

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Mikrobiologie nefiltrovaných piv z minipivovarů a malých
pivovarů a možnosti prodloužení trvanlivosti**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Jolana Janíková

Vedoucí práce: Prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Mikrobiologie nefiltrovaných piv z minipivovarů a malých pivovarů a možnosti prodloužení trvanlivosti" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. dubna 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Prof. Ing. Vojtěchu Radovi, CSc. za zaštitění této diplomové práce, velmi shovívavý přístup a vždy projevovanou ochotu a vstřícnost.

Nejvíce bych chtěla poděkovat svému tatínkovi, Ing. Petru Janíkovi za odborné konzultace a cenné rady využité při zpracování zejména praktické části této práce.

Dále bych chtěla poděkovat firmě PIVO Praha, s. r. o. a Ing. Václavu Potěšilovi a Dagmar Hrdličkové z této firmy.

Nakonec bych ráda vyjádřila své poděkování ředitelům a pracovníkům laboratoří vybraných pivovarů za poskytnutí citlivých informací z mikrobiologických kontrol výroby.

Mikrobiologie nefiltrovaných piv z minipivovarů a malých pivovarů a možnosti prodloužení trvanlivosti

Souhrn

V posledních deseti letech se v České republice mnohonásobně zvýšil počet minipivovarů, jinak nazývaných „craft“ pivovarů. Je to dáno poptávkou po pivech vyznačujících se jednak různými pivními styly, ale také proto, že nejsou nijak upravovaná a zachovávají si svou přirozenou chuť a vůni. Problém neupravovaných (nefiltrovaných a nepasterovaných) piv nastává při kontaminaci v průběhu výroby, která může způsobit jejich poměrně rychlé zkažení. Udávaná trvanlivost těchto piv je proto jen v řádech několika týdnů. Dobu minimální trvanlivosti ovlivňuje řada faktorů, mezi něž lze řadit obsah alkoholu, zbytkový cukr i zmíněný stupeň kontaminace. Malé i velké pivovary, tzv. pivovary průmyslové nebo komerční, pivo ošetřují pasterací či filtrační, která zajistí buď inaktivaci nebo usmrcení mikroorganismů, nebo jejich odstranění. Takto ošetřená piva jsou mikrobiologicky stabilní, nepodléhají rychlé zkáze a lze u nich zaručit delší trvanlivost. Pasterovaná i filtrovaná piva však vykazují nepatřičné změny v jeho sensorických vlastnostech.

Cílem této diplomové práce bylo stanovit podmínky průtokové pasterace pro nefiltrované pivo a to tak, aby bylo mikrobiologicky dostatečně stabilní, ale zároveň nevykazovalo změny v sensorickém profilu. Samotný experiment spočíval v ošetření nefiltrovaného piva různými pasteračními dávkami a následném mikrobiologickém stanovení vybraných ukazatelů, která by prokázala stabilizační účinek. Rozbory byly prováděny u nefiltrovaného a nepasterovaného piva, a dále u piva nefiltrovaného, ošetřeného pasteračními dávkami 20 PJ, 30 PJ, 40 PJ, 60 PJ, 80 PJ a 100 PJ. Jednotlivé parametry byly sledovány v časovém horizontu 4 měsíců. Součástí testů byl i mikrobiologický rozbor výplachové vody.

Dalším úkolem bylo zajistit data z mikrobiologických kontrol piva v různých částech výroby ve vybraných malých pivovarech, které využívají pro zvýšení mikrobiologické stability různé druhy filtrace, ověřit její účinnost a posoudit vhodnost pro použití v minipivovarech.

Pokus prokázal účinnost pasterace u nefiltrovaného piva pasteračními dávkami minimálně 40 PJ. U vyšších pasteračních dávek však s postupem času byly zjevné sensorické

změny. Pasterace nefiltrovaného piva je pro craft pivovary vhodná pouze v případech vyšší produkce lahvového piva či piva exportního, protože finanční náklady spojené s pořízením průtokového pastéru by byly značně vysoké a pro minipivovary většinou omezující. Křemelinová filtrace a ultrafiltrace je pro minipivovary zcela nevhodná a to proto, že by nebyly schopny zajistit takové podmínky, které podmiňují její správnou účinnost.

Klíčová slova: pivo, pasterace, filtrace, trvanlivost, mikrobiologická stabilita

Microbiology of unfiltered beers from craft breweries and the possibility of shelf life extending

Summary

In the last ten years can be recorded a multiple number of minibreweries, called sometimes „craft breweries“ It is not caused only by demand of kinds of beer characterised by special types of beer styles, but as well by the fact, that they are not anyway regulated and keep their natural taste and smell. The problem of unregulated (unfiltered and unpasteurized) beers starts by the contamination during their production and it may cause their relatively fast spoiling. Shelf life of these beers is a few weeks only. The time of their minimal shelf life is influenced by a lot of factors content of alcohol, rest extract and mentioned extent of contamination. The breweries called as industrial or commercial treat their beers by pasteurization or filtration which cause inactivation or killing of the microorganisms or their elimination. These beers are microbiologically stable, they are not liable to quick spoiling and it is possible to insure their longer shelf life. Pasteurized and filtered beers show changes in their sensorial character.

The aim of this diploma thesis was to determine the condition of flash pasteurization of unfiltered beers with the aim of microbiological stability and simultaneously no changes of their sensorial quality. The experiment is finally in treatment unfiltered beer by different dosing of pasteurization units and following microbiological analysis, able to demonstrate the stability effect. The analysis were used with unfiltered and unpasteurized beers and with unfiltered beers where the pasteurization doses 20 PU, 30 PU, 40 PU, 60 PU, 80 PU and 100 PU were used. The individual parameters were watched within the horizon of 4 months. The part of these tests was even microbiological analysis of the rinse water.

Another task was to find out the dates from the microbiological controls of beer in selected small breweries, which use in order to heighten of microbiological stability, different kinds of filtration, to verify their effectivity and to appreciate their acceptability for minibreweries.

The test showed the effectiveness of pasteurization of unfiltered beer with the ratios 40 PU minimally. Where higher ratios were used could be seen apparent sensorial changes. The pasteurization of unfiltered beers are for craft breweries useful only in case of higher production of bottled beer or beer for export, because the financial expenses bound

with provision flash pasteurizer are too big and for minibreweries mostly limiting. The kieselguhr filtration as well as the ultrafiltration are for minibreweries unuseful, as they could not be able to insure such conditions that provide their proper effectiveness.

Keywords: beer, pasteurisation, filtration, shelf life, microbiological stability

Obsah

1	Úvod	10
2	Cíl práce a hypotéza.....	11
3	Literární část	12
3.1	Produkce minipivovarů a malých pivovarů.....	12
3.2	Mikrobiologie pivovarské výroby	12
3.2.1	Kvasinky.....	12
3.2.1.1	Kulturní kvasinky	13
3.2.1.2	Divoké kvasinky	13
3.2.2	Bakterie.....	14
3.2.2.1	Octové bakterie	14
3.2.2.2	Mléčné bakterie.....	14
3.2.2.3	Mladinové bakterie	16
3.2.3	Plísně	16
3.3	Mikrobiologická stabilita piva.....	17
3.3.1	Nežádoucí mikroorganismy.....	17
3.3.2	Působení mléčných bakterií.....	18
3.4	Kontaminace v pivovarské výrobě.....	18
3.5	Trvanlivost piva.....	19
3.6	Metody prodloužení trvanlivosti	20
3.6.1	Filtrace.....	20
3.6.2	Pasterace.....	22
3.6.2.1	Průtoková pasterace piva	23
3.6.2.2	Tunelová pasterace	25
3.6.2.3	Účinnost pasterace	25
3.6.2.4	Porovnání průtokové a tunelové pasterace.....	25
3.7	Metody kontroly mikrobiologického zatížení pivovarské výroby a hotového piva	26
3.7.1	Klasické metody	26
3.7.2	Alternativní metody.....	26
4	Experimentální část	27
4.1	Charakteristika vybraných pivovarů	27
4.1.1	Pivovar A – s výstavem do 3 000 hl.....	27
4.1.2	Pivovar B – s výstavem 29 000 hl v roce 2015.....	27
4.1.3	Pivovar C – s výstavem 47 000 hl v roce 2015.....	27
4.1.4	Pivovar D – s výstavem v 63 000 hl roce 2015	28
4.2	Úkol č. 1 – pasterace nefiltrovaného piva.....	28
4.2.1	Analyzovaný materiál.....	28
4.2.2	Způsob pasterace	28
4.2.3	Způsob provádění mikrobiologické kontroly.....	28
4.2.4	Metodika mikrobiologických rozborů	29
4.2.5	Pomůcky	29

4.2.6	Očkovací půdy.....	29
4.2.7	Druh stanovení a podmínky kultivace	30
4.2.8	Postup mikrobiologického rozboru.....	30
4.3	Úkol č. 2 - křemelinová a membránová ultrafiltrace piva	31
5	Výsledky	32
5.1	Výsledky mikrobiologické kontroly pasterace.....	32
5.2	Výsledky mikrobiologických kontrol křemelinové filtrace a ultrafiltrace	36
5.2.1	Výsledky mikrobiologických kontrol pivovaru B	36
5.2.2	Výsledky mikrobiologických kontrol pivovaru C	37
5.2.3	Výsledky mikrobiologických kontrol pivovaru D	38
5.3	Grafické znázornění statistických výsledků.....	40
6	Diskuse	44
6.1	Pivovar A.....	44
6.2	Pivovar B.....	46
6.3	Pivovar C.....	46
6.4	Pivovar D.....	47
6.5	Celkové zhodnocení.....	47
7	Závěr	51
8	Seznam literatury	52
9	Seznam použitých zkratk.....	55
10	Samostatné přílohy.....	56
10.1	Výsledky mikrobiologických kontrol a jejich statistické zhodnocení pro pivovar B.....	56
10.2	Výsledky mikrobiologických kontrol a jejich statistické zhodnocení pro pivovar C	59
10.3	Výsledky mikrobiologických kontrol a jejich statistické zhodnocení pro pivovar D	63
10.4	Fotografie prototypu průtokového pastéru instalovaného v pivovaru A	67
11	Seznam příloh	69

1 Úvod

V současné době jsou stále více oblíbená a vyhledávaná nefiltrovaná a nepasterovaná piva, která jsou produkována zejména minipivovary, případně malými pivovary. Tato piva jsou charakteristická přirozeným obsahem kvasnic, které v pivu zůstaly po jejich „odstřelení“ na konci ležení. Jejich podíl vytváří v pivu lehký zákal a dodává mu charakteristickou chuť. Problémem nefiltrovaných a nepasterovaných piv je jejich omezená trvanlivost, která se udává pouze na několik týdnů a závisí na vlastnostech daného piva. Velmi přitom záleží také na skladovacích podmínkách.

Neupravené pivo může vedle přítomných kvasinek obsahovat i řadu jiných mikroorganismů. Rizikové jsou především mléčné a octové bakterie, které způsobují jeho zkysnutí. Nežádoucí je také výskyt mladinových bakterií a samozřejmě plísní produkujících mykotoxiny. Mikroorganismy mimo kulturních pivovarských kvasinek, a v určitých případech i tyto, se do piva mohou dostat ve všech jeho výrobních fázích. Proto je důležité zajistit v celé pivovarské výrobě dostatečnou čistotu a používat správnou výrobní technologii.

Komerční pivovary pro zajištění mikrobiologické čistoty a zvýšení trvanlivosti využívají pasterační nebo filtrační metody, které zajistí buď inaktivaci nebo usmrcení kvasničných buněk a nežádoucích mikroorganismů, nebo jejich úplné odstranění z piva. Tyto metody sice zajišťují jeho mikrobiologickou stabilitu, ale zpravidla ovlivňují i jeho výslednou chuť.

Minipivovary, které hotové pivo dále nijak neupravují, nemohou zaručit dostatečně dlouhou dobu trvanlivosti, což může být problém pro koncového spotřebitele. Snaha minipivovarů je zamezit kontaminaci a co nejvíce tak prodloužit možnou dobu trvanlivosti.

Veškeré odborné cizojazyčné publikace jsem si přeložila a následně interpretovala dle vlastních schopností a úvah.

Informace a data získaná pro účely vypracování experimentální části této práce jsou pro konkrétní pivovary velice důvěrná. Z tohoto důvodu v textu není uvedeno žádné jméno ani osoba, která by mohla být spojována s daným podnikem.

2 Cíl práce a hypotéza

Hlavním cílem této práce je stanovit podmínky průtokové pasterace pro nefiltrované pivo, které zajistí jeho dostatečnou mikrobiologickou stabilitu a zároveň budou mít co nejmenší vliv na jeho senzorický charakter.

Hypotézou je, že nefiltrovaná piva z minipivovarů i malých pivovarů budou obsahovat mimo pivovarských kvasinek i kontaminující bakterie různých rodů, případně divoké kvasinky. Mírnou pasterací by mělo dojít k usmrcení nebo výraznému snížení aktivity mikroorganismů tak, aby nedošlo k negativnímu ovlivnění senzorického profilu piva.

Dalším cílem je ověřit účinnost křemelinové filtrace a ultrafiltrace piva a jejich vhodnost pro prodloužení údržnosti piva v minipivovarech. Ultrafiltrace piva by měla zajistit naprostou mikrobiologickou čistotu, avšak bez negativního působení na chuťový profil.

3 Literární část

3.1 Produkce minipivovarů a malých pivovarů

Minipivovary jsou dle Basařové et al. (2010) pivovary s ročním výstavem 500 až 3 000 hl a s nejvyšším výstavem 10 000 hl ročně. V zahraničí se tento typ pivovarů nazývá „craft brewery“ neboli řemeslný pivovar. Pivo z těchto pivovarů se pak označuje jako „craft beer“. Výrazy „craft brewery“ a „craft beer“ se v souvislosti s minipivovary čím dál více používají i v ČR.

Craft pivovary se zaměřují na výrobu různých druhů nefiltrovaných a nepasterovaných piv určených především pro lokální trh. V posledních letech však došlo ke globalizaci minipivovarů, která vedla k potřebě rozšířit trh, a tím pádem i k vývozu piva mimo bezprostřední okolí. Z tohoto důvodu je třeba zvýšit trvanlivost a skladovatelnost těchto piv.

Důležitost nefiltrovaných a nepasterovaných piv produkovaných minipivovary, tedy craft piv, spočívá v jejich nezaměnitelných senzoryckých vlastnostech, které je odlišují od těch průmyslově vyráběných (Mascia et al., 2016).

Jako malé pivovary lze označit ty pivovary, které ročně vystaví od 10 000 do 200 000 hl piva. Řadí se již k pivovarům průmyslovým. Produkují převážně filtrovaná piva, která distribuují do veřejné sítě stravovacích zařízení, soustavy obchodních řetězců a jednotlivých obchodů v širším okolí pivovaru. Z právního hlediska se jedná o pivovary samostatně činné (Frantík, 2015; Potravinářská komora ČR, 2009).

3.2 Mikrobiologie pivovarské výroby

Pivovarská výroba využívá pro kvašení a dokvašování piva řízenou činnost pivovarských kulturních kvasinek a v různém rozsahu se uplatňují i další mikroorganismy, které se většinou pokládají za nežádoucí. Pro výskyt nežádoucích mikroorganismů se v pivovarské mikrobiologii používá termín „kontaminace“. O rozvoji daných druhů mikroorganismů rozhodují nároky na živiny, růstové faktory a kyslík (Šavel, 2010).

3.2.1 Kvasinky

Kvasinky jsou živé organismy taxonomicky náležející k houbám. Pivovarská mikrobiologická společnost European Brewery Convention (EBC) definuje pivovarské kvasinky jako kulturní kvasinky používané pro výrobu spodně nebo svrchně kvašených piv (Šavel, 2010).

3.2.1.1 Kulturní kvasinky

Pro výrobu spodně kvašených piv se používají spodní pivovarské kvasinky, *Saccharomyces cerevisiae* (*carlsbergensis*) případně *uvarum*. Tento druh kvasinek se používá při výrobě piva typu ležák, kvasí v teplotním rozmezí 7 – 15 °C a sedimentuje na dně kvasné nádoby. Svrchně kvašená piva typu ale i dalších druhů jsou produkována svrchními pivovarskými kvasinkami, *Saccharomyces cerevisiae*, v teplotním rozmezí 18 – 22 °C. Svrchní kvasinky jsou v průběhu kvašení vynášeny do tzv. kvasničné deky. Základní rozdíly mezi kvasinkami spodními a svrchními jsou ve složení genetického materiálu a buněčných stěn, ve stupni zkvašování α, α -rafinosy, ve sporulaci (spodní kvasinky sporulují obtížně), v růstu na specifických půdách, navíc mají rozdílné technologicky významné vlastnosti. Svrchní kvasinky rostou při vyšších maximálních teplotách a vykazují i vyšší teplotní odolnost.

