kónické tanky mají vestavěné chladičí zóny. Pro chlazení je využita rotace chladičího média (glykol, voda). Materiál, ze kterého jsou tyto tanky vyrobeny, usnadňuje údržbu a sanitaci. Sanitace je zautomatizována pomocí sanitačních hlav, které jsou uvnitř tanku, tím je zajištěna dokonalá sanitace a zamezení vzniku nežádoucího biofilmu. (Basařová a kol. 2021, Chládek 2007)

Ochlazená mladina je provzdušněna, aby vytvořila vhodné prostředí pro počáteční fázi růstu a množení kvasinek. Jak již bylo zmíněno v kapitole *Pivovarské kvasinky*, do ochlazené mladiny jsou zaočkovány buď svrchní, nebo spodní pivovarské kvasinky, které se liší teplotou, při které probíhá fermentace. Spodní pivovarské kvasinky mají nejvyšší aktivitu v teplotním rozmezí 7 až 12 °C, používají se zásadně při výrobě ležáků, sedimentují na dně spilky nebo tanku. Svrchní kvasinky pracují při vyšší teplotě, a to od 18 do 24 °C, kvasnice nesedimentují, ale jsou vynášeny na povrch a tvoří kvasnou deku. (Brennan a kol. 2006, Castro a kol. 2022)

Při fermentaci jsou nejdříve fermentovány monosacharidy, tj. zejména glukóza. Následují disacharidy, například sacharóza, poslední na řadě je maltóza. Kvasinky obsahují enzymy maltázu, se kterou štěpí maltózu neboli sladový cukr, na dvě molekuly glukózy. Během procesu fermentace je většina cukrů přeměněna metabolickou drahou na ethanol, oxid uhličitý, vedlejší produkty, které se podílejí na typické chuti a vůni piva. Hlavní kvašení na spilce je rozděleno do několika fází: zaprašování, nízké bílé kroužky, vysoké hnědé kroužky, propadání. Zaprašování je počáteční fáze, kdy se brzy po zakvašení mladiny objevuje první bílá pěna. Během kvašení vzniká hustá pěna, která je stahována do středu kvasné kádě. Nízké bílé kroužky je fáze, během které je pěna smetanově hustá, kučeravá a je známkou nejintenzivnějšího kvašení. Vysoké hnědé kroužky jsou příčinou poklesu pH a vzlínáním chmelových a bílkovinných sloučenin. Poslední fází je propadání, kdy je tvořena hustá deka na povrchu již ne mladiny, ale mladého piva. Konečnou fází fermentace je sedimentace pivovarských kvasnic na dno kvasné kádě (v případě spodně kvašeného piva), odkud jsou sbírány, propláchnuty studenou vodou a uchovávány v chladu pro další použití. Za snížení teploty pivo zraje a leží v ležáckých tancích po určitou dobu. Pro piva spodně kvašená, tzv. ležáky, je to rozmezí několika týdnů. Pro svrchní piva se jedná o rozmezí dnů až pár týdnů. Dochází k postupnému dokvašování zbylého extraktu, pivo se číří, sytí vznikajícím oxidem uhličitým a dozrává. Doba, po kterou pivo leží, je závislá od druhu piva. Běžné 10% (w/w) pivo může ležet tři týdny, co se týče speciálních druhů piv může být doba ležení i v řádech měsíců. (Basařová a kol. 2021, Brennan a kol. 2006, Chládek 2007)

2.4 Následné úpravy piva

Pivo je možné ještě dále upravovat, než je ke konci jako finální výrobek stáčeno. Mezi další úpravu piva po jeho zrání patří například filtrace. Filtrace slouží ke zvýšení stability a údržnosti piva. Během filtrace jsou z piva odstraněny látky, zejména kvasinky, které způsobují zákal výsledného produktu. Dříve bylo na filtraci nahlíženo jako na proces, při kterém je pivo ochuzeno o chuťově bohaté látky. Dnes je filtrace již běžnou součástí úprav piva. Obvykle je snaha docílit požadované čirosti na hodnotu 0,2 až 0,4 jednotek zákalu (dle EBC neboli *European Brewery Convention*). Filtrace může mít mnoho podob za použití mnoha materiálů, nejznámější je však filtrace za použití křemeliny. Křemelina vytváří filtrační vrstvu, na které je zachycován drobný kal. Kromě křemeliny je možnost použít filtry, celulózové desky, odstředivky i membránovou filtraci. Za příklad lze uvést postup filtrace na deskovém filtru: nejdříve je filtr naplaven vhaněným pivem s křemelinou. S Postupem filtrace se snižuje filtrační rychlost díky vzniku filtračního koláče. Konec filtrace je fáze, když už nelze tlak na vstupu do filtru zvyšovat. (Basařová a kol. 2021, Chládek 2007, Filladeau a Carrère 2002)

Dalším zásahem do piva a procesem zvýšení údržnosti hotového výrobku je pasterace. Obvykle je pivo pasterováno v uživatelských obalech, tj. zejména v plechovkách či skleněných lahvích. Pasterace je provedena v tunelových či ponorných pastérech při teplotě 62 °C, méně obvyklá je pak pasterace průtoková, ta probíhá při teplotě vyšší (70 až 74 °C). Pro potřeby kvantifikace úrovně pasterace byla zavedena pasterační jednotka PJ (anglicky PU – *Pasteration Unit*). Definice pasterační jednotky je účinek tepla, který působí při teplotě 60 °C po dobu jedné minuty. V praxi se ovšem využívá pasterační účinek vyšší, aby bylo možné deklarovat bezpečný výrobek. Obvykle používaná hodnota tedy činí rozmezí 20 až 30 PJ. Rozdíly v době působení pasterace při tunelovém a průtokovém pastéru jsou jasně viditelné. V případě tunelového pastéru působí teplo po delší dobu a při nižší teplotě. V případě průtokového pastéru působí vyšší teplota po kratší dobu. (Basařová a kol. 2021, Salazar a kol. 2021)

Před uskladněním piva je poslední fáze jeho stáčení. Jedná se o stáčení do uživatelských obalů, jakými jsou lahve vyrobené z polyethylentereftalátu, skleněné lahve či plechovky, dále plnění do KEG sudů, hliníkových soudků či petainerů. Při stáčení je důležité, aby pivo nebylo vystaveno vzdušnému kyslíku a nedošlo ke ztrátám oxidu uhličitého, proto moderní stáčecké linky fungují izobaricky, tj. plnění probíhá za přetlaku oxidu uhličitého v obalu. CO₂

je postupně vytlačován pivem, které plní obal. Takto nepřijde pivo do styku se vzdušným kyslíkem a je zachována jeho chuť a říz. (Basařová a kol. 2021, Chládek 2007)

2.5 Stárnutí piva

Stárnutí piva je jev, který ovlivňuje řada faktorů: uskladnění v uživatelských obalech, chemické složení piva, teplota, doba a podmínky skladování. V průběhu stárnutí piva dochází k řadě sensorických změn, a to ke ztrátě hořkosti, změně charakteru piva, rozvoji nežádoucího aroma, rozvoji cizích a ovocných vůní. V průběhu oxidace alkoholů, buď za přístupu kyslíku, nebo pomocí hydroxylových radikálů, dochází k tvorbě acetaldehydu – ten má za následek rozvoj květinové vůně. Další sloučeninou, která může vzniknout během stárnutí piva, je β -damascenon, jehož prekurzorem je neoxanthin. Maillardovy reakce jsou zodpovědné za vznik heterocyklických sloučenin, nejvýznamnější je pak furfural, jehož obsah je závislý na teplotě skladovacích prostor. Furfural se projevuje celou škálou aroma, a to od papírové, chlebové až po aroma vařeného masa. Během stárnutí dochází k reakcím mezi ethanolem a organickými kyselinami, které jsou přítomny v pivu. To podporuje vznik ethyl-3-methylbutyrátu a ethyl-2-methylbutyrátu, které se projevují ovocným aroma. Z toho důvodu je důležité dbát o správné uchovávání produktu, aby jeho znehodnocení bylo co nejvíce zpomalené. Obecně by měl mít obalový materiál vhodné bariérové účinky vůči vnějším vlivům. Obalové materiály by měly udržet produkt uvnitř obalu beze změny barvy, chuti, aroma, hořkosti, zároveň by měly být odolné i vůči pivu, které je v nich uchováno (koroze). (Lorencová a kol. 2019, Šavel, Košin a Brož 2008)

3 MODERNÍ TECHNOLOGIE APLIKOVANÉ V PIVOVARNICTVÍ

Aplikace moderních technologií se nevyhýbá ani pivovarství. Většina zákazníků sice preferuje „*klasické pivo*“ a je konzervativní vůči novým přístupům, nicméně jsou i tací, kteří vyhledávají novinky a různorodé pivní speciality. Důkazem toho je rozmach minipivovarů, používání různých mikroorganismů či výroba pivních speciálů. (Kochláňová a kol. 2016)

3.1 Výroba nealkoholického piva

Na trhu k dostání piva se sníženým obsahem alkoholu – pivo s obsahem nejvýše 1,2 % (v/v) alkoholu, nealkoholické pivo – s obsahem nejvýše 0,5 % (v/v) alkoholu. Výroba nealkoholického piva je oblast, kde je možnost aplikovat různé postupy, jak toto pivo vyrobit: odstranění alkoholu fyzikálními metodami z hotového piva (vakuová destilace, reverzní osmóza, dialýza), speciální postupy fermentace (slady s nízkým obsahem sacharidů, mísení piva s nezkvašenou mladinou, imobilizace kvasinek, využití speciálních druhů kvasinek (fermentují substrát za vzniku velmi malého množství alkoholu) a non-*Saccharomyces*). (Kochláňová a kol. 2016)

Technologický postup pro výrobu nealkoholického piva vakuovou destilací je následující: pivo je z přetlačného tanku pod přetlakem 200 kPa vedeno do deskového přehříváče, kde je pivo zahřáto na teplotu 40 °C. Dále ohřáté pivo proudí do odlučovače oxidu uhličitého, kde je vedeno kolonou do vařáku. Tam je pivo kondenzátem dohřáto na výchozí teplotu 45 °C. V koloně, díky působení teploty, je z piva postupně odstraňován ethanol ve formě par, které jsou sbírány do sběrače a poté do kondenzátoru. Z vařáku vychází pivo již zbavené ethanolu na deskový výměník tepla, kde je pivo zchlazeno na teplotu 3 °C, dosyceno oxidem uhličitým a zpět plněno do tanku. (Potěšil a kol. 2008)

Další separační metodou využívanou při výrobě nealkoholického piva je využití membránových procesů. Ty jsou závislé na tlakovém rozdílu, koncentraci roztoku a teplotami na obou stranách membrány. Dalším kritériem je vlastnost membrány, a to, jakou má velikost pórů a z jakého je materiálu. Základem této metody je semipermeabilní membrána, která odděluje jednotlivé komponenty směsi. Na aktivní stranu je silou hnáno pivo, to je vlivem hnací síly rozděleno na jednotlivé složky. Proud, který prochází membránou, se nazývá permeát. Druhá fáze se nazývá retentát a její složky zůstanou zadrženy membránou. Reverzní osmóza je separační technika sloužící mimo jiné k dealkoholizaci piva. V tomto procesu je pivo hnáno spirálně vinutou membránou z polymerního materiálů (např. polyamid). Tuto metodu dealkoholizace je nutné provádět za

zvýšeného tlaku 5 MPa. Díky této technice lze snížit obsah alkoholu na hodnotu okolo 1 % (v/v). (Palatý a Bernauer 2012, Mulder, 1996)

V oblasti využití mikroorganismů pro přímou výrobu nealkoholických piv bývají využity speciální kmeny kvasinek, které mají omezenou schopnost fermentovat přítomné sacharidy na ethanol. Pro tyto účely bývají využity speciální kmeny kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii* a *Zygosaccharomyces rouxii*. Dále mohou být využity v jisté míře i non-*Saccharomyces*, které obohatí výsledný produkt o ovocné chutě a vůně. *Torulaspora delbrueckii* v kombinaci s kvasinkami *Saccharomyces* je vhodná pro výrobu nealkoholického piva, neboť *Torulaspora* fermentuje glukózu, v omezené míře taktéž maltózu a sacharózu. Její metabolismus je v porovnání s tradičními kvasinkami pomalejší, za produkce malého množství ethanolu, kyseliny octové a dalších vyšších alkoholů. Dokáže metabolizovat pouze do 5% (v/v) koncentrace ethanolu. Díky produkci velkého množství sensorických látek získává výsledné pivo švestkovou nebo broskvovou chuť. (Brányik a kol. 2012, Canonico a kol. 2016, Kochláňová a kol. 2016)

Kvasinky *Zygosaccharomyces* mají schopnost fermentovat glukózu, sacharózu a v menší míře taktéž maltózu. Metabolickými drahami vznikají produkty, jako například propanol, isobutanol, estery a acetaldehyd. Její využití je spíše experimentální, neboť velké množství vzniklého furfuralu nebo diacetylu může mít na pivo nežádoucí vliv. (Sohrabvandi a kol. 2011)

Kvasinky rodu *Pichia* mají schopnost fermentovat pouze glukózu. Obvykle se v pivu nachází jako kontaminant, její přítomnost byla potvrzena ve spontánně kvašených pivech. Vylučuje do svého prostředí toxiny (PMKT a PMKT2), které ovšem mohou být využity k zabránění pomnožení dalších kontaminujících druhů. Produkuje acetaldehyd, ethylacetát a fenylalkoholy. (Comitini a kol. 2004)

Dalším adeptem na využití je *Candida tropicalis*. Fermentuje glukózu, galaktózu a maltózu za vzniku kyseliny mléčné, dalších organických kyselin a 2-butanonu. *Candida tropicalis* bývá využita spolu se *Saccharomyces cerevisiae* při výrobě čirokového piva. *Candida shehatae* nefermentuje ani maltózu či maltotriózu. Tyto vlastnosti je mohou přeurčit k výrobě nealkoholických piv do obsahu 5 % (v/v) alkoholu. (N'guessan a kol. 2011)

Další možností výroby nealkoholického piva je využití imobilizovaných kvasinek. Kvasinky jsou zachyceny na následující typy materiálů: karagenan, dřevěné třísky, porézní sklo, křemelinu, mláto. Volba materiálu pro imobilizaci je ovlivněna cenou, stabilitou, inertností

a možností regenerace. Nutno podotknout, že jejich využití je pro pivovarský provoz finančně náročné a ze začátku se provozy potýkají s překážkami, jakými jsou volba nosiče imobilizovaných kvasinek, riziko kontaminace. Dále bylo zaznamenáno, že dochází k přemnožení imobilizovaných kvasinek, což může mít vliv na provoz bioreaktoru a vzniku nežádoucích metabolitů v mladině. Dále bývá popisován rozvoj vyšší koncentrace nežádoucích látek, jako například diacetyl, ketonické látky, estery, které mají za následek rozvoj netypické chuti. (Brányik a kol. 2005)

3.2 Bezlepková piva

Lepek se nachází v potravinách vyrobených zejména z obilovin – pšenice, ječmene a žita. Lepek je složen z prolaminů a glutelinů. Celiakie se řadí mezi autoimunitní onemocnění, kdy má jedinec nepřiměřenou reakci organismu (nadýmání, bolesti břicha, poškození stěny trávicího traktu, zánět sliznice), resp. trávicího traktu, na tuto bílkovinu. (Rysová a kol. 2016)

Bezlepkové pivo je definováno v Nařízení komise (ES) číslo 41/2009, dále se problematikou bezlepkových potravin zabývá vyhláška číslo 54/2004 Sb. o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití. V dokumentech je definováno množství lepku, kdy potravina smí být označena jako bezlepková. Jedná se o množství do 20 mg lepku na jeden kilogram potraviny ve stavu určeném ke spotřebě. (*Nařízení Komise (ES) č. 41/2009*)

Pro přípravu bezlepkových piv se nejčastěji používají jiné slady než ječné a škrobové surogáty. Ječmenný slad může být nahrazen jinou obilovinou či pseudocereálií, jakými jsou například čirok, pohanka, kukuřice, proso, amarant, quinoa, teff a rýže. Dále mohou být tyto suroviny nahrazeny sirupy. Obsah lepku lze v pivu snížit použitím specifických bakteriálních peptidáz, které štěpí řetězec bílkovin na kratší fragmenty. Další možnost snížení obsahu lepku je spíše teoretická, ale bylo by možné využít geneticky modifikované obilí, ze kterého by byl odstraněn lepek. Bezlepkové obiloviny vyžadují odlišnou technologii a delší čas máčení. To může vést k ekonomickým ztrátám a rozvoji mikrobiální kontaminace (zejména plísní). Další překážka tkví ve vlastnostech výsledného piva, kdy například amarantové pivo nemá stabilní pěnu, je silně zakaleno (pivo je až neprůhledné) a nemá příznivou chuť. (Dostálek a kol. 2006, Dostálek a Hochel. 2009, Hulín a kol. 2007, Rysová a kol. 2016)

Dle experimentu Cella a kol. (2022) byla provedena analýza komerčně dostupných piv – ležáků, které byly analyzovány komerční sendvičovou ELISA a soupravou Gliadin-kit. Tato metoda je založena na protilátce R5. Druhá souběžná metoda pro analýzu lepku v pivu byla

kompetitivní ELISA kit, taktéž založeném na protilátce R5. Tato metoda měla vyšší citlivost na hydrolyzované prolaminy v pivu. Z výsledků provedených analýz vyplývá, že již v průběhu varu dochází k vysrážení prolaminů z ječmene, neboť nejsou rozpustné ve vodě. K dalšímu snížení obsahu lepku dochází v průběhu fermentace kvasinkami. Dále se pro výrobu bezlepkových piv využívají surogáty, zejména glukózové sirupy. Tyto náhražky jsou běžnější v zahraničních druzích piv. Surovina pro výrobu těchto sirupů je pšenice, ovšem díky technologickému postupu nebyla pomocí ELISA kitu zjištěna vyšší hodnota lepku, než je legislativně doporučený limit. Tudíž využití těchto sirupů je pro výrobu bezlepkových piv vhodné. (Cella a kol. 2022)

3.3 Čiření piva

Do piva se mohou přidat tzv. čířicí přípravky, které slouží k odstranění zákalu bílkovinného původu a zbytků kvasinek. Čiřidla nesou na svém povrchu pozitivní náboj, tudíž po přidání do piva reagují s kvasinkami/bílkovinami, které na svém povrchu nesou negativní náboj, a vyruší jejich odpudivé síly. Díky tomu dochází ke vzniku velkých shluků, které sedimentují na dně tanku. Nejčastěji se jedná například o vyzinu, karagenan, želatinu a další. (*Principy pivovarnického průmyslu a výroby piva* 2017)

Vyzina, nebo anglicky „*Isinglass*“ je látka, která slouží k čiření alkoholických nápojů, a to piva i vína. Pivo bývá obvykle znečištěno různorodými látkami ze sladu, chmele či odumřelých kvasinek. Toto čiřidlo je získáno z plovacích měchýřů ryb původem z tropů a subtropů z rodu *Polynemidae* a *Sciaenidae*. Majoritní složka vyziny je kolagen. Jak již bylo zmíněno výše, kolagen nese na svém povrchu kladný náboj, který přitahuje kvasinky se záporným nábojem. Tím dojde ke koagulaci a shlukování, které usnadní sedimentaci nečistot z piva. Jelikož je část populace postižena alergií na ryby či rybí produkty, nebývá tento způsob čiření piva preferovaný, neboť vyzina, jak již bylo zmíněno výše, je produkt získaný z ryb. Zde je největší riziko pro citlivé a alergické jedince, neboť konzumace takto upraveného piva může u velmi senzitivních jedinců vyvolat až anafylaktický šok. (Walker, Camarena a Freeman 2007)

