



**Studium faktorů ovlivňujících gushing
ve sladovně Bernard**
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Tomáš Gregor, PhD.

Vypracovala:
Bc. Lucie Radová

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci *Studium faktorů ovlivňujících gushing ve sladovně Bernard* vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

Diplomová práce byla vypracována v rámci projektu TAČR TE02000177 „Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků“.

Poděkování

Chtěla bych poděkovat panu Ing. Tomáši Gregorovi, PhD. za vstřícnost a cenné rady v průběhu vypracovávání diplomové práce. Stejně tak patří díky panu Ing. Šustovi, že mi umožnil provést praktickou část diplomové práce ve sladovně Bernard, a laborantce Lence Kyselové za trpělivost a milé jednání. Ráda bych poděkovala ještě paní Ing. Sylvii Bělákové, PhD. za nespočet rad a času stráveného s mojí osobou.

Největší poděkování patří mým rodičům, příteli a kamarádům za podporu během studentských let.

Abstrakt

V této práci jsem se zabývala problematikou gushingu ve sladovně Bernard. V teoretické části je stručně popsána výroba sladu a piva, historie gushingu a přehled aktuálních informací o problematice přepěňování.

Praktická část práce je rozdělena do tří částí. V první je monitorován gushingový potenciál sladu vyrobeného v roce 2015 a 2016 ve sladovně Bernard. Druhá část se zabývá vztahem jednotlivých technologických operací při výrobě sladu a vývojem gushingového potenciálu meziproductů den po dni. Ve třetí části jsou zkoumány různé modifikace třídenního testu Carlsberg a jejich dopad na intenzitu gushingu. V rámci třetí části jsou také řešeny faktory ovlivňující různé výsledky naměřené u stejných vzorků ve sladovně Bernard a v laboratoři Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Brně.

Abstract

The aim of this diploma thesis is to explore the aspects of gushing in malt house Bernard. The main focus of the theoretical part is on a description of production of malt and beer, the history of gushing and an overview of current information about problematics of over foaming.

The practical part is divided into three parts. In the first part I monitored a gushing potential of malt produced in 2015 and 2016 in the malt house Bernard. In the second part I dealt with a connection of particular technological parts of malt production and an evolution of gushing potential of intermediates day after day. In the third part there were investigated various modifications of Carlsberg test and their effect on the intensity of gushing. Also, I analysed the factors influencing the outcomes measured in the same samples in the malt house and in the laboratory of a Research Institute of Brewing and Malting in Brno.

Obsah

1	ÚVOD.....	8
2	CÍL PRÁCE.....	9
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
3.1	Sladovnictví.....	10
3.1.1	Historie sladovnictví.....	10
3.1.2	Sladovnický ječmen.....	11
3.1.3	Výroba sladu.....	14
3.2	Technologie výroby piva.....	18
3.3	Pěnovost piva a oxid uhličitý.....	19
3.4	Gushing.....	22
3.4.1	Příčiny primárního gushingu.....	24
3.4.2	Příčiny sekundárního gushingu.....	29
3.4.3	Faktory ovlivňující gushing.....	32
3.5	Možnosti redukce gushingu.....	33
3.6	Predikce gushingu.....	35
3.6.1	Weihenstephaner test.....	35
3.6.2	Carlsberg test.....	36
3.6.3	Modifikovaný Carlsberg test.....	36
4	MATERIÁL A METODIKA.....	37
4.1	Materiál.....	37
4.1.1	Popis odrůd vykupovaného ječmene.....	37
4.1.2	Fungicidy použité při pěstování vykupovaného ječmene.....	38
4.1.3	Podnebné podmínky v roce 2014 a 2015 v Jihomoravském kraji ve srovnání s dlouhodobým průměrem.....	39
4.2	Technologie výroby sladu ve sladovně Rajhrad.....	40
4.3	Metodika.....	41
4.3.1	Stanovení gushingu hotového sladu ve sladovně Rajhrad.....	41

4.3.2	Stanovení vlivu sladování na míru gushingu	41
4.3.3	Změny metody Carlsberg ovlivňující výsledný gushing	42
4.3.4	Carlsberg test	42
4.3.5	Popis pracoviště a vybavení laboratoří	43
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	46
5.1	Stanovení gushingu hotového sladu ve sladovně Rajhrad	46
5.2	Stanovení vlivů v průběhu sladování na gushing	48
5.3	Změny metody Carlsberg ovlivňující výsledný gushing	52
6	ZÁVĚR	59
7	POUŽITÁ LITERATURA	60
8	SEZNAM ZKRATEK	65
9	PŘÍLOHY	66

1 ÚVOD

Pivo je v České republice velmi oblíbeným nápojem, o čemž svědčí i naše světové prvenství v jeho konzumaci na obyvatele za rok. České pivo je proslavené i v zahraničí a je tak významným vývozním artiklem. Z těchto důvodů je velmi důležité studium všech faktorů, které by mohly negativně ovlivňovat jeho kvalitu.

Gushing můžeme charakterizovat jako samovolné přepěnění piva ihned po jeho otevření. Právě kvůli prudkému vyřinutí pivní pěny z lahve je to jev, který spotřebitel nemůže přehlédnout. Následky v podobě potřísněných rukou, popř. vybavení domácnosti a znatelný úbytek piva v lahvi může zákazníka negativně ovlivnit a při další koupi odradit od dané značky.

Problematika gushingu je stará stejně jako lahvování piva a v průběhu času se tomuto tématu věnovala spousta autorů v nespočetném množství odborných prací. A ačkoli se díky tomu dozvídáme stále nové a nové poznatky, dosud nejsou objasněny všechny aspekty jeho vzniku. Proto je to téma, které neztrácí na aktuálnosti.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo monitorovat gushingový potenciál sladu vyprodukovaného sladovnou v Rajhradě v letech 2015 a 2016.

Mezi dílčí cíle patřilo představit problematiku gushingu, provádět průběžná stanovení gushingu u vzorků sladu jednotlivých šarží ze sladovny Rajhrad a naměřené hodnoty zpracovat a vyhodnotit, zjistit jaké faktory ve sladovně Rajhrad gushing ovlivňují. Vzhledem k naměřeným výsledkům také navrhnout změny k optimalizaci metody měření gushingu.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Sladovnictví

3.1.1 Historie sladovnictví

Historie sladařství je neodmyslitelně spjata s výrobou piva. Ačkoli o přesném vzniku obilných kvašených nápojů nemáme přesné informace, datuje se jejich výroba nejméně do doby 10 000 až 7 000 let před naším letopočtem. Již tehdy se v oblasti Mezopotámie pěstovalo obilí, hlavně pak ječmen, pšenice a proso, které bylo využíváno mimo jiné i jako surovina pro výrobu alkoholických nápojů.

Původně kvašené nápoje připravovaly některé národy v každé domácnosti a byla to doména především žen. Zmínky o výrobě piva nalezneme ve většině kultur napříč kontinenty. V Evropě se zásadní zlom odehrál na území dnešního Německa v roce 1516, kdy byl vydán zákon o čistotě piva (tzv. Reinheitsgebot), který povoloval výrobu a dovoz piva pouze z ječného sladu, chmelu a vody. Není známo, kdy se začal vyrábět slad z ječmene na principu namočení, naklíčení a sušení, ale již starověký lékař Galenus napsal, že z ječmene se dělá nejlepší slad. Slad z ječmene a pšenice se již ve středověku stal hlavní surovinou k výrobě nápojů, které můžeme považovat za předchůdce piva, jak ho známe v dnešní podobě (Basařová a Hlaváček 2011; Beneš a Šálková 2011).

Velký rozmach výroby piva a sladu nastal ve středověku, kdy se jednotliví výrobci sdružovali a vytvářeli městské pivovary, které měly vlastní sladovny. Již v této době bylo české pivovarství proslaveno i za hranicemi království, a to nejen kvalitou piva, ale i používaných surovin. Na přelomu 15. a 16. století už měly obecní pivovary téměř všechna města v království. Až do 18. století neexistovaly žádné normy a metody pro stanovení kvality surovin a všechno tak bylo v rukou zkušených pracovníků. Slad se ve středověku vyráběl většinou máčením v dřevěných nebo kamenných korytech. Až nabobtnal, přenesl se na hliněné podlahy, kde se přehazoval dřevěnými lopatami a nechal naklíčit. Později se tomuto místu začalo říkat humny (Novák Večerníček 2015).

Humny byly odvětrávané a kvůli udržení vhodné teploty se na nich přes zimu přitápělo a v letních měsících se nesladovalo. Naklíčený ječmen se poté sušil kouřem z pecí, které se nacházely pod dřevěnými lískami. Dým se z hvozdu odvětrával, aby se zmírnil jeho dopad na hotový slad. Slad se sušil tak dlouho, dokud dřevěné

lopaty při jeho přehazování nebyly suché. Pro výrobu tmavých sladů se část várky upražila.

Po založení Měšťanského pivovaru v Plzni (dnešní Prazdroj) postupně všechny pivovary na našem území přešly na výrobu piva z ječného sladu spodním kvašením (Basařová a Hlaváček 2011; Verhoef a Martínková 1998).

K dalšímu velkému rozvoji sladařství a pivovarnictví došlo v druhé polovině 19. století díky rozvoji průmyslové výroby. Zvýšila se tak kvalita a kontrola surovin i hotového piva. Došlo k lepšímu porozumění některých procesů při výrobě, která byla i lépe zdokumentovaná. Spolu s novými poznatky docházelo i k modernizaci výrobních postupů. Po charakteristickém mokřém máčení, humnovém sladování a sušení na dvoulískových hvozdech se přecházelo k pneumatickému sladování a sladování ve skříních. Zavedlo se máčení ječmene se vzdušnými přestávkami, odsávání oxidu uhličitého a celkově byla snaha o zlepšení ekonomiky procesu sladování a vývoj šel ruku v ruce s novými vědeckými objevy. Od roku 1980 se už téměř všude po světě stavěly plně automatizované velkokapacitní sladovny, ve kterých se již využívá při kontrole a řízení pomoc výpočetní techniky (Basařová 2015).

3.1.2 Sladovnický ječmen

Ječmen je jednou ze základních surovin pro výrobu piva, přesto má i jiné využití. V minulosti tvořil podstatnou část lidské stravy, později se však začal používat spíše ke krmivářským účelům, pro výrobu sladu a v lihovarnictví. V dnešní době zažívá ve výživě určitou renesanci díky pozitivním účinkům na lidské zdraví, přesto se k přímé spotřebě uplatňuje ve vyspělých zemích jen minimálně. Až 60 % celosvětové produkce připadá na krmení hospodářských zvířat a 30 až 40 % slouží k výrobě sladu (Zavřelová 2014).

Ječmen je nejvíce používanou obilninou při výrobě piva, i když je možné použít např. i pšenici, rýži či kukuřici a jiné méně používané suroviny jako oves nebo proso. Vzhledem k tomu, že ječmen obsahuje z 60 % až 65 % škroby, dává pivu na rozdíl od nakysle a trpce chutnající pšenice jemnou a nasládlou chuť. Nespornou výhodou je i lepší filtrovatelnost díky pluchám (Verhoef a Martínková 1998).

Ačkoli je možné různé kultivary ječmene pěstovat napříč všemi kontinenty kromě Antarktidy, pro sladovnický ječmen jsou vhodné podmínky mírného podnebného pásma, především střední Evropa s nadmořskou výškou okolo 200 až 300 metrů. Optimální průměrná roční teplota pro pěstování činí 8,5 °C a průměrné srážky okolo 500 až 600 mm. Těmto podmínkám v České republice výborně odpovídá oblast Hané a dále povodí velkých řek jako je Dyje, Labe a Morava (Kosař a Procházka 2000).

Taxonomicky řadíme Ječmen setý (*Hordeum vulgare* L.) do říše rostlin (*Plantae*), podříše cévnaté rostliny (*Tracheobionta*), nadoddělení semenné rostliny (*Spermophyta*), oddělení krytosemenné (*Magnoliophyta*), třídy jednoděložné rostliny (*Liliopsida*, *Monocotyledonae*), řád lipnicotvaré (*Poales*), čeleď lipnicovité (*Poaceaceae*) a rod ječmen (*Hordeum*) (Basařová 2015).

Rod *Hordeum* původně obsahoval zhruba 150 druhů, ale díky poznatkům molekulární genetiky se počet snížil na 32 druhů a jeho nomenklatura není dosud pevně ustálená. Podle způsobu růstu rozlišujeme ječmeny na divoce rostoucí plané ječmeny a ječmeny seté (*Hordeum vulgare*). Ječmeny jsou jarní nebo ozimé, dvouřadé či šestiřadé a pluchaté nebo bezpluché. *Hordeum vulgare* se dále člení na řadu vnitrodruhových taxonů, jako je poddruh (subspecies, spp.), konvarieta (convarietas, convar.) a varieta/odráda (varietas, var.). Pojem kultivar je výraz pro označení výsledku šlechtění určité rostliny člověkem (Badr et al. 2000; Basařová 2015).

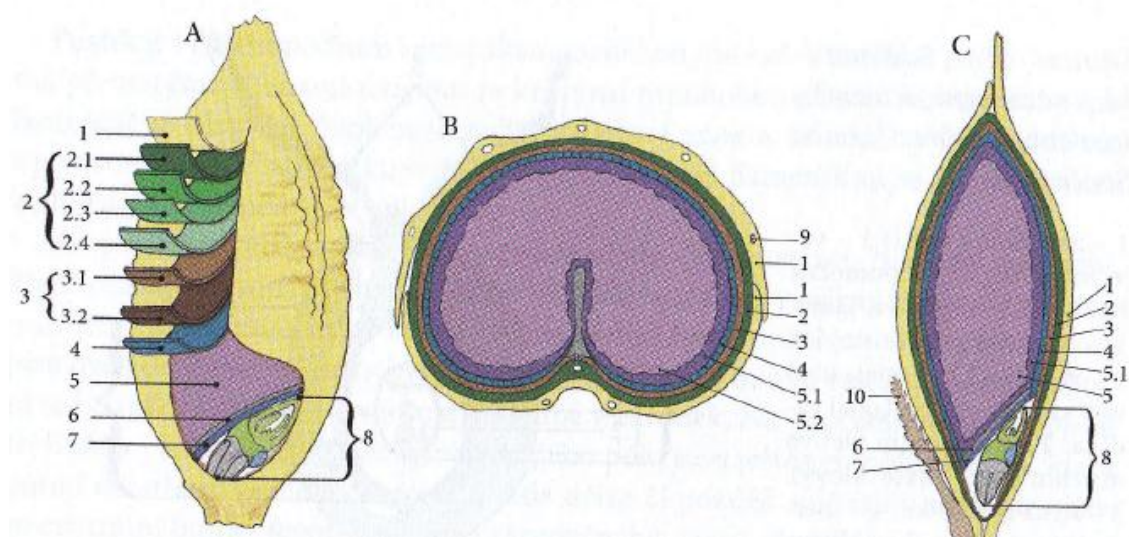
Ke sladování se v České republice využívá nejčastěji ječmen setý nicí (*Hordeum vulgare* convar. *Vulgare* var. *nutans*).



Obr. č. 1 Klas ječmene setého (ANON. 2003)

Odrůdy sladovnického ječmene jsou pravidelně sledovány a zkoušeny Komisí pro hodnocení kvality odrůd sladovnického ječmene, která spolupracuje s Výzkumným ústavem pivovarským v Brně. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský na základě návrhů těchto institucí přiděluje sladu kategorii doporučení. Od roku 2003 existuje kategorie „sladovnický ječmen vhodný pro výrobu českého piva“. K výrobě českého piva je zapotřebí světlý slad a aktuálně jsou registrovány tyto odrůdy: Advent, Aksamit, Blaník, Bojos, Calgary, Malz, Radegast a Tolar. Charakteristiky všech odrůd a další informace o ječmeni je možné nalézt v každoročně vydávané Ječmenářské ročence (Psota 2015).

K účelům sladařského průmyslu se z ječmene využívá ječné zrnko neboli obilka. To se skládá z obalových částí (pluch a plušek), zárodku (jinak také klíček či embryo, při klíčení z něj vychází podněty k aktivaci enzymů v celém zrně) a endospermu, jenž tvoří největší část zrna. Endosperm je hlavním zdrojem zásobních sacharidů, bílkovin a dalších látek, které jsou potřebné pro vytvoření charakteristických vlastností sladu.



Obr. č. 2 Obilka ječmene: A – schematické znázornění nejdůležitějších anatomických struktur pluchaté obilky ječmene, B – příčný řez obilkou ječmene, C – podélný řez obilkou ječmene

1 – pluchy (plucha nebo pluška), 2 – oplodí (2.1 epidermis, 2.2 hypodermis, 2.3 mezokarp, 2.4 endokarp), 3 – osemení (3.1 osemení, 3.2 hyalinní vrstva), 4 – aleuronová vrstva, 5 – endosperm (5.1 – subaleuronová vrstva, 5.2 – škrobový endosperm), 6 – vrstva stlačených buněk, 7 – štítek, 8 – zárodek, 9 – cévní svazek, 10 – štětička (Basařová 2015)

Sladovnický ječmen musí splňovat požadavky na pěstitelské vlastnosti, jako je výnos, odolnost proti chorobám a škůdcům či náročnost na pěstování. Nejdůležitější jsou ovšem požadavky sladovnického průmyslu, které rozdělujeme na vlastnosti fyziologické, mechanické a fyzikálně-chemické. Z fyziologických znaků hodnotíme především klíčivost a klíčivou energii zrn (Kosař a Procházka 2000).

Z mechanických vlastností pohlížíme na objemovou hmotnost 1 hl, absolutní hmotnost 1000 zrn, podíl zrn nad sítím 2,5 mm a především odrůdovou čistotu a homogenitu dodávaných partií ječmene. Z technologického i hygienického hlediska se dbá na co nejnížší podíl cizích a biologicky poškozených zrn, plesnivých zrn či zrn se zahnědlými špičkami, která mohou být příčinou gushingu (Černý 2007).