Mimo kvasinky spodního a svrchního kvašení zahrnuje EBC do své definice kulturních kvasinek i některé další kvasinky a kvasinkové mikroorganismy používané v menší míře k výrobě speciálních piv, např. Lambic, Krieg, Pombe (Šavel, 2010).

3.2.1.2 Divoké kvasinky

„Divoké“ nebo také „cizí“ kvasinky jsou kvasinky jiné než kulturní pivovarské, působí nepříznivě a mohou se nacházet v různých fázích pivovarské výroby. Největší problémy působí při hlavním kvašení, kdy jejich činností vzniká nežádoucí chuť a aroma. Dalším projevem kontaminace cizími kvasinkami může být zpomalení nebo úplné zastavení kvasného procesu a také tzv. superatenuace neboli hlubší prokvašení hotového piva. Hlouběji prokvašené pivo obsahuje jen minimum zbytkového extraktu, tudíž i vyšší koncentraci alkoholu. Mezi divoké kvasinky lze tedy řadit i kulturní kvasinky, které se vyskytují buď mimo žádoucí část výrobního procesu (kvašení a dokvašování) nebo nejsou plně pod kontrolou.

Divoké kvasinky se běžně rozdělují do dvou skupin, první jsou kvasinky rodu *Saccharomyces*, druhou pak kvasinky patřící do jiných rodů označovány jako non-*Saccharomyces*. Z hlediska škodlivosti jsou divoké kvasinky rodu *Saccharomyces* považovány za rizikovější, protože mnohé z nich jsou schopné růst právě v anaerobních podmínkách a tedy konkurovat kulturním kvasinkám při kvasných procesech. Výsledkem může být produkce nežádoucích aromatických látek a změna v celkovém sensorickém profilu hotového piva. Divoké kvasinky rodu *Saccharomyces* jsou blíže příbuzné kulturním

pivovarským kvasinkám. Jejich biochemická a fyziologická podobnost je navíc častou příčinou vzájemného odlišení. Typickými zástupci, dnes řazenými do druhu *S. cerevisiae*, jsou například *S. logos*, *S. uvarum*, *S. pastorianus*, *S. diastaticus*. Skupina non-*Saccharomyces* zahrnuje divoké kvasinky rodu *Brettanomyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Rhodotorula*, *Torulaspota* a dalších. Kvasinky této skupiny jsou považovány za méně rizikové pro svou omezenou schopnost růst a množit se za anaerobních podmínek a fermentovat cukry. Pokud dojde ke kontaminaci piva těmito kvasinkami a nejsou z něj odstraněny pasterací nebo sterilní filtrací, mohou v něm přežít, ale nijak ho nepoškodí. Jejich přítomnost však svědčí o nízké úrovni hygieny v pivovarském provozu (Matoulková et al., 2013).

3.2.2 Bakterie

V pivovarské výrobě se uplatňuje jen menší počet rodů z množství vyskytujících se v přírodě. Zásadní vliv mají octové bakterie (rody *Acetobacter*, *Gluconobacter*), mléčné bakterie (*Lactobacillus* a *Pediococcus*) a tzv. mladinové bakterie (většinou z čeledi Enterobacteriaceae). Z dalších lze jmenovat rody *Pectinatus*, *Megasphaera*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, v zahraničních pivech také *Zymomonas*. Z čeledi Enterobacteriaceae se uvádějí především rody *Enterobacter* a *Escherichia* (Šavel, 2010).

3.2.2.1 Octové bakterie

Octové bakterie se v pivovarském provozu vyskytují především v prostředí zbytků piva a meziproductů za přístupu vzduchu. V pivu nasyceném CO₂ nerostou, mohou v něm však přežít. Tyto bakterie jsou striktně aerobní, vyžadují tedy k životu kyslík. Existují ale i druhy mikroaerofilní se sníženými nároky na přítomnost kyslíku. Octovým bakteriím navíc nevádí ethanol, ani nízké pH. Právě ethanol v pivu oxidují na kyselinu octovou, kterou mohou dále oxidovat na CO₂ a vodu (Šavel, 2010).

3.2.2.2 Mléčné bakterie

Mléčné bakterie neboli bakterie mléčného kvašení představují různorodou skupinu bakterií se společným charakteristickým znakem – produkcí kyseliny mléčné. Řadí se sem například rody *Lactobacillus*, *Lactococcus* a *Pediococcus*, a dále například *Leuconostoc*, *Streptococcus* nebo *Weisella* a jiné. Řada z těchto bakterií, především rodu *Lactobacillus*, se využívá pro výrobu různých fermentovaných potravin nebo jako probiotika. Jako kontaminace se mohou vyskytovat právě při výrobě piva a dalších fermentovaných

nápojů, jakými jsou dále víno nebo saké. Mléčné bakterie jsou součástí přirozené mikroflóry ječmene, přežívají v průběhu sladování i rmutování a při výrobě piva mají dokonce pozitivní vliv při bio-acidifikaci sladiny. Cílem okyselování rmutu a sladiny jsou definované hodnoty pH rmutu, sladiny a hotového piva bez přísad dalších kyselin. Pro tento účel se využívají zejména tyto druhy mléčných bakterií: *Lactobacillus amylolyticus*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *Pediococcus acidilactici* a *P. dextrinicus*.

Obecně jsou však mléčné bakterie, zvláště rody *Lactobacillus* a *Pediococcus* v pivovarské výrobě velmi nežádoucí. Podle odhadů zodpovídají za 60 – 90 % případů mikrobiálního kažení piva v Evropě z období let 1980 – 2002. Při výrobě piva může dojít jednak k primární kontaminaci mléčnými bakteriemi, která může značně poškodit sensorické vlastnosti vznikem nežádoucích sensorických látek již během výroby. Dále může dojít ke kontaminaci sekundární, tzv. post-pasterizační, která může finální produkt poškodit tvorbou zákalu a negativně ovlivnit jeho chuť a vůni. Nejrozšířenějším rodem mléčných bakterií v pivovarském provozu a v pivu samotném je *Lactobacillus*, v menší míře pak *Pediococcus*.

Schopnost některých kmenů mléčných bakterií přežít a pomnožovat se v pivu a pivovarském prostředí je přisuzována jejich toleranci k hořkým chmelovým látkám, nižšímu pH a vyššímu obsahu alkoholu a CO₂. Mléčné bakterie se mohou množit v různých fázích výroby piva, například pro bakterie adaptované na hořké chmelové látky je ideálním prostředím pro růst mladina. V průběhu hlavního kvašení dochází k poklesu množství rozpuštěného kyslíku a ke snížení hodnoty pH. Pivovarské kvasinky následně stimulují růst bakterií mléčného kvašení produkcí množství vitamínů, aminokyselin a dalších látek. Takto jsou zajištěny optimální podmínky pro rozvoj kontaminace mléčnými bakteriemi.

Kontaminace v průběhu hlavního kvašení a dokvašování způsobuje snížení kvality piva, tím se rozumí poškození jeho organoleptických vlastností tvorbou organických kyselin a dalších sensoricky významných látek. Tato tzv. primární kontaminace může být v dalších fázích výroby z piva odstraněna filtrací nebo pasterací, její produkty poškozující sensorický profil piva však ne. Při rozvoji primární kontaminace se uplatňuje několik významných faktorů, které zapříčiňují například vznik diacetylu. Mezi tyto faktory patří teplota dokvašování, stupeň prokvašení piva a hladina počáteční kontaminace, přičemž platí, že pivo s vyšším pH, málo prokvašené, s vyšším obsahem aminokyselin a zkvasitelných cukrů a s nižším obsahem CO₂ je náchylnější k rozvoji kontaminant. K sekundární neboli post-pasterizační kontaminaci dochází až při stáčení piva do obalů. Riziko kontaminace piva mléčnými bakteriemi a jeho následného kažení je mnohem větší v pivovarech s produkcí

nepasterovaných, nízkoalkoholických, nealkoholických nebo méně chmelených piv (Matoulková et Kubizniaková, 2015).

Pro pivo poškozené mléčnými bakteriemi je typická tvorba zákalu, zvýšená kyselost piva, produkce plynu a nežádoucích sensoricky aktivních látek, kterými jsou kyselina mléčná, octová, diacetyl a další. Jako nejškodlivější mléčné bakterie v pivovarské výrobě jsou uváděny *L. brevis*, *L. lindneri* a *P. damnosus* (Matoulková et Kubizniaková, 2015; Vriesekoop et al., 2012).

3.2.2.3 Mladinové bakterie

Pod označení „mladinové bakterie“ se slučuje více skupin bakterií, vyskytujících se zpravidla v hojném počtu ve studené mladině. V ní se nacházejí sice i mléčné a octové bakterie, ale v užším pojetí se k nim řadí pouze gramnegativní tyčinky z čeledi Enterobacteriaceae a často také rod *Obesumbacterium*. Také mezi ně patří koliformní bakterie skupiny *coli aerogenes*, které jsou často přítomné ve vodě. Mikrobiologická čistota vody v pivovaru musí odpovídat kvalitě pitné vody, v níž se obvykle sleduje právě obsah koliformních bakterií, *Escherichia coli* a dalších bakterií značících fekální znečištění. Patogenní je *Escherichia coli* O157:H7 způsobující člověku alimentární onemocnění.

Mladinové bakterie pro svůj růst využívají z mladiny živiny i růstové faktory, spotřebovávají kyslík a především ji okyselují. Obzvláště nebezpečná je redukce dusičnanů z důvodu inhibice růstu kvasinek vznikajícím dusitanem (Šavel, 2010).

3.2.3 Plísně

Plísně jsou mikroskopické houby produkující toxické sekundární metabolity zvané mykotoxiny. Přirozeně se vyskytují na povrchu zrn ječmene již při jeho pěstování a sklizni. Na obilkách ječmene lze nalézt mimo plísní i značný počet bakterií, aktinomycet a kvasinek. Zastoupení jednotlivých mikroorganismů se následně mění při skladování zrna a další specifické změny nastávají při máčení, klíčení a sušení sladu. Pomnožování plísní a bakterií při skladování ječmene a sladu ovlivňují vnější a vnitřní podmínky úchovy, přičemž rozhodující je teplota a vlhkost, a také antagonistické i synergické vztahy s jinými mikroorganismy. Činnost plísní je možné omezit působením mléčných bakterií záměrně použitých při výrobě sladu.

Pro obsah mikroorganismů ve sladu neexistují žádné závazné normy. Jejich přítomnost však může již v těchto fázích výroby ovlivnit hotové pivo tvorbou sensoricky významných metabolitů, vznikem technologicky nežádoucích látek a zejména tvorbou

nebezpečných metabolitů, jako jsou mykotoxiny a nitrosaminy. Obsahy mykotoxinů v ječmeni, sladu a pivu jsou velice proměnné, ale závisejí i na metodě jejich stanovení. Pivovarský proces snižuje množství mykotoxinů jen částečně, proto se doporučuje kontrolovat jejich obsah v nakupovaném ječmeni či sladu. V některých letech však kontaminace ječmene výrazně vzrůstá a to v závislosti na počasí.

Z technologického hlediska je nežádoucí zejména rod *Fusarium*, který způsobuje tzv. gushing, neboli bouřlivé přepěňování piva. Jako další rody mající vliv na přepěňování piva se uvádí *Alternaria*, *Nigrospora* a *Stemphylium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* a *Penicillium* (Šavel, 2010).

3.3 Mikrobiologická stabilita piva

Pivo je nápoj s vysokou mikrobiologickou stabilitou zajišťovanou hořkými chmelovými látkami, alkoholem, CO₂, nízkým pH, nízkým obsahem živin a kyslíku. Tyto faktory zabraňují rozvoji většiny mikroorganismů včetně těch patogenních (Matoulková et Kubizniaková, 2015). Vaughan et al. (2005) uvádí, že studie hodnotící roli jednotlivých složek piva, např. rozpuštěného CO₂, fenolové sloučeniny, chmelové látky aj., ukazují jejich pozitivní dopad na biologickou stabilitu jen za určitých podmínek.

K vyšší mikrobiologické nestabilitě a mikrobiálnímu kažení jsou více náchylná piva s nízkou kyselostí, nízkoalkoholická a nealkoholická, s nízkým obsahem CO₂ a s přidaným cukrem.

Přestože je pivo mikrobiologicky stabilní produkt, nežádoucí mikroorganismy přítomné v průběhu sladování ječmene a při samotné výrobě piva, mohou způsobit jeho znehodnocení. Vznik nežádoucího aroma a tvorba zákalu zásadně ovlivňuje jakost hotového piva a má negativní finanční důsledky v celém oboru pivovarnictví (Vaughan et al., 2005).

3.3.1 Nežádoucí mikroorganismy

Bakterie a kvasinky vyskytující se v pivovarské výrobě se často rozdělují do pěti skupin podle své škodlivosti a růstové schopnosti v pivu. Nejnebezpečnější jsou mikroorganismy obligátně škodlivé, které v pivu rostou za každých okolností, a potenciálně škodlivé, které vyžadují adaptaci nebo rostou jen v pivu vyrobeném nesprávným technologickým postupem, případně nepřímo škodlivé, které mohou způsobit závady v předešlých fázích výroby, ale v pivu se nepomnožují. Přítomnost indikátorových mikroorganismů v pivu ukazuje na nedostatečnou čistotu provozu. Latentní mikroorganismy v pivu pouze přežívají. Jednotlivé třídy mikroorganismů někdy splývají nebo přecházejí

z třídy do třídy (Šavel, 2010). Konkrétní příklady mikroorganismů členěné do příslušných skupin prezentuje tabulka 1.

Tabulka 1: Hlavní skupiny pivovarských mikroorganismů podle škodlivosti (Šavel, 2010)

skupina mikroorganismů	specifikace	rod, druh
I. obligátně škodlivé	růst v pivu	<i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Pectinatus</i> , <i>S. cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i>
II. potenciálně škodlivé	růst v pivu po adaptaci případně v poškozeném pivu	<i>Lactobacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Zymomonas</i> , cizí kvasinky
III. nepřímo škodlivé	růst v meziproduktech	<i>Enterobacter</i> , <i>Obesumbacterium</i> , <i>Pichia</i> , <i>Candida</i> , <i>S. cerevisiae</i>
IV. indikátorové	růst na zbytcích substrátů	<i>Acetobacter</i> , <i>Gluconobacter</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Bacillus</i>
V. latentní	přežívání v pivu, ve výrobě	<i>Enterobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Clostridium</i>

3.3.2 Působení mléčných bakterií

Biologická ochrana usiluje o zlepšení mikrobiologické bezpečnosti s využitím konkurenčních nebo antagonistických mikroorganismů nebo jejich metabolitů. Obecně jsou v potravinářství pro biologickou ochranu využívány bakterie mléčného kvašení, které produkují antimikrobiální sloučeniny, kyselinu mléčnou a bakteriociny, inhibující růst jiných bakterií nebo plísní a jsou tak schopny zvýšit mikrobiologickou stabilitu výrobku.

Bakterie mléčného kvašení jsou však při výrobě piva spíše nebezpečné. Lze je ale nalézt téměř ve všech fázích pivovarské výroby zahrnující i sladovnictví. Jsou přirozenou součástí mikroflóry ječmene a přetrvávají i při sladování a rmutování, kde mohou hrát pozitivní roli při inhibici nežádoucích mikroorganismů a přispívat k bioacidifikaci vylučky (Vaughan et al., 2005).

3.4 Kontaminace v pivovarské výrobě

Pivo může obsahovat kontaminující látky mikrobiálního původu pocházející z různých zdrojů. Primární kontaminanty pocházejí ze surovin a z procesu samotné výroby piva,

sekundární kontaminanty jsou do něj zavlečeny až při plnění do obalů. Přibližně polovinu mikrobiologických problémů hotového produktu lze přičíst právě sekundární kontaminaci.

Zdrojem kontaminace mohou být násadní pivovarské kvasnice, pokud je s nimi při jejich propagaci špatně manipulováno a zařízení na jejich propagaci a uchovávání není řádně sanitováno a udržováno. Velmi náchylné ke kontaminaci jsou i hadice používané především menšími klasickými pivovary a minipivovary. Silně kontaminovány mohou být také obaly, do kterých je pivo stáčeno. Zejména lahve vracející se z obchodního řetězce mohou obsahovat zbytky piva s pomnoženými kontaminujícími mikroorganismy. Častým zdrojem kontaminace jsou také špatně uzavřené lahve nebo lahve s pivem pasterovaným mžikově, tedy před tím, než je plněno do obalů a to z důvodu přetrvávající kontaminace v plnicí hale. Ta může vyplývat ze sekvenčního růstu různých, ale vzájemně závislých mikroorganismů, které se vážou na povrch ve formě biofilmu. Zařízení používaná v procesu plnění jsou zvláště náchylná k tvorbě biofilmu v důsledku velkých objemů vody, které se používají pro oplachování lahví během plnění. Biofilmy vytvořené na površích jsou především zdrojem mikrobiální kontaminace, ale dokáží také ochránit doprovodné mikroorganismy, mléčné nebo octové bakterie, které mají nežádoucí vliv na jakost piva. Největším rizikem pro zvýšení sekundární kontaminace je tak přítomnost biofilmů v blízkosti neuzavřených lahví (Vaughan et al., 2005).