Karagenany jsou čířicí látky extrahované z červených řas. Nejdříve jsou mořské řasy umyty tak, aby z nich byl odstraněn mořský písek, sůl a další nečistoty. Následuje vaření (obvykle čtyři hodiny při teplotě okolo 70 °C). Tepelný záhřev probíhá nejčastěji v roztoku hydroxidu sodného (ten napomáhá získat pevnější gel). Poté je provedena první filtrace – ta slouží k odstranění hrubých nečistot. Následuje vysokotlaká filtrace a poté je roztok

zakoncentrován vakuovou destilací. Karagenany mají silnou želírující, stabilizační a zahušťovací schopnost. Karagenan má schopnost vázat velké množství vody, přičemž jeden gram κ -karagenanu hydratuje až 50 g vody. Karagenan lze aplikovat po chmelovaru, tak i u hotového piva. (Barabanova a kol. 2013, Saluri a kol. 2019)

Další, způsobem, jak čířit pivo, je použití chitinu a chitosanu. Jedná se o látky čistě přírodního původu, biologicky odbouratelné a netoxické pro savce. Jedná se o stavební složky schránek korýšů a mořských členovců. Chitosan obsahuje aminoskupiny. Díky nim je chitosan nabitý kladným nábojem. Díky jejich schopnostem koagulace nejsou využity jen v potravinářství, ale i v dalších oblastech (například čištění povrchových i vodovodních zdrojů vody). Neboť chitosin a chitosan nebývají používány jako standardní flokulanty, dle publikace Gassara a kol. (2015) byl proveden experiment s oběma druhy na laboratorní měřítko (4l tank piva) a velkovýrobní měřítko (1000l tank piva). Nejdříve bylo připravené pivo sterilováno za teploty 121 ± 1 °C po dobu 30 minut. Následovala aplikace chitinu (5 mg/l) a chitosanu (5 mg/l). Vzorky piva byly skladovány po dobu sedmí dní za teploty 17 ± 1 °C, poté byly skladovány za teploty 4 ± 1 °C a následně bylo provedeno hodnocení vzorků. Z výsledků tohoto experimentu vyplynulo, že po aplikaci chitosanu (5 mg/l) vzorek piva vykazoval nejvyšší flokulaci. Po přidání chitosanu se ve vzorku piva došlo k rychlé koagulaci a vznikly tak velké shluky vloček o velikost 2 až 3 mm. Struktura těchto vloček byla vláknitá. Výsledky po aplikaci chitinu byly obdobné. Vzorek vykazoval nízký zákal, rychle vznikající a sedimentující vločky. (Gassara a kol. 2015)

3.4 Biokonzervace piva

Biokonzervace je prodloužení životnosti potraviny za využití bezpečných přírodních produktů, jakými jsou například mikroorganismy nebo jejich metabolity. V pivu je nevhodné prostředí pro růst kontaminující mikroflóry, a to díky obsahu ethanolu a organických kyselin. Pakliže dojde k pomnožení mikroorganismů v pivu, může to značit kontaminaci provozu nebo nedostatečnou hygienu. Obvykle se jedná o divoké kvasinky (*Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Wickerhamomyces*), bakterie mléčného kvašení (*Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Lactiplanti Bacillus*), anaerobní gramnegativní bakterie (*Pectinatus*, *Megasphaera*, *Selenomonas*, *Zymophilus*), bakterie produkující kyselinu octovou (*Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp.), enterobakterie (bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*) Jejich přítomnost lze detekovat podle zákalu piva, rozvoje pachuti, netypické chuti piva či nežádoucího zápachu. Kontaminace piva může pocházet ze surovin, a to ze sladu,

kontaminovaných kvasinek, vody, ze vzduchu, při nedostatečné sanitaci z varných a skladovacích nádob, dále v průběhu stáčení či nevhodného skladování. (Gomes a kol. 2018, Karasu 2014, Sagdic a kol. 2014, Štulíková a kol. 2020)

Náchylnost piva ke kontaminaci se liší podle druhu a technologie, nicméně obvykle se jedná o piva, která nejsou dostatečně kyselá, s nízkým obsahem ethanolu, mají nízkou saturaci CO₂ a byl do nich přidán cukr. V případě prevence proti rozvoji nežádoucí mikroflóry bývá pivo ošetřeno sterilací nebo pasterací. Jedná se o tepelné zákroky, které mají za následek umrtvení mikroorganismů, změnu barvy, chuti a ztrátu bioaktivních sloučenin. (Bokulich a Bamforth 2013)

V posledních letech se objevil trend využití jiných způsobů, jak konzervovat pivo. Jedná se o netepelné technologie, jakými jsou vysokotlaké zpracování, pulzní elektrické pole, ultrazvuk a aplikace antimikrobních látek. Dále lze pivo ošetřit aplikací rostlinných extraktů nebo olejů, které díky rostlinnému původu obsahují antioxidanty a antimikrobní látky. Další výhodou použití rostlinných extraktů je, že je lze zároveň aplikovat jako dochucovací složku piva. Antimikrobní činidla musí mít široké spektrum použití, a hlavně musí být pro konzumenta bezpečné, tedy schválené Evropským úřadem pro bezpečnost potravin. (Gomes a kol. 2018, Kochláňová a kol. 2016, Liptáková a kol. 2017, Milani a kol. 2016, Paradh 2015, Štulíková a kol. 2020)

Dalším způsobem, jak provést biokonzervaci piva, je využití konkurenčních mikroorganismů nebo jejich metabolitů, které inhibují růst nežádoucí mikroflóry. Termostabilní peptid nisin, který produkuje *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* je účinná antimikrobní látka proti kontaminaci piva bakteriemi mléčného kvašení. Antimikrobní látky z bakterií, tzv. bakteriociny jsou peptidy nebo proteiny přirozeně produkováné bakteriemi. Syntéza antimikrobních látek probíhá v ribozomech a následně jsou uvolňovány extracelulárně. Bakteriociny produkují grampozitivní bakterie (například *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*) a také gramnegativní bakterie (například *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*). Dle velkého výčtu mikroorganismů, které bakteriociny produkují, je pouze nisin jediným, který je schválený pro potravinářské využití – byl schválen na evropské úrovni Evropským úřadem pro bezpečnost potravin, na americké úrovni Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv a Světovou zdravotnickou organizací. (Kordialik-Bogacka 2022, Zhang a kol. 2020)

Použití nisinu v potravinách je nyní schváleno ve více jak 70 zemí světa. Dle nařízení ES 1333/2008 se jedná o přídatnou látku, která nese své označení E234. Dále může být přidáván

do mléčných výrobků (mléko, sýry), do majonéz, konzerv, masných výrobků a tapiokových pudinků. Tak jako všechny přídatné látky, i aplikace nisinu je omezená, jedná se o nejvyšší povolené množství v rozmezí 2,5 až 25 mg/l podle druhu potraviny. Aplikace v pivu není zatím legislativně povolena, nicméně je očekáváno povolení, neboť dle mnohých studií aplikace nisinu do piva se jedná o pozitivní konzervační zákrok, který je účinný proti více než 90 % grampozitivních bakterií, které mohou způsobit kontaminaci piva. Dle analýz bylo zjištěno, že po aplikaci nisinu není nijak ovlivněna aktivita pivovarských kvasinek a naopak, je velmi odolný vůči podmínkám v pivu (vysoká saturace CO₂, nízká hodnota pH, nízké teploty v průběhu skladování). (Müller-Auffermann a kol. 2015, Nyhan a kol. 2021, Zhang a kol. 2020,)

Dále některé kmeny kvasinek (tzv. „*killer yeast*“) produkují jako metabolit extracelulární toxin zymocin, který je smrtelný pro citlivé divoké kvasinky. Jedná se o polypeptidy, které usmrcují divoké kvasinky kontaminující pivo. Jejich využití v pivovarské praxi však není podporováno, neboť by mohly usmrtit i kulturní druhy kvasinek, případně různorodou mikroflóru, která se na fermentaci piva úmyslně podílí. (Marquina a kol. 2002)

Dále lze uvést lysozym. Jedná se o enzym s antimikrobními účinky. Lysozym je schopen hydrolyzovat chemické vazby v peptidoglykanu, který se nachází v buněčných stěnách prokaryot a bakterií. Lysozym je přítomen v sekretech savců (mléko, sliny, slzy) a ve vaječném bílku – právě lysozym z vaječného bílku se využívá průmyslově, neboť je z vajec snadno extrahován. Jedná se o přírodní produkt, tudíž je využíván v potravinářství i farmacii. Lysozym účinně inhibuje růst bakterií mléčného kvašení, v koncentraci 100 mg/l inhibuje v pivu grampozitivní bakterie, nicméně neinhibuje růst gramnegativních bakterií a divokých kvasinek. Dle evropské legislativy nese lysozym označení E1105 a je povolen pro aplikaci do tepelně neošetřených piv. Dále, protože je lysozym původně z vaječných bílků, které mohou být pro část populace alergenem, je nutné tuto skutečnost deklarovat na etiketě. (Alhazmi a kol. 2014, Leśniewski a kol 2012, *Narižení Evropského parlamentu a Rady (ES) 1169/2011*)

3.5 Moderní trendy výroby mladiny

Chmelovar za atmosférických podmínek je velice ekonomicky náročný děj, neboť dochází k vysokému odparu vody (až 10 % (w/w)) a vařená sladina s chmelem má vysoké výparné teplo dosahující hodnoty až 2257 kJ/kg při varné teplotě 100 °C. Toto je hlavní důvod, proč se pivovary snaží již několik let vyvinout systém, který by napomáhal snížit energetickou

náročnost chodu pivovaru. Již dříve pivovary využívaly brýdové páry k rekuperaci tepla. V současné době se pivovary nachází jinou techniku chmelovaru, aby byl odpar vody co nejmenší a zároveň nebyla negativně změněna chuť finálního výrobku. Z těchto důvodů byly vyvinuty systémy pro chmelovar s interními a externími vařáky, systémy pro umožnění vysokotlakého a nízkotlakého varu. (Brennan 2006)

Dle výzkumu Mikyška a Slabý (2015) byl proveden experiment na várkách o objemu 150 až 300 litrů, a to za podmínek nízkého tlaku (0,015 MPa v uzavřeném systému), dynamického nízkého tlaku (0,015 MPa s postupným poklesem a zvyšováním tlaku). Tyto podmínky byly porovnány s chmelovarem vedeným za atmosférického tlaku. Nejdříve byly provedeny analýzy chmelových produktů a sladu, aby bylo zajištěno, že suroviny mají shodné vlastnosti. Všechny várky byly chmeleny třikrát shodným množstvím chmele. Po chmelovaru, fermentaci a ležení byly provedeny fyzikálně-chemické a sensorické analýzy zaměřeny na: dosažitelné prokvašení, anthokyanogeny, flavanoidy, celkové polyfenoly, hořkost, α -kyseliny, iso- α -kyseliny, trans-iso- α -kyseliny a poměr cis- a trans- kyselin. (Mikyška a Slabý. 2015)

Z výsledků hodnocení mladiny vyplynulo, že chmelovar za atmosférických podmínek měl 8% (w/w) odpar vody, v porovnání s nízkotlakým dynamickým chmelovarem, který měl odpar pouze 5% (w/w). Odpar při nízkotlakém chmelovaru v uzavřeném systému byl zanedbatelný. Obsah hořkých látek byl v obou případech nízkotlakého chmelovaru totožný, oproti atmosférickému chmelovaru, jehož hodnota byla o 5,7 % (w/w) nižší. Obsah iso- α -kyseliny byl stanoven pro všechny vzorky plynovou chromatografií, přičemž hodnoty pro obě formy nízkotlakého chmelovaru byly vyšší o 4,4 % (w/w) v porovnání s atmosférickým chmelovarem. Při chemické analýze piva bylo zjištěno, že barvu mají všechny vzorky téměř totožnou, to samé platí i pro hořkost. Obsah iso- α -kyselin v pivu měl klesající trend. Nejvyšší hodnoty iso- α -kyselin měl vzorek vedený za nízkého tlaku, po něm vzorek vedený za dynamického nízkého tlaku, nejnižší obsah iso- α -kyselin vykazoval vzorek připravený za atmosférického tlaku. Dále, z energetického hlediska, nízkotlaký var v uzavřeném systému ušetřil energii. Úspora nebyla malá, až 28 % oproti chmelovaru vedenému za atmosférického tlaku. Bohužel, v porovnání právě s atmosférickým chmelovarem nemělo toto pivo vhodné sensorické vlastnosti. Vykazovalo drsnou, trpkou a nepříjemně hořkou chuť. Sensorické hodnocení vzorků připravených za dynamického nízkého tlaku a atmosférického tlaku nejevily zásadní rozdíly, jednalo se o chuťově velmi podobné vzorky. Energetická úspora dynamického nízkotlakého chmelovaru oproti

atmosférickému byla 22 %, což se vzhledem k výše uvedeným vhodným sensorickým vlastnostem, jeví jako vhodná metoda pro další zkoumání a aplikaci do reálného provozu. (Mikyška a Slabý 2015)

Další alternativou úspory energie je možnost vysokoteplotního chmelovaru při teplotním rozmezí 130 až 140 °C po dobu pěti minut výdrže varu. Sladina byla zahřata ve třech krocích, a to na teplotu 87 ± 1 °C, poté na teplotu 107 ± 1 °C. Následuje poslední záhřev na teplotní rozmezí 130 až 140 °C. Odpar vody byl vyhodnocen na 6 až 8 % (w/w). Pro první dvě fáze záhřevu byla využita pára, která byla rekuperována v zásobnících. Díky tomu byla zajištěna energetická úspora, a to jak v čase chmelovaru, tak i rekuperací vzniklých par. Dle Narziss a kol. (1991) bylo provedeno srovnání vysokoteplotního chmelovaru za teploty 130 °C s dobou výdrže tři minuty a chmelovar s teplotou 140 °C s dobou výdrže dvě minuty. Z experimentu vyplynulo, že standardní pivovarská varna své doby nebyla konstruována na použití výrazně vyšších teplot, než jsou běžné, tudíž v mladině vznikaly produkty Maillardových reakcí a mladina se připalovala na stěnách varné nádoby. (Brennan 2006, Narziss a kol. 1991)

Dále byl zkoumán chmelovar za použití mikrovln. Ty byly vyrobeny v samostatném generátoru a vedeny do mladinové pánve systémem tzv. aplikátorů. Při této metodě byl obsah mladinové pánve rovnoměrně zahříván a nedocházelo tak k připalování mladiny na stěnách nádoby. Dle Meilgaard (2012) byl proveden experiment s objemem mladiny 5 hektolitřů. Pro porovnání byl proveden chmelovar vedený za atmosférického tlaku. Z výsledků plyne, že mikrovlnný chmelovar bylo možné zkrátit na dobu 45 minut. Sensoricky byla vůně obou vzorků srovnatelná, nicméně chuť byla hodnocena lépe u piva vyráběného za atmosférického tlaku. Tento experiment lze hodnotit tak, že se nejednalo o vhodnou inovaci chmelovaru, jak ze sensorického hlediska finálního výrobku, tak také z finančního hlediska pořízení vyvíječe mikrovlnného záření. (Meilgaard 2012)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 MATERIÁL A METODIKA

Pro praktickou část této diplomové práce byly připraveny vzorky piva, které se od sebe lišily metodou a dobou provedení chmelovaru. Jedna série vzorků byla připravena v autoklávu za přetlaku 0,34 MPa, dílčí vzorky se od sebe lišily dobou, po kterou u nich byla vedena fáze výdrže varu, tj. po dobu 30, 45, 60 a 90 minut. Pro porovnání získaných hodnot byly připraveny vzorky, u kterých byl chmelovar proveden za atmosférického tlaku po dobu výdrže varu 90 minut. Jednalo se o vzorek připravený na laboratorní varně a vzorek připravený ve vodní lázni. Všechny vzorky byly připraveny v jeden den.

Po chmelovaru následovalo u všech vzorků ochlazení. V autoklávu proběhla automaticky fáze chlazení, vzorky připravené za atmosférického tlaku byly ochlazeny ve vodní lázni. Po ochlazení byly odstraněny zbytky chmelových kalů filtrací přes textilní filtrační podložku. Ochlazené a zfiltrované vzorky byly uloženy do chladicího boxu při konstantní teplotě a analyzovány následující den.

Následně byly vzorky analyzovány na následující: stanovení hustoty, měření refraktometrické sušiny, měření hodnoty pH, stanovení barvy a měření rozpustných částic. Po zaočkování mladiny kvasinkami, kvašení a ležení piva byly provedeny další analýzy piva: měření hodnoty pH, refraktometrické sušiny, stanovení hustoty, měření rozpustných částic, stanovení množství ethanolu, měření velikosti částic, zdánlivé a skutečné prokvašení, zdánlivý a skutečný obsah extraktu, stanovení hořkosti, reologická a závěrem senzorická analýza.

4.1 Suroviny potřebné pro výrobu vzorků

- Slad plzeňský, hvozďený slad; výrobce Sladovny Soufflet a.s., Prostějov, Česká republika.
- Chmel Žatecký poloraný červenák; výrobce Bohemia Hop Co., Ltd., Žatec, Česká republika.
- Pivovarské kvasnice SafAle US-05 American Dry Ale Yeas; výrobce Fermentis, F9703 Marcq-en-Barceaul cedex, France; číslo šarže: 73009 1617 30B.
- Pitná voda z vodovodního řádu; dodavatel Vodovody a kanalizace Zlín, a.s.

