



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

# BIOFLAVOURING PIV POMOCÍ STUDENÉHO CHMELENÍ ZA POUŽITÍ ČESKÝCH CHMELŮ

BEER BIOFLAVOURING BY DRY HOPPING USING CZECH CULTIVARS OF HOPS

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Martin Gajdušek

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

BRNO 2021

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1546/2020 Akademický rok: 2020/21  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Bc. Martin Gajdušek**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Bioflavouring pív pomocí studeného chmelení za použití českých chmelů

### Zadání diplomové práce:

Bioflavouring pív pomocí studeného chmelení

1. Vývoj a optimalizace produkce referenčního piva
2. Vývoj a optimalizace technologie studeného chmelení referenčního piva pomocí českých aromatických chmelů
3. Studium vlivu teploty, času a dávky chmele na efektivitu studeného chmelení
4. Chemická a fyzikální charakterizace připravených vzorků
5. Sensorická analýza

### Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

-----  
Bc. Martin Gajdušek  
student(ka)

-----  
Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá vlivem studeného chmelení na vybrané analytické a senzorické vlastnosti piva. Byl pozorován vliv studeného chmelení při použití českých odrůd chmele Kazbek a Uran, které byly do mladiny přidávány ve fázi hlavního kvašení v dávkách 3 a 6 g·dm<sup>-3</sup>. Doba kontaktu chmele s mladinou byla 3, 6 a 9 dní. Součástí jsou také principy metod použitých při analýze v experimentální části. Experimentální část popisuje technologii přípravy referenčního piva, u kterého bylo následně prováděno chmelení za studena. U každého vzorku bylo provedeno paralelní měření. Z hlediska základních parametrů piva byl pozorován vliv studeného chmelení, především jeho délky, na obsah ethanolu. S delší dobou studeného chmelení došlo ke zvýšení koncentrace ethanolu v pivu. S vyšší koncentrací lihu souvisel i pokles zdánlivého extraktu. Z hlediska barvy a pH piva nebyl vliv dry hoppingu prokázán. Prvková analýza provedená metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem odhalila nárůst koncentrace vápníku, hořčíku a železa vlivem studeného chmelení. U manganu a barya nebyl pozorován statisticky významný rozdíl oproti referenci. Z hlediska hořkosti byl u studeně chmelených piv identifikován významný nárůst v porovnání s referencí, přičemž byla hodnota závislá na použité dávce chmele. Vliv odrůdy chmele prokázán nebyl. Koncentrace organických kyselin stanovených metodou iontově-výměnné chromatografie s vodivostním detektorem byly ovlivněny studeným chmelením pouze v případě kyseliny mléčné a kyseliny octové. U kyseliny mléčné byl pozorován nárůst koncentrace oproti referenci, související také se stupněm prokvašení. Zatímco v obsahu kyseliny octové vykazovaly chmelené vzorky nižší koncentraci než vzorek referenční. Plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem byly stanoveny koncentrace myrcenu, humulenu a geraniolu. Jedná se o těkavé komponenty chmelových silic. Studeně chmelené vzorky zaznamenaly signifikantně vyšší koncentrace všech aromatických látek oproti referenci. Z hlediska doby chmelení vykazovaly nejvyšší koncentrace vzorky chmelené po dobu tří dní. Z výsledků senzorické analýzy vyplývá, že celkově nejlépe hodnoceným vzorkem, je vzorek chmelený odrůdou Kazbek s dávkou 3 g·dm<sup>-3</sup> po dobu tří dní. Piva chmelená nejkratší dobu zároveň vykazovala nejnižší intenzitu hořkosti, což bylo vnímáno pozitivně.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Studené chmelení, chmel, pivo, hořkost, barva, pH, organické kyseliny, prvková analýza, senzorická analýza, ICP-OES, IC, GC-MS, UV-VIS

## **ABSTRACT**

This diploma thesis deals with the influence of dry hopping on selected analytical and sensory properties of beer. The effect of dry hopping was observed using Czech hop varieties Kazbek and Uran, which were added to the wort during the main fermentation phase in doses of 3 and 6 g·dm<sup>-3</sup>. The contact time of hops with wort was 3, 6 and 9 days. The experimental part describes the technology of preparation of the reference beer, in which dry hopping were subsequently performed. A parallel measurement was performed on each sample. In terms of the basic parameters of beer, the effect of dry hopping, especially its length, on the ethanol content was observed. With a longer period of dry hopping, the concentration of ethanol in beer increased. The higher alcohol concentration was also associated with a decrease in the apparent extract. In terms of color and pH of beer, the effect of dry hopping has not been proven. Elemental analysis performed by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma revealed an increase in the concentration of calcium, magnesium, and iron due to dry hopping. No statistically significant difference was observed for manganese and barium compared to the reference. In terms of bitterness, a significant increase was identified in dry hopped beers compared to the reference, the value being dependent on the dose of hops used. The effect of the hop variety has not been proved. Concentrations of organic acids determined by ion-exchange chromatography with a conductivity detector were affected by dry hopping only in the case of lactic acid and acetic acid. An increase in lactic acid was observed compared to the reference, also related to the degree of fermentation. While in the acetic acid content the hop samples showed a lower concentration than the reference sample. The concentrations of myrcene, humulene and geraniol were determined by gas chromatography with a mass detector. These are volatile components of hop essential oils. Dry hopped samples recorded significantly higher concentrations of all aromatic substances compared to the reference. In terms of hop time, the highest concentrations were shown by samples hopped for three days. The results of the sensory analysis show that the overall best rated sample is a sample hopped with the Kazbek variety with a dose of 3 g·dm<sup>-3</sup> for three days. Beer which was dry hopped for the shortest time also showed the lowest intensity of bitterness, which was perceived positively.

## **KEY WORDS**

Dry hopping, hop, beer, bitterness, color, pH, organic acids, elemental analysis, sensory analysis, ICP-OES, IC, GC-MS, UV-VIS

GAJDUŠEK, Martin. *Bioflavouring pív pomocí studeného chmelení za použití českých chmelů*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131561>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Jaromír Pořízka.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Rád bych na tomto místě poděkoval především Ing. Lence Punčochářové za cenné rady, konzultace a pomoc při realizaci a kompletaci práci. Dále bych chtěl poděkovat vedoucímu práce Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. za odborné vedení práce a konzultaci výsledků. V neposlední řadě děkuji Pivovaru Zubr a.s. v Přerově za možnost měření v laboratoři pivovaru. Za dodání chmelového materiálu patří poděkování Ing. Vladimíru Nesvadbovi, Ph.D. z Chmelařského institutu v Žatci. Za pomoc během sensorické analýzy pak děkuji kamarádům Zuzaně a Ondřejovi. Závěrem bych rád poděkoval rodičům, že mi umožnili studium a tím i realizace této diplomové práce.

## Obsah

1. ÚVOD.....	9
2. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
2.1 Definice piva dle § 16 vyhlášky č. 248/2018 Sb. zákona o potravinách.....	10
2.2 Charakteristika českého piva .....	10
2.3 Chráněné zeměpisné označení České pivo .....	12
2.3.1 Nároky na suroviny .....	12
2.3.2 Nároky na výrobu.....	13
2.4 Suroviny pro výrobu piva .....	14
2.4.1 Slad.....	14
2.4.1.1 Základní parametry jakosti sladu .....	16
2.4.2 Chmel .....	17
2.4.2.1 Chemické složení chmele .....	20
2.4.3 České odrůdy chmele .....	23
2.4.3.1 Žatecký poloraný červeňák.....	23
2.4.3.2 Sládek .....	24
2.4.3.3 Vital.....	25
2.4.3.4 Kazbek.....	26
2.4.3.5 Harmonie .....	27
2.4.3.6 Agnus.....	28
2.4.3.7 Premiant.....	29
2.4.3.8 Bor.....	30
2.4.3.9 Rubín .....	31
2.4.4 Voda .....	33
2.4.5 Kvasinky.....	35
2.4.5.1 Spodní a svrchní pivovarské kvasinky .....	35
2.4.5.2 Morfologie, cytologie a chemické složení kvasinek.....	35
2.5 Technologie výroby piva .....	36
2.5.1 Šrotování.....	36
2.5.2 Vystírání .....	37
2.5.3 Rmutování.....	37
2.5.4 Scezování.....	39
2.5.5 Chmelovar.....	39

2.5.6	Hlavní kvašení.....	40
2.5.7	Dokvašování .....	42
2.5.8	Studené chmelení (dry hopping).....	42
2.5.8.1	Statická vs. dynamická metoda studeného chmelení .....	43
2.6	Senzorická analýza.....	44
2.6.1	Vzhled a pocit v ústech.....	45
2.6.2	Chuť.....	46
2.6.3	Vůně a aroma .....	46
2.7	Analytické metody používané pro analýzu pív.....	47
2.7.1	Měření hustoty v oscilující U-trubici – pivní analyzátor.....	47
2.7.2	Chromatografie .....	49
2.7.3	Hmotnostní spektrometrie .....	50
2.7.4	Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) .....	50
3.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	51
3.1	Laboratorní pomůcky a vybavení.....	51
3.1.1	Seznam chemikálií .....	51
3.1.2	Seznam pomůcek a přístrojů.....	52
3.2	Technologie piva.....	53
3.2.1	Rmutování.....	53
3.2.2	Chmelovar.....	53
3.2.3	Kvašení a zrání.....	54
3.2.4	Studené chmelení .....	54
3.3	Seznam vzorků.....	55
3.4	Instrumentální metody stanovení látek v pivu.....	55
3.4.1	Metoda stanovení celkové hořkosti UV-VIS.....	55
3.4.2	Metoda stanovení organických kyselin pomocí IC.....	56
3.4.3	Metoda stanovení prvků pomocí ICP-OES .....	57
3.4.4	Metoda stanovení těkavých látek pomocí SPME-GC-MS .....	57
3.4.5	Metoda stanovení základních charakteristik piva .....	58
3.4.6	Metoda stanovení barvy a pH piva.....	59
4.	VÝSLEDKY A DISKUSE .....	60
4.1	Vliv studeného chmelení na základní charakteristiky piva .....	60
4.2	Vliv studeného chmelení na hořkost piva.....	61

4.3	Vliv studeného chmelení na barvu a pH piva .....	62
4.4	Vliv studeného chmelení na koncentraci prvků.....	64
4.5	Vliv studeného chmelení na koncentraci organických kyselin.....	70
4.6	Vliv studeného chmelení na obsah vybraných těkavých látek v pivu.....	78
4.7	Vliv studeného chmelení na sensorický profil piv.....	81
4.8	Vliv studeného chmelení z pohledu vícerozměrné statistické analýzy .....	84
5.	ZÁVĚR .....	86
6.	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	88
7.	SEZNAM ZKRATEK .....	97
8.	PŘÍLOHY .....	98
8.1	Senzorické hodnocení piva .....	98



# 1. ÚVOD

Pivo patří nejen v tuzemsku, ale celosvětově k neoblíbenějším alkoholickým nápojům. Česká republika patří mezi špičku v množství vyprodukovaného piva vzhledem k počtu obyvatel. Pivovarství má na našem území velmi dlouhou tradici, technologie výroby však stále prochází modernizací, jak za účelem zvýšení kvality piva, tak za účelem ekonomickým. Tradiční české pivo se připravuje z ječného sladu, chmele, vody a pivovarských kvasnic.

S tradicí vaření piva souvisí tradice pěstování chmele ve třech hlavních chmelařských oblastech v ČR. V Žatecké, Tršické a Ústěcké oblasti je nejvíce pěstovanou odrůdou Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ), který se vyznačuje jemnou hořkostí a je považován za nejkvalitnější odrůdu chmele. V posledních letech však dostávají prostor i novější odrůdy, mezi nimiž jsou i odrůdy aromatické. Je registrováno více než 10 českých odrůd chmele, z nichž většina geneticky vychází právě ze ŽPČ. Odrůdy se liší jednak v obsahu hořkých kyselin, tak i v obsahu silic. Dle těchto parametrů jsou vhodné pro různé využití při výrobě piva. Stále probíhá šlechtění nových odrůd v Chmelařském institutu v Žatci, přičemž jedna z ještě neregistrovaných odrůd byla použita při experimentu této práce.

Velké pivovary v České republice jsou, co se pivních stylů týče, poněkud konzervativní, avšak v posledních letech zaznamenávají velký rozmach minipivovary. Ačkoli minipivovary vzhledem k vybavení a kontrole výrobního procesu nemohou v produkci a kvalitě tradičních českých ležáků konkurovat velkým pivovarům, sortiment pivních speciálů přináší na trh specifický profil chutí a vůní, po kterých postupně roste poptávka. Zajímavých sensorických charakteristik dosahují výběrem aromatických chmelů, ale i technologií výroby piva. Poměrně novou technologií při výrobě pivních speciálů je dry hopping neboli studené chmelení.

Studené chmelení spočívá v přidání chmele do mladiny během studené části výroby piva, tedy při kvašení, zrání nebo přidáním do hotového piva. Hlavním účelem této techniky je přiblížení chuťového a aromatického profilu piva vlastnostem použité odrůdy chmele. Za vysokých teplot chmelovaru totiž dochází ke ztrátě majoritního množství silic chmele, tudíž nemají velký vliv na výsledný sensorický profil piva. Tuto ztrátu lze kompenzovat právě technikou studeného chmelení, pro níž jsou optimální aromatické odrůdy chmele s vysokým obsahem silic, dodávající pivu typické chmelové aroma dané odrůdy chmele.

Cílem této diplomové práce bylo připravit referenční pivo, provést studené chmelení ve fázi hlavního kvašení a pozorovat vliv zařazení tohoto kroku na analytické a sensorické parametry piva. Vliv studeného chmelení byl pozorován v závislosti na dávce chmele, době kontaktu chmele s mladinou a také v závislosti na použité odrůdě chmele. Z uvedených parametrů v práci lze usuzovat na vliv dry hoppingu jak na základní charakteristiky piva, tak na podrobnější analytické parametry jako koncentrace prvků, hořkých kyselin nebo aromatických těkavých látek. Všechny vzorky byly podrobeny také hodnocení sensorickému. Data byla zpracována statistickým softwarem, pro vyhodnocení metodou analýzy rozptylu (ANOVA), korelační matice a analýzy hlavních komponent (PCA).

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Definice piva dle § 16 vyhlášky č. 248/2018 Sb. zákona o potravinách

*„Pivo je pěnivý nápoj vyrobený zkvašením mladiny připravené ze sladu, vody, neupraveného chmele, upraveného chmele nebo chmelových výrobků, který vedle kvasným procesem vzniklého etanolu a oxidu uhličitého obsahuje i určité množství neprokvašeného extraktu; slad lze do výše jedné třetiny hmotnosti celkového extraktu původní mladiny nahradit extraktem zejména cukru, obilného škrobu, nesladovaných obilovin nebo rýže; u piv ochucených může být obsah alkoholu zvýšen přidávkem lihovin nebo ostatních alkoholických nápojů [1].“*

### 2.2 Charakteristika českého piva

V minulosti byli čeští sládcí značně konzervativní v modernizaci a zavádění nových postupů při výrobě piva. Tomuto fenoménu následně přispěla izolace východoevropských zemí v uplynulém století, což paradoxně pomohlo udržet typický charakter českého piva. Příkladem mohou být změny ve varním procesu během modernizace v ostatních zemích, kdy striktní omezování přístupu vzdušného kyslíku během přípravy mladiny vedlo k vytvoření hluboce prokvašeného evropského piva žlutozelené barvy. Tradičně se však vždy pivo vařilo za přístupu vzduchu, přičemž vznikalo mnoho významných sensoricky aktivních látek a pivo získalo zlatožlutou barvu typickou pro česká piva. Taková piva jsou sice méně sensoricky stabilní, avšak mají jedinečnou ceněnou chuť [2].

Typickým znakem českých piv je zejména neprokvašený zbytkový extrakt, což přispívá k jeho plnosti. Zahraniční piva se v tomto odlišují, neboť bývají hluboce prokvašena za účelem co nejvyššího výnosu. Čejka (2004) uvádí, že lze zahraniční piva v porovnání s českými zařadit do jedné skupiny. Ačkoli se jedná o různá piva lišící se původem, surovinami nebo technologickým zařízením, mají společný intenzifikovaný výrobní postup a jsou označována jako europiva [4].

Dalšími parametry, kterými se česká piva významně liší od těch zahraničních, jsou barva, hořkost, pH a obsah polyfenolů. Olšovská (2014) ještě navíc uvádí statisticky významné rozdíly v obsahu acetaldehydu, pentadienu a propanolu [4]. Ve všech případech jsou hodnoty u českých piv vyšší až na obsah propanolu. Na základě těchto základních parametrů lze tuzemská piva od zahraničních odlišit. V tabulce 1 jsou uvedeny mezní hodnoty, podle nichž lze přibližně určit, zdali se jedná o piva česká (Č) nebo zahraniční (Z) [4].

Tabulka 1: analytické hodnoty pro piva CHZO

Analytický parametr	Mezní hodnota
Rozdíl prokvašení [%]	Č < 1,0 < Z
Barva [EBC]	Č < 9,0 < Z
Hořké látky [EBC]	Č < 22 < Z
pH	Č < 4,45 < Z
Polyfenoly [mg/l]	Č < 135 < Z

Ačkoli mají piva velmi podobné hodnoty z hlediska analytických parametrů, z hlediska toho sensorického se mohou značně lišit. Jedním z důvodů může být nahrazování tradičních surovin [2]. Pro česká piva je typická vyšší plnost, hořkost a delší doznívání hořkosti. V zahraničních pivech lze pozorovat intenzivnější sladkost a kyselost, avšak u těchto piv se často vyskytují pro česká piva nežádoucí chutě a vůně.[3] Dalším významným znakem českých piv je jeho pitelnost, tedy účinek piva nabádající pokračovat v konzumaci [2].

Česká piva se vyznačují také vyšším obsahem polyfenolů, na jejichž obsah má vliv způsob rmutování. S každým dalším rmutem (při dekokčním rmutování) se zvyšuje jejich extrakce a oxidace [3]. Obsah polyfenolů má vliv také na antioxidační aktivitu a sensorickou stabilitu piva. Ze sladu pochází 70–80 % polyfenolů v pivu, z chmele pak zbylých 20–30 % [5]. Polyfenoly přecházející během rmutování do piva jsou pivovary analyticky sledovány. U českých ležáků by se měl jejich celkový obsah pohybovat mezi 130 až 230 mg·dm<sup>-3</sup>. Jedná se tedy o důležitý faktor pro kvalitu piva a jejich obsah je zpravidla snižován během filtrace piva nebo stabilizace polyfenolovými sorbenty [4].

Dalším charakteristickým znakem českých piv v porovnání s těmi zahraničními je vyšší obsah volných aminokyselin. Volné aminokyseliny se podílí na tvorbě charakteristické chuti českého piva. Hořkou chuť mají aminokyseliny isoleucin, leucin, lysin, fenylalanin a histidin, hořko-sladké jsou valin a prolin a slané umami aminokyseliny glutamová a asparagová [6]. Jejich obsah je závislý na použitých surovinách, kvasinkách a technologickém postupu [4]. Čejka (2004) uvádí, že pivo by tedy mohlo být popisováno nejen na základě hlavních analytických a sensorických dat, ale i na základě obsahu aminokyselin [3].

Čejnar 2013 se ve své studii zabýval obsahem křemíku v českém pivu. Křemík v pivu pochází výhradně z použitého sladu, přičemž závisí na odrůdě ječmene a pěstitelské oblasti. Koncentrace se pohybuje od 16 do 113 mg·dm<sup>-3</sup> křemíku, a to v závislosti na dvou faktorech. Prvním faktorem je extrakt v mladině, přičemž platí přímá úměra, že se zvyšujícím se extraktem se zvyšuje koncentrace křemíku. Druhým faktorem je způsob rmutování. Při dekokčním způsobu rmutování dochází k vyšší extrakci křemíku do piva než v případě rmutování infuzního. Vliv na obsah křemíku mají také postfermentační úpravy, jako například filtrace s využitím křemelinových filtrů [7].

## 2.3 Chráněné zeměpisné označení České pivo

Chráněná označení se začala v roce 1992 v EU využívat za účelem ochránit tradiční potravinářské produkty daného regionu od využívání tradičně zavedených názvů výrobků pro výrobky, které se svým původem a vlastnostmi od původního produktu liší [8].

Tradiční české pivo se od piv zahraničních odlišuje jak způsobem výroby, tak sensorickými vlastnostmi. Tyto vlastnosti se u piva vyvíjely desítky až stovky let, po dobu totalitních režimů byl však vývoj technologie zastaven [8]. Zatímco zahraniční pivovary celého světa zaváděly moderní technologie, čímž snižovaly náklady na výrobu piva, na našem území tato možnost nebyla, čímž byla zachována tradiční výroba a původní vlastnosti tuzemského piva. Aby byly tyto sensorické hodnoty a výrobní postupy zachovány i v době možnosti modernizace, navrhli členové Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského a. s. české pivo legislativně ochránit. Bylo však nutné vymezit území v rámci ČR, kde se vyrábějí české suroviny a pivo, jelikož EU nepovoluje CHZO na úrovni států. Ochranná známka CHZO České pivo byla registrována v roce 2008 v kategorii světlé a tmavé výčepní pivo, světlý ležák, tmavý ležák a lehké pivo. Ochranná známka výrazně pomohla stabilizace pěstování chmele na našem území a šlechtění českého ječmene, který se liší jakostními parametry od zahraničního sladovnického ječmene. Kontrolu dodržování postupu výroby a použití surovin provádí Státní zemědělská a potravinářská inspekce [9].



Obrázek 1: Označení výrobků s CHZO

### 2.3.1 Nároky na suroviny

#### Sypání na várku

Sypání na várku je složeno ze sladů a škrobnatých či cukernatých surovin. Do varního listu várky musí být uvedeny hmotnosti a laboratorně zjištěné extraktivnosti jednotlivých surovin. Nejméně 80 % z celkové hmotnosti dodaného extraktu musí pocházet ze sladů, jež byly vyrobeny ze schválených odrůd pro výrobu Českého piva. Jedná se o odrůdy, které prošly národní registrací v ČR pro pěstování a jsou doporučeny pro výrobu piva s CHZO České pivo [10, 11].

Doporučené odrůdy ječmene jsou Adam, Blaník, Bojos, Francin, Laudis 550, LG Ester, LG Monus, Malz, Manta, Petrus, Radegast, Vendela a Zhana [10].

Tabulka 2: Požadavky na vlastnosti sladu [11]

<b>Extrakt v sušině sladu</b>	min. 80,0 % hm.
<b>Kolbachovo číslo</b>	39,0 ± 3 % W.K.
<b>Diastatická mohutnost</b>	min. 220
<b>Dosažitelný stupeň prokvašení</b>	max. 82 %
<b>Friabilita</b>	min. 75 %

Parametry uvedené v tabulce 1 byly stanoveny na základě nižší požadované proteolytické, cytolytické modifikace a míře prokvašení, zajišťující charakteristickou přítomnost zbytkového extraktu. Naopak současné světové požadavky dávají přednost sladům s vysokými hodnotami prokvašení a enzymatickou aktivitou [11].

### Chmelení na várku

Chmelení na várku je tvořeno chmelem, případně produkty vyrobenými z chmele. Do varního listu várky musí být uvedeny hmotnosti chmele a chmelových produktů a laboratorně zjištěné obsahy alfa hořkých kyselin. Z celkové hmotnosti alfa hořkých kyselin na várku musí u světlého ležáku nejméně 30 % alfa hořkých kyselin pocházet z českého chmele. U ostatních piv je to 15 % z celkového obsahu alfa hořkých kyselin. Českým chmelem se rozumí schválené odrůdy z oblastí Žatecko, Tršicko a Ústěcko [10].

Doporučenými odrůdami chmele jsou Žatecký poloraný červeňák, Saaz late, Saaz Special, Saaz Brilliant, Saaz Comfort, Saaz Shine, Sládek a Premiant [10].

### Voda

Voda musí pocházet z místních zdrojů a být zhodnocena jako měkká až polotvrdá [11].

### Kvasinky

Musí být použity pivovarské kvasnice pro spodní kvašení piva *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum*. Nejpoužívanějšími kmeny jsou č. 2, 95 a 96, které jsou uloženy ve Sbírce reprodukčních kmenů pivovarských kvasinek a jsou dostupné všem výrobcům Českého piva s CHZO [11].

#### 2.3.2 Nároky na výrobu

Rozemletý slad má být smíchán s vodou a rmutován. Rmutování smí probíhat pouze dekokčním způsobem, a to jedno až třímotovým; infuzní způsob rmutování se pro výrobu Českého piva používat nesmí. Minimálně 80 % sladu pochází ze schválených odrůd, původ je doložen dodacím listem. V záznamu o vaření musí být uvedeno složení sladového šrotu, teplota a čas rmutování. Po scezení následuje chmelovar trvající 60–120 minut, přičemž musí být v průběhu odpařeno nejméně 6 % objemu. Přidávání chmele je možné rozdělit až na 3 části. Alespoň 30 % z celkového množství musí být tvořeno českým chmelem

u světlých ležáků, u ostatních druhů piv 15 %. Dávka a složení chmele se též uvádí do záznamu o vaření. Po chmelovaru má být mladina zchlazena na zákvasnou teplotu 6–10 °C a provzdušněna. Následně jsou přidány pivovarské kvasnice určené výhradně pro spodní kvašení [11].

Kvašení musí probíhat při teplotě nepřesahující 14 °C, jedná se o kvašení dvoufázové, přičemž jsou oba kroky standardně technologicky odděleny. Druhé kvašení má probíhat při teplotě blízké se 0 °C. Teplota kvašení je zaznamenávána do protokolu o kvašení. Po dokončení zrání prochází pivo filtrací a je stáčeno do příslušných obalů. Vyrobená piva smí být i nefiltrovaná. Produkt musí splňovat parametry uvedené v tabulce 3 [11].

Tabulka 3: Parametry piva s CHZO České pivo

	sv. ležák	tm. ležák	sv. výčepní	tm. výčepní	lehké
<b>Původní extrakt mladiny [% hm.]</b>	11,0-12,99	11,0-12,99	8,0-10,99	8,0-10,99	max. 7,99
<b>Alkohol [% obj.]</b>	3,8-6,0	3,6-5,7	2,8-5,0	2,6-4,8	2,6-3,6
<b>Barva [EBC]</b>	8,0-16,0	50-120	7,0-16,0	50-120	6,0-14,0
<b>Hořké substance [EBC]</b>	20-45	20-45	16-28	16-28	14-26
<b>pH</b>	4,1-4,8	4,1-4,8	4,1-4,8	4,1-4,8	4,1-4,8
<b>Rozdíl zdánlivého a dosažitelného prokvašení [% rel.]</b>	1,0-9,0	2,0-9,0	1,0-11,0	2,0-11,0	1,0-11,0

## 2.4 Suroviny pro výrobu piva

### 2.4.1 Slad

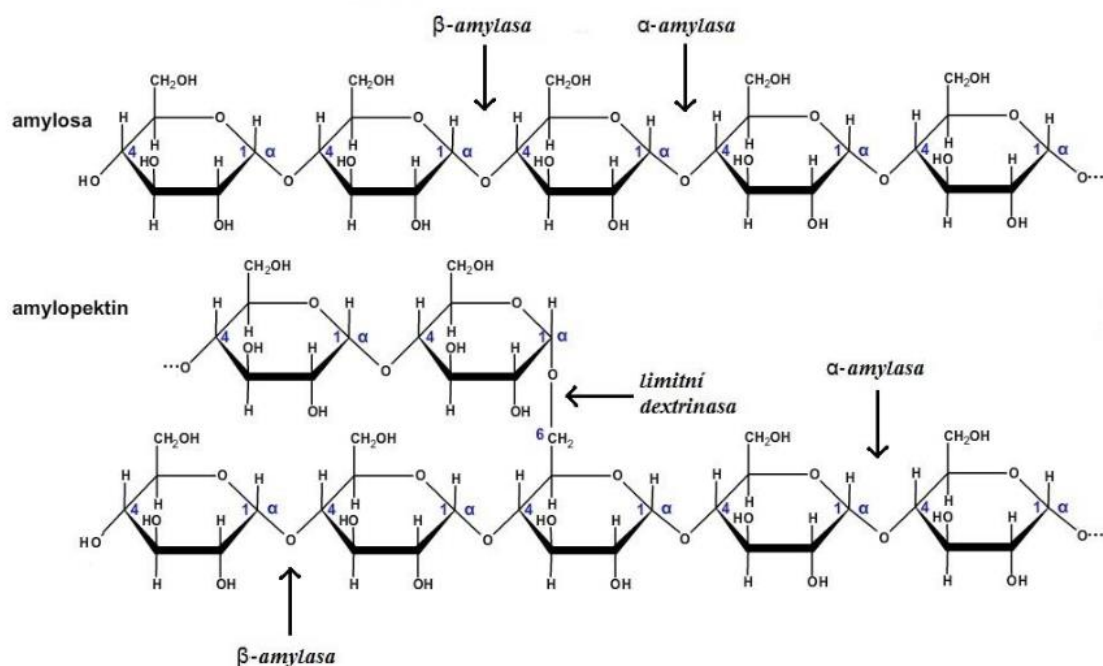
Slad je jednou ze čtyř základních surovin pro výrobu piva. Jedná se o naklíčenou a následně usušenou obilovinu (především ječmen), přičemž klíčení probíhá za specifických podmínek. Nejčastěji používanou obilovinou je dnes na území ČR ječmen dvouřadý (*Hordeum distichum*) [2]. Tento druh ječmene má plodný pouze prostřední kvítek. Květ je chráněn pluchou a pluškou, která kryje podélnou rýhu obilky. Obilka tvoří tři části, kterými jsou obal, zárodek a endosperm. Na hřbetní straně je obalovou vrstvou plucha, na straně břišní pluška, dále následují oplodí a osemení. Limitní koncentrací vody pro zachování životaschopnosti zárodku je 10 % a 10–12 % oxidu uhličitého. Svrchní (aleurónová) vrstva endospermu, který tvoří největší část obilky, je složena z hranolových buněk uspořádaných v řadách. Při nastavení vhodných podmínek pro klíčení je aleurónová vrstva aktivována hormony. Vnitřní endosperm je tvořen tenkostěnnými buňkami, ve kterých je uložen škrob [12].