3.5 Trvanlivost piva

Doba skladovatelnosti je podmíněna trvanlivostí biologickou, chemickou a senzorickou, která vstupuje do popředí až v posledních letech. Pokud hotové pivo není nijak ošetřeno, je ve většině případů rozhodujícím faktorem trvanlivost biologická (Hrabák et Wunsch, 1999). Hill (2009) uvádí, že mikrobiologická stabilita konečného produktu může být ohrožena již v počáteční fázi výroby kontaminací surovin či nevhodným výrobním postupem s nedodržením hygienických opatření. Pro pomnožování mikroorganismů je však pivo, ve srovnání se sladinou a mladinou, méně vhodným médiem a to zejména díky obsahu hořkých chmelových látek. Přesto se v něm v závislosti na výrobních podmínkách mohou některé mikroorganismy pomnožovat, a následně nepříznivě ovlivňovat jeho biologickou stabilitu. V tomto ohledu se uplatňují jak kvasinky, tak bakterie (Bendová et Kurzová, 1980). Právě biologická trvanlivost piva je největším problémem většiny minipivovarů (Šrogl et Kopecký, 1971).

Šavel a Prokopová (1981) pak uvádí, že ve stočeném pivu mohou růst různé kmeny kulturních i cizích kvasinek negativně ovlivňujících jeho trvanlivost. Ta závisí na teplotě

skladování, počáteční koncentraci kvasničných buněk, jejich fyziologickém stavu, druhu a kmenu kvasinek a na celkovém složení piva. Všeobecně se uvádí, že dobře prokvašená piva s vysokým obsahem alkoholu a CO₂ mají vysokou trvanlivost. V pivu přítomný alkohol a CO₂ může potlačovat růst kvasinek. Některé kmeny však vykazují odolnost proti současnému působení těchto látek, a proto se mohou v pivu poměrně rychle množit. Pro předpověď trvanlivosti je nutné znát množství těchto kvasinek v hotovém pivu.

3.6 Metody prodloužení trvanlivosti

Vzhledem k tomu, že roste poptávka po produktech všeobecně méně upravovaných a bez chemických konzervačních látek, avšak s dlouhou dobou skladovatelnosti, začínají se objevovat nové postupy pro zvyšování mikrobiologické stability a to i v pivovarnictví. Principem těchto nových metod je využití mikrobiálních metabolitů, např. bakteriocinů a antifungicidních sloučenin produkovaných mléčnými bakteriemi, jako biokonzervantů spolu s různými druhy konzervačních ošetření. Výsledkem je synergická interakce použitých metod a zvýšení odolnosti produktu proti působení nežádoucích mikroorganismů. Biochemické účinky kyseliny mléčné a chmelových produktů lze kombinovat s fyzikálními účinky pasterace, filtrace a aseptického plnění. Využitím synergického účinku lze dosáhnout snížení počtu produktů narušených mikrobiální kontaminací, tím klesá následná potřeba intenzivní pasterace. Celkově má tento efekt pozitivní ekonomický dopad.

Pro zajištění delší trvanlivosti piva jsou ale prozatím nejvíce používány metody filtrace a pasterace, které mění chuť, aroma a charakteristické vlastnosti piva (Vaughan et al., 2005).

3.6.1 Filtrace

Filtrace představuje základní a neúčinnější metodu pro zajištění čirosti a trvanlivosti piva, a to jak mikrobiologické, tak koloidní. Čirost spolu s trvanlivostí jsou základní vlastnosti, které spotřebitel u piva očekává a určují i prodejnost výrobku. Podstatou filtračního procesu je odstranění mikroorganismů a kalických látek obsažených v pivu na konci ležení (Briggs et al., 2004).

Filtrací se z piva odstraňují jednak mikroorganismy (kvasinky, bakterie), ale také zákalotvorné částice jako jsou bílkoviny, polyfenoly, kondenzované polyfenoly a jejich konglomeráty. Rozměr kvasinek je 5 – 10 μm, bakterií 0,1 – 2 μm a částic zákalu 0,1 – 5 μm, přičemž se mohou shlukovat do větších celků.

Vlastním principem filtrace je průtok kapaliny přes pórovitou překážku, na níž se zachycují tuhé částice a vytváří se tzv. filtrační koláč. Míra ostrosti filtrace je dána velikostí

pórů filtrační vrstvy, množstvím a vlastnostmi kalících částic obsažených v pivu. Částice zachycené při filtraci na filtrační přepážce se stávají její nedílnou součástí. Filtrační přepážka je perforovaná plocha, na kterou se nanáší vlastní filtrační materiál tvořící filtrační vrstvu neboli filtrační koláč. V průběhu filtrace se postupně zvětšuje vrstva částic zachycených filtrační přepážkou, tím se zmenšují póry pro přechod čírého piva a zpomaluje se průtok, přičemž narůstá tlak na filtrační přepážku (Basařová et al., 2010).

Základní filtrační metodou, která je stále jednou z nejpoužívanějších, je křemelinová filtrace (Briggs et al., 2004). V posledních letech se ale využívají i další způsoby filtrace piva, zvyšuje se podíl zejména filtrace s využitím membrán neboli membránové filtrace. Tento způsob filtrace se někdy také označuje jako studená pasterace (Hrabák et Wunsch, 1999). Častým technologickým postupem je filtrace dvoufázová s využitím různých filtračních systémů. Prvním stupněm bývá křemelinová filtrace, kterou se odstraní kvasinky a zákalotvorné částice. Při tzv. dofiltraci piva se uplatňuje zejména již zmíněná membránová technika (Briggs et al., 2004).

Křemelinová filtrace využívá pro separaci kvasinek a dalších složek práškovitý filtrační materiál, křemelinu, což je prášek z rozemletých schránek sladkovodních nebo mořských rozsivek s částicemi o průměru 5 – 20 μm , která vytváří na filtrační přepážce účinnou filtrační vrstvu. Jednotlivé částice jsou pórovité, ale póry se při filtraci uplatňují jen málo. Křemelina je v pivovarnictví nejrozšířenější filtrační materiál, u níž se sledují následující fyzikální kritéria: průtočnost, objem za mokra, sypaná hmotnost, podíl těžších částic, granulometrické složení a měrná hmotnost. Tyto vlastnosti určují její praktické využití. V praxi se křemeliny dělí na hrubé a jemné. Hrubé se používají jako základní naplavovací vrstva, jemné, smíchané s hrubými, pak pro získání čírého filtrátu. Jemné podíly snižují prostupnost vrstvy a tím klesá filtrační výkon. Křemelina se dnes využívá pouze jednorázově. Pro správnou účinnost křemelinové filtrace je důležité dokonale zvolit kombinaci křemeliny pro základní, obvykle prováděný dvěma vrstvami. První je tvořena směsí hrubé a jemné křemeliny s větším podílem hrubé, druhá je jemnější a odpovídá směsi dávkované s pivem během filtrace. Křemelinové filtry se rozlišují deskové, sítové a svíčkové.

Membránová filtrace využívá membrány vyrobené z různých materiálů, konkrétně z plastu, kovu nebo keramiky. Filtrační membrány patří mezi odzárodkovací filtrační materiály, které mají i stabilizační funkci. Lze je připravit s přesnou velikostí pórů pro potřebný účel (Basařová et al., 2010).

3.6.2 Pasterace

Princip pasterace objevil Louis Pasteur, který popsal smrtící účinek zvýšené teploty na mikroorganismy. V pivu navíc příznivě působí i mírně kyselé pH, které přispívá k dostatečnému smrtícímu efektu zvýšené teploty. Po stránce mikrobiologické je pasterace jednoznačně výhodná, ale nelze opomenout její nepříznivé aspekty. V pasterovaném pivu proběhnou za zvýšené teploty velice snadno chemické reakce, které za normální teploty probíhají jen pomalu nebo neprobíhají vůbec. Takto vznikají změny, které ovlivňují zvláště smyslové vlastnosti piva. Uvedené změny jsou výraznější u piva s větším obsahem kyslíku a vysokomolekulárních bílkovin (Šrogl et Kopecký, 1971).

Pasterace je tedy tepelné zahřátí piva, při kterém dochází k inaktivaci mikroorganismů a tudíž k zajištění mikrobiální stability konečného produktu. Cílem je inaktivovat kulturní kvasinky spodního či svrchního kvašení, aby již nedocházelo k jejich množení, spolu s potenciálními kontaminujícími mikroorganismy jako jsou divoké kvasinky, rody *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* a další. Pasterace piva umožňuje stabilizaci hotového piva na delší dobu, čímž je prodloužena jeho skladovatelnost (Buzrul, 2007; Jíra, 1995; Milani et al., 2015). Hrabák a Wünsch (1999) uvádí, že pasterační účinek nemá stoprocentní sterilizační efekt, ale jeho cílem je snížit počet mikroorganismů pod určitou mez, přičemž letální účinek teploty závisí na druhu a kmeni kontaminujícího mikroorganismu.

U pasterace byl zaveden pojem tzv. smrtícího efektu pasterace, který je funkcí teploty a času. Intenzita pasterace je pak definována tzv. pasterační jednotkou (PJ), což je dávka pasterace, kterou je pivo pasterováno při 60 °C po dobu 1 minuty (Šrogl et Kopecký, 1971). Tak například pasterace po dobu 15 minut při teplotě 60 °C se vyjádří hodnotou 15 PJ (Buzrul, 2007). Při zvýšení teploty o 1 °C se efekt pasterace zvýší 1,395krát, při 61 °C se pasterační efekt vyjádří 1,395 PJ (Šrogl et Kopecký, 1971).

V současné době se v praxi využívají dva typy pasterace, průtoková neboli mžiková pasterace a tunelová pasterace (Janoušek et Basařová, 2001). Rozdíl mezi nimi je jak v délce trvání a maximální použité teplotě, tak v jejich aplikaci v odlišné fázi výroby (Boulton et Quain, 2001; Vaughan et al., 2005). Při mžikové pasteraci se pivo nejprve pasteruje, až poté se plní za aseptických podmínek zpravidla do KEG sudů. Mžiková pasterace piva je označována také jako průtoková pasterace. V případě tunelové pasterace se pivo nejdříve plní do sterilních skleněných lahví, následně je pasterováno v tunelovém pastéru (Buzrul, 2007). Aplikace mžikové pasterace nemusí vzhledem k možné kontaminaci při stáčení piva

zcela zaručit požadovanou mikrobiologickou stabilitu produktu. Správně aplikovaná tunelová pasterace poskytuje v tomto ohledu téměř stoprocentní jistotu (Janoušek et Basařová, 2001).

Samotný proces pasterace zahrnuje tři fáze – ohřívání, držení a ochlazení. V době ohřívání, tedy na počátku pasterace, je znatelné kolísání teploty, které negativně ovlivňuje správnou účinnost pasterace.

V pivovarství, kde je žádoucí jen minimální působení tepla, se využívá tzv. nízkoteplotní pasterace, která nevykazuje nežádoucí organoleptické změny ve finálním produktu (Buzrul, 2007).

3.6.2.1 Průtoková pasterace piva

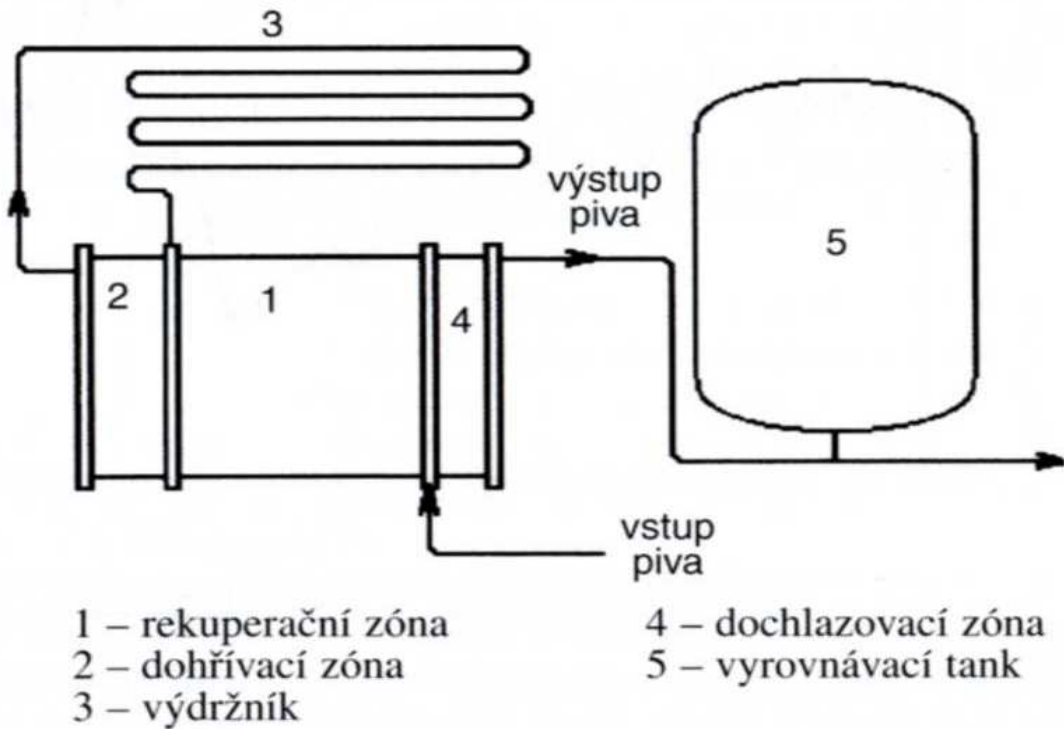
Název „mžiková“ pasterace se používá proto, že průchod piva skrze deskový výměník tepla je velmi rychlý (Vaughan et al., 2005). Při průtokové pasteraci je pivo přiváděno do rekuperační zóny, kde je predehříváno vystupujícím pivem. Na požadovanou pasterační teplotu je pivo dohříváno v další zóně, tzv. dohřívací. Výsledného pasteračního účinku je dosaženo ve výdržníku. Následné ochlazení piva probíhá pivem vstupujícím (rekuperační zóna), na požadovanou teplotu je dochlazeno v poslední tzv. dochlazovací zóně. Pasterované pivo je po ochlazení shromážděno v tzv. vyrovnávacím tanku (Hrabák et Wünsch, 1999).

Při průtokové pasteraci se pivo krátkodobě zahřívá po dobu přibližně 30 sekund při 71 – 72 °C, což odpovídá asi 27 PJ. Tato dávka PJ zajistí usmrcení mikroorganismů (Lorenzen, 1982). Milani et al. (2015) však uvádí, že při mžikové pasteraci teplotou 71 °C po dobu 30 sekund se zcela neinaktivují mikroorganismy přispívající ke kažení piva, jako jsou *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus cerevisiae* a divoké kvasinky *Saccharomyces diastaticus*.

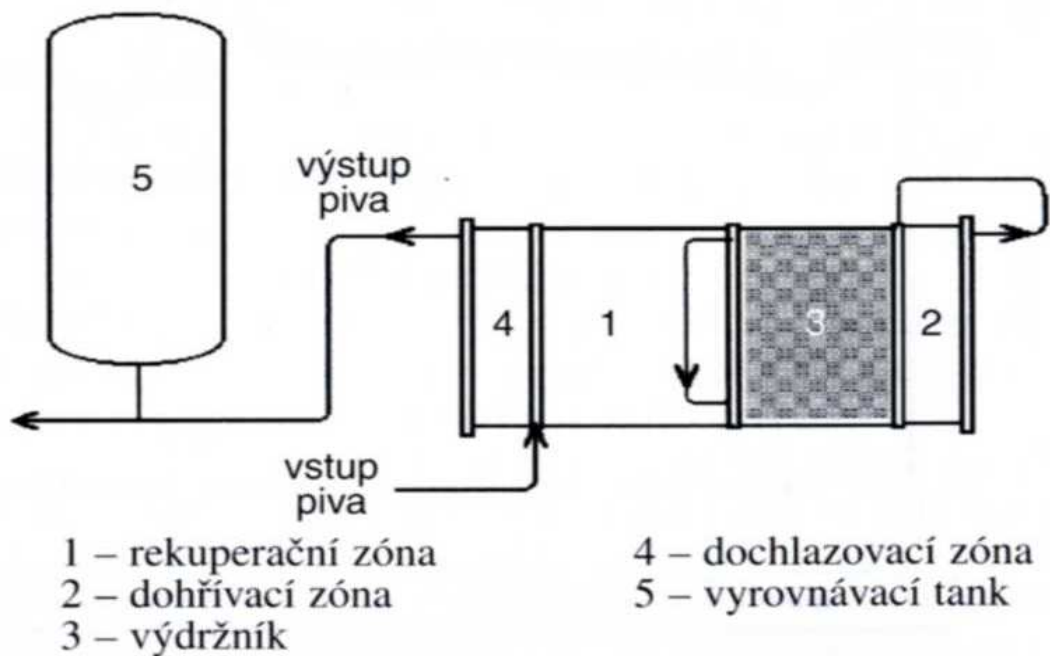
Z hlediska biologické trvanlivosti lze průtokovou pasteraci srovnat se sterilační filtrací. Při průtokové pasteraci se vyžaduje sterilace plnicích cest a aseptické plnění, přičemž se klade velký důraz rovněž na čistotu lahví (Lorenzen, 1982).