Hodnoty jakostních ukazatelů ječmene sladovnického (ČSN 46 1100-5)		
Jakostní ukazatele	Základní jakost (%)	Závazná jakost (%)
Vlhkost	15,0	nejvýše 16,0
Přepad zrna nad sítím 2,5 × 2,2 mm	90,0	nejméně 70,0
Zrna poškozená	2,0	nejvýše 5,0
Zrna se zahnědlými špičkami	2,0	nejvýše 6,0
Zrna porostlá	0,0	nejvýše 0,5
Celkový odpad, z toho: neodstranitelná příměs zelená zrna	3,0 - -	nejvýše 7,0 nejvýše 1,0 nejvýše 1,0
Klíčivost	98,0	nejméně 92,0
Obsah N-látek (N × 6,25)	11,0	nejvýše 12,5
Barva zrna	světle žlutá	žlutá, i méně vyrovnaná
Plucha	jemně vrásčitá	i méně jemně vrásčitá

Obr. č. 3 Jakostní ukazatele ječmene (Černý 2007)

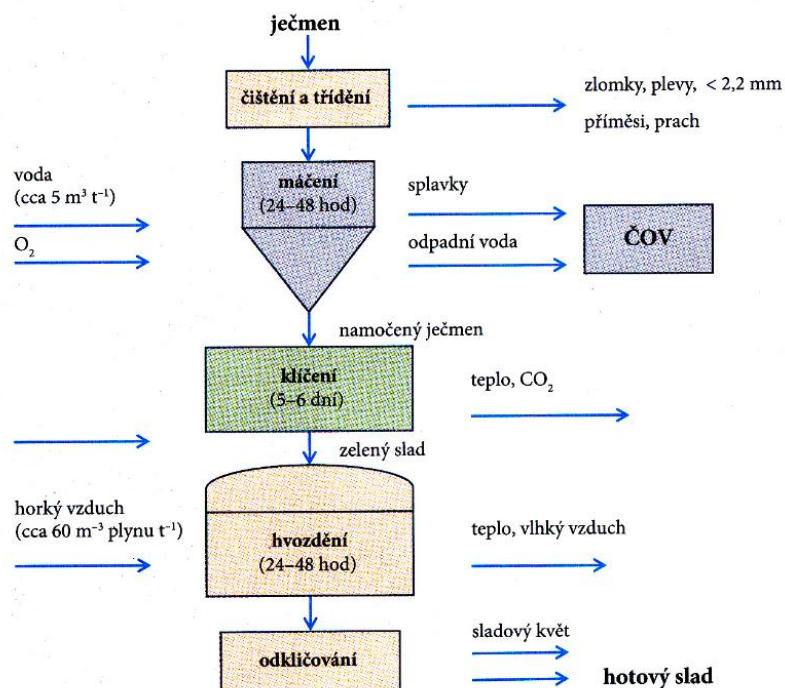
3.1.3 Výroba sladu

Výrobu sladu můžeme označit jako proces řízeného klíčení ječného zrna, které se v určité fázi zakončí sušením a zahříváním. Ječmen obsahuje složité cukry, které pivovarské kvasinky neumí rozložit. Proto je důležité sladování, při kterém v průběhu klíčení vznikají jednoduché cukry, které slouží kvasinkám jako vhodná výživa (Hasík 2013).

Kromě cukrů, které kvasinky následně přeměňují na alkohol, obsahuje slad také nezkvasitelné cukry, které pivu dodávají chuť. Bílkoviny obsažené ve sladu jsou

důležité pro životaschopnost kvasinek a zachování pивní pěny (Kosař a Procházka 2000; Thompson 2012).

Celý proces sladování začíná příjmem ječmene, který se následně třídí a čistí. Poté následují hlavní tři technologické kroky – máčení, klíčení a hvozdění. Po odkličování a polírování se slad skladuje a je připraven k expedici.



Obr. č. 4 Schéma výroby sladu (Basarová 2015)

3.1.3.1 Máčení

Díky máčení se v zrně zvyšuje obsah vody z 12 – 15 % vody u českého sladu na 42 – 45 %, u bavorského na 46 – 48 % a více tak, aby jeho vlhkost byla dostatečná pro zahájení enzymatických reakcí a pro klíčení. Dochází k opakovanému střídání vlivu vody a provzdušňování. Navíc se odstraní splavky a lehké nečistoty, ze zrna se vyluhují barevné a hořké látky, kyselina křemičitá a bílkoviny z pluch, které zhoršují sensorické vlastnosti piva a přispívají k jeho zákalu.

Máčení ječmene probíhá v náduvnících, které jsou vybaveny zařízením pro větrání tlakového vzduchu a odsávání oxidu uhličitého. Máčírna by měla být ideálně postavena v blízkosti zásobních sil ječmene, aby doprava ječmene byla co nejkratší. Zároveň by

měla být nezávislá na teplotě venkovního vzduchu, aby se v létě příliš neprohřívala a v zimě naopak neochlazovala.

Máčení rozlišujeme dle použité technologie na jednodenní, dvoudenní případně i trojdenní. V případě jednodenní se ječmen máčí max. 24 hod. a do stejného náduvníku se namáčí i vymáčí. Máčírna dvoudenní, případně trojdenní trvá max. 48 nebo 72 hod. a dle použité techniky může být přepouštěcí či přečerpávací (Basařová 2015).

K máčení používáme čistou vodu s neutrálním pH s maximální tvrdostí do 6,5 mmol.l⁻¹. Příjem vody probíhá nejrychleji na začátku máčení a je závislý na době namáčení, teplotě vody, době odležení ječmene, velikosti zrna, odrůdě a ročníku a samozřejmě také na provětrávání. Pokud není zajištěn dostatečný přívod kyslíku a odvětrávání oxidu uhličitého, může dojít k poškození a v některých případech až umrtvení zrna.

Existují různé technologie máčení – vzdušné máčení, záplavové máčení, opakované máčení či sprchové máčení. Dostatečně namočené zrno se transportuje na klíčidla. V klasických humnových sladovnách se tak děje suchou cestou (tedy zrno bez vody) a v moderních pneumatických mokrou cestou (zrno se na klíčidla transportuje s vodou). Této části výroby říkáme vymočení.

Celkové ztráty při máčení jsou způsobeny nejvíce odloučením pluch, pak dýcháním ječmene, splavky a vyloučením prachu a zbývajících nečistot. Celkově by neměly přesáhnout 3 % z hmotnosti namáčeného ječmene (Kosař a Procházka 2000).

3.1.3.2 Klíčení

Cílem klíčení je aktivace enzymového systému zrna, díky které dochází k syntéze enzymů. Ty pak hrají hlavní roli v odbourání rezervních vysokomolekulárních látek zrna na nízkomolekulární produkty nezbytné pro výrobu sladiny – tzv. rozluštění zrna.

Syntéza enzymů je iniciována prostřednictvím fytohormonů. Energie k syntéze enzymů je zajištěna oxidačním odbouráváním škrobu. Nejdůležitějšími enzymy sladu jsou amylasy, které jsou nápomocny odbourávání škrobu při rmutování. α amylasa není na rozdíl od β amylasy v zrna přítomna a aktivuje se až při klíčení. Proteolytickými enzymy, které se aktivují dříve než amylasy, se štěpí hornin a poté gluteliny.

Podmínkou pro správný průběh klíčení je dostatek vody a vzduchu v namáčeném ječmeni. Délka střelky (klíčku) je ve vztahu k postupu a hloubce látkových přeměn (míry rozluštění) uvnitř zrna. Pro český (plzeňský) slad se luští na délku do poloviny

až dvou třetin zrna, pro bavorský slad a tmavý slad do tří čtvrtin až do délky celého zrna. Zdravý zelený slad má typickou vůni po čerstvých okurkách (Basařová 2015; Kosař a Procházka 2000).

3.1.3.3 Hvozdění

Hvozdění má za cíl snížit obsah vlhkosti v zeleném sladu na 3 - 4 %, přičemž dojde k zastavení vegetačních procesů při zachování enzymové aktivity zrna. Díky řízenému sušení se vytváří chuťové, barevné a aromatické látky dle požadavků na jednotlivé typy sladu. Slad je již dobře skladovatelný.

Hvozdění probíhá na hvozdech ve třech fázích: růstové, enzymové a chemické. V růstové fázi je obsah vody ještě nad 20 % při teplotách do 20 °C. Slad si v této fázi ještě zachovává schopnost klíčit. V enzymové fázi se teplota zvedá až na 60 °C a dochází k zastavení vegetačních procesů, přičemž pokračují enzymové procesy. V chemické fázi se obsah vody dostává pod 10 %, enzymatická aktivita je zastavena a dochází k chemickým změnám vedoucím k tvorbě chuťových a barevných látek.

Vzhledem k tomu, že slad po hvozdění dosahuje teplot až 80 °C, musí se ochladit, aby nadále neprobíhala nežádoucí inaktivace enzymů. K chlazení dochází i při odkličování sladu, které je nutné provádět co nejdříve po hvozdění. Slad se odkličováním zbaví střelky a 3 - 4 kořínků. Klíčky jsou hydroskopické, tudíž rychle vlhnou a slad by byl špatně skladovatelný. Navíc by přítomnost klíčků zhoršovala senzorycké vlastnosti sladu a následně i piva (Kosař a Procházka 2000).

Odstraněné klíčky označujeme jako sladový květ, přičemž ze 100 kg sladu připadá 4 - 6 kg na sladový květ. Sladový květ je nutričně hodnotné krmivo, ale používá se také jako surovina pro droždárny, v různých biotechnologiích či k přípravě léčiv.

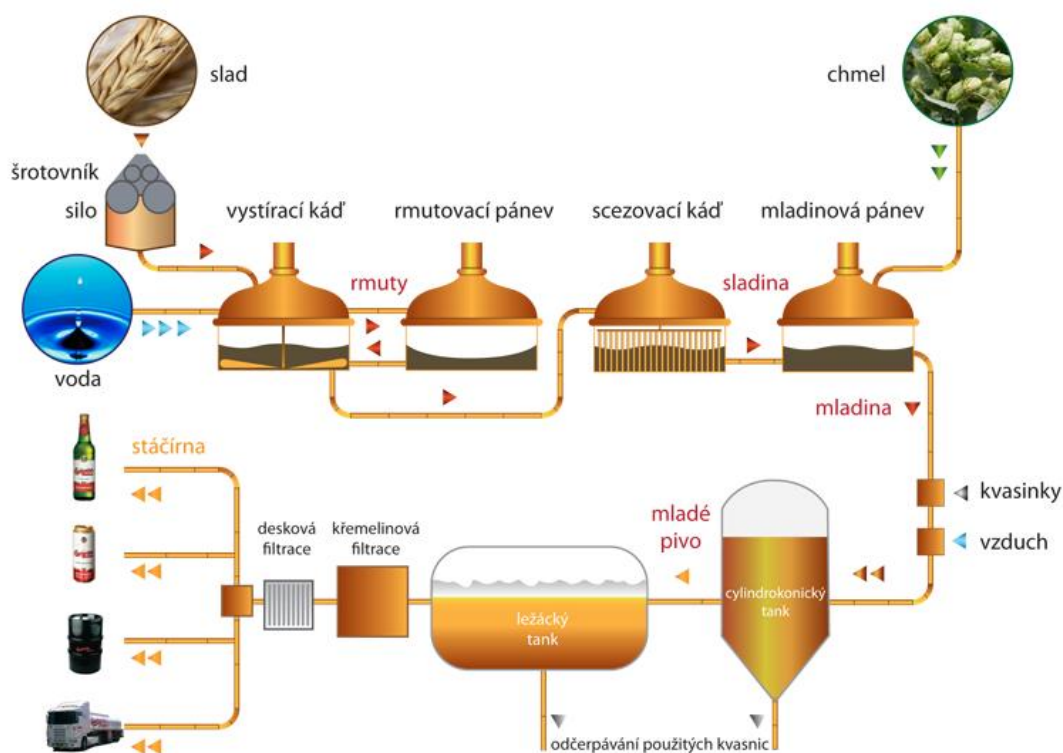
Odklíčený, studený slad se uskladňuje na sladových půdách nebo v silech, kde se nechává 4 - 6 týdnů odležet a dozrát. Za tu dobu se zvýší vlhkost na 4 - 5 %, což zlepší technologické vlastnosti při zpracování sladu. Neodleželý slad má příliš křehké pluchy, které způsobují potíže při scezování i kvašení a snižují se tak varní výtěžky.

Před expedicí je nutné zbavit slad zbytků prachu, drobných částiček zrn a oloupaných pluch. Tzv. polírování sladu, neboli čištění a leštění, se provádí ve válcovitých sítech leštičky, která kartáči leští sladová zrna, uvolňuje a ventilátory odsává zbytky prachu. Hotový slad se expeduje buď pytlovaný nebo volně ložený.

Jednotlivé druhy sladu jsou vytvářeny různými úpravami technologického postupu výroby (Basařová 2015).

3.2 Technologie výroby piva

Pivo je někdy nazýváno tekutým chlebem a jeho spotřeba v České republice je kolem 150 l na osobu ročně. V dobách, kdy nebyla zajištěna zdravotní nezávadnost vody, bylo podáváno pivo i dětem, jelikož kvůli kyselého pH 4,3 - 4,8 neobsahuje patogeny. Můžeme ho označit za koloidní a osmoticky vybalancovaný nápoj, který obsahuje významné množství minerálních látek a jako jeden z mála nápojů obsahuje pětikrát vyšší množství draslíku než sodíku. Je nejbohatším zdrojem křemíku a zanedbatelný rozhodně není ani vysoký obsah vitaminů sk. B (Dostálová 2014).



Obr. č. 5 Schéma výroby piva (Budějovický Budvar 2016)

Vstupní suroviny k výrobě piva, tzn. slad, chmel, voda a přísady, se postupně uplatňují v jednotlivých technologických krocích. V prvním kroku se potřebná dávka sladu neboli sypání se pošrotuje za účelem zpřístupnění endospermu pro fyzikálně chemické a enzymové reakce ve varně za co největšího zachování celistvosti pluch.

Pošrotovaný slad s vodou se vystírá ve vystíracích kádích. Část extraktu přechází do roztoku již při vystírání. Vystírka se postupně vyhřívá na teploty vhodné pro činnost jednotlivých skupin enzymů.

Při následném rmutování dochází k mechanickým, chemickým, fyzikálním a především enzymovým dějům s cílem převést sladový extrakt do roztoku. Scezováním sladiny vzniká předek (scezená sladina) a mláto, ze kterého se zbytek extraktu vyluhuje horkou vodou - vyslazování mláta. Získaný výluh se přidává ke sladince.

Sladina se převede do varné pánve, chmelí se a vaří 100 - 120 minut. Během varu a dochází k převedení hořkých látek chmele do mladiny, sterilaci mladiny, inaktivaci enzymů a koagulaci bílkovin s polyfenolovými látkami sladu a chmele, což ovlivňuje výsledné složení mladiny a vlastnosti piva. Vyrobena mladina se zbavuje zbytků chmele a hořkých kalů v usazovací a následně ve vířivé kádi. Pro piva spodně kvašená je nutné mladinu zchladit na zákvasnou teplotu 5 - 6 °C (Basařová a kolektiv 2010).

Přidáním pivovarských kvasinek do ochlazené mladiny dochází k hlavnímu kvašení. Při výrobě piv typu ležáků, která se u nás těší největší oblibě, se používají spodní pivovarské kvasinky (*S. cerevisce carlsbergensis*, popř. *S. cerevisce uvarum*) v teplotním rozmezí 7 - 15 °C se sedimentací kvasnic na dně kvasné nádoby. K výrobě pšeničných piv a piv typu Ale se používají svrchní pivovarské kvasinky s teplotním rozmezím 18 - 22 °C, které nesedimentují a vytvářejí na hladině kvasné deky.

V průběhu hlavního kvašení dochází k neúplnému zkvašení cukerných látek z extraktu, přičemž vniká etanol, oxid uhličitý a řada metabolitů. Hlavní kvašení probíhá buď na spilce v tradičních otevřených kádích nebo v dnes stále více rozšířených cylindro - kónických nerezových tancích (CKT).

Dokvašování a zrání piva probíhá v ležáckých sklepích, přičemž doba a teplota zrání je závislá na typu piva. Dále se pivo filtruje a stabilizuje, případně pasterizuje a plní do ošetřených lahví, sudů či menších tanků a je skladováno pro expedici (Basařová a kolektiv 2010; Kosař a Procházka 2000).

3.3 Pěnivost piva a oxid uhličitý

Pěnivost piva obvykle ovlivňuje obsah pěnotvorných bílkovin. Ve sladu je obsaženo 7 - 16 % bílkovin v sušině, přičemž jejich obsah je ovlivněn pěstebními

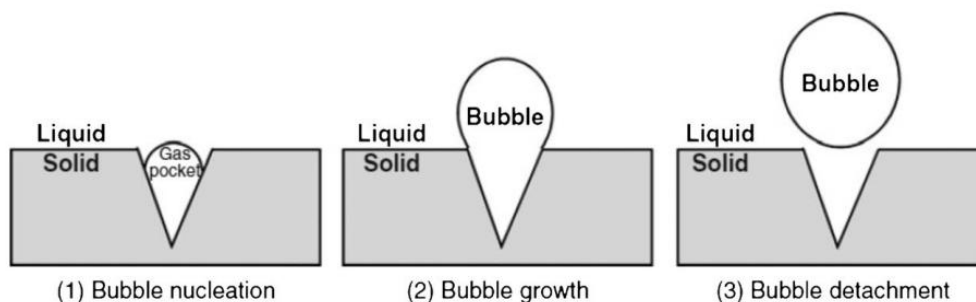
postupy, klimatickými vlivy a zejména sladováním. Při sladování dochází kromě jiných procesů k štěpení bílkovin, které může vést ke vzniku jednotlivých aminokyselin a peptidů s nízkou pěnovou schopností. Pěnovost mohou podporovat i β glukany či arabinoxylany, které zvyšují viskozitu piva, dále také melanoidní látky. Tyto vlivy jsou ale zatím sporné.