Aby slad dosahoval správných technologických vlastností, neměla by vlhkost po hvozdní a během skladování překračovat 6 % [2]. Majoritní složku zrna tvoří škrob obsažený v rozmezí 60–65 %, přičemž se jedná o nejvíce variabilní složku živin. Amylóza je zastoupena v intervalu 22–26 %, amylopektin tvoří 74–78 % ječného škrobu [13]. Obalové vrstvy zrna jsou z velké části tvořeny neškrobovými polysacharidy, a to převážně celulózu, arabinoxylany a betaglukany [14]. I přes pozitivní zdravotní účinek betaglukanů jsou v pivovarském průmyslu nežádoucí, protože způsobují zvyšování viskozity sladiny, což může zapříčinit problémy při filtraci piva, tvořit zákaly, sraženiny a negativně působit na stabilitu piva při skladování [17]. Jejich celkový obsah se pohybuje v rozmezí 3,8–6,5 % [14].

Obsah lipidů se u ječného zrna pohybuje od 2,4 do 3,9 % [14]. Největší zastoupení mastných kyselin má kyselina linolová (50–60 %), dále pak palmitová, olejová a linolenová [13, 2]. Z pivovarského hlediska mají lipidy pozitivní vliv v metabolismu kvasinek a v inhibičním účinku na vznik chuťově aktivních esterů. Negativně však lipidy působí na stabilitu pěny a chuť piva [2].

Zastoupení dusíkatých látek v ječném zrně je velmi variabilní v závislosti na vnějších podmínkách. Největší skupinu dusíkatých látek tvoří proteiny (albuminy, globuliny, prolamin, gluteniny), přičemž jsou uloženy především v aleuronové vrstvě [12]. Pro sladovnický ječmen se za optimum považuje rozmezí 10–11,5 %. Dusíkaté látky přispívají k plnosti chuti piva, stabilitě pивní pěny a podílí se i na tvorbě barvy a nebiologických zákalů [2].

V posklizňové zralosti obsahuje sladovnický ječmen velké množství enzymů a jejich prekurzorů. Ze sladařského hlediska za nejdůležitější skupinu enzymů lze označit hydrolázy, především amylázy, které se podílí na hydrolýze škrobu.  $\alpha$ -Amylázy štěpí složky škrobu uvnitř řetězce, tedy hydrolyzují náhodně všechny 1,4-glykosidové vazby kromě vnějších vazeb a vazeb následujících po štěpení. Štěpnými produkty jsou oligosacharidy, při delším působení enzymu pak maltosa, maltotriosa, glukosa a oligosacharidy s 1,6-glykosidovou vazbou [12]. Tento enzym se v zrně tvoří při klíčení, v nenaklíčeném zrně není přítomen. 93 %  $\alpha$ -amylázy z celkového množství je uloženo v endospermu, zbylých 7 % v klíčku [15].  $\beta$ -Amyláza je exoenzym odštěpující maltosové jednotky od neredukujícího konce polysacharidového řetězce. Amylóza se štěpí téměř úplně, z posledních tří glukózových jednotek vzniká maltotriosa, která se dále štěpí na glukózu a maltózu. Amylopektin je štěpen pouze z poloviny, před místem větvení štěpení ustává. Odbourávání pokračuje za současné přítomnosti  $\alpha$ -amylázy nebo limitní dextrinázy štěpicí 1,6-glykosidovou vazbu amylopektinu [12].  $\beta$ -amylázy jsou přítomny již v ječmeni, během skladování však jejich obsah znatelně vzrůstá [16].



Obrázek 2: štěpení škrobu za přítomnosti amyláz

Mezi celosvětově nejpoužívanější druhy sladů řadíme světlé slady plzeňského typu pro světlá piva a tmavé slady mnichovského typu pro piva tmavá. Speciální typy sladů pak slouží zejména pro zvýraznění určitých vlastností piv, obvykle jsou používány v kombinaci s výše uvedenými základními druhy. Typické vlastnosti pro jednotlivé druhy sladů jsou získávány úpravami technologie máčení a klíčení, čímž lze regulovat aktivitu sladových enzymů, míru degradace vysokomolekulárních látek, redoxní potenciál či aciditu sladu. Úpravami technologie hvozdění je regulována tvorba barevných a aromatických látek sladu [2].

#### 2.4.1.1 Základní parametry jakosti sladu

**Extrakt v sušině sladu** v procentech udává míru uvolnění extraktivních látek ze sladu do vodného roztoku, kterým je sladina. Jedná se o ekonomický ukazatel, jelikož ze sladu s vyšším extraktem v sušině je možné vyprodukovat více piva nebo piva s vyšší stupňovitostí [18].

**Friabilita** neboli křehkost sladu se stanovuje vážením propadu při protlačování zrn sítem za standardních podmínek na přístroji friabilimetru. Výsledkem jsou křehkost sladu, podíl částečně sklovitých zrn a podíl sklovitých zrn. Hodnota friability udává míru rozluštění sladu. Čím vyšší hodnota je, tím vyšší pivovarské kvality slad dosahuje [2, 12].

**Kolbachovo číslo** udává stupeň rozluštění bílkovin. Jedná se o poměr rozpustných dusíkatých látek ve sladině a celkový obsah dusíkatých látek ve sladu [18].

**Dosažitelný stupeň prokvašení** udává míru obsahu všech zkvasitelných látek ve sladině pivovarskými kvasnicemi. Za standardní hodnotu se považuje okolo 80 % [18, 12].

**Diastatická mohutnost** udává enzymový potenciál sladu, především aktivitu  $\beta$ -amylázy. Pro evropské pivovary jsou vhodné slady s diastázou min. 220 j.WK [12, 18].



**Relativní extrakt při 45 °C** udává poměr extraktu získaného při teplotě 45 °C a extraktu získaného postupem kongresního rmutování. Informuje o aktivitě cytolytických a proteolytických enzymů. Hodnota RE nesmí klesnout pod 36 % ani při dobré friabilitě, protože slad se sice rychle zpracuje, avšak v dalším procesu se v mladině projeví nevyrovnané kvašení [18, 12].

#### 2.4.2 Chmel

Další ze čtyř základních surovin, tvořící především chuť a vůni piva, je chmel. Je nezastupitelnou surovinou, která pivo odlišuje od ostatních alkoholických i nealkoholických nápojů. Kromě dodání hořkosti a typického aroma ovlivňuje také technologii výroby a další kvalitativní znaky piva [2, 12].

Druhem významným pro výrobu piva je pouze chmel otáčivý (*Humulus lupulus*), zejména pak podruh chmel evropský, který se na základě morfologických znaků liší od dalších dvou poddruhů chmele novomexického a chmele srdčitolistého [2, 12]. Z botanického hlediska se jedná o vytrvalou rostlinu z čeledi konopovitých (*Cannabaceae*) [19]. Hlavní kořeny chmele mohou sahat do hloubky až 6 m, postranní letní kořeny se nachází těsně pod povrchem. Ze zdřevnatělé části kořene – babky – vyrůstá jednoletá réva. Po dosažení výšky 50 cm se pravotočivě vine po připraveném drátku [12]. Réva dorůstá výšky 7–8 metrů v závislosti na délce vodícího drátku, tedy i výšce chmelnice, v létě až 30 cm za den. Z révy rostoucí postranní pazochy nesou samičí květenství zvané osýpka; na jednom pazochu může být 30 i více květenství. Chmel otáčivý kvete 15 až 30 dní, potom se květy mění v plody v podobě chmelových hlávek vejčitého tvaru [2].

Chmel během pěstování vyžaduje poměrně dlouhé vystavení slunečnímu svitu (1 800–2 000 hodin), zároveň je náročný na vláhu, teplotu i vlastnosti půdy. Ideální jsou hlinité až jílovito-hlinité půdy [2, 12]. Rostliny se pěstují na chmelnicích (Obrázek 3), které v podobě drátků tvoří oporu rostlinám. Sklizeň na našem území probíhá v době technologické zralosti koncem srpna až začátkem září. Strojně se sklízí celá réva, ze které jsou následně očesány chmelové hlávky. Ty se bezprostředně po očesání suší, aby neztratily původní barvu, lesk a vůni.[12] Usušený chmel se skladuje buď ve formě hlávek, nebo se dále zpracovává do chmelových pelet, případně se využívá k výrobě chmelových extraktů. V tuzemsku se nachází tři pěstitelské oblasti – Žatecká, Úštěcká a Tršická. Pěstování chmele je zde na vysoké úrovni a jedná se o vývozní artikl do celého světa.



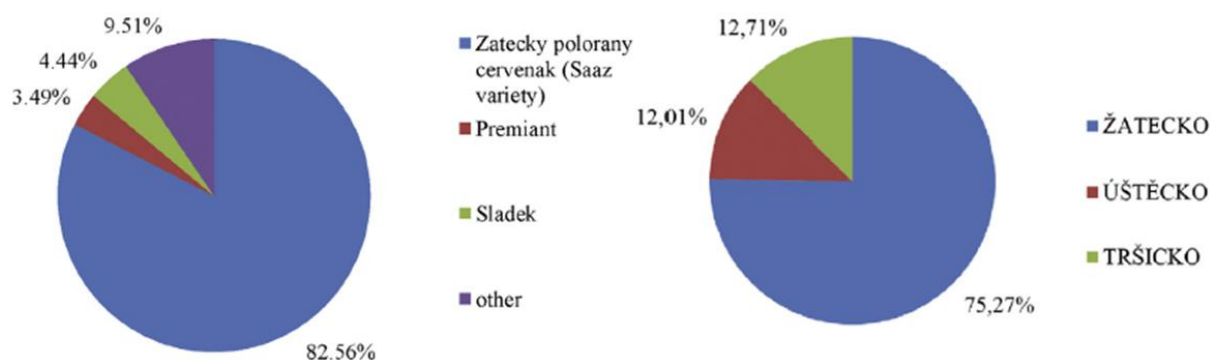
Obrázek 3: chmelnice [20]

Odrůdovou skladbu v Evropě tvoří především červeňáky, v Anglii a zámoří jsou to pak převážně zeleňáky. Tato označení vznikla na základě zbarvení chmelové révy [2]. Jednotlivé odrůdy se pak od sebe liší obsahem pryskyřic, silic a fenolických látek, což jsou z pivovarského hlediska nejdůležitější parametry suroviny. Kromě obsahu  $\alpha$ -hořkých kyselin,  $\beta$ -hořkých kyselin a jejich poměru se dále hodnotí i jejich složení. U silic, které mají vliv především na aroma, se pozoruje zastoupení  $\beta$ -farnesenu, humulenu, karyofylenu a zřídka i dalších látek [12]. Na základě obsahu látek, především alfa hořkých kyselin, se odrůdy chmele rozdělují do čtyř skupin [21]:

- ❖ **Jemné aromatické odrůdy** se vyznačují obsahem  $\alpha$ -hořkých kyselin v rozmezí 3,5–4,0 % hm., přičemž frakce kohumulonu tvoří 25–30 % a farnesen tvoří 10–15 % z celkového obsahu silic [21]. Tuto skupinu reprezentují odrůdy Žatecký poloraný červeňák pěstovaný v ČR, německé odrůdy Tettang a Spalt a polská odrůda Lublin [2].
- ❖ **Aromatické odrůdy** chmele obsahují 3,5–6,5 % hm. alfa hořkých kyselin, podíl kohumulonu je od 20 do 40 %. Farnesen je v silicích zastoupen do 5 % rel. Do této skupiny se řadí české hybridní odrůdy Sládek, Kazbek nebo Harmonie. Ze zahraničních odrůd to je Hersbrucker, Hallertauer a Perle z Německa, slovinská odrůda Golding nebo Cascade pocházející z USA [12].

- ❖ **Hořké odrůdy** mají zastoupení alfa hořkých kyselin zpravidla okolo 8 % hm., kohumulon tvoří přibližně 30 % rel. Podíl farnesenu v silicích je obvykle do 2 % rel.[21]. Tyto odrůdy jsou na základě vyššího obsahu hořkých kyselin dobrým zdrojem hořkosti a některé dodávají i příjemné aroma. Proto se tyto odrůdy označují jako jemné hořké nebo dual-purpose, tedy dvouúčelové [2]. Z českých odrůd je zástupcem odrůda Premiant, Bor nebo Rubín. Důležitou je anglická odrůda Northern Brewer, polská Marinka nebo slovinský Super Steier [12].
- ❖ **Vysokoobsažné odrůdy**, jak už název napovídá, obsahují vysoké množství  $\alpha$ -hořkých kyselin (až 15 %), avšak navzdory menšímu aroma [21]. Jedná se zejména o hybridní odrůdy vyšlechtěné právě za účelem vysokého obsahu hořkých kyselin. Na základě těchto vlastností jsou využívány zejména pro výrobu chmelových extraktů a jiných chmelových výrobků [12]. Patří sem německá odrůda Magnum, anglická odrůda Nugget a americké odrůdy Target a Columbus. Z českých odrůd sem můžeme řadit Vital nebo Agnus [2].

V dnešní době jsou vyšlechtěny a pěstovány i odrůdy s vyšším obsahem alfa hořkých kyselin než 15 %, které jsou označovány jako „super alfa“. Využití nacházejí podobné jako odrůdy vysokoobsažné [2].



Obrázek 4: odrůdová skladba chmele na území ČR a podíl produkce v pěstitelských oblastech [22]

### 2.4.2.1 Chemické složení chmele

Množství a skladba obsahových látek v chmelu závisí na odrůdě, ročníku, posklizňových úpravách, ale také na místě pěstování [12]. Kromě technologicky a ekonomicky důležitých sloučenin jsou obsaženy látky balastní a nežádoucí pro pivovarské využití. Nejvýznamnějšími složkami z pivovarského hlediska jsou chmelové pryskyřice, silice a polyfenoly. Tyto látky ovlivňují jak technologický proces, tak kvalitu výsledného produktu [2]. V tabulce 4 je uvedeno průměrné složení chmelových hlávek.

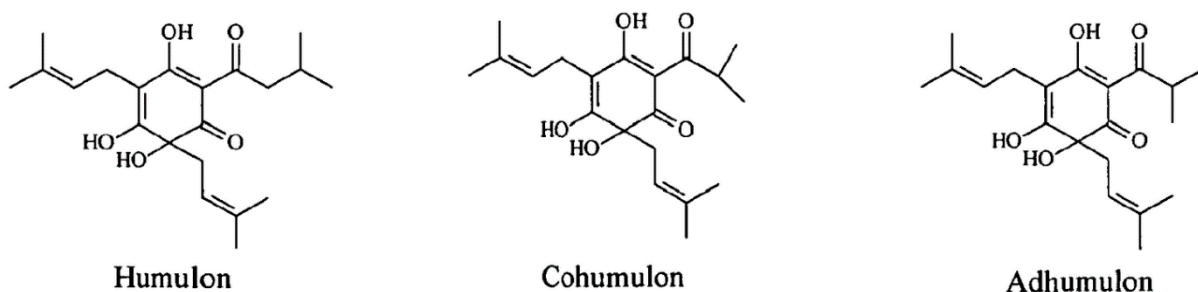
Tabulka 4: chemické složení chmele [23, 12]

Složka	Obsah [% hm.]
<b>Celkové pryskyřice</b>	15–20
<b>Alfa kyseliny</b>	2–17
<b>Beta kyseliny</b>	2–10
<b>Silice</b>	0,5–3
<b>Polyfenoly</b>	3–6
<b>Aminokyseliny</b>	0,1
<b>Minerální látky</b>	6–8
<b>Vosky a mastné kyseliny</b>	1–5
<b>Celulóza, lignin</b>	40–50
<b>Monosacharidy</b>	2
<b>Pektiny</b>	2
<b>Proteiny</b>	15
<b>Vody</b>	8–12

**Chmelové pryskyřice** patří k nejvýznamnějším složkám chmele a zaujímají 15–20 %, výjimečně až 30 % hmotnosti sušeného chmele [2]. Nachází se v lupulinových žlázách samičích chmelových hlávek [24]. Jsou tvořeny několika různými sloučeninami, které jsou však chemicky podobné, nepolárního charakteru a citlivé na oxidační změny [12, 2]. Na základě rozpustnosti v různých organických rozpouštědlech se pryskyřice dělí na měkké a tvrdé. Mezi měkké pryskyřice patří  $\alpha$ -hořké kyseliny,  $\beta$ -hořké kyseliny a nespecifické měkké pryskyřice [24]. Z chemického hlediska jsou chmelové pryskyřice acylfluoroglucinoly substituované jedním, dvěma nebo třemi dimethylallyl postranními řetězci [25].

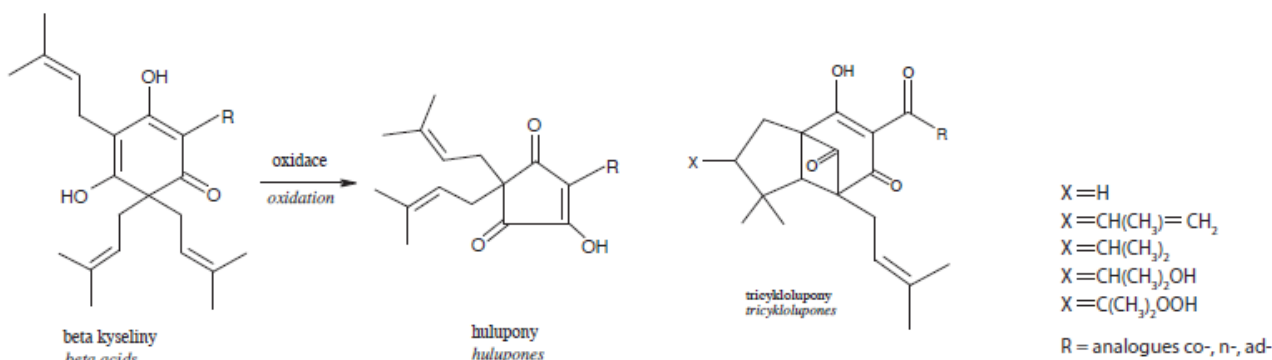
Přibližně 95 %  **$\alpha$ -hořkých kyselin** je tvořeno třemi analogy, a to humulonem (35–70 %), kohumulonem (20–55 %) a adhumulonem (10–15 %) [25]. Zbylých 5 % je tvořeno dalšími sloučeninami, které se liší acylovým zbytkem [2]. Složení i celkové množství  $\alpha$ -hořkých kyselin je silně závislé na odrůdě, místě pěstování, ročníku a skladování. Jedná se o slabé kyseliny pevného skupenství, žluté barvy, vykazují špatnou rozpustnost ve vodě a jsou téměř

bez hořké chuti [26]. Tyto hořké kyseliny snadno podléhají oxidaci, čímž se přeměňují na tvrdé pryskyřice nebo nespecifické měkké pryskyřice, čímž však ztrácejí pivovarskou hodnotu [12]. Během pivovarského varního procesu podléhají  $\alpha$ -hořké kyseliny teplem indukované izomeraci na iso- $\alpha$ -hořké kyseliny. Produktem reakce jsou dva stereoisomery cis- a trans- forma každé jednotlivé hořké kyseliny [24]. Keukeleire (2000) uvádí poměr vznikající cis- a trans- formy 68:32, přičemž cis izomer je zároveň stabilnější. Iso- $\alpha$ -hořké kyseliny vykazují intenzivní hořkost srovnatelnou s chininem [26]. Jsou zodpovědné asi za 85 % hořkosti piva, avšak tvoří komplexy se zbytkovými cukry v pivu, proto je výsledná hořkost vnímána jako příjemná [2, 26]. Kvalitu hořkosti ovlivňuje také podíl kohumulonu, jehož vysoký obsah koreluje s nízkým obsahem  $\beta$ -hořkých kyselin. Vyšší obsah kohumulonu je spojován s „hrubější“ a méně příjemnou hořkostí piva [12]. Iso- $\alpha$ -hořké kyseliny jsou mimo zdroj chuti také důležité pro tvorbu a stabilitu pивní pěny a mají inhibiční účinek na grampozitivní bakterie, čímž přispívají mikrobiologické stabilitě piva [26].



*Obrázek 5:  $\alpha$ -hořké kyseliny*

**$\beta$ -hořké kyseliny** jsou druhou nejvíce zastoupenou frakcí pryskyřic s obsahem nejčastěji mezi 3 až 5 % [2]. Většinu tvoří lupulon (30–55 %), kolupulon (20–65 %) a adlupulon (10–15 %), byly však objeveny další dva analogy – prelupulon a postlupulon. Z chemického hlediska se jedná tristyrenované analogy  $\alpha$ -hořkých kyselin a řadí se mezi měkké pryskyřice. Kvůli velmi nízké rozpustnosti v mladině i pivu mají nepříliš velký pivovarský význam [27]. Směs  $\beta$ -hořkých kyselin je tvořena bezbarvými až bílými krystaly šesterečné soustavy s teplotou tání 82–97 °C [2, 23]. V důsledku absence terciární alkoholové skupiny v aromatickém jádru nemohou při chmelovaru izomerovat jako  $\alpha$ -hořké kyseliny.  $\beta$ -hořké kyseliny jsou však v přítomnosti kyslíku značně nestabilní, což ovlivňuje jejich obsah během zpracování a skladování chmele i během výrobního procesu piva. Nejvýznamnějšími oxidačními produkty jsou hulupony, které vykazují vyšší hořkost než samotné  $\beta$ -kyseliny s podobným dozníváním jako u  $\alpha$ -hořkých kyselin. Nové studie uvádí další transformační produkty vznikající během chmelovaru, které také vykazovaly hořkou chuť. U všech byla však hořkost označována jako dlouho doznívající a nepříjemná [23]. Míkyška (2012) uvádí, že piva chmelená oxidačními produkty  $\beta$ -hořkých kyselin (zejména hulupony) vykazovaly rychleji doznívající a příjemnou hořkost než u piva chmeleného čistými  $\alpha$ -hořkými kyselinami [28]. Jemná hořkost oxidačních produktů  $\beta$ -hořkých kyselin vysvětluje kvalitu žateckých chmelů, u kterých je obsah  $\beta$ -hořkých kyselin vyšší než obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin [12].

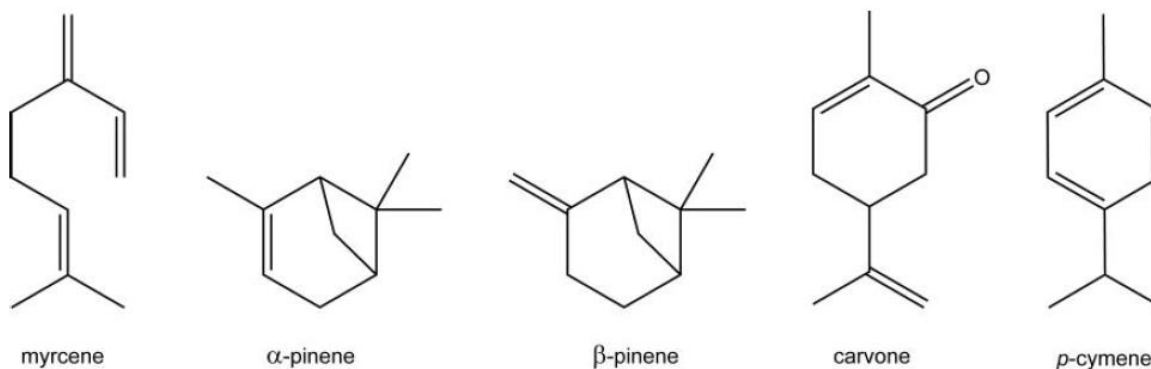


Obrázek 6: Oxidace  $\beta$ -hořkých kyselin [23]

**Chmelové silice** obsažené v chmelových hlávkách (0,5–3 % hm.) jsou další hlavní skupinou obsahových látek chmele. Jedná se o směs několika set organických látek zejména terpenického charakteru. Silice se podle struktury dělí na tři frakce: uhlovodíkovou frakci, kyslíkatou frakci a frakci sirných sloučenin [12].

Největší podíl (70–80 %) v čerstvém chmelu tvoří uhlovodíková frakce, tvořená alifatickými uhlovodíky, monoterpeny, seskviterpeny, seskviterpenovými epoxidy a alkoholy [2, 29]. Významnou složkou patřící do skupiny monoterpenů je myrcen, který je původcem štiplavého aroma a nevyrovnané hořké chuti.[2] S biosyntézou myrcenu souvisí i vznik geraniolu a linaloonu, jež jsou nositeli květinového aroma. Ze seskviterpenových složek jsou významné zejména humulen, karyofylen a farnesen [29]. Tyto látky naopak udělují pivu ušlechtilé aroma [30]. U humulenu a karyofylenu je aroma popisováno jako kořenité a dřevité. Do piva však složky uhlovodíkové frakce přechází jen nepatrně, jelikož během chmelovaru vytěkají společně s vodní párou. K dalším ztrátám dochází během kvašení (únik společně s CO<sub>2</sub>) a také adsorpci na kvasinky. Větší roli mohou tyto sloučeniny mít pouze u studeně chmelených piv [31].

Všechny zmíněné sloučeniny během úpravy, skladování chmele a během výroby piva částečně podléhají oxidaci za vzniku aromaticky významných sloučenin kyslíkaté frakce. Rettberg (2018) uvádí například u oxidačních produktů humulenu aroma sena, cedru, plísň nebo pelyňku, u oxidačních produktů karyofylenu květinové, kořenité a cedrové aroma. U myrcenu pak oxidační produkty mají aroma bylinné, pryskyřičné, borovicové. Tyto oxidační produkty přechází do piva snadněji než jejich prekurzory terpeny [31].



Obrázek 7: myrcen a jeho oxidační produkty

Složení kyslíkaté frakce závisí ve velké míře na posklizňových úpravách a skladování chmele, kdy jejich obsah stoupá. Skupinou vykazující nejsilnější aroma jsou estery – methylestery nasycených i nenasycených kyselin i estery geraniolu, nerolu nebo linaloolu [32].

Přestože jsou sirné sloučeniny obsaženy ve chmelu pouze v nízkých koncentracích, mohou mít kvůli nízkému prahu vnímání aromatický význam, a to především negativního charakteru [29]. Obsah sirných sloučenin razantně zvyšuje zejména užití sirných preparátů proti houbovým chorobám během pěstování chmele [2]. Eyres (2009) uvádí, že sirné sloučeniny mohou vznikat také během chmelovaru při reakci oxidačních produktů terpenů s elementární sírou. Tyto látky s sebou přináší aroma vařené zeleniny, pryže, cibule a síry, proto jsou v pivu nežádoucí [29]. Avšak podle Rettberga (2018) některé sirné estery, alkoholy obsahující síru a ketony mají aroma ovocné, citrusové, po černém rybízu nebo broskvích [31].

Chmelové **polyfenoly** se podílí na 20-30 % celkového obsahu v pivu, zbylou část tvoří polyfenoly sladové. Jejich obsah závisí na odrůdě chmele, přičemž vyšší množství obsahují jemné aromatické a aromatické odrůdy (ŽPČ) než odrůdy hořké a vysokoobsažné [2]. Ve spektru chmelových polyfenolů převažují flavonové glykosidy, anthokyanogeny, katechiny a volné fenolové kyseliny. Jedná se o reaktivní látky zejména vůči proteinům, s nimiž tvoří tříslo-bílkovinné komplexy [12]. Keukeleire (1999) uvádí nepříznivý vliv těchto komplexů na koloidní stabilitu piva. Polyfenoly s nízkou molekulovou hmotností, zejména flavonoly, přispívají k redukčním vlastnostem piva [33]. Antioxidační schopnosti polyfenolů mají pozitivní vliv na zpomalení tvorby zákalů a stabilitu chuti během skladování piva [34]. Alonso (2019) popisuje pozoruhodné antimikrobiální vlastnosti polyfenolů izolovaných z chmele proti testovaným bakteriím (*B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *E. coli* a *S. typhimurium*) a plísním rodu *Penicillium* [35].

### 2.4.3 České odrůdy chmele

#### 2.4.3.1 Žatecký poloraný červeňák

Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ) je typickou českou odrůdou chmele, která se vyznačuje vysokou kvalitou. Je považován za celosvětový standard kvality chmele. Až do 90. let 20. století byl jedinou odrůdou pěstovanou v České republice. Nejvýznamnějšími odrůdami jsou takzvané Osvaldovy klony 31, 72 a 114 vyšlechtěné Karlem Osvaldem, které byly registrovány v roce 1952. Tyto variety stále zaujímají převážnou část všech chmelařských oblastí na území ČR [36]. Celkem se ŽPČ pěstuje v devíti klonech: Osvaldův klon 31 (1952), Osvaldův klon 72 (1952), Osvaldův klon 114 (1952), Šířem (1969), Blato (1974), Lučan (1974), Zlatan (1976) Podlešák (1989), Blšanka (1993) [37]. Na základě získání chráněného označení původu z roku 2007 musí všechny součásti produkce tohoto chmele pocházet z oblasti Žatecka [38].