Obrázek 1: Různá konstrukční uspořádání průtokových pastérů (Hrabák et Wunsch, 1999)

Obr. 1 Schéma průtokového pasteru s externím výdržníkem



Obr. 2 Schéma průtokového pasteru s interním výdržníkem



3.6.2.2 Tunelová pasterace

Tunelová pasterace používaná k zajištění potřebné sterility piva se provádí sprchováním lahví či plechovek plných piva horkou vodou (Boulton et Quain, 2001). Takto se pivo pasteruje při 65 – 68 °C po dobu 20 minut nebo při 72 – 75 °C po dobu 1 – 4 minuty, to odpovídá 10 – 20 PJ (Milani et al., 2015; Vaughan et al., 2005). Jíra (1995) uvádí, že v českých pivovarech se pasterace provádí ohřátím piva po dobu 30 – 45 minut s maximální teplotou okolo 63 °C.

3.6.2.3 Účinnost pasterace

K zajištění biologické stability piva je zapotřebí dodat nutný počet pasteračních jednotek. Účinnost pasterace pak závisí na době, teplotě, druhu kontaminace, stupni kontaminace a typu piva. Vliv má obsah alkoholu, obsah nezkvašeného extraktu, obsah CO₂ a pH. Vyšší obsah alkoholu a CO₂ celkově snižuje nutný počet pasteračních jednotek, naopak zvýšený nezkvašený extrakt a zvýšené pH vyžadují větší přísun tepla (Lorenzen, 1982).

Základním předpokladem pro správný způsob pasterace a požadovaný účinek je stanovení tepelné rezistence mikroorganismů. Pivovary, které nemají možnost kontrolovat stupeň pasterace vyrobeného piva, často pasterují při vyšších teplotách, aby dosáhly vysoké pravděpodobnosti usmrcení mikroorganismů. To má ovšem za následek jednak zvýšené náklady na samotnou pasteraci, a dále zhoršení sensorické kvality pasterovaného piva, které může vykazovat silnou pasterační příchut' a vůni a být nepoživatelné.

Pro správné určení pasteračního účinku je nezbytné po celou dobu pasterace měřit teplotu piva při průchodu pastérem. To zajišťuje tzv. registrační teploměr, který hodnoty naměřené v nastavených intervalech zaznamená a vyhodnotí (Jíra, 1995).

3.6.2.4 Porovnání průtokové a tunelové pasterace

Pořizovací a provozní náklady na deskový pastér jsou ve srovnání s tunelovým pastérem sice nižší, avšak výdaje spojené s aseptickým plněním jsou naopak vyšší. Při stáčení piva po průtokové pasteraci je mnohem větší riziko sekundární kontaminace, z tohoto důvodu je nezbytné provádět rozšířené biologické kontroly (Lorenzen, 1982).

Tabulka 2 představuje klady a zápory jednotlivých zařízení určených ke zvýšení stabilizace piva.

Tabulka 2: Přednosti a nedostatky různých stabilizačních metod (Lorenzen, 1982)

	tunelový pastér (tunelová pasterace)	deskový pastér (mžiková pasterace)	sterilační filtr (filtrace)
investiční náklady	-	(+)	+
provozní náklady	-	+	(+)
potřeba místa	-	(+)	+
efektivnost zařízení	+	-	-
mikrobiologická jistota	+	-	-

- nedostatek; + přednost

3.7 Metody kontroly mikrobiologického zatížení pivovarské výroby a hotového piva

3.7.1 Klasické metody

Klasické metody zahrnují všechny kultivační techniky, při kterých se využívá velké množství více či méně specifických půd. Půdy bývají tuhé, polotuhé nebo citlivější tekuté. Žádná však není univerzální.

Technikou nejčastěji používanou pro nahromadění mikroorganismů je membránová filtrace, při níž se zkoumaný vzorek zfiltruje přes sterilní membránový filtr, který se následně umístí živnou půdu nebo podložku a nechá se kultivovat za daných podmínek.

Podrobné návody mikrobiologických rozborů uvádí Analytica-Microbiologica podle EBC odvolávající se na příslušné směrnice EU týkající se potravin a vody. Součástí tohoto souboru jsou i pokyny pro aseptický odběr a analýzu vzorků ječmene, mladiny, kvasnic, piva odebraného z různých míst provozu aj (Šavel, 2010).

3.7.2 Alternativní metody

Klasické kultivační metody lze v některých případech nahradit rychlými mikrobiologickými metodami, které využívají různých principů. Do praxe, i přes velkou oblibu těchto metod, proniklo jen málo z nich a je nutné na ně pohlížet kriticky. Mezi tyto lze počítat molekulárně genetické metody, imunochemické metody, radiometrické metody, enzymové metody pro průkaz metabolitů, měření zákalu, změn pH či vodivosti nebo například plynovou chromatografií. Těmi známějšími jsou průtoková cytometrie a přímé počítání mikroorganismů nebo mikrokolonií (Šavel, 2010).

4 Experimentální část

V experimentální části jsem se zabývala dvěma úkoly. Prvním úkolem bylo stanovit účinek pasterace na mikroorganismy v nefiltrovaném pivu. Účinek byl posuzován formou mikrobiologických rozborů a senzorycky. Tento úkol byl prováděn pod odborným vedením firmy PIVO Praha, s. r. o. Druhým úkolem bylo zajistit a zhodnotit výsledky mikrobiologických kontrol piv takových pivovarů, které využívají pro zvýšení trvanlivosti piva křemelinovou filtraci a ultrafiltraci.

4.1 Charakteristika vybraných pivovarů

4.1.1 Pivovar A – s výstavem do 3 000 hl

Pivovar A s výstavem necelých 3 000 hl za rok vaří jak svrchně kvašená piva typu ale, stout a porter, tak spodně kvašená piva typu ležák. Všechna piva se prodávají jako nefiltrovaná a nepasterovaná. Doba minimální trvanlivosti se liší podle obsahu alkoholu a hořkosti konkrétního druhu piva, od 1 do 3 měsíců. Varní a výplachová voda je brána z vodovodního řádu. Sanitace zařízení a výrobních prostor se provádí jak kyselá (kyselinou dusičnou), tak alkalická (hydroxidem sodným) pravidelně podle sanitačního plánu. Je vypracován systém kritických bodů HACCP, který klade maximální důraz na čistotu výrobních prostor, tak i nezávadnost finálních produktů.

4.1.2 Pivovar B – s výstavem 29 000 hl v roce 2015

Pivovar B má roční výstav přibližně 30 000 hl a vyrábí spodně kvašená piva typu výčepní pivo, ležák a speciální pivo (Frantík, 2015). Pro zvýšení údržnosti piva používá pivovar B křemelinovou filtraci a ultrafiltraci pomocí MMS filtru, pasteraci nepoužívá. Tento pivovar má vlastní čističku vody, kterou odebírá přímo z řeky. V provozu je zaveden systém HACCP a platí zde přísná hygienická opatření.

4.1.3 Pivovar C – s výstavem 47 000 hl v roce 2015

Pivovar C má roční výstav kolem 45 000 hl, jeho produkce zahrnuje spodně kvašená piva typu výčepní pivo, ležák a speciální pivo (Frantík, 2015). Pro zvýšení trvanlivosti piva používá, stejně jako pivovar B křemelinovou filtraci a ultrafiltraci MMS. Piva nepasteruje. Vodu odebírá z vodovodního řádu. I v tomto pivovaru platí přísná hygienická nařízení a je zaveden systém HACCP.

4.1.4 Pivovar D – s výstavem v 63 000 hl roce 2015

Pivovar D s ročním výstavem cca 60 000 hl vyrábí zejména spodně kvašená piva typu výčepní pivo a ležák (Frantík, 2015). Při výrobě také využívá křemelinovou filtraci i ultrafiltraci MMS. Vodu odebírá převážně z řeky, protože disponuje vlastní čističkou vody. Vzhledem ke značnému kolísání kvality vody v řece používá podle potřeby i vodu z vodovodního řádu. Také zde platí hygienická opatření a systém HACCP.

4.2 Úkol č. 1 – pasterace nefiltrovaného piva

Experiment byl prováděn v pivovaru A v době od července 2015 a zahrnoval pasteraci nefiltrovaného piva, mikrobiologické rozbory a senzorické hodnocení. Samotné pasterace byly provedeny v průběhu července 2015. Mikrobiologická stanovení pak vždy týden od pasteraci, na konci září a na začátku listopadu téhož roku. Výsledky senzorického hodnocení nejsou součástí této práce, ale byla jsem jedním z hodnotitelů. Senzorické zkoušky probíhaly pravidelně v určeném časovém odstupu v období od července 2015 s plánovaným koncem v dubnu 2016.

4.2.1 Analyzovaný materiál

Materiálem určeným k pasteraci a následné mikrobiologické analýze bylo nefiltrované a nepasterované pivo typu světlý ležák 12%. Pivo podrobené pasteraci a mikrobiologické kontrole bylo z jedné výrobní šarže.

4.2.2 Způsob pasterace

Nefiltrované pivo bylo vždy nejprve stočeno z cylindrokónického tanku do řádně vymytého KEG sudu, který byl následně napojen na průtokový pastér (viz fotografie v kapitole 10, podkapitole 10.4). Pasterace piva byla prováděna různými pasteračními dávkami – 20 PJ, 30 PJ, 40 PJ, 60 PJ, 80 PJ a 100 PJ. Pivo ošetřené pasterací bylo plněno do řádně vymytého KEG sudu. Týden od pasterace byla část piva stočena do skleněných lahví předem vystříknutých speciálním dezinfekčním roztokem a uzavřených kovovými korunkami, a část stočena do menších řádně vymytých KEG sudů pro pozdější testování.

4.2.3 Způsob provádění mikrobiologické kontroly

Mikrobiologická kontrola zahrnovala kontrolu výplachové vody a analyzovaného piva před pasterací, na začátku a v průběhu pasterace. U pasterovaného piva pak bylo

mikrobiologické stanovení provedeno týden po pasteraci a po delším časovém odstupu. Konkrétní data jsou uvedena v tabulkách 4 – 7.

4.2.4 Metodika mikrobiologických rozborů

Mikrobiologické rozborů byly provedeny podle interní metodiky firmy PIVO Praha, s. r. o. (2002). Asepticky odebrané vzorky byly zpracovány metodou membránové filtrace s použitím jednorázových sterilních membránových filtrů.

4.2.5 Pomůcky

sterilní nádobí – odměrné kádinky a válečky, pipety, odsávačka, jednorázové Petriho misky
plynový kahan

souprava pro membránovou filtraci

sterilní membránové filtry Millipore 0,45 μm (jednotlivě balené)

vývěva

odstředivka

germicidní zářivka

anaerostat

horkovzdušný sterilizátor

2 termostaty

autokláv

lednice

4.2.6 Očkovací půdy

GTK agar + actidion

Actidion se připravil jako zásobní roztok s účinnou koncentrací 5 mg/1 ml sterilované vody. Z něj se pipetovalo vždy 1 ml/100 ml půdy.

GKCH agar + tetracyklin

GKCH agar + kyselina monojodoctová

Kyselina monojodoctová se připravila jako zásobní roztok s účinnou koncentrací 7,438 mg/1 ml sterilované vody, ze kterého se pipetovalo 2,6 ml/100 ml půdy.

Chromocult

MRS agar + actidion + β -fenylethanol

4.2.7 Druh stanovení a podmínky kultivace

V pivu se standardně sledují tyto ukazatelé: celkový počet bakterií (CPB), celkový počet kvasinek (CPK), cizí kvasinky (CK), koliformní bakterie (KB), *Escherichia coli* (E) a mléčné bakterie (MB). Podmínky kultivace jsou uvedeny v následující tabulce, tabulce 3.

Tabulka 3: Podmínky kultivace sledovaných ukazatelů

	CPB	CPK	CK	KB/E	MB
Půda	GTK agar + actidion	GKCH agar + tetracyklin	GKCH agar + kys. monojodoctová	Chromocult	MRS agar + actidion + β -fenylethanol
Podmínky kultivace	4 dny při 28 °C aerobně	4 dny při 28 °C aerobně	4 dny při 28 °C aerobně	48 h při 37 °C aerobně	6 dní při 28 °C anaerobně

4.2.8 Postup mikrobiologického rozboru

Pivo pro mikrobiologický rozbor bylo vždy odebráno do sterilních a řádně označených Erlenmeyerových baněk o objemu 250 ml. Hrdla baněk byla neprodleně po odběru překryta sterilním alobalem. Odběrová místa byla před samotným odběrem ošetřena 0,3% roztokem Persterilu (kyselina peroxooctová). Odebrané vzorky byly okamžitě po odběru uloženy do přenosného boxu a dopraveny do laboratoře, kde byly podrobeny rozboru.

Souprava pro membránovou filtraci byla upevněna na odsávačku napojenou na vývěvu. Pro každé stanovení byl do soupravy vložen sterilní filtr Millipore 0,45 μ m. Objem vzorku piva nalitého na filtr se pohyboval od 25 ml do 100 ml. Podle potřeby byly vzorky piva ředěny sterilní destilovanou vodou 10krát a 100krát.

Živné půdy byly zakoupeny ve formě gelu, který se zahřál a nalil do jednorázových Petriho misek. Pro stanovení CPB byl ke GTK agaru navíc přidán actidion v účinné koncentraci, v případě stanovení CK pak ke GKCH agaru kyselina monojodoctová v účinné koncentraci. Ostatní živné půdy byly zakoupeny připravené.

Po membránové filtraci se filtr se zachycenými mikroorganismy umístil na střed Petriho misky s příslušnou živnou půdou a vzorek se nechal kultivovat. Použité půdy a podmínky kultivace pro stanovení jednotlivých druhů mikroorganismů jsou uvedeny v tabulce 3.

Po kultivaci byly spočítány KTJ na jednotlivých Petriho miskách. Výsledné hodnoty byly přepočteny na objem 100 ml.

4.3 Úkol č. 2 - křemelinová a membránová ultrafiltrace piva

Výsledky mikrobiologických rozborů piva z pivovarů B, C a D byly získány za rok 2015. Mikrobiologická stanovení byla prováděna laboratořemi konkrétních pivovarů. Pro mikrobiologický rozbor byl použit ve všech případech světlý ležák 12%.

Zařízení pro filtraci mají všechny zmíněné pivovary v podstatě stejné (rozdíl pouze ve výkonu), způsob filtrace je také shodný. Pivo bylo vždy nejprve filtrováno přes křemelinový svíčkový filtr značky Destila, následně bylo čerpáno do přetlačného tanku (PT), ze kterého bylo přiváděno na MMS filtr značky Handtmann a ihned stočeno do lahví.

Pivo pro mikrobiologický rozbor bylo odebíráno z různých úseků výroby, zpravidla za křemelinovým filtrem, před MMS, za MMS a z lahvového piva. Každý z pivovarů sleduje různé úseky výroby v různých časových intervalech. Vzorky piva pro mikrobiologická stanovení jsou odebírány v různých výrobních úsecích. Z důvodů časové i finanční náročnosti však ne vždy ve všech.

5 Výsledky

5.1 Výsledky mikrobiologické kontroly pasterace

Výsledky mikrobiologické kontroly výplachové vody, nepasterovaného a pasterovaného piva jsou shrnuty v tabulkách 4 – 7.

Tabulka 4 shrnuje mikrobiologické rozborů nepasterovaného piva, piva bezprostředně po pasteraci, odebraného přímo z pasteračního zařízení a piva stočeného do lahví týden od pasterace. Celkový počet kvasinek se v nefiltrovaném pivu běžně nestanovuje, protože kvasinky jsou jeho přirozenou součástí. Hodnoty by se také daly označit jako nepočítatelné množství (n. mn.). Celkový počet kvasinek v pivu „za pastérem“ a v pasterovaném pivu v lahvi jsou v případě aplikace 20 PJ a 30 PJ výrazně vyšší než v případě intenzivnější pasterace. Téměř ve všech případech (20, PJ, 30 PJ, 40 PJ, 60 PJ a 100 PJ), s výjimkou jednoho (80 PJ) byl celkový počet kvasinek v pivu týden po pasteraci větší, než v pivu odebraném okamžitě po pasteraci přímo z pasteračního zařízení. Cizí kvasinky byly prokázány ve třech případech v neošetřeném pivu, v pasterovaném pivu již žádné nebyly.