Při analýze pěnovosti bylo zjištěno, že na pěnovost sladin, mladín a piva má vliv také obsah látek urychlujících rozpad pěny, jako jsou např. mastné kyseliny pocházející ze sladu a vysoký obsah etanolu (Basařová 2015; Šavel a Košin 2013).

Balené pivo obvykle obsahuje 4 – 5 g CO₂/l. Za normálních okolností se po otevření piva sníží tlak v hrdle lahve a naruší se tak rovnováha mezi obsahem CO₂ rozpuštěného v pivu a v plynné fázi. Dochází tak k přechodu oxidu uhličitého z kapalné fáze na plynnou. Pomalu se pak uvolňuje z roztoku ve formě bublin. Ihned po otevření je hmotnostní tok CO₂ největší a postupně klesá. V případě gushingu dochází k nekontrolovatelnému uvolnění oxidu uhličitého, přičemž se spolu s oxidem uhličitým z lahve vyřine i pivo. Ačkoli samotné přesycení oxidem uhličitým gushing nezpůsobí, zvýrazní jeho projevy a zvýší množství vypěněného piva (Bamforth 2009).

Při pomalém otevírání piva se může uvolnit pouze minimum oxidu uhličitého. Je to způsobeno množstvím rozpuštěných látek, které znemožňují jeho rychlý únik z lahve. Fyzikální vlastnosti nápoje totiž výrazně ovlivňují přenos CO₂ z nápoje do hrdlového prostoru lahve, protože na nich závisí rychlost vzestupu bublinek a tím i doba difuze CO₂ z nápoje. Naproti tomu po intenzivním třepání vypění každé pivo. Rozpustnost oxidu uhličitého ve vodě je ve srovnání s ostatními plyny vysoká, což je způsobeno jeho polární povahou. Je také ovlivněna teplotou - při nízkých teplotách je CO₂ v nápoji lépe rozpuštěn (Bamforth 2009; Šavel a Košin 2013).

Vznik bublin je přičítán stabilním jádrům nerozpuštěného plynu, která mohou být v např. v submikroskopických trhlinkách nesmáčivého povrchu nádoby. Můžeme tedy říci, že formace nových bublin po otevření lahve je velmi malá, ve skutečnosti jich vzniká velký počet již před otevřením (Shokribousjein a Deckers 2011).



Obr. č. 6 Vznik bubliny (Bamforth 2009)

Důležitým parametrem při popisu úniku mikrobublin je kritérium udávající schopnost mikrobublin opustit pevný povrch a stoupat k hladině. Mnoho úsilí bylo věnováno analýze sil působících na bublinu, které jsou potřebné k jejímu vzniku a odtržení. Zjednodušeně můžeme tuto práci popsat podle Krauseho:

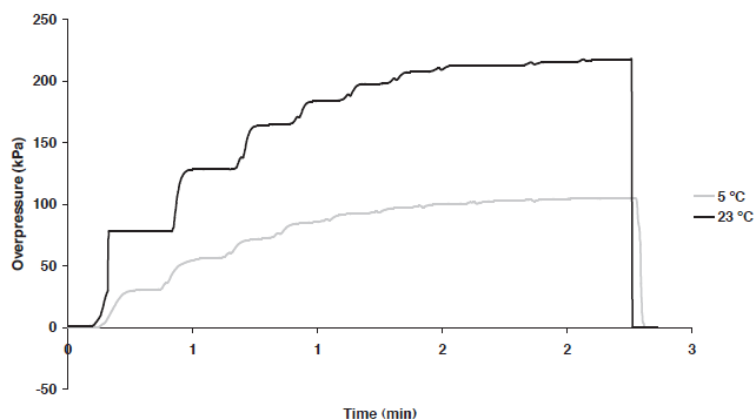
Práce potřebná ke vzniku bubliny byla spočítána roku 1936 Krausem

$$W = \frac{3}{4} \cdot \pi \cdot \sigma \cdot r^2 \quad \text{kdy } \sigma \text{ je povrchové napětí a } r \text{ poloměr.}$$

Ze vzorce je jasné, že množství práce je přímo závislé na povrchovém napětí bublinu obklopující kapaliny. Při snížení povrchového napětí dochází k formaci většího množství mikrobublin. Po otevření lahve se v hrdle sníží tlak a mikrobubliny expandují. To vede k nerovnováze mezi kapalinou silně přesycenou oxidem uhličitým a oxidu uhličitému nahromaděnému v hrdle lahve. Plynné molekuly oxidu uhličitého difundují z přesycené tekutiny ve formě mikrobublin směrem k povrchu hladiny a vytváří viditelnou pěnu. O rychlosti uniku plynu z pevných částic rozhoduje síla vazby mikrobublin k pevnému povrchu. Bubliny se mohou i dělit a jejich zbytky tak slouží jako zárodek pro další. Iniciovat vznik a odtržení bublin je možné i snížením tlaku (Bamforth 2009; Šavel a Košin 2014b).

Pokud se vytvoří velké množství bublin, tekutina je spolu s plynem unášena ven z lahve – dochází ke gushingu. S nižším povrchovým napětím jsou bubliny více nestabilní a zvyšuje se tak riziko gushingu. Tímto můžeme vysvětlit, proč tenzidy fungují jako látky vedoucí ke gushingu (Šavel a Košin 2014a).

Závislost gushingu na teplotě bývá popisována jako zvýšení gushingového potenciálu při skladování při nízkých teplotách a otevírání piva při vysokých teplotách. Samozřejmě velký vliv má i skladování a mechanický pohyb.



Obr. č. 7 Nárůst tlaku při desetinásobném obrácení láhve s piva při teplotě 5°C a 23°C (Šavel a Košin 2015)

Gushing může být dočasně eliminován pomocí repasterizace či vystavení vysokému tlaku, kdy dojde k rozpuštění mikrobublin (Šavel a Košin 2014b).

3.4 Gushing

Gushing můžeme popsat jako samovolné vypěnění piva z láhve ihned po jejím otevření bez předchozího třepání. Mechanismem gushingu je přeměna oxidu uhličitého rozpuštěného v pivu po otevření lahve na plyn a jeho následné vyřinutí v podobě pěny z hrdla lahve. Ačkoli je pivní pěna u tohoto nápoje velmi důležitým znakem při posuzování kvality a pivní znalci si na ní velmi zakládají, vynesení pivní pěny z lahve v případě gushingu působí především negativně a pro pivovary představuje ekonomické ztráty, případně i poškození dobrého jména značky. Navíc to není ojedinělá záležitost.

Podle průzkumu provedeného Niessem se v Německu setkala s gushingem více než 50 % pivovarů. Důležité je také zmínit, že gushing není pouze doménou piva, ale i jiných sycených nápojů jako jsou cidery, sycené ovocné nápoje nebo šumivá vína. V literatuře se můžeme setkat také s pojmem jumping beer (Niessen a Bohm-Schraml 1993; Boulton 2013).



Obr. č. 8 Gushing (Vlastní tvorba)

Přepěňování piva je známo od dob, kdy se začalo pivo plnit do lahví, tedy kolem roku 1650 v Anglii. První vědecké články o výzkumu gushingu se objevily až na začátku 20. století. Vzhledem k tomu, že je gushing velmi komplexní jev a bylo dosud popsáno velké množství příčin, které ho více či méně způsobují nebo ovlivňují, nebyl mechanismus jeho vzniku i přes velké množství výzkumů zcela objasněn (Sarlin 2012; Specker 2014).

V průběhu let bylo používáno několik různých dělení a termínů pro rozeznávání druhů gushingu. Vogel v roce 1949 rozdělil přepěnění piva na tři kategorie podle příčiny. Piva, která přepění na základě mechanického pohybu před otevřením – tzv. mishandled beer, piva přesycená oxidem uhličitým nebo obsahující nadměrné množství vzduchu – tzv. wild beer, a gushingová piva, která přepěňují z jiných než uvedených důvodů (Bamforth 2009).

Setkat se můžeme také dělením na gushing letní a zimní, které vzniklo na základě gushingového potenciálu piva skladovaného při nízkých a vysokých teplotách. Podle tohoto dělení piva skladovaná při teplotách 25 - 45 °C v případě přepěnění představují letní gushing a piva skladovaná při teplotách pod 20 °C zimní gushing. Později byl popsán letní a zimní gushing. Letní typ gushingu byl považován za stejný jako byl často pozorován v Evropě a byl připisován sladu. Toto dělení se příliš nerozšířilo a dnes se téměř nepoužívá.

Podle původce vzniku gushingu se nejčastěji v literatuře rozlišuje dělení na primární a sekundární gushing, které pochází od Gjertsena z roku 1963. Primární gushing je spojen s látkami obsaženými ve sladu, kdežto sekundární gushing je způsoben technologickými operacemi v průběhu výroby piva. Primární gushing je úzce navázán na kvalitu a odrůdu sladu a jeho výskyt lze přirovnat k epidemiím, kdy jeho výskyt bývá zaznamenán ve více pivovarech najednou (Bamforth 2009; Boulton 2013).

Někdy se termín primární gushing neomezuje jen na slad, ale i na ostatní suroviny k výrobě piva. Jeho výskyt je sezonní záležitostí, často je tak byl spojován s ročníkem sklizně a potencionálním pomnožením plísní v ječmeni v případě vlhkého počasí. Dnes je však zřejmé, že příčin gushingu je mnohem více. Termín plísně není přesný, i když je všeobecně používán. Z mikrobiologického hlediska je správný termín vláknité mikroskopické houby (Kalhotka 2014; Bamforth 2009).

Naproti epidemickému výskytu primárního gushingu se sekundární gushing vyskytuje spíše ojediněle pouze v jednom pivovaru či u jedné šarže, např. vlivem nevhodné technologie výroby, ošetření či balení piva.

Míra schopnosti piva způsobovat gushing je nazývána gushingový potenciál. Velmi špatně se stanovuje, neboť intenzita gushingu je mimo jiné závislá na nasycenosti oxidem uhličitým, rychlosti otevření lahve, teplotě piva při otevření a pohybu s lahví před otevřením (Basařová 2015).

3.4.1 Příčiny primárního gushingu

Naproti sekundárnímu gushingu se primární gushing vyskytuje opakovaně a v epidemiích po extrémně vlhkých létech. Hlavní příčinu primárního gushingu představuje zejména mikroflora zrna. Ječné obilky obsahují množství mikroorganismů již během růstu a jejich obsah se zvětšuje v průběhu sklizně a hlavně skladování. Sklizený ječmen obsahuje velké množství kvasinek, bakterií i plísní, přičemž jeho mikroflora se mění i během skladování (Bamforth 2009).

Už Curtis v roce 1961 spekuloval, že příčiny přepěňování piva pochází ze sladu určeného k jeho výrobě. Dokonce se předpokládalo, že plísněvé infekce zrna ječmene houbami z rodu *Fusarium*, jsou nejpravděpodobnější příčinou gushingu. V dnešní době tuto dřívější hypotézu, že přepěňování piva souvisí s napadením obilky ječmene mikroskopickými vláknitými houbami, považujeme za všeobecně přijímaný fakt.

Zaplísnění obiliek kromě gushingu zapříčiňuje i offflavour (cizí příchut') a předčasnou flokulaci kvasnic (Poštulková 2013).

Mezi nejčastější potencionální příčiny gushingu je dnes řazen výskyt plísní na povrchu zrna ječmene. Plísně se vyskytují všude kolem nás obvykle v podobě spor. V příhodných vlhkých podmínkách prorůstají obilku ječmene, a kromě výskytu jejich různě zbarvených kolonií jsou i potencionálními producenty mykotoxinů a řady dalších metabolitů (Gregor 2012; Priest a Campbell 2003).

Takto způsobený gushing postihuje celý objem produkce piva vyrobeného z jedné šarže sladu vyrobeného z jedné odrůdy ječmene a pocházejícího z určité oblasti. Není jednoduché jej eliminovat, a to především při sklizních, kdy vlhké počasí působí ve prospěch růstu plísní. Tyto problémy jsou rozsahem větší hlavně pro piva, kde je použit k výrobě jen slad z ječmene. Při použití náhražek sladu, i když pouze z části, dochází k rozptýlení a zmírnění dopadů zaplísňeného ječmene na gushing (Bamforth 2009; Laitila 2007).

Bylo zjištěno, že druhy jako *F. graminearum*, *Fusarium moniliforme*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* a *F. sporotrichioides* mají na gushing větší vliv než ostatní plísně z rodu *Fusarium* (Sarlin 2012). Avšak i jiné mikroskopické plísně jako *Aspergillus* spp., *Alternaria alternata*, *Microdochium nivale*, *Pyrenophora teres* nebo *Rhizopus stolonifer* jsou spojovány s výskytem gushingu. (Casey 1996).

Prokázalo se, že ke vzniku gushingu je důležitá aktivní činnost plísní během sladování. Plísně jakožto hlavní příčina gushingu se vyskytují u ječného i pšeničného sladu (Basařová 2015).

Chemická povaha látek pocházejících z plísní není stále jednoznačně prozkoumána, stále více se však potvrzuje teorie, že jsou bílkovinného charakteru, přičemž nejvýznamnějšími původci gushingu jsou peptidy.

Isolated from	Chemical structure	Molecular weight	Concentration needed for gushing
<i>Nigrospora</i> sp.	Polypeptide	16.5 kDa	0.05 ppm
<i>Stemphylium</i> sp.	Peptidoglycan	nd	4 ppm
<i>Fusarium graminearum</i>	Hexapeptide	nd	0.4 ppm
<i>Penicillium crysogenum</i>	Cyclic tetrapeptide	nd	0.3 ppm
Northern European Malt	Peptide-like	10 kDa	0.5 ppm

nd: not determined.

Obr. č. 9 Vlastnosti gushingových faktorů produkovaných různými houbami (Sarlin a Nakari-Setälä 2005)

Z pohledu zdravotní nezávadnosti jsou důležité toxické sekundární metabolity mikroskopických hub – mykotoxiny. Jejich maximální výskyt v obilovinách je však limitován Nařízením Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. 12. 2006 v aktuálním znění (ES 2006).

V našich klimatických podmínkách jsou nejrozšířenější mykotoxiny produkované *Fusarii* – tzv. fuzáriové mykotoxiny. Tyto tzv. “polní mykotoxiny“ poškozují zrno především v předsklizňovém období, odtud pochází jejich název polní. Za příznivých podmínek přitom mohou růst i během skladování. V pivovarnictví mají význam především trichothecenové mykotoxiny. Nejčastěji se vyskytující trichothecenový mykotoxin je deoxyvalenol (DON). DON, tak jako ostatní mykotoxiny produkované houbami *Fusarium spp.*, je odolný vůči tepelnému ošetření a přechází až do piva (Deckers a Vissers 2012; Justé a Malflied 2011).



Obr. č. 10 Fuzária na klasu ječmene (Nesvadba a Horáčková 2009)

Přechod různých druhů mykotoxinů do piva je závislý na jejich rozpustnosti a stabilitě. DON patří k mykotoxinům dobře ve vodě rozpustným, na rozdíl od např. dalšího legislativně limitovaného mykotoxinu, zearalenonu (ZEA). Maximální povolený obsah DON v pšenici, ječmeni a žitu je 1250 µg/kg. Produkce deoxyvalenolu v průběhu sladování kolísá a je závislá na poškození obilí, na odrůdě ječmene i na technologických podmínkách sladování (Běláková a Benešová 2012; Sedláčková a Polišenská 2013).

K nejrozšířenějším druhům rodu *Fusarium* v Evropě a v severní Americe patří *F. graminearum* a *F. culmorum*, které jsou významnými patogeny způsobujícími

onemocnění klasů obilovin označované v zahraniční literatuře FHB (Fusarium head blight), česky klasová fuzária či fuzáriové vadnutí klasu. Jejich výskyt je spojován s výskytem mykotoxinů, zejména pak DON v obilovinách. Fuzáriové infekce jsou častější, pokud je ve vegetačním období plodin vysoká vlhkost spojená s častými srážkami (Sedláčková a Polišenská 2013; Specker 2014).

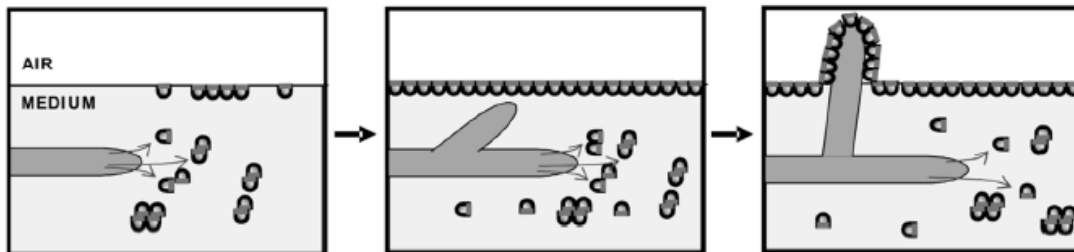
Velmi často sledovanou látkou je NGF (Nigrospora gushing faktor), která pochází z plísní z rodu *Nigrospora*. Je to bílkovinný faktor s molekulovou hmotností 16 500, izoelektrickým bodem 4 a s hydrofobní povahou. Zajímavé je, že je aktivní i po dvou hodinách varu a jeho aktivita nebyla ovlivněna ani proteolytickými enzymy. NGF je rozpustný ve vodě, tepelně stabilní, povrchově aktivní. Analýza aminokyselin pak ukázala, že NGF neobsahuje čtyři základní aminokyseliny, a to metionin, histidin, tyrosin a tryptofan. Zato však obsahuje 16 cysteinových zbytků, které tvoří 8 intramolekulárních disulfidových vazeb. Jeho gushingový potenciál souvisí s oxidačně redukčními změnami disulfidických vazeb bílkovin. Látky podobné NGF byly izolovány také z plísní *Stephylium* a *Fusarium* (Poštulková 2013; Basařová 2015).