4.2 Výroba vzorků

Výroba vzorků zahrnovala několik po sobě jdoucích kroků, počínajících šrotováním sladu, výrobou sladiny, výrobou mladiny, chlazením, zaočkováním, hlavním kvašením a konče ležením. V prvním kroku bylo potřeba rozluštit slad, tzv. našrotovat, aby bylo možné ze sladu extrahovat ve vodě rozpustné látky a také přes optimální velikost pluch sladiny scedit. Ve druhém kroku bylo přidáno 35 litrů vody na cca 10 kg sladového šrotu do vystírací kádě. Voda byla předem zahřata na teplotu 38 ± 1 °C. Po rozmíchání byl celkový objem díla upraven na objem 45 litrů. Poté následovalo rmutování na rmutovací pánvi, kam bylo přepuštěno 23 litrů vystírky. Zde bylo potřeba zvýšit teplotu postupně o 1 °C za jednu minutu. Po záhřevu teplota dosáhla hodnoty 63 ± 1 °C, což byla nižší cukrotvorná teplota. Následovala časová prodleva 15 minut. Dále následoval další přídavek vody (cca 1/3 původního množství) tak, aby teplota na rmutovací pánvi poklesla na teplotu 55 ± 1 °C. Po tomto přídavku bylo potřeba zvýšit teplotu rmutu na tzv. vyšší cukrotvornou teplotu, jejíž hodnota jest 72 ± 1 °C. Tato teplota sloužila ke zcukření sladu neboli nejvyšší extrakci sacharidů a dalších ve vodě rozpustných látek do roztoku (tj. sladiny). Než bylo přikročeno k dalším krokům, byla provedena jodová zkouška. Ta spočívala v kápnutí malého vzorku sladiny na bílou destičku. K tomuto malému množství bylo přidáno stejné množství Lugolova roztoku (*výrobce MACH CHEMIKÁLIE spol. s.r.o., 711 00 Ostrava-Hrušov; složení: I_2 o koncentraci $<0,5$ % (w/w), KI o koncentraci <1 % (w/w), H_2O o koncentraci cca 98,5 % (w/w)*). Jodová zkouška sloužila jako indikátor správného průběhu enzymatických reakcí, při kterých byly rozloženy polysacharidy na jednodušší látky. Pakliže vzorek po kápnutí Lugolovým roztokem měl hnědou barvu (barvou právě podobnou sladinně), reakce proběhly řádně a bylo možné přikročit k dalším krokům. Pokud byl vzorek po aplikaci Lugolova roztoku zbarvený modře, reakce neproběhly a bylo tedy potřeba pokračovat ve rmutování a jodovou zkoušku opakovat. V případě pozitivního výsledku provedené jodové zkoušky (řádného enzymatického rozkladu) bylo možné přistoupit k dalším úkonům. Po povaření byl rmut načerpán do vystírací kádě, kde bylo potřeba udržet teplotu do 65 ± 1 °C, následovanou promícháním a přečerpáním 1/3 sladiny opět do rmutovací pánve, kde probíhal záhřev na teplotu 75 ± 1 °C. Následovalo opětovné provedení jodové zkoušky a za 15minutového varu byly obě části várky přečerpány do scezovací kádě.

Následovalo scezování. Zde se projevilo, jak kvalitně byl slad našrotován. Nejdříve se mláto muselo podrazit neboli obsah sladiny, který byl pod mlátem, byl přečerpán nad něj tak, aby

mláto sedimentovalo a vytvořilo filtrační vrstvu. Následovala fáze výstřelků, kdy bylo mláto, které bylo na dně nádoby po částečném odpuštění sladiny, zaléváno z hlavic přehřátou vodou, aby se zabránilo vzniku ztrát hodnotných látek ze sladu. Mláto coby vedlejší produkt nebylo dále zpracováno a bylo využito na krmení zvířat.

Na výrobu sladiny navazovala výroba mladiny a s ní spojený chmelovar (viz Obrázek 1). Za atmosférických podmínek probíhal v mladinové pánvi a trval 90 minut. Chmelení bylo trojí, na všechny dávky byl použit Žatecký poloraný červeňák v podobě granulátu (T90). Příkladověk chmelu před zahájením chmelovaru (1/3), po 30 minutách varu přidána druhá dávka (2/3) a 10 minut před koncem chmelovaru přidána poslední část chmelových granulí (3/3) (*příprava vzorku M*). Následně byla mladina chlazená a vypadly chmelové kaly, které byly odstraněny pomocí textilní filtrační podložky.

Za podmínek vaření v autoklávu byla nalita sladina (jejíž výroba je popsána výše) do nádob z temperovaného skla o objemu jeden litr, utěsněných plastovým teplovzdušným uzávěrem. Chmelovar byl proveden v autoklávu za přetlaku 0,34 MPa po dobu fáze výdrže 30 (vzorek označený *Sm_30*), 45 (*Sm_45*), 60 (*Sm_60*) a 90 (*Sm_90*) minut. Chmelení bylo provedeno pouze jednou, a to jedním nasypáním 5 g chmele do várky o objemu jeden litr před počátkem záhřevu. Fáze ohřevu, výdrže a chlazení byla zaznamenána přes teplotní čidlo, které bylo vloženo uvnitř skleněné nádoby ve voděodolném pouzdře. Tyto vzorky měly chlazení nastaveno automaticky v programu autoklávu. Chmelové kaly sedimentovaly na dně skleněných nádob, odkud byly odstraněny přefiltrováním obsahu sklenic přes textilní filtrační podložku. Dalším krokem bylo vyjmutí tepelného čidla a data z chmelovaru byla nahrána do počítače.

Dále byl připraven vzorek (označen jako *Am_90*), jehož chmelovar byl proveden taktéž za atmosférického tlaku, nicméně postup byl mírně odlišný: připravená sladina (postup viz výše) byla nalita do nádob z temperovaného skla o objemu jeden litr, taktéž utěsněným z plastového teplovzdušného materiálu. Chmelení proběhlo jedno, a to 5 g chmele na objem jednoho litru sladiny. Chmelovar byl proveden za atmosférických podmínek při varu obsahu sklenic ve vodní lázni, jejíž teplota byla kontrolována teploměrem. Teplota uvnitř lahve byla zaznamenána teplotním čidlem uzavřeným ve voděodolném pouzdře.

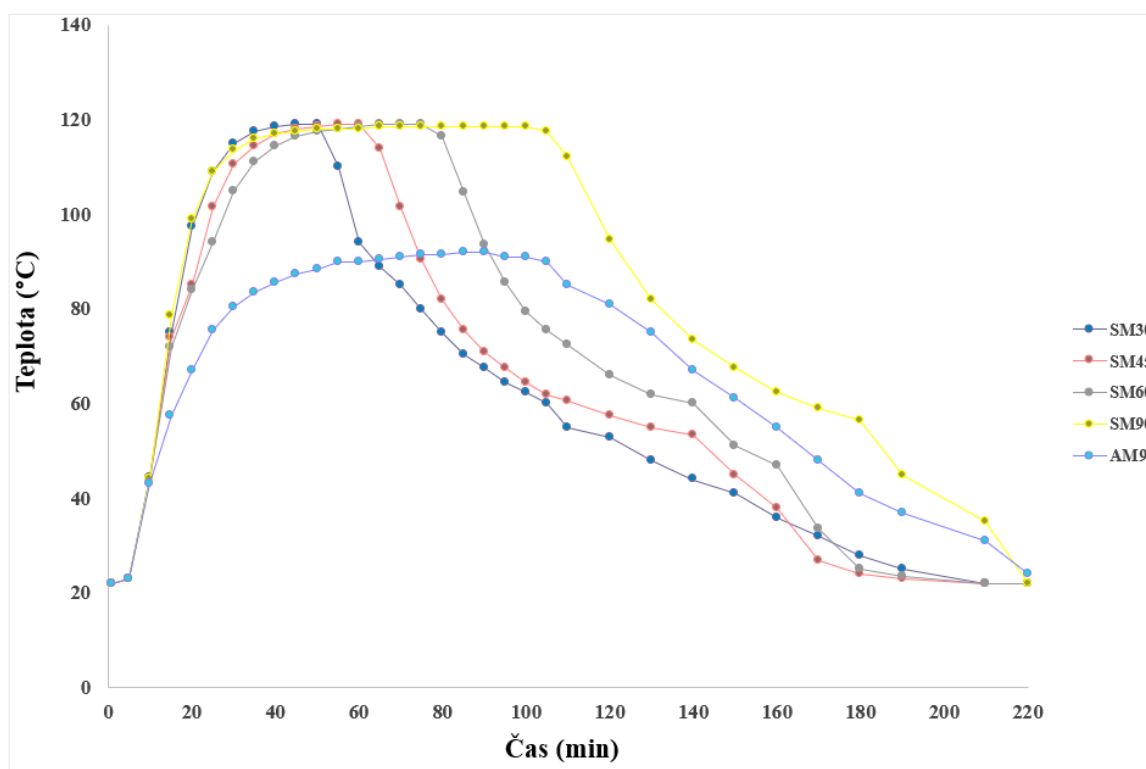
Následovalo rozdělení veškerých získaných vzorků mladiny ze skleněných nádob do dílčích, resp. dvou vzorkovnic o objemu 200 ml, uzavřených laboratorní kvasnou zátkou. Dle návodu uvedeném na obale pivovarských kvasnic bylo přidáno do 200 ml vychlazené mladiny 0,2 g kvasnic. Následovalo hlavní kvašení, které probíhalo ve vzorkovnicích za teploty 20 ± 1 °C

v termostatu po dobu sedmi dní. Po hlavním kvašení byly vzorky z termostatu vyjmuty, ochlazeny na teplotu 5 ± 1 °C a následně vloženy do chladicího boxu s konstantní teplotou 3 ± 1 °C. Zde probíhalo ležení po dobu deseti dnů. Po této době byly vzorky z chladicího boxu vyjmuty a temperovány na laboratorní teplotu 20 ± 1 °C.

Pro účely analýz bylo vždy odebráno malé množství mladiny i hotového piva do centrifugačních zkumavek (cca 45 ml/ jedna zkumavka, vzorky byly odebrány třikrát). Tyto malé vzorky byly odstředěny pomocí odstředivky Hettich EBA 200 (výrobce *Schoeller Instruments, s.r.o.*) při rychlosti 6000 otáček za minutu po dobu 20 minut za laboratorní teploty (20 ± 1 °C). Následovaly fyzikálně-chemické, reologické a senzorické analýzy.

4.2.1 Detailní průběh chmelovaru

Vzorky sladiny s aplikovaným totožným množstvím chmele a teplotním čidlem byly vloženy do autoklávu, kde probíhaly fáze záhřevu, výdrže a chlazení. Právě v čase výdrže působení tepla se vzorky lišily, jak lze vidět na Obrázku 1.



Obrázek 1 Grafické znázornění průběhů chmelovaru pro všechny připravené vzorky. Je zde patrná fáze růstu, výdrže a chlazení.

Jak již bylo zmíněno výše, v autoklávu byl připraven vzorek Sm_30, který byl vystaven působení tepla s výdrží 30 minut, vzorek Sm_45 po dobu 45 minut, vzorek Sm_60 po dobu 60 minut a vzorek Sm_90 po dobu 90 minut. Za atmosférických tlaků byly připraveny vzorky M (není na grafu vyznačen) a Am_90 se shodnou dobou výdrže 90 minut. Následovalo postupné chlazení, které způsobilo vypadávání chmelových kalů z roztoků a jejich sedimentace na dno skleněných lahví. Z obrázku lze vidět teplotní křivku s již výše zmíněnými fázemi, přičemž sledována byla zejména fáze výdrže působení varu. Počáteční teplota všech vzorků byla 20 ± 2 °C, následována zahřevem na teplotu chmelovaru, tj. na 120 °C a chlazením. Všechny vzorky, které byly připraveny v autoklávu, dosáhly požadované teploty varu. Byla zde zvolena teplota 120 °C, aby byl zajištěn průchod tepla celým obsahem skleněné lahve. Pro poměření efektivity chmelovaru v autoklávu byly do obrázku (viz Obrázek 1) vloženy údaje o chmelovaru probíhajícího ve skleněných nádobách za atmosférického tlaku. Vzorek měl na začátku experimentu taktéž teplotu 20 ± 2 °C; následoval chmelovar s dobou výdrže 90 minut při teplotě 90 °C.

4.3 Analýza vzorků

4.3.1 Analýza fyzikálně-chemická

Stanovení refraktometrické sušiny

Stanovení refraktometrické sušiny sloužilo jako indikace množství rozpustných sacharidů v roztoku. Pro tuto metodu bylo využito digitálního laboratorního refraktometru RSD 204 (výrobce *Hanna Instruments, Česká republika*). Toto zařízení pracovalo na bázi indexu lomu světla po aplikaci vzorku, přičemž získaná data byla ihned převedena na jednotu °Brix (%). Přepočítání mezi °Brix (%) a obsahem sacharózy (g) byl následující:

$$(1) \text{ °Brix (\%)} = 1 \text{ g sacharózy na } 100 \text{ g roztoku}$$

Před samotným měřením bylo potřeba přístroj kalibrovat destilovanou vodou, která byla aplikována na měřicí okulár. Po kalibraci následovala aplikace 2 ml vzorku, přičemž výsledek byl čitelný téměř okamžitě.

Stanovení hodnoty pH

Stanovení hodnoty pH bylo provedeno měřením potravinářským pH metrem HI 99161 (výrobce *Hanna Instruments, Česká republika*). Měření bylo provedeno pro každý vzorek celkem třikrát, kdy byla měřicí sonda vložena do různých míst centrifugační zkušební zkušavky. Byla

zaznamenána hodnota pH a teplota vzorků, které byly temperovány na laboratorní teplotu, tj. na 20 ± 2 °C.

Stanovení hustoty

Hustota byla stanovena jak pro mladinu, tak i pro finální vzorky pív. Toto měření bylo provedeno na hustoměru DMA 4500 (*Výrobce Anton Paar GmbH*). Nejdříve byla provedena dvakrát kalibrace přístroje destilovanou vodou, která byla nalita do odměrné zkumavky v přístroji, následovala kalibrace 10% (w/w) roztokem ethanolu (roztok byl připraven z *ethanolu absolutního p.a.*; výrobce *Penta s.r.o.*, číslo šarže: 2104230418; Praha 10, Česká republika). Následně proběhlo třikrát měření temperovaných vzorků na laboratorní teplotu 20 ± 1 °C.

Měření obsahu ethanolu a dalších dílčích výsledků

Obsah alkoholu byl měřen ve vzorcích pív po ležení. Toto měření bylo provedeno na přístroji *AlcoholizerPlus* (*Výrobce Anton Paar GmbH*). Nejdříve byla provedena dvakrát kalibrace přístroje destilovanou vodou, která byla nalita do odměrné zkumavky v přístroji, následovala kalibrace 10% (w/w) roztokem ethanolu (roztok byl připraven z *ethanolu absolutního p.a.*; výrobce *Penta s.r.o.*, číslo šarže: 2104230418; Praha 10, Česká republika). Poté bylo provedeno trojí měření vzorků, které byly temperovány na laboratorní teplotu, tj. na 20 ± 1 °C. Z těchto měření byly pomocí přístroje odečteny další hodnoty, a to: obsah alkoholu v % (w/w), skutečný stupeň fermentace % (w/w), zdánlivý stupeň fermentace % (w/w), extrakt původní mladiny (%), kalorie (kJ/100ml).

Měření hmotnosti vyprodukovaným CO₂

Dalším měřením bylo vážení, které probíhalo pro vzorky nezkvašené mladiny a po jejím vykvašení a ležení. Váženy byly vzorkovnice bez kvasné zátky, pouze s obsahem uvnitř, a to na analytických vahách Kern PLJ (*výrobce UNIPRO-APLHA c.s., spol. s.r.o.*; odchylka vážení $\pm 0,001$ g). Vzorky byly před měřením temperovány na laboratorní teplotu 20 ± 1 °C. Pro výpočet byl použito následující znalosti Ballingova vzorce: (Šavel, Košin a Brož 2015, upraveno):

$$(2) CO_2 = \frac{0,9565 \text{ g } CO_2 \times x \text{ g extraktu}}{2,0665 \text{ g extraktu}}$$

Kde:

x ... vypočtená hodnota extraktu z alkoholyzéru (g)

Stanovení celkových rozpuštěných látek

Stanovení celkových rozpuštěných látek (neboli TDS = *Total Dissolved Solids*) v roztoku bylo provedeno jak v mladině, tak i piva, pomocí přístroje TDS CyberCsan CON 10 (výrobce *Eutech Instruments Ltd.*). Měření bylo pro každý vzorek zopakováno třikrát, kdy byla měřicí sonda ponořena do různých míst centrifugační zkumavky, následně byla hodnota ustálena a výsledek odečten. Přístroj zaznamenával rozpuštěné látky v jednotkách g/l neboli ppt (*part per thousand*), kdy 1000 ppm = 1 ppt. Před samotným měřením byly vzorky temperovány na laboratorní teplotu 20 ± 1 °C.

Stanovení hořkosti

Stanovení hořkosti piva bylo provedeno dle normy *EBC Analytica – 9.8 Bitterness of Beer (IM) – 2004* ve které byly definovány potřebné reagenty a přístroje pro samotné měření. Pro měření bylo z každé vzorkovnice odebráno 35 ml piva, následně k němu bylo přidáno 0,5 ml 6M HCl (roztok byl připraven z *kyseliny chlorovodíkové 35% p.a.*; výrobce *Penta s.r.o., Praha 10, Česká republika*), následoval přídavek 20 ml isooktanu (*2,2,4-trimethyl pentan*; výrobce *Penta s.r.o., Praha 10, Česká republika*). Centrifugační zkumavky byly nejdříve ručně protřepány, následovalo vložení do odstředivky Hettich EBA 200 (výrobce *Schoeller Instruments, s.r.o.*) při rychlosti 3000 otáček za minutu po dobu tří minut za laboratorní teploty (20 ± 1 °C). Vzorky byly vyjmuty s viditelně oddělenými fázemi, přičemž horní fáze byla odebrána pipetou a aplikována do kyvety. Do UV-VIS spektrofotometru UVmini-1240 Spectrophotometer (výrobce *Shimadzu Europe*) byla nejdříve vložena kyveta se slepým vzorkem (tj. isooktanem), pak byla vložena kyveta se vzorkem. Následovalo měření při vlnové délce 275 nm. Výsledky byly interpretovány až po přepočtu, kdy bylo odečteno jako výsledek nejbližší celé číslo.

$$(3) \text{ Bitterness Unit} = 50 \times A_{275}$$

Kde:

A_{275} ... Naměřená absorbance při vlnové délce 275 nm. (*EBC Analytica 2004*)

Stanovení barvy mladiny

Barva byla stanovena dle normy *EBC Analytica – 8.5 Colour of Wort: Spectrophotometric method (IM) – 2000*, ve které byl zapsán postup měření a vyhodnocení. Pro účely experimentu byly vzorky mladiny temperovány na laboratorní teplotu 20 ± 2 °C. Následovalo napipetování malého množství vzorků do kyvety. Do UV-VIS spektrofotometru UVmini-

1240 Spectrophotometer (výrobce Shimadzu Europe) byla nejdříve vložena kvjeta se slepým vzorkem (tj. destilovanou vodou), následovaly kvjety se vzorkem. Měření proběhlo pro každý vzorek třikrát za vlnové délky 430 nm. Hodnoty bylo možno interpretovat až po přepočtu:

$$(4) \text{ EBC Units} = A \times f \times 25$$

Kde:

A ... Naměřená absorbance při vlnové délce 430 nm

f ... Diluční faktor roven jedné (EBC Analytica 2000)

Měření velikosti částic

Velikost částic a funkce distribuce velikosti částic byly analyzovány technikou dynamického rozptylu světla na přístroji ZetaPlus (Výrobce Brookhaven Instruments Corp., USA). Následně byly nastaveny parametry: index lomu částic 1,400, index lomu rozpouštědla (vody) 1,2770. Dynamická viskozita rozpouštědla 2,04 mPa/s. Úhel měření činil 90 °, vlnová délka dopadajícího světla 658 nm, teplota činila 25 °C. Velikost jednotlivých částic byla uvedena jako objemově vážený střední průměr. Opakování bylo provedeno třikrát.

4.3.2 Analýza reologická

Reologická analýza byla provedena u vzorků piv třikrát, přičemž vzorky byly temperovány na laboratorní teplotu 20±1 °C. Měření bylo provedeno na reometru HAAKE RheoStress 1 (výrobce Thermo Electron Corporation; Karlsruhe, Germany).