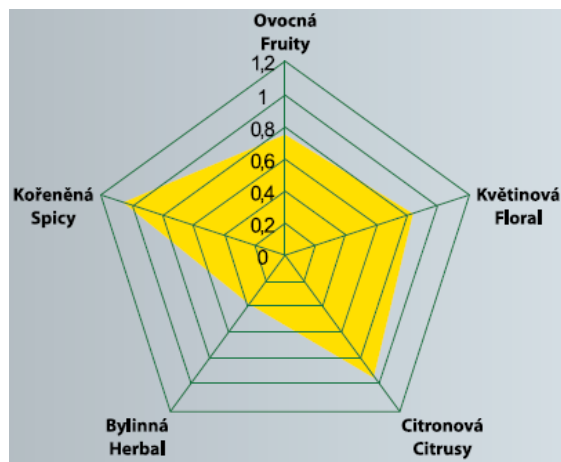
Jedná se o rostlinu středně mohutného vzrůstu s pravidelně válcovitým tvarem keře. Réva má zelenočervenou barvu. Chmelové hlávky mají střední velikost a dlouze vejčitý tvar. Vegetační doba se pohybuje mezi 122 až 128 dní, čímž se odrůda řadí mezi středně rané. Sklizeň začíná v závislosti na počasí a zralosti chmele přibližně na konci srpna a pokračuje

v první polovině září. Čistý výnos hlávek je mezi 0,8–1,5 t·ha<sup>-1</sup> [38]. Oproti jiným odrudám se jedná o poměrně nízký výnos, což bývá příčinou vyšší ceny [40].

Jedinečná skladba chmelových silic tvořící jemnou a ušlechtilou chmelovou vůni je významným znakem této odrůdy. Chmelové silice jsou tvořeny významným obsahem  $\beta$ -farnesenu (15–20 %), zatímco se vyznačují poměrně nízkým obsahem myrcenu a karyofylenu [36]. Krofta 2003 uvádí u ŽPČ nízký obsah esterů mastných kyselin, přítomnost frakce sekundárního alkoholu 2-nonanolu a vysoký obsah trans- $\alpha$ -bergamotenu (1 %) [41]. Alfa a beta hořké kyseliny jsou obsaženy ve vyrovnaném poměru, dále je typickým vysoký obsah polyfenolů a dobrá antioxidační stabilita.

Pluháčková (2011) uvádí na základě výzkumu z let 2009 a 2010 závislost obsahu silic nastáří chmelnice, přičemž byl detekován vyšší obsah u mladších chmelnic s ozdravenou variantou ŽPČ [42]. Jelínek (2010) poukázal, že ŽPČ je jedinou ze 7 analyzovaných odrůd, která neobsahuje 2-methyl butyl iso-butyrate a kvercetin, zároveň však vykazuje nejvyšší hodnotu celkových fenolických látek a katechinů [43]. Skladbu pryskyřic charakterizuje vyšší obsah  $\beta$ -hořkých kyselin (4–7 %) než  $\alpha$ -hořkých kyselin (2–4 %), a to v poměru 0,6–0,8, přičemž zde byla zjištěna nejvyšší variabilita z českých odrůd [44]. Skladba chmelových silic a pryskyřic je u všech klonů stejná, liší se pouze obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin [37].

Aroma této odrůdy je charakterizováno jako jemná chmelová vůně a je považováno za standard kvality. Při chmelovaru je jemná aromatická odrůda vhodná pro druhé a třetí chmelení nebo také chmelení studené [37]. Ze sensorického hlediska je optimálním termínem chmelení 10 minut před koncem varu u třetího chmelení, naopak není vhodné použití odrůdy ŽPČ na konci varu. Dosažené sensorické výsledky výzkumu Nesvadby (2012) jednoznačně potvrzují vynikající pivovarské vlastnosti a nezastupitelnost ŽPČ v tvorbě jemného aroma a hořkosti v porovnání se zahraničními odrůdami Tettnang, Spalt, Lublin, Hersbruck a Strieselspalt, které jsou v současné době pivovary využívány [36].



Aromatický profil ŽPČ

#### 2.4.3.2 Sládek

Odrůda Sládek se řadí mezi aromatické hybridní odrůdy a vyniká schopností tvořit u piva vyváženou hořkost a příjemné chmelové aroma. Byla vyšlechtěna křížením odrůd Žatecký poloraný červeňák a původní anglické odrůdy Northern Brewer. V roce 1987 byl registrován jako perspektivní hybridní genotyp pod názvem VÚCH 71, současný název nese od roku 1994 [40, 37].

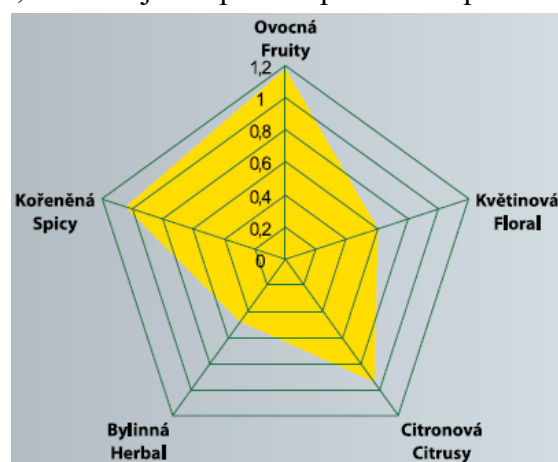
Rostlina je mohutného vzrůstu a má válcovitý tvar. Zelená réva má sílu 11–13 mm. Chmelové hlávky jsou středně až dlouze vejčité a u této odrůdy typicky velmi hustě nasazené. Hmotnost 100 hlávek se pohybuje mezi 16 až 22 gramy. Odrůda je středně odolná



až tolerantní vůči chmelovým nákazám. Jedná se o pozdní odrůdu s vegetační dobou 133–140 dní [37, 40] Výnos se pohybuje mezi 1,8 až 2,5 t·ha<sup>-1</sup>, přičemž byl pozorován vyšší výnos u chmelnic starších sedmi let [42].

Obsah  $\alpha$ -hořkých (4–8 % hm.) a  $\beta$ -hořkých kyselin je poměrně vyvážený (4–8 % hm.), přičemž poměr se může pohybovat mezi 0,7–1,3. Kohumulon je obsažen v míře 25–31 % rel., kolupulon pak 45–51 % rel.  $\beta$ -Farnesen se pohybuje pod hranicí 1 % (na rozdíl od ŽPČ), celkový obsah selinenů se pohybuje pod 3 %, přičemž není obsažen eudesmol [41, 43] Nesvadba (2020) uvádí, že v porovnání s dalšími českými odrůdami má Sládek nadprůměrný obsah myrcenu (30 %) i karyofylenu (13 %) [44].

Odrůda je vhodná zejména pro druhé chmelení, u levnějších piv se používá i pro třetí chmelení místo ŽPČ. Ze sensorického hlediska jej však není schopna plně nahradit, ale dobře se vzájemně doplňují při výrobě vysoce kvalitních ležáků [37]. Chuť a aroma jsou typicky chmelové, jemné s vyšší úrovní hořkosti. Může dodávat ovocnou chuť s esencemi broskve, mučenky a grapefruitu [45]. Z pohledu oblíbenosti piva bylo dle studie Nesvadby (2012) hodnoceno pivo chmelené odrůdou Sládek na prvním místě před pivy chmelenými ŽPČ a odrůdou Harmonie [36].



*Aromatický profil Sládek*

### 2.4.3.3 Vital

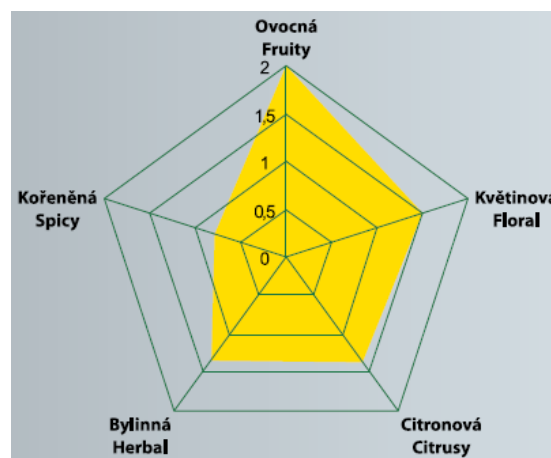
Odrůda Vital je hybridní odrůdou získanou křížením odrůdy Agnus a rozpracovaného šlechtitelského materiálu s podílem volného opylení. Z otcovské strany je to několikanásobný kříženec odrůd Northern Brewer, Sládek a ŽPČ. Jedná se o výsledek šlechtění pro farmaceutické a biomedicínské účely. Na základě toho nese název Vital jako zdraví, registrován byl v roce 2008 [37, 46].

Chmelové hlávky jsou podlouhlé, v apikální části špičaté. Jejich nasazení je střední až řídké. Hmotnost 100 hlávek se pohybuje mezi 21 až 29 gramy. Odrůda vykazuje střední odolnost vůči chmelovým nákazám. S vegetační dobou 135–142 dní se jedná o pozdní odrůdu, přičemž se vyznačuje dlouhou dobou technické zralosti [40]. Výtěžnost se pohybuje v porovnání s českými odrůdami nadprůměrně, okolo 2,2 t·ha<sup>-1</sup> [44].

Ze všech českých odrůd má Vital nejvyšší obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin (10–15 %), což ho může řadit, jako jedinou odrůdu, do skupiny vysokoobsažných chmelů, jinak také do skupiny chmelů hořkých (při nižším zastoupení alfa kyselin) [40, 46, 47]. Obsah  $\beta$ -hořkých kyselin se pohybuje v intervalu 6–10 %, poměr alfa a beta hořkých kyselin je pak 1,1 až 1,7. Kohumulon a kolupulon jsou zastoupeny v míře 22–26 % rel., 45–50 % rel. Signifikantním znakem odrůdy je vysoký obsah desmethylxanthohumulonu (DMX) 0,20–0,40 % hm.

v usušených hlávkách, což je minimálně o 50 % více než u všech ostatních odrůd chmele. Rovněž vysoký je celkový obsah chmelových silic 1,5 až 2,5 % hm., přičemž většinou složku tvoří myrcen 40–55 % rel. Naopak v neobvykle nízkém množství je v silicích zastoupen  $\alpha$ -humulen (2–5 % rel.) a také  $\beta$ -farnesen (1–4 % rel.) [46, 48].

Hořká odrůda je vhodná pro první a druhé chmelení, dodává hlavní podíl hořkosti a chmelové až kořenité aromav[37]. Sensorickou analýzou byla nejlépe hodnocena piva s kombinovaným chmelením Vital-ŽPČ a Vital-Harmonie, až poté následovalo pivo chmelené pouze odrůdou Vital, z čehož vyplývá optimální využití v kombinaci s jinými odrůdami. U piv chmelených touto odrůdou byla zaznamenána mírně vyšší trpkost [49].



*Aromatický profil Vital*

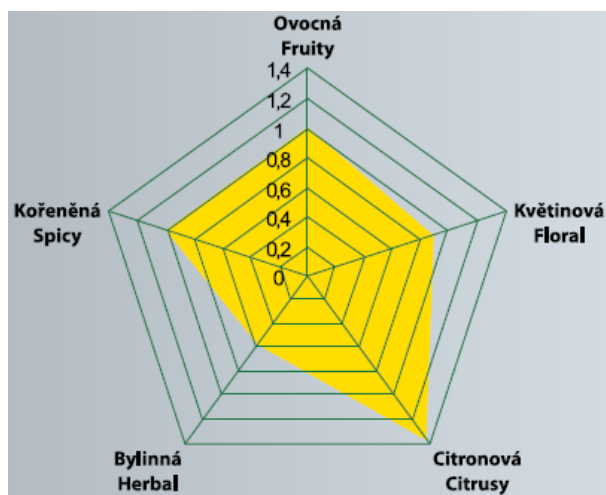
#### 2.4.3.4 Kazbek

Hybridní aromatická odrůda Kazbek byla získána výběrem z potomstva, jehož původem je ruský planý chmel křížený s odrůdou Bor. Název Kazbek demonstruje stabilitu a robustnost odrůdy, jež byla registrována v roce 2008 [37, 40]. Z genetického hlediska patří ke skupině amerických hořkých chmelů [50].

Barva rostliny je červenozelená s mohutnou stavbou, která má tvar válcovité až kyjovité. Révy jsou silné 12–15 mm nesoucí pazuchy až 2 metry dlouhé. Chmelové hlávky jsou hustě až velmi hustě nasazené, tvar hlávky je protáhlý. Odrůda Kazbek je odrůdou pozdní, s vegetační dobou 134–141 dní [40]. Odrůda vykazuje střední odolnost vůči chmelovým nákazám. V porovnání s českými odrůdami dosahuje nejvyšší výtěžnosti více než 2,6 t·ha<sup>-1</sup> [44].

Obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin se obvykle pohybuje v rozmezí 5–8 % hm.,  $\beta$ -hořké kyseliny jsou obsaženy v rozsahu 4–6 % hm., jejich poměr se obecně pohybuje nad 1,0 [48]. Odpovídající genetickému původu je vysoký obsah kohumulonu a kolupulonu, a to 35–40 % a 55–60 % rel., na základě čehož může být Kazbek jednoduše identifikován od ostatních českých odrůd. Silice jsou obvykle obsaženy v množství 1,0–1,5 % hm. [51]. Krofta (2019) na základě GC/MS analýzy uvádí, že většinou složku silic tvoří myrcen, stejně jako u ostatních odrůd.[50] Myrcen je v případě studeného chmelení považován za důležitou složku aroma květinového charakteru s prahem vnímání 13  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  vody.[52] Obsah  $\beta$ -farnesenu a seleninu je v případě této odrůdy zanedbatelný, zatímco je pozorován vyšší obsah humulenu (20–40 % rel.), který tvoří další hlavní složku silic [50]. Humulen a karyofylen byly částečně detekovány ve formě epoxidů, což napomáhá jejich stabilitě při přechodu do hotového piva, zejména pak při studeném chmelení [53]. V signifikantně vysokém množství (2–4 % rel.) jsou obsaženy estery geraniolu [50]. Pro zjištění autenticity je dle Krofta (2011) významnou složkou  $\alpha$ -kopaen, v silicích obsažen na 1 % rel., což je nejméně čtyřikrát více než v jiných českých i zahraničních odrůdách [48].

Z hlediska senzoričkého je Kazbek aromatickou odrůdou dodávající zejména citrusové a kořenité tóny. Svými vlastnostmi je vhodný pro druhé chmelení, případně chmelení studené [37]. V pivu je cítit vyšší intenzita chmelové chuti a aroma, což je zjevně způsobeno vyšší koncentrací linaloolu. Při využití techniky studeného chmelení byla nejlépe hodnocena piva, kdy byla použita dávka  $2,5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  a  $4,0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  s dobou extrakce tří dní [50]. Použití vyšší dávky nebo delšího času extrakce bylo hodnoceno negativně na základě svíravé a ulpívající hořkosti, což je způsobeno silnější extrakcí polyfenolů z chmele do produktu při využití studené techniky chmelení [54].



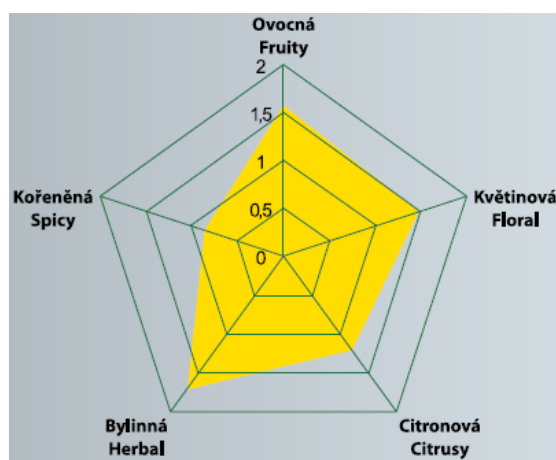
*Aromatický profil Kazbek*

#### 2.4.3.5 Harmonie

Je hybridní aromatickou odrůdou vzniklou křížením odrůd Žatecký poloraný červeňák (55 %), Premiant (31 %), Northern Brewer (12 %) a Fuggle (2 %). Registrována byla v roce 2004 a název naznačuje harmonický obsah alfa a beta hořkých kyselin [37, 55]

Silná réva mohutného vzrůstu má válcovitý tvar a červenou barvu. Chmelové hlávky jsou střední až velké, vejčitého tvaru. Odrůda je středně odolná až tolerantní vůči chmelovým nákazám. Jedná se o polopozdní varietu s vegetační dobou 135–138 dní. Technologická zralost je velmi krátká, pouze 3–5 dní, přičemž po technické zralosti dochází k rozpadu hlávek a vzniku nepříjemného aroma [40]. Výťažnost se pohybuje okolo  $2 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  [44].

Celkový obsah pryskyřic se pohybuje v rozmezí 22–26 % hm., chmelové silice dosahují 1–2 % hm., tedy obdobně jako ostatní české odrůdy. Poměr alfa a beta hořkých kyselin je 0,8–1,2. Alfa hořké kyseliny jsou obsaženy převážně v rozmezí 4–8 % hm., v silných ročnících dosahuje i 10 % hm. Kohumulon je v nich zastoupen v intervalu 19–22 % rel. [55]. Obsah beta hořkých kyselin činí 5–8 % hm. Dle Jelínka (2010) je Harmonie jedinou českou odrůdou dosahující více než 7 % hm. a poměr lupulon/kolupulon je velmi blízký ŽPČ [43, 37]. Složení silic je typické absencí  $\beta$ -farnesenu, zatímco selineny jsou vysoce zastoupeny (10–19 % rel.). Obsah polyfenolů (2,7–3,5 % hm.) je podobný odrůdám Sládek, Premiant a Agnus. Odrůdu lze autentizovat na základě nízkého obsahu farnesenu a vysokého obsahu selinenů a kohumulonu [48].



*Aromatický profil Harmonie*

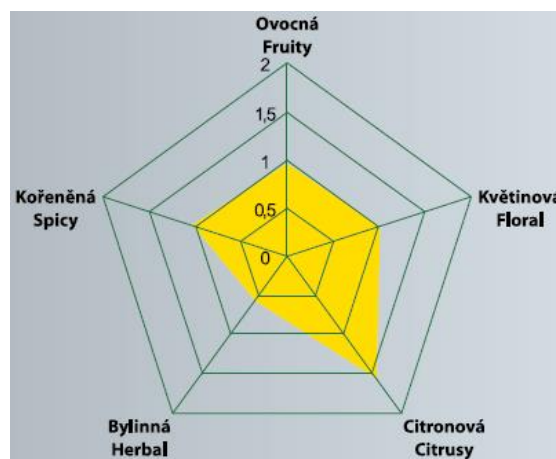
Harmonie je aromatickou odrůdou vhodnou pro druhé chmelení. Pivu dodává kořenité, chmelové aroma s bylinnými tóny [37]. V porovnání s pivy chmelenými odrůdou ŽPČ a Sládek získalo pivo chmelené odrůdou Harmonie první místo v kategorii hodnocení chuti a vůně, z pohledu jemnosti hořkosti však ŽPČ nelze nahradit [36]. Krofta (2009) uvádí porovnání s pivy chmelenými odrůdou Sládek a Premiant, přičemž dle oblíbenosti byla hodnocena piva, chmelená odrůdou Sládek a Harmonie, velmi podobně. Oproti uvedeným odrůdám mělo pivo chmelené Harmonií nižší obsah polyfenolů, což se projevilo vyšší koloidní stabilitou. Co se týče intenzity a charakteru hořkosti, byla všechna piva hodnocena na stejné úrovni, nárůst a doznívání intenzity byl srovnatelný s pivy chmelenými odrůdou ŽPČ [55].

#### 2.4.3.6 *Agnus*

Hybridní odrůda *Agnus* byla v roce 2001 registrována jako první česká vysokoobsažná odrůda [37]. Pivovarské testy však později ukázaly, že varietu lze svou kvalitou zařadit mezi hořké chmely a vyšším obsahem alfa hořkých kyselin [40]. Odrůda vznikla v Chmelařském institutu Žatec za účelem konkurence zahraničním vysokoobsažným odrůdám, které jsou vhodné pro výrobu chmelových extraktů. *Agnus* vznikl křížením odrůd ŽPČ, Fuggle, Sládek, Northern Brewer a dalšího chmelového materiálu [56].

Réva je středně mohutného vzrůstu a má pravidelný válcovitý tvar. Barva rostliny je zelenočervená. Chmelové hlávky jsou řidce až středně hustě nasazeny, mají vejčitý tvar, v apikální části jsou špičaté. Odolnost vůči chmelovým chorobám je střední. Vegetační dobou 132–138 dní se *Agnus* řadí mezi polopozdní odrůdy. Výhodou je dlouhá doba technické zralosti [40]. Výtěžnost je mezi 1,9–2,1 t·ha<sup>-1</sup> [44].

Celkový obsah pryskyřic se pohybuje mezi 27–32 % hm. v sušině, obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin je v rozmezí 11–16 % hm. Je to o 25–30 % více než v odrůdách Bor nebo Premiant a srovnatelný parametr se zahraničními odrůdami Target a Nugget.  $\beta$ -Hořké kyseliny jsou u této odrůdy zastoupeny v intervalu 5–7,5 % hm. Poměr alfa a beta hořkých kyselin se v závislosti na ročníku a místnímu původu pohybuje v rozmezí 1,76–2,88. Vysoký poměr je pro tuto kategorii chmelů typický. Kohumulon je v alfa hořkých kyselinách obsažen zpravidla ve více než 30 % rel., dle studie Nesvadby (2002) to může být až 39 % rel. Vysoké je také zastoupení kolupulonu u beta hořkých kyselin, které může činit až 60 % rel. [56, 58]. Obsah chmelových silic se uvádí 2,0 až 3,0 % hm., což je v porovnání čtyřnásobně více než u ŽPČ. Většinová složka silic je tvořena myrcenem (40–55 % rel.), hojně je zastoupen  $\beta$ -karyofylen (10–12 % rel.) a  $\alpha$ -humulen (16–20 % rel.), zatímco hladina  $\beta$ -farnesenu je velmi nízká, zpravidla ne vyšší než 0,50 % rel. [57]. Jelínek (2010) dokonce uvádí, že  $\beta$ -farnesen u této odrůdy nebyl detekován a zároveň poukazuje na vysoký obsah polyfenolů [43]. Silice odrůdy *Agnus* jsou také poměrně bohaté na estery a geraniol (0,6–1 % rel.) [41].



*Aromatický profil Agnus*

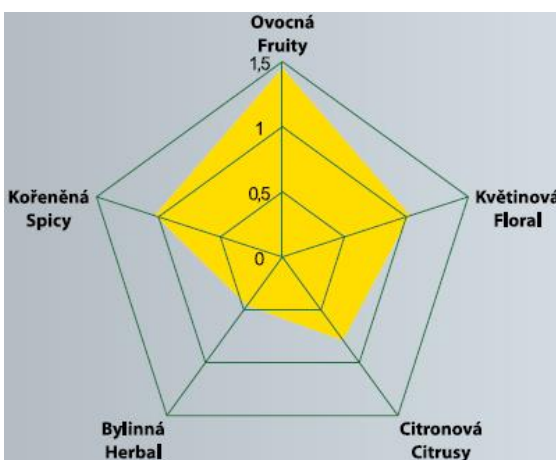
Na základě vysokého obsahu silic má aroma odrůdy Agnus intenzivní chmelové aroma s kořenitými tóny [37]. Vysokým obsahem hořkých kyselin dodává hlavní hořkost, čímž je odrůda vhodná pro první a druhé chmelení [40]. Také je díky tomu vhodná pro výrobu CO<sub>2</sub>-extraktů. Pivovarské zkoušky prokázaly v porovnání s tradičnějšími zahraničními vysokoobsažnými odrůdami srovnatelnou senzoryckou kvalitu odrůdy Agnus, přičemž se chmelové produkty osvědčily jak v pivovarech s technologií kvašení na spilce, tak v pivovarech s technologií CKT [56].

#### 2.4.3.7 Premiant

Premiant je českou odrůdou chmele, která byla registrována v roce 1996. Jedná se tedy o jednu z prvních hybridních odrůd pěstovaných na území ČR. Byla získána křížením Žateckého poloraného červeňáku a dalšího hybridního materiálu, obsahuje vyšší obsah chmelových pryskyřic, čímž se řadí do skupiny hořkých odrůd. Název byl přiřazen podle tradičního českého 12° ležáku Premium, který charakterizuje vysoká plnost, silný říz a výrazná hořkost po chmelu [37, 40].

Rostlina je mohutného vzrůstu, má válcovitý tvar, barvu révy zelenou. Odrůda má středně vysoko nasazené plodonosné pazochy, přičemž jsou pro ni charakteristické pazochy druhého řádu rostoucí z úžlabí révového listu. Chmelové hlávky jsou středně až hustě nasazené, tvar mají dlouze vejčité. Premiant je středně odolný vůči chmelovým nákazám. Vegetační dobou 128–134 dní se řadí mezi polopozdní odrůdy [40]. Výtěžnost se pohybuje okolo 1,9 t·ha<sup>-1</sup>, což se řadí mezi nižší hodnoty v rámci českých odrůd [44].

Celkový obsah pryskyřic se pohybuje v intervalu 19–25 % hm. Obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin je 7–11 % hm., z čehož kohumulon tvoří 18–23 % rel.  $\beta$ -Hořké kyseliny jsou obsaženy v množství 3,5–6 % hm., kolupulon tvoří frakci 39–44 % rel. Poměr  $\alpha$  ku  $\beta$ -hořkým kyselinám se obvykle pohybuje mezi hodnotami 1,7 až 2,3 [41, 43]. Nesvadba (2021) uvádí na základě výzkumu z let 2014–2019 průměrný obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin 7,3 % hm., přičemž Míkyška (2019) z let 2004–2018 uvádí průměrný obsah 8,6 % hm. [58, 59]. Silice jsou obsaženy přibližně 1–1,5 % hm., jejich majoritní složku tvoří myrcen. Průměrný obsah myrcenu je dle studie Nesvadby (2020) 27 % rel., zatímco Jelínek (2010) uvádí pouze 18,87 % rel. [43, 44]. Mezi další významné složky silic patří karyofylen (10–14 % rel.), farnesen (1,5–2,3 % rel.) a humulen (35–42 % rel.). Právě na základě vyššího obsahu  $\beta$ -farnesenu lze odrůdu analyticky identifikovat od jiných odrůd. Podobný obsah  $\beta$ -farnesenu však vykazují také odrůdy Bohemie a Vital, od kterých lze Premiant odlišit na základě nízkého obsahu selinenů (méně než 2 % rel.) [48].



Aromatický profil Premiant

Hlávky vykazují příjemné chmelové aroma a na základě vyšší hořkosti je odrůda vhodná především pro druhé chmelení [37]. Provozní pivovarské testy ukázaly, že při senzoričném hodnocení v porovnání s pivy chmelenými ŽPČ nebyly zjištěny zásadní rozdíly v charakteru hořkosti ani jiných parametrů senzoričného hodnocení. U ŽPČ bylo pouze o 5 % rychlejší doznívání hořkosti. Díky nízkému zastoupení kohumulonu není hořkost příliš ulpívající. Odrůda je z pivovarského hlediska srovnatelná se zahraničnými odrůdami Perle nebo Target [60].

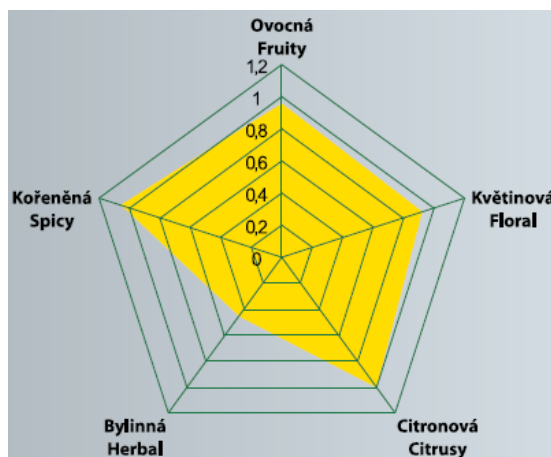
#### 2.4.3.8 Bor

Bor se řadí mezi první registrované hybridní odrůdy pěstované v ČR, registrace proběhla roku 1994. Hybridní genotyp vznikl gama ozářením hybridního potomstva odrůdy Northern Brewer, původně označený jako VÚCH 70. Pojmenování je odvozeno od borových lesů přírodního parku Džbán v Žatecké oblasti [37, 48, 40].

Tmavočervená až červenofialová réva tvoří střed mohutné rostliny pravidelného válcovitého tvaru. Chmelové hlávky jsou středně hustě nasazené, přičemž i plodonosné pazochy jsou nasazené středně vysoko. Tvar hlávky je dlouze vejčitý až protáhlý. Bor je středně odolný vůči chmelovým nákazám. Vegetační dobou 130–135 dní jde o polopozdní odrůdu [40]. Nesvadba 2020 uvádí výtěžnost 3,39 kg/rostlina, zatímco v publikaci 2021 z jiného výzkumu uvádí u stejné odrůdy výtěžnost 2,88 kg/rostlina, což odpovídá 2-2,2 t·ha<sup>-1</sup> [44, 59].