V posledních výzkumech se pozornost zaměřila na hydrofobiny, kterým je z hlediska gushingu aktuálně připisován zásadní vliv. Tyto malé proteiny jsou produkovány dimorfními kvasinkami a vláknitými houbami. Druh produkovaných hydrofobinů se mění na životním stadiu mikroorganismu a na jeho druhu. Molekulová hmotnost hydrofobinů je většinou mezi 7 – 15 kDa, mají globulární tvar a průměr 2 – 3 nm (Postulkova et al. 2016).

Hydrofobiny se objevují již tři týdny po vysetí ječmene a jejich tvorba pokračuje v průběhu růstu obilí. Hydrofobiny jsou produkovány i v průběhu sladování, hlavně během máčení a klíčení. Slad obsahuje desetinásobné množství hydrofobinů než ječmen, ze kterého byl vyroben. V pivu lze nalézt asi desetinou koncentraci hydrofobinů než ve sladu. Koncentrace potřebná k vyvolání gushingu záleží na druhu hydrofobinů a plísní, ale udává se, že stačí již 1 mg/l a někdy i méně (Sarlin a Nakari-Setälä 2005).

Hydrofobiny se podílejí na stabilizaci malých bublin CO₂ v lahvovém a plechovkovém pivu. Teorie vychází z předpokladu, že bublina CO₂, která by se za běžných podmínek rozpustila, je obalena hydrofobinovou monovrstvou, jež ji vysoce stabilizuje, a tím pádem vytváří jádro pro vznik a růst další bubliny na principu heterogenní nukleace (Deckers et al., 2010). Dle jiné teorie vytvářejí hydrofobiny

nejprve micely, které poté rostou difúzí CO_2 z okolní kapaliny do jejich hydrofobního jádra (Christian a Titze 2010).

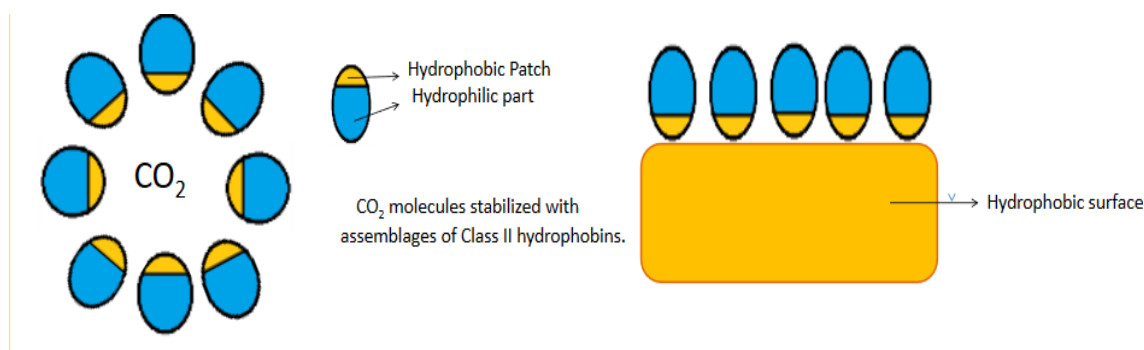


Obr. č. 11 Role hydrofobinů při růstu hyf plísní (Szilvay 2007)

Hydrofobiny dělíme dle vlastností do dvou tříd. Schopnost pěnit mají obě dvě skupiny hydrofobinů, přičemž silnější pěnicí schopnost mají hydrofobiny z Třídy II, které způsobují gushing.

Ve vodě rozpustné hydrofobinové monomery obsahují osm cysteinových zbytků, které tvoří disulfidové můstky, a to vždy specifickým způsobem v rámci určité aminokyselinové sekvence. Aromatické aminokyseliny jako je tyrosin a tryptofan chybí vždy, metionin a histidin se v hydrofobinech občas vyskytovat mohou. Právě na základě zjištění o aminokyselinové a strukturální podobnosti se prokázalo, že NGF jsou totožné s dimerními hydrofobiny (Poštulková 2013).

Použitím kontaminovaného ječmene v pivovarnictví jsou hydrofobiny přenášeny do hotového piva, kde mohou způsobovat gushing. Naštěstí neplatí, že když pivo přepěňuje na základě obsahu hydrofobinů z plísní, tak vždy obsahuje i mykotoxiny. Stejně to platí i naopak. I když můžeme říci, že pravděpodobnost výskytu mykotoxinů bude větší. Není tedy možné predikovat gushing pouze na základě obsahu jedné z výše jmenovaných látek (Gregor 2012; Bamforth 2009).



Obr. č. 12 Stabilizace molekuly oxidu uhličitého pomocí hydrofobinů II. Třídy (Shokribousjein a Bajoukkakahi 2012)

Fungispuminy jsou stejně jako hydrofobiny a ns-LTP povrchově aktivní proteiny. Nejsou přímými induktory gushingu, jeho projevy však zvýrazňují. Podobně se chová i protein ns-LTP1 (nespecifický protein reagující s lipidy, non specific lipid transfer protein) pocházející z ječmene. Při podpoře gushingu se uplatňují zřejmě jeho degradační produkty. Zapfel a kol. (2006) klonovali ns-LTP pomocí kvasinek, ale nezjistili žádný gushingový potenciál této látky (Bamforth 2009).

3.4.2 Příčiny sekundárního gushingu

Sekundární gushing není považován za natolik závažný problém jako primární gushing. Je spíše ojedinělý, a pokud se vyskytne, jedná se o problém jednoho pivovaru. Je možné mu předcházet správnou technologií při výrobě. Příčin sekundárního gushingu je známo mnoho. Mezi časté patří krystalky šřavelanu vápenatého, mikrobublinky jiných plynů – např. vzduchu či dusíku, větší množství kyslíku v hrdlovém prostoru lahve, nepravidelný a drsný povrch lahví, zbytky detergentů a jiných povrchově aktivních látek tvořících micely, pevné částice uvolněné z korunek či z filtrů – např. z křemeliny, nečistoty z lahví, mikroorganismy – nejčastěji kvasinky a plísně.

Dále mohou sekundární gushing způsobit nerozpustné zákaly piva, ionty kovů, polyfenoly z chmelových pelet a izomerované chmelové extrakty. Gushingový potenciál může být podpořen i turbulentním plněním lahví, velkým objemem volného hrdlového prostoru, teplotou a dobou skladování piva, pozicí lahve a jejím mechanickým namáháním během dopravy a skladování, ale také teplotou při otevírání piva (Bamforth 2009; Basařová a kolektiv 2010).

3.4.2.1 Šťavelany

Při zvýšeném obsahu šťavelanů ve sladu a následně v pivu a dostatku vápenatých iontů ve varní vodě dochází ke vzniku krystalků šťavelanu vápenatého. Šťavelan vápenatý existuje ve třech krystalických formách, přičemž vytvořené krystalky indukují tvorbu mikrobublin oxidu uhličitého. Kritická koncentrace vápenatých iontů z hlediska gushingu je 60 mg/l a šťavelanů 20 - 30 mg/l (Niessen a Bohm-Schraml 1993).

Proto je vhodné při výrobě piva kontrolovat koncentraci vápenatých iontů a ujistit se, že většina šťavelanu vápenatého byla vysrážena již před filtrací. Proces lze ovlivnit použitím tvrdé vody nebo přidáním vápenatých iontů v podobě chloridu vápenatého před filtrací a vyhnout se tak jejich vyšší koncentraci po filtraci (Gregor 2012).

K predikci gushingu je možné použít výpočet koeficientu Q, který udává poměr mezi obsahem vápníku a oxalátu. Rozdíly v obsahu šťavelanů existují mezi pšeničným a ječným sladem. V pšeničném sladu nalezneme více šťavelanů než v ječném, vápenatých iontů je zase více v ječném sladu než pšeničném (Basařová 2015).

3.4.2.2 Ionty kovů

Některé těžké kovy jako např. Fe, Sn, Ti, U, Y, La, Bi, Ni a Mo mohou vyvolávat gushing. Železité ionty jakožto původce přepěňování jsou známy již dlouho. Proto je podstatné vyhnout se jejich vysokým koncentracím v pivu, což je nezanedbatelné i z hlediska chuťových vjemů. Přesný mechanismus vzniku mikrobublin za přispění kovových iontů zatím nebyl objeven. Je však známa teorie, že po vzniku uhličitánu železitého v pivu dojde díky této sloučenině k stabilizaci mikrobublin a následně ke zvýšení gushingového potenciálu. Přídavek EDTA, která tvoří komplexní sloučeniny s ionty kovů, inhibuje gushing způsobený kovovými ionty (Basařová 2015; Bamforth 2009).

V dnešní době je navíc obsah těchto kovů v pitné vodě i surovinách přísně sledován a jejich koncentrace jsou obvykle stopové. Pravděpodobnost, že by byly původci gushingu je tedy minimální (Gregor 2012).

3.4.2.3 Lahve

Vliv na sekundární gushing má i tvar lahve. Všeobecně více přepěňují piva v lahvích širších a větších objemech, s volným místem v hrdlovém prostoru. Zajímavá je i závislost vyplnění hrdlového prostoru různými plyny. Intenzita gushingu pak klesá v pořadí vzduch, oxid uhličitý, kyslík, vodík, vzduch a dusík.

Vhodným prostředím pro vznik mikrobublin jsou také nečistoty v lahvích, koroze lahví, zbytky detergentů po čištění a nerovnosti či jiné narušení povrchu. Problémem je i růst plísní na narušeném povrchu lahví. Z těchto důvodů je velmi důležitá důkladná kontrola lahví před plněním (Bamforth 2009).

3.4.2.4 Izomerované chmelové extrakty

Izomerované chmelové extrakty (ICHE) neboli iso-humulony byly používány dříve při výrobě piva, přidávaly se po chmelovaru ke zvýšení hořkosti piva a snížení finančních nákladů. Pivovary ale po jejich používání pozorovaly větší výskyt gushingu. Později bylo zjištěno, že dehydratovaná kyselina humulonová funguje jako silný gushingový promotér. Některé izomerované chmelové extrakty jí obsahují až 5 %, přičemž některé její deriváty podporují gushing ještě více (Basařová 2015).

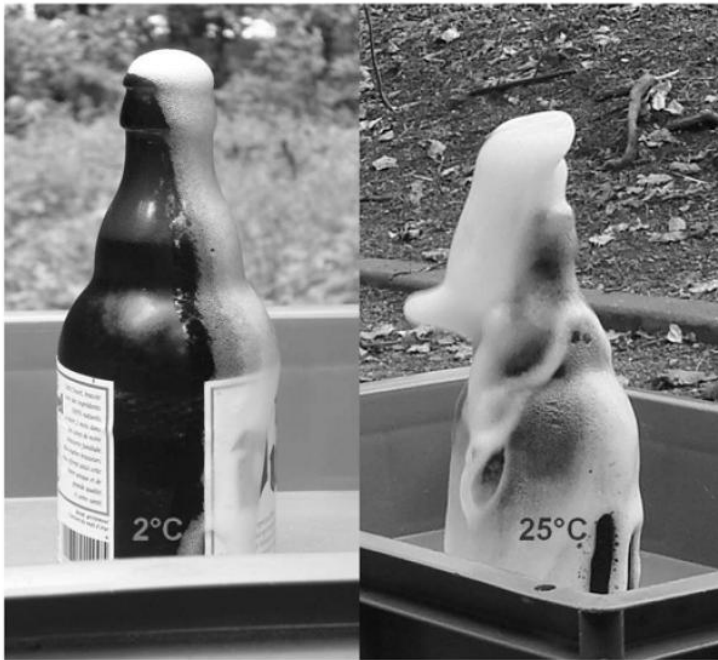
Dalším faktorem v rámci ICHE s prokazatelným vlivem na gushing jsou oxidační a degradační produkty iso-alfa hořkých kyselin. Z tohoto důvodu se od této praxe upustilo a pro sládky je v jeho zájmu ICHE nepoužívat, neboť používáním hlávkového chmele či chmelových pelet je tento jev minimalizován. Dá se tedy říci, že tato příčina gushingu není pro aktuální praxi příliš důležitá (Gregor 2012; Bamforth 2009)

V chmelu a chmelových derivátech byly prokázány látky potlačující (hořké kyseliny) a látky vyvolávající gushing (oxidační produkty chmelových látek nebo jejich hydrogenované deriváty). Mezi látky potlačující gushing patří také polyfenoly a hořké látky chmele, jejichž obsah závisí na odrůdě. Dále polynenasycené mastné kyseliny a lipidy chmele (Bamforth 2009; Shokribousjein 2014).

3.4.3 Faktory ovlivňující gushing

<i>Podporující gushing</i>	<i>Potlačující gushing</i>
SUROVINY	
Ječmen poškozený počasím	
Plesnivý ječmen a slad	Kultury mléčných bakterií při sladování
Vysoký obsah nasycených mastných kyselin	
Nízký obsah nenasycených mastných kyselin	Přídavek nenasycených mastných kyselin
Vysoký obsah šťavelové kyseliny	Úprava varní vody
Obsah Ca nad 40 mg/l	Úprava varní vody
Varní voda s kationty kovů (např. Fe, Al, Co)	Úprava varní vody
Oxidační produkty hořkých pryskyřic	Přídavek isohumulonů po chmelovaru
Redukované chmelové extrakty	Chmelové silice, linalool
Dehydratační produkty kyseliny humulonové	Vyšší chmelení
TECHNOLOGIE	
Neodvzdušněné absorbenty	Stabilizační filtrace nylonem
Málo rozpustné plyny (dusík)	Přídavky xerogelů a bentonitů
Stabilizace papainem (zimní gushing)	Vyšší aktivita kyselých proteas
Nezucukřený škrob z varny	Přídavek kyseliny askorbové (3-6 g/hl)
Vyšší teplota rmutování	
Vyšší teplota dokvašování	
Turbulentní plnění lahví	Pasterace
PIVO, OBALY, SKLADOVÁNÍ	
Hydrofobní bílkovinné produkty plísní	Alfa hořké kyseliny
Nespecifické proteiny (ns-LTP)	Cohulupon
Ionty kovů (1-2 mg/l) – Fe, Ni, Co, Sn	Vyšší obsah komplexotvorných látek
Šťavelan vápenatý	
Zbytková proteolytická aktivita	
Vysoká viskozita	
Pevné částice (křemelina, SiO ₂)	
Studené skladování (zimní gushing)	
Vysoký obsah CO ₂	
Velký hrdlový prostor	
Zbytky mycích prostředků	
Nepasterované pivo	
Horizontální poloha při transportu	

(Basařová 2015)



Obr. č. 13 Rozdíl v gushingu při otevírání stejné lahve piva při 2°C ($G = 10$ g) a při 25°C ($G = 132$ g) o objemu 330 ml (Deckers a Vissers 2013)

3.5 Možnosti redukce gushingu

Ačkoli by se někomu mohlo zdát, že redukovat gushing je možné až správnou technologií při výrobě piva, opak je pravdou. Velký důraz je kladen již na pěstování ječmene a vhodný výběr fungicidů k jeho ošetření během růstu. Efektivním řešením by mohlo být i použití geneticky modifikovaného ječmene, který je rezistentní vůči houbám z rodu *Fusarium* (Postulkova et al. 2016).

Důraz je kladen i na potlačení plísní během sladování. Což je možné zařídit pomocí horké vody, peroxidu vodíku, formaldehydu či ozonu. Vystavení horkým vodám o teplotách 45 °C nebo 50 °C po dobu 15 minut se infekce *Fusarium spp.* snížila z 32 % na 1 - 2 % jen s malým snížením klíčivosti. Přídavek peroxidu vodíku jako antimikrobiální látky snižuje infekci *Fusarium spp.* o 50 - 98 % bez vlivu na klíčení. Použití formaldehydu o koncentraci 1000 mg/kg během máčení potlačuje růst *Fusarium spp.* Jeho používání v komerčních sladovacích procesech ale není kvůli jeho karcinogenně povoleno. Fungicidně působí i 0,16 mg ozonu na gram ječmene po dobu 5 minut, což zničí 96 % plísňových spor. Také ozařování v rozmezí dávek 6 - 8 kGy

snižuje infekce *Fusarium spp*, přičemž nedojde k velkému dopadu na klíčivost. Produkci plísňových induktorů je možné potlačit kulturami mléčných bakterií, které mohou být použity jako startovací kultury při sladování (Christian et al. 2011; Čížková a Dostálek 2006).

Většina mikroskopických hub i jejich spor je zničena vysokými teplotami během hvozdní, jejich metabolity ale jsou často tepelně stabilní i za vyšších teplot. Další možností je prodloužit skladování sladu, které může vést ke snížení množství látek způsobujících gushing.

V případě, že víme, že se jedná o slad s gushingovým potenciálem, je vhodné jej smíchat s jinou šarží sladu, která nemá tendence k přepěňování. Při vaření piva je třeba dát si pozor na množství šťavelanů, jejichž největší zdroj je slad. Možný je přídavek vápenatých solí (CaCl_2 nebo CaSO_4), přičemž vzniklý šťavelan vápenatý se zachytí při filtraci piva. Bohužel při použití vápenatých solí ve vyšší koncentraci může docházet k nepříjemným chuťovým změnám (Čížková a Dostálek 2006).

Možné je použití chmelových olejů a jiných chmelových preparátů, přičemž chmelové oleje jsou dobrými gushingovými inhibitory při koncentraci 1ppm. Bohužel ovlivňuje chuť piva, což není pro většinu konzumentů přijatelné. V centru zájmu je ocimen, který interaguje s hydrofobiny. Další významnou látkou izolovanou z chmele s potenciálem snižovat gushing je linalool (Postulkova et al. 2016).