Při reologické analýze bylo sledováno smykové napětí a viskozita vzorků. Zvolena geometrie válec – válec, přičemž průměr válce činil rozměr 34 mm, štěrbina uvnitř měla velikost 7,2 mm. Měření bylo nastaveno na dva cykly, nejdříve byl aplikován cyklus vzestupný (rozmezí od 0 do 100 s⁻¹) za 80 s, následně byl proveden sestupný cyklus (rozmezí od 0 do 100 s⁻¹) shodně provedený za 80 s. Dále byl aplikován model Ostwald de Waele, a to k popisu reologického chování zkoumaných vzorků. Tento model sloužil pro pseudoplastické a dilatantní látky, přičemž byl označen jako mocninový model neboli *Power Law*. K mocninovému modelu byla vztáhnuta následující rovnice:

$$(5) \tau = K \times \gamma^n$$

Kde:

τ ... Smykové napětí (Pa)

K ... Součinitel konzistence ($\text{Pa} \times \text{s}^{-1}$)

n ... Index tokového chování ($n > 1$ látka dilatantní; $n < 1$ látka pseudoplastická)(–)

γ ... Smyková rychlost (s^{-1}). (Reologické metody 2010)

4.3.3 Analýza senzorická

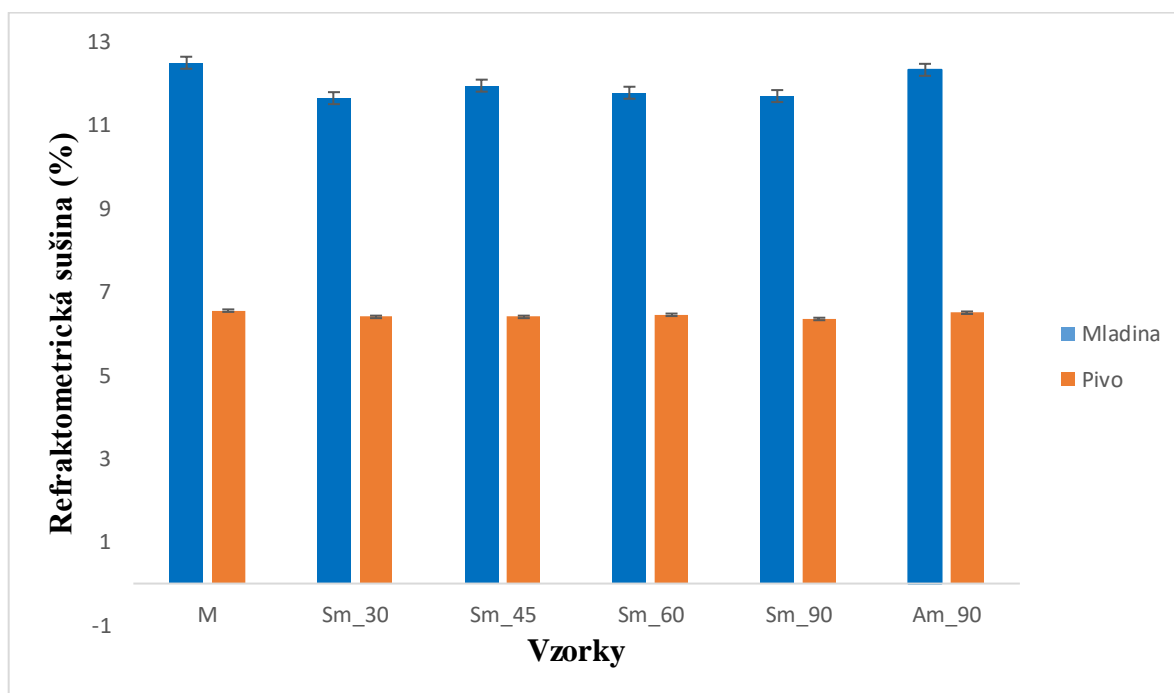
Senzorická analýza byla provedena za přítomnosti pěti posuzovatelů v senzorické laboratoři, která splňuje normu ČSN ISO 6658: Senzorická analýza – Metodologie – Všeobecné pokyny. Hodnotitelům byly jednotlivé vzorky pív předkládány v průhledných skleněných kádinkách s obsahem vychlazeným na běžnou konzumní teplotu, a to 8 ± 1 °C. Skupině posuzovatelů bylo předloženo 30 ml od každého vzorku, jako neutralizátor bylo zvoleno libovolné množství vody. (ČSN ISO 6658 (560050) Senzorická analýza - Metodologie - Všeobecné pokyny 2009)

Skupině posuzovatelů byl taktéž předložen tzv. degustační list, ve kterém měli hodnotit následující parametry dle pětibodové intenzitní stupnice: pachů (pouze rozpoznatelná – mírná – střední – více silná – velmi silná), saturaci CO_2 (pouze rozpoznatelná – mírná – střední – více silná – velmi silná), plnost (pouze rozpoznatelná – mírná – střední – více silná – velmi silná), hořkost (pouze rozpoznatelná – mírná – střední – více silná – velmi silná) a celkové hodnocení vzorků dle devítibodové hédonické stupnice: (mimořádně dobrý – velmi dobrý – dobrý – lepší než střední – střední – horší než střední – špatný – velmi špatný – mimořádně špatný). Do poznámky mohli hodnotitelé zapsat své další poznatky k předkládanému vzorku.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Refraktometrická sušina

Sacharidy obsaženy v pivu pocházely ze sladu, ze kterého byly extrahovány v průběhu výroby sladiny (viz výše) a vlivem enzymů štěpeny na tzv. zkvasitelné cukry neboli například maltózu, glukózu, fruktózu a maltotriózu. Pro jednotlivé vzorky mladiny i piva byla stanovena refraktometrická sušina – dále označena jako RS. (viz Obrázek 2)



Obrázek 2 Grafické znázornění stanovení refraktometrické sušiny v % (w/w) pro vybrané vzorky mladiny a piva. V grafu jsou průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.

Nejvyšší hodnota refraktometrické sušiny byla naměřena u vzorku mladiny připraveného na laboratorní varně (označený jako vzorek M), a to $12,50 \pm 0,01$ % (w/w). Následoval Am_90, což byl vzorek vařený ve skleněných lahvích za atmosférického tlaku, hodnota RS= $12,33 \pm 0,05$ % (w/w) – tedy nejvyšší hodnotu refraktometrické sušiny (% w/w) měly vzorky připravené za atmosférického tlaku.

Dále z výsledků plyne, že refraktometrická sušina byla vyšší u mladiny než u samotného piva. Mladina před fermentací měla vyšší podíl sacharidů než po ní, a to z důvodu fermentace (maltózy, maltotriózy a sacharózy na ethanol, oxidu uhličitého a organické kyseliny) kvasinkami. (Ferreira 2009) Hodnota refraktometrické sušiny se pohybovala

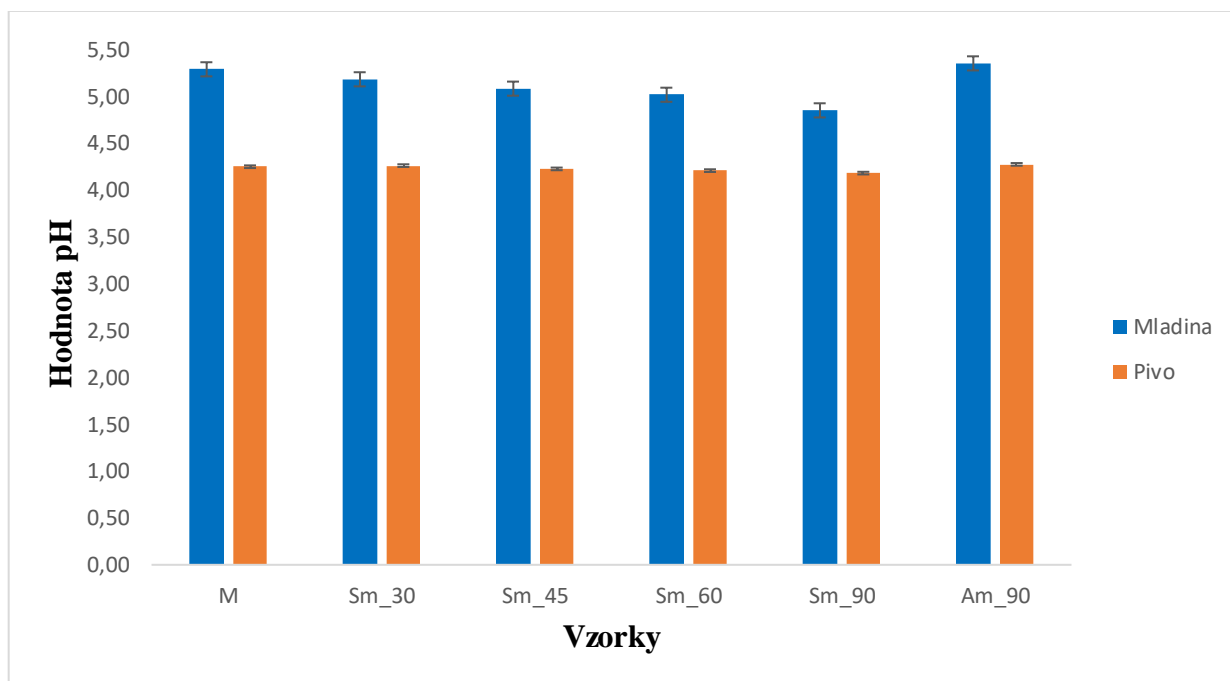
v rozmezí od hodnoty $11,70 \pm 0,05$ % (w/w) až do hodnoty $12,50 \pm 0,05$ % (w/w). Lze tedy konstatovat, že podmínky chmelovaru měly vliv na refraktometrickou sušinu % (w/w) mladiny.

Další měření refraktometrické sušiny proběhlo po fermentaci a ležení vzorků pív. Ze získaných hodnot bylo patrné, že u všech vzorků pív proběhla řádná fermentace, neboť obsah refraktometrické sušiny měl nižší hodnotu než u mladiny. Nejnižší hodnota refraktometrické sušiny byla zaznamenána u vzorku Sm_90, a to $RS=6,35 \pm 0,05$ % (w/w). Další hodnoty si byly podobné, než aby byl mezi nimi významný rozdíl.

Hodnota refraktometrické sušiny u hotového piva byla nižší, a to v rozmezí hodnot od $6,35 \pm 0,05$ % (w/w) až do $6,55 \pm 0,05$ % (w/w). V pivu byl zaznamenán obsah sacharidů. Jednalo se o rozmezí 3 do 61 g v jednom litru piva, obsah sacharidů v typickém ležáku byl do 10 g na jeden litr piva. Tyto hodnoty jsou specifické podle použitých surovin (zejména množstvím a typem sladu) a technologii (množství odparu vody, aktivita kvasinek). (Ferreira 2009)

5.2 Hodnota pH

Hodnoty pH byly měřeny u mladiny a následně po fermentaci (viz Obrázek 3). Před zaočkováním se hodnota pH pohybovala v rozmezí 4,85 až po hodnotu 5,35. Po fermentaci a ležení byly naměřeny hodnoty pH piva v rozmezí 4,18 až 4,28.



Obrázek 3: Grafické znázornění stanovení hodnoty pH pro vybrané vzorky mladiny a piva.

V grafu jsou průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.

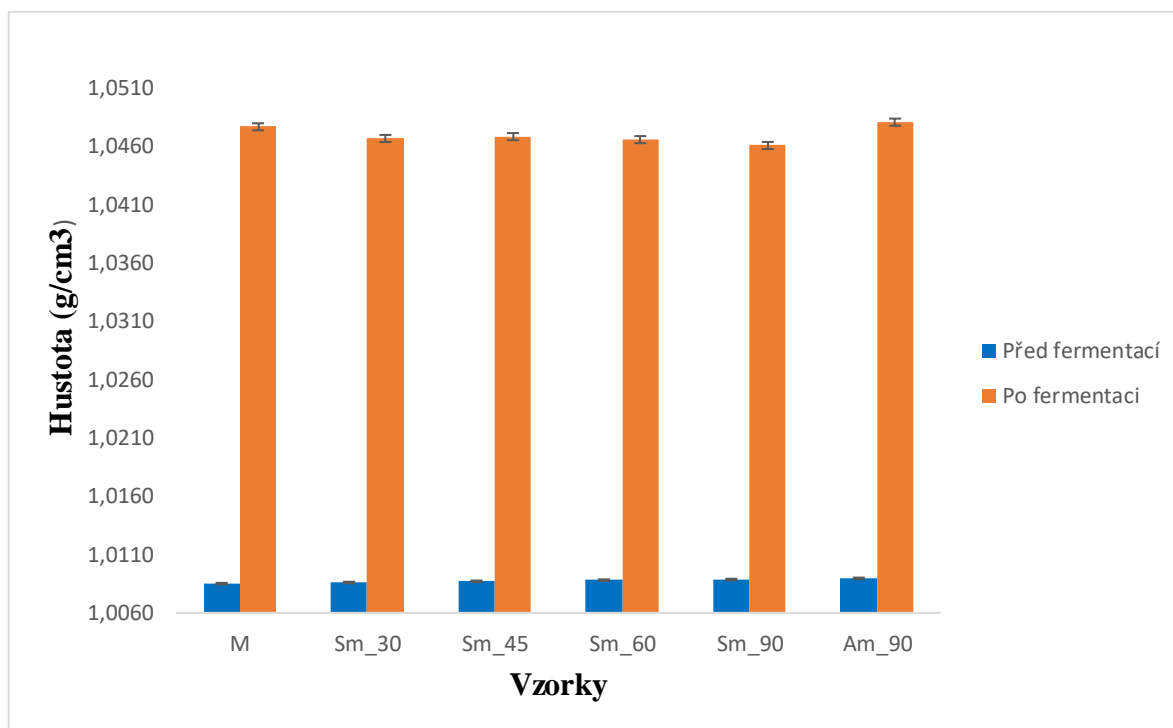
Co se hodnot pro mladinu před zaočkováním týče, nejvyšší pH vykazoval vzorek Am_90, a to konkrétně $\text{pH}=5,35\pm 0,01$, nejnižší hodnota byla naměřena pro vzorek Sm_90 s hodnotou $\text{pH}=4,85\pm 0,01$ (viz Obrázek 3). Nejnižší hodnotu pH po fermentaci vykazoval vzorek Sm_90, a to $\text{pH}=4,18\pm 0,01$. Nejvyšší hodnotu měl vzorek Am_90 s hodnotou $\text{pH}=4,28\pm 0,01$.

Literatura uvádí, že hodnota pH mladiny před zaočkováním kvasinkami se pohybovala v rozmezí 5,3 až 5,6. Pakliže měl rmut hodnotu pH v rozmezí 5,1 až 5,2, výsledný produkt se jevil jako chuťově stabilní díky zanedbatelné aktivitě lipooxygenáz. V průběhu fermentace se hodnota pH mladiny pohybovala v rozmezí hodnot 4,2 až 5,6 díky množství produkovaného CO_2 a dalších organických kyselin. Jednalo se o proměnlivý faktor, který ovlivnila mimo jiné doba fermentace a složení mladiny. V průběhu fermentace, a to druhý den bouřlivého kvašení, klesla hodnota pH na svoje minimum, tj. na hodnotu $\text{pH}=4,2$. Hodnota pH vyrobených piva po fermentaci a ležení se pohybovala v rozmezí hodnot 4,2 až

4,6. Jelikož byla obvyklá hodnota pH mladiny před zaočkováním v rozmezí 5,3 až 5,6, tak tento parametr byl dodržen u vzorku M: $\text{pH}=5,30\pm 0,01$ a také u vzorku Am_90, což byly vzorky, které byly připraveny za atmosférického tlaku. U ostatních vzorků byla hodnota pH nižší – nejnižší dokonce u vzorku Sm_90, kde bylo $\text{pH}=4,9\pm 0,01$. Tyto výsledky poukázaly na to, že vliv na hodnotu pH u mladiny měla doba chmelovaru v autoklávu. (Kunze 2019, Takashio a Shinotsuka 1998, Taylor 1990)

5.3 Stanovení hustoty

Bylo provedeno stanovení hustoty pro vzorky mladiny a piva. Jako slepý vzorek pro měřicí zařízení bylo použito destilované vody a 10% (w/w) roztoku ethanolu.



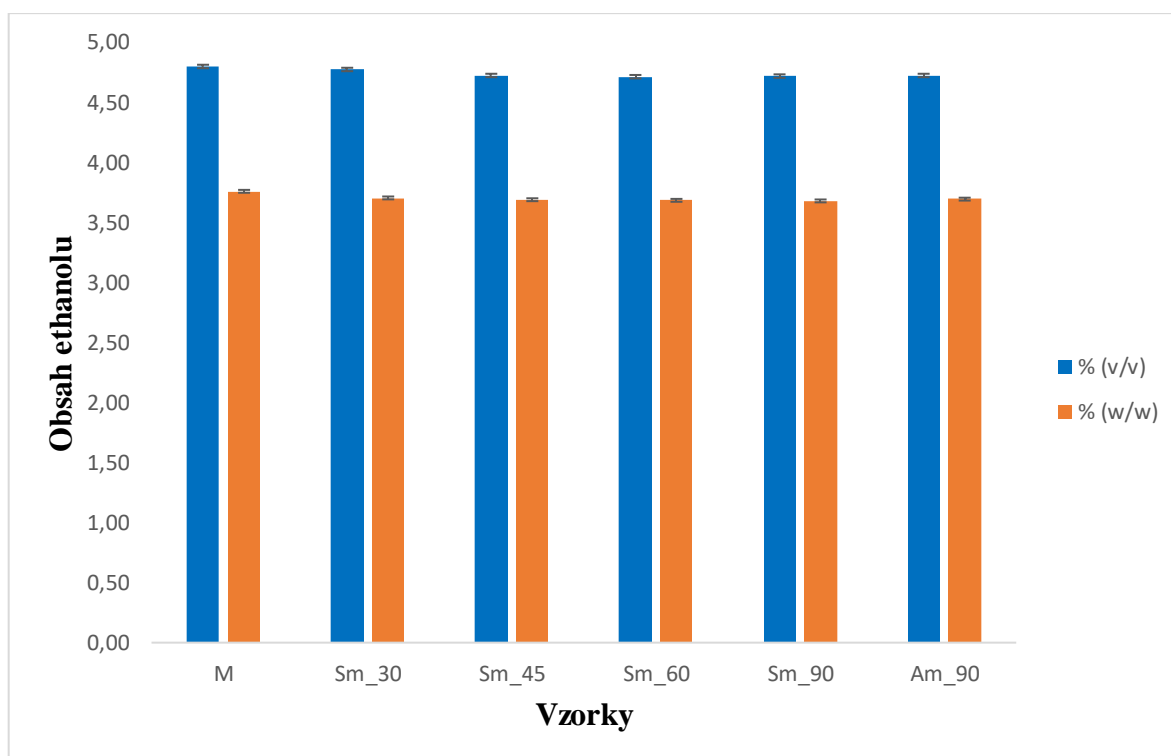
Obrázek 4: Grafické stanovení hustoty mladiny v (g/cm^3) před fermentací a po ní. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty se směrodatnou odchylkou, která je zaznačena jako chybová úsečka.