Celkový obsah pryskyřic je 18–25 % hm.,  $\alpha$ -hořké kyseliny jsou obsaženy v množství 6,5–11 % hm., z čehož frakce kohumulonu tvoří 22–27 % rel.[41] Nesvadba (2021) na základě výzkumu 2014–2019 uvádí průměrný obsah alfa hořkých kyselin u Boru 7,90 % hm., Jelínek (2010) uvádí téměř shodně 7,93 % hm. [43, 59]. Obsah  $\beta$ -hořkých kyselin je v intervalu 3,5–6 % hm., kolupulon je v nich obsažen ze 43–48 % rel. Poměr  $\alpha$  a  $\beta$ -hořkých kyselin je 1,6 až 2,3 [41]. Na základě těchto parametrů se odrůda Bor řadí do skupiny hořkých odrůd. Silice jsou zastoupeny v koncentračním rozmezí 1,0–2,0 % hm., přičemž majoritní složkou je, jako u ostatních českých odrůd, myrcen (20–50 % rel.). Dalšími významnými složky jsou humulen (30–45 % rel.), karyofylen (10–14 % rel.).  $\beta$ -Farnesen je obsažen v množství obvykle méně než 0,5 % rel. [43, 44]. Právě na základě nízkého obsahu farnesenu společně s nízkým obsahem selinenů (méně než 2 % rel.) lze odrůdu analyticky identifikovat [48].

Jako hořká odrůda je Bor vhodný zejména pro druhé chmelení, dodává příjemné chmelové aroma [37]. Senzoričným profilem je blízký odrůdě Premiant. Nízký obsah kohumulonu předchází ulpívání hořké chuti. Při provozních pivovarských zkouškách a následném senzoričném hodnocení v porovnání s pivy chmelenými Žateckým poloraným červeňákem a odrůdou Sládek prokázal vzorek srovnatelnou kvalitu na základě celkového dojmu hodnotitelů.



Aromatický profil Bor

V porovnání se zahraničními odrůdami stejného typu (Northern Brewer, Willamette a Spalter Select) byl vzorek chmelený odrůdou Bor hodnocen jako nejlepší [60].

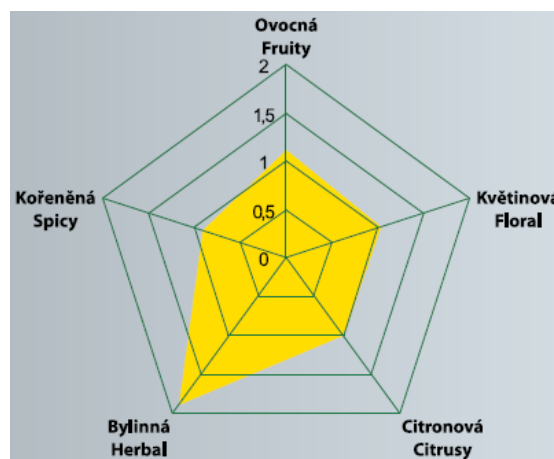
#### 2.4.3.9 Rubín

Rubín je hořkou hybridní odrůdou chmele, registrovanou v ČR v roce 2007 pro výborné růstové vlastnosti. Vznikl křížením odrůdy Bor se samčí rostlinou, která je několikanásobným křížencem hybridního materiálu ŽPČ a Northern Brewer. Svůj název odrůda získala na základě barvy révy [37, 40].










Červenofialovou révu obklopuje rostlina mohutného růstu, válcovitého tvaru. Středně vysoko nasazené plodonosné pazochy nesou chmelové hlávky podlouhlého tvaru. Nasazení chmelových hlávek je středně husté. Rubín je středně odolný až tolerantní vůči chmelovým chorobám. Vegetační dobou 136–140 dní se řadí mezi polopozdní odrůdy [40]. Nevýhodou může být velmi krátká technologická zralost trvající pouze 3–5 dní, poté dochází k vysokým ztrátám v důsledku rozpadu hlávek. Po technologické zralosti může také chmelový materiál vykazovat cizí sirné aroma, což je nežádoucí [37]. Výtěžnost se pohybuje na poměrně vysoké hladině okolo 2,0–2,6 t·ha<sup>-1</sup> [44].

Pro odrůdu je charakteristický vyšší obsah pryskyřic v intervalu 22–27 % hm.  $\alpha$ -Hořké kyseliny jsou obsaženy v množství 9–12 % hm., z čehož frakce kohumulonu tvoří 25–33 % rel. [37, 44]. Nesvadba (2021) uvádí průměrný obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin 10,24 %, zatímco Jelínek (2010) uvádí 11,33 % [43, 59]. Obsah  $\beta$ -hořkých kyselin je mezi 3,5 a 5 % hm., z čehož kolupulon tvoří 45–52 %. Poměr  $\alpha$  a  $\beta$ -hořkých kyselin je obvykle 2,5–3,2 [37]. Celkový obsah silic je u odrůdy mezi 1 až 2 % hm. Majoritní složkou je myrcen. dle Nesvadby (2012) v množství 30–45 % rel., avšak Jelínek (2010) uvádí pouze 11,45 %. Nesvadba (2020) však na základě výzkumu z let 2010–2019 uvádí průměrný obsah 28,02 % rel. [43, 44]. Další významnou složkou je humulen (15–25 % rel.) a karyofylen (7–10 % rel.) [37]. Charakteristickým znakem odrůdy je nízký obsah  $\beta$ -farnesenu nepřesahující 1 % rel. a naopak vysoký obsah selinenů (10–17 %). Obsah selinenů vyšší než 10 % má z českých odrůd pak pouze odrůda Harmonie, od které lze Rubín odlišit na základě vyššího obsahu kohumulonu více než 25 % rel. [48].

Aroma chmelových hlávek odrůdy Rubín je kořenité až silně kořenité, což může způsobovat vyšší obsah kohumulonu, který je zároveň zodpovědný za déle ulpívající hořkost piva. Vysoký obsah selinenů po technické zralosti způsobuje nepříjemné sirné aroma. Vzhledem k vyššímu obsahu alfa hořkých kyselin je odrůda vhodná pro druhé chmelení, a to zejména pro polotmavá a tmavá piva. Při použití techniky studeného chmelení bylo nejvyšší obliby dosaženo u piva chmeleného dávkou 2,5 g·dm<sup>-3</sup> po dobu 12 dní. Zároveň byla odrůda pozitivně hodnocena při studeném chmelení nealkoholického piva [61].



Aromatický profil Rubín

ODRŮDA	ŽPČ	SLÁDEK	VITAL	KAZBEK	HARMONIE	AGNUS	PREMIANT	BOR	RUBÍN
HLÁVKA									
<b>PRYSKYŘICE</b>									
CELKOVÉ PRYSKYŘICE [% HM.]	13-20	17-24	25-30	17-22	22-26	27-32	19-25	18-25	22-27
ALFA HOŘKÉ KYSELINY [% HM.]	2-4	4-8	10-15	5-8	4-8	11-16	7-11	6-11	9-12
BETA HOŘKÉ KYSELINY [% HM.]	4-7	4-8	6-10	4-6	5-8	5-8	3-6	3-6	3-5
POMĚR ALFA/ BETA KYSELIN	0,6-0,8	0,7-1,3	1,1-1,7	0,9-1,5	0,8-1,2	1,8-2,9	1,7-2,3	1,6-2,3	2,5-3,2
KOHUMULON [% REL.]	23-26	23-30	22-26	35-40	19-22	29-38	18-23	22-27	25-33
KOLUPULON [% REL.]	39-43	44-50	45-50	55-60	35-40	51-59	39-44	43-48	45-52
<b>SILICE</b>									
CELKOVÉ SILICE [% HM.]	0,4-0,8	1,0-2,0	1,5-2,5	1,0-1,5	1,0-2,0	2,0-3,0	1,0-1,5	1,0-2,0	1,0-2,0
MYRCEN [% REL.]	25-40	35-50	40-55	40-55	30-45	40-55	30-45	20-50	30-45
FARNESEN [% REL.]	15-20	<1,0	1-4	<1,0	6-11	<1,0	1,5-2,3	<1,0	<1,0
HUMULEN [% REL.]	15-30	30-40	2-5	20-40	15-25	16-20	35-42	30-45	15-25
SELINENY [% REL.]	0,5-1,5	0,5-1,5	7,0-15,0	1-3	10,0-19,0	1,0-3,0	1,0-2,0	1,0-2,0	10,0-17,0
KARYOFYLEN [% REL.]	6-9	8-13	5-8	10-15	6-11	10-12	10-14	10-14	7-10

Tabulka 5: Obsah látek v českých odrūdách chmele



#### 2.4.4 Voda

Voda je základní surovinou pro výrobu piva a její složení ovlivňuje kvalitu výsledného produktu [12]. Zpravidla tvoří více než 90 % piva. Vodu používanou v pivovarech lze rozdělit na tři druhy. Voda **produktová** neboli varní tvoří většinu z celkového potřebného množství. Zahrnuje vodu na rmutování, scezování, ředění piva při vysoké stupňovitosti (high gravity brewing), na přidávání přísad jako je např. chmelový extrakt. Produktová voda musí splňovat požadavky na pitnou vodu, především zdravotní a hygienickou nezávadnost. **Procesní** vodou je myšlena voda používaná k čištění a dezinfekci zařízení, potrubí nebo balicích linek pivovaru. Poslední je voda **užitková** využívaná pro přenos energie ve formě páry nebo také pro chlazení [2, 62]. V závislosti na účinnosti pivovaru je na daný objem piva spotřebováno čtyři až dvanáct objemů vody. Velké pivovary jsou v hospodaření s vodou efektivnější [62].

Přírodní vody obsahují rozpuštěný  $\text{CO}_2$ , který tvoří kyselinu uhličitou v roztoku. Velká část tohoto  $\text{CO}_2$  pochází z působení bakterií v půdních vrstvách, kterými proniká podzemní voda. Ačkoli oxid křemičitý, hliník a železo jsou nejběžnějšími složkami litosféry, jsou obecně přítomny zpravidla jako velmi nerozpustné oxidy. Vápník, sodík, draslík a hořčík jsou dalšími nejčastějšími prvky v uvedeném pořadí. Kyselina uhličitá pomáhá rozpouštět tyto prvky jako jejich hydrogenuhličitanové soli [62].

*Tabulka 6: nejdůležitější kationty a anionty v přírodních vodách [2]*

**Kationty**  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$

**Anionty**  $\text{OH}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SiO}_3^{2-}$

Lze rozlišovat mezi **povrchovou** vodou, kterou je voda pocházející z jezer, řek, umělých nádrží nebo přehrad a vodou **spodní**, pocházející ze studní [12]. Povrchová voda je náchylnější k sezónním změnám v důsledku srážek nebo období sucha. Obvykle obsahuje malé množství minerálů a vysoké množství organických látek a je náchylnější na mikrobiologickou kontaminaci. Povrchová voda vyžaduje při využití v pivovarech vyšší míru úprav [2]. Voda spodní – studniční – v závislosti na hydrogeologické situaci může obsahovat spoustu minerálů. Její mikrobiologická kvalita je obvykle dobrá. Vyznačuje se také vyšší čistotou, nižším obsahem organických látek [63].

**Tvrdost vody** vyjadřuje obsah iontů kovů alkalických zemin, a to v praxi pouze obsah vápenatých a hořečnatých iontů. Z hlediska reakce iontů za varu, rozlišujeme tvrdost vody na karbonátovou (přechodnou) a nekarbonátovou (trvalou) [12]. Karbonátová tvrdost je tvořena hydrogenuhličitanem hořčíku a vápníku. Při chmelovaru dochází odštěpení  $\text{CO}_2$  z těchto hydrogenuhličitanů, čímž se mění na více či méně rozpustné uhličitany. Při delším varu může být uhličitán hořečnatý zcela odstraněn. Hořečnaté a vápenaté soli kyselin sírové, chlorovodíkové, dusičné a jiných tvoří nekarbonátovou tvrdost vody, jež se při varu nemění [2, 62].

Na základě různého množství a poměru iontů rozlišujeme různé druhy pivovarských vod hodící se pro různé pivní styly. Pro silně chmelená spodně kvašená piva je vhodná voda Plzeňská, vyznačuje se malým podílem anorganických látek a jedná se o „měkkou“ vodu. Dalším typem je voda Mnichovská označována jako střední až tvrdá, charakterizována vyšším obsahem uhličitanů a vápníku, a naopak nižším obsahem síranů a chloridů. U Dortmundské vody převažuje nekarbonátová tvrdost nad karbonátovou a jedná se o vodu velmi tvrdou. Vídeňská voda je vhodná pro piva s přechodem mezi světlým a tmavým a rovněž se jedná o vodu tvrdou s převládající karbonátovou tvrdostí. Posledním typem je voda Burton on Trent, obsahuje vyšší množství síranů, je vhodná pro výrobu svrchně kvašených piv a silně chmelených piv typu Ale [2]. Punčochářová et al. (2019) uvádí, že tvrdá voda dosahuje lepší extraktivnosti (13,05 % EPM) než voda měkká (12,6 % EPM). Dále také, že do mladiny vařené z tvrdé vody přechází více vitamínu B3. Naopak studie neprokázala vliv tvrdosti vody na obsah organických ani iso- $\alpha$ -hořkých kyselin v mladině [64].

Obsahem iontů ve vodě jsou ovlivněny všechny procesy výroby piva, protože během rmutování a chmelovaru přechází do mladiny velké množství látek, které s ionty ve vodě mohou reagovat [12]. Velmi důležitou roli hrají vápenaté ionty, které během rmutování reagují s fosforečnany uvolňující se ze sladu, čímž ovlivňují pH. Hodnota pH se může následně upravovat i přísady kyseliny mléčné nebo fosforečné [63]. Důležitá je také reakce s kyselinou šťavelovou, probíhající často až v hotovém pivu. Vzniká málo rozpustný šťavelan vápenatý způsobující přepěňování piva (gushing). Vápenaté ionty také chrání amylolytické enzymy před předčasnou inaktivací, podporují tedy štěpení škrobu [12]. Nejvýznamnější úlohou hořčiku je stimulace aktivity enzymů během kvašení, u některých z nich působí jako kofaktor. Rovněž jako kofaktory působí manganaté ionty, jsou důležité také pro podporu množení a látkovou výměnu kvasinek [2]. Železité a železnaté ionty jsou ve vyšších koncentracích (více než  $0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) nežádoucí. Může docházet ke zhoršení zcukření škrobu a přibarvení mladiny nebo zabarvení pěny u hotového piva. V menší míře však mají příznivý vliv na kvašení [12]. Sodné a draselné ionty mohou ve vyšší míře způsobovat slanou chuť piva, v přírodních vodách jsou však zpravidla zastoupeny minimálně. Hydrogenuhličitanové sodné a draselné soli nepříznivě zvyšují pH mladiny, protože reakcí vzniklé fosforečnany jsou rozpustné, mají alkalickou reakci [2].

Hydrogenuhličitanové anionty regulují pH vody. Síraný mají vliv na technologický proces účastí v enzymatických a metabolických procesech [12]. Při fermentaci se přeměňují na oxid siřičitý, který má antioxidační vlastnosti, čímž napomáhá koloidní a senzorické stabilitě piva. Při vyšších koncentracích mohou nepříznivě ovlivňovat chuť piva [2]. Dusičnanové anionty jsou rizikem z pohledu možného přechodu na dusitany a následného vzniku nitrosaminů, z nich některé jsou silně karcinogenní [12]. Dusitany přítomné ve vodě naznačují přítomnost mikroorganismů a jsou toxické pro kvasinky. Mohou reagovat s polyfenoly za vzniku červených barviv a způsobovat nepříznivé aroma [2].

## 2.4.5 Kvasinky

Pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* jsou jednobuněčné fakultativně anaerobní mikroorganismy taxonomicky zařazené do říše *Fungi*, třídy *Ascomycetes* a čeledi *Saccharomycetaceae* [12]. Kvasinky mají hlavní roli v biotechnologickém procesu výroby piva [65]. Z technologických důvodů jsou vystavovány stresovým podmínkám teploty, koncentrace kyslíku, pH, hydrostatickému a chemickému stresu (alkohol, chmelové látky, antimikrobiální sladové látky...) nebo změny koncentrace živin. Nastavením stresových podmínek je regulován biotechnologický proces, čímž může být dosaženo vyšších výtěžků, snížení provozních nákladů nebo zkrácení doby výroby piva [66].

V metabolismu kvasinek je z pivovarského hlediska důležitá především přeměna zkvasitelných cukrů na alkohol a oxid uhličitý za přítomnosti enzymů. Kvasinky však metabolizují také jiné složky mladiny, přičemž vzniká široké spektrum látek ovlivňujících chuť a vlastnosti produktu. Na metabolismus kvasinek má tedy vliv složení mladiny, podmínky kultivace a vlastnosti použitých kvasinek. Kromě sacharidů jsou pro kvasinky významné zdroje výživy ve formě aminokyselin, peptidů, lipidů, vitaminů, růstových faktorů a také iontů zinečnatých, vápenatých, hořečnatých, draselných, sodných, fosforečných nebo síranových. Naopak může v přítomnosti dusitanových iontů, při koncentraci ethanolu na 6 % nebo v důsledku vysokého osmotického tlaku (extrakt mladiny nad 20 %), docházet k inhibici metabolismu [12]. Kvasinky se v pivovarském průmyslu recyklují, používají se 3x až 10x, s každou další fermentací se jejich kvalita postupně snižuje.

### 2.4.5.1 Spodní a svrchní pivovarské kvasinky

Dříve se používaly výhradně kvasinky svrchního kvašení, protože nebylo možné snadno zajistit nižší teplotu pro kvasinky spodní. Od poloviny 19. století se však používají oba typy, svrchní pro výrobu piv typu ale, stout nebo porter, spodní pak pro výrobu ležáků plzeňského typu [12]. Spodní pivovarské kvasinky označované jako *Saccharomyces carlbergensis*, popř. *uvarum*, mají optimální technologické teplotní rozmezí v intervalu 7 až 15 °C, vyznačují se usazováním na dně nádoby. Kvasinky svrchní *Saccharomyces cerevisiae* mají optimální teplotní rozmezí mezi 18 a 22 °C a drží se u hladiny jako součást kvasničné deky [2]. Spodní a svrchní kvasinky se liší ve stupni zkvašování rafinosy či složení buněčné stěny. Svrchní kvasinky jsou termostabilnější s různým spektrem tvorby sensoricky významných látek [12].

### 2.4.5.2 Morfologie, cytologie a chemické složení kvasinek

Tvar pivovarských kvasinek je mírně oválný s velikostí 6-10 μm na délku a 5-8 μm na šířku. Mohou se vyskytnout i tvary protáhlé [67]. Velikost povrchu rozhoduje o možnostech transportu a metabolismu kultury. Z pohledu složení buňky se jedná o typickou eukaryotickou buňku tvořenou buněčnou stěnou, periplasmou, cytoplazmatickou membránou, cytoplazmou, endoplazmatickým retikulem, Golgiho aparátem, mitochondriemi, vakuolou a peroxizomy [2].

Obsah vody v kvasnicích se pohybuje mezi 65 a 85 % a tvoří tak stejně jako v každém organismu většinou složku. Sušina je tvořena mono-, oligo- a polysacharidy, jejich deriváty i sacharidy substituovanými. Polysacharidy ve formě glukanu a mannanu jsou obsaženy především v buněčné stěně. V cytoplazmě pak tvoří většinu sacharidů glykogen a mannan.

Obsah sacharidů i ostatních látek v sušině je závislý na jejich genetickém základu, fyziologickém stavu i okolních podmínkách. V kvasinkách jsou obsaženy dusíkaté látky téměř ve všech formách [2]. Důležitou roli v redoxním systému kvasinky má peptid glutathion [65]. Většinu dusíkatých látek v sušině však tvoří jednoduché a složené bílkoviny. Z enzymového spektra jsou pak obsaženy všechny hlavní třídy enzymů. Dále jsou v sušině přítomny také lipidy (součást mitochondrií a buněčných membrán), steroly, minerální látky a také celá řada vitaminů [2].

Rozmnožování kvasinek probíhá vegetativně pučením, ale za nepříznivých podmínek může probíhat také pohlavně, tedy sporulací. U spodních pivovarských kvasinek se však pohlavní rozmnožování téměř nevyskytuje. Mateřská buňka může projít deseti až třiceti cykly pučení, přičemž po každém cyklu zůstává na povrchu buňky jizva. Podle jejich počtu lze stanovit stáří buňky [12].

## **2.5 Technologie výroby piva**

Technologie výroby piva se skládá z několika jednotlivých operací. Rmutováním se připraví z našrotovaného sladu a vody sladina, jež je roztokem zkvasitelných cukrů. Scezením je odstraněna pevná fáze – mláto – a sladina převedena do mladinové pánve. Zde je přivedena k varu a v několika dávkách přidáván chmel. Vzniklá mladina je zchlazena a zaočkována pivovarskými kvasnicemi. Kvašení probíhá v určitém teplotním rozmezí v závislosti na použité kultuře. Poté probíhá dokvašování při nižší teplotě a následně případná filtrace, pasterace a balení produktu.

### **2.5.1 Šrotování**

Šrotování je mechanický proces, kdy se slad šrotuje za účelem zpřístupnění endospermu pro fyzikálně-chemické a enzymatické procesy během rmutování ve varně. Při rozrušení zrna dochází ke zpřístupnění extraktivních látek sladu. Po šrotování by neměla zůstat žádná zrna celá, avšak obalové pluchy by měly zachovat celistvost [2]. Rozemletí pluch negativně ovlivňuje porozitu mláta, čímž zpomaluje proces scezování. Dochází také k větší extrakci látek z pluch do sladiny, což má negativní vliv na chuť výsledného produktu [12]. Velikost částic po mletí je tedy kompromisem mezi vysokou dostupností škrobu při malé velikosti částic a nízkým odporem toku při vysoké velikosti částic [68]. Rozluštění zrna působením enzymů postupuje směrem od zárodku ke špičce. Nejméně rozluštěná špička pak tvoří hlavní podíl hrubé krupice. Spodní část endospermu pak při šrotování tvoří jemnou krupici a mouku. Jemnější rozemletí je předpokladem pro vysoký výtěžek extraktivních látek. Pokud je hrubá krupice obsažena ve větším množství, je třeba prodloužit dobu rmutování, protože zcukření probíhá u větších částic pomalu [12].

Technologie mletí se dělí na více způsobů. Tradičním způsobem je mletí sladu za sucha za použití dvouválcových až šestiválcových šrotovníků. Při mletí sladu s kondicionováním je slad vlhčen teplou vodou po dobu jednotek minut v máčecí šachtě nebo šnekovém kondicionéru. Výhodou je, že navlhčené pluchy získají elasticitu a při následném mletí nedochází k jejich porušení. Dalším způsobem je mletí sladu za mokra, kdy je slad máčen v teplé vodě po dobu 15–30 minut, čímž dojde ke zvýšení obsahu vody v zrně na 28–30 %.

Namočený slad se pak při mletí zároveň mísí s vystírací vodou a směs je čerpána do vystírací kádě [2]. Použitím různých způsobů mletí a různých šrotovníků vzniká různé složení frakcí výsledného šrotu. Složení frakcí šrotu a velikosti pluch je optimalizováno na základě technologie rmutování a způsobu scezování [12].

### 2.5.2 Vystírání

Vystíráním se označuje proces promíchání sladového šrotu s varní vodou, která je zpravidla přehřátá na první technologickou teplotu 35–38 °C.[68] Od začátku vystírání začínají přecházet do sladiny převážně látky endospermu sladu. Jedná se především o škrob, dusíkaté látky různé molekulové hmotnosti, neškrobové polysacharidy a enzymy. Cílem vystírání je převedení maximálního množství těchto látek do roztoku, což závisí na sypaní na várku a objemu vody v hlavním nálevu [12]. Řidší rmut s větším objemem nálevu je volen pro světlá piva. Dochází k rychlejšímu zcukření sladiny a mladina má vyšší stupeň dosažitelného prokvašení, mláto zadržuje méně extraktu. Hustý rmut se volí pro piva tmavá. Delší dobu působí proteolytické enzymy, zvyšuje se převod látek z pluch a dochází k intenzivnější karamelizaci pro požadovanou barvu [2].

### 2.5.3 Rmutování

Rmutování je proces nutný pro převedení žádoucích složek extraktu ze sladového šrotu do roztoku. Asi 15–17 % extraktu je přímo rozpustná pouze mícháním roztoku za zvýšené teploty. Zbývající část extraktu tvořenou vysokomolekulárními látkami je možné převést do roztoku až při katalýze sladovými enzymy [2]. Pomocí volby vhodných teplot a času působení dané teploty ovlivňujeme složení výsledného extraktu. Cílem je převést do roztoku nejen veškerý škrob, který je dále enzymaticky štěpen, ale také vhodné množství bílkovin, peptidů a dalších látek ovlivňujících vlastnosti produktu [12]. Charakter piva je také ovlivněn teplotním programem rmutování, pH a stopovými ionty ve vodě, druhy sladu nebo dalšími použitými zdroji škrobu [68].



Obrázek 8: rmutovací pánve [69]

Štěpení škrobu během rmutování lze rozdělit do tří fází. Bobtnání a zmazovatění škrobu je dějem fyzikálně-chemickým. Tento děj je závislý zejména na teplotě a rychlosti zahřívání a odrůdě použitého sladového ječmene. Běžně k zmazovatění dochází v rozmezí teplot 50–57 °C. Na základě teploty zmazovatění použitého ječmene je vhodné upravit proces rmutování [2].

Ztekucení škrobu je proces katalyzovaný enzymy, kdy dochází ke štěpení amylozy a amylopektinu až do zcukření, kdy roztok nedává reakci s jodovým roztokem. Složení štěpných produktů je závislé na působení enzymů, u nichž se liší teplotní optimum. V tabulce 7 jsou uvedeny technologické teploty pro správné působení enzymů během rmutování.

Tabulka 7: rmutovací teploty [2]

<b>Kyselinotvorná teplota</b>	35-38 °C	podpora rozpouštění látek extraktu, zpřístupnění působení sladových enzymů
<b>Peptonizační teplota</b>	45-50 °C	podpora proteolýzy, štěpení fosforečnanů a $\beta$ -glukanů obalových částí zrn
<b>Nižší cukrotvorná teplota</b>	60-65 °C	optimální podmínky pro aktivitu $\beta$ -amylázy, zvyšuje se podíl redukujících cukrů
<b>Vyšší cukrotvorná teplota</b>	70-75 °C	optimální podmínky pro aktivitu $\alpha$ -amylázy, klesá viskozita roztoku, teplota se drží do negativní zkoušky na jodový roztok, přírůstek redukujících cukrů už není tak výrazný
<b>Odrmutovací teplota</b>	78 °C	inaktivace enzymů

Na základě rozdílného způsobu přechodu mezi technologickými teplotami se způsob rmutování dělí na infuzní a dekokční. Infuzní způsob rmutování je jednodušší, jelikož postačuje jedna rmutovací nádoba [12]. Celý objem vystírky se postupně zahřívá na dané technologické teploty a nedochází k povaření rmutu. Způsob je vhodný především pro svrchně kvašená piva a dobře rozluštěné slady. Výsledný produkt je světlejší barvy a vykazuje menší plnost než piva vyrobená dekokčním způsobem. Při dekokčním způsobu je část objemu vystírky zahřívána na technologicky významné teploty a povařena [2]. Následně se vrací zpět do vystírací pánve ke zbytku díla, čímž teplota vzroste na další technologickou teplotu v celém objemu. Způsoby dekokčního rmutování se dělí na jednormutový, dvourmutový a třírmutovým podle počtu cyklů povaření rmutu [12]. Dekokční způsob rmutování se používá pro spodně kvašená piva plzeňského typu a je vyžadován u piv CHZO České pivo.

#### 2.5.4 Scezování

Během procesu scezování se nerozpustěné látky oddělují od sladiny. Nerozpustná část, která se skládá především z pluch a dalšího nerozpustného materiálu, se nazývá mláto. Během scezování by se mělo získat co nejvíce extraktu. Účinnost extrakce se měří jako „výtěžek extraktu“, což je poměr hmotnosti extraktu k hmotnosti sladu [70]. Sladina oddělená od mláta pouze filtrací se nazývá předek. Následuje vyslazování mláta pomocí horké vody pro převedení zachyceného extraktu. Získané výstřelky se přidají k předku, čímž získáváme celkový objem sladiny pro chmelovar. Ta by měla být čirá a obsahovat maximum extraktu [2].

Průběh scezování ovlivňuje kvalita šrotu, míra degradace vysokomolekulárních látek během rmutování, teplota a konstrukce zařízení. Nejčastěji se používají scezovací kádě vybavené jalovým dnem pro zadržování mláta a řadou scezovacích kohoutů vedoucích ode dna kádě [12]. Nezbytnou výbavou je také kypřidlo sloužící k lepší rozložení filtračního koláče, který slouží jako filtr [2].

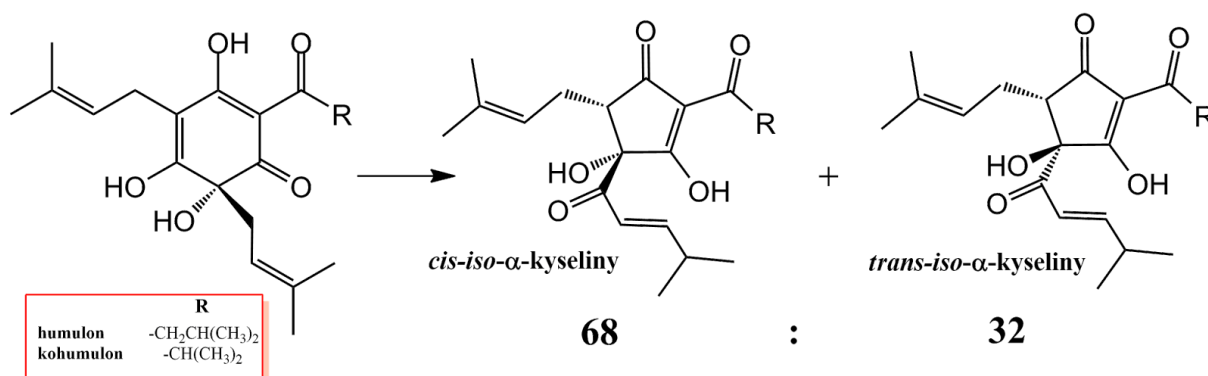
#### 2.5.5 Chmelovar

Chmelovar je fyzikálně-chemický proces, kdy se scezená sladina vaří v mladinové pánvi za přídavku chmele [12]. Tento krok je energeticky nejnáročnější fází procesu vaření. Varny, které jsou vybaveny starou technologií, vyžadují k zahřátí mladiny hodně energie a vyznačují se dlouhým časem zahřívání a vaření. Během posledních desetiletí byly podrobně studovány alternativní technologie varu mladiny, jako je nízkotlaké a vysokoteplotní vaření mladiny, se zaměřením na snížení spotřeby primární energie [70]. Chmelovar se provádí především za účelem rozpuštění a izomerace hořkých látek chmele, odpaření mladiny na požadovanou hodnotu obsahu extraktu, sterilace produktu a inhibice reziduálních mikroorganismů [2]. Neméně významnými procesy je inaktivace enzymů, koagulace vysokomolekulárních dusíkatých látek, produkce Maillardových produktů, snížení hodnoty pH nebo také odpar těžkých látek v závislosti na teplotě a době varu. Produktem chmelovaru je horká mladina určená ke zchlazení a zakvašení [2, 68].