Některé proteolytické enzymy (např. proteinasa A) degradují strukturu hydrofobinů. Jejich zdrojem jsou kvasinky. Část hydrofobních polypeptidů je vůči proteinase A rezistentní, zejména pěnivostní bílkovina LTP (Čížková a Dostálek 2006).

Použitím membránové filtrace (s póry o průměru 0,1 μm) je potlačen gushing. S použitím pórů o velikosti od 0,45 - 0,65 μm se gushing snižuje až na polovinu (Christian et al. 2011). Dalším preventivním opatřením potlačujícím gushing je snížení doby rmutování a chmelovaru a nepřekročení rmutovací teploty nad 80 °C. Z hlediska technologie je dobré zchlazení směsi po chmelovaru na dostatečně nízkou teplotu, kdy vznikne chladový zákal (Čížková a Dostálek 2006).

Použití materiálů s hydrofobním povrchem jako je aktivní uhlí, kaolin, nylon nebo PVPP vede k odstranění hydrofobinů pomocí adsorpce. Tato materiály ale nepříznivě ovlivňují kvalitu piva: snižují stabilitu pěny, hořkost a barvu (Čížková a Dostálek 2006; Postulkova et al. 2016).

Pasterace piva také snižuje jeho gushingový potenciál. V rámci laboratorních testů se zkoumá speciální lahev s vrstvou v hrdle lahve přitahující hydrofobiny, které po zachycení již nezpůsobí gushing (Postulkova et al. 2016).

3.6 Predikce gushingu

Rozmanitost faktorů způsobujících gushing velmi ztěžuje predikci gushingu a stejně tak i reprodukovatelnost gushingových testů. Byla zkoumána řada metod k predikci gushingu. Od laboratorních testů založených většinou na plnění sladového extraktu do matrice po jednoduché metody, které se věnují spíše eliminaci faktorů způsobujících gushing – např. vyhnutí se skladování zaplísňených zrn ječmene.

Kromě klasických testů je možné v pivu stanovovat také jednotlivé složky způsobující přepěňování – šťavelany, mykotoxiny či hydrofobiny. Vzhledem k limitům pro výskyt mykotoxinů daným legislativou se v praxi určují právě ony a jejich malý výskyt je brán jako předpověď nízké pravděpodobnosti gushingu.

Metody na stanovování jednotlivých složek způsobujících gushing jsou však vysoce specifické a vzhledem k množství příčin vyvolávajících i potlačujících gushing nemusí vždy jejich výsledky korespondovat s výsledným přepěňováním. Jsou však velmi užitečné při zkoumání dalších příčin a mechanismu gushingu.

Klasické gushingové testy se většinou používají pro stanovení sklonu sladu k přepěňování a existuje jich velké množství. Vzhledem k tomu, že výsledky ovlivňují i zdánlivé drobnosti jako je teplota, doba skladování, doba a intenzita třepání před otevřením lahví, je mnoho možností, jak se při obdobném postupu dopracovat různých výsledků.

3.6.1 Weihenstephaner test

Weihenstephaner nebo také Donhauserův test je založen na karbonizaci vychlazené sladiny při přetlaku 280 kPa a teplotě 4 °C. Nasycený substrát se nalije do standardní láhve a nechá se rotovat. Láhev se po 5 minutách odpočinku otevře a určí se rozdíl hmotnosti lahve před a po otevření. Svými podmínkami se co nejvíce snaží přiblížit skutečné výrobě piva. Jeho provádění je však zdlouhavé a vzhledem k nutnosti sycení

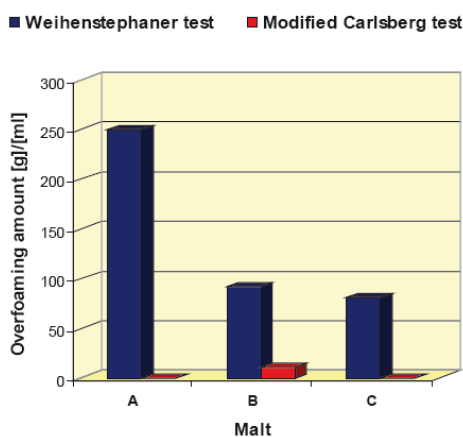
sladiny náročné na laboratorní podmínky pivovaru. Výhodou je vyšší citlivost testu (viz obr. č. 13) (Bamforth 2009).

3.6.2 Carlsberg test

Carlsberg test byl vymyšlen v návaznosti na Weihenstephaner test. Metoda na predikci gushingu založená na přidání extraktu sladového šrotu do standardizovaného piva, které je tři dny vystaveno třepání. Pomocí hmotnostního rozdílu lahve před a po otevření se určuje náchylnost piva ke gushingu. Metoda byla představena Vaagem na E. B. C. kongresu v roce 1993 (Basařová 2015).

3.6.3 Modifikovaný Carlsberg test

Modifikovaný Carlsberg test (MCT) je obdobou výše zmíněného Carlsberg testu. Rozdíl je v použití minerální vody sycené oxidem uhličitým (7 g/l CO₂) o objemu 0,33 l místo standardizovaného piva. Existuje i Dvojitě modifikovaný Carlsberg test (M²CT), kde se připravuje sladina z jemně mletého sladu kongresním způsobem.



Obr. č. 13 Gushing různých sladů testovaný Weinhenstephaner testem a modifikovaným Carlsberg testem (Christian a Ilberg 2009)

Tyto klasické metody pro stanovení gushingu mají výhodu v relativní nenáročnosti na vybavení laboratoře, ale jejich provedení je zdlouhavé a je složité obsáhnout větší množství vzorků. V průběhu času bylo vynalezeno hodně modifikací těchto testů.

K předpovědi gushingového potenciálu je možno použít také rychlost úniku CO₂ z lahve uvolněného v laboratorním plynoměru, objem piva vytlačeného z lahve či nárůst tlaku v hrdlovém prostoru (Šavel a Košin 2013).

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Pro účely této diplomové práce byly použity vzorky sladu z jednotlivých výrobních operací při výrobě sladu a hotový slad vyrobený sladovnou v Rajhradu. Slad byl ze sklizně ječmene v roce 2014 a 2015, přičemž byly vykupovány odrůdy Bojos, Sebastian, Maltz, Blaník, Kango, Petrus, Xanadu, a Laudis. Ječmen byl ve sladovně vykupován převážně od pěstitelů z Jihomoravského kraje.

K pokusům na zjištění vlivu změn metody na výsledný gushing a při optimalizaci metody byl použit slad s potvrzeným gushingovým potenciálem ze zdrojů Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Brně, přičemž není známa jeho odrůda a zeměpisný původ.

4.1.1 Popis odrůd vykupovaného ječmene

Bojos - sladovnická odrůda, preferovaná téměř všemi sladovny. Je doporučena Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským pro výrobu piva s CHZO „České pivo“. Rostliny středně vysoké, méně odolné proti poléhání. Zrno středně velké, podíl předního zrna vysoký. Rizikem je menší odolnost proti napadení rhynchosporiovou skvrnitostí.

Sebastian - sladovnická odrůda s výběrovou sladovnickou jakostí, preferovaná většinou sladoven. Rostliny nízké, méně odolné proti poléhání. Zrno středně velké až malé, podíl předního zrna středně vysoký až vysoký. Rizikem je střední odolnost proti napadení padlím travním na listu.

Malz - sladovnická odrůda, preferovaná téměř všemi sladovny. Je doporučena Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským pro výrobu piva s CHZO „České pivo“. Rostliny středně vysoké, méně odolné proti poléhání. Zrno středně velké. Rizikem je menší odolnost proti napadení padlím travním na listu a nízký výnos předního zrna v ošetřené variantě v řepařské oblasti a v obou variantách v bramborářské oblasti.

Blaník - sladovnická odrůda. Je doporučena Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským pro výrobu piva s CHZO „České pivo“. Rostliny středně vysoké až vysoké, méně odolné proti poléhání. Zrno středně velké až velké. Rizikem je nízký

výnos předního zrna v kukuřičné, řepařské a bramborářské oblasti a menší odolnost proti napadení hnědou skvrnitostí.

Kango - sladovnická odrůda, požadovaná některými sladovny. Rostliny středně vysoké, méně odolné proti poléhání. Zrno středně velké až velké, podíl předního zrna vysoký. Rizikem je menší odolnost proti napadení padlím travním na listu a rhynchosporiovou skvrnitostí.

Petrus - sladovnická odrůda. Je doporučena Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským pro výrobu piva s CHZO „České pivo“. Rostliny středně vysoké, méně odolné proti poléhání. Zrno velké. Předností je velmi vysoký výnos předního zrna v neošetřené variantě v obilnářské oblasti a vysoký výnos předního zrna v obou variantách v kukuřičné a řepařské oblasti. Rizikem je menší odolnost proti napadení rhynchosporiovou skvrnitostí.

Xanadu - sladovnická odrůda s výběrovou sladovnickou jakostí, preferovaná některými sladovny. Rostliny středně vysoké, méně odolné proti poléhání. Zrno středně velké. Rizikem je menší odolnost proti napadení rzi ječnou a nízký výnos předního zrna ve všech oblastech.

Laudis - sladovnická odrůda s výběrovou sladovnickou jakostí. Je doporučena Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským pro výrobu piva s CHZO „České pivo“. Rostliny středně vysoké, středně až méně odolné proti poléhání. Zrno středně velké až malé. Předností je vysoký až velmi vysoký výnos předního zrna v neošetřené variantě pěstování ve všech oblastech (Psota 2015).

4.1.2 Fungicidy použité při pěstování vykupovaného ječmene

Atlas 0,2l/ha

Argea Plus 0,4l/ha

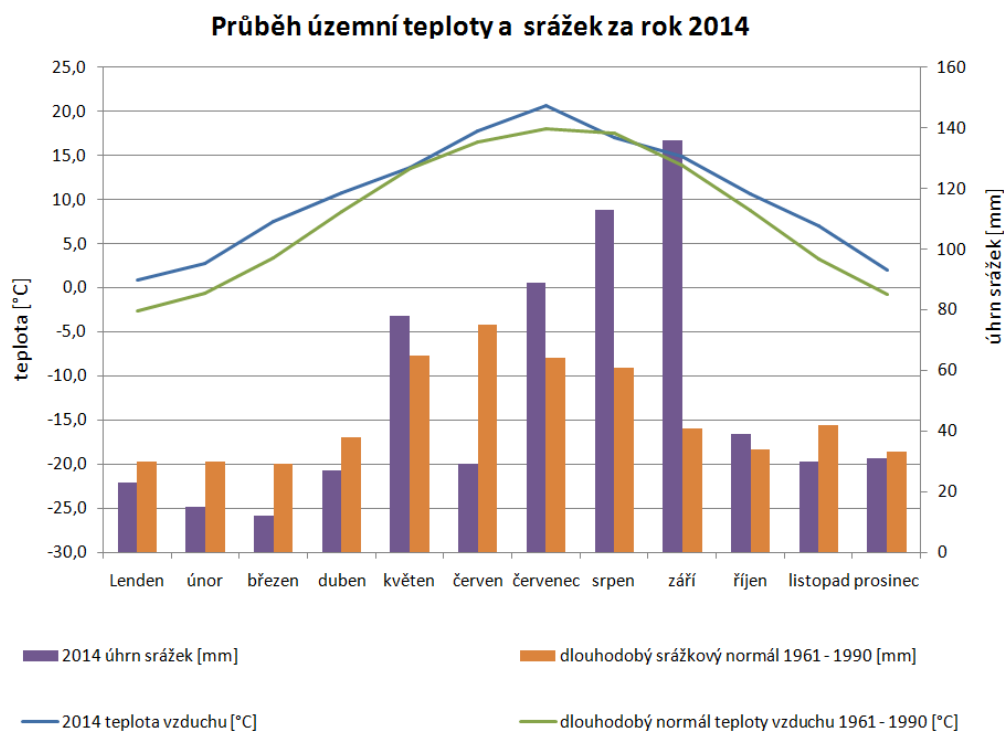
Tango Super 1l/ha

Pumper Super 1l/ha

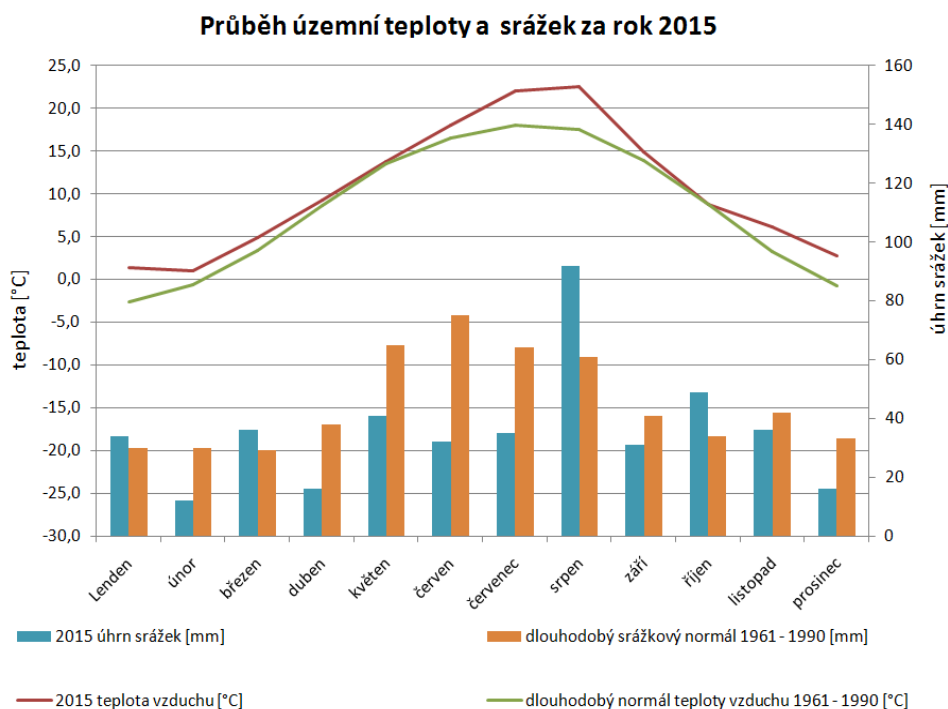
4.1.3 Podnebné podmínky v roce 2014 a 2015 v Jihomoravském kraji ve srovnání s dlouhodobým průměrem

Měsíc	2014 úhrn srážek k [mm]	2015 úhrn srážek [mm]	dlouhodobý srážkový normál 1961 - 1990 [mm]	2014 teplota vzduchu [°C]	2015 teplota vzduchu [°C]	dlouhodobý normál teploty vzduchu 1961 - 1990 [°C]
Leden	23	34	30	0,9	1,4	-2,6
únor	15	12	30	2,8	1,0	-0,6
březen	12	36	29	7,5	4,9	3,4
duben	27	16	38	10,8	9,3	8,6
květen	78	41	65	13,6	13,8	13,5
červen	29	32	75	17,8	18,1	16,6
červenec	89	35	64	20,7	22,0	18,1
srpen	113	92	61	17,1	22,6	17,6
září	136	31	41	14,9	14,9	13,9
říjen	39	49	34	10,6	8,8	8,8
listopad	30	36	42	7,0	6,1	3,3
prosinec	31	16	33	2,0	2,7	-0,7
suma rok	622	430	543	10,5	10,5	8,3

Tabulka č. 1 Podnebné podmínky (ČHMÚ 2016)



Graf č. 1 (Vlastní konstrukce)



Graf č. 2 (Vlastní kostrukce)

4.2 Technologie výroby sladu ve sladovně Rajhrad

Příjem, čištění, a skladování ječmene

Při příjmu je odebírán vzorek, který prochází kontrolou v laboratoři, přičemž musí splnit požadavky sladovny. Je stanovován přepad zrna, obsah bílkovin, vlhkost a obsah škrobu. V případě, že je vše v pořádku, je ječmen automaticky zvážen, vysypán do zásobního koše, odkud přes čistící stolicu putuje do hradí nebo sil.

Máčení ječmene

Máčení se provádí třídenní se třemi vodami, přičemž obvyklá délka namáčky je 5 hodin a délka vzdušné přestávky 17 h. Teplota vody je 12 °C a teplota vzduchu 18 °C. Na konci namáčky je dosaženo stupně domočení 45 %.

Klíčení ječmene

Klíčení probíhá na humnech 4 – 5 dnů při teplotě kolem 18 °C. Obracení sladu se provádí maltomobilem. Na konci klíčení dosahuje stupeň domočení asi 44 %.

Hvozdění ječmene

Celkový čas hvozdění je 36 hodin. Regulace teploty mezi lískami se provádí otevíráním studených tahů. Maximální teplota mezi lískami v závěru hvozdění dosahuje 55 °C. Po sklopení na spodní lísku trvá náběh na teplotu vyhřívání 5 hodin, náběh na dotahovací teplotu dalších 8 hodin a dotahování při teplotě 85 °C trvá 3 hodiny.

Odkličkování a skladování

Odkličkování se provádí v odkličovačce. Odtud jde sladový květ jakožto vedlejší produkt v pytlích do skladu a hotový slad do sil. Poté je v pytlích nebo volně ložený expedován.

4.3 Metodika

Praktická část práce je rozdělena na tři části:

4.3.1 Stanovení gushingu hotového sladu ve sladovně Rajhrad

Vzorky hotového sladu byly měřeny testem Carlsberg v laboratoři v Rajhradě. Přiloženy jsou výsledky měření mykotoxinů na VÚPS. Mykotoxiny byly měřeny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostně – spektrometrickou detekcí (LC-MS/MS).

4.3.2 Stanovení vlivu sladování na míru gushingu

V průběhu sladování byly odebírány vzorky sladu v jednotlivých fázích výroby a zkoumána míra gushingu v jednotlivých fázích sladování. Vzorky byly odebírány postupně během výroby: ječmen z náduvníku, ječmen z první vody, ječmen z druhé vody, ječmen z třetí vody (první den klíčení), druhý den klíčení, třetí den klíčení, čtvrtý den klíčení (mokrý zelený slad), zelený slad předsoušený, zelený slad ze spodní lísky a hotový slad.