Hustota mladiny před a po fermentaci byla odlišná z toho důvodu, že po fermentaci byl v pivu jen nízký obsah sacharidů. Hustota mladiny před fermentací byla dle Hailu (2018) tabelována na hodnotu $1,048 \text{ (g}/\text{cm}^3)$, přičemž naměřené hodnoty (viz Obrázek 4) pro vzorky mladiny měly velmi úzké rozpětí. Nejnižší hodnota byla naměřena pro vzorek Sm_60, a to $1,047 \pm 0,01 \text{ (g}/\text{cm}^3)$. Z těchto výsledků je patrné, že vliv chmelovaru neměl na finální hustotu mladiny významný vliv. (Hailu 2018)

Dále hustota piva po fermentaci a ležení byla tabelována na hodnotu $1,008 \text{ (g}/\text{cm}^3)$. Výsledné hodnoty vzorků po fermentaci byly odlišné jen mírně, přičemž nejnižší hustota byla naměřena u vzorku M, konkrétně hodnota $1,0085 \pm 0,01 \text{ (g}/\text{cm}^3)$. Výše uvedená hustota piva po fermentaci $1,008 \text{ (g}/\text{cm}^3)$ byla pro všechny vzorky splněna. Vzorky se od sebe lišily jen nepatrně. Podmínky chmelovaru za atmosférického tlaku nebo v autoklávu tedy neměly na hustotu vliv. (Hailu 2018)

5.4 Obsah ethanolu

Vzorky byly hodnoceny na obsah ethanolu v % (v/v) a % (w/w). Dle výsledků (viz Obrázek 5) lze vidět, že obsah alkoholu pro jednotlivé vzorky si byl úzce podobný. Naměřené hodnoty pro obsah ethanolu v % (v/v) byly v rozmezí 4,72 až 4,80, obsah ethanolu v % (w/w) byl v rozmezí 3,68 až 3,76.



Obrázek 5: Grafické znázornění stanovení obsahu ethanolu v % (v/v) a % (w/w) po fermentaci vzorků. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.

Dle dostupných zdrojů aktivitu kvasinek a jejich metabolismus lze ovlivnit mnohými stresovými faktory, jako například: vysoká koncentrace iso- α -hořkých kyselin v koncentraci nad 0,5 g/l (staré kvasinky nemají aktivní mechanismy a jejich tolerance na hořké látky klesá), obsah tanoidů (nízkomolekulární a středně molekulární polyfenolické látky, jejichž obsah souvisí s obsahem bílkovinných zákalů, intenzitou hořkých látek), náhražky sladu (ovlivnění metabolismu), antimikrobní látky ze sladu (proteiny podobné thaumatinu způsobující inhibici metabolismu kvasinek), oxidativní stres (provzdušnění kvasinkové násady před počátkem fermentace), hodnota pH (pokles pH mladiny z hodnoty cca 5,5 na cca 4,0 způsobuje sníženou produkci dimethylsulfidu a zvýšenou produkci diacetylu).

(Castrejón a kol. 2002, LinthWaite a kol. 2021, van Nierop a kol. 2008, Verbelen a kol. 2009).

V průběhu standardní fermentace pivovarské kvasinky produkovaly řadu metabolitů, mezi nejvýznamnější lze zařadit právě ethanol. Komerční piva byla od sebe odlišná obsahem ethanolu, který byl dle Preedy (2011) tabelován na hodnotu 3 % (v/v) až 8 % (v/v) ethanolu v závislosti na druhu piva a pivním stylu. Ethanol v něm zvýrazňoval sladkou, hořkou, kyselou chuť. Zvýšená koncentrace ethanolu v pivu způsobovala snížení uvolnění těkavých látek. Dle Missbach a kol. (2017) panel hodnotitelů od sebe byl schopen rozeznat vzorky piva s obsahem alkoholu menším než 0,5 % (v/v), 3,4 % (v/v) a 5 % (v/v), přičemž vzorky s vyšším obsahem ethanolu byly sensoricky hodnoceny jako trpké, výrazně hořké až svíravé. (Missbach a kol. 2017, Preedy 2009).

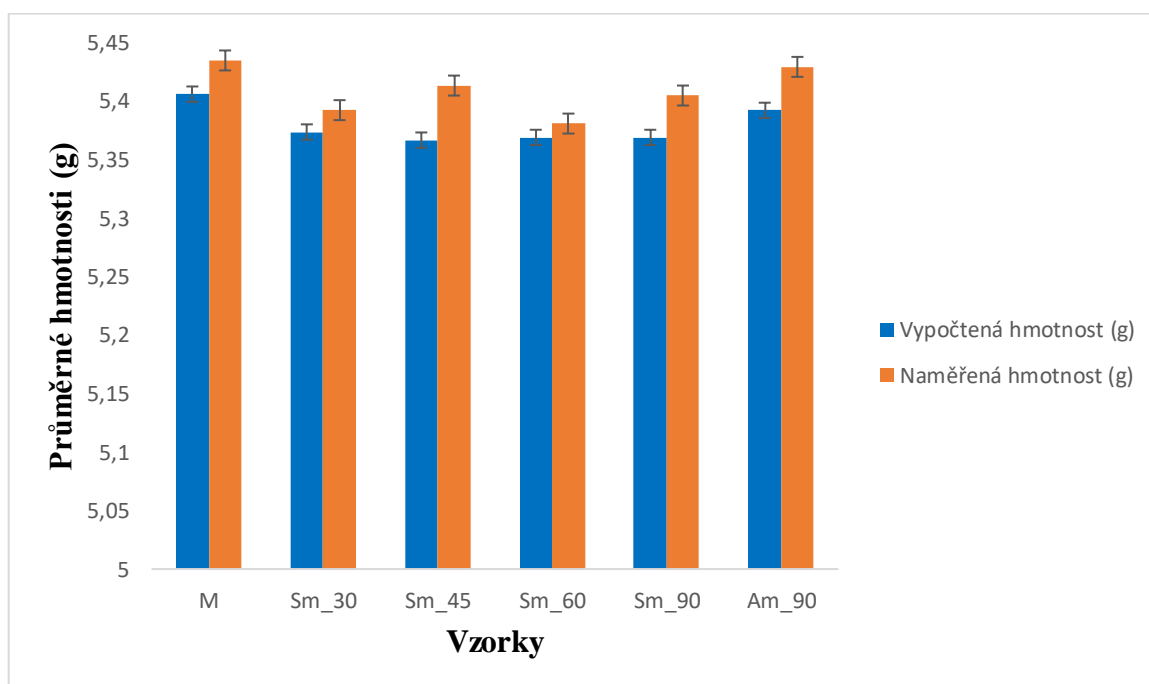
Získané hodnoty byly zprůměrovány a uvedeny se směrodatnou odchylkou. Hodnoty obsahu alkoholu v % (v/v) měly rozmezí hodnot od $4,70 \pm 0,01$ % (v/v), což byla zároveň i nejnižší hodnota naměřena pro vzorek Am_90, do nejvyšší hodnoty $4,80 \pm 0,01$ % (v/v) u vzorku M. Nejvyšší hodnota pro vzorek vedený v autoklávu činila $4,78 \pm 0,01$ % (v/v). Ostatní vzorky vedené v autoklávu měly hodnotu shodně $4,72 \pm 0,01$ % (v/v) Z těchto výsledků lze vyvodit, že vliv na obsah ethanolu v % (v/v) měl pouze chmelovar vedený za atmosférického tlaku.

Dále byly získány průměrné hodnoty obsahu alkoholu v % (w/w), které byly uvedeny se směrodatnou odchylkou. Nejnižší získaná hodnota obsahu alkoholu v hmotnostních procentech byla jednoznačně pro vzorky s vedeným chmelovarem v autoklávu po dobu 45, 60 a 90 minut. Tyto vzorky měly shodnou hodnotu $3,69 \pm 0,01$ % (w/w). Vzorky vedené za atmosférického tlaku měly opět hodnotu vyšší, například vzorek M= $3,75 \pm 0,02$ % (w/w).

Z grafu a naměřených hodnot plynulo, že vliv chmelovaru v autoklávu měl na všechny vzorky vliv, a to ve sníženém obsahu alkoholu % (w/w) i % (v/v). Jednalo se zde o více faktorů, například vyšší podíl iso- α -hořkých kyselin, nízká hodnota pH mladiny, která sice neklesla pod hodnotu 4,0, ale byla na hranici hodnoty 4,2, nebo výše zmíněným obsahem tanoidů.

5.5 Měření hmotnosti vyprodukovaným CO₂

Byly zváženy vzorkovnice s mladinou, po fermentaci a ležení následovalo opětovné zvážení vzorkovnic, které ukázaly, že obsah měl menší hmotnost než před fermentací (viz Obrázek 6). Pro výpočet získaného CO₂ bylo použito Ballingova vzorce, do kterého byla dosazena jako konstanta 0,9565 g CO₂, který vznikl fermentací, další položkou ve vzorci byla hodnota 2,0665 g extraktu, pro úplnost vzorce byla další hodnota získána na zařízení Alkoholyzéru, a to EPM.



Obrázek 6: Grafické znázornění změny hmotností vzorků (g) před a po jejich fermentaci. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.

Pro příklad bylo použito vzorku Sm_30, kde byla navážena hodnota $5,40 \pm 0,01$ (g). Vypočtená hodnota byla $5,38 \pm 0,01$ (g). Z těchto výsledků plyne, že hodnoty si byly příliš podobné, než aby mezi nimi byl významný rozdíl. Dále z hodnot plynulo, že způsob chmelovaru neměl významný vliv na rozvoj oxidu uhličitého v průběhu fermentace.

V laboratorních podmínkách byl průběh kvašení sledován úbytkem hmotností baněk s kvasící mladinou, neboť došlo k uvolnění velkého množství oxidu uhličitého. Pro bilanční stanovení byl předpoklad, že došlo při fermentaci k úbytku pouze CO₂. Jeho další část byla rozpuštěna v pivu. Pro analýzu vzorků byla potřeba znát hmotnosti prázdné baňky, hmotnost

baňky s mladinou před započítím fermentace, hmotnost kvasnic přidaných do mladiny, původní extrakt mladiny před fermentací. (Šavel a kol. 2015)

5.6 Stanovení celkových rozpuštěných látek

Dále byl stanoven obsah celkových rozpuštěných látek ve vzorcích před fermentací a po ní. Dle tabulky (viz Tabulka 1) byl patrný mírně rostoucí trend pro všechny vzorky, a to jak před, tak i po fermentaci. Tento mírně rostoucí trend naznačoval, že vliv podmínek chmelovaru mohl mít vliv na celkové rozpuštěné látky ve vzorku. Dále bylo patrné, že větší množství rozpuštěných látek ve vzorku bylo před samotnou fermentací. Byl to důsledek toho, že v průběhu fermentace nebylo se vzorky nijak manipulováno po delší dobu, proto došlo k sedimentaci částic na dno vzorkovnic. Před manipulací se vzorky byl jemně slit obsah vzorkovnice a sediment nebyl použit.

Tabulka 1: Tabulkové znázornění stanovení celkových rozpuštěných látek (ppt) před fermentací a po ní. V tabulce jsou zaznačeny výsledky se směrodatnou odchylkou.

	Před fermentací	Po fermentaci
Vzorek	Množství rozpuštěných látek (ppt)	
M	2,65±0,02	2,60±0,01
Sm_30	3,20±0,01	2,62±0,01
Sm_45	3,35±0,01	2,63±0,01
Sm_60	3,40±0,01	2,65±0,01
Sm_90	3,45±0,01	2,70±0,01
Am_90	2,70±0,01	2,80±0,01

Nejvyšší hodnotu před fermentací byla naměřena u vzorku Sm_90 s hodnotou 3,45±0,01 (ppt), po fermentaci činila hodnotu 2,70±0,01 (ppt). Nejmenší rozdíl byl patrný u vzorku Am_90, kde nedošlo k rapidní změně před (2,70±0,01 (ppt)), ani po (2,80 ± 0,01 (ppt)) fermentaci.

Z výsledku plyne, že množství rozpuštěných látek (ppt) mělo rostoucí trend v závislosti na délce chmelovaru, tedy, že podmínky chmelovaru v autoklávu měly vliv na celkové rozpuštěné látky ve vzorcích – čím déle byly podmínky intenzivnější (90 minut varu v autoklávu), tím větší množství částic bylo v roztoku naměřeno.

5.7 Velikost částic

Následná analýza se zabývala velikostí částic ve vzorcích. Měření proběhlo pro každý vzorek třikrát. Dílčí hodnoty byly získány v závislosti na objemu a na velikost částic (viz Tabulka 2). Po minutě měření software zaznamenal průměrnou velikost (nm) i se směrodatnou odchylkou.

Tabulka 2: Velikost částic vzorku v závislosti na objemu a jejich velikosti.

Vzorek	Závislost na objemu (nm)	Závislost na velikosti (nm)
M	3410,0±0,5	1360,10±0,01
Sm_30	907,00±0,01	312,0±0,1
Sm_45	998,0±0,5	330,5±0,1
Sm_60	887,55±0,01	263,5±0,5
Sm_90	561,00±0,01	266,5±0,5
Am_90	2650,0±0,1	1541,5±0,5

Dle výše uvedených hodnot bylo patrné, že vzorky, které byly připraveny za atmosférického tlaku, měly daleko vyšší hodnoty než ty z autoklávu. Pro porovnání lze uvést následující hodnoty: vzorek M, který byl připraven na laboratorní varně, měl hodnoty velikostí částic v závislosti na objemu 3410,0±0,5 (nm), v závislosti na velikosti 1360,10±0,01 (nm). Další vzorek, který byl připraven za atmosférického tlaku ve skleněných vzorkovnicích, a to Am_90: hodnoty v závislosti na objemu 2650,0±0,1 (nm), v závislosti na velikosti 1541,10±0,5 (nm). Vzorek Sm_90, u něhož proběhl chmelovar v autoklávu po dobu 90 minut, měl nejnižší hodnoty ze všech takto připravených vzorků, a to v závislosti na objemu 561,00±0,01 (nm), v závislosti na velikosti 266,5±0,5 (nm).

Výsledky lze zhodnotit s výsledky v Tabulce 1, ve které byl patrný rostoucí trend množství částic v roztoku. Zde byl klesající trend velikosti částic v roztoku. Tedy, čím více částic, tím byly menší. Podmínky chmelovaru po určitou dobu měly vliv na velikost částic, byl zde tedy patrný klesající trend. Při chmelovaru za atmosférického tlaku byly hodnoty daleko vyšší. Tyto výsledky vznikly tím, že v průběhu chmelovaru na varně docházelo ke kontinuálnímu míchání a pohybu se vzorky. Při vaření v autoklávu se vzorky nebylo manipulováno, a tak mohly kaly sedimentovat ještě před samotnou filtrací.

5.8 Ostatní získané hodnoty

Z Alkoholyzéro po analýze vzorků byly získány taktéž další následující hodnoty (viz Tabulka 3): E_r % (w/w) – skutečný extrakt, E_a % (w/w) – zdánlivý extrakt, RDF % (w/w) – skutečný stupeň fermentace, ADF % (w/w) – zdánlivý stupeň fermentace, a kalorie (kJ/100 ml). Ve výsledcích lze vidět průměrné hodnoty ze tří měření, včetně směrodatné odchylky.

Tabulka 3: Dílčí získané hodnoty z analýzy vzorků pív.

Vzorek	E_r % (w/w)	E_a % (w/w)	RDF % (w/w)	ADF % (w/w)	Kalorie (kJ/100 ml)
M	4,40±0,01	2,65±0,01	64,00±0,01	77,40±0,01	176,20±0,01
Sm_30	4,40±0,01	2,70±0,01	63,80±0,01	77,20±0,01	176,60±0,01
Sm_45	4,40±0,01	4,70±0,01	63,50±0,01	76,90±0,01	175,40±0,01
Sm_60	4,45±0,01	2,70±0,01	63,20±0,01	76,55±0,01	175,40±0,01
Sm_90	4,45±0,01	2,75±0,01	63,70±0,01	76,55±0,01	174,00±0,01
Am_90	4,50±0,01	2,70±0,01	63,10±0,01	76,30±0,01	174,20±0,01

Z výše uvedených výsledků bylo možné zhodnotit následující: skutečný a zdánlivý obsah extraktu (E_r a E_a) ve vzorcích měl mírně rostoucí trend, z čehož vyplynulo, že vliv podmínek chmelovaru měl jistý vliv na jeho obsah – čím déle probíhal chmelovar za intenzivnějších podmínek, tím vyšší množství extraktu obsahoval.

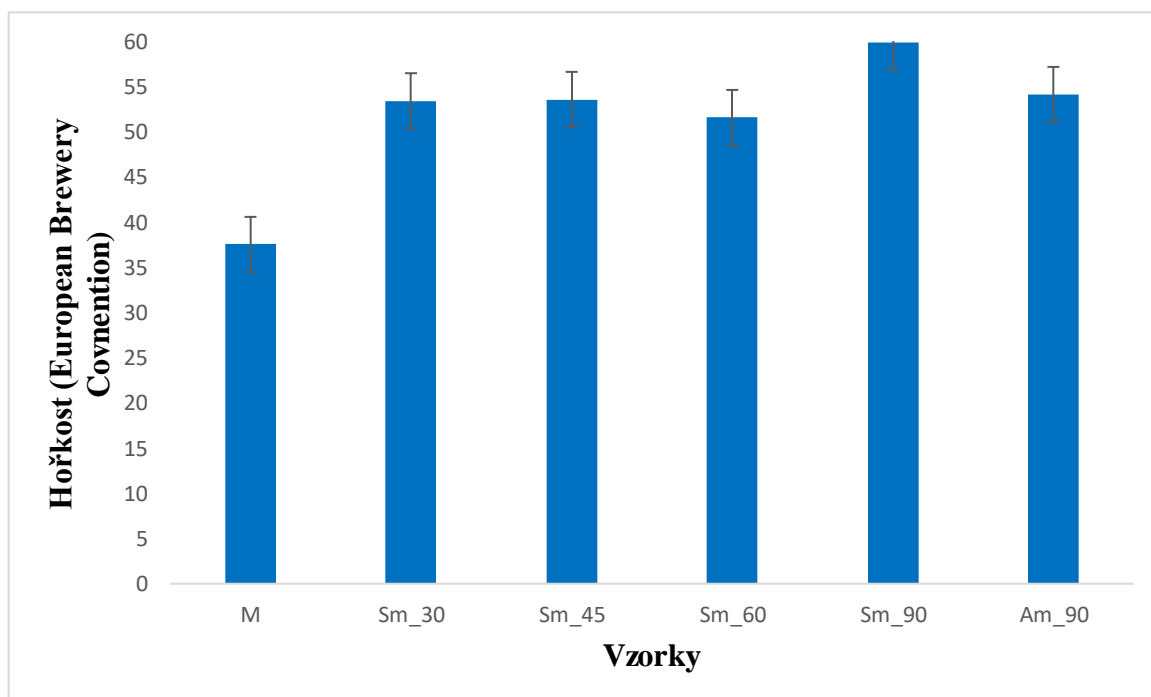
Zdánlivý stupeň fermentace (ADF) měl klesající charakter, skutečný stupeň fermentace měl taktéž klesající trend. Z výsledků bylo patrné, že stupeň fermentace byl tím nižší, čím déle na vzorky působily podmínky chmelovaru, tudíž vliv chmelovaru měl na tyto hodnoty vliv.

Co se týkalo hodnocení kalorické hodnoty, byl zde opět patrný klesající trend, a to, že nejnižší kalorickou hodnotu vykazuje vzorek Sm_90 a Am_90. Z těchto hodnot plyne, že vliv podmínek chmelovaru měl na tyto hodnoty vliv.