Přidaný chmel dodává pivu specifickou hořkost a aroma, kterým se vyjímá ostatním nápojům. Hořké látky jsou obsaženy ve chmelových pryskyřicích především ve formě  $\alpha$  a  $\beta$ -hořkých kyselin [2]. Tyto látky se však v mladině rozpouštějí pouze částečně a je významně ovlivněno hodnotou pH. Vyšší pH zvyšuje rozpustnost hořkých chmelových látek, avšak nachází se v roztoku ve formě molekulární disperze, což se projevuje drsnou hořkostí. Při nižším pH se více hořkých látek vyskytuje v koloidní formě, dávající pivu jemnou hořkost. Hodnota pH pro převažující koloidní formu je mezi 5,6 a 5,4 [12].

Z hlediska hořkosti jsou nejvýznamnější  $\alpha$ -hořké kyseliny, které jsou při běžném pH mladiny mnohem lépe rozpustné než  $\beta$ -hořké kyseliny. Obsah hořkých látek v mladině však nezávisí pouze na pH, ale také na chemickém složení varní vody [2]. Během chmelovaru  $\alpha$ -hořké kyseliny částečně izomerují na dva stereoisomery iso- $\alpha$ -hořkých kyselin, které jsou, na rozdíl od neizomerované formy, rozpustné i ve studené mladině. Izomerace probíhá v poměru 68:32 ve prospěch *cis*- formy (Obrázek 9) [12].

K dosažení vysokého výtěžku izomerace kyselin je nutné po určitou dobu udržovat vysokou teplotu. Výtěžek izomerace závisí na povaze isohumulonu (nejlepší výtěžek je u kuhumulonu); době chmelovaru; pH (vyšší pH poskytuje vyšší výtěžek, ale získaná hořkost při nižším pH je vyváženější a jemnější, a proto je upřednostňována); koncentrace humulonů (snížení výtěžku při zvýšení koncentrace); vysrážení isohumulonu tepelným skokem; použití účinnějších extrakčních postupů (jako je použití vyšších teplot); velikosti fragmentů chmele (rychlost extrakce je vyšší u mletých chmelových hlávek nebo pelet). Některé chmelové produkty, jako jsou izomerované pelety, chmelové extrakty a redukované izomerované  $\alpha$ -kyseliny (tetrahydro-iso- $\alpha$ -kyseliny), jsou již před použitím izomerovány a lze je použít na konci procesu vaření [70]. Velká část isohumulonů a  $\beta$ -hořkých kyselin se adsorbuje na hrubé kaly mladiny a jejich obsah se také snižuje při poklesu pH na začátku kvašení. Výslednou hořkost produktu tedy určuje zbyvající množství hořkých látek na konci procesu, přičemž se využije zpravidla pouze 25–35 % celkové hořkosti chmelem dodané [12].



Obrázek 9: izomerace  $\alpha$ -hořkých kyselin

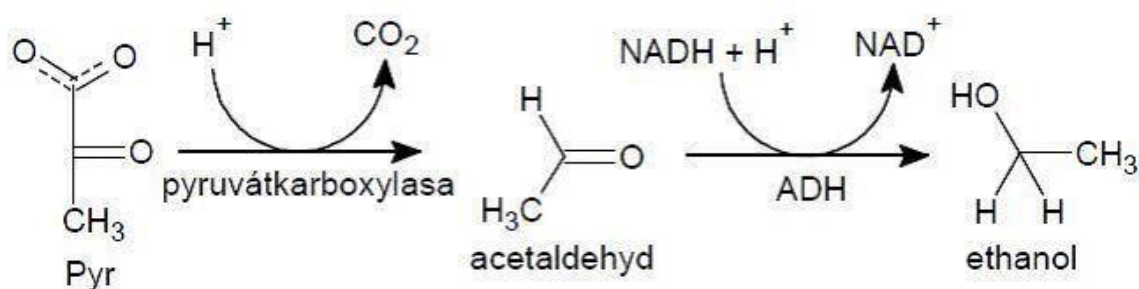
Silice obsažené v chmelu pouze v množství 0,5–3,0 % z většiny během chmelovaru vytěkají. Pouze asi 25 % původního množství přechází do mladiny, kdy následně reaguje s produkty kvašení za vzniku sensoricky významných látek, které pivu dodávají aroma. Množství silic závisí především na odrůdě chmele, obsah oxidovaných frakcí je pak závislý na podmínkách skladování. Většina aroma piva pochází z poslední dávky chmele, proto se doporučuje použít na začátek vysokoobsažné chmele a na poslední chmelení jemné aromatické odrůdy [2]. Čím později je dávka chmele přidána, tím více silic zůstává v mladině a pivu. Chmelové aroma piva ovlivňuje především myrcen a linalool, druhý zmíněný je méně těkavý a je více zastoupen v hotovém produktu. Vnímatelné chmelové aroma vykazují piva s koncentrací linaloolu nad 20  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  [12]. Pro získání vyšší koncentrace silic v pivu se využívá metody chmelení za studena, kdy nedochází k jejich vytěkání.

### 2.5.6 Hlavní kvašení

Před zahájením procesu fermentace se mladina zchladí a provzdušní. V důsledku provzdušňovacího kroku se během prvních několika hodin fermentačního procesu aerobně odbourávají sacharidy. Aerobní sacharidový katabolismus typicky trvá 12 hodin při spodním kvašení. Během prvních hodin fermentačního procesu dochází k oxidační degradaci sacharidů prostřednictvím glykolýzy a Krebsova cyklu. Energetická výhodnost aerobní oxidace glukózy vychází z velkého množství NADH vyrobeného na jeden mol glukózy oxidované na  $\text{CO}_2$ . Skutečná fermentace mladiny produkuje ethanol a oxid uhličitý pomocí glykolýzy. Pyruvát je



za přítomnosti pyruvátdekarboxylázy metabolizován na acetaldehyd, který je pomocí enzymu alkoholdehydrogenasy redukován na ethanol. Redukční cesta z pyruvátu na ethanol je důležitá, protože regeneruje  $\text{NAD}^+$  potřebný pro funkci glykolýzy. Energie je získávána výhradně z kroků glykolýzy produkujících ATP. Během fermentace je aktivita Krebsova cyklu značně snížena, i když stále slouží jako zdroj meziproductů pro biosyntézu [70]. Lagunas (1979) uvádí, že během aerobního růstu *S. cerevisiae* tvoří respirace méně než 10 % katabolismu glukózy, zbytek je fermentován [71]. Zvýšení koncentrace sacharidů vedoucí k utlumení oxidačního metabolismu je známé jako Crabtree efekt. To se tradičně vysvětlovalo jako inhibice oxidativního systému vysokými koncentracemi glukózy. V dnešní době se všeobecně uznává, že tvorba ethanolu za aerobních podmínek je důsledkem nedostatečně rychlé oxidace pyruvátu, například v dýchacím řetězci [70].



Obrázek 10: alkoholové kvašení

V průběhu hlavního kvašení dochází ke zpracování velké části extraktu pomocí metabolismu kvasinek. V závislosti na použitých kvasinkách je nastavena teplota kvašení v optimálním rozmezí pro spodní nebo svrchní kvasinky [12]. U spodních kvasinek je rozmezí teplot 7–15 °C, u svrchních pak 18–22 °C, přičemž je kvašení možné i za vyšších teplot (okolo 25 °C). Typy kvašení se liší i délkou, u kvašení spodního probíhá po dobu 7–12 dnů, u svrchního pak 2–8 dnů [2]. Hlavní kvašení je možné rozdělit do čtyř technologických stádií:

- ❖ Tvorba první pěny na hladině v důsledku tvorby oxidu uhličitého se nazývá **zprašování**. Pěna se začíná tvořit u stěn kádě, zároveň pomalu začíná klesat množství extraktu, hodnota pH a mírně stoupat teplota. V této fázi se kvasinky nachází v lag-fázi [2]. Zprašování je možné pozorovat už po 12 až 24 hodinách po zakvašení [12].
- ❖ Ve 24. až 40. hodině hlavního kvašení se na hladině tvoří hustá bílá pěna, která postupně roste. Fáze se označuje jako **nízké a vysoké bílé kroužky**. Kvasinky se nachází v exponenciální fázi, dochází k vývinu největšího množství oxidu uhličitého, klesá pH pod hodnotu 5,0 a klesá také množství extraktu rychlostí 0,8–1,2 % za 24 hodin [2].
- ❖ **Vysoké hnědé kroužky** vznikající třetí až pátý den hlavního kvašení jsou hnědě zbarveny kaly kvasící mladiny. Kvasinky se nachází ve stacionární fázi. Extrakt klesá rychlostí 1,0–1,8 % za 24 hodin, klesá také pH na hodnoty 4,6–4,4, naopak vzrůstá teplota na maximální hodnoty [2].

- ❖ Ve fázi **propadání deky** probíhá aglutinace a sedimentace kvasnic. Extrakt už klesá pouze pomalu, hodnota pH se dále nemění. Kroužky se propadají a na hladině zůstává pouze tmavá vrstva pěny nazývaná deka. Za účelem zvýšení kvality piva se deka sbírá, jelikož by mohla negativně ovlivnit sensorické vlastnosti produktu [2].

Z technologického hlediska může hlavní kvašení probíhat buď tradičním způsobem v otevřených kádích na spilkách, nebo v cylindricko-kónických tancích (CKT). Kvašení na spilkách je náchylnější na mikrobiální kontaminaci, avšak výhodou je možnost sbírání deky, což pozitivně ovlivňuje kvalitu piva. V CKT sbírání deky možné není, výhodou je vysoká kapacita na dané ploše.

### **2.5.7 Dokvašování**

Dokvašování piva probíhá za nízké teploty v ležáckých sklepech buď v dřevěných sudech, nebo nerezových ležáckých tancích. Pivo zraje při teplotě 0–2 °C, přičemž dochází k odbourání chuti mladého piva. Klesá obsah SO<sub>2</sub>, thiolů, acetaldehydu, mastných kyselin a dalších látek. Dochází ke změnám složení a zvýšení obsahu esterů. Během této fáze kvašení dochází také k číření a koloidní stabilizaci piva. V prvních třech dnech klesá extrakt asi o polovinu, následně už jen velmi pomalu. Po 1-2 dnech dochází k uzavření ležáckých nádob, čímž se vytváří přetlak a pivo se nasycuje oxidem uhličitým. Požadovaný obsah je asi 0,5 % hm. CO<sub>2</sub>. U výčepních piv dokvašování probíhá 21 dnů, u ležáků to může být až 70 dnů [12].

### **2.5.8 Studené chmelení (dry hopping)**

Studené chmelení lze definovat jako extrakci netěkavých i těkavých látek z chmele do alkoholového roztoku a je v pivovarství využíváno ke zvýšení mikrobiální a chuťové stability piva. K dosažení intenzivních chmelových vůní a chutí existuje řada faktorů, které pivovary mohou během studeného chmelení upravit. Například statická nebo dynamická extrakce, přítomnost nebo nepřítomnost kvasinek, různé teploty a různé množství přidaného chmele [72].

Metoda studeného chmelení je založena na přidání chmele do piva během kvašení nebo ležení. Tato technika je navržena tak, aby finálnímu, silně chmelenému pivu poskytla mnohem intenzivnější aroma. Výsledný efekt je jiný v porovnání s přidáním aromatické chmelové odrůdy na konci varu mladiny. Během této metody chmelení nejsou  $\alpha$ -hořké kyseliny izomerovány, zvýšení hořkosti v důsledku extrakce hořkých kyselin je proto zanedbatelné. Ukázalo se však, že nízký obsah alkoholu v pivu umožňuje extrakci polyfenolů a jiných sloučenin, což může přispět ke zvýšení hořkosti piva [73].

Studené chmelení se zpravidla provádí u mladiny připravené tradičním způsobem, tedy včetně chmelovaru, kdy je chmel přidáván do mladinové pánve. Poslední dávka chmele se pak přidává během kvašení nebo ležení, tedy za studena, čímž se kompenzují ztráty aromatických látek chmele z chmelovaru. Pivo se tak svým aromatickým profilem může blížit použité odrůdě chmele [74]. Chmelové aroma piva pak závisí na vlastnostech použitého chmele a může do piva zavést vůni pryskyřičnou, kořeněnou, bylinkovou, ovocnou, citrusovou, zemitou nebo jiné vůně [73].

### 2.5.8.1 *Statická vs. dynamická metoda studeného chmelení*

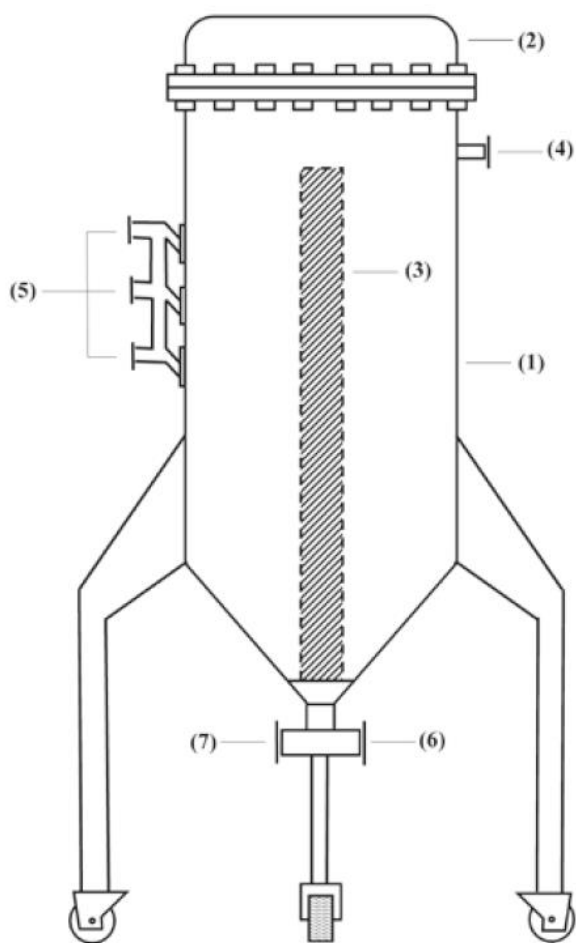
Metody extrakce chmelového materiálu do piva lze rozdělit na statické a dynamické. Statické metody jsou založeny na prostém vložení chmele nebo chmelových výrobků do piva, zatímco při dynamických metodách je pivo přečerpáváno přes vrstvu chmele.

Při **statických** metodách je chmelový materiál vložen do nádoby s pivem v některé ze studených částí výroby. Senzoricky aktivní látky v průběhu extrakce zvolna difundují do roztoku. Důležité je odstranění vzdušného kyslíku před naplněním nádoby pivem, které má být chmeleno. Kyslík by mohl způsobovat oxidaci chmelových silic, což by mohlo mít negativní vliv na výsledný aromatický profil piva. Chmelové hlávky nebo pelety se mohou do piva vkládat buď volně vsypaním, nebo v permeabilních obalech. Způsob volného vložení má nevýhodu chmelových zbytků v pivu, které mohou v dalších fázích výroby způsobovat technologické problémy [74]. U macerace v permeabilním obalu je pak nedostatkem snížení kontaktu chmelových hlávek nebo pelet s pivem, takže u tohoto řešení je třeba zvážit špatný výkon extrakce chmelových olejů a aromatických sloučenin do piva [73]. Jelikož za nízkých teplot nepolární chmelové silice přechází do piva jen velmi pomalu, trvá tento proces několik dnů až měsíců, což závisí i na technologickém úseku, kdy je dry hopping prováděn. Pro statické metody je nejčastější použití ve fázi hlavního kvašení, může se však provádět i ve fázi ležení nebo v hotovém produktu. Výhodou studeného chmelení během kvašení je minimální koncentrace kyslíku, který je spotřebováván kvasinkami, avšak vznikající oxid uhličitý s sebou odnáší velké množství silic. Nevýhodou je také sorpce některých silic na kvasnice. Pokud je však chmel přidáván až ve fázi ležení piva, množství kvasnic je mnohem nižší, stejně tak i množství vznikajícího oxidu uhličitého. K extrakci může pozitivně přispět i vzniklý alkohol [74]. Ovlivnění doby kontaktu při tomto způsobu chmelení není jednoduché. U CKT je možnost odstředění sedimentovaného chmele. Další možností pak může být přečerpání piva do jiného tanku [73].

Při **dynamických** metodách je pivo v pohybu buď mícháním, nebo přečerpáváním. Nepřetržitým obměňováním vrstvy extrakčního činidla (piva) v okolí chmelových produktů je dosaženo snadnějšího a rychlejšího přestupu silic [73]. Zároveň také prouděním dochází k rychlejší dezintegraci chmelových pelet, což přispívá k rychlejší a lepší extrakci chmele, kterého je pak zapotřebí pro přestup stejného množství látek méně než u metod statických. Účinnost ovlivňuje rychlost proudění kapaliny, smykové síly, charakteristika toku, teplota, kontaktní čas i vlastnosti a složení piva jako extrakčního činidla [74].

Základní dynamickou metodou je vložení chmelového materiálu do tanku, odstranění kyslíku a následná recirkulace piva včetně přidaného chmele. Tato technika však stále nedosahuje takové účinnosti jako zařízení nazývané chmelové extraktory (obrázek 12). Jedná se o kónické nerezové tlakové nádoby s filtrem pevných částic oddělujícím pivo od chmelového materiálu. Dále je extraktor vybaven přívodem a odtokem piva, přívodem CO<sub>2</sub>, odvodem pro sanitační prostředky, také senzory tlaku, teploty a průtoku. Některé mohou být vybaveny i lopatkovým míchadlem. Zpravidla je extraktor na kolečkách pro lepší manipulace mezi jednotlivými tanky [74].

Významným faktorem u dynamické extrakce je turbulentní proudění ovlivňující rychlost přestupu látek do piva. To je zajištěno mícháním nebo přečerpáváním [73]. Nátok do extraktoru může být spodní, častěji tangenciální, ale může být také umístěn kdekoli po celé výšce extraktoru. Pomocí křížového přívodu je zajištěno turbulentní proudění a zároveň zamezeno vzniku vírů. Po vložení chmele do extraktoru je inertním plynem vytěsněn vzduch. Následně pomocí čerpadla pivo cirkuluje přes extraktor. Vše probíhá za zvýšeného tlaku, aby nedocházelo ke ztrátám nasycení piva. Proces probíhá pouze v řádech minut až hodin. Nevýhodou mohou být poměrně vysoké pořizovací náklady přístroje [74].



- 1) tělo extraktoru
- 2) víko s těsněním a šrouby
- 3) filtr pevných částic
- 4) vstup CO2 a CIP
- 5) vstup pro pivo
- 6) výstup pro pivo
- 7) výstup pro CIP

Obrázek 11: chmelový extraktor [74]

## 2.6 Senzorická analýza

Senzorická analýza je vědeckou disciplínou používající k vyvolání, měření, analýze a interpretaci reakce na vlastnosti potravin, výhradně lidské smysly jako jsou zrak, čich, chuť, hmat a sluch. Posuzuje tedy organoleptické vlastnosti potravin a nápojů pomocí lidských smyslů a za určitých pravidel poskytuje dobře reprodukovatelné výsledky. V dnešní době má nezastupitelnou roli při výrobě a vývoji potravin. Některé látky mohou být rozpoznatelné v mnohem nižších koncentracích než instrumentálními metodami, výhodou je zároveň

posouzení organoleptického charakteru jako celku, jelikož jednotlivé chuťové a vonné složky se navzájem ovlivňují. Lidské smysly tedy poskytují rychlý, citlivý a specifický popis daného výrobku [75].

Dnešní pohled na organoleptické vlastnosti piva je hodnocen na základě zvyku, jak by konkrétní typ piva měl na hodnotitele působit. Rozdíl mezi laickým a odborným hodnocením je v tom, že hodnocení laické je založeno spíše na subjektivní preferenci, zatímco hodnocení odborná jsou zaměřena spíše na objektivní sensorický popis, který je jasně definovaný a srozumitelný. Sensorický hodnotitel by měl být schopný vjem pojmenovat a také posoudit jeho intenzitu na dané stupnici [75].

### **2.6.1 Vzhled a pocit v ústech**

#### **Vzhled**

Při posuzování vzhledu hodnotíme barvu, čírost, pěnu, její stabilitu, velikost bublin a ulpívání na stěnách. Pro správné posouzení kvality pěny je nutností čistá sklenice a pivo se správnou teplotou. Každý pivní styl má v tomto případě různé parametry, které jsou očekávány. Hodnocení vzhledu u piva však nemá takový význam, jelikož barvu, čírost i stabilitu pivní pěny je možné měřit instrumentální analýzou. Při odborných degustacích jsou vzorky nalévány do neprůhledných sklenic, jelikož by vzhled mohl ovlivnit přístup degustátora a celkový dojem ze vzorku [75].

#### **Říz**

První položkou hodnocení, kterou cítíme po napití, je říz. Způsobuje jej rozpuštěný CO<sub>2</sub>, který je vnímán mechanoreceptory aktivovanými pomocí bublinek. Zároveň je také vnímán receptory bolesti, reagujícími na vznikající kyselinu uhličitou. Pivo by nemělo být přesyceno, ale měl by působit osvěžujícím dojmem. Velký říz může ovlivnit vnímání aroma některých látek. Říz není závislý jen na obsahu oxidu uhličitého, ale také na jeho vazbě v pivu, která je podmíněna teplotou dokvašování a manipulací s pivem před stáčením. Při hodnocení se říz hodnotí po prvním napití, jelikož po nalití do sklenice postupně klesá. Proto není vhodné před hodnocením řízu s pivem míchat a hodnotit aroma [75].

#### **Plnost**

Plnost je rovněž vnímána mechanoreceptory a bývá hodnocena při druhém napití. Je popisována jako pocit plnosti v ústech, chlebnatost nebo také hutnost. Pivo s nízkou plností bývá označováno jako prázdné a vodové. Vyšší plnost mají obecně piva méně prokvašená s vyšším podílem zbytkového extraktu. Nedostatek sacharidů bývá kompenzován vyšším procentem alkoholu, takže se na plnosti projeví až vysoké zdánlivé prokvašení. Nízké prokvašení se může projevit nevyrovnanou chutí připomínající slad a mladinu. Plnost tvoří zejména dusíkaté látky o molekulové hmotnosti vyšší než 10 kDa. Původní extrakt mladiny však nemusí vždy odpovídat sensorickému hodnocení plnosti [75].

## **Trpkost**

Trpkost je svíravý, převážně negativně hodnocený dojem, který bývá často nesprávně zaměňován s hořkostí. Trpkou chuť v pivu způsobují především polyfenolové látky, které mají původ hlavně ze sladu.[75] Přílišné vyluhování pluch nebo použití zoxidovaného chmele trpkou chuť zintenzivňuje. Vnímání trpkosti je založeno na vzniku komplexu tanin-peptid, který pomocí hmatových receptorů působí na trojklanný nerv [77].

### **2.6.2 Chuť**

#### **Sladká**

Původcem sladkosti piva jsou především nezalkvašené jednoduché sacharidy jako maltotriosa nebo maltotetraosa. Obecně bývají tmavá a polotmavá piva sladší než světlé ležáky, každý typ piva má však jinou míru sladkosti. Během stárnutí piva se sladká chuť vyvíjí směrem k medové chuti, tedy vyšší sladkosti [75].

#### **Kyselá**

Kyselou chuť v pivu způsobují především jednoduché organické kyseliny jako například mléčná, citronová, jablečná, šřavelová, octová, jantarová nebo pyrohroznová. Pivo by až na určité speciální typy nemělo vykazovat výraznou kyselou chuť. Kyselost může být důsledkem technologické chyby nebo také mikrobiální kontaminace (mléčné bakterie). Kyselost je vnímána intenzivněji u méně plných piv a piv s vyšším stupněm prokvašení [75].

#### **Hořkost**

Při sensorickém hodnocení u hořkosti posuzujeme její intenzitu, charakter a doznívání. Původcem hořkosti v pivu je chmel, a to zejména hořké kyseliny z něj pocházející. Intenzita hořkosti nemusí vždy odpovídat obsahu hořkých sloučenin. Může totiž docházet k synergii nebo antagonii s jinými obsaženými chemickými látkami. Hořkosti přispívají také dusíkaté látky pocházející z hrubých kalů, které nebyly řádně odstraněny [75].

Intenzita hořkosti je nejvíce vnímána 15 s po polknutí, poté začíná pomalu odeznívat. Z tohoto důvodu se při sensorických analýzách piva hodnotí kulminace hořkosti odpovídající intenzitě 15 s po polknutí a doznívání hořkosti, které se hodnotí 40 s po polknutí. Hořkost v ústech vydrží zpravidla 60-90 s po napití. Při hodnocení hořkosti se mohou následující vzorky značně ovlivňovat, proto je důležité mezi vzorky vyplachovat ústní dutinu vodou a zajídat jednotlivé vzorky degustačním systémem. Intenzita i doznívání hořkosti se hodnotí na stupnici od 0 (žádná) do 5 (nejsilnější). Charakter hořkosti se pohybuje na stupnici 1 až 5, kdy číslem 1 označujeme velmi jemnou hořkost a číslem 5 hořkost velmi drsnou a ulpívající. Tak jako i ostatní parametry je hořkost hodnocena na základě typu piva a očekávané intenzitě a charakteru [75].

### **2.6.3 Vůně a aroma**

V sensorické analýze vůní rozumíme čichový vjem nosem po nasátí plynné fáze nad hladinou nápoje, zatímco termínem aroma je označován vjem po napití, kdy těkavé látky přechází z ústní dutiny do dutiny nosní. Vůně a aroma se u jednotlivých typů piv a pivních značek liší a jsou pro ně charakteristické [75].

## Chmelová

Chmelová vůně je u piva většinou konzumentů hodnocena kladně, přestože ne každé pivo má znatelnou chmelovou vůni. Intenzita i charakter chmelového aroma závisí na odrůdě chmele, kvalitě chmele, na způsobu i době chmelení a také na technologii kvašení a zrání. Látkami odpovědnými za chmelové aroma jsou chmelové silice. Jedná se o těkavé látky, proto je vhodné dodávat aromatický chmel těsně před koncem chmelovaru, jinak látky vytěkají a ve výsledném produktu se téměř neprojeví. Chmelové aroma se postupně vytrácí také v průběhu stárnutí piva [75].

## Ovocná

Ovocnou vůni lze označovat také jako vůni esterovou. Tato vůně je žádoucí spíše u svrchně kvašených piv, u ležáků je poměrně slabá. Pokud je poměr alifatických alkoholů a esterů nižší než 3:1, je vnímána esterová vůně pozitivně. Piva s vyšším poměrem mohou vykazovat prázdnou až trpkou chuť a nevyrovnanou vůni [75].

## Kvasničná

U některých druhů piv je kvasničné aroma žádoucí a lze ho tedy hodnotit pozitivně. Pokud je však jeho intenzita vysoká, poukazuje na technologický problém. Kvasničné aroma je během skladování nestálé [75].

## Karamelová

Karamelovou vůni lze vnímat především u tmavých piv, kde je její vyšší intenzita žádoucí. Může se však vyskytovat i u piv světlých, zpravidla s nižší intenzitou. Karamelové aroma tvoří heterocyklické sloučeniny vznikající při přípravě speciálních druhů sladů a při vaření mladiny [75].

## 2.7 Analytické metody používané pro analýzu piv

### 2.7.1 Měření hustoty v oscilující U-trubici – pивní analyzátor

Hustota vzorku je definována jako podíl hmotnosti a objemu:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Specifická hustota (měrná hmotnost) SG je podíl hustoty vzorku a hustoty vody při 20 °C:

$$SG = \frac{\rho_{vzorek}}{\rho_{voda}}$$

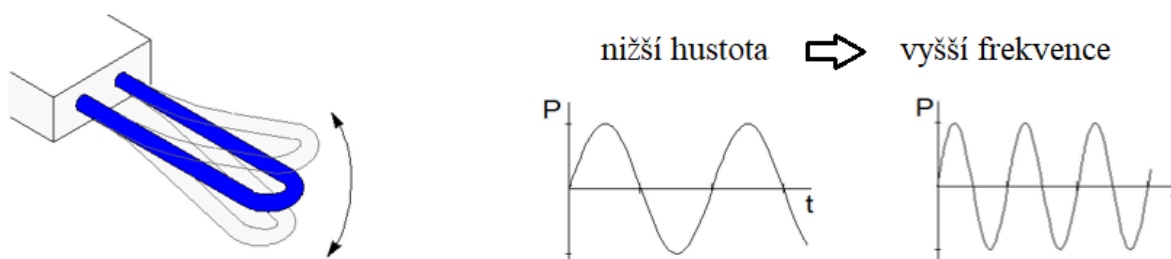
Hodnoty hustoty a specifické hmotnosti jsou významně závislé na teplotě.