Gushingový potenciál byl zjišťován pomocí testu Carlsberg, který byl prováděn v laboratořích Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Brně.

4.3.3 Změny metody Carlsberg ovlivňující výsledný gushing

Při optimalizaci metody Carlsberg v laboratořích Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Brně bylo využito gushingového sladu, se kterým byl opakovaně prováděn test Carlsberg s různými modifikacemi. Při každé modifikaci testu byl vařen i kontrolní vzorek nezměněnou metodou Carlsberg kvůli porovnání výsledků. Při pokusech bylo postupně změněno:

- Délka varu
- Množství vody
- Množství extraktu
- Sterilizace
- Teplota při třepání a otevírání

4.3.4 Carlsberg test

Přístroje a zařízení:

Laboratorní mixér

Centrifuga

Třepačka

Vodní lázeň

Stopky

Korunkovačka

Váha

Materiál:

Pivo nevykazující gushing (Birell)

100 g sladu

Destilovaná voda

Pracovní postup:

- 1) $100 \pm 0,1$ g sladu a 400 ml deionizované vody mixujeme při maximálních otáčkách při pokojové teplotě po dobu 60 ± 1 s.
- 2) Suspenze je převedena do centrifugačních zkumavek a centrifuguje se 10 min. při 5 000 otáčkách za minutu.

- 3) Extrakt se přelije do kádinek a za omezeného varu zkoncentruje na objem cca 190 ml.
- 4) Zakalený roztok se ihned zfiltruje přes skládaný filtr do 200 ml odměrných baněk.
- 5) Po vytemperování filtrátu na laboratorní teplotu se odměrná baňka doplní neionizovanou vodou na objem 200 ml.
- 6) Z lahvového piva vychlazeného na teplotu 4 - 6 °C o objemu 500 ml se odebere 50 ± 1 ml a nahradí se stejným množstvím vyrobeného extraktu. Lahve se co nejdříve uzavře pomocí korunkovačky.
- 7) Lahve jsou pasterizovány při teplotě 62 °C po dobu 20 min.
- 8) Uzavřené lahve se umístí na třepačku v horizontální poloze. Třepání trvá po dobu 72 ± 2 hodiny (50 kmitů za 1 minutu, výkyv 25 mm z výchozí pozice při teplotě 20 °C ± 2 °C).
- 9) Po třech dnech se třepání zastaví, lahve se zváží a ponechají 10 min v klidu.
- 10) Po 10 min se lahve 3krát obrátí během 10 sekund a dalších 30 sekund se nechají v klidu a otevřou se.
- 11) Lahve se opětovně zváží (i se zátkou) a vypočte se rozdíl mezi hmotností před a po otevření.

Výpočet a vyhodnocení:

Výsledky se uvádí v gramech v celých číslech.

$$\text{Gushing (g)} = m_1 - m_2$$

Rozdíl v hmotnosti před a po otevření	Vyhodnocení
0 – 5 g	Žádná možnost výskytu gushingu
5 – 50 g	Možný výskyt gushingu (50% pravděpodobnost)
> 50 g	Velmi pravděpodobný výskyt gushingu

(Vaag 1993)

4.3.5 Popis pracoviště a vybavení laboratoří

Ke stanovení gushingu sladu vyrobeného v Rajhradu byla využívána speciálně zřízená gushingová laboratoř sladovny Rajhrad. Sladovna v Rajhradě byla zřízena již roku 1872 jakožto Rolnická akciová sladovna. Po požáru v roce 1919 ji koupila firma

Moravia, výroba sladu tak byla obnovena a pokračovala až do dalšího požáru, ke kterému došlo koncem druhé světové války. Výroba byla opět obnovena v roce 1951. Pivovar Bernard koupil sladovnu v roce 2000 a zasloužil se tak o zachování jedné z posledních humnových sladoven v České republice (Rodinný pivovar Bernard, 2014).

Ke stanovení gushingu v průběhu sladování a testy s pozměněnou metodikou s cílem zajistit optimalizaci metody bylo využíváno prostor gushingové laboratoře Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Brně.

4.3.5.1 Laboratoř Rajhrad

Přístrojové vybavení:

- váha KERN 440-47N
- stolní mixér ETA Ergo – nahrazen výkonnějším tyčovým mixérem Gorenje
- centrifuga Thermo electron corporation IEC CL40
- elektrický plotnový vaříč ETA
- třepačka GFL 3016
- elektrická vodní lázeň RM Gastro – nahrazena vodní lázní GLF 1005 s regulátorem hladiny GLF 1919

Podmínky v laboratoři:

- Laboratoř je umístěna ve druhém patře sladovny a teplota zde kolísá dle podnebných vlivů.
- Ve staré vodní lázni nebyla výpusť, piva tak po pasteraci ležela v lázni do vychladnutí vody. Nová vodní lázeň již výpusť má.
- V laboratoři se piva původně skladovala i třepala, aktuálně jsou piva k pokusům skladována v chladničce a třepána v laboratoři při nekonstantní pokojové teplotě.

4.3.5.2 Laboratoř VÚPS

Přístrojové vybavení:

- váha Scaltec SBC 52
- tyčový mixér IKA T25 digital ultra turrax
- centrifuga 6K15
- plotnový vaříč Ceran 500

- třepačka
- elektrická vodní lázeň Medigen

Podmínky v laboratoři:

- Laboratoř je umístěna v přízemí VÚPS, přičemž teplota není příliš ovlivněna okolním počasím.
- V laboratoři je speciální místnost na skladování a chlazení piva, piva tedy mají konstantní chladničkovou teplotu.
- Laboratoř je vybavena prostorem s klimatizací, ve které je možné třepat piva při konstantní teplotě 20°C.

4.3.5.3 Programy použité k vyhodnocení

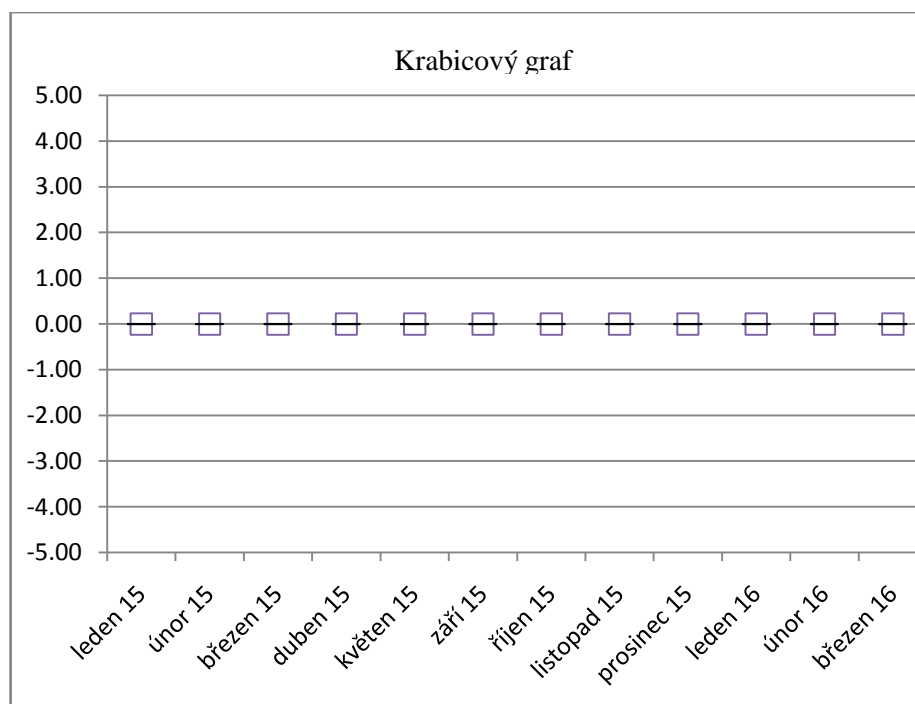
K vyhodnocení výsledků byly použity programy Microsoft Excel 2007 a Statistica 12.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Stanovení gushingu hotového sladu ve sladovně Rajhrad

Období	Počet vzorků	Průměr	Minimum	Maximum	Sm. odch.
leden 15	13	0,00	0,00	0,00	0,00
únor 15	10	0,00	0,00	0,00	0,00
březen 15	13	0,00	0,00	0,00	0,00
duben 15	16	0,00	0,00	0,00	0,00
květen 15	15	0,00	0,00	0,00	0,00
září 15	11	0,00	0,00	0,00	0,00
říjen 15	17	0,00	0,00	0,00	0,00
listopad 15	14	0,00	0,00	0,00	0,00
prosinec 15	13	0,00	0,00	0,00	0,00
leden 16	13	0,00	0,00	0,00	0,00
únor 16	10	0,00	0,00	0,00	0,00
březen 16	13	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabulka č. 2 (Vlastní konstrukce)



Graf č. 3 (vlastní konstrukce)

V následující tabulce jsou uvedeny obsahy mykotoxinů ve vzorku sladu vyrobeného v Rajhradu z prosince 2015 naměřené Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským v Brně (celý protokol je k dispozici v přílohách). Z naměřených hodnot je zřejmé, že obsahy mykotoxinů jsou ve sladu zanedbatelné a zdaleka se neblíží limitům daným legislativou.

Stanovení mykotoxinů

Parametr	Výsledek	Jednotka	Nejistota	SOP - metodika	Akreditace
Aflatoxin B1	<0,1	µg/kg		3400	A
Suma aflatoxin B1, B2, G1, G2	<0,3	µg/kg		3400	A
Deoxynivalenol	<30	µg/kg		3400	A
Deoxynivalenol-3-glukosid	<30	µg/kg		3400	A
Zearalenon	<5,0	µg/kg		3400	A
HT-2 toxin	<5,0	µg/kg		3400	A
T-2 toxin	<1,0	µg/kg		3400	A
Ochratoxin A	<0,2	µg/kg		3500	A

Tabulka č. 3: Stanovení mykotoxinů dle VÚPS. Celý protokol Stanovení mykotoxinů uveden v příloze.

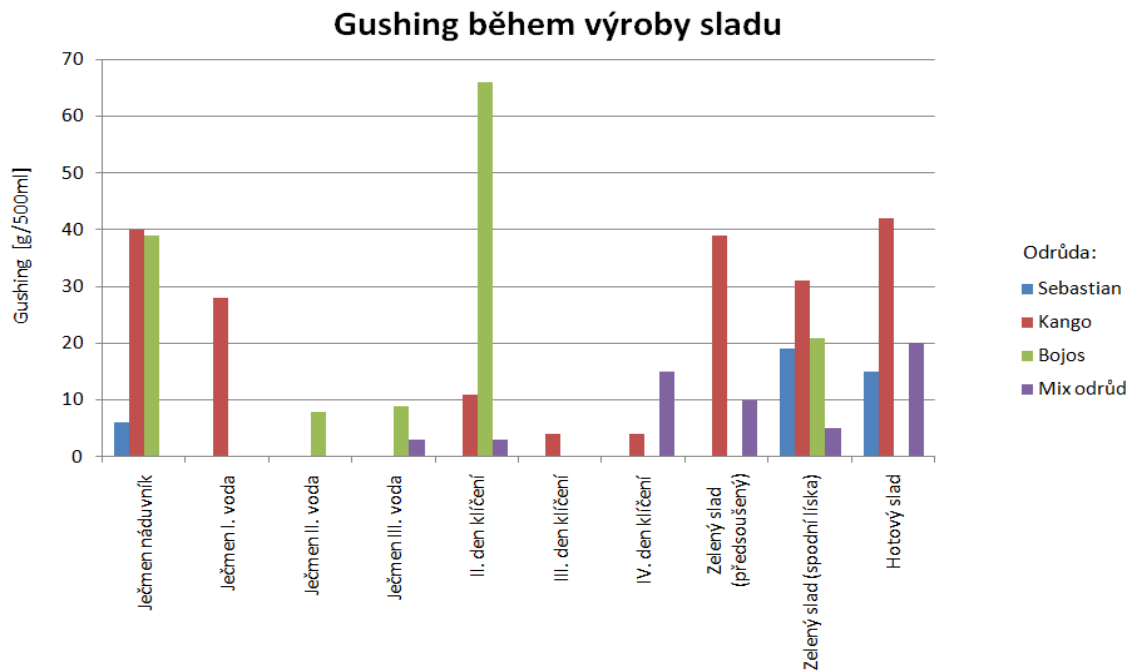
Při srovnání s výsledky diplomové práce Ing. Michala Malíka můžeme říci, že výsledky jsou podobné (Malík 2012). Práce Ing. Michala Malíka zkoumala gushingový potenciál sladu ve sladovně Bernard v letech 2010 a 2011. Gushing se objevil jen v několika málo případech, přičemž jeho průměrné hodnoty se v roce 2010 blížily nule a v roce 2011 byly nulové, takže celková produkce sladu byla vyhodnocena jako nepřepěňující.

5.2 Stanovení vlivů v průběhu sladování na gushing

Gushing [g / 500 ml]				
Datum odběrů	23. 2. – 3. 3. 2015	28. 9. – 6. 10. 2015	30. 11. – 8. 12. 2015	6. 3. – 15. 3. 2016
Odrůda	Sebastian	Kango	Bojos	Mix odrůd
Ječmen náduvník	6	40	39	0
Ječmen I. voda	0	28	0	0
Ječmen II. voda	0	Znehodnocený vzorek	8	0
Ječmen III. voda	0	0	9	3
II. den klíčení	0	11	66	3
III. den klíčení	0	4	0	0
IV. den klíčení	0	4	0	15
Zelený slad (předsoušený)	0	39	0	10
Zelený slad (spodní líska)	19	31	21	5
Hotový slad	15	42	0	20

* Uvedené hodnoty jsou vždy aritmetickým průměrem výsledků tří hodnot gushingu z jednoho vzorku

Tabulka č. 4: Stanovení vlivů v průběhu sladování na gushing (Vlastní konstrukce)

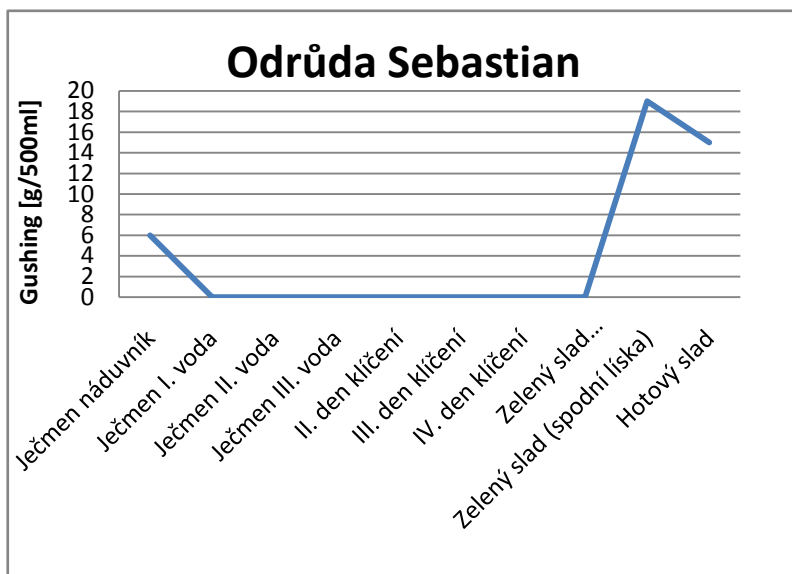


Graf č. 4: Grafické znázornění gushingu během výroby sladu (Vlastní konstrukce)

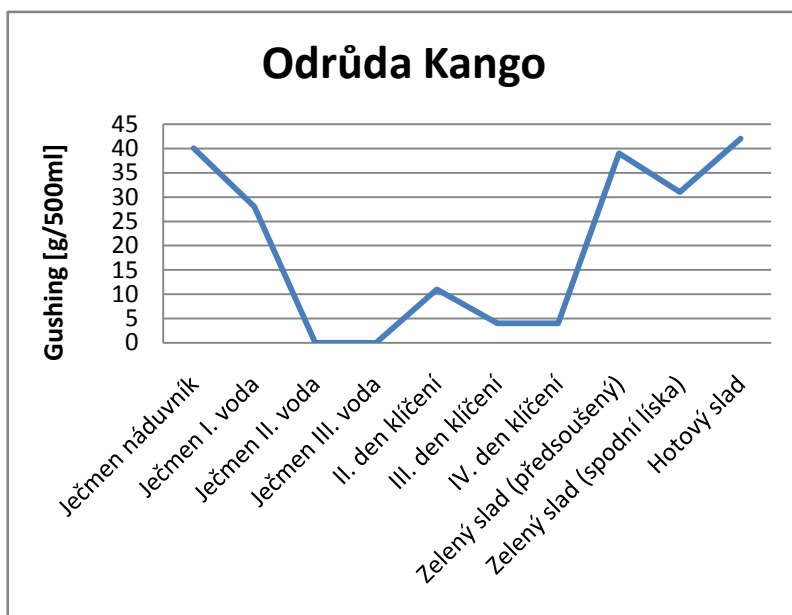
Z hodnot naměřených v průběhu sladování můžeme vyčíst, že hodnota gushingového potenciálu ječmene se díky máčení lehce ztrácí. Během třetího dne byla u všech odběrů nejnižší a během hvozdění se lehce navýšila.

Zajímavé na těchto pokusech bylo zejména to, že gushingový potenciál stejného sladu měřeného v Rajhradě i ve VÚPS byl opakovaně rozdílný. Naproti nulovým výsledkům v Rajhradu vykazovaly v laboratoři VÚPS pozivní výsledek tři vzorky sladu ze čtyř. Z tohoto důvodu jsou v další části řešeny především podmínky a faktory ovlivňující gushing v Rajhradě.