5.9 Stanovení hořkosti

Jednotky hořkosti (dále označovány jako EBC neboli *European Brewery Convention*) byly nadále dle metodiky interpretovány se zaokrouhlením na nejbližší celé číslo.

Byla stanovena hořkost u vzorků piv. Měření proběhlo třikrát pro každý vzorek. Z těchto výsledků vyplynulo, že nejvyšší hořkost byla naměřena u vzorku Sm_90, a to EBC = 60. Nejnižší naměřená hodnota EBC byla pro vzorek M, a to EBC = 38 (viz Obrázek 8).



Obrázek 7: Grafické znázornění stanovení hořkosti po fermentaci vzorků piv. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.

K hořké chuti piva největším podílem přispívají iso- α -hořké kyseliny. Jednotka hořkosti slouží jako analytické měřítko pro stanovení hořkosti miligramů iso- α -hořké kyseliny na jeden litr piva. Již odchylka koncentrace o 5 mg/l iso- α -hořké kyseliny je dle Barnes a kol. (2011) vnímána sensoricky hodnotiteli.

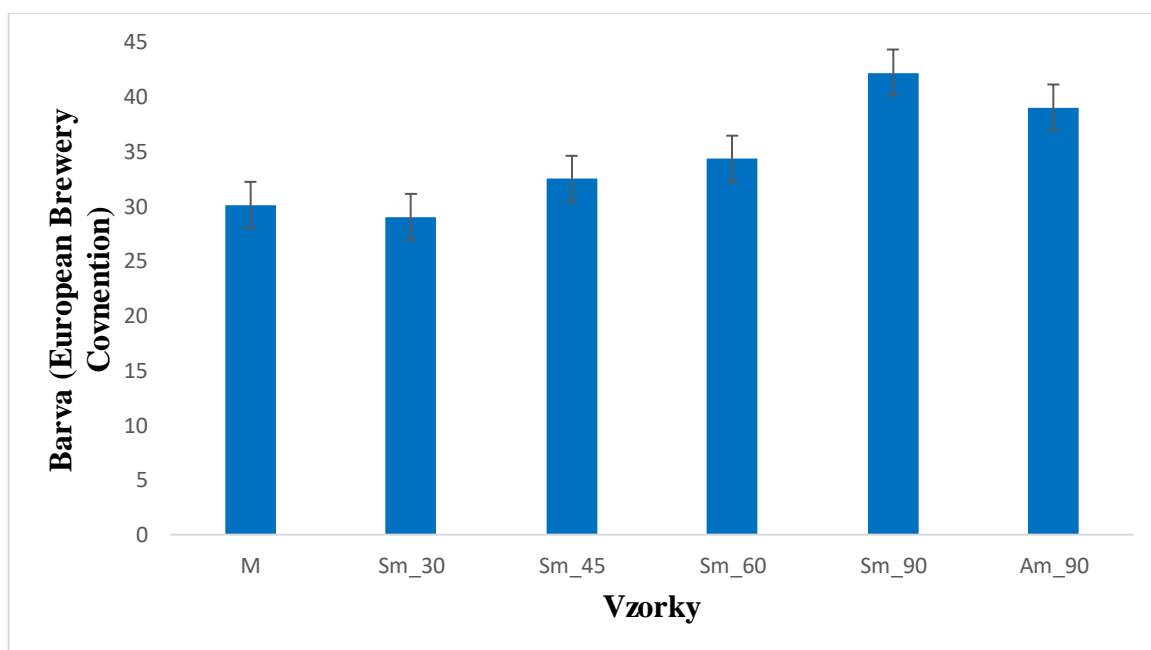
Z naměřených hodnot bylo možné vyčíst, že nejvyšší hořkost v přepočtu na jednotky EBC byla zjištěna u vzorku Sm_90, tedy toho, u kterého byl veden chmelovar v autoklávu po nejdélejší dobu. Běžná hodnota pro spodně kvašená piva byla udávána okolo 30 EBC. Nad hodnotu 42 se jedná o velmi hořké pivo. Běžné hodnotě EBC se blížil vzorek M (EBC = 38), ostatní piva měla hodnotu nad 50 EBC, tedy se jednalo o piva výrazně hořká, pakliže platil předpoklad, že jedna jednotka hořkosti je rovna 1 mg/l iso- α -hořké kyseliny. Pak bylo patrné, že došlo k vysoké izomeraci v průběhu chmelovaru. Z výsledků vyplynulo, že podmínky

chmelovaru měly významný vliv na izomeraci hořkých kyselin, která se ve výsledném produktu projevila jako silně hořká chuť. (Lachenmeier a kol. 2006)

5.10 Stanovení barvy mladiny

Jednotky barvy jednotek EBC bylo dále dle metodiky interpretovány se zaokrouhlením na celé číslo. Na obrázku (viz Obrázek 8) bylo patrné, jak tmavé barvy dosáhl finální vzorek.

Nejtmavší barvy dosáhl vzorek Sm_90, a to 42 jednotek EBC. Nejsvětlejší barvu vykazoval vzorek Sm_30, tedy ten, u kterého byl chmelovar veden pouze 30 minut.



Obrázek 8: Grafické znázornění stanovení barvy mladiny po fermentaci vzorků pív. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.

Významný vliv na barvu měl slad. Pakliže se jednalo o slad hvozděný (např. slad plzeňského typu), jeho barvicí schopnost byla vyjádřena jako 3 až 4 jednotky EBC. Dále byly k dispozici slady pražené, které díky pražení, resp. proběhlým Maillardovým reakcím, měly svou typickou barvu, kterou přenášely v průběhu varu do sladiny. Dále lze zmínit slad karamelový, který měl 20 až 40 jednotek EBC. Naproti tomu slad karamelový extra tmavý dosahoval hodnot 350 až 450 jednotek EBC. Taktéž byl k dispozici slad barvicí, který napomáhal barvit pivo, aniž by zbarvil výslednou pěnu, dosahoval hodnot 1 200 až 1 500 jednotek EBC, jeho využití v praxi nebylo ve velkém množství. (*Sladovny Soufflet ČR 2017*)

Barevné látky v průběhu chmelovaru vznikaly oxidací polyfenolů, Maillardovými reakcemi, karamelizací sacharidů. Rozvoj tmavší barvy mladiny podporovala vyšší teplota chmelovaru i nižší hodnoty pH mladiny. Barva mladiny se zvyšovala v průběhu chmelovaru o 1 až

1,5 jednotek EBC, v závislosti na použitých podmínkách a surovinách. (Basařová a kol. 2021)

Škála barvy piv byla obvykle v rozmezí od 0 do 60, nad 60 se jednalo o atypické pivní speciály, při kterých bylo použito barvicích a pražených sladů. EBC v rozmezí 0 až 15 byla pro světlá piva, do hodnoty 35 se jednalo o tmavá piva, nad hodnotu 36 se jednalo o barvu piva typickou pro pivní speciály. (Pieczonka a kol. 2021)

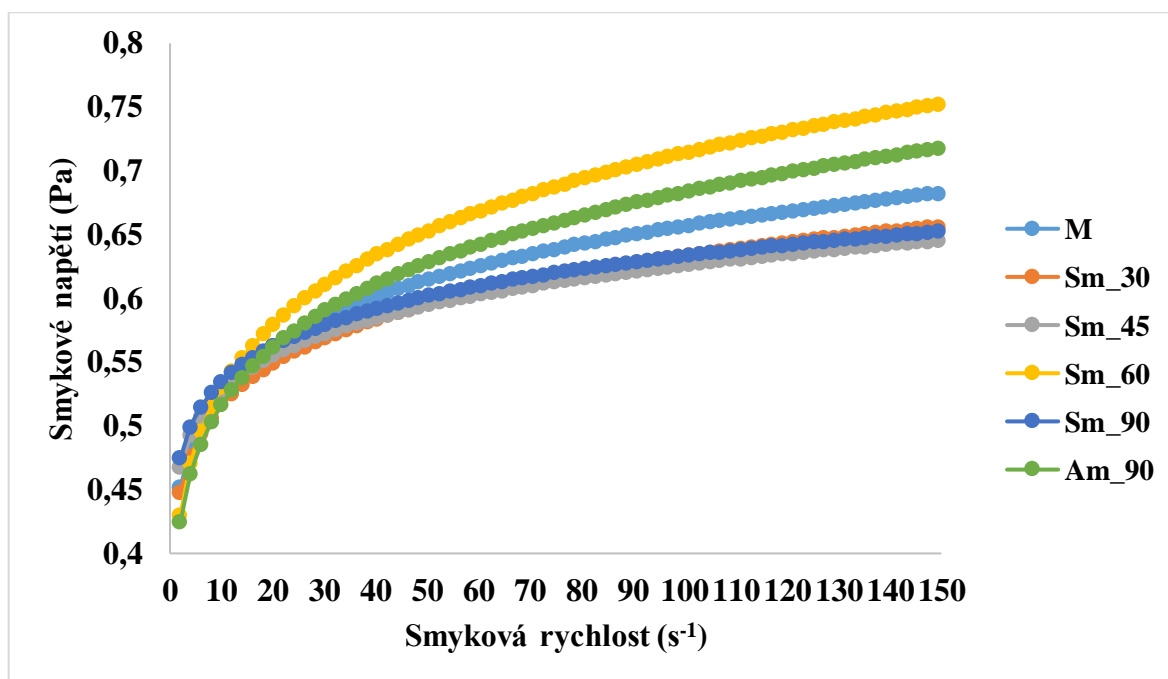
Z výsledných hodnot bylo patrné, že vliv podmínek chmelovaru měl vliv na výslednou barvu mladiny, a taktéž piv, neboť v průběhu varu došlo zejména k rozvoji produktů Maillardových reakcí, které měly za následek vznik tmavší barvy piva. Tedy, čím déle chmelovar probíhal, tím tmavší barvu má mladina i pivo. V tomto ohledu podmínky chmelovaru, zejména času, měly vliv na tmavou barvu mladiny.

5.11 Reologická analýza

Při reologické analýze byla zkoumána dynamická viskozita a smykové napětí. Získané hodnoty byly vloženy do grafu (viz Obrázek 9). Další získané hodnoty pro model Ostwald de Waele (viz Tabulka 4) byly: k – součinitel konzistence, n – index tokového chování, R^2 – koeficient determinace, z nichž je právě významná hodnota n . Dle jeho hodnoty látky bylo možné dělit následovně: je-li hodnota $n > 1$, jedná se o látku dilatantní; je-li hodnota $n < 1$, jedná se o látku pseudoplastickou (viz Obrázek 10).

Tabulka 4: Získané hodnoty k – součinitel konzistence, n – index tokového napětí, R^2 – koeficient determinace, pro všechny vzorky piv.

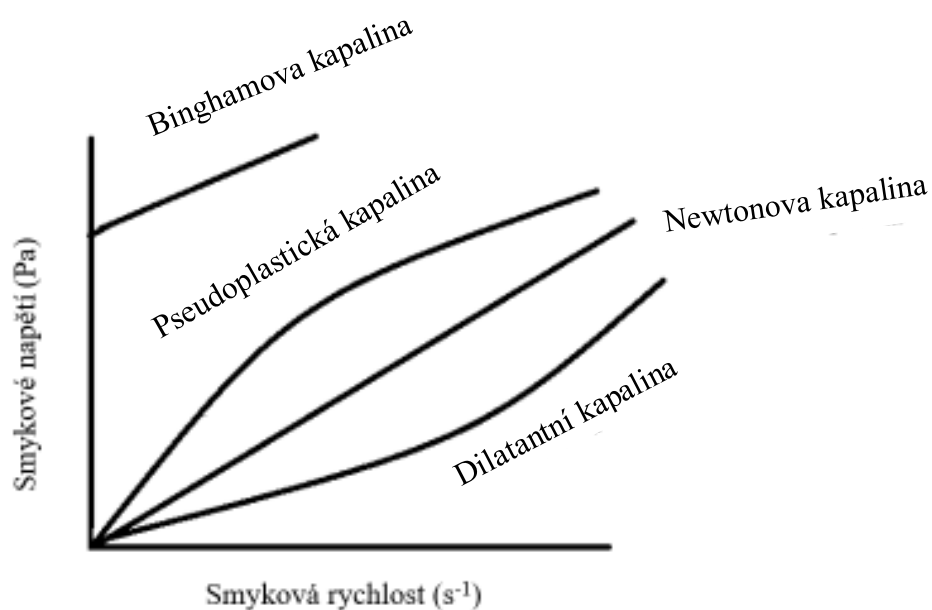
	M	Sm_30	Sm_45	Sm_60	Sm_90	Am_90
K	0,412	0,436	0,358	0,383	0,443	0,379
n	0,089	0,075	0,147	0,163	0,074	0,122
R^2	0,7516	0,6529	0,8798	0,7721	0,7878	0,8443



Obrázek 9: Grafické znázornění závislosti smykové rychlosti (s⁻¹) na smykovém napětí (Pa).

Byly získány reologické vlastnosti vzorků piv, které byly stanoveny pomocí reometru. Všechna měření proběhla třikrát pro jeden vzorek, vzorky byly temperovány na laboratorní teplotu 20±1 °C, až na vzorek Sm_60, který se nepodařilo dokonale vytemperovat a měl

nižší teplotu, tj. 18 ± 1 °C. Gradient smykové rychlosti byl změřen v rozmezí od hodnoty nula do hodnoty 150 s^{-1} .



Obrázek 10: Křivky tečení kapalin v závislosti na smykové rychlosti. (Valouchová a Růčka 2021, upraveno)

Dle experimentu Severa a kol. (2014) a Öztürk a kol. (2021) byla dynamická viskozita kapaliny ovlivněna mnoha faktory, jako například teplotou, chemickým složením, poměrem jednotlivých složek, hustotou kapaliny, velikostí částic v kapalině a jejich vzájemnými interakcemi. S rostoucí teplotou dynamická viskozita výrazně klesala. (Severa a kol. 2014, Öztürk a kol. 2021)

Nejvyšší naměřená viskozita byla naměřena u vzorku Sm_60, tedy toho, u kterého byl chmelovar veden v autoklávu po dobu 60 minut. Druhou nejvyšší naměřenou viskozitu vykázal vzorek Am_90. Ostatní vzorky vykazovaly hodnoty viskozity příliš podobné na to, aby mezi nimi byl významný rozdíl.

Z naměřených výsledků lze vyvodit, vzorek Sm_60 nebyl řádně temperován na laboratorní teplotu, a proto právě vykazoval nejvyšší dynamickou viskozitu. Druhou nejvyšší naměřenou dynamickou viskozitu vykazoval vzorek Am_90 a to z důvodu, že zde probíhal chmelovar ve vodní lázni – se vzorkem bylo více manipulováno, nedošlo k dokonalé sedimentaci kalu uvnitř vzorkovnice před samotnou filtrací, tudíž zde bylo větší množství rozpuštěných látek, které dynamickou viskozitu následně zvýšily. K tomu se lze odkázat na kapitolu *Stanovení celkových rozpuštěných látek* a *Stanovení velikosti částic*, kde bylo

z výsledků patrné, že ve vzorku výrazně nacházely dispergované částice (chmelové kaly a sladové kaly). Dále všechny vzorky jevíly pseudoplastické vlastnosti. Viskozita klesala s rychlostí deformace, jak bylo vidno v porovnání výsledků (viz Obrázek 9) a křivky toku kapalin (viz Obrázek 10). Všechny výše zmíněné vzorky jsou látky pseudoplastické, neboť jejich hodnota indexu toku je vždy menší než jedna. (Valouchová a kol. 2021)

5.12 Senzorická analýza

Následovalo senzorické hodnocení vzorků pív (viz Tabulka 5), kde hodnotitelé dostali dotazník, tzv. degustační list, do kterého zapisovali své chuťové vjemy týkající se pachuti, saturace CO₂, plnosti, hořkosti a celkovým zhodnocením, dále zde bylo místo na případné poznámky.

Tabulka 5: Výsledné hodnocení předkládaných vzorků pív.

Vzorek	Pachut'	Saturace	Plnost	Hořkost	Celkové hodnocení
M	1	1	3	1	4
Sm_30	1	1	3	1	3
Sm_45	1	1	5	1	4
Sm_60	1	1	3	1	4
Sm_90	5	1	1	5	8
Am_90	5	1	1	1	7

Prvním parametrem byla pachut', která byla označena jako „*pouze rozpoznatelná*“ pro všechny vzorky kromě Sm_90 a Am_90. Pro tyto dva vzorky hodnotitelé do poznámky uvedli pachut' silně trpkou.

Druhým parametrem byla saturace CO₂, která byla shodně označena jako „*pouze rozpoznatelná*“ pro všechny druhy vzorků. Nízký obsah CO₂ byl patrně způsoben netěsností víček ke skleněné vzorkovnici.

Další hodnocená vlastnost byla plnost. Zde se jednotlivé výsledky lišily: vzorek s nejvyšší plností chuti (hodnota 5) byl označen vzorek Sm_45, hodnocení střední plnost (hodnota 3) byla uvedena u vzorku M, Sm_30, Sm_60. Dva zbylé vzorky získaly hodnocení 1, tedy „*pouze rozpoznatelná*“. Do poznámky hodnotitelé uvedli, že senzoricky nejatraktivnější vzorek Sm_45 má vyváženou chuť s ovocným nádechem – právě díky použitým kvasinkám.

Následuje hodnocení hořkosti. Zde se hodnotitelé shodli a jako nejvíce hořké pivo byl označen předkládaný vzorek Sm_90. Zde se potvrdilo, že delší doba chmelovaru v autoklávu má výrazný vliv na extrakci a izomeraci α -hořkých kyselin, které se podílejí na chuti piva.

Poslední úkol se týkal komplexního zhodnocení chuti. Zde se hodnotitelé příliš neshodli. Zde byly následující výsledky: hodnocení vzorků jako „*lepší než střední*“, tedy číslem čtyři byly ohodnoceny následující vzorky: M, Sm_45, Sm_60. Vzorek Sm_30 dostal hodnocení „*dobry*“; vzorek Sm_90 hodnocení „*velmi špatný*“ a Am_90 jako „*špatný*“. Tato ohodnocení lze interpretovat tak, že čím déle probíhal chmelovar (ať v autoklávu, nebo za

atmosférického tlaku), tím větší vliv na chuť piva tato skutečnost měla. V zásadě se jednalo o chuť hořkou, trpkou až kyselou.

Ze získaných výsledků lze říct, že podmínky chmelovaru měly zásadní vliv na zkoumané vlastnosti předložených vzorků piv. Vzorek Sm_90, neboli ten, u kterého probíhal nejdéle chmelovar v autoklávu, se vyznačoval jako vzorek s nejvyšší pachutí (dle poznámek až silně kyselou), s nízkou saturací CO₂, plností, zato s nejvyšší hořkostí. Výsledky lze tedy interpretovat tak, že podmínky chmelovaru měly zásadní vliv na chuť tohoto vzorku. Nejlepší hodnocení dostal vzorek Sm_30, který se vyznačoval nízkou hořkostí, saturací, pachutí, zároveň dostal nejlepší hodnocení, tedy jako „dobrý“. Z toho vyplývá, že pro sensorické hodnocení byly podmínky chmelovaru, tj. 30 minut v autoklávu, ideální.