Celkový počet bakterií v nepasterovaném pivu byl značně vysoký (150 KTJ/100 ml nebo n. mn.), po pasteraci se jejich počet výrazně snížil. Koliformní bakterie se v nepasterovaném pivu vyskytly ve všech případech. V pivu ošetřeném pasterací se vyskytly pouze u piva lahvového, pasterovaného 60 PJ.

Tabulka 4 dále zaznamenává výsledky stanovení výplachové vody, která byla z mikrobiologického hlediska naprosto v pořádku, neboť všechny stanovované hodnoty (CPK, KB, E a MB) byly nulové. Také všechny rozborů pro mléčné bakterie vyšly negativně.

Tabulka 4: Mikrobiologická kontrola piva bezprostředně po pasteraci

datum pasterace ¹⁾ / stočení a stanovení ²⁾	vzorek	KTJ/100 ml				
		CPB	CPK	CK	KB/E	MB
28. 7. 2015 ¹⁾	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
	nepasterované pivo	n. mn.	-	18	96/0	0
	za pastérem 1 – 20 PJ	4	> 600	0	0/0	0
	za pastérem 2 – 20 PJ	0	2	0	0/0	0
31. 7. 2015 ²⁾	pasterované pivo – lahev	0	600	0	0/0	0
28. 7. 2015 ¹⁾	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
	nepasterované pivo	n. mn.	-	18	96/0	0
	za pastérem 1 – 30 PJ	0	10	0	0/0	0
	za pastérem 2 – 30 PJ	0	0	0	0/0	0
31. 7. 2015 ²⁾	pasterované pivo – lahev	0	1200	0	0/0	0
20. 7. 2015 ¹⁾	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
	nepasterované pivo	150	-	44	144/0	0
	za pastérem 1 – 40 PJ	0	0	0	0/0	0
	za pastérem 2 – 40 PJ	0	0	0	0/0	0
23. 7. 2015 ²⁾	pasterované pivo – lahev	0	8	0	0/0	0
12. 7. 2015 ¹⁾	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
	nepasterované pivo	n. mn.	-	0	8/0	0
	za pastérem 1 – 60 PJ	20	0	0	0/0	0
	za pastérem 2 – 60 PJ	320	0	0	0/0	0
13. 7. 2015 ²⁾	pasterované pivo – lahev	0	88	0	192/0	0
12. 7. 2015 ¹⁾	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
	nepasterované pivo	n. mn.	-	0	8/0	0
	za pastérem 1 – 80 PJ	32	0	0	0/0	0
	za pastérem 2 – 80 PJ	2000	0	0	0/0	0
13. 7. 2015 ²⁾	pasterované pivo – lahev	0	0	0	0/0	0

datum	vzorek	KTJ/100 ml				
		CPB	CPK	CK	KB/E	MB
pasterace¹⁾/ stočení a stanovení²⁾						
20. 7. 2015 ¹⁾	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
	nepasterované pivo	150	-	44	144/0	0
	za pastérem 1 – 100 PJ	0	0	0	0/0	0
	za pastérem 2 – 100 PJ	0	0	0	0/0	0
23. 7. 2015 ²⁾	pasterované pivo – lahev	16	n. mn.	0	0/0	0

- nestanovuje se; n. mn. – nepočitatelné množství; za pastérem 1 – na začátku pasterace; za pastérem 2 – v průběhu pasterace

Tabulka 5 demonstruje zvýšený celkový počet kvasinek stanovený ve vzorku pasterovaného piva stočeného do lahví oproti jeho počtu ve vzorku odebraného bezprostředně po pasteraci přímo z pasteračního zařízení (viz tabulka 4).

Tabulka 5: Mikrobiologická kontrola lahvového piva – týden po pasteraci

datum	vzorek	KTJ/100 ml				
		CPB	CPK	CK	KB/E	MB
stočení a stanovení						
23. 7. 2015	nepasterované pivo – lahev	0	1000	0	0/0	0
31. 7. 2015	pasterované pivo – 20 PJ, lahev	0	600	0	0/0	0
31. 7. 2015	pasterované pivo – 30 PJ, lahev	0	1200	0	0/0	0
23. 7. 2015	pasterované pivo – 40 PJ, lahev	0	8	0	0/0	0
13. 7. 2015	pasterované pivo – 60 PJ, lahev	0	88	0	192/0	0
13. 7. 2015	pasterované pivo – 80 PJ, lahev	0	0	0	0/0	0
23. 7. 2015	pasterované pivo – 100 PJ, lahev	16	n. mn.	0	0/0	0

Z tabulky 6 je zřejmé, že pasterace 40 PJ a 100 PJ snížila celkový počet bakterií, cizích kvasinek i koliformních bakterií v lahvovém pivo. Hodnoty celkového počtu bakterií jsou v porovnání s tabulkou 5 výrazně vyšší. Naopak celkový počet kvasinek je s odstupem přibližně dvou měsíců v pivo stočeném do lahví nižší.

Tabulka 6: Mikrobiologická kontrola – konec září

datum stočení a stanovení	vzorek	KTJ/100 ml				
		CPB	CPK	CK	KB/E	MB
29. 9. 2015	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
29. 9. 2015	nepasterované pivo – lahev č. 1	12	-	10	6/0	0
29. 9. 2015	nepasterované pivo – lahev č. 2	40	-	0	2/0	0
29. 9. 2015	pasterované pivo – 40 PJ, lahev č. 1	20	0	0	0/0	0
29. 9. 2015	pasterované pivo – 40 PJ, lahev č. 2	8	0	0	0/0	0
29. 9. 2015	výplachová voda	-	0	-	0/0	0
29. 9. 2015	nepasterované pivo – lahev č. 1	0	-	0	2/0	0
29. 9. 2015	nepasterované pivo – lahev č. 2	260	-	0	0/0	0
29. 9. 2015	pasterované pivo – 100 PJ, lahev č. 1	6	10	0	0/0	0
29. 9. 2015	pasterované pivo – 100 PJ, lahev č. 2	26	0	0	0/0	0

Tabulka 7 porovnává výskyt jednotlivých druhů mikroorganismů v pivo stočeném do KEG sudů a lahví, a to jak u nepasterovaného, tak u pasterovaného piva 40 PJ a 100 PJ. V porovnání s tabulkami 4, 5 a 6 je očividné zvýšení mikrobiologického zatížení piva.

Tabulka 7: Mikrobiologická kontrola – začátek listopadu

datum stočení	datum stanovení	vzorek	KTJ/100 ml				
			CPB	CPK	CK	KB/E	MB
29. 9. 2015	5. 11. 2015	nepasterované pivo – KEG	34	-	0	4/0	0
29. 9. 2015	5. 11. 2015	pasterované pivo – 40 PJ, KEG	4	n. mn. ¹⁾	> 3000	0/0	0
29. 9. 2015	5. 11. 2015	pasterované pivo – 100 PJ, KEG	n. mn.	50 ¹⁾	n. mn.	10/0	0
29. 9. 2015	5. 11. 2015	nepasterované pivo – láhev	12	-	0	4/0	0
29. 9. 2015	5. 11. 2015	pasterované pivo – 40 PJ, láhev	38	0	0 ¹⁾	0/0	36
29. 9. 2015	5. 11. 2015	pasterované pivo – 100 PJ, láhev	300	0	0	0/0	0

¹⁾ výskyt plísní

5.2 Výsledky mikrobiologických kontrol křemelinové filtrace a ultrafiltrace

Podrobné výsledky jednotlivých měření pivovarů B, C a D jsou zaznamenány v tabulkách 19 – 29, které jsou zařazeny na konec této práce v kapitole 10, v podkapitolách 10.1, 10.2 a 10.3.

5.2.1 Výsledky mikrobiologických kontrol pivovaru B

Tabulky 8, 9 a 10 prezentují statistické výsledky jednotlivých mikrobiologických stanovení v různých fázích a mezifázích úpravy piva. Z uvedených výsledků je zřejmý značný rozptyl hodnot u vybraných mikrobiologických ukazatelů. Průměrné množství kvasinek v pivu po křemelinové filtraci je mírně nadlimitní, po ultrafiltraci je v normě. Příznivý je nulový výskyt mléčných bakterií ve všech stupních a mezistupních filtrace.

Tabulka 8: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu po křemelinové filtraci

pivo za KF	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	5,9	2,6/0,0	0,0
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	18	15/0	0
směrodatná odchylka	6,1	3,9/0,0	0,0

Tabulka 9: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu v přetlačném tanku

pivo v PT	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	3,8	1,5/0,0	0,0
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	20	8/0	0
směrodatná odchylka	5,0	2,1/0,0	0,0

Tabulka 10: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu po ultrafiltraci

pivo za MMS	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	0,7	0,4/0,0	0,0
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	5	3/0	0
směrodatná odchylka	1,5	0,8/0,0	0,0

5.2.2 Výsledky mikrobiologických kontrol pivovaru C

Tabulky 11, 12, 13 a 14 evidují statistické výsledky jednotlivých mikrobiologických stanovení v rozdílných stupních a mezistupních úpravy piva a lahvovém pivu. Z výsledků je zcela evidentní nadlimitní množství kvasinek v pivu po křemelinové filtraci. Minimální a maximální hodnoty jak u celkového počtu bakterií, tak u koliformních bakterií značí výrazný rozptyl. Průměrné hodnoty jednotlivých mikrobiologických stanovení se po ultrafiltraci snížily. Nulový výskyt mléčných bakterií v pivu po křemelinové filtraci, před a po ultrafiltraci i v lahvovém pivu je pozitivní.

Tabulka 11: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu v přetlačném tanku (tzn. po křemelinové filtraci)

pivo v PT (za KF)	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	17,0	7,8/0,0	0,0
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	52	15/0	0
směrodatná odchylka	11,2	3,7/0,0	0,0

Tabulka 12: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu před ultrafiltrací

pivo před MMS	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	17,6	8,8/0,0	0,0
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	41	16/0	0
směrodatná odchylka	10,1	4,1/0,0	0,0

Tabulka 13: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu po ultrafiltraci

pivo za MMS	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	6,8	4,0/0,0	0,0
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	24	11/0	0
směrodatná odchylka	5,5	3,2/0,0	0,0

Tabulka 14: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v lahvovém pivu

pivo v lahvi	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	8,5	6,5/0,0	0,0
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	25	15/0	0
směrodatná odchylka	6,0	4,3/0,0	0,0

5.2.3 Výsledky mikrobiologických kontrol pivovaru D

Tabulky 15, 16, 17 a 18 demonstrují statistické výsledky jednotlivých mikrobiologických stanovení v různých krocích a mezikrocích úpravy piva a lahvovém pivu. Průměrný obsah celkového počtu kvasinek v pivu po křemelinové filtraci je ideální. Značně zvýšený průměr celkových kvasinek v pivu po ultrafiltraci je způsoben jejich extrémně vysokou maximální hodnotou. Znepokojující je výskyt mléčných bakterií nejen v průběhu úpravy piva, ale zejména v lahvovém pivu.

Tabulka 15: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu po křemelinové filtraci nebo v přetlačném tanku

pivo za KF/v PT	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	0,7	3,4/0,0	3,5
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	12	32/0	32
směrodatná odchylka	2,5	7,9/0,0	7,3

Tabulka 16: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu před ultrafiltrací

pivo před MMS	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	2,7	11,5/0,0	10,2
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	24	160/0	90
směrodatná odchylka	5,4	36,5/0,0	26,5

Tabulka 17: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v pivu po ultrafiltraci

pivo za MMS	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	8,8	0,6/0,0	0,2
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	130	6/0	1
směrodatná odchylka	29,5	1,4/0,0	0,4

Tabulka 18: Průměrné, minimální a maximální hodnoty v lahvovém pivu

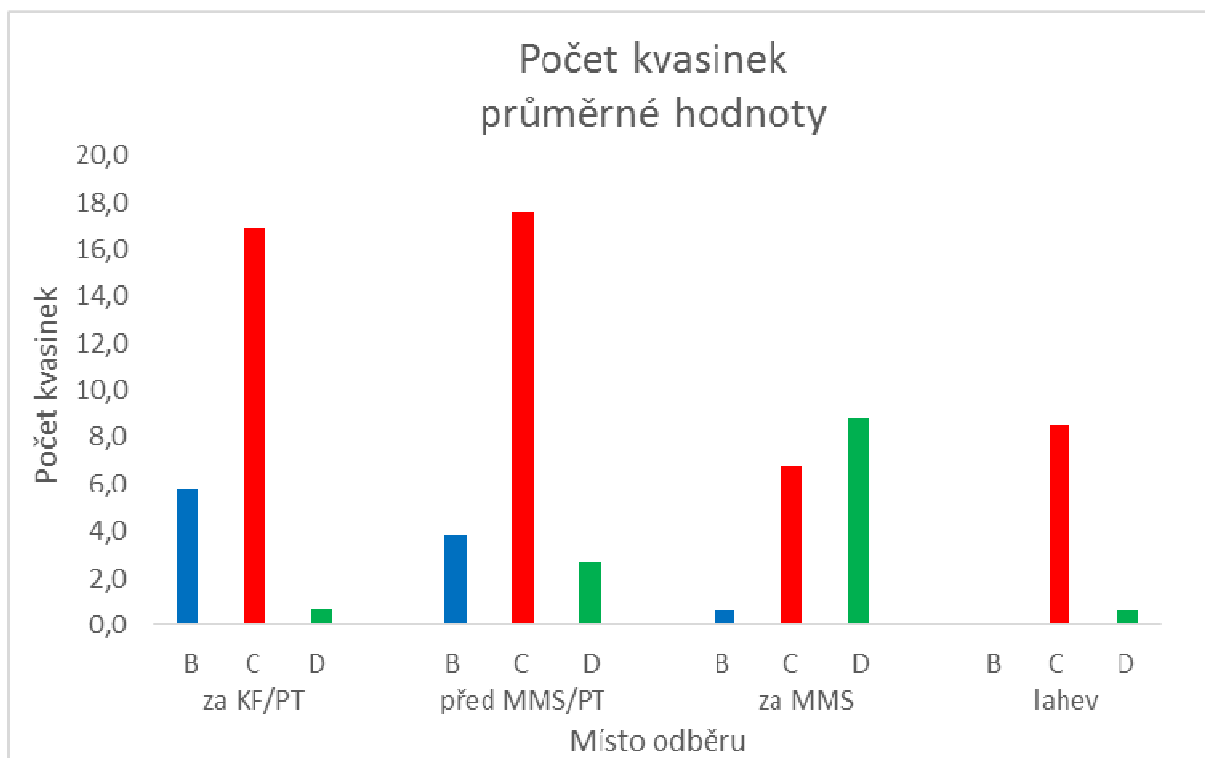
pivo v lahvi	KTJ/100 ml		
	CPK	KB/E	MB
průměr	0,7	3,0/0,0	4,3
minimální hodnota	0	0/0	0
maximální hodnota	6	36/0	80
směrodatná odchylka	1,3	7,6/0,0	15,4

5.3 Grafické znázornění statistických výsledků

Statistické porovnání mikrobiologické kvality v jednotlivých fázích filtrace i v lahvovém pivu pro pivovary B, C a D je graficky znázorněno v následujících grafech 1 – 4.