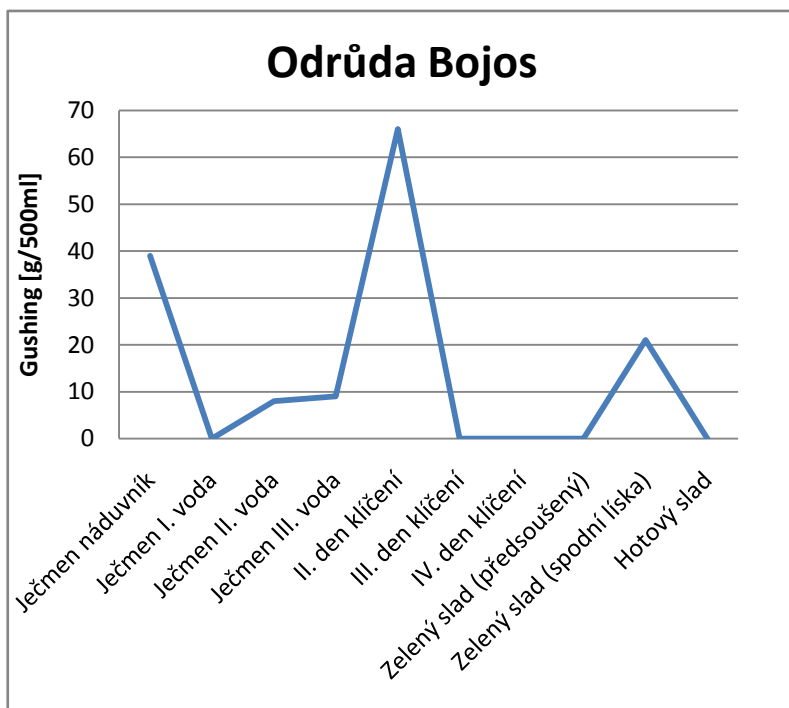
Gushingový potenciál byl dokonce v březnu 2016 ověřen ve VÚPS z důvodu, že v literatuře můžeme najít tvrzení, že gushingový potenciál sladu se časem může ztrácet (Bamforth 2009). Tato hypotéza se ale nepotvrdila, neboť všechny vzorky pěnily podobně jako při prvním měření.



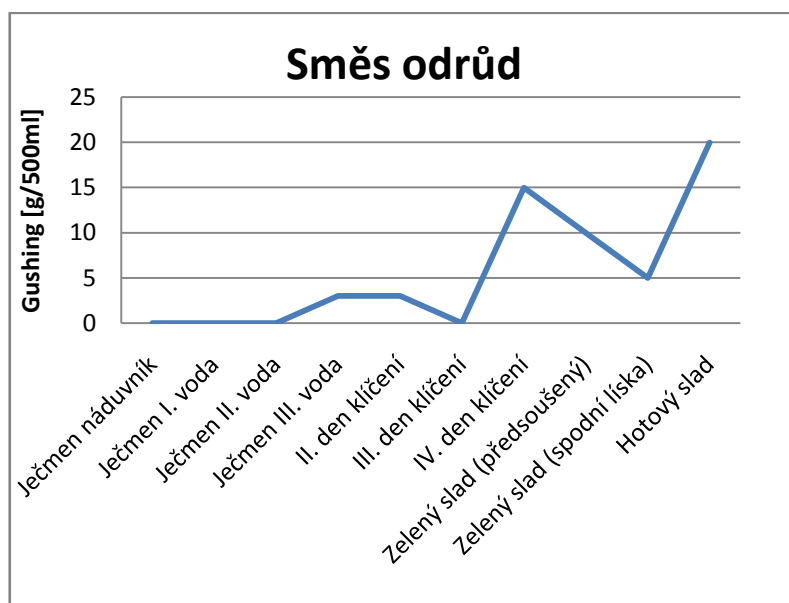
Graf č. 5: Gushing odrůdy Sebastian (Vlastní konstrukce)



Graf č. 6: Gushing odrůdy Kango (Vlastní konstrukce)



Graf č. 7: Gushing odrůdy Bojos (Vlastní konstrukce)



Graf č. 8: Gushing směsi odrůd (Vlastní konstrukce)

5.3 Změny metody Carlsberg ovlivňující výsledný gushing

Vzhledem k rozdílným výsledkům testu Carlsberg u sladu testovaného v Rajhradě a v laboratoři VÚPS, byly vyzkoušeny různé faktory, které by metodiku mohly ovlivňovat. Zároveň bylo cílem najít postup, jehož výsledky by byly opakovatelné.

Postupně byly měněny tyto faktory:

- Délka varu
- Množství vody
- Množství extraktu
- Sterilizace
- Teplota při třepání a otevírání

Označení metod

Metoda	Označení
Klasický Carlsberg test	A
Místo 400 ml destilované vody přidáno 300 ml, var extraktu 20 min, po filtraci a zchlazení extrakt doplněn na 200 ml	B
Místo 400 ml destilované vody přidáno 300 ml, var extraktu 20 min, po filtraci a zchlazení extrakt nedoplněn na 200 ml	C
Klasický Carlsberg test, plněno dvojnásobné množství extraktu (100 ml)	D
Klasický Carlsberg test, horizontálně ve vodní lázni 20 min.	E
Klasický Carlsberg test, horizontálně ve vodní lázni do vychladnutí	F
Lahve třepány vertikálně	G

Tabulka č. 5: Označení metod (Vlastní konstrukce)

Rozsah hodnot

	A	B	C	D	E	F	G
Minimum	0	0	7	9	1	0	0
25.percentil	12	12,75	14,5	52	7	4	0
Medián	36	34,5	40,5	66	17	11	0
75. percentil	80,5	75,25	56	87,25	50	23	0
Maximum	128	174	97	111	63	32	0

Tabulka č. 6: Rozsah hodnot (Vlastní konstrukce)

Test normality

Proměnná	Testy normality (testnormality)				
	N	max D	Lilliefors p	W	p
A	55	0,140490	p < ,01	0,911123	0,000621
B	36	0,146614	p < ,10	0,907927	0,005661
C	12	0,144518	p > .20	0,928825	0,367824
D	20	0,083823	p > .20	0,978630	0,915201
E	9	0,221588	p > .20	0,885318	0,178479
F	9	0,176123	p > .20	0,896041	0,229939
G	12	1,000000	p < ,01		

Tabulka č. 7: Test normality (Vlastní konstrukce)

Vzhledem k tomu, že výsledky ze dvou metod, ze kterých máme nejpočetnější soubor dat, nesplňují kritéria normálního rozdělení, je pro porovnání metod použit Kruskalův – Wallisův test.

Kruskalův – Wallisův test

Tento test je neparametrickou obdobou jednofaktorové analýzy rozptylu, proto se mu někdy říká neparametrická ANOVA. Bývá používán tehdy, chceme-li srovnávat střední hodnoty více než dvou nezávislých souborů na základě výběru nesplňujících předpoklady pro použití parametrické analýzy rozptylu (zejména normalitu).

Kruskalův - Wallisův test je více výběrovým testem shody mediánu.

$$Q = -3(n + 1) + \frac{12}{n(n + 1)} \sum_{i=1}^k \frac{T_i^2}{n_i} - 3(n + 1).$$

Hypotézy:

H₀ Mediány populací, z nichž pochází analyzované výběry, lze považovat za shodné.

H₁ Mediány populací, z nichž pochází analyzované výběry, nelze považovat za shodné.

Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na poř.; GUSHING [g/500 ml] Nezávislá (grupovací) proměnná : METODA Kruskal-Wallisův test: H (6, N= 153) =41,27157 p =,0000					
Závislá: GUSHING [g/500 ml]	Kód	Počet platných	Součet pořadí	Prům. Pořadí	
A	1	55	4530,000	82,3636	
B	2	36	3016,500	83,7917	
C	3	12	968,500	80,7083	
D	4	20	2130,000	106,5000	
E	5	9	573,500	63,7222	
F	6	9	406,500	45,1667	
G	7	12	156,000	13,0000	

Tabulka č. 8: Kruskal – Wallisův test (Vlastní konstrukce)

Testové kritérium: 41,27157

p 0,00

p < 0,05

Na hladině významnosti 0,05 zamítáme hypotézu H_0 .

Post – hoc analýza pro Kruskalův – Wallisův test

Vícenásobné porovnání p hodnot (oboustr.); GUSHING [g/500 ml] Nezávislá (grupovací) proměnná : METODA Kruskal-Wallisův test: H (6, N= 153) =41,27157 p =,0000							
Závislá: GUSHING [g/500 ml]	A R:82,364	B R:83,792	C R:80,708	D R:106,50	E R:63,722	F R:45,167	G R:13,000
A		1,000000	1,000000	0,776480	1,000000	0,410897	0,000019
B	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,406108	0,000035
C	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,003821
D	0,776480	1,000000	1,000000		0,339493	0,011842	0,000000
E	1,000000	1,000000	1,000000	0,339493		1,000000	0,198131
F	0,410897	0,406108	1,000000	0,011842	1,000000		1,000000
G	0,000019	0,000035	0,003821	0,000000	0,198131	1,000000	

Tabulka č. 9: Post hoc analýza pro Kruskal – Wallisův test (Vlastní konstrukce)

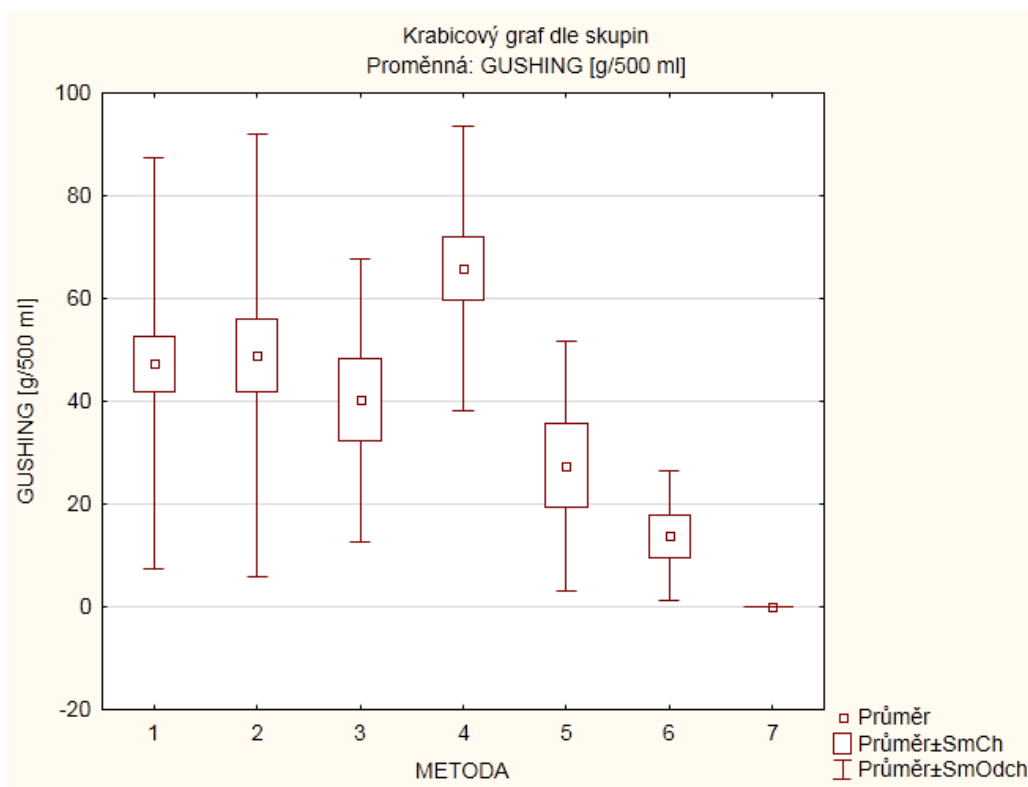
Statisticky významný rozdíl mez metodami na hladině významnosti 0,05 je indikován červeně.

Z vícenásobného porovnání p hodnot můžeme vyčíst, že největší rozdíly ve výsledcích byly při třepání lahví položených vertikálně, které naproti jiným změnám v metodě nepěnilo vůbec. Metoda s plněním dvojnásobného množství extraktu do lahví vykazovala statisticky významný rozdíl hodnot naproti modifikaci, kdy byla piva ponechána ve vodní lázni do vychladnutí, neboť při plnění dvojnásobného množství

extraktu přepěňovaly piva více a při ponechání lahví ve vodní lázni do vychladnutí naopak méně.

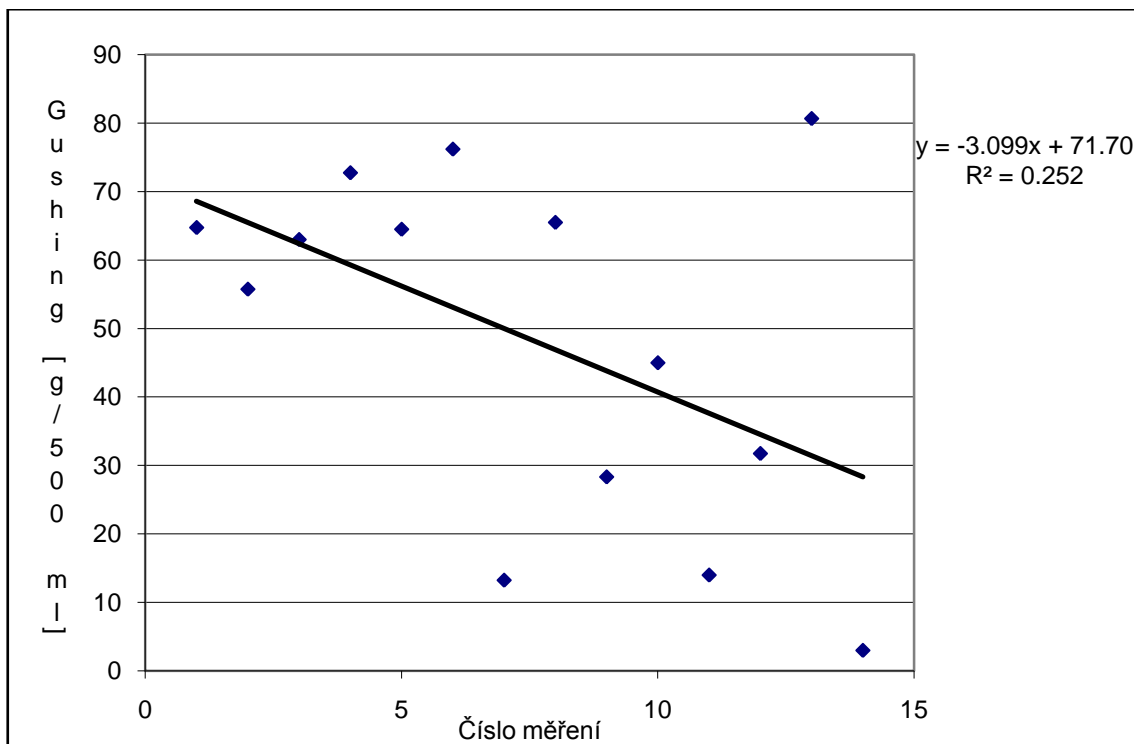
Z oboustranného porovnání p hodnot můžeme dále vyčíst, že změny metod A, B, C, D a E mezi sebou nevykazovaly statisticky významné rozdíly ve výsledcích. Výrazných změn naproti ostatním modifikacím tedy bylo dosaženo pouze ponecháním lahví po pasteraci ve vodní lázni do vychladnutí (gushing menší než při klasické metodě) a při třepání lahví na třepače ve vertikální poloze (gushing nulový).

Srovnání pozměněných metod testu Carlsberg krabicovým grafem



Graf č. 9: Krabicový graf jednotlivých metod (Vlastní konstrukce)

Hodnoty gushingu z nepozměněného testu Carlsberg



Graf č. 10: Hodnoty gushingu nepozměněného testu Carlsberg (Vlastní konstrukce)

V grafu jsou zakresleny hodnoty 14 měření (každý bod v grafu je aritmetický průměr výsledků 4 lahví). Vzhledem k možnosti, že by gushingový potenciál sladu klesal v čase, byly výsledky proloženy lineární spojnici. Jak je vidět, přímka sice klesá, ale hodnota korelačního kvocientu se blíží nule. Mezi výsledky tedy není žádná zjištělná lineární závislost. Hypotézu že gushingový potenciál klesá s časem tak v tomto případě nemůžeme potvrdit.

Empirická zjištění z průběhu testování

Délka varu extraktu byla v průběhu pokusů různě zkracována. Vzorek, který neprošel varem, nebylo možné filtrovat. Na délce varu extraktu záleží z hlediska denaturace bílkovin právě kvůli následné filtraci vzorku. Vzorek vařený kratší dobu se velmi špatně filtruje, přičemž v časovém horizontu mezi 15 - 20 minutami varu dochází ke změně, kdy je vzorek možné bez problémů zfiltrovat. V klasické metodě Carlsberg není třeba délku varu řešit, protože odpaření extraktu na 200 ml trvá až kolem 40 minut varu.

Množství vody použité v průběhu testu zdá se nemá vliv na výsledky. Při použití 300 ml destilované vody místo 400 ml uvedených v metodice je hlavní rozdíl ve zkrácení doby odpařování. Výhodné to může být pro laboratoře, které mají centrifugy limitované objemem centrifugačních zkumavek menším než 500 ml. V tomto případě se musí každý vzorek rozlít do dvou nádob a metoda se tak stává zdlouhavější.

Extrakt sladu je podle klasické metodiky odpařen na zhruba 200 ml a poté zfiltrován, ochlazen a doplněn na 200 ml. Poté se dávkuje do piv po 50 ml. Zkoušeli jsme extrakt nedoplňovat destilovanou vodou a dá se říct, že rozdíly ve výsledcích nejsou významné. Odlito bylo stejné množství piva jako bylo přilito extraktu, neboť větší volný hrdlový objem lahve by mohl zapříčinit větší přepěňování.