Dále lze zhodnotit následující: zakalená mladina, pakliže není dostatečně provedeno odstranění kalů, snižuje aktivitu kvasinek, což je důsledek nižšího prokvašení mladiny a vyššího obsahu aminodusíku. Tyto faktory se následně projevily jako sensoricky nepříjemné a zatuchlé chuti piva. Vzorky Am_90 a Sm_90 byly příliš kalné a nepodařilo se odstranit dostatečné množství kalů (viz *Tabulka 1*), tudíž i tento fakt měl vliv na sensorické hodnocení vzorků. (Cvengroschová a kol. 2004)

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo připravit vzorky mladiny za odlišných podmínek: nejdříve byly připraveny vzorky, jejichž chmelovar byl veden v autoklávu za přetlaku 0,34 MPa po různou dobu výdrže fáze varu. Jednalo se o dobu 30, 45, 60 a 90 minut. Cyklus v autoklávu zahrnoval fáze ohřevu, výdrže i chlazení. Proběhlo jedno chmelení, a to do jednoho litru sladiny pět gramů chmelových granulí. Následně byly připraveny další vzorky: jeden z nich byl připraven na laboratorní varně za působení atmosférického tlaku po dobu varu 90 minut s trojím chmelením. Dále byl připraven simultánní vzorek, jehož chmelovar byl veden za atmosférického tlaku ve skleněné nádobě ve vodní lázni za působení atmosférického tlaku. Chmelení bylo jedno, a to na jeden litr sladiny bylo použito pět gramů chmelových granulí. Fáze záhřevu, výdrže i chlazení proběhla ve vodní lázni.

Následně byly analyzovány jednotlivé vzorky mladiny před fermentací a piva po fermentaci a ležení. Cílem bylo z výsledků analýz vyhodnotit, jestli se vzorky významně liší a v jakých vlastnostech.

- Měření refraktometrické sušiny (% w/w) proběhlo u vychlazené mladiny, temperované na laboratorní teplotu 20 ± 1 °C, totožně i u vzorků piva. U mladiny panoval předpoklad, že hodnota refraktometrické sušiny (% w/w) u mladiny bude vyšší než u výsledného piva, a to z důvodu fermentace sacharidů přítomných v mladině na ethanol, oxidu uhličitý a další organické kyseliny. Nejvyšší hodnoty refraktometrické sušiny (% w/w) byly naměřeny u mladiny s chmelovarem vedeným za atmosférického tlaku. Další měření proběhlo po fermentaci a ležení vzorků piv, kdy byla nejnižší hodnota naměřena u vzorku Sm_90, a to $RS = 6,35 \pm 0,05$ % (w/w). Z výsledků lze vyvodit, že podmínky chmelovaru vedeného za přetlaku měly významný vliv na refraktometrickou (% w/w) sušinu mladiny.
- Následovala analýza hodnot pH pro mladinu, tak i po fermentaci pro výsledné pivo. Zde byl předpoklad, že hodnota pH bude klesat s déletrvajícím chmelovarem díky intenzivní izomeraci α -hořkých kyselin. Zde se potvrdilo, že podmínky chmelovaru měly významný vliv pouze u mladiny, kdy nejnižší pH bylo zaznamenáno u vzorku Sm_90, a to právě díky dlouhé době chmelovaru a možnosti izomerace α -hořkých kyselin.
- Další analýzou byla hodnocena hustota vzorků mladiny i piva. Z výsledků vyplynulo, že podmínky chmelovaru, a to za přetlaku, nebo atmosférickém tlaku,

neměly na výslednou hustotu vliv. Vzorky vykazovaly před i po fermentaci hodnoty téměř shodné s tabelovanými hodnotami.

- Co se týče obsahu ethanolu, zde podmínky chmelovaru vedeného v autoklávu měly vliv na nižší prokvašenost a nižší obsahu ethanolu (w/w) i (v/v), a to v důsledku více faktorů, jakými byly vyšší podíl iso- α -hořkých kyselin, nízká hodnota pH mladiny, která sice neklesla pod hodnotu 4,0, ale byla na hranici hodnoty 4,2, nebo výše zmíněným obsahem tanoidů.
- Následná analýza zjišťovala množství vyprodukovaného oxidu uhličitého v závislosti na rozdílu hmotnosti. Předpokladem bylo, že v průběhu fermentace došlo k poklesu hmotnosti obsahu uvnitř vzorkovnice. Vážení bylo doplněno o teoretické výpočty změny hmotnosti. Zde byly výsledky výpočtů a praktického měření téměř shodné. Zjištěné hodnoty v porovnání s jednotlivými vzorky si byly příliš podobné, tudíž vliv podmínek chmelovaru nebyl významný.
- Další analýza zjišťovala celkově rozpuštěné látky. Zde byl patrný rostoucí trend, kdy čím déle chmelovar trval, tím více rozpuštěných látek bylo přístrojem zaznamenáno. Zde je tedy souvislost mezi podmínkami chmelovaru a celkovými částicemi rozpuštěných ve vzorcích piva i mladiny.
- K této analýze se dále vztahovalo měření velikosti částic, a to v závislosti na objemu a na jejich samotné velikosti. Zde bylo patrné, že vzorky připravené v autoklávu měly klesající trend, co se velikosti částic týče, a to jak v závislosti na objemu, tak i na velikosti částic. K porovnání sloužily vzorky, které byly připraveny za atmosférického tlaku, kde měly částice větší velikost. Podmínky chmelovaru tedy ovlivnily velikost částic rozpuštěných ve vzorku.
- Dále byla zjištěna hořkost vzorků piva. Zde byl patrný vliv podmínek chmelovaru na rozvoj hořké chuti právě díky izomeraci α -hořkých kyselin. Nejvyšší hořkost byla naměřena u vzorku s vedeným chmelovarem po dobu 90 minut v autoklávu.
- Stanovení barvy probíhalo u vzorků mladiny. Z výsledků bylo patrné, že podmínky chmelovaru měly na výslednou barvu vzorku díky vzniku produktů Maillardových reakcí. Jako nejtmavší vzorek byl označen Sm_90, neboli ten, u kterého byl chmelovar proveden po dobu 90 minut v autoklávu. (Basařová a kol. 2021)
- Dále byly hodnoceny reologické vlastnosti vzorků piva. Zde z vypočtených výsledků vyplynulo, že se všechny vzorky považovaly za pseudoplastické látky, a to z důvodu,

že hodnota n neboli index tokového napětí vykazoval hodnotu menší než jedna. Co se týkalo výsledků hodnocení dynamické viskozity, zde ji s nejvyšší hodnotou vykazoval vzorek Sm_60. Tento vzorek se nepodařilo dokonale vytemperovat na laboratorní teplotu 20 ± 1 °C, ale pouze na teplotu 18 ± 1 °C, čímž byla ovlivněna dynamická viskozita vzorků, která právě s vyšší teplotou klesala. Druhou nejvyšší hodnotu dynamické viskozity vykazoval vzorek Am_90, tedy ten, u něhož byl chmelovar veden za atmosférického tlaku ve vodní lázni, a to z toho důvodu, že se vzorkem bylo více manipulováno, nedošlo k dokonalé sedimentaci kalu uvnitř mladiny před samotnou filtrací, tudíž zde bylo větší množství rozpuštěných látek, které zvýšily hodnoty dynamické viskozity při samotném měření. (Valouchová a kol. 2021)

- Posledním hodnocením byla sensorická analýza, kdy hodnotitelům byly předkládány vzorky piv temperovaných na konzumní teplotu 8 ± 1 °C. Zde byla jasně patrná souvislost mezi podmínkami chmelovaru jednotlivých vzorků, neboť vzorek Sm_90 byl označen jako vzorek s nejvyšší hořkostí díky intenzivnímu chmelovaru a izomeraci α -hořkých kyselin. Zároveň díky nedostatečnému odstranění kalů z mladiny při filtraci nebyla mladina dokonale prokvašena, což se projevilo jako nepříjemná zatuchlá chuť. Zato vzorek Sm_30 byl označen za nejlepší vzorek s vyváženou hořkostí a chutí. (Cvengroschová a kol. 2004)

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

8.5 *Colour of Wort: Spectrophotometric Method (IM) - 2000*, 2000. Belgium: European Brewery Convention.

9.8 - *Bitterness of Beer (IM)- 2004*, 2004. Belgium: European Brewery Convention.

ALGAZZALI, Victor a Thomas SHELLHAMMER, 2018. Bitterness Intensity of Oxidized Hop Acids: Humulinones and Hulupones. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* [online]. **74**(1), 36-43 [cit. 2022-03-29]. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2016-1130-01

ALHAZMI, Alaa et al., 2014. Discovery, Modification and Production of T4 Lysozyme for Industrial and Medical Uses. *International Journal of Biology* [online]. **6**(4) [cit. 2022-05-02]. ISSN 1916-968X. Dostupné z: doi:10.5539/ijb.v6n4p45

ALMAGUER, Cynthia et al., 2014. Humulus lupulus - a story that begs to be told. A review. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. n/a-n/a [cit. 2022-05-02]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.160

BAMFORTH, C.W., 2009. Current perspectives on the role of enzymes in brewing. *Journal of Cereal Science* [online]. **50**(3), 353-357 [cit. 2022-05-02]. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2009.03.001

BAMFORTH, C.W., 2009. Current perspectives on the role of enzymes in brewing. *Journal of Cereal Science* [online]. **50**(3), 353-357 [cit. 2022-05-02]. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2009.03.001

BARNES, Thomas, 2018. The Complete Beer Fault Guide v. 1.4. *Upstate New York Homebrewers Association* [online]. New York: UNYHA [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: https://www.unyha.com/wp-content/uploads/2018/08/Complete_Beer_Fault_Guide.pdf

BASAŘOVÁ, Gabriela, Jan ŠAVEL, Petr BASAŘ, Pavlína BASAŘOVÁ a Adam BROŽ. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Vydání druhé, přepracované, doplněné a aktualizované. Praha: Havlíček Brain Team, 2021. ISBN 978-80-87109-71-7.

BENEŠOVÁ, Karolína et al., 2018. Determination of proteolytic enzyme activity during malting. *Kvasny Prumysl* [online]. **64**(6), 318-322 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp201838

Biological Preservation of Foods, 2014. *Microbial Food Safety and Preservation Techniques* [online]. CRC Press, 472-495 [cit. 2022-05-02]. ISBN 9780429168291. Dostupné z: doi:10.1201/b17465-28

Bioprocessy: Technologie výroby piva, 2010. *MUNI* [online]. Brno: MUNI [cit. 2022-03-29]. Dostupné z: https://sci.muny.cz/data/C6210/C6210_Bioprocessy_2-2.pdf

BLAND, Jeffrey S. et al., 2015. Isohumulones from hops (*Humulus lupulus*) and their potential role in medical nutrition therapy. *PharmaNutrition* [online]. **3**(2), 46-52 [cit. 2022-05-02]. ISSN 22134344. Dostupné z: doi:10.1016/j.phanu.2015.03.001

BOKULICH, Nicholas A. a Charles W. BAMFORTH, 2013. The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. **77**(2), 157-172 [cit. 2022-05-02]. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.00060-12

Brányik, T., Silva, D.P., Basczyński, M., Lehnert, R., Almeida, de Silva, J.B., 2012: A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. *J. Food. Eng.* 108: 493-506.

BRÁNYIK, Tomáš et al., 2005. Continuous Beer Fermentation Using Immobilized Yeast Cell Bioreactor Systems. *Biotechnology Progress* [online]. **21**(3), 653-663 [cit. 2022-05-01]. ISSN 87567938. Dostupné z: doi:10.1021/bp050012u

BRENNAN, J. G., c2006. *Food processing handbook*. Weinheim: Wiley-VCH. ISBN 978-3-527-30719-7.

BYANKINA (BARABANOVA), A.O. et al., 2013. Polysaccharide structure of tetrasporic red seaweed *Tichocarpus crinitus*. *Carbohydrate Polymers* [online]. **98**(1), 26-35 [cit. 2022-05-01]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2013.04.063

Canonico, L., Agarbati, A., Comitini, F., Ciani, M., 2016: *Torulasporea delbrueckii* in the brewing process: A new approach to enhance bioflavour and to reduce ethanol content. *Food Microbiol.* 56: 45- 51.

CASTREJÓN, Francisco et al., 2002. Acetaldehyde and ethanol are responsible for mitochondrial DNA (mtDNA) restriction fragment length polymorphism (RFLP) in flor yeasts. *Systematic and Applied Microbiology* [online]. **25**(3), 462-467 [cit. 2022-05-09]. ISSN 07232020. Dostupné z: doi:10.1078/0723-2020-00127

CASTRO, Remedios et al., 2022. Influence of different fermentation conditions on the analytical and sensory properties of craft beers: Hopping, fermentation temperature and

yeast strain. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. **106** [cit. 2022-05-02]. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2021.104278

CELA, Nazarena et al., 2022. Assessment of brewing attitude of unmalted cereals and pseudocereals for gluten free beer production. *Food Chemistry* [online]. **384** [cit. 2022-05-01]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.132621

Comitini, F., De Ingeniis, J., Pepe, L., Mannazzu, I., Ciani, M., 2004: *Pichia anomala* and *Kluyveromyces wickerhamii* killer toxins as new tools against *Dekkera/Brettanomyces* spoilage yeasts. *FEMS Microbiol. Lett.* 238: 235–240.

CORTESE, Manuela et al., 2020. Quantification of phenolic compounds in different types of crafts beers, worts, starting and spent ingredients by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. **1612** [cit. 2022-05-02]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2019.460622

CVENGROŠCHOVÁ, Mariana a Daniela ŠMOGROVIČOVÁ, 2004. Wort Preparation and its Influence to Fermentation and Beer Properties. *Kvasny Prumysl* [online]. **50**(3), 70-75 [cit. 2022-05-03]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2004005

ČEJKA, P., V. KELLNER a F. FRANTÍK, 1989. Significance of copper in brewing technology. *Kvasny Prumysl* [online]. **35**(5), 131-136 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1989016

ČSN ISO 6658 (560050) *Senzorická analýza - Metodologie - Všeobecné pokyny*, 2009. Praha: Český normalizační institut.

DE SCHEPPER, C.F. a C.M. COURTIN, 2022. High mashing thickness negatively influences gelatinisation of small and large starch granules and starch conversion efficiency during barley malt brewing. *Food Hydrocolloids* [online]. **131** [cit. 2022-05-02]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107745

Dostálek, P., Hochel, I., Méndez, E., Hernando, A., Gabrovská, D.: Immunochemical determination of gluten in malts and beers. *Food Addit. Contam.* 23, 2006, 1074–1078. 11.

EYRES, Graham a Jean-Pierre DUFOUR, 2009. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. *Beer in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier, 239-254 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780123738912. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-373891-2.00022-5

FERREIRA, Isabel M.P.L.V.O., 2009. Beer Carbohydrates. *Beer in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier, 291-298 [cit. 2022-03-29]. ISBN 9780123738912. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-373891-2.00027-4

FILLAUDEAU, Luc a Hélène CARRÈRE, 2002. Yeast cells, beer composition and mean pore diameter impacts on fouling and retention during cross-flow filtration of beer with ceramic membranes. *Journal of Membrane Science* [online]. **196**(1), 39-57 [cit. 2022-05-03]. ISSN 03767388. Dostupné z: doi:10.1016/S0376-7388(01)00568-3

García a kol. 2004: ALONSO GARCÍA, A., B. CANCHO GRANDE a J. SIMAL GÁNDARA, 2004. Development of a rapid method based on solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the determination of polyphenols in alcohol-free beers. *Journal of Chromatography A* [online]. **1054**(1-2), 175-180 [cit. 2022-05-02]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2004.07.092

GASSARA, Fatma et al., 2015. Chitin and chitosan as natural flocculants for beer clarification. *Journal of Food Engineering* [online]. **166**(1), 80-85 [cit. 2022-05-01]. ISSN 02608774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.05.028

GOMES, Rodrigo José et al., 2018. Acetic Acid Bacteria in the Food Industry: Systematics, Characteristics and Applications. *Food Technology and Biotechnology* [online]. **56**(2) [cit. 2022-05-02]. ISSN 13309862. Dostupné z: doi:10.17113/ftb.56.02.18.5593

HAILU, DR., Zinabu, 2018. Production and Characterization of Beer from Kodome Sorghum. *International Journal of Food and Bioscience* [online]. **1**(1.), 19-24 [cit. 2022-04-08]. Dostupné z: https://www.academia.edu/37867906/Production_and_Characterization_of_Beer_from_Kodome_Sorghum

HASELEU, Gesa, Daniel INTELMAAN a Thomas HOFMANN, 2009. Structure determination and sensory evaluation of novel bitter compounds formed from β -acids of hop (*Humulus lupulus* L.) upon wort boiling. *Food Chemistry* [online]. **116**(1), 71-81 [cit. 2022-04-12]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.008

HOLLEROVÁ, Ida et al., 2005. Vitality and viability of pitching yeast: methods of assessment and the effect of cellular stress resistance systems. *Kvasný Průmysl* [online]. **51**(1), 3-7 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2005001

Hui a kol. 2006: The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer Fermentation, 2006. *Handbook of Food Products Manufacturing*. California: John Wiley, s. 443-506. ISBN 9780470113554.

Hulín, P., Dostálek, P., Hochel, I.: Determination of barley prolamins in beer and brewing materials. *Kvasny Prum.* 53, 2007, 273–276. 12. Hulín.

CHLÁDEK, Ladislav. *Pivovarnictví*. Praha: Grada, 2007. Řemesla, tradice, technika. ISBN 978-80-247-1616-9.

Chmel 2015: Příručka pro pěstitele chmele, 2015. *Chmelařský Institut s.r.o.* [online]. Žatec: Chmelařský Institut [cit. 2022-03-30]. Dostupné z: <http://www.chizatec.cz/download/page15685.pdf>

CHROMÝ, Zdeněk, Dr., Ing., 2021. *Současnost a historie certifikace chmele*. Brno. ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ, 2017. *Certifikace chmele*. Brno.

Karasu S., Biological Preservation of Foods, 2014. *Microbial Food Safety and Preservation Techniques* [online]. CRC Press, 472-495 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780429168291. Dostupné z: doi:10.1201/b17465-28

Katalog hvozděných i pražených sladů, 2017. *Sladovny Soufflet ČR a.s.* [online]. Prostějov: Sladovny Soufflet ČR [cit. 2022-04-12]. Dostupné z: <http://www.hopproducts.cz/images/others//Slady%20Soufflet.pdf>

KNEZ HRNČIČ, Maša et al., 2019. Hop Compounds: Extraction Techniques, Chemical Analyses, Antioxidative, Antimicrobial, and Anticarcinogenic Effects. *Nutrients* [online]. 11(2), 91-99 [cit. 2022-05-03]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu11020257

KOCHLÁŇOVÁ, Tatiana et al., 2016. Non-Saccharomyces yeasts and their importance in the brewing industry. Part II. *Kvasny Prumysl* [online]. 62(7-8), 206-214 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2016025

Kontrolní činnosti SZPI: Přístup SZPI ke kontrole CHZO České pivo, 2022. *Státní zemědělská a potravinářská inspekce* [online]. Brno: SZPI [cit. 2022-03-29]. Dostupné z: <https://www.szpi.gov.cz/clanek/kontrolni-cinnost-szpi.aspx?q=Y2hudW09OA%3d%3d>

Kontrolní činnosti SZPI: Přístup SZPI ke kontrole CHZO České pivo – seznam odrůd ječmene a chmele, 2022. *Státní zemědělská a potravinářská inspekce* [online]. Brno: SZPI

[cit. 2022-03-29]. Dostupné z: <https://www.szpi.gov.cz/clanek/kontrolni-cinnost-szpi.aspx?q=Y2hudW09OQ%3d%3d>

KORDIALIK-BOGACKA, Edyta, 2022. Biopreservation of beer: Potential and constraints. *Biotechnology Advances* [online]. [cit. 2022-05-02]. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2022.107910

KROFTA, Karel a Alexandr MIKYŠKA, 2014. Hop beta acids: Properties, significance and utilization. *Kvasny Prumysl* [online]. **60**(4), 96-105 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2014010

KROFTA, Karel et al., 2017. Determination of Bitter Compounds in Hops - Effect of Crop Year and Hops Age. *Kvasny Prumysl* [online]. **63**(5), 241-247 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp201725

KUNZE, Wolfgang, 2019. *Technology Brewing and Malting*. 6. Berlin: VLB Berlin. ISBN 978-3-921690-87-1.