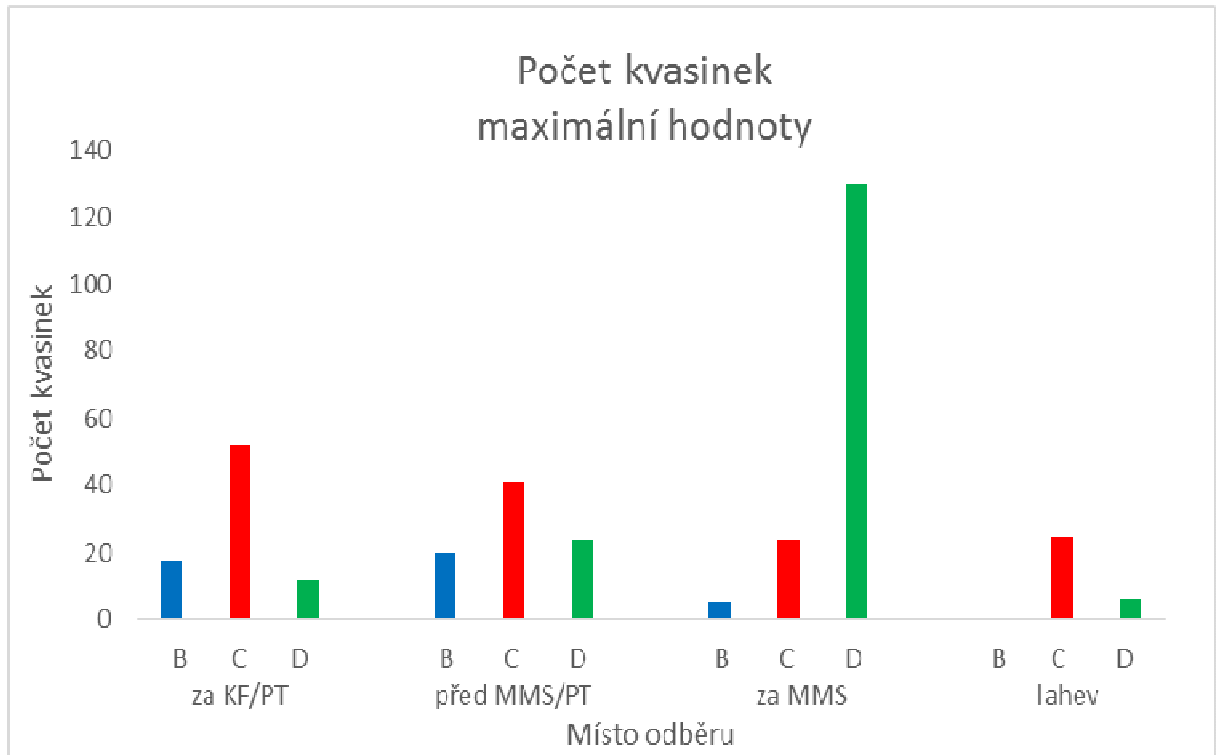
Graf 1 znázorňuje průměrné hodnoty počtu kvasinek v pivu v různých fázích filtrace a v hotovém výrobku. Z grafu je patrné, že celkově nejvyšší počty kvasinek má ve svém pivu pivovar C.

Graf 1: Průměrné hodnoty CPK pro pivovary B, C a D z různých míst odběru



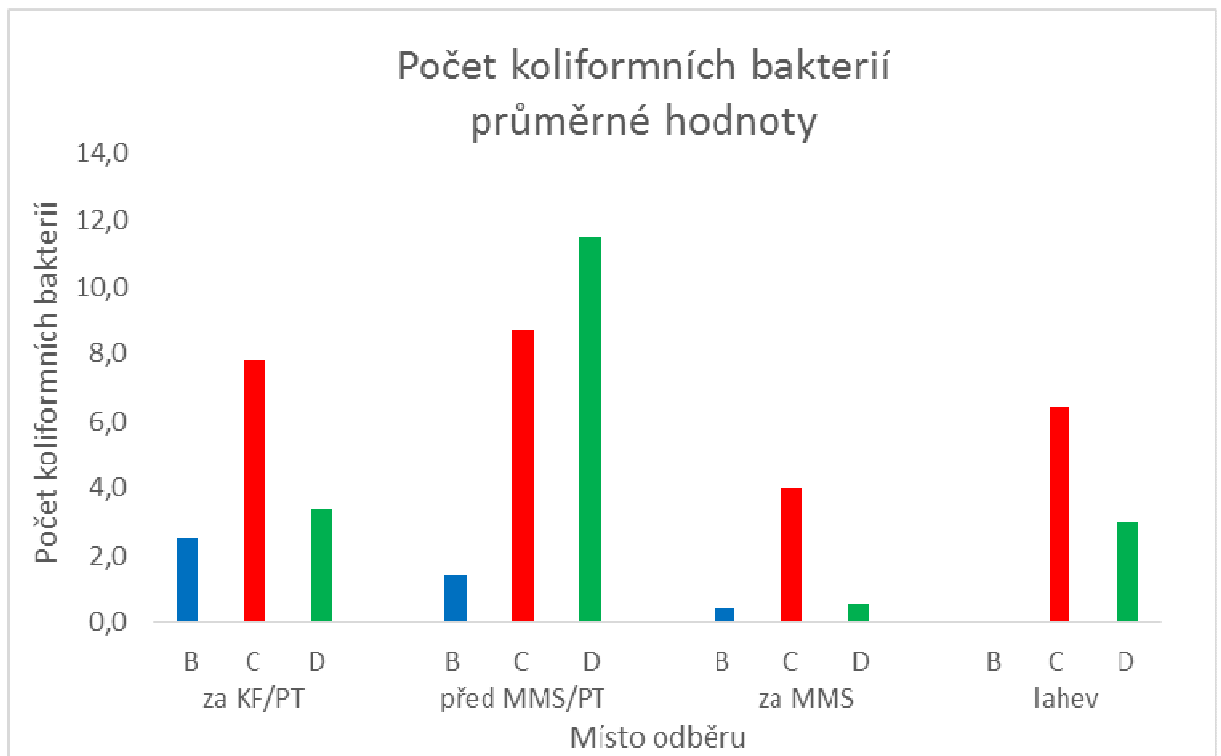
Graf 2 zobrazuje maximální počty kvasinek v jednotlivých krocích filtrace piva a v hotovém výrobku, lahvovém pivu. Extrémní maximální počet kvasinek byl zaznamenán v pivu ošetřeném ultrafiltrací u pivovaru D.

Graf 2: Maximální hodnoty CPK pro pivovary B, C a D z různých míst odběru



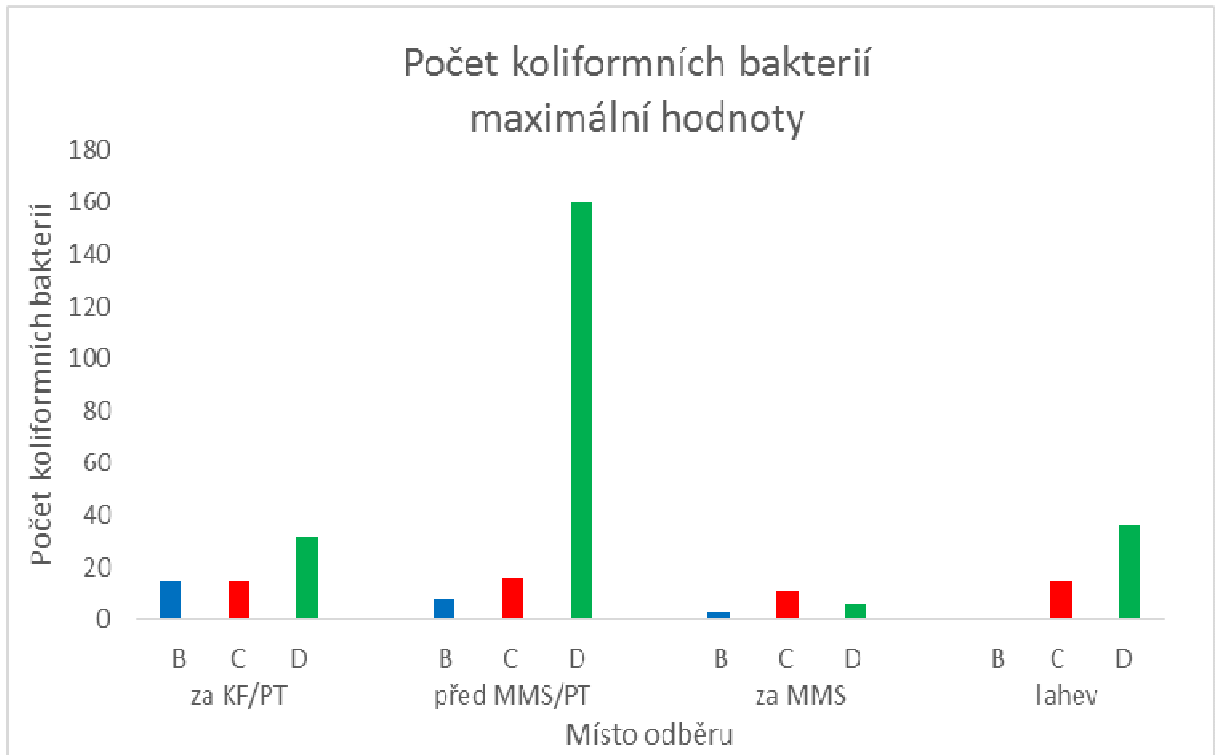
Graf 3 zachycuje poměrně vysoké průměrné hodnoty koliformních bakterií u pivovaru C a v jednom případě také u pivovaru D. Sestupující tendence průměrných hodnot u pivovaru B je pozitivní.

Graf 3: Průměrné hodnoty KB pro pivovary B, C a D z různých míst odběru



Graf 4 vyobrazuje maximální hodnoty koliformů, které jsou vcelku příznivé. Výjimkou je maximální hodnota u pivovaru D v mezifázi křemelinové filtrace a ultrafiltrace, která je krajně vysoká.

Graf 4: Maximální hodnoty KB pro pivovary B, C a D z různých míst odběru



6 Diskuse

6.1 Pivovar A

V pivovaru A byla zkoušena účinnost průtokové pasterace na nefiltrované pivo, tedy pivo s vysokým stupněm mikrobiologického zatížení. Je nutno podotknout, že instalovaný průtokový pastér (viz fotografie v kapitole 10, podkapitole 10.4) byl vyroben jako prototyp a to pouze pro účely tohoto konkrétního pivovaru. Takto malé průtokové pastéry se běžně nevyrábí a minipivovary průtokovou ani jinou pasterací k ošetření piva zpravidla nepoužívají.

Nefiltrované pivo přirozeně obsahuje velké množství kvasničných buněk, vyplývá to z jeho podstaty. Celkový počet kvasinek se z tohoto důvodu v nefiltrovaném pivu mikrobiologicky nestanovuje. Z tabulky 4 ale jednoznačně vyplývá snížení celkového počtu živých nebo plně vitálních kvasinek i dalších stanovovaných mikroorganismů bezprostředně po ošetření nefiltrovaného piva průtokovou pasterací (hodnoty označené „za pastérem“). Z tabulky 4 dále vyplývá kontaminace piva bakteriemi. Toto stanovení však nemá příliš velkou vypovídající hodnotu vzhledem k možnému výskytu takových druhů, které nutně nemusí zhoršovat kvalitu piva.

Lorenzen (1982) uvádí, že pivo se dostatečně stabilizuje dávkou 20 PJ, aniž by se chuťově poškodilo a zároveň nezáleží na obsahu mikroorganismů. Při krátkodobém zahřívání je však třeba pracovat s větší jistotou, proto je vhodné pasterovat při 72 °C po dobu 30 sekund, což odpovídá 27 PJ.

Podle Jíry (1995) jsou názory na stanovení optimální pasterační dávky dost odlišné. Práce z 50. let prý uvádějí, že k usmrcení mikroorganismů stačí expozice 5,6 PJ, ale další studie údajně prokázaly spolehlivý účinek i při mnohem menší expozici, až 0,4 PJ.

Z tabulky 4 je pozorovatelný účinek pasterace, a to již při aplikaci menších pasteračních dávek, 20 PJ a 30 PJ. Jíra (1995) uvádí, že právě v tomto rozmezí, 20 – 30 PJ, se pasteruje v českých pivovarech, a za limitní je považována pasterace v rozmezí 35 – 40 PJ.

Mikrobiologická kontrola piva označeného „za pastérem“ ukazuje na dostatečnou účinnost pasterace při dávkách vyšších než 30 PJ. Pro lahvové pivo skladované při teplotě vyšší než optimální se však ukázalo, že pasterační dávky 20 PJ a 30 PJ jsou nedostatečné. Mikrobiologická stabilita nefiltrovaného, průtokově pasterovaného piva je pro lahvové pivo dostatečně zajištěna až při pasterační dávce 40 PJ.

Jako jeden z hodnotitelů senzorického panelu mohu konstatovat, že u čerstvě pasterovaného piva neměla vliv na chuťový profil ani dávka 100 PJ. S dobou ležení se však

u vzorků s dávkou větší než 40 PJ začala objevovat oxidační vůně i chuť. Vznik oxidační příchutě výrazně ovlivňuje jednak výše pasterační dávky, ale i míra provzdušnění piva, kterému se ve zkušebních podmínkách pasterace nedalo zcela zabránit.

Negativní vliv pasterace na chemickou stabilitu během skladování potvrzuje i Hoff et al. (2005) v článku o stabilitě pasterovaných nefiltrovaných piv v průběhu skladování, kde uvádí, že dochází ke zvýšení barvy, snížení polyfenolů a hořkosti, zvýšení oxidačních procesů a pokles koncentrace těkavých esterových sloučenin spojovaných se svěžestí piva.

Z tabulek 4 – 7 vyplývá, že voda z městského řádu, která se využívá v celém provozu pivovaru je mikrobiologicky zcela čistá. V žádném z provedených mikrobiologických stanovení nebyl zjištěn výskyt kvasinek, mléčných bakterií ani koliformních bakterií. Množství koliformních bakterií pro vodu používanou ve výrobě se řídí předpisy pro kvalitu pitné vody, konkrétně Vyhláškou č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody (Frantík, 2015). Nulový výskyt sledovaných mikroorganismů ve výplachové vodě pak potvrzuje i vysokou úroveň čistoty výrobních prostor.

Příčinou zvýšeného celkového počtu kvasinek a bakterií, stejně tak koliformních bakterií v lahvovém pivu je nejspíše špatně provedená sanitace plnicího zařízení. Výskyt koliformních bakterií v hotovém pivu je zcela přirozený a pochází z vody. Speciální limity pro něj stanoveny nejsou. I přesto se při mikrobiologické kontrole piva většinou stanovují. V případě ojedinělého výskytu mléčných bakterií v lahvovém pivu ošetřeného 40 PJ při mikrobiologické kontrole ze začátku listopadu je na vině zcela jistě kontaminovaný obal, tedy lahev či korunka. Tento fakt vyplývá z negativních nálezů mléčných bakterií v ostatních případech mikrobiologických stanovení.

Výsledky uvedené v tabulce 7 zaznamenávají výskyt plísní v pasterovaném pivu sudovém i lahvovém, ošetřeném jak 40 PJ, tak 100 PJ. Vzhledem k tomu, že plíseň narostla jen na 3 plotnách z celkového počtu 28 ploten pro různá stanovení, lze přisuzovat tento výskyt kontaminaci vzorku při odběru.

Obecně se pivo řadí do skupiny potravin mikrobiologicky nerizikových. Požadavky na jeho mikrobiologickou kvalitu se řídí Nařízením Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, ve znění 1441/2007/ES a 365/2010/EU (Frantík, 2015).

6.2 Pivovar B

Výskyt mléčných bakterií je ve všech fázích filtrace piva nulový, což ukazuje na velmi dobrý stav čistoty celého provozu a správné nastavení a provádění sanitace. Občasný výskyt koliformních bakterií v pivu je způsoben kolísáním kvality vody. Kvalita vody čerpané z říčního toku je proměnlivá a současné nastavení úpravy vody, kterou pivovar provozuje, pravděpodobně není schopno tuto proměnlivost vždy plně eliminovat. Nicméně výskyt koliformních bakterií v pivu je běžný.

Z hodnot uvedených v tabulce 19 je zřejmé, že účinnost křemelinové filtrace není vždy dostatečná. Množství kvasničných buněk za křemelinovým filtrem občas překračuje optimální hodnoty do 5 buněk na 100 ml, které zaručují správnou funkčnost MMS filtru. Destila, s. r. o. (2016), výrobce svíčekových filtrů, garantuje při dodržení všech doporučených vstupních parametrů piva na jeho výstupu maximálně 5 kvasinkových buněk na 100 ml piva. Příčinou kolísání počtu kvasinek v pivu za křemelinovým filtrem může být výrazné kolísání jejich obsahu v nefiltrovaném pivu. To je však pro malé pivovary zcela běžné. Pro zvýšení účinnosti křemelinové filtrace by bylo potřeba optimalizovat složení používané křemelinové směsi.

Účinnost filtrace přes MMS filtr není stoprocentní. Příčinou občasného výskytu kvasinek v pivu za MMS filtrem, tedy v pivu, kde by se již kvasinky vyskytovat neměly, může být jejich vyšší obsah v pivu po křemelinové filtraci. Možnou příčinou také může být nedostatečná sterilace MMS filtru horkou vodou, která se provádí po jeho promytí na konci každé filtrace.

Občasné vyšší množství kvasinek v pivu za MMS filtrem nezaručuje dnes standardní minimální trvanlivost piva 3 až 6 měsíců. Lahvové pivo se v současné době běžně prodává s trvanlivostí minimálně 6 měsíců. Stávající technologické vybavení většiny pivovarů totiž dovoluje zajistit bez větších problémů požadovanou biologickou a koloidní stabilitu (Pajurek, 2003). Pivovar u lahvového piva garantuje minimální trvanlivost pouze 1 až 2 měsíce podle druhu piva a vystavuje převážně sudové pivo, u kterého se předpokládá rychlá konzumace. Vzhledem k tomu je počet reklamací minimální.