Princip metody spočívá v nadávkování vzorku do skleněné trubice z borosilikátového skla ve tvaru U, která je elektronicky rozkmitána na svoji charakteristickou frekvenci. Tato frekvence se mění v závislosti na povaze vzorku, kterým je U-trubice naplněna. Pomocí

přesného stanovení charakteristické frekvence a matematické konverze je měřena hustota vzorku. Hustota je poté vyjádřena na základě oscilační periody U-trubice a referenčního oscilátoru podle vztahu:

$$\rho = KA \cdot Q^2 \cdot f_1 - KB \cdot f_2,$$

kde KA a KB jsou konstanty přístroje, Q je podíl oscilační periody U-trubice a oscilační periody referenčního oscilátoru,  $f_1$  a  $f_2$  jsou korekční faktory pro teplotu, viskozitu a nelinearitu.



Obrázek 12: princip měření hustoty [76]

V binárních směsích je hustota směsi funkcí jejího složení. Hodnotu hustoty lze tedy použít pro výpočet jejího složení pomocí tabulek závislosti hustoty na koncentraci. Takový postup je použitelný i pro kvazibinární směsi. To jsou směsi, které se skládají ze dvou základních složek a ostatní složky jsou přítomny pouze ve velmi malých koncentracích. Například odplyněný nealkoholický nápoj může být považován za kvazibinární roztok cukru ve vodě, protože koncentrace barviv a kyselin je ve srovnání s obsahem cukru ve vodě velmi nízká. Koncentraci cukru je pak možné měřit hustoměrem.



Obrázek 13: hustoměr Anton Paar 4500 M [78]



## 2.7.2 Chromatografie

Chromatografie je fyzikálně-chemická separační metoda založená na rozdílné afinitě dělených látek ke stacionární a mobilní fázi. Stacionární fáze je nepohyblivá a nachází se v koloně buď ve fázi pevné látky, nebo jako film kapaliny zakotvený na pevné látce. Mobilní fáze se pohybuje chromatografickým systémem a unáší látky vzorku. K separaci dochází v koloně na základě distribuce látek mezi stacionární a mobilní fázi. Látky se vzájemně liší dobou setrvání v jednotlivých fázích. Jednotlivé látky jsou detekovány v různých retenčních časech, který je pro každou látku při dané metodě charakteristický [79].

### Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je metoda vhodná pro stanovení plynných, kapalných i pevných látek s bodem varu do cca 400 °C. Mobilní fázi v plynové chromatografii tvoří nosný plyn, který je inertní. Separace látek vzorku je založena pouze na afinitě látky k fázi stacionární. U náplňových kolon může být stacionární fázi pevná látka nebo vysokovroucí kapalina nanesená v tenké vrstvě na inertním nosiči. V kapilárních kolonách je stacionární fáze nanášena přímo na stěnu křemenné kapiláry [80].

V plynové chromatografii je vzorek nadávkován do injektoru, kde je odpařen a unášen nosným plynem na kolonu. Složky vzorku se s rozdílnou afinitou sorbují na stacionární fázi v koloně a následně jsou přicházejícím čerstvým nosným plynem desorbovány. Tento proces, na jehož základě jsou látky rozděleny, se opakuje. V závislosti na velikosti distribuční konstanty látky vystupují z kolony na detektor, který indikuje okamžitou koncentraci látky v nosném plynu. Signál detektoru je převeden na elektrický signál, z něhož výpočetní systém modeluje výstup – chromatogram. Poloha píku udává informaci o identitě látky, zatímco jeho plocha nese kvantitativní informaci [80].

Guillaume et al. (2001) využili plynovou chromatografii s olfaktometrickým detektorem ke stanovení aromatických látek chmele v pivu, kdy byly prokázány signifikantní rozdíly mezi pivem nechmeleným a pivu chmelenými různými odrůdami chmele [81]. Štěrbá et al. (2015) analyzoval pomocí GC-MS s extrakcí na fluidním loži linalool v různých odrůdách chmele [82].

### Iontově-výměnná chromatografie

Iontově-výměnná chromatografie je navržena speciálně pro separaci různě nabitých nebo ionizovatelných sloučenin. Mobilní fáze obsahuje vodný pufrový systém. Stacionární fáze obvykle sestává z inertní organické matrice chemicky derivované s ionizovatelnými funkčními skupinami (fixovanými ionty), které nesou opačně nabitý iont. Ionty, které existují ve stavu rovnováhy mezi mobilní fází a stacionární fází, se označují jako protiionty. To vede ke dvěma možným formátům – aniontové a kationtové výměně. Kationty se oddělí na katexové a anionty na anexové koloně [83]. Katexy jsou záporně nabitě výměníky s kyselými funkčními skupinami, které vážou kladně nabitě protiionty. Anexy jsou kladně nabitě výměníky s bazickými funkčními skupinami, které vážou záporně nabitě protiionty

a jsou určeny pro zadržování aniontů v koloně [84]. Separace je tedy založená na vazbě analytů na kladně nebo záporně nabitě skupiny, které jsou fixovány na stacionární fázi a které jsou v rovnováze s volnými protiionty v mobilní fázi v závislosti na velikosti náboje [83].

### 2.7.3 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je analytická technika, pomocí které jsou chemické látky identifikovány separací plyných iontů v elektrických a magnetických polích podle jejich poměrů hmotnosti a náboje ( $m/z$ ). Přístroje fungují na principu vychýlení pohybujících se iontů z přímé trajektorie elektrickým a magnetickým polem [85].

Hmotnostní spektrometry se skládají z pěti základních částí: systém vysokého vakua; systém manipulace se vzorky, jehož prostřednictvím lze zavést vzorek, který má být analyzován; iontový zdroj, ve kterém se tvoří nabitě částice charakteristické pro vzorek; analyzátor, ve kterém lze paprsek iontů rozdělit na jeho součásti podle poměru hmotnosti ku náboji; a detektor, pomocí kterého lze sbírat oddělené iontové paprsky [85].

Prvním krokem v hmotnostní spektrometrické analýze sloučenin je tvorba iontů sloučeniny v plynné fázi, nejčastěji elektronovou ionizací. Při použití této tvrdé ionizační techniky molekulární iont podléhá fragmentaci. Tím vznikají primární produktové ionty odvozené od iontu molekulárního, které také dále podléhají fragmentaci atd. Ionty jsou odděleny v analyzátoru hmotnostního spektrometru podle jejich poměru hmotnosti k náboji a jsou detekovány v poměru k jejich množství. Takto je vytvořeno hmotnostní spektrum molekuly. Výstup je ve formě grafu kvantity iontů v závislosti na poměru hmotnosti k náboji. Ionty poskytují informace týkající se povahy a struktury jejich prekurzorové molekuly. Ve spektru čisté sloučeniny se molekulární iont, pokud je přítomen, jeví na nejvyšší hodnotě  $m/z$  (následovaný ionty obsahujícími těžší izotopy) a udává informaci o molekulové hmotnosti sloučeniny [86].

### 2.7.4 Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES)

ICP-OES je jednou z metod optické emisní spektrometrie. Při dodání plazmové energie analyzovanému vzorku zvenčí, jsou excitovány jednotlivé atomy. Následně se excitované atomy vrátí do polohy s nízkou energií, čímž se uvolní energie ve formě emisních paprsků (paprsky spektra) o odpovídající vlnové délce charakteristické pro daný prvek. O jaký prvek se jedná se určuje na základě polohy fotonových paprsků ve spektru a obsah každého prvku se určuje na základě intenzity paprsků [87].

Pro generování plazmy je nejprve do cívky hořáku přiváděn plynný argon a do pracovní cívky na špičce trubice hořáku je přiveden vysokofrekvenční elektrický proud. Pomocí elektromagnetického pole vytvářeného v trubici hořáku vysokofrekvenčním proudem se argonový plyn ionizuje a vzniká plazma. Plazma má vysokou elektronovou hustotu a teplotu (10 000 K), tato energie se používá pro odpaření, atomizaci a excitaci. Vzorky roztoku se zavádějí do plazmy úzkou trubicí ve středu trubice hořáku [87].

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Laboratorní pomůcky a vybavení

##### 3.1.1 Seznam chemikálií

Tabulka 8: seznam chemikálií

Název	$M_r$ [g·mol <sup>-1</sup> ]	Čistota	Výrobce	Země původu	CAS
Isooktan	114,23	99,5 %	VWR chemicals	Polsko	540-84-1
Kyselina chlorovodíková	36,458	36 %	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7647-01-0
Ethanol	46,07	96 %	Lach-Ner, s.r.o.	Česká republika	64-17-5
Chlorid sodný	58,44	99,5 %	Lach-Ner, s.r.o.	Česká republika	7647-14-5
Lugolův roztok	-	-	-	-	-
Aceton	58,08	100 %	VWR chemicals	Francie	67-64-1
Kyselina sírová	98,079	95 %	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7664-93-9

Tabulka 9: standardy použité při stanovení prvků

Název	$M_r$ [g·mol <sup>-1</sup> ]	Čistota [g·dm <sup>-3</sup> ]	Výrobce	Země původu	CAS
Vápník	40,078	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-70-2
Hořčík	24,305	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7439-95-4
Železo	55,933	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7439-89-6
Baryum	137,327	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-39-3
Mangan	54,938	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7439-96-5

Tabulka 10: standardy použité při stanovení organických kyselin

Název	$M_r$ [g·mol <sup>-1</sup> ]	Čistota [g·dm <sup>-3</sup> ]	Výrobce	Země původu	CAS
kys. citronová	192,124	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	5949-29-1
kys. mléčná	90,080	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	50-21-5
kys. octová	60,052	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	64-19-7
kys. jantarová	118,090	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	110-15-6
kys. jablečná	134,087	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	617-48-1

### 3.1.2 Seznam pomůcek a přístrojů

- Předvážky
- Analytické váhy
- Válcový šrotovník
- Rmutovací a mladinová pánev
- Scezovací kád'
- Odměrný kbelík 25 l
- Refraktometr
- Pasteurovy pipety
- Automatické pipety a špičky Thermo Fischer
- Kádinky
- Skleněné pipety
- Odměrný válec
- Kvasné nádoby 8,5 l
- Skleněné láhve s uzávěry o objemu 0,7 a 1 l
- Chladicí zařízení s termostatem
- Ultrazvuk
- Třepačka
- Zkumavky
- Erlenmeyerovy baňky
- Vialky opatřené septem a víčkem
- Injekční stříkačky (10 ml)
- Mikrofiltry nylonové (velikost pórů 0,45  $\mu\text{m}$ )
- Vortex
- Centrifuga
- UV-VIS spektrofotometr Helios
- ICP-OES Horiba Scientific
- Plynový chromatograf s hmotnostním detektorem Thermo Fischer
- Ionový chromatograf Metrohm 850 professional
- Hustoměr – pивní analyzátor Anton Paar 4500 M
- pH metr

## 3.2 Technologie piva

Za účelem studia studeného chmelení byly připraveny dvě várky referenčního piva, u něhož bylo následně studené chmelení prováděno. Bylo připraveno spodně kvašené pivo plzeňského typu. Suroviny tvořil plzeňský slad ze sladovny Bernard v Rajhradě, během chmelovaru byly přidávány chmelové pelety odrůdy Sládek a mladina byla zakvašena kvasinkami Saflager W-34/70 (Fermentis). Pro studené chmelení byly použity dvě variety českého chmele – Kazbek a Uran (Chmelařský institut s. r. o.). V následujících podkapitolách bude technologie výroby piva popsána podrobněji.

### 3.2.1 Rmutování

Do rmutovací pánve bylo pomocí odměrné nádoby nadávkováno 100 l vody, která byla ohřáta na teplotu 38 °C. Válcovým šrotovníkem bylo do rmutovací pánve našrotováno 20 kg sladu a dílo dobře promícháno integrovaným míchadlem. Rmutování proběhlo vícekrokovým infuzním způsobem za podmínek uvedených v tabulce 11. Ke konci rmutování byla provedena jodová zkouška. Pokud byla jodová zkouška negativní, dílo bylo odrmutováno. Po odrmutování byl celý objem přečerpán do scezovací kádě. Rmut byl kypřidlem dobře promísen a následně ponechán cca 10 min. sedimentovat. Pomocí čerpadla probíhala recirkulace sladiny skrz filtrační koláč mláta s celkovou dobou scezování cca 60 min.

Tabulka 11: postup rmutování

	teplota [°C]	čas [min.]
<b>Kyselinotvorná teplota</b>	38	10
<b>Peptonizační teplota</b>	52	30
<b>Nižší cukrotvorná teplota</b>	62	30
<b>Vyšší cukrotvorná teplota</b>	72	30
<b>Odrmutovací teplota</b>	78	10

### 3.2.2 Chmelovar

Sladina byla ze scezovací kádě přečerpána do mladinové pánve a zahřívána k varu. V daných časových intervalech uvedených tabulce 12 byly přidávány chmelové pelety odrůdy Sládek s obsahem  $\alpha$ -hořkých kyselin 7,2 %. Celková hořkost výsledného produktu byla vypočítána na 30 IBU. Celková doba chmelovaru byla 90 minut. Refraktometricky bylo změřeno EPM. Výsledný extrakt původní mladiny byl 12,5 %.

Tabulka 12: postup chmelovaru

odrůda	čas [min]	m [g]
Sládek	90	70
Sládek	45	65

Po ukončení chmelovaru byla mladina postupně zchlazena za využití dvouplášťové mladinové pánve chlazené studenou vodou (cca 10 °C). Chlazení probíhalo cca 90 min. až na zákvasnou teplotu. Následně byla mladina přečerpána do označených kvasných nádob, přičemž každý vzorek měl objem 5 l.

### **3.2.3 Kvašení a zrání**

Zchlazená mladina v kvasných nádobách byla při teplotě 25 °C zaočkována 4,6 g sušených kvasnic. Zakvašená mladina, v kvasných nádobách opatřených víkem a kvasnou zátkou, byla uložena do chladicího zařízení s termostatem. Teplota kvašení byla 12–14 °C. Během fermentace byla průběžně kontrolována a zaznamenávána hodnota EPM. Celková doba kvašení byla 10 dní. Ukazatelem konce hlavního kvašení byla propadlá deka a už pouze pomalu klesající hodnota EPM. Při hodnotě EPM 6–7 % bylo provedeno zchlazení na teplotu 2 °C nazývané cold crashing. To se provádí za účelem snížení aktivity kvasinek, které pak lépe sedimentují a vyčeří mladé pivo.

Mladé pivo bylo stočeno do skleněných lahví o objemu 0,7 a 1 l. Pro aktivaci sekundárního kvašení byla použita glukóza v množství 6 g·dm<sup>-3</sup>. Sekundární kvašení probíhalo první dva dny při teplotě 15 °C pro zvýšení aktivity kvasinek. Následně byla teplota snížena na 2 °C a probíhalo zrání po dobu 10 dnů.

### **3.2.4 Studené chmelení**

Studené chmelení probíhalo ve fázi hlavního kvašení. Byly použity české aromatické odrůdy chmele Kazbek a nově vyšlechtěná odrůda Uran. Byly naváženy chmelové pelety v množství 3 a 6 g·dm<sup>-3</sup>. Chmelové pelety byly vsypány do kvasných nádob a obsah byl jemně promíchán. Studené chmelení probíhalo po dobu 3, 6 a 9 dní s dávkami chmele 3 a 6 g·dm<sup>-3</sup> za použití dvou odrůd chmele. Tímto způsobem vzniklo 24 vzorků, přičemž 2 byly vždy paralelní. Jeden vzorek byl referenční, který nebyl chmelen za studena.

### 3.3 Seznam vzorků

Tabulka 13: seznam analyzovaných vzorků piva a jejich označení

vzorek	odrůda	chmel [ $\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]	čas chmelení [dní]
rf	reference	-	-
k36	Kazbek	3	6
k66	Kazbek	6	6
k39	Kazbek	3	9
k69	Kazbek	6	9
u36	Uran	3	6
u66	Uran	6	6
u39	Uran	3	9
u69	Uran	6	9
k33	Kazbek	3	3
k63	Kazbek	6	3
u33	Uran	3	3
u63	Uran	6	3

### 3.4 Instrumentální metody stanovení látek v pivu

Pro analýzu parametrů vzorků piva bylo využito několik instrumentálních technik. Celkové hořké látky byly stanovovány pomocí UV-VIS spektrofotometrie, organické kyseliny separovány iontovou chromatografií s vodivostním detektorem. Prvková analýza byla provedena technikou ICP-OES a stanovení těkavých látek plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem s předúpravou vzorku mikroextrakcí na pevné fázi (SPME). Základní charakteristiky piva byly prováděny na pivním analyzátoru – hustoměru – na externím pracovišti. Uvedené metody budou níže podrobně popsány.

#### 3.4.1 Metoda stanovení celkové hořkosti UV-VIS

Celková hořkost vzorků piva byla stanovena dle metody EBC 9.8. Všechny vzorky byly nejdříve protřepávány 10 min. na třepačce při  $160 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$ . Následně byly odplyňovány v ultrazvuku cca 30 min. Do odměrné baňky byl připraven roztok HCl o koncentraci  $3 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Do plastové centrifugační zkumavky o objemu 50 ml bylo napipetováno 10 ml odplyněného vzorku, 1 ml  $3 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  HCl a 20 ml isooktanu. Směs byla protřepána na vortexu při rychlosti  $2300 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$ . Vzniklá emulze byla centrifugována 5 min. při  $5000 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$ . Horní organická fáze byla pipetována do křemenné kyvety a byla měřena absorbance při 275 nm. Absorbance byla zaznamenána a podle níže uvedeného vzorce přepočítána na jednotky hořkosti IBU.

$$\text{Hořkost IBU} = A_{275} \cdot 50$$

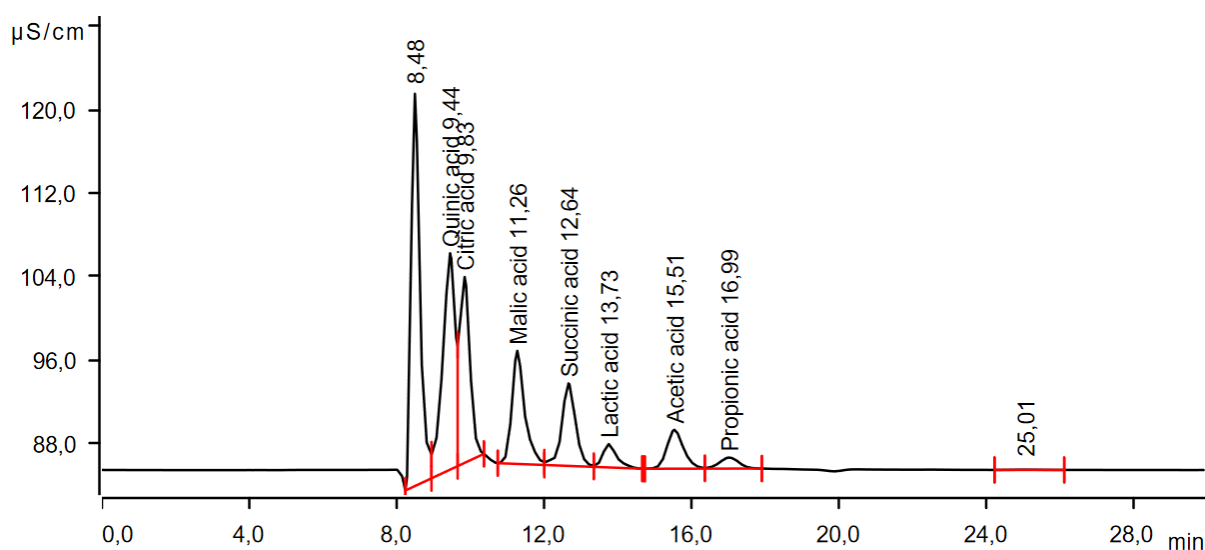
### 3.4.2 Metoda stanovení organických kyselin pomocí IC

Všechny vzorky byly protřepávány 10 min. na třepačce při 160 ot·min<sup>-1</sup>. Následně byly odplyňovány v ultrazvuku cca 30 min. Odplyněné vzorky byly zfiltrány pomocí nylonových mikrofiltrů s velikostí pórů 0,45 μm. Do 10 ml plastové zkumavky bylo pipetováno 5 ml vzorku a 5 ml destilované vody. Připravené vzorky byly měřeny na iontovém chromatografu a výsledné plochy píků kvantifikovány na základě kalibrační řady. Nastavení přístroje je uvedeno v tabulce 14. Měřenými analyty byla kyselina citronová, kyselina jablečná, kyselina octová, kyselina jantarová a kyselina mléčná.

Před analýzou byl připraven eluent s koncentrací H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mmol·dm<sup>-3</sup> v 15% acetonu. Do odměrných baněk byla připravena kalibrační řada standardů. Retenční čas kyseliny citronové byl 9,83 min., kyseliny jablečné 11,26 min., kyseliny jantarové 12,64 min., kyseliny mléčné 13,73 min. a kyseliny octové 15,51 min. Na obrázku 14 je ukázkový chromatogram vzorku.

Tabulka 14: podmínky měření IC

<b>Přístroj</b>	<b>Metrohm 850 Professional IC (Švýcarsko)</b>
<b>Objem nástřiku</b>	20 μl
<b>Průtok MF</b>	0,5 ml·min <sup>-1</sup>
<b>Složení MF</b>	0,5 mmol·dm <sup>-3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> v 15% acetonu
<b>Tlak</b>	5,2 MPa
<b>Teplota</b>	35 °C
<b>Kolona</b>	Metrosep Organic Acids 250/7,8
<b>Detektor</b>	Vodivostní detektor



Obrázek 14: Chromatogram vzorku K69



### 3.4.3 Metoda stanovení prvků pomocí ICP-OES

Všechny vzorky byly protřepávány 10 min. na třepačce při 160 ot·min<sup>-1</sup>. Následně byly odplyňovány v ultrazvuku cca 30 min. Byla připravena zvlášť řada vzorků pro stanovení makroprvků (ředěna 25x) a zvlášť řada vzorků pro stanovení mikroprvků (ředěna 2x). Připravené roztoky byly měřeny metodou ICP-OES, podmínky měření jsou uvedeny v tabulce 15. Výsledné koncentrace byly vypočteny dle kalibrační křivky. Z makroprvků byly stanovovány vápník a hořčík, z mikroprvků železo, baryum a mangan.

Kalibrační řada byla připravena do odměrných baněk ředěním standardních roztoků prvků o koncentraci 1 000 a 10 000 mg·dm<sup>-3</sup>. Kalibrační roztoky makroprvků byly připraveny o koncentraci 25 a 50 mg·dm<sup>-3</sup>, kalibrační roztoky mikroprvků o koncentraci 0,5 a 1 mg·dm<sup>-3</sup>.

Tabulka 15: podmínky měření ICP-OES

	Makroprvky	Mikroprvky
Výkon [w]	1100	1300
Otáčky pumpy [ot·min <sup>-1</sup> ]	15	16
Průtok plazmového plynu [dm <sup>3</sup> ·min <sup>-1</sup> ]	14	14
Průtok zmlžovače [dm <sup>3</sup> ·min <sup>-1</sup> ]	0,83	0,82
Tlak ve zmlžovači [bar]	3,01	3,01
Detektor	fotonásobič	

Tabulka 16: vlnové délky použité pro prvkovou analýzu

Prvek	Vlnová délka [nm]
Vápník	422,673
Hořčík	285,213
Baryum	493,409
Železo	259,94
Mangan	257,61

### 3.4.4 Metoda stanovení těkavých látek pomocí SPME-GC-MS

Do 10ml vialky bylo pipetováno 5 ml vzorku piva a přidáno 0,6 g NaCl. Vialka byla dobře uzavřena víčkem se septem. Těkavé sloučeniny v pivu byly extrahovány mikroextrakcí na pevnou fázi (SPME) a analyzovány za použití plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Podmínky analýzy jsou uvedeny v tabulce 17. Extrakce těkavých látek probíhala v headspace prostoru vialky pomocí SPME vlákna po dobu 30 min. při teplotě 40 °C a rychlosti míchání 400 ot·min<sup>-1</sup>. Po každé extrakci bylo SPME vlákno vloženo do GC

injektoru a těkavé látky tepelně desorbovány. Nástřiky byly prováděny v režimu splitless při teplotě 250 °C, vlákno SPME bylo desorbováno po dobu 2 min. v injektoru. GC pec měla počáteční teplotu 40 °C, která byla udržována po dobu 2,5 min. a zvýšena na 120 °C při gradientu 2,5 °C·min<sup>-1</sup>. Poté byla teplota zvýšena na 200 °C v 5 minutách, a nakonec zvýšena na 250 °C s gradientem 15 °C·min<sup>-1</sup>. Analyty myrcen, α-humulen a geraniol byly kvantifikovány na základě kalibrační přímky.

Byly připraveny kalibrační roztoky myrcenu, α-humulenu a geraniolu. Ze standardů o čistotě 100 % byly do odměrných baněk (100 ml) naředěny kalibrační roztoky. U myrcenu o koncentracích 0,5; 1,0; 10; 100 a 200 µg·dm<sup>-3</sup>. Pro α-humulen a geraniol byly připraveny roztoky o koncentraci 0,5; 1,0; 10 a 100 µg·dm<sup>-3</sup>.

Tabulka 17: podmínky analýzy GC–MS

<b>Přístroj</b>	<b>Trace<sup>TM</sup>1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)</b>
<b>SPME vlákno</b>	DVB/CAR/PDMS 50/30 µm
<b>Průtok MF</b>	1 ml·min <sup>-1</sup>
<b>Nosný plyn</b>	helium
<b>Kolona</b>	TG-WaxMS (30 m × 0,25 mm × 0,5 µm)
<b>Detektor</b>	Hmotnostní detektor ISQ <sup>TM</sup> LT Single Quadropole (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)
<b>Nastavení MS</b>	70 eV, teplota iontového zdroje: 200 °C, skenovací rozsah m/z: 30–370 amu, rychlost skenování: 0,2 s

### 3.4.5 Metoda stanovení základních charakteristik piva

Vzorky piva byly odplyněny na třepače při 160 ot·min<sup>-1</sup> po dobu 20 min. Následně byly vzorky přefiltrovány přes skládaný filtr, přičemž byla přidána při filtraci křemelina. Vzorky byly nadávkovány do plastových kyvet o objemu 50 ml a umístěny do autosampleru. Měření proběhlo na hustoměru Anton Paar 4500 M, jehož princip byl popsán v kapitole 2.7.1. Výslednými naměřenými hodnotami jsou zdánlivý extrakt, původní extrakt, hmotnostní a objemový obsah ethanolu a skutečný extrakt.

**Zdánlivý extrakt** – extrakt piva po odstranění CO<sub>2</sub> v hm. %

**Skutečný extrakt** – nezkašený extrakt po oddestilování alkoholu a doplněním vzorku vodou na původní objem

**Původní extrakt** – procentový obsah extraktu před zakvašením v hm. % (stupňovitost piva)

### 3.4.6 Metoda stanovení barvy a pH piva

Vzorky byly odplyněny na třepačce při  $160 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  po dobu 20 min. Dále byly vzorky piva přefiltrovány přes skládaný filtr s přídavkem křemeliny. Vzorek byl proměřen na UV-VIS spektrofotometru v 1 cm kyvetě při vlnové délce 430 nm. Přístroj interpretoval výsledek v jednotkách EBC, které vychází z níže uvedeného vztahu.

$$\text{barva EBC} = A_{430} \cdot 25$$

Hodnoty pH byly měřeny pomocí elektrody pH metru, přičemž vzorky byly pouze odplyněny nikoli filtrovány.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUSE

Předmětem práce bylo studium vlivu studeného chmelení na různé analytické parametry piva. Studené chmelení bylo prováděno dvěma českými odrůdami chmele v různých dávkách s různým časem extrakce.

### 4.1 Vliv studeného chmelení na základní charakteristiky piva

V tabulce 18 jsou uvedeny výsledky stanovení základních charakteristik piva. Jedná se o průměrné hodnoty vycházející z dvou paralelních měření. Vzorky se v uvedených charakteristikách liší jak mezi sebou, tak od reference. Dávka chmele však neměla významný vliv na žádný z uvedených parametrů piva. U vzorků U39–U63 (dle tabulky 18) lze pozorovat vyšší hodnoty zdánlivého extraktu než u vzorků K36–U66. Spíše, než o vliv chmelení se může jednat o odchylky při varném a kvasném procesu, jelikož se jedná o dvě různé várky. Zdánlivý extrakt negativně koreluje s časem studeného chmelení, zatímco u množství ethanolu se ukazuje signifikantní nárůst vzhledem k době kontaktu chmele s mladinou.