LACHENMEIER, D.W., S. TRIEBEL a E. LERCH, 2006. Bitterness Units in beer: retrospective trends and current concept of commerce. *Brewing Science* [online]. **neznámý**(11.), 1-2 [cit. 2022-04-12]. Dostupné z: [https://www.academia.edu/6208080/Bitterness Units in beer retrospective trends and current concept of commerce](https://www.academia.edu/6208080/Bitterness_Units_in_beer_retrospective_trends_and_current_concept_of_commerce)

LEITE, Inácio R. et al., 2013. Evaluation of hop extract as a natural antibacterial agent in contaminated fuel ethanol fermentations. *Fuel Processing Technology* [online]. **106**, 611-618 [cit. 2022-03-29]. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuproc.2012.09.050

LEŚNIEWSKI, Grzegorz, CEGIELSKA-RADZIEJEWSKA, Renata. Potential possibilities of production, modification and practical application of lysozyme. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2012, 11.3: 223-230.

LINTHWAITE, Victoria L. et al., 2021. Ubiquitin is a carbon dioxide-binding protein. *Science Advances* [online]. **7**(39) [cit. 2022-05-09]. ISSN 2375-2548. Dostupné z: doi:10.1126/sciadv.abi5507

LIPTÁKOVÁ, Denisa, Zuzana MATEJČEKOVÁ a Lubomír VALÍK, 2017. Lactic Acid Bacteria and Fermentation of Cereals and Pseudocereals. *Fermentation*

LORENCOVÁ, Eva et al., 2019. Evaluation of force-carbonated Czech-type lager beer quality during storage in relation to the applied type of packaging. *Food*

Control [online]. **106** [cit. 2022-03-29]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2019.106706

MARQUINA, D., A. SANTOS a J. PEINADO, 2002. Biology of killer yeasts. *International Microbiology* [online]. **5**(2), 65-71 [cit. 2022-05-02]. ISSN 1139-6709. Dostupné z: doi:10.1007/s10123-002-0066-z

MCCAIG, R. et al., 2018. Very High Gravity Brewing—Laboratory and Pilot Plant Trials. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* [online]. **50**(1), 18-25 [cit. 2022-05-02]. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-50-0018

MEILGAARD, Morten, 2001. Effects on Flavour of Innovations in Brewery Equipment and Processing: A Review. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. **107**(5), 271-286 [cit. 2022-05-03]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2001.tb00098.x

MIKYŠKA, Alexandr a Martin SLABÝ, 2015. Study of energy-saving wort boiling systems for Czech beer production. *Kvasny Prumysl* [online]. **61**(2), 26-33 [cit. 2022-05-03]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2015004

MILANI, Elham A. et al., 2016. Nonthermal pasteurization of beer by high pressure processing: modelling the inactivation of *saccharomyces cerevisiae* ascospores in different alcohol beers. *High Pressure Research* [online]. **36**(4), 595-609 [cit. 2022-05-02]. ISSN 0895-7959. Dostupné z: doi:10.1080/08957959.2016.1190354

MISSBACH, Benjamin et al., 2017. *Exploring the flavor life cycle of beers with varying alcohol content* [online]. **5**(4), 889-895 [cit. 2022-05-09]. ISSN 20487177. Dostupné z: doi:10.1002/fsn3.472

MULDER, Marcel, 1996. *Basic Principles of Membrane Technology*. 2. Netherlands: Cluwer Academic Publishers. ISBN 978-0792342489.

MÜLLER-AUFFERMANN, K. et al., 2015. Nisin-producing microorganisms and their implementation in brewers' wort. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. **121**(3), 320-331 [cit. 2022-05-02]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.232

N'guessan, F.K., Brou, K., Jacques, N., Casaregola, S., Dje, K.M., 2011: Identification of yeasts during alcoholic fermentation of tchapalo, a traditional sorghum beer from Côte d'Ivoire. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 99: 855-864.

NARWAL, Sneha, Dinesh KUMAR a Ramesh Pal Singh VERMA, 2016. Effect of Genotype, Environment and Malting on the Antioxidant Activity and Phenolic Content of Indian

Barley: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. *Journal of Food Biochemistry* [online]. **40**(1), 91-99 [cit. 2022-05-03]. ISSN 01458884. Dostupné z: doi:10.1111/jfbc.12198

Narziss, L., Miedaner, H. and Schneider, F.P. (1991) Weiterführende Untersuchungen zur Technologie der Würzkoche unter besonderer Berücksichtigung energiesparender Maßnahmen (Teil 3). *Monatsschrift für Brauwissenschaft* Heft, 9, 304.

Nařízení Komise (ES) č. 41/2009 ze dne 20. ledna 2009 o složení a označování potravin vhodných pro osoby s nesnášenlivostí lepku (Text s významem pro EHP), 2009. In: . Brusel: Úřední věstník Evropské unie, 16/3, číslo 41. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:016:0003:0005:CS:PDF>

NG, Zhang Jin et al., 2020. Application of bacteriocins in food preservation and infectious disease treatment for humans and livestock: a review. *RSC Advances* [online]. **10**(64), 38937-38964 [cit. 2022-05-02]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D0RA06161A

NOVÁK, Jan, Gabriela BASAŘOVÁ a Jaromír FIALA, 2003. Impact of Yeast Handling on Brewing Yeast Quality. *Kvasny Prumysl* [online]. **49**(9), 260-263 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2003017

NYHAN, Laura et al., 2021. Investigation of combinations of rationally selected bioengineered nisin derivatives for their ability to inhibit *Listeria* in broth and model food systems. *Food Microbiology* [online]. **99** [cit. 2022-05-02]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2021.103835

O poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnice Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004, 2011. In: . Brusel: EU, ročník 18., číslo 1169. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1169&from=ga>

OLŠOVSKÁ, Jana et al., 2014. Beer and Health. *Kvasny Prumysl* [online]. **60**(7-8), 174-181 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2014017

ÖZTÜRK, Muhittin, 2021. Evaluation of quality the pumpkin, wild plum, pear, cabbage traditional homemade vinegars using the spectroscopy and rheology methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular*

Spectroscopy [online]. **259** [cit. 2022-05-09]. ISSN 13861425. Dostupné z: doi:10.1016/j.saa.2021.119896

P., Dostálek, P., Hochel, I.: Methods for determination of gluten proteins in foods. *Chem. Listy* 102, 2008, 327–337. 13. Dostálek, P., Gabrovská, D., Rysová, J., Mena, M. C., Hernando, A., Méndez, E., Chmelík, J., Šalplachta, J.: Determination of gluten in glucose syrups. *J. Food Compos. Anal.* 22, 2009, 762–765.

PALATÝ, Zdeněk a Bohumil BERNAUER, 2012. *Membránové procesy*. V Praze: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 9788070808085.

PARADH, A.D., 2015. Gram-negative spoilage bacteria in brewing. *Brewing Microbiology* [online]. Elsevier, 175-194 [cit. 2022-05-02]. ISBN 9781782423317. Dostupné z: doi:10.1016/B978-1-78242-331-7.00008-3

PIECZONKA, Stefan A. et al., 2021. *Food Chemistry* [online]. **361** [cit. 2022-04-12]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.130112

Pivovarství: Úvod a historie pivovarství v ČR. Trendy vývoje, technologické schéma, neznámý. *VŠCHT* [online]. Praha: VŠCHT [cit. 2022-03-29]. Dostupné z: <https://ub.vscht.cz/files/uzel/0015847/pivovarstvi.pdf?redirected>

POTĚŠIL, Václav a Vlastimil ZEDEK, 2008. Alcohol-free beer production by vacuum distillation. *Kvasny Prumysl* [online]. **54**(5), 149-151 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2008009

Pozorování kvasinek: Vitální test, neznámý. *IS Muni* [online]. Brno: IS Muni [cit. 2022-03-29]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/jaro2013/Bi4090c/um/39200097/05_Pozorovani_kvasinek__vitalni_test_020313.pdf

PREEDY, Victor R., ed., 2009. *Beer in health and disease prevention*. Amsterdam: Elsevier Academic Press. ISBN 978-0-12-373891-2.

Principy pivovarnického průmyslu a výroby piva: Odstraňování kalu ze sladiny, 2017. *EC Europa* [online]. Praha: EC Europa [cit. 2022-05-01]. Dostupné z: [https://ec.europa.eu/programmes/erasmus-plus/project-result-content/e6b06bff-c7a1-438e-a2f5-00e76a7f5e2b/UNIT%201%20-%20BREWING%20\(CZ\).pdf](https://ec.europa.eu/programmes/erasmus-plus/project-result-content/e6b06bff-c7a1-438e-a2f5-00e76a7f5e2b/UNIT%201%20-%20BREWING%20(CZ).pdf)

RYSOVÁ et. al., ed., 2016. Současné trendy výzkumu a vývoje potravin pro skupiny obyvatel se zvláštními požadavky na výživu: Studie pro Ministerstvo zemědělství

ČR. *Výzkumný ústav potravinářský Praha* [online]. Praha: MZe [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: https://www.vupp.cz/wp-content/uploads/2018/05/Studie_MZe_1_cast.pdf

Sagdic et al., *Biotechnology Advances* [online], 2022. [cit. 2022-05-02]. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975022000064>

SAKAMOTO, Kanta a Wil N KONINGS, 2003. Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **89**(2-3), 105-124 [cit. 2022-05-03]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(03)00153-3

SALAZAR T., María Belén et al., 2021. Economic and environmental performance of instantaneous water heating system for craft beer production. *Food and Bioprocess Processing* [online]. **127**, 472-481 [cit. 2022-05-03]. ISSN 09603085. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbp.2021.04.006

SALURI, Mihkel et al., 2019. Hybrid carrageenans as beer wort fining agents. *Food Hydrocolloids* [online]. **86**(1), 26-33 [cit. 2022-05-01]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2017.12.020

SEVERA, Libor a Josef LOS, 2014. On the influence of temperature on dynamic viscosity of dark beer. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* [online]. **56**(2), 303-308 [cit. 2022-05-09]. ISSN 12118516. Dostupné z: doi:10.11118/actaun200856020303

Sohrabvandi, S., Razavi, A.H., Mousavi, M., Mortazavian, A.M., 2011: Characteristics of different brewer's yeast strains used for non-alcoholic beverage fermentation in media containing different fermentable sugars. *Iran. J. Biotechnol.* 8: 178-185.

SUIKER, Inge M a Han AB WÖSTEN, 2022. Spoilage yeasts in beer and beer products. *Current Opinion in Food Science* [online]. **44** [cit. 2022-05-02]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2022.100815

ŠAVEL, Jan, Petr KOŠIN a Adam BROŽ, 2008. Colour changes during beer aging. *Kvasny Prumysl* [online]. **54**(2), 30-37 [cit. 2022-03-29]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2008003

ŠAVEL, Jan, Petr KOŠIN a Adam BROŽ, 2015. Balling alcohol factors from the perspective of contemporary brewing. *Kvasny Prumysl* [online]. **61**(4), 120-128 [cit. 2022-04-13]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2015015

ŠEMÍK, Pavel, Miroslav SEKORA a Štěpán KOVANDA, 2003. Possibilities of Influence of Qualitative Parameters of Hopped Wort Prepared by Different Ways of Wort

Boiling. *Kvasny Prumysl* [online]. **49**(10), 296-303 [cit. 2022-05-03]. ISSN 00235830.

Dostupné z: doi:10.18832/kp2003019

ŠTULÍKOVÁ, Kateřina et al., 2020. Bottle Conditioning: Technology and Mechanisms Applied in Refermented Beers. *Beverages* [online]. **6**(3) [cit. 2022-05-02]. ISSN 2306-5710.

Dostupné z: doi:10.3390/beverages6030056

TAKASHIO, Masachika a Ken SHINOTSUKA, 1998. Preventive Production of Beer against Oxidation-Recent Advances in Brewing Technology. *Food Science and Technology International, Tokyo* [online]. **4**(3), 169-177 [cit. 2022-05-03]. ISSN 1881-3976. Dostupné z:

doi:10.3136/fsti9596t9798.4.169

TAYLOR D.G., The importance of pH control during brewing, 1990. *Technical Quarterly* [online]. **4**(27), 131-136 [cit. 2022-04-08]. Dostupné z: <https://www.mbaa.com/publications/tq/tqPastIssues/1990/Abstracts/tq90ab22.htm>

Tokové chování polymerních tavenin – reologické modely, 2010. *Ústav fyziky a materiálového inženýrství* [online]. Zlín: UTB [cit. 2022-04-12]. Dostupné z: https://ufmi.ft.utb.cz/texty/fyzika_pol/FP_02.pdf

ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ, 2017. *Certifikace chmele*. Brno.

VALOUCHOVÁ, H. a M. RŮČKA, 2021. Nenewtonovské kapaliny. *Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská* [online]. Praha: VŠCHT [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <http://fyzsem.fjfi.cvut.cz/2011-2012/Zima11/proc/newtkap.pdf>

VAN NIEROP, Sandra N.E. et al., 2008. Optimised quantification of the antiyeast activity of different barley malts towards a lager brewing yeast strain. *Food Microbiology* [online]. **25**(7), 895-901 [cit. 2022-05-09]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2008.06.004

VAUGHAN, Anne, Tadhg O'SULLIVAN a Douwe SINDEREN, 2005. Enhancing the Microbiological Stability of Malt and Beer - A Review. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. **111**(4), 355-371 [cit. 2022-05-02]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2005.tb00221.x

VERBELEN, Pieter J. et al., 2009. The influence of yeast oxygenation prior to brewery fermentation on yeast metabolism and the oxidative stress response. *FEMS Yeast Research* [online]. **9**(2), 226-239 [cit. 2022-05-09]. ISSN 15671356. Dostupné z: doi:10.1111/j.1567-1364.2008.00476.x

WALKER, Graeme a Graham STEWART, 2016. *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages* [online]. **2**(4) [cit. 2022-03-29]. ISSN 2306-5710. Dostupné z: doi:10.3390/beverages2040030

WALKER, Samantha L., M. Carmen Donet CAMARENA a Gary FREEMAN, 2007. Alternatives to Isinglass for Beer Clarification. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. **113**(4), 347-354 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2007.tb00761.x

WANNENMACHER, Julia, Martina GASTL a Thomas BECKER, 2018. Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **17**(4), 953-988 [cit. 2022-05-03]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12352

ZHAO, Haifeng a Dongxiao SUN-WATERHOUSE, 2019. Interactions Between Proteins and Polyphenols in Beer. *Encyclopedia of Food Chemistry* [online]. Elsevier, 550-553 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780128140451. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.21487-X

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

°C – stupeň Celsia

ADF – *Apperent Degree of Fermentation* (zdánlivý stupeň fermentace)

AP – acidifikační potenciál

ATP – adenosintrifosfát

a_w – vodní aktivita

CO₂ – oxid uhličitý

ČSN – Česká státní norma

E_a – zdánlivý extrakt

EBC – *European Brewery Convention* (Evropská pivovarská dohoda)

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay* (enzymově-vázaná imunosorbentní metoda)

EPM – extrakt původní mladiny

E_r – skutečný extrakt

ES – evropská směrnice

HCl – kyselina chlorovodíková

k – součinitel konzistence

mmol – milimol

n – index tokového chování

Pa – jednotka Pascal

pH – *Potential of Hydrogen* (potenciál vodíku, též záporný dekadický logaritmus koncentrace H⁺)

PMKT (PMKT2) – *Pichia membranifaciens Killer Toxins* (Zabijácké toxiny *Pichia membranifaciens*)

ppm – *parts per milion* (počet částic na jeden milion)

ppt – *parts per thousand* (počet částic na jednu tisícinu)

PU / PJ – Pasteration Unit (pasterační jednotka)

R² – koeficient determinace

RDF – *Real Degree of Fermentation* (skutečný stupeň fermentace)

Sb. – sbírka zákonů

SO₂ – oxid siřičitý

SRN – Spolková republika Německo

TDS – *Total Dissolved Solids* (celkový počet rozpuštěných pevných částic)

UV-VIS – ultrafialovo-viditelná spektroskopie

w/w – *Weight to Weight* (hmotnostní procenta)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Grafické znázornění průběhů chmelovarů pro všechny připravené vzorky. Je zde patrná fáze růstu, výdrže a chlazení.....	42
Obrázek 2 Grafické znázornění stanovení refraktometrické sušiny v % (w/w) pro vybrané vzorky mladiny a piva. V grafu jsou průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.....	48
Obrázek 3: Grafické znázornění stanovení hodnoty pH pro vybrané vzorky mladiny a piva. V grafu jsou průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku. ..	50
Obrázek 4: Grafické stanovení hustoty mladiny v (g/cm ³) před fermentací a po ní. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty se směrodatnou odchylkou, která je zaznačena jako chybová úsečka.	52
Obrázek 5: Grafické znázornění stanovení obsahu ethanolu v % (v/v) a % (m/m) po fermentaci vzorků. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.	53
Obrázek 6: Grafické znázornění změny hmotností vzorků (g) před a po jejich fermentaci. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.	55
Obrázek 7: Grafické znázornění stanovení hořkosti po fermentaci vzorků pív. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku. ...	60
Obrázek 8: Grafické znázornění stanovení barvy mladiny po fermentaci vzorků pív. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty s chybovou úsečkou, která značí směrodatnou odchylku.	62
Obrázek 9: Grafické znázornění závislosti smykové rychlosti (s ⁻¹) na smykovém napětí (Pa).	64
Obrázek 10: Křivky tečení kapalin v závislosti na smykové rychlosti. (Valouchová a Růčka 2021, upraveno).	65

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Tabulkové znázornění stanovení celkových rozpuštěných látek (ppt) před fermentací a po ní. V tabulce jsou zaznačeny výsledky se směrodatnou odchylkou.	57
Tabulka 2: Velikost částic vzorku v závislosti na objemu a jejich velikosti.	58
Tabulka 3: Dílčí získané hodnoty z analýzy vzorků pív.	59
Tabulka 4: Získané hodnoty k – součinitel konzistence, n – index tokového napětí, R^2 – koeficient determinace, pro všechny vzorky pív.	64
Tabulka 5: Výsledné hodnocení předkládaných vzorků pív.	67