6.3 Pivovar C

Výskyt mléčných bakterií ve všech fázích filtrace i v lahvovém pivu je nulový. Tento fakt ukazuje na vysokou úroveň čistoty celého provozu a výrobních zařízení. Nastavení a provádění sanitačních postupů je tedy řádné.

Výsledky nám však ukazují trvalý výskyt koliformních bakterií a to ve všech fázích výroby i ve finálním produktu. Příčinou jsou patrně staré vodovodní rozvody, které nelze sanítovat a jejich stav neumožňuje ani dostatečně účinnou desinfekci vody chlórdioxidem.

Obsah kvasinek v pivu po křemelinové filtraci je až na výjimky nad optimálními hodnotami, které uvádí výrobce filtru, firma Destila, s. r. o., což výrazně snižuje účinnost MMS filtru. Příčin může být několik. Nabízí se jednak nevyhovující technický stav křemelinového filtru, jednak špatné nastavení filtrační směsi křemelin, které neodpovídá mikrobiologickému zatížení piva před filtrací.

Následná filtrace přes MMS filtr sice o něco sníží obsah kvasinek v pivu, avšak pro zaručení běžně požadované trvanlivosti piva je to nedostatečné. I přesto pivovar nevykazuje zvýšený počet reklamací.

6.4 Pivovar D

Předpokládanou příčinou občasného výskytu koliformních bakterií v pivu je kolísání kvality používané vody. Úpravna vody, kterou pivovar provozuje, patrně není schopna, stejně jako u pivovaru B, upravit vstupní říční vodu tak, aby její následná kvalita byla stabilní. V případě, že je kvalita říční vody extrémně špatná, odebírá pivovar vodu městskou. Vzhledem k umístění pivovaru až na konci přívodního potrubí je však kvalita této vody také někdy problémem.

Účinnost křemelinové filtrace je vyhovující, následná dofiltrace přes MMS filtr je tak využita s potřebnou efektivitou. Občasný výskyt ojedinělé kvasinky nebo mléčné bakterie v pivu po filtraci pomocí MMS značí ne zcela dokonalou sterilaci MMS filtru. Výskyt mléčných bakterií ve všech fázích výroby i v samotném lahvovém pivu pak svědčí o určitých problémech se sanitací výrobního zařízení.

Ojedinělé vysoké hodnoty obsahu kvasinek v pivu za MMS filtrem byly nejspíše zaviněny chybou odběru vzorku.

Vzhledem k výskytu kontaminace mléčnými bakteriemi měl pivovar v letních měsících zvýšený počet reklamací. Pivovar proto od podzimu přistoupil k úpravě některých sanitačních postupů a dříve zavedenou sterilaci MMS filtru pomocí Persterilu nahradil sterilací horkou vodou tak, jak doporučuje výrobce filtru.

6.5 Celkové zhodnocení

Piva z minipivovarů mají pouze omezenou trvanlivost, obvykle se pohybuje od 2 týdnů do 1 měsíce, pouze výjimečně i 2 měsíce. Trend je takový, že čím dál více lidí vyhledává piva

nefiltrovaná a nepasterovaná a to proto, že jsou sensoricky specifická a výjimečná. Mimo to se výrazně zvyšují preference výrobků minimálně upravovaných a bez chemických konzervačních látek (Vaughan et al., 2005). Právě minipivovary všeobecně produkují hlavně neupravovaná piva (nefiltrovaná, nepasterovaná), přičemž se zaměřují především na kvalitu, výjimečnost a odlišnost hotového produktu. Takto neupravená piva jsou ale mikrobiologicky značně zatížena, zejména kvasinkami, které jsou přirozeně přítomny. Vyskytnout se však mohou i kontaminující mikroorganismy. Z tohoto důvodu není možné garantovat delší trvanlivost takových piv.

Minipivovary produkují nefiltrovaná a nepasterovaná piva i z dalších důvodů. Těmi jsou nejen finanční náklady na pořízení a provoz konkrétního zařízení, ale i časová náročnost potřebná k další úpravě piva. Pro efektivní chod pasteračního či filtračního zařízení je navíc potřeba zajistit i určité technologické předpoklady a to může být pro minipivovary s objemem vystaveného piva do 10 000 hl za rok poměrně obtížné. Provoz minipivovarů zpravidla není kontinuální, výroba běží v průměru devět hodin denně pouze ve všední dny a samotnou výrobu zajišťují dva, někdy tři zaměstnanci.

Minipivovary obecně mají poměrně rychlý odbyt jak sudového, tak lahvového piva. Vzhledem k velkému mikrobiologickému zatížení piva a proto krátké garantované době trvanlivosti je však toto určeno k rychlé spotřebě koncovým zákazníkem. Za vhodných skladovacích podmínek (stálá teplota 5 °C, temno) a nulové kontaminaci je samozřejmě možné, že pivo vydrží i značně delší dobu kvalitní a sensoricky beze změny, avšak to minipivovar jako výrobce nemůže zaručit, neboť při případném poškození spotřebitele by byl právně odpovědný. Odbyt výrobku, zvláště lahvového piva, je v minipivovarech často velmi proměnlivý, proto je značně obtížné správně naplánovat stáčení do koncových obalů. Právě stáčení piva do lahví je náročné buď časově, nebo i finančně. To proto, že minipivovary disponují buď jen ruční plničkou lahví, nebo si pivo nechávají stáčet ve větších pivovarech, které mají vlastní stáčecí linku.

I přes rychlý odbyt piv produkovaných minipivovary, by bylo vhodné, mít možnost zajistit delší dobu trvanlivosti, než kterou běžně garantují. A to jak pro vykrytí období velkých výkyvů odbytu, tak pro možnost případného exportu.

Při průtokové pasteraci je třeba brát v úvahu fakt, že účinnost na počátku pasterace je o něco nižší (Buzrul, 2007). Je proto potřeba pivo z počátku pasterace oddělit a smíchat ho s pivem nepasterovaným. V nezbytném případě je možné tento podíl pasterovat dvakrát. Z prostorového hlediska by byl průtokový pastér pro minipivovary výhodný díky malým nárokům na plochu. Pivovary využívající křemelinovou filtraci musí mít prostor

pro uskladnění jak křemeliny nové, tak použité. Většina minipivovarů však takové možnosti nemá. Investice do průtokového pastéru je mimo servisní náklady pouze jednorázová, což má své nesporné výhody. Samotný proces průtokové pasterace je časově poměrně úsporný, navíc zajišťuje potřebnou mikrobiologickou stabilitu piva i při nižších pasteračních dávkách. Obavy, že pasterované pivo bude po sensorické stránce méně kvalitní, byly vyvráceny panelem hodnotitelů, včetně mě. Hoff et al. (2005) však uvádí, že pasterace má negativní vliv na chemickou stabilitu během skladování. Konkrétně způsobuje zvýšení barvy, snížení polyfenolů a hořkosti, zvýšení oxidačních procesů a pokles koncentrace těkavých esterových sloučenin spojovaných se svěžestí piva. Pajurek (2003) a Veselý et al. (2001) vysvětlují, že při delším skladování piva dochází k enzymovým a neenzymovým oxidačním reakcím, jejichž výsledkem je „stará“ chuť piva, která se označuje jako „oxidační“ nebo „pasterační“. Míra znehodnocení sensorické kvality piva je závislá na intenzitě a použitém typu pasterace a je také silně ovlivněna případným vyšším obsahem kyslíku v pivu před pasterací. Hrabák a Wünsch (1999) uvádí, že tunelová pasterace má podstatně horší vliv na sensorické vlastnosti hotového piva než pasterace průtoková.

Nevýhodou pořízení průtokového pastéru je nutnost následné investice do sterilace koncových obalů a sterilního plnění, zejména lahví. Vaughan et al. (2005) říká, že po stabilizaci piva mžikovou pasterací je nutné jeho plnění za aseptických podmínek. V průběhu aseptického plnění proto musí být udržována vysoká úroveň hygieny, aby se zabránilo post-pasterační kontaminaci.

Celková investice do průtokového pastéru a sterilního plnění tak dává smysl jen v případech větších objemů prodeje lahvového piva, případně exportu.

Z výsledků mikrobiologických kontrol pivovarů B, C a D, tedy malých pivovarů co se do objemu vystaveného piva za rok týče, lze vyčíst několik podstatných skutečností.

Rozsah mikrobiologických kontrol v malých pivovarech není dostačující. Laboratoř zpravidla neprovádí kontrolu konkrétní šarže ve všech fázích výroby tak, aby jednotlivá stanovení vykazovala určitou posloupnost a bylo případně jednodušší určit kritické místo ve výrobě. Vzorčky pro mikrobiologická stanovení tak pracovníci laboratoří malých pivovarů odebírají náhodně v různých místech výroby podle vlastního plánu kontroly. Žádná z laboratoří uvedených malých pivovarů nedokáže zajistit tak konsekventní mikrobiologickou kontrolu, která by byla potřeba. Obecně malé pivovary nemají ve svých laboratořích dostatečné materiálové vybavení pro rozsáhlé mikrobiologické kontroly, ale strádají i personálně. Kontrolu nejen mikrobiologickou, ale také analytickou, má v pivovaru B a C

na starost pouze jeden laborant. Ten obvykle kontroluje a vyhodnocuje i systém HACCP. Zajistit rozsáhlou mikrobiologickou kontrolu ve všech fázích výroby pro jednotlivé šarže tudíž není ve schopnostech jednoho pracovníka laboratoře. Jedině pivovar D je schopný provést dostatečně rozsáhlou mikrobiologickou kontrolu a to proto, že zaměstnává dva laboranty.

Křemelinová filtrace je ve všech uvedených malých pivovarech doplněna ultrafiltrací přes MMS. Účinnost křemelinové filtrace závisí na mikrobiologickém zatížení piva před samotnou filtrací a na složení křemelinové směsi, přičemž je důležité správně stanovit její potřebné množství pro konkrétní filtrované pivo. Při nedostatečném dávkování křemelinou dochází k postupnému zanášení filtrační vrstvy a jejímu nežádoucímu blokování (Šavel, 2000). Následně může dojít k utržení části této vrstvy a proniknutí částic do filtrátu. Voborský a Šrma (1996) uvádí, že účinnost naplavovací filtrace závisí na poměru mezi velikostí zákalových částic a velikostí mezer v pomocné filtrační vrstvě, kterou tvoří křemelina.

Z grafu 1 lze usuzovat správné nastavení všech parametrů křemelinové filtrace jen v případě pivovaru D. Pivovar C měl opakované problémy s vyšším počtem kvasinek v pivu ošetřeném křemelinovou filtrací, což ukazuje na její špatné nastavení.

Účinnost MMS filtru závisí na mikrobiologické kvalitě piva ošetřeného křemelinovou filtrací a na účinnosti sterilace samotného filtru. Hodnoty celkového počtu kvasinek za MMS v porovnání za křemelinovým filtrem u jednotlivých pivovarů ukazují na jistou míru účinnosti ultrafiltrace, rozhodně však ne stoprocentní.

Přes dílčí nedostatky, které vyplývají z výsledků mikrobiologických kontrol, splňuje nejlépe kombinaci všech požadavků na kvalitu piva pivovar B.

Pro zajištění správné účinnosti křemelinové filtrace musí být splněny velké nároky na její kvalitu. Předpokladem účinnosti následné ultrafiltrace je jednak dostatečná mikrobiologická kvalita piva, ale také řádná sterilace MMS filtru před každým procesem ultrafiltrace. Vzhledem k tomu, že tyto podmínky by minipivovary pravděpodobně nedokázaly zajistit, je využití tohoto způsobu ošetření piva pro zvýšení jeho trvanlivosti minipivovary nevyužitelné.

7 Závěr

- Zajištění optimálních podmínek pro průtokovou pasteraci nefiltrovaného piva v prostředí minipivovaru je možné.
- Pasterační dávky 20 PJ a 30 PJ nejsou pro zvýšení trvanlivosti nefiltrovaného piva dostačující.
- Pro mikrobiologickou stabilizaci nefiltrovaného piva, aniž by se změnil jeho sensorický profil, je vhodná pasterační dávka 40 PJ. Tuto minimální účinnou dávku PJ je však třeba v každém pivovaru a někdy i pro různé druhy piva ověřit samostatně.
- Pivo ošetřené vyššími pasteračními dávkami než 40 PJ začne po určité době vykazovat změny v chuti i vůni.
- Investice minipivovarů do zařízení na průtokovou pasteraci piva a do zajištění jeho následného sterilního plnění do koncových obalů bude mít smysl pouze při odbytu většího množství lahvového piva nebo exportu.
- Účinnost ultrafiltrace přes MMS filtr je velice závislá na kvalitě předchozí křemelinové filtrace a na celkově velmi dobré mikrobiologické čistotě celého provozu.
- Křemelinová filtrace a ultrafiltrace je k prodloužení mikrobiologické trvanlivosti piva pro minipivovary méně vhodná než průtoková pasterace.

8 Seznam literatury

Basařová, G., Šavel, J., Lejsek, T. 2010. 7 – Filtrace, odstředování a membránová technika. In: Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva. Vydavatelství VŠCHT. Praha. 428 – 481. ISBN: 978-80-7080-734-7.

Bendová, O., Kurzová, V. 1980. Pivovarství a sladařství: Vztah mikrobiálních kontaminantů k trvanlivosti piva. Kvasný průmysl. 28 (1). 3 – 5. ISSN 0023-5830.

Boulton, C., Quain, D. 2001. Brewing Yeast and Fermentation. Blackwell Science Ltd. Oxford. p. 644. ISBN 0-632-05475-1.

Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A., Stevens, R. 2004. Brewing: Science and practice. Elsevier. Cambridge. p. 881. ISBN 1-85573-490-7.

Buzrul, S. 2007. A suitable model of microbial survival curves for beer pasteurization. LWT – Food Science and Technology. 40 (8). 1330 – 1336. ISSN 0023-6438.

Destila, s. r. o. Svíčkové filtry FKS [online]. 2016 [cit. 2016-03-25]. Dostupné z <<http://www.destila.cz/filtry-svickove>>.

Frantík, F. (ed.). 2015. Pivovarský kalendář 2016. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s. Praha. 413 s. ISBN 978-80-86576-68-X.

Hill, A. E. 2009. 5 – Microbiological stability of beer. In: Bamforth, C. W. (ed.). Beer: A Quality Perspective. Academic Press. San Diego. 163 – 183. ISBN 978-0-12-669201-3.

Hoff, S., Lund, M. N., Petersen, M. A., Frank, W., Andersen, M. L. 2013. Storage stability of pasteurized non-filtered beer. Journal of The Institute of Brewing. 119 (3). 172 – 181. ISSN 0046-9750.

Hrabák, M., Wunsch, J. 1999. Měření pasteračních jednotek při průtokové pasteraci piva. Kvasný průmysl. 45 (2). 36 – 40. ISSN 0023-5830.

Janoušek, J., Basařová, G. 2001. Vliv tunelové pasterace na senzoričnou stabilitu piva. I. sledování vlivu pasterační teploty. Kvasný průmysl. 47 (7–8). 202 – 205. ISSN 0023-5830.

Jíra, J. 1995. Pasterace piva a současné metody jejího monitorování. Kvasný průmysl. 41 (5). 138 – 144. ISSN 0023-5830.

Lorenzen, K. 1982. Biologická stabilizace piva se zřetelem k pasteraci v lahvích, průtokové pasteraci a sterilační filtraci. Kvasný průmysl. 28 (4). 77 – 81. ISSN 0023-5830.

Mascia, I., Fadda, C., Karabín, M., Dostálek, P. 2016. Aging of craft durum wheat beer fermented with sourdough yeasts. LWT – Food Science and Technology. 65. 487 – 494. ISSN 0023-6438.

Matoulková, D., Kopecká, J., Kubizniaková, P. 2013. Mikrobiologie pivovarské výroby – Divoké kvasinky a metody jejich detekce. Kvasný průmysl. 59 (9). 246 – 257. ISSN 0023-5830.

Matoulková, D., Kubizniaková, P. 2015. Mikrobiologie pivovarské výroby – Bakterie mléčného kvašení a kultivační metody pro jejich detekci – I. část. Kvasný průmysl. 61 (3). 76 – 88. ISSN 0023-5830.

Milani, E. A., Gardner, R. C., Silva, F. V. M. 2015. Thermal resistance of *Saccharomyces* yeast ascospores in beers. International Journal of Food Microbiology. 206. 75 – 80. ISSN 0168-1605.

Pajurek, M. 2003. Vybrané technologické aspekty a souvislosti při zlepšování senzoričké stability piva. Kvasný průmysl. 49 (5). 120 – 124. ISSN 0023-5830.

PIVO Praha, s. r. o. 2002. Způsob provádění mikrobiologické kontroly v pivovaře. PIVO Praha, s. r. o. Praha. 9 s.

Potravinářská komora ČR. 2009. Oborová příručka. Živnost: Pivovarnictví a sladovnictví. Hospodářská komora České republiky/ATOK. 32 s.