Tabulka 18: výsledky stanovení základních charakteristik piva

vzorek	zdánlivý extrakt [%]	původní extrakt [%]	Ethanol hm. [%]	Ethanol obj. [%]	skutečný extrakt [%]
<b>K36</b>	2,97	11,82	3,68	4,71	4,68
<b>K66</b>	2,69	12,67	4,17	5,33	4,61
<b>K39</b>	2,72	12,59	4,12	5,27	4,62
<b>K69</b>	2,40	12,70	4,31	5,50	4,38
<b>U36</b>	3,19	12,65	3,95	5,06	5,01
<b>U66</b>	2,83	12,68	4,12	5,26	4,73
<b>U39</b>	3,18	12,81	4,02	5,15	5,04
<b>U69</b>	2,84	12,89	4,20	5,38	4,77
<b>K33</b>	3,62	12,66	3,77	4,84	5,37
<b>K63</b>	4,24	12,73	3,55	4,56	5,89
<b>U33</b>	4,31	12,62	3,47	4,46	5,92
<b>U63</b>	4,62	12,71	3,38	4,35	6,18
<b>rf</b>	4,89	12,77	3,29	4,24	6,42

Mírný nárůst hodnoty ethanolu v závislosti na studeném chmelení může být způsoben extrakcí malého množství zkvasitelných cukrů z chmelového materiálu, což může zároveň podpořit nebo znovu zahájit fermentaci [74]. Chmelový materiál obsahuje přibližně 2 % hm. monosacharidů, které by mohly být potenciálně extrahovány do piva a fermentovány

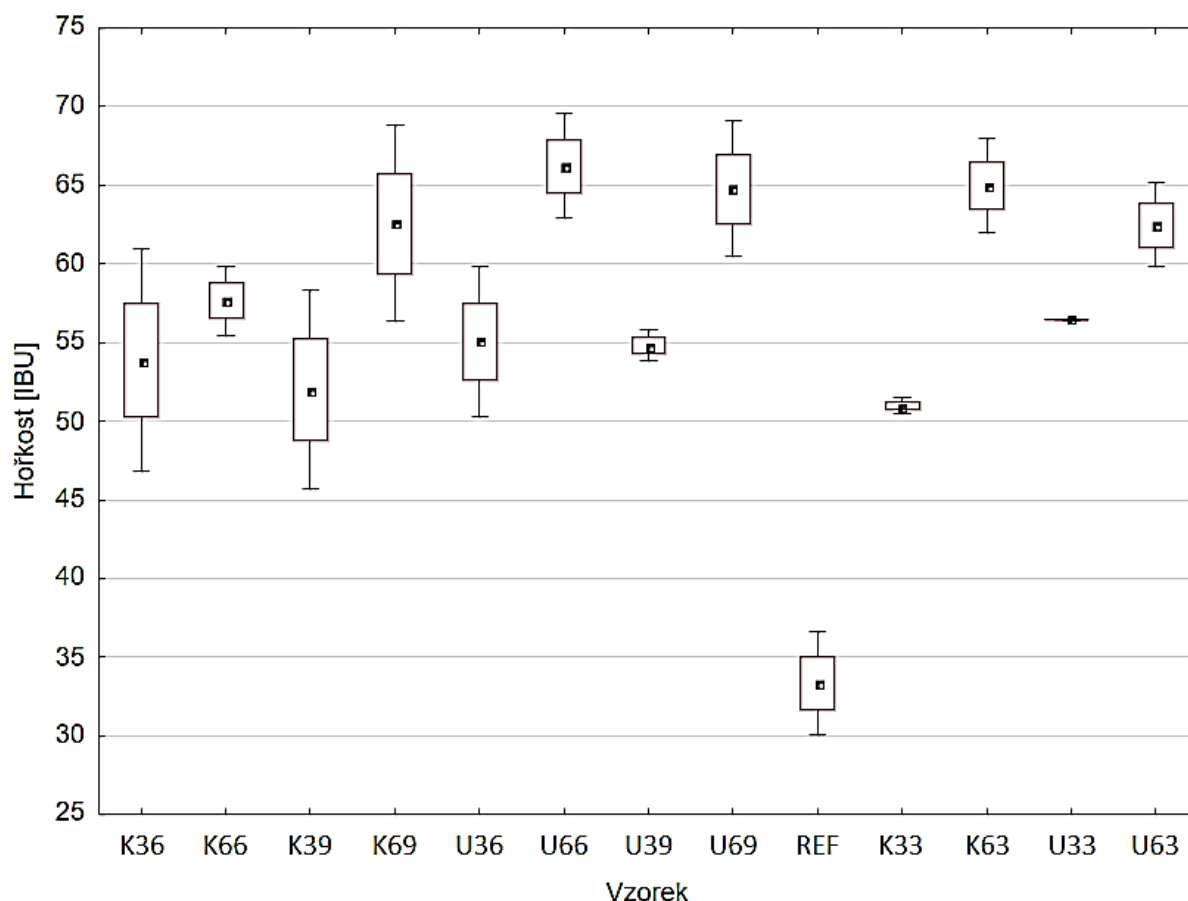
kvasinkami [90]. Oladokun et al. (2017) při studeném chmelení za teplot 4 a 19 °C pozorovali při vyšší teplotě nárůst obsahu ethanolu o 7 % rel. Vliv měla také dávka chmele, kdy při vyšší dávce docházelo k vyššímu nárůstu [90]. Zahraniční studie rovněž naznačují, že tento jev, který sládcí nazývají jako „hop-creep“, může být během studeného chmelení způsoben účinkem chmelových enzymů při štěpení nefermentovatelných cukrů na fermentovatelné, které kvasinky metabolizují [90, 91]. Tato skutečnost by odpovídala nelineárnímu vztahu mezi zdánlivým extraktem a délkou studeného chmelení.

Hodnoty původního extraktu se až na vzorek K36 statisticky významně neliší. Odchyšky v hodnotách uvedených základních charakteristik mohly vzniknout během varního a kvasného procesu, jelikož se každý vzorek nacházel ve zvláštní kvasné nádobě. Např. u vzorku K36 mohla být nižší hodnota původního extraktu způsobena mírným zředěním zbytkovou vodou v potrubním systému varny. Hodnota skutečného extraktu vykazovala střední korelaci (0,547) se senzoricou plností piva, což by odpovídalo předpokladu, že piva s vyšším zbytkovým extraktem mají plnější chuť.

#### **4.2 Vliv studeného chmelení na hořkost piva**

Z obrázku 15 je patrné, že na hořkost piv měla vliv především dávka chmele. Všechny vzorky se z hlediska hořkosti statisticky významně liší od vzorku referenčního, přičemž hořkost vykazuje silnou korelaci (0,825) s dávkou chmele. U vzorků s navázkou 6 g·dm<sup>3</sup> byla hořkost ve všech případech vyšší než u vzorků s navázkou 3 g·dm<sup>-3</sup>. Následkem studeného chmelení je pozorován významný nárůst hořkosti o 70–100 %. Na základě statistické analýzy a z obrázku 15 také lze usuzovat, že z hlediska doby chmelení se hořkost statisticky významně nemění. To ovšem může platit pouze pro testované hodnoty 3; 6 a 9 dní. Přestože že mají použití odrůdy Kazbek a Uran rozdílný obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin, na hořkost při studeném chmelení to nemělo vliv z důvodů popsaných níže.

Během dry hoppingu se do piva extrahují  $\alpha$ -hořké kyseliny, polyfenoly a humolinony, což je hlavní příčinou zvyšování hořkosti. Zvýšení hořkosti studeným chmelením není způsobeno izomery  $\alpha$ -hořkých kyselin, které jsou hlavním zdrojem hořkosti u běžně chmeleného piva.  $\beta$ -Hořké kyseliny se neextrahují z důvodu velmi nízké rozpustnosti [88]. Parkin (2014) ve své studii uvádí, že zvýšení hořkosti při studeném chmelení mohou způsobovat i hulupony. Zároveň ve varních zkouškách prokázal významný nárůst obsahu  $\alpha$ -hořkých kyselin, humulinonů a polyfenů, které byly příčinou zvýšení hodnoty IBU. Vzorky byly porovnávány proti nechmelené referenci [89]. Avšak Podeszwa (2016) uvádí, že z celkového množství  $\alpha$ -hořkých kyselin se do piva extrahuje pouze 4–5 %, a nepodílí se tak významně na zvyšování hořkosti [73]. Během studeného chmelení dvěma různými odrůdami chmele Oladokun (2017) prokázal signifikantní nárůst  $\alpha$ -hořkých kyselin pouze při použití jedné. Přičemž dodává, že koncentrace  $\alpha$ -hořkých kyselin není dost vysoká, aby ovlivňovala hořkost, a největší příspěvek hořkosti přisuzuje humulinonům [90]. Dle výsledků studie měl čas chmelení vliv pouze v rozmezí 6–24 hodin, delším časem extrakce se již hořkost dále nezvyšovala, případně měla spíše opačnou tendenci [88]. Tato skutečnost by odpovídala výsledkům práce uvedených na obrázku 15.



Obrázek 15: boxové grafy hořkosti vzorků v jednotkách IBU

### 4.3 Vliv studeného chmelení na barvu a pH piva

Barva byla měřena pomocí spektrometru v jednotkách EBC, výsledky jsou uvedeny v tabulce 19. Jednotky vychází ze stupnice standardních skel, která je kompromisem mezi poměry žluté a červené barvy. Tyto skleněné standardy stupnice EBC jsou standardizovány spektrofotometricky [92].

Vzorky se v hodnotách pH a barvy od reference statisticky významně neliší. Dávka chmele při studeném chmelení nevykazovala signifikantní korelaci s barvou jednotlivých vzorků. Na analýzy rozptylu však byly definovány signifikantní rozdíly mezi jednotlivými vzorky ( $p=0,0107$ ). To může být způsobeno různou mírou zákalu v jednotlivých vzorcích i jednotlivých lahvích daného vzorku. Čejka et al. (1983) uvádí, že zákal o síle 2,15 EBC vyvolává zvýšení barvy o 1,0 EBC [92]. Byla nalezena negativní korelace mezi barvou piva a délkou studeného chmelení. Chmelový materiál, který je v kontaktu s mladinou delší časový úsek pravděpodobně lépe sedimentoval, což přispělo k vyšší čirosti a tím i nižším hodnotám barvy u těchto vzorků. Barvu piva tvoří především melanoidy, které vznikají reakcí sacharidů působením tepla. Jedná se o produkty Maillardovy reakce. Polyfenolické a flavonoidní látky se při reakci s proteiny podílí na tvorbě zákalu [2].

Tabulka 19: výsledky stanovení barvy a pH

vzorek	barva [EBC]	pH
<b>K36</b>	17,23	4,96
<b>K66</b>	16,42	4,91
<b>K39</b>	17,65	4,85
<b>K69</b>	20,97	4,89
<b>U36</b>	19,25	4,82
<b>U66</b>	20,59	4,82
<b>U39</b>	16,53	4,80
<b>U69</b>	17,05	4,83
<b>K33</b>	20,17	4,88
<b>K63</b>	24,00	4,85
<b>U33</b>	20,94	4,78
<b>U63</b>	24,83	4,72
<b>rf</b>	18,94	4,94

Naměřené hodnoty pH jsou uvedeny v tabulce 19. Nebyl prokázán signifikantní vliv studeného chmelení na pH piva oproti referenci. Dle výsledků Oladukon et al. (2017) však vyplývá, že studené chmelení ovlivnilo pH směrem k vyšším hodnotám. Větší změny pH bylo dosaženo při studeném chmelení za nižších teplot (4 °C), což dokazuje vliv teploty dry hoppingu na tento parametr [90]. LaFontaine (2018) pozoroval lineární zvýšení hodnoty pH o 0,14 na každých 386 g chmele na hl piva s tím, že jev není závislý na odrůdě chmele ani stylu piva [72]. Bylo prokázáno, že zvýšení pH v důsledku studeného chmelení podporuje stabilitu chuti a aroma piva během stárnutí, zároveň dochází ke snížení vnímání chuti trans-2-nonenalu a methionalu [93]. Vyšší pH může dopomoci stabilizaci iso- $\alpha$ -hořkých kyselin během skladování piva [94]. Hodnota pH má také vliv na extrakci silic během dry-hoppingu. Při nižším pH jsou silice více hydrofobní a dochází k nižšímu přechodu do piva, zatímco díky snadnějšímu přechodu lipidovou dvojvrstvou jsou silice lépe absorbovány kvasinkami [74].

#### 4.4 Vliv studeného chmelení na koncentraci prvků

V tabulce 20 jsou uvedeny koncentrace vybraných mikroprvků a makroprvků v jednotlivých vzorcích piva. Studeně chmelené vzorky se v obsahu železa a hořčiku statisticky významně liší od nechmeleného referenčního vzorku. Z hlediska koncentrace barya, manganu a vápníku nebyla u vzorků pozorována změna oproti referenci. Byla nalezena pozitivní korelace mezi koncentrací hořčiku, železa, manganu a dávkou chmele použitou pro chmelení za studena. Dle výsledků neměla délka chmelení vliv na koncentraci vybraných prvků. S ohledem na různé vlivy kovů na zdraví nebo onemocnění, jejich nutriční hodnotu a dopad na kvalitu a sensorické vlastnosti piva, jsou přesně regulovány celkové povolené obsahové hodnoty kovů v pivu [98].

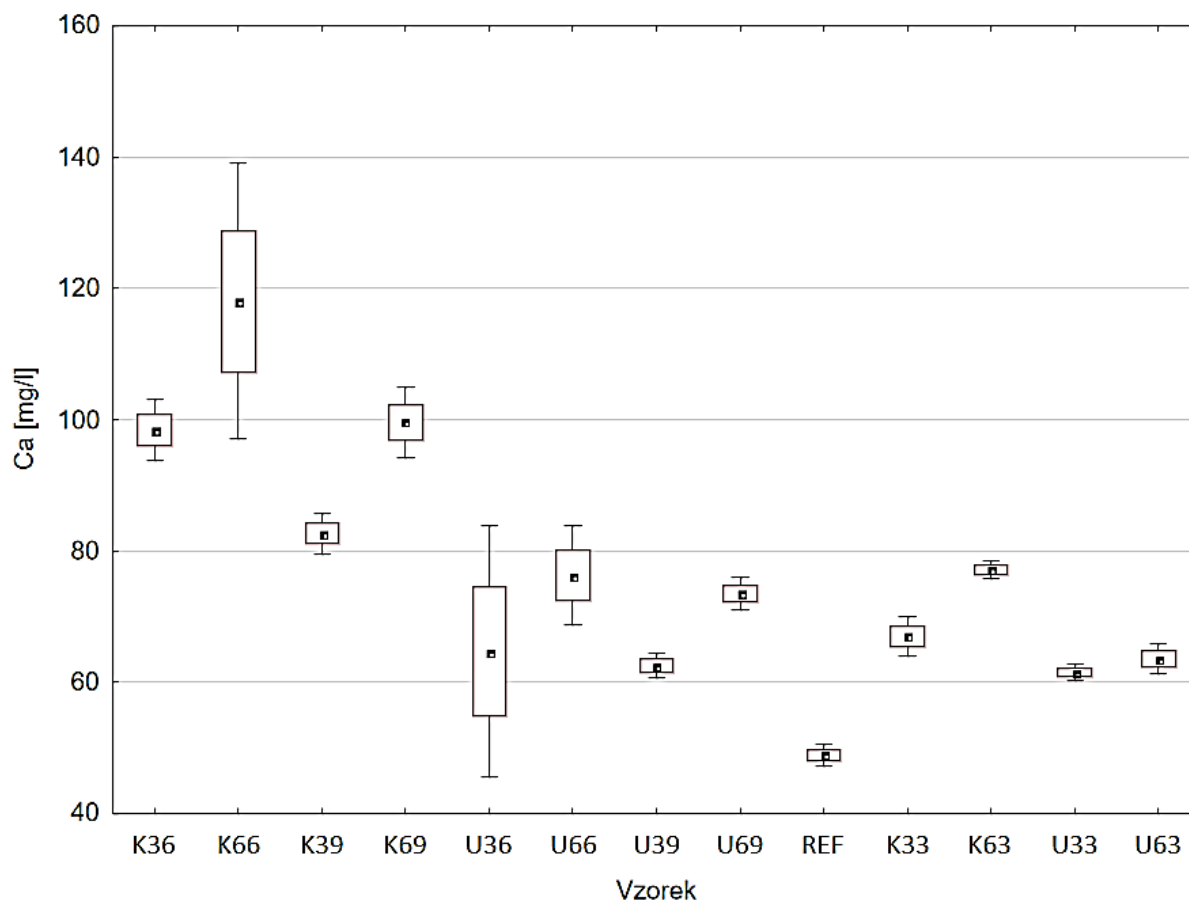
Tabulka 20: výsledky stanovení koncentrace prvků

vzorek	Ca [mg/l]	Mg [mg/l]	Ba [mg/l]	Fe [mg/l]	Mn [mg/l]
<b>K36</b>	98,4±2,3	193,2±21	0,028±0,0000	0,605±0,011	2,00±0,2
<b>K66</b>	118,0±10	222,7±14	0,030±0,0016	0,619±0,011	2,97±0,8
<b>K39</b>	82,6±1,6	183,1±3	0,028±0,0006	0,576±0,018	1,85±0,1
<b>K69</b>	99,5±2,7	188,2±3	0,027±0,0008	0,594±0,004	2,25±0,1
<b>U36</b>	64,7±9,7	177,9±27	0,027±0,0005	0,586±0,002	1,75±0,1
<b>U66</b>	76,3±3,8	211,6±13	0,027±0,0001	0,611±0,009	2,32±0,05
<b>U39</b>	62,5±0,9	190,9±1,5	0,021±0,0010	0,623±0,004	2,09±0,3
<b>U69</b>	73,5±1,2	197,4±0,2	0,021±0,0000	0,661±0,002	2,71±0,06
<b>K33</b>	67,0±1,5	191,0±0,2	0,021±0,0000	0,600±0,005	1,86±0,01
<b>K63</b>	77,1±0,7	196,9±0,4	0,022±0,0002	0,636±0,008	2,69±0,4
<b>U33</b>	61,5±0,6	190,3±0,7	0,020±0,0002	0,600±0,002	1,81±0,04
<b>U63</b>	63,6±1,2	198,9±2,3	0,020±0,00014	0,635±0,008	2,93±0,6
<b>rf</b>	72,5±1,2	113,8±2,1	0,025±0,0004	0,498±0,001	1,93±0,1

#### Vápník

Analýza rozptylu prokázala u vápníku signifikantní rozdíl mezi chmelenými vzorky a referenčním pivem. Byly pozorovány také rozdíly v koncentracích mezi jednotlivými vzorky. Z boxového grafu na obrázku 16 lze usuzovat na závislost dávky chmele na koncentraci vápníku. Vzorky, které byly chmeleny dávkou chmele  $6 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  obsahují více vápníku než při použití menší dávky  $3 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Při použití vyšší dávky chmele lze pozorovat významný rozdíl v koncentraci vápníku oproti referenčnímu pivu. Zvýšení koncentrace lze vysvětlit extrakcí minerálních látek z chmelového materiálu do mladiny.



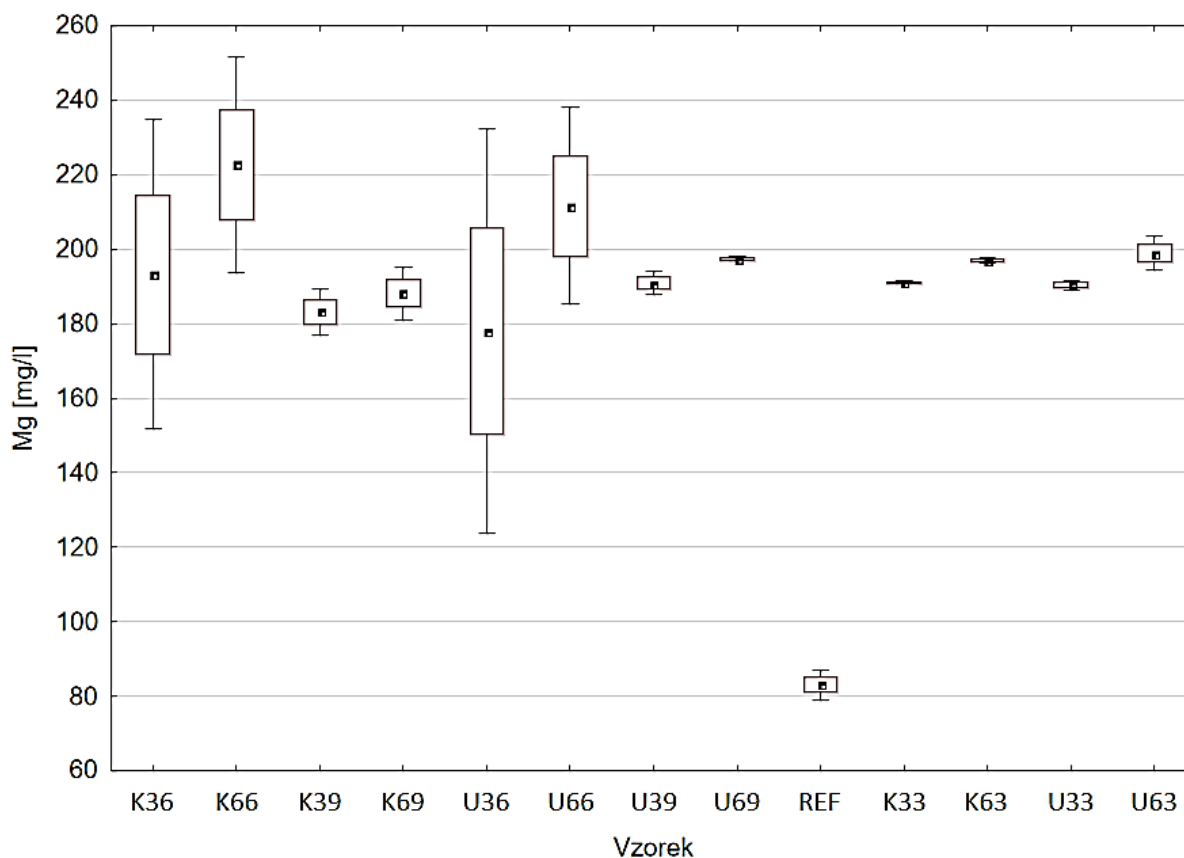


Obrázek 16: boxový graf koncentrace vápníku

Dle Montanari et al. (2009) vápník prokazatelně zvyšuje pH piva. Uvádí, že piva vyrobená z odvápněné vody mají pH až o 0,5 nižší [95]. Tento jev byl potvrzen i u studeně chmelených vzorků, kdy koncentrace vápníku pozitivně koreluje (0,693) s hodnotou pH. Obsah vápníku má příznivý účinek na srážení proteinů mladiny jak při rmutování, tak při vaření. Zároveň má pozitivní účinek na aktivitu amylázy, a tím i na fermentovatelnost a extrakt mladiny. Vápenaté ionty chrání amylázu před tepelnou inhibicí [95]. Vápenaté ionty jsou také důležité pro flokulaci kvasinek, protože aktivují proteinovou složku nezbytnou pro schopnost tvorby vloček [96]. Vápník extrahuje jemné hořké látky chmele a snižuje barvu mladiny. Dle literatury se obsah vápníku v pivu pohybuje od 7 do 300 mg·dm<sup>-3</sup>, nejnižší koncentrace byly pozorovány u piv plzeňského typu, nejvyšší u typu dortmundského [95]. Obsah vápníku je závislý především na použité varní vodě. Šemík (2002) uvádí, že z hlediska sedimentace kvasinek je optimální koncentrace vápníku ve vodě 40–80 mg·dm<sup>-3</sup>. Vyšší koncentrace mohou zapříčinit rychlejší sedimentaci, a tím dřívější zastavení kvasného procesu. Zároveň vyšší koncentrace způsobují dřívější vysrážení oxalátů, již během výrobního procesu, čímž se minimalizuje vznik oxalátových zákalů v hotovém pivu [97]. Za účelem zvýšení koncentrace vápníku, a tím minimalizace oxalátových zákalů, pivovary běžně přidávají síran vápenatý do sladiny během rmutování nebo chmelovaru [95].

## Hořčík

U studeně chmelených piv byl pozorován signifikantní nárůst koncentrace hořčíku oproti referenčnímu vzorku. Z boxových grafů na obrázku 17 lze pozorovat závislost koncentrace hořčíku na dávce chmele přidaného při chmelení za studena. Z vyšší dávky chmele se do mladiny extrahuje vyšší množství minerálních látek. Z hlediska doby studeného chmelení nebyly v koncentraci hořčíku pozorovány významné rozdíly. Tedy extrakce hořčíku a jeho sloučenin z chmele při době chmelení delší tří dní již probíhá jen v zanedbatelné míře.



Obrázek 17: boxový graf koncentrace hořčíku

Obsah hořčíku v pivu se dle literatury běžně pohybuje v rozmezí  $0,7\text{--}270\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  [95, 98, 100]. Hlavním zdrojem hořčíku v pivu je slad, který běžně dodává okolo  $130\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  [99]. Vzorky analyzované v této práci se řadily mezi piva s vyšším obsahem hořčíku, kdy se koncentrace pohybovala v rozmezí  $177\text{--}211\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Vliv hořčíku na pH není tak velký jako u vápníku. Největší roli má hořčík během fermentace v metabolismu kvasinek. Je vyžadován kvasinkami jako kofaktor pro více než 300 enzymů, včetně hexokináz, fosfofruktokinázy, fosfoglycerátkinázy, pyruvátkinázy a enolázy v glykolýze. Ty jsou pro proces kvašení nepostradatelné. Buňky kvasinek aktivně přijímají  $\text{Mg}^{2+}$ , přičemž vylučují  $\text{Ca}^{2+}$ . Hořečnaté ionty fungují intracelulárně, zatímco vápenaté působí hlavně extracelulárně a ovlivňují flokulaci kvasinek [98]. Hořčík také stabilizuje biologické membrány a je známo, že chrání kvasinkové buňky před stresem způsobeným ethanolom, teplotou a osmotickým tlakem [101]. Bylo prokázáno, že produkce ethanolu i spotřeba glukózy je závislá na dostupnosti hořečnatých iontů. Zároveň dochází i k rychlejšímu růstu

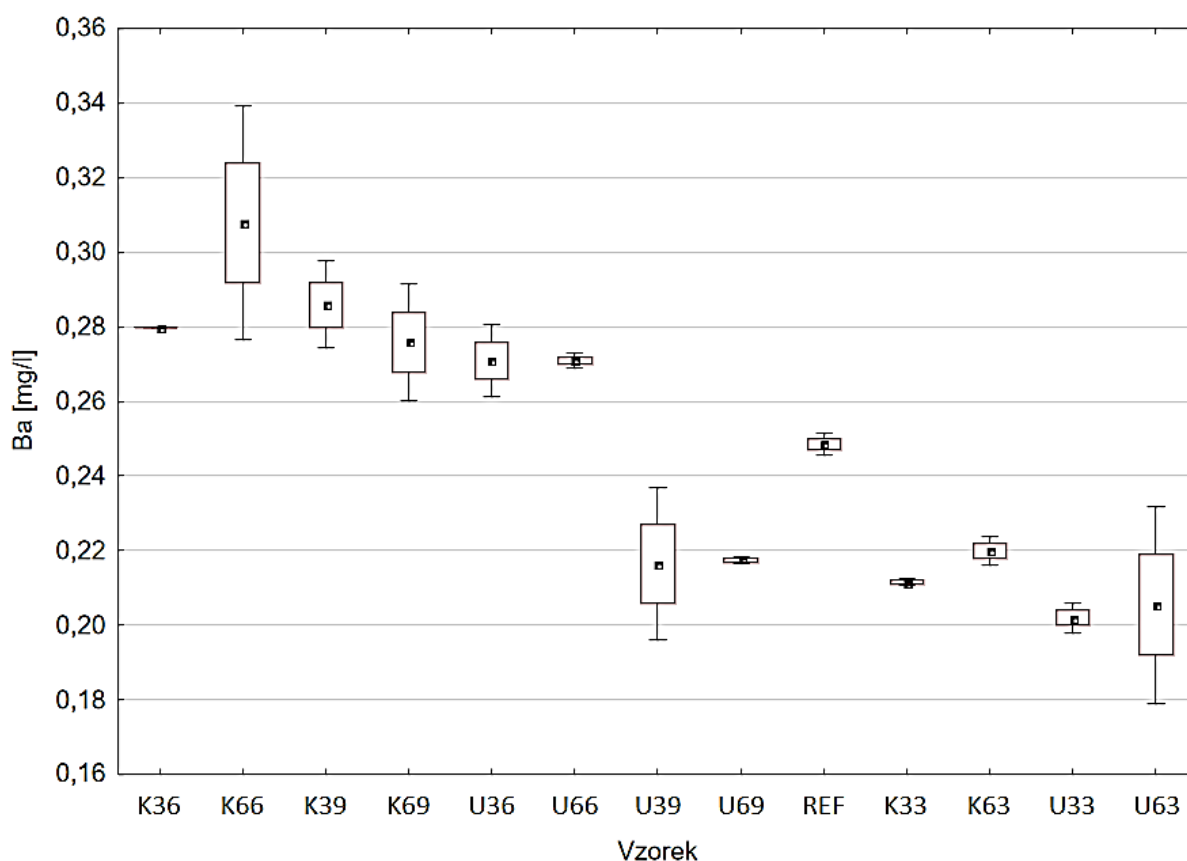
kvasinek. Kvašením piva koncentrace hořčičku klesá, protože je část akumulována kvasnicemi, které jsou od mladého piva po fermentaci separovány [102].

Korelační analýza ukázala, že vzorky s vyšší koncentrací hořčičku zároveň vykazovaly vyšší hořkost. Dle Pohl (2009) vyšší koncentrace hořčičku než  $30 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  přispívají ke zvýšení hořkosti a kyselé chuti piva [98].

## Baryum

Jak je z obrázku 18 patrné, koncentrace barya nevykazovala žádnou závislost na použité dávce chmele ani na délce studeného chmelení. Rovněž nebyl prokázán signifikantní rozdíl v koncentraci barya mezi chmelenými vzorky a nechmeleným referenčním pivem.