S ohledem na podmínky v laboratoři v Rajhradu, kde měli vodní lázeň bez výpustě, jsme vyzkoušeli napodobit tamní podmínky. Piva jsme do vodní lázně nakladli horizontálně stejně jako v Rajhradu. Jednak jsme chtěli vyzkoušet, zda takto budou více náchylná k prasknutí, a také rozdíl v pění. Pokud byla piva z vodní lázně po 20 min vytáhnutá, neobjevily se ve výsledcích významné rozdíly naproti klasické metodě.

Naopak pokud jsme nechali lahve ve vodní lázni do vychladnutí stejně jako v Rajhradě, vykazovaly menší přepěňování než při klasické metodě. Tento faktor ovlivňující výsledky gushingu v Rajhradě je již ovšem eliminován, protože mají novou vodní lázeň, do které je možné naskládat piva vertikálně a lázeň má výpust'.

Dalším pokusem bylo doplnit 100 ml extraktu, tedy dvojnásobek extraktu naproti normální metodě. Výsledky byly jednoznačně vyšší než při použití klasické metodiky, ale ne dvojnásobně. Metoda by takto byla určitě citlivější, ale zvětšily by se nároky na množství extraktu, jelikož se extrakt z jednoho vzorku sladu rozlévá do tří piv. Tento postup by tudíž byl náročnější na přípravu.

Zajímavý byl vliv barvy sladového extraktu na výsledný gushing. Většina extraktů, které měly tmavší barvu, více pěníly.

V Rajhradě byla v průběhu času změněna i teplota piv, do kterých se extrakt plní podle VÚPS. Skladují se před plněním extraktu v chladničce tak, aby se díky jejich nízké teplotě uvolnilo co nejmenší množství oxidu uhličitého. Kvůli co nejmenšího úniku oxidu uhličitého je v obou laboratořích kladen důraz na co nejrychlejší práci při plnění extraktu do piv. Podle mých měření netrvá doba od otevření piva po jeho zavření déle než 30 s.

Jediný jasný závěr z měření je, že lahve třepané ve vertikální poloze naproti lahvím třepaným horizontálně nevykazují potenciál ke gushingu.

Vzhledem k tomu, že při každém měření byla pro porovnání s ostatními výsledky vařena i klasická metoda Carlsberg, máme k dispozici soubor 55 hodnot gushingu stejného sladu. Překvapivé je, do jaké míry jsou velké rozdíly mezi jednotlivými hodnotami (minimální naměřená hodnota 0, maximální 128). Z tohoto důvodu je vhodnější plnit extrakt do 4 piv, abychom měli k dispozici více výsledků.

Vzhledem k časové náročnosti testu je otázkou, zda je kvůli jeho nízké vypovídající schopnosti vhodný ke každodennímu monitoringu gushingového potenciálu sladu. Na druhou stranu zatím není dostupná metoda, která by byla levná, rychlá a spolehlivá.

6 ZÁVĚR

V diplomové práci jsem se věnovala zkoumání gushingového potenciálu sladu. V průběhu praktické části práce jsem postupně dospěla k závěru, že přepěňování piva je velmi komplexní problematikou, jejíž řešení není zdaleka jednoduchou záležitostí.

Od ledna 2015 do března 2016 byl sledován gushingový potenciál sladu ve sladovně Rajhrad, přičemž všechny výsledky byly nulové. Ukazují tak na výbornou kvalitu sladu bez gushingového potenciálu stejně jako tomu bylo i v minulých letech. Všechny vzorky byly vařeny přímo ve sladovně ve speciálně vybavené gushingové laboratoři.

Při odběrech sladu ve Sladovně Bernard v průběhu jednotlivých technologických operací během jeho výroby bylo v laboratořích VÚPS zjištěno, že některé vzorky mají gushingový potenciál. Kvůli těmto rozdílným výsledkům byla podrobena bližšímu zkoumání metoda předpovědi gushingového potenciálu používaná při těchto měřeních, která se nazývá Carlsberg test. Bylo zjištěno, že výsledky metody se mohou velmi lišit i při stejných podmínkách v průběhu testování. Stejně tomu bylo i při různých modifikacích tohoto testu, žádná ze změn se tak neukázala jako vhodná k zavedení při predikci gushingového potenciálu. Na metodu má navíc vliv i řada faktorů v průběhu měření, proto lze naměřit v různých laboratořích lišící se výsledky.

Z naměřených výsledků je zřejmé, že by bylo vhodné se dále zaměřit na vývoj spolehlivější metody na predikci gushingu. Bohužel vzhledem k množství faktorů způsobujících jeho vznik je zatím gushing stále pro sladaře i pivovarníky velmi nepříjemný jev.

Je důležité mu předcházet správnou technologií ve všech fázích výroby sladu i piva. Bohužel vzhledem k největšímu výskytu gushingu v souvislosti s rozvojem plísní a následně jejich metabolitů s ohledem na nepříznivé počasí, je výskyt primárního gushingu pro pivovary špatně ovlivnitelný.

Z praxe je možné míchat přepěňující pivo s pivem bez sklonů ke gushingu tak, aby došlo k potlačení gushingového potenciálu. Další možností, pokud už se gushingové pivo povede vyrobit, je plnit ho po větších objemech do sudů a ne do lahví či plechovek s malým objemem. Základem je ovšem včas identifikovat, že má pivo tendenci k přepěňování. Vymyslet spolehlivou metodu na zkoumání gushingového potenciálu sladu je námětem k dalšímu zkoumání.

7 POUŽITÁ LITERATURA

ANON., 2003. *Hordeum vulgare var. vulgare Biopix photo/image 70229* [online] [vid. 23. březen 2016]. Dostupné z: http://www.biopix.com/hordeum-vulgare-var-vulgare_photo-70229.aspx

BADR, A., K. M, R. SCH, H. EI RABEY, S. EFFGEN, H. H. IBRAHIM, C. POZZI, W. ROHDE a F. SALAMINI, 2000. On the Origin and Domestication History of Barley (*Hordeum vulgare*). *Molecular Biology and Evolution*. 4.1., roč. 17, č. 4, s. 499–510. ISSN 0737-4038, 1537-1719.

BAMFORTH, Charles W., 2009. *Beer a quality perspective*. Burlington, MA: Academic. Handbook of alcoholic beverages series. ISBN 978-0-08-092609-4.

BASAŘOVÁ, Gabriela, 2015. *Sladařství: teorie a praxe výroby sladu*. Vyd. 1. Praha: Havlíček Brain Team. ISBN 978-80-87109-47-2.

BASAŘOVÁ, Gabriela a Ivo HLAVÁČEK, 2011. *České pivo*. Praha: Havlíček Brain Team. ISBN 978-80-87109-25-0.

BASAŘOVÁ, Gabriela a KOLEKTIV, 2010. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 978-80-7080-734-7.

BĚLÁKOVÁ, Sylvie a Karolína BENEŠOVÁ, 2012. Faktory ovlivňující gushing. *Kvasný průmysl*. roč. 58, č. 3.

BENEŠ, Jaromír a Tereza ŠÁLKOVÁ, 2011. Původ a nejstarší historie ječmene setého (*Hordeum vulgare*) na Předním východě: pohled archeobotaniky. roč. 2011, č. 57/5, s. 121–126. ISSN 0023-5830.

BOULTON, Chris, 2013. *Encyclopaedia of brewing*. Chichester, West Sussex, UK ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell. ISBN 978-1-4051-6744-4.

BUDĚJOVICKÝ BUDVAR, 2016. *Jak se varí Budvar* [online] [vid. 23. březen 2016]. Dostupné z: <http://www.budejovickybudvar.cz/produkty/jak-se-vari-budvar.html>

ČERNÝ, Ladislav, 2007. *Jarní sladovnický ječmen - pěstitelský rádce*. Praha: Ministerstvo zemědělství.

ČHMÚ, 2016. *Portál ČHMÚ: Historická data: Počasí: Základní informace* [online] [vid. 12. duben 2016]. Dostupné z: <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/zakladni-informace>

ČÍŽKOVÁ, Hana a Pavel DOSTÁLEK, 2006. Význam bílkovin z hlediska pěnivosti a stability pěny piva. *Chemické listy*. č. 100, s. 478–485.

DECKERS, Sylvie a Lenner VISSERS, 2012. Doubly Modified Carlsberg Test combined with Dynamic Light Scattering allows prediction of the primary gushing potential of harvested barley and malt. *Cerevisia*. č. 37.

DECKERS, Sylvie a Lenner VISSERS, 2013. Thermodynamic View of Primary Gushing. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* roč. 71, č. 3.

DOSTÁLOVÁ, Jana, 2014. *Potravinářské zbožíznalství: technologie potravin*. Vyd. 1. B.m.: Key Publishing. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-208-2.

ES, 2006. *NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006*. 19. prosinec 2006.

GREGOR, 2012. *Gushing v pivu aneb nepříjemný fenomén u vybraných šarží sladu* [online] [vid. 21. březen 2016]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/gushing-v-pivu-aneb-neprijemny-fenomen-u-vybranych-sarzi-sladu>

HASÍK, Tomáš, 2013. *Svět piva a piva světa*. 1. vyd. B.m.: Grada. ISBN 978-80-247-4648-7.

CHRISTIAN, Manuel a Vladimír ILBERG, 2009. *New cognitions on the gushing phenomenon*. 2009. B.m.: 32nd EBC Congress.

CHRISTIAN, Manuel a Jean TITZE, 2010. New cognitions on gushing in the wort production process and in quantifyinf gushing potential of malt. *Cerevisia*. č. 35.

CHRISTIAN, Manuel, Jean TITZE, Vladimír ILBERG a Fritz JACOB, 2011. Novel Perspectives in Gushing Analysis: A Review. *Journal of the Institute of Brewing*

[online]. roč. 117, č. 3, s. 295–313. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2011.tb00474.x

JUSTÉ, A. a S. MALFLIED, 2011. Microflora during Malting of Barley: Overview and Impact on Malt Quality. *BrewingScience*. č. 64.

KALHOTKA, Libor, 2014. *Potravinářská mikrobiologie pro Zahradnickou fakultu. Díl 2. Speciální část*. B.m.: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 978-80-7509-016-4.

KOSAŘ, Karel a Stanislav PROCHÁZKA, 2000. *Technologie výroby sladu a piva*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 978-80-902658-6-8.

LAITILA, Arja, 2007. *Microbes in the tailoring barley malt properties*. 2007. B.m.: Disertační práce.

MALÍK, Michal, 2012. *Problematika a možnost ovlivnění gushingu ve sladovne Rajhrad*. B.m. Diplomová práce. Mendelova univerzita.

NESVADBA, Zděnek a Simona HORÁČKOVÁ, 2009. Hodnocení gushingu piva u vybraných odrůd jarního sladovnického ječmene po očkování houbou *Fusarium culmorum*. *Obilnářské listy*. č. 4.

NIESSEN, L. a M. BOHM-SCHRAML, 1993. Deoxynivalenol in commercial beer - screening for the toxin with an Indirect competitive ELISA. *Mycotoxin research*. č. 9.

NOVÁK VEČERNÍČEK, Jaroslav, 2015. *Dějiny piva: od zrození až po konec středověku*. 2. vydání. V Brně: CPress. ISBN 978-80-264-0879-6.

POSTULKOVA, Michaela, David RIVEROS-GALAN, Karla CORDOVA-AGIULAR, Kamila ZITKOVA, Hubert VERACHTERT, Guy DERDELINCKX, Pavel DOSTALEK, Marek C. RUZICKA a Tomas BRANYIK, 2016. Technological possibilities to prevent and suppress primary gushing of beer. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 3., roč. 49, s. 64–73. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2015.12.006

POŠTULKOVÁ, Michaela, 2013. Historie a nové trendy v oblasti výzkumu přepěňování piva. roč. 2013, č. 59.

PRIEST, F. G. a Iain CAMPBELL, ed., 2003. *Brewing microbiology*. 3rd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. ISBN 978-0-306-47288-6.

PSOTA, Vratislav, 2015. *Ječmenářská ročenka 2015*. ISBN 978-80-86576-67-1.

SARLIN, 2012. *Detection and characterization of Fusarium hydrophobins inducing gushing in beer*. 2012.

SARLIN, Tuija a NAKARI-SETÄLÄ, 2005. Fungal hydrophobins as predictors of the gushing activity of malt. *J. Inst. Brew.* roč. 111, č. 2.

SEDLÁČKOVÁ, I. a I. POLIŠENSKÁ, 2013. Deoxynivalenol content changes during malting. *Obilnářské listy*. č. 1.

SHOKRIBOUSJEIN a DECKERS, 2011. *Hydrophobins, beer foaming and gushing*. 2011.

SHOKRIBOUSJEIN, Zahra, 2014. A Curative Method for Primary Gushing of Beer and Carbonated Beverages: Characterization and Application of Antifoam Based on Hop Oils. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* roč. 72, č. 1.

SHOKRIBOUSJEIN, Zahra a Fatemeh BAJOULKAKAHI, 2012. *Differences between hydrophobic patches of Class II hydrophobins*. 2012. B.m.: Presented at :10th International Trends in Brewing.

SPECKER, 2014. *Analysis of the interaction of gushing inducing hydrophobins with beer foam proteins*. 2014.

SZILVAY, Géza R., 2007. *Self-assembly of hydrophobin proteins from the fungus Trichoderma reesei*. 2007. B.m.: Disertační práce.

ŠAVEL, Jan a Petr KOŠIN, 2013. Samovolný únik oxidu uhličitého z piva a gushing. *Kvasný průmysl*. roč. 59, č. 2.

ŠAVEL, Jan a Petr KOŠIN, 2014a. Iniciace úniku oxidu uhličitého z piva a gushing. *Kvasný průmysl*. roč. 60, č. 2.

ŠAVEL, Jan a Petr KOŠIN, 2014b. Náchylnost piva k přepěňování vyvolanému různou dobou třepání láhve. *Kvasný průmysl*. roč. 60, č. 6.

ŠAVEL, Jan a Petr KOŠIN, 2015. Kinetika úniku plynu ze syceného nápoje. *Kvasný průmysl*. roč. 61, č. 1.

THOMPSON, Jack, 2012. *Vaříme pivo : podrobný průvodce vařením piva, přípravou vína a cideru*. 1. české vyd. B.m.: Svojtka & Co. ISBN 978-80-256-0931-6.

VAAG, 1993. *24th E. B. C. Congress*. 1993. B.m.: Oslo.

VERHOEF, Berry a Petra MARTÍNKOVÁ, 1998. *Encyklopedie piva*. Praha: Rebo. ISBN 978-80-7234-012-5.

ZAVŘELOVÁ, Marta, 2014. Složení zrna ječmene z hlediska potravinářského využití. roč. 2014, č. 60/5, s. 127–130.

8 SEZNAM ZKRATEK

VÚPS	Výzkumný ústav pivovarský a sladařský
CKT	Cylindro-kónický tank
DON	Deoxyvalenol
ZEA	Zearalenon
FHB	Fusarium head blight (klasová fuzária)
NGF	Nigrospora gushing factor
EDTA	Ethylendiamintetraoctová kyselina
ICHE	Izomerované chmelové extrakty

9 PŘÍLOHY

Protokol o obsahu mykotoxinů



Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Lípová 15, 120 44 Praha 2
Obchodní rejstřík: Městský soud v Praze, oddíl B, vložka 2383
Analytická zkušební laboratoř - Sladařský ústav Brno, Mostecká 7, 614 00 Brno
Zkušební laboratoř č. 1309.2 akreditována ČIA podle normy ČSN EN ISO/IEC 17025
Tel.: +420 545 214 110, +420 545 578 703, Fax.: +420 545 321 225



L 1309.2

PROTOKOL O ZKOUŠCE č. 1260/16

Strana 1 / 2

Identifikace **slad**
Objednavatel: Sladovna BERNARD, a.s.
 Palackého 135
 Rajhrad
 664 61
Číslo vzorku AZL: 90-1564 / 16
Označení vzorku: slad

Datum přijetí vzorku: 14.12.2015
Ukončení analýzy: 03.02.2016
Datum vydání protokolu: 04.02.2016

Obal: sáček papír
Číslo objednávky: neuvedeno

Stanovení mykotoxinů

Parametr	Výsledek	Jednotka	Nejistota	SOP - metodika	Akreditace
Aflatoxin B1	<0,1	µg/kg		3400	A
Suma aflatoxin B1, B2, G1, G2	<0,3	µg/kg		3400	A
Deoxynivalenol	<30	µg/kg		3400	A
Deoxynivalenol-3-glukosid	<30	µg/kg		3400	A
Zearalenon	<5,0	µg/kg		3400	A
HT-2 toxin	<5,0	µg/kg		3400	A
T-2 toxin	<1,0	µg/kg		3400	A
Ochratoxin A	<0,2	µg/kg		3500	A

Bez písemného souhlasu Sladařského ústavu Brno se protokol o zkoušce nesmí reprodukovat jinak než celý. Výsledky zkoušek se týkají pouze zkoušeného vzorku. Uvedená rozšířená nejistota měření je součinem standardní nejistoty měření a koeficientu rozšíření $k=2$, což pro normální rozdělení odpovídá pravděpodobnosti pokrytí přibližně 95 %.

RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D.
zástupce vedoucího



PROTOKOL O ZKOUŠCE č.1260/16

Identifikace zkušebních metod

3400	Stanovení mykotoxinů metodou HPLC-MS	A
3500	Stanovení ochratoxinu A (OTA) a patulinu metodou UPLC s FLR a PDA detekcí	A

A - akreditovaná zkouška

Vysvětlivky:

Výsledky stanovení jsou přepočteny na sušinu. Výsledky stanovení PDMS, DMS volný, mykotoxinů a pesticidů jsou vyjádřeny v čerstvé hmotě.

AZL - Analytická zkušební laboratoř

SOP - Standardní operační postup