Šavel, J. 2000. Použití jednotek průtočnosti a permeability křemelin při výpočtu filtrovatelnosti piva. Kvasný průmysl. 46 (11). 318 – 320. ISSN 0023-5830.

Šavel, J. 2010. 4 – Mikrobiologie pivovarské výroby. In: Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva. Vydavatelství VŠCHT. Praha. 310 – 348. ISBN: 978-80-7080-734-7.

Šavel, J., Prokopová, M. 1981. Růst kvasinek na ztužených půdách pod tlakem CO₂. Kvasný průmysl. 27 (8). 175 – 177. ISSN 0023-5830.

Šrogl, J., Kopecký, L. 1971. Obecná hlediska pasterace piva a způsoby její kontroly. Kvasný průmysl. 17 (2). 39 – 42. ISSN 0023-5830.

Vaughan, A., O'Sullivan, T., van Sinderen, D. 2005. Enhancing the Microbiological Stability of Malt and Beer – A Review. Journal of The Institute of Brewing. 111 (4). 355 – 371. ISSN 0046-9750.

Veselý, P., Boháč, J., Basařová, G. 2001. Vliv obsahu aminokyselin piva na jeho senzoryckou stabilitu. Kvasný průmysl. 47 (10). 276 – 279. ISSN 0023-5830.

Voborský, J., Šruma, T. 1996. Příspěvek ke zjištění příčin zhoršené čirosti piv při filtraci. Kvasný průmysl. 42 (12). 379 – 382. ISSN 0023-5830.

Vriesekoop, F., Krahl, M., Hucker, B., Menz, G. 2012. 125th Anniversary Review: Bacteria in brewing: The good, the bad and the ugly. Journal of The Institute of Brewing. 118 (4). 335 – 345. ISSN 0046-9750.

9 Seznam použitých zkratk

CIP – Clean In Place

CK – cizí kvasinky

CPB – celkový počet bakterií

CPK – celkový počet kvasinek

E – *Escherichia coli*

EBC – European Brewery Convention

HACCP – Hazard Analysis and Critical Control Points

KB – koliformní bakterie

KEG – označení typu sudu

KF – křemelinový filtr

KTJ – kolonie tvořící jednotku

kys. – kyselina

MB – mléčné bakterie

MRS – De Man, Rogosa, Sharpe

n. mn. – nepočítatelné množství

PJ – pasterační jednotka

PT – přetlačný tank

PU – pasteurization unit

S. – *Saccharomyces*

10 Samostatné přílohy

10.1 Výsledky mikrobiologických kontrol a jejich statistické zhodnocení pro pivovar B

Tabulka 19: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po křemelinové filtraci

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
za KF	5. 8. 2015	8	1/0	0
	12. 8. 2015	0	0/0	0
	19. 8. 2015	15	5/0	0
	26. 8. 2015	18	15/0	0
	2. 9. 2015	15	6/0	0
	9. 9. 2015	0	10/0	0
	16. 9. 2015	10	0/0	0
	23. 9. 2015	0	1/0	0
	30. 9. 2015	15	0/0	0
	7. 10. 2015	5	3/0	0
	14. 10. 2015	8	0/0	0
	21. 10. 2015	10	5/0	0
	28. 10. 2015	0	0/0	0
	4. 11. 2015	0	4/0	0
	11. 11. 2015	4	0/0	0
	18. 11. 2015	0	1/0	0
	25. 11. 2015	8	0/0	0
	2. 12. 2015	0	0/0	0
	9. 12. 2015	0	0/0	0
	16. 12. 2015	1	0/0	0
průměr		5,9	2,6/0,0	0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		18	15/0	0
směrodatná odchylka		6,1	3,9/0,0	0,0

Tabulka 20: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu v přetlačném tanku

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
PT	5. 8. 2015	2	0/0	0
	12. 8. 2015	6	3/0	0
	19. 8. 2015	5	8/0	0
	26. 8. 2015	15	3/0	0
	2. 9. 2015	3	0/0	0
	9. 9. 2015	20	4/0	0
	16. 9. 2015	0	0/0	0
	23. 9. 2015	4	0/0	0
	30. 9. 2015	0	0/0	0
	7. 10. 2015	0	1/0	0
	14. 10. 2015	2	0/0	0
	21. 10. 2015	3	2/0	0
	28. 10. 2015	0	0/0	0
	4. 11. 2015	1	0/0	0
	11. 11. 2015	6	0/0	0
	18. 11. 2015	0	5/0	0
	25. 11. 2015	4	0/0	0
	2. 12. 2015	1	0/0	0
	9. 12. 2015	4	1/0	0
	16. 12. 2015	0	2/0	0
průměr		3,8	1,5/0,0	0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		20	8/0	0
směrodatná odchylka		5,0	2,1/0,0	0,0

Tabulka 21: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po ultrafiltraci

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
za MMS	5. 8. 2015	0	0/0	0
	12. 8. 2015	0	3/0	0
	19. 8. 2015	0	0/0	0
	26. 8. 2015	5	0/0	0
	2. 9. 2015	0	0/0	0
	9. 9. 2015	4	0/0	0
	16. 9. 2015	0	0/0	0
	23. 9. 2015	0	0/0	0
	30. 9. 2015	0	1/0	0
	7. 10. 2015	0	0/0	0
	14. 10. 2015	0	1/0	0
	21. 10. 2015	0	0/0	0
	28. 10. 2015	0	0/0	0
	4. 11. 2015	0	0/0	0
	11. 11. 2015	3	2/0	0
	18. 11. 2015	0	0/0	0
	25. 11. 2015	1	0/0	0
	2. 12. 2015	0	0/0	0
	9. 12. 2015	0	0/0	0
	16. 12. 2015	0	1/0	0
průměr		0,7	0,4/0,0	0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		5	3/0	0
směrodatná odchylka		1,5	0,8/0,0	0,0

10.2 Výsledky mikrobiologických kontrol a jejich statistické zhodnocení pro pivovar C

Tabulka 22: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu v přetlačném tanku (tzn. po křemelinové filtraci)

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
PT (za KF)	4. 8. 2015	4	12/0	0
	11. 8. 2015	34	2/0	0
	18. 8. 2015	52	8/0	0
	25. 8. 2015	17	5/0	0
	1. 9. 2015	11	11/0	0
	8. 9. 2015	20	3/0	0
	15. 9. 2015	16	7/0	0
	22. 9. 2015	28	10/0	0
	29. 9. 2015	15	9/0	0
	6. 10. 2015	10	8/0	0
	13. 10. 2015	12	12/0	0
	20. 10. 2015	9	11/0	0
	27. 10. 2015	19	4/0	0
	3. 11. 2015	32	6/0	0
	10. 11. 2015	25	3/0	0
	18. 11. 2015	7	5/0	0
	25. 11. 2015	5	9/0	0
	2. 12. 2015	14	13/0	0
	9. 12. 2015	8	15/0	0
	16. 12. 2015	11	10/0	0
22. 12. 2015	6	2/0	0	
29. 12. 2015	18	7/0	0	
průměr		17,0	7,8/0,0	0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		52	15/0	0
směrodatná odchylka		11,2	3,7/0,0	0,0

Tabulka 23: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu před ultrafiltrací

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
před MMS	4. 8. 2015	6	15/0	0
	11. 8. 2015	35	1/0	0
	18. 8. 2015	41	10/0	0
	25. 8. 2015	20	3/0	0
	1. 9. 2015	16	14/0	0
	8. 9. 2015	23	4/0	0
	15. 9. 2015	14	5/0	0
	22. 9. 2015	29	12/0	0
	29. 9. 2015	12	8/0	0
	6. 10. 2015	13	10/0	0
	13. 10. 2015	15	10/0	0
	20. 10. 2015	7	13/0	0
	27. 10. 2015	20	5/0	0
	3. 11. 2015	35	9/0	0
	10. 11. 2015	26	6/0	0
	18. 11. 2015	10	4/0	0
	25. 11. 2015	4	12/0	0
	2. 12. 2015	15	16/0	0
	9. 12. 2015	9	13/0	0
	16. 12. 2015	8	10/0	0
22. 12. 2015	7	5/0	0	
29. 12. 2015	22	8/0	0	
průměr		17,6	8,8/0,0	0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		41	16/0	0
směrodatná odchylka		10,1	4,1/0,0	0,0

Tabulka 24: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po ultrafiltraci

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
za MMS	4. 8. 2015	2	3/0	0
	11. 8. 2015	13	0/0	0
	18. 8. 2015	24	9/0	0
	25. 8. 2015	9	1/0	0
	1. 9. 2015	5	3/0	0
	8. 9. 2015	11	0/0	0
	15. 9. 2015	8	2/0	0
	22. 9. 2015	13	5/0	0
	29. 9. 2015	3	3/0	0
	6. 10. 2015	2	4/0	0
	13. 10. 2015	4	7/0	0
	20. 10. 2015	0	6/0	0
	27. 10. 2015	7	1/0	0
	3. 11. 2015	12	5/0	0
	10. 11. 2015	10	2/0	0
	18. 11. 2015	4	1/0	0
	25. 11. 2015	1	9/0	0
	2. 12. 2015	5	11/0	0
	9. 12. 2015	3	8/0	0
	16. 12. 2015	3	6/0	0
22. 12. 2015	1	0/0	0	
29. 12. 2015	9	2/0	0	
průměr		6,8	4,0/0,0	0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		24	11/0	0
směrodatná odchylka		5,5	3,2/0,0	0,0

Tabulka 25: Obsah jednotlivých mikroorganismů v lahvovém pivu

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
lahvev	4. 8. 2015	2	8/0	0
	11. 8. 2015	16	0/0	0
	18. 8. 2015	25	12/0	0
	25. 8. 2015	12	3/0	0
	1. 9. 2015	7	7/0	0
	8. 9. 2015	14	0/0	0
	15. 9. 2015	10	3/0	0
	22. 9. 2015	16	6/0	0
	29. 9. 2015	5	5/0	0
	6. 10. 2015	3	7/0	0
	13. 10. 2015	4	9/0	0
	20. 10. 2015	0	11/0	0
	27. 10. 2015	9	3/0	0
	3. 11. 2015	15	8/0	0
	10. 11. 2015	12	5/0	0
	18. 11. 2015	5	4/0	0
	25. 11. 2015	2	14/0	0
	2. 12. 2015	8	15/0	0
	9. 12. 2015	5	12/0	0
	16. 12. 2015	4	7/0	0
22. 12. 2015	2	0/0	0	
29. 12. 2015	11	3/0	0	
průměr		8,5	6,5/0,0	0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		25	15/0	0
směrodatná odchylka		6,0	4,3/0,0	0,0

10.3 Výsledky mikrobiologických kontrol a jejich statistické zhodnocení pro pivovar D

Tabulka 26: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po křemelinové filtraci nebo v přetlačném tanku

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
za KF/PT	5. 1. 2015	0	0/0	0
	27. 1. 2015	1	5/0	0
	2. 2. 2015	0	1/0	0
	4. 3. 2015	0	0/0	0
	18. 3. 2015	0	0/0	2
	1. 4. 2015	0	5/0	2
	14. 4. 2015	0	1/0	1
	4. 5. 2015	0	1/0	0
	12. 5. 2015	0	32/0	10
	29. 6. 2015	1	0/0	6
	9. 7. 2015	1	3/0	8
	15. 7. 2015	0	0/0	0
	27. 7. 2015	12	0/0	15
	5. 8. 2015	0	1/0	0
	20. 8. 2015	1	23/0	32
	2. 9. 2015	0	1/0	2
	22. 9. 2015	0	0/0	0
	21. 10. 2015	0	1/0	0
	10. 11. 2015	0	0/0	0
	18. 11. 2015	0	0/0	0
24. 11. 2015	0	0/0	0	
29. 12. 2015	0	0/0	0	
průměr		0,7	3,4/0,0	3,5
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		12	32/0	32
směrodatná odchylka		2,5	7,9/0,0	7,3

Tabulka 27: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu před ultrafiltrací

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
před MMS	15. 1. 2015	6	5/0	1
	28. 1. 2015	4	0/0	0
	25. 3. 2015	0	0/0	1
	1. 4. 2015	1	0/0	0
	7. 5. 2015	3	1/0	1
	28. 5. 2015	0	160/0	90
	3. 6. 2015	0	1/0	0
	10. 6. 2015	0	0/0	3
	24. 6. 2015	2	20/0	4
	20. 7. 2015	0	1/0	0
	23. 7. 2015	2	0/0	0
	30. 7. 2015	0	0/0	1
	6. 8. 2015	2	0/0	0
	19. 8. 2015	0	0/0	80
	31. 8. 2015	3	0/0	3
	2. 9. 2015	24	0/0	0
	4. 9. 2015	1	18/0	0
	9. 9. 2015	0	1/0	0
průměr		2,7	11,5/0,0	10,2
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		24	160/0	90
směrodatná odchylka		5,4	36,5/0,0	26,5

Tabulka 28: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po ultrafiltraci

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml		
		CPK	KB/E	MB
za MMS	28. 1. 2015	0	0/0	0
	4. 2. 2015	0	0/0	1
	20. 2. 2015	0	6/0	0
	25. 3. 2015	0	0/0	0
	1. 4. 2015	0	0/0	0
	14. 4. 2015	0	0/0	0
	22. 4. 2015	0	0/0	0
	30. 4. 2015	0	1/0	0
	7. 5. 2015	1	1/0	0
	28. 5. 2015	0	1/0	1
	10. 6. 2015	0	0/0	0
	24. 6. 2015	0	2/0	0
	15. 7. 2015	3	0/0	1
	20. 7. 2015	0	0/0	0
	30. 7. 2015	0	0/0	0
	6. 8. 2015	0	0/0	0
	19. 8. 2015	33	0/0	0
	31. 8. 2015	130	0/0	1
	4. 9. 2015	0	0/0	0
	průměr		8,8	0,6/0,0
minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		130	6/0	1
směrodatná odchylka		29,5	1,4/0,0	0,4

Tabulka 29: Obsah jednotlivých mikroorganismů v lahvovém pivu

místo odběru	datum odběru	KTJ/100 ml			
		CPK	KB/E	MB	
lahvev	22. 1. 2015	0	36/0	80	
	26. 1. 2015	0	4/0	0	
	29. 1. 2015	0	0/0	1	
	5. 2. 2015	2	7/0	0	
	16. 2. 2015	0	0/0	0	
	19. 2. 2015	0	1/0	0	
	12. 3. 2015	0	1/0	1	
	18. 3. 2015	0	0/0	0	
	27. 3. 2015	0	0/0	0	
	1. 4. 2015	0	1/0	0	
	16. 4. 2015	1	0/0	0	
	17. 4. 2015	1	0/0	1	
	30. 4. 2015	0	22/0	25	
	7. 5. 2015	1	0/0	0	
	21. 5. 2015	0	2/0	2	
	28. 5. 2015	0	1/0	0	
	10. 6. 2015	0	1/0	0	
	11. 6. 2015	1	1/0	0	
	24. 6. 2015	0	1/0	1	
	2. 7. 2015	2	0/0	0	
	9. 7. 2015	1	3/0	0	
	22. 7. 2015	0	0/0	0	
	30. 7. 2015	0	0/0	10	
	6. 8. 2015	0	0/0	0	
	19. 8. 2015	0	0/0	0	
	27. 8. 2015	6	0/0	0	
	3. 9. 2015	2	1/0	0	
	8. 9. 2015	3	2/0	0	
	průměr		0,7	3,0/0,0	4,3
	minimální hodnota		0	0/0	0
maximální hodnota		6	36/0	80	
směrodatná odchylka		1,3	7,6/0,0	15,4	

10.4 Fotografie prototypu průtokového pastéru instalovaného v pivovaru A

Fotografie 1: Průtokový pastér – ovládací panel a tank pro CIP



Fotografie 2: Průtokový pastér – trubkový výdržník



11 Seznam příloh

Tabulka 19: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po křemelinové filtraci.....	56
Tabulka 20: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu v přetlačném tanku.....	57
Tabulka 21: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po ultrafiltraci.....	58
Tabulka 22: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu v přetlačném tanku (tzn. po křemelinové filtraci).....	59
Tabulka 23: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu před ultrafiltrací.....	60
Tabulka 24: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po ultrafiltraci.....	61
Tabulka 25: Obsah jednotlivých mikroorganismů v lahvovém pivu.....	62
Tabulka 26: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po křemelinové filtraci nebo v přetlačném tanku.....	63
Tabulka 27: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu před ultrafiltrací.....	64
Tabulka 28: Obsah jednotlivých mikroorganismů v pivu po ultrafiltraci.....	65
Tabulka 29: Obsah jednotlivých mikroorganismů v lahvovém pivu.....	66
Fotografie 1: Průtokový pastér – ovládací panel a tank pro CIP.....	67
Fotografie 2: Průtokový pastér – trubkový výdržník.....	68