Koncentrace barya ve studeně chmelených vzorcích se pohybovala od  $0,020$  do  $0,031 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Tyto hodnoty souhlasí s literaturou udávaným rozpětím  $0,01\text{--}0,07 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  [98]. Vzhledem ke skutečnosti, že i nechmelený referenční vzorek obsahoval  $0,025 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  barya, nelze tyto vysoké koncentrace vysvětlit vlivem dry-hoppingu. Hlavním zdrojem barya byla tedy pravděpodobně varní voda, jelikož koncentrace barya ve vodě se pohybuje v nižších jednotkách setin miligramu [62].

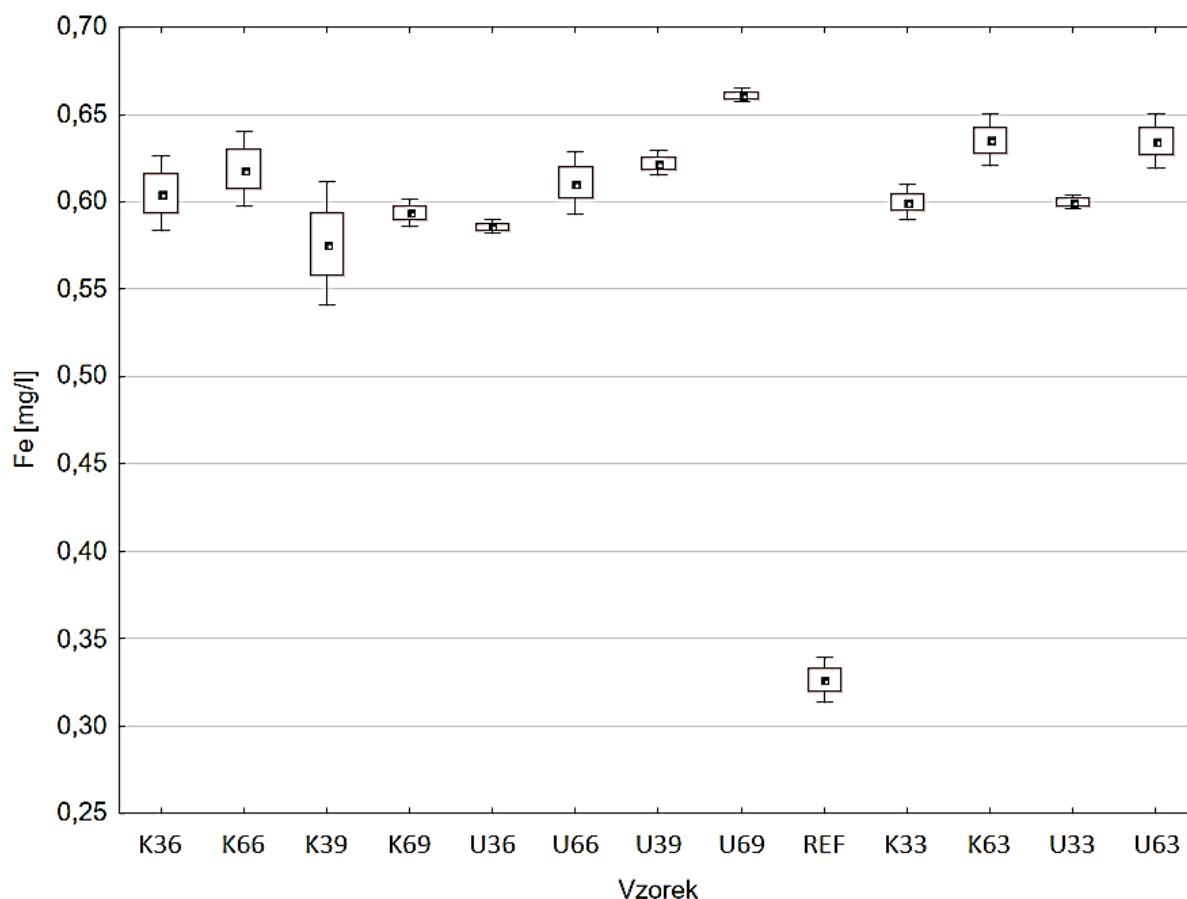


Obrázek 18: boxový graf koncentrace barya

## Železo

U koncentrace železa byl pozorován významný vliv u vzorků chmelených za studena. V boxovém grafu (Obrázek 19) lze pozorovat signifikantní nárůst koncentrace železa ve studeně chmelených vzorcích oproti vzorku referenčnímu. Rovněž je možné si všimnout, že vzorky chmelené vyšší dávkou chmele ( $6 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) vykazují vyšší obsah železa

než při použití dávky  $3 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$  chmele. Tato závislost byla potvrzena statistickou korelační analýzou. Z hlediska doby kontaktu chmelového materiálu s kvasicí mladinou nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi vzorky. Z toho lze vyvodit, že k extrakci většiny železa a jeho sloučenin z chmelového materiálu došlo během prvních tří dní chmelení. S delším časem byla již extrakce zanedbatelná.



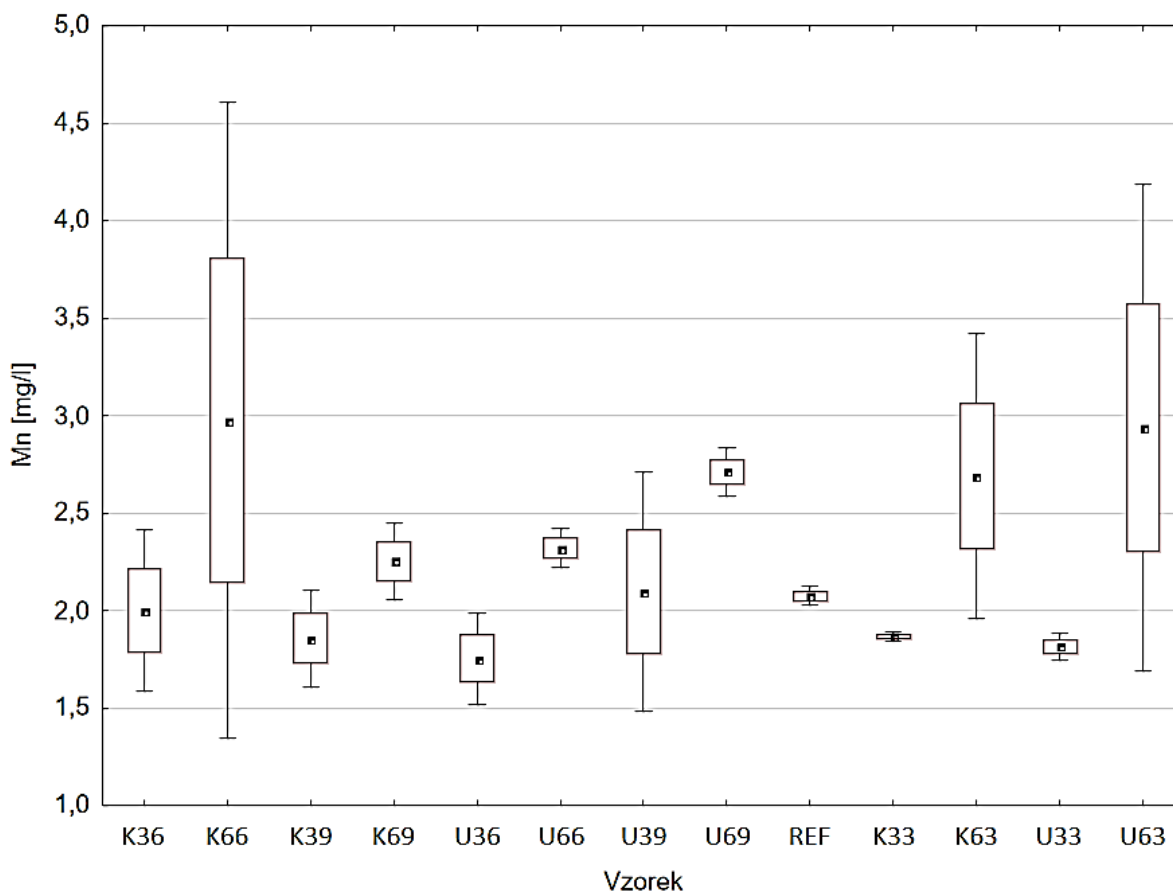
Obrázek 19: boxový graf koncentrace železa

Koncentrace železa ve vzorcích se pohybovala v intervalu  $0,58\text{--}0,66 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , což odpovídá hodnotám uvedeným v literatuře, kde byl stanoven obsah železa v rozmezí  $0,02\text{--}1,6 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Společně s měďnatými ionty mají železnaté ionty zásadní roli v aktivaci molekulárního kyslíku a další oxidaci organických sloučenin odpovědných za stabilitu a chuť piva. Pohl (2009) uvádí, že železo a měď jsou patrně vázány aminokyselinami, polyfenoly a melanoidy, které jsou produkty poslední fáze Maillardovy reakce, a tvoří jejich velmi stabilní komplexy [98]. Uvedené komplexní reakce probíhají zejména během skladování piva, tím zásadně určují charakter vlastností stárnutí piva a jeho konečné aroma a chuť. Proto zachycení kovových iontů a asociace s chelatačními organickými sloučeninami je jedním z důležitých antioxidačních zákroků snižující tvorbu a aktivitu reaktivní formy kyslíku [103]. Naopak nekomplexované ionty mědi a železa mohou mít negativní vliv na kvalitu piva, přispívají ke zhoršení a ke změnám stability piva při stárnutí [98]. Mohou tvořit komplexy s isohumulony, což ovlivňuje chuť piva. [104]. Rychlost a úroveň tvorby reaktivních forem

kyslíku zjevně souvisí s množstvím Cu a Fe, a proto mají koncentrace mědi a železa v pivu zvláštní význam a měly by být kontrolovány a minimalizovány během procesu vaření [105]. Naproti tomu je také známo, že železo zvyšuje stabilitu pивní pěny a je velmi důležité pro růst a vývoj kvasinek, aktivaci nebo inhibici enzymů, metabolismus glukózy a tvorbu vedlejších produktů fermentace [102]. Slad je vzhledem k jeho množství hlavním zdrojem železa. Avšak i chmel je poměrně bohatý na železo (cca  $270 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), což se může obzvlášť při vyšších dávkách během studeného chmelení projevit.

## Mangan

Z hlediska obsahu manganu nebyl u chmelených vzorků pozorován statisticky významný rozdíl od referenčního piva. Korelační analýzou však bylo prokázáno, že existuje pozitivní závislost mezi koncentrací manganu a dávkou chmele při studeném chmelení (Obrázek 20). Délka chmelení neměla na obsah manganu významný vliv.



Obrázek 20: boxový graf koncentrace manganu

Koncentrace manganu ve vzorcích se pohybovala mezi  $1,75$  a  $2,97 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Jedná se o poměrně vysoké hodnoty mimo literaturou udávané rozpětí  $0,03$ – $0,8 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  [98]. Přestože chmel obsahuje mnohem více železa než manganu, Porter et al. (2016) ve své studii uvádí, že při studeném chmelení dochází k proporcionálně větší extrakci manganu do piva, než je tomu u ostatních kovů. Prokázal také, že dochází k vyšší extrakci manganu do piva než do vody. Zároveň neměla vliv teplota, při které bylo studené chmelení prováděno

ani skutečnost, jestli byl chmel dodáván ve formě pelet nebo hlávek. Hladiny manganu byly u testovaných studeně chmelených piv vyšší než u komerčních piv chmelených tradičními postupy [106].

Schopnost manganatých iontů vytvářet komplexy s organickými sloučeninami, jako železo a měď, je považována za poměrně nízkou [107]. Nekomplexované ionty manganu mohou zesílit působení mědi a železa při katalýze oxidačních reakcí. Stejně jako měď a železo jsou ionty manganu oxidačně-redukčními katalyzátory. Hrají roli při tvorbě reaktivních forem kyslíku, mají tak nepříznivý vliv na koloidní stabilitu a aroma piva. Jenkins (2018) dokonce uvádí, že u některých testovaných vzorků měly ionty manganu negativnější vliv na koloidní stabilitu než ionty železa [108]. Ve vyšších koncentracích mohou ionty manganu dodávat nepříjemnou zatuchlou chuť. Na druhou stranu mají ionty manganu pozitivní vliv na správný růst kvasinek, rozpouštění proteinů a podporují správnou funkci enzymatického systému [98].

#### 4.5 Vliv studeného chmelení na koncentraci organických kyselin

Výsledky stanovení vybraných organických kyselin u vzorků a reference jsou uvedeny v tabulce 21. Analýza rozptylu (ANOVA) prokázala statisticky významné rozdíly mezi vzorky pouze u kyseliny mléčné. Při porovnání vzorků z hlediska odrůdy chmele nebyly pozorovány signifikantní rozdíly. Pouze u kyseliny octové bylo prokázáno, že se chmelené vzorky statisticky významně liší od reference. Dávka chmele použitého pro studené chmelení neměla vliv na obsah organických kyselin ve výsledném produktu.

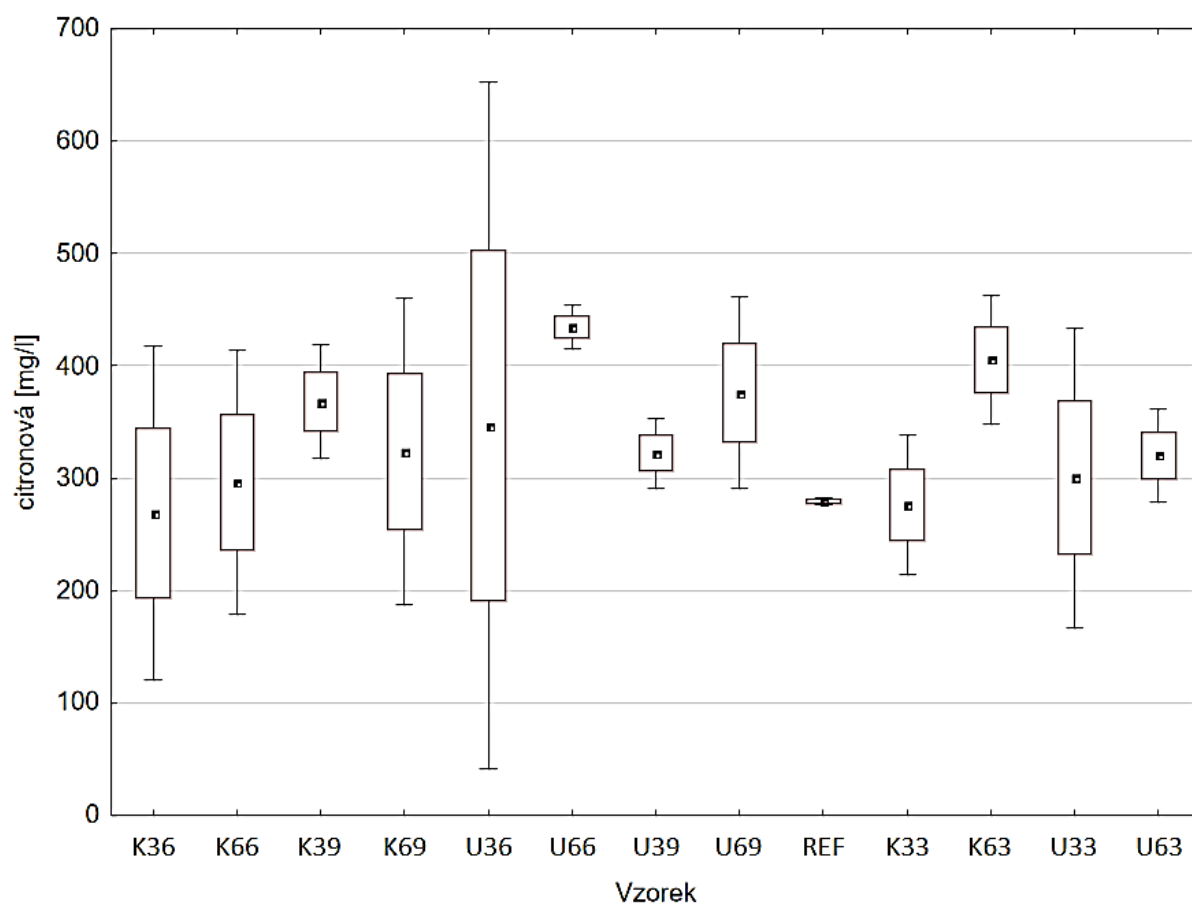
Tabulka 21: výsledky stanovení koncentrace organických kyselin

vzorek	citronová [mg/l]	jantarová [mg/l]	mléčná [mg/l]	octová [mg/l]	jablečná [mg/l]
<b>K36</b>	269,1±76	114,6±51	53,9±6	148,1±23	176,1±60
<b>K66</b>	296,8±60	122,4±45	57,7±4	168,9±25	238,2±69
<b>K39</b>	368,2±25	180,4±13	73,0±6	165,1±6	243,2±3
<b>K69</b>	324,2±69	146,5±57	74,7±2	142,4±9	223,8±66
<b>U36</b>	346,8±56	115,3±59	56,5±12	163,3±3	167,5±60
<b>U66</b>	434,7±9	199,8±13	69,3±10	170,8±29	244,0±27
<b>U39</b>	322,4±15	110,2±22	57,9±11	160,9±9	182,5±22
<b>U69</b>	376,2±43	113,7±24	66,1±9	165,3±14	194,5±15
<b>K33</b>	276,2±31	97,2±12	35,9±1	224,6±12	186,8±27
<b>K63</b>	405,5±29	116,1±6	41,5±0,7	191,2±17	247,5±6
<b>U33</b>	300,4±68	83,0±10	52,7±6	177,5±22	161,7±24
<b>U63</b>	320,3±21	85,2±15	35,0±3	203,9±36	178,1±42
<b>rf</b>	287,9±10	113,7±15	40,7±4	231,7±28	149,9±13

Kromě stanovovaných organických kyselin během kvašení dále vznikají kyselina pyrohroznová, propionová, máselná, izomáselná, kaprylová, kaprinová a isovalerová. Všechny organické kyseliny ovlivňují pH piva [2].

### Kyselina citronová

Vzorky se v obsahu kyseliny citronové statisticky významně neliší, stejně tak se významně neliší ani od referenčního piva (Obrázek 21). Dávka chmele ani délka studeného chmelení neměly na koncentraci kyseliny citronové prokazatelný vliv. Ve vzorcích se obsah kyseliny citronové pohyboval v intervalu 269–434 mg·dm<sup>-3</sup>. Naměřené hodnoty jsou vyšší v porovnání s literaturou. V komerčních pivech byla stanovena koncentrace kyseliny citronové v rozmezí 50–322 mg·dm<sup>-3</sup> [109, 110, 111]. U plzeňských piv a svrchně kvašených piv se koncentrace pohybuje mezi 107 a 186 mg·dm<sup>-3</sup>, respektive 173 až 211 mg·dm<sup>-3</sup>. U kyselých variant ležáků bylo rozmezí větší – od 6 do 146 mg·dm<sup>-3</sup> [111]. Korelační analýza prokázala vliv na snížení pH v souvislosti s koncentrací kyseliny citronové.



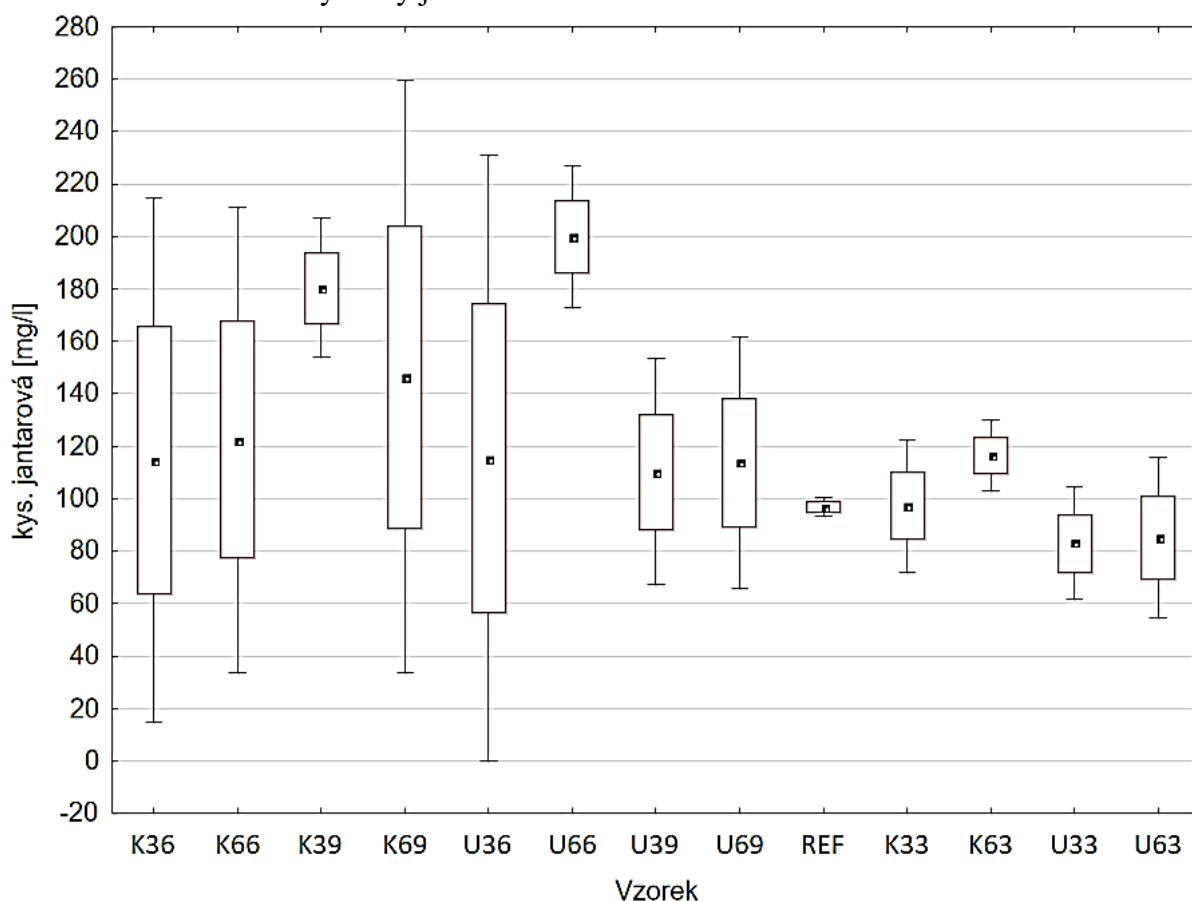
Obrázek 21: boxové grafy koncentrace kyseliny citronové

Li et.al. (2015) prováděl výzkum zabývající se změnou koncentrace kyseliny citronové během kvašení piva. Změny v koncentraci kyseliny citronové během kvašení syntetického média (simulace mladiny) a mladiny byly identické a téměř zanedbatelné i přes velké rozdíly v počátečním obsahu kyseliny citronové. Obsah kyseliny citronové v syntetickém médiu před

fermentací byl nulový, zatímco obsah kyseliny citronové v mladině byl asi  $100 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Z těchto výsledků lze odvodit, že množství kyseliny citronové vznikající při kvašení nemá vliv na výslednou koncentraci, i když kyselina citronová bude v cyklu trikarboxylových kyselin tvořena pivovarskými kvasnicemi. Množství kyseliny citronové v pivu je určováno především její koncentrací v mladině [112]. Vyšší obsah kyseliny citronové má vliv na kyselou chuť piva [113].

### Kyselina jantarová

V obsahu kyseliny jantarové se vzorky významně neliší od reference. Jak je dle obrázku 22 evidentní, mezi koncentracemi kyseliny jantarové v jednotlivých vzorcích nebyly pozorovány signifikantní rozdíly. Tvrzení je podloženo analýzou rozptylu ( $p=0,392$ ). Z níže uvedeného grafu je též patrné, že dávka chmele neměla vliv na obsah jantarové kyseliny ve studeně chmelených vzorcích. Rovněž nebyla nalezena korelace mezi dobou studeného chmelení a koncentrací kyseliny jantarové.



Obrázek 22: boxový graf koncentrace kyseliny jantarové

Ve vzorcích byla kyselina jantarová stanovena v intervalu  $83,0\text{-}180,4 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Literatura udává koncentraci kyseliny jantarové v komerčních pivech od  $20$  do  $294 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , běžně však spíše do  $140 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  [109, 111].

V průběhu fermentace mladiny i syntetického média spodními kvasnicemi došlo ke změnám koncentrace kyseliny jantarové, jak prokázal Li et.al. (2015) ve své studii. Došlo k významnému zvýšení koncentrace kyseliny jantarové během fermentace jak mladiny, tak syntetického média. Pivovarské kvasnice mohou produkovat velké množství kyseliny

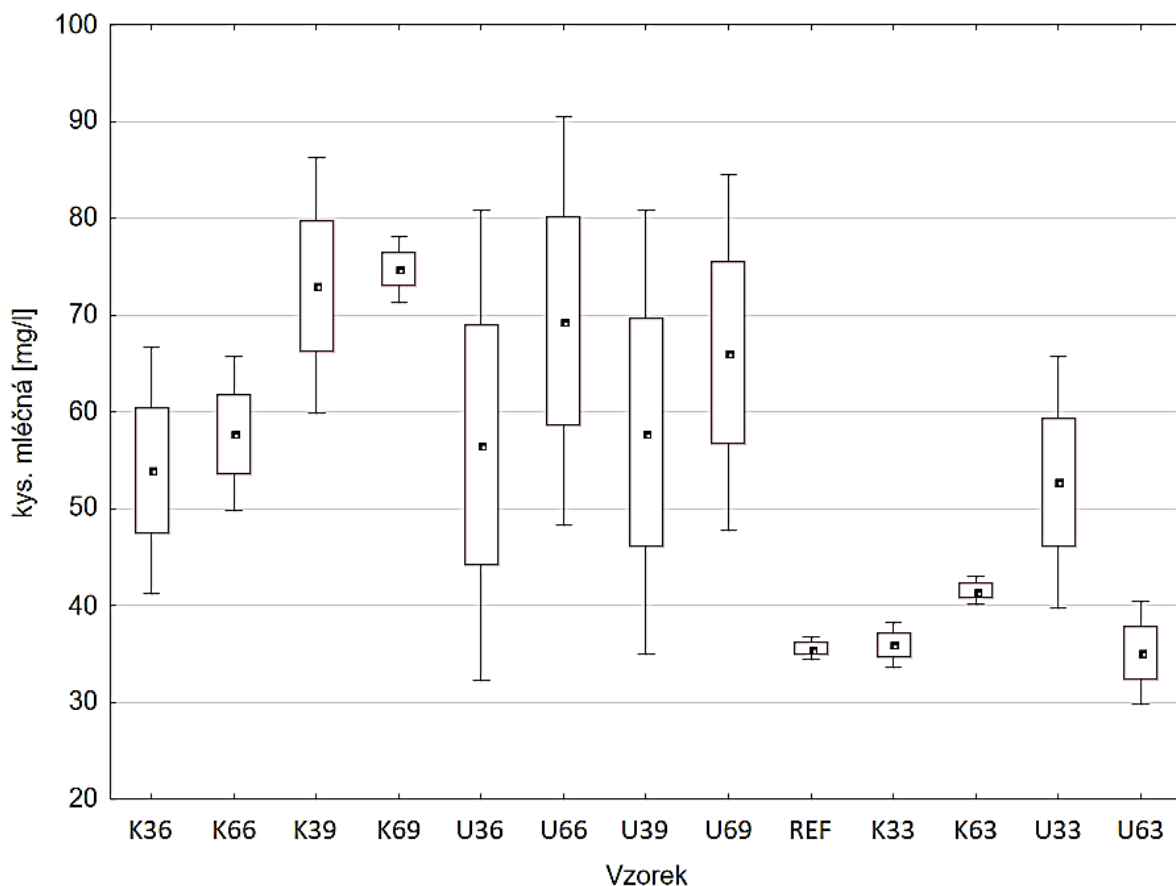


jantarové do fermentované mladiny a kyselina jantarová v pivu se tvoří hlavně během procesu hlavního kvašení. Před zakvašením mladina obsahovalo téměř nulové množství jantarové kyseliny [112]. Tato skutečnost by vysvětlovala středně silnou korelaci (0,505) mezi obsahem ethanolu a koncentrací kyseliny jantarové ve vzorcích. Tedy že více prokvašená piva vykazovala i vyšší obsah jantarové kyseliny.

Množství kyseliny jantarové v pivu by mělo být redukováno, jelikož má vliv na kyselou chuť produktu [113]. Tyrell (2014) označil jako nejdůležitější faktor ovlivňující míru produkce kyseliny jantarové při fermentaci piva výběr kmene kvasinek. Zároveň potvrzuje, že se zvyšujícím se zkvasitelným extraktem mladiny lineárně stoupá koncentrace jantarové kyseliny. Vliv teploty během fermentace nebyl prokázán [113, 114]. V celkovém sensorickém hodnocení se projevilo, že vzorky s vyšším obsahem jantarové kyseliny byly řazeny mezi horší.

### Kyselina mléčná

Výsledky stanovení kyseliny mléčné ve vzorcích studeně chmelených piv jsou uvedeny na obrázku 23. Mezi referencí a analyzovanými vzorky byly pozorovány signifikantní rozdíly, což bylo potvrzeno i na základě analýzy rozptylu ( $p=0,0101$ ). Jak je z grafu patrné, dávka chmele neměla prokazatelný vliv na vznik kyseliny mléčné. Naopak délka studeného chmelení vykazovala signifikantní vliv na obsah kyseliny mléčné v pivu, kdy se zvyšující se dobou chmelení (6 a 9 dní) se zvyšoval obsah kyseliny mléčné. Mezi těmito vztahy byla nalezena středně silná korelace (0,732). U těchto vzorků lze zároveň pozorovat významný nárůst koncentrace kyseliny mléčné oproti referenci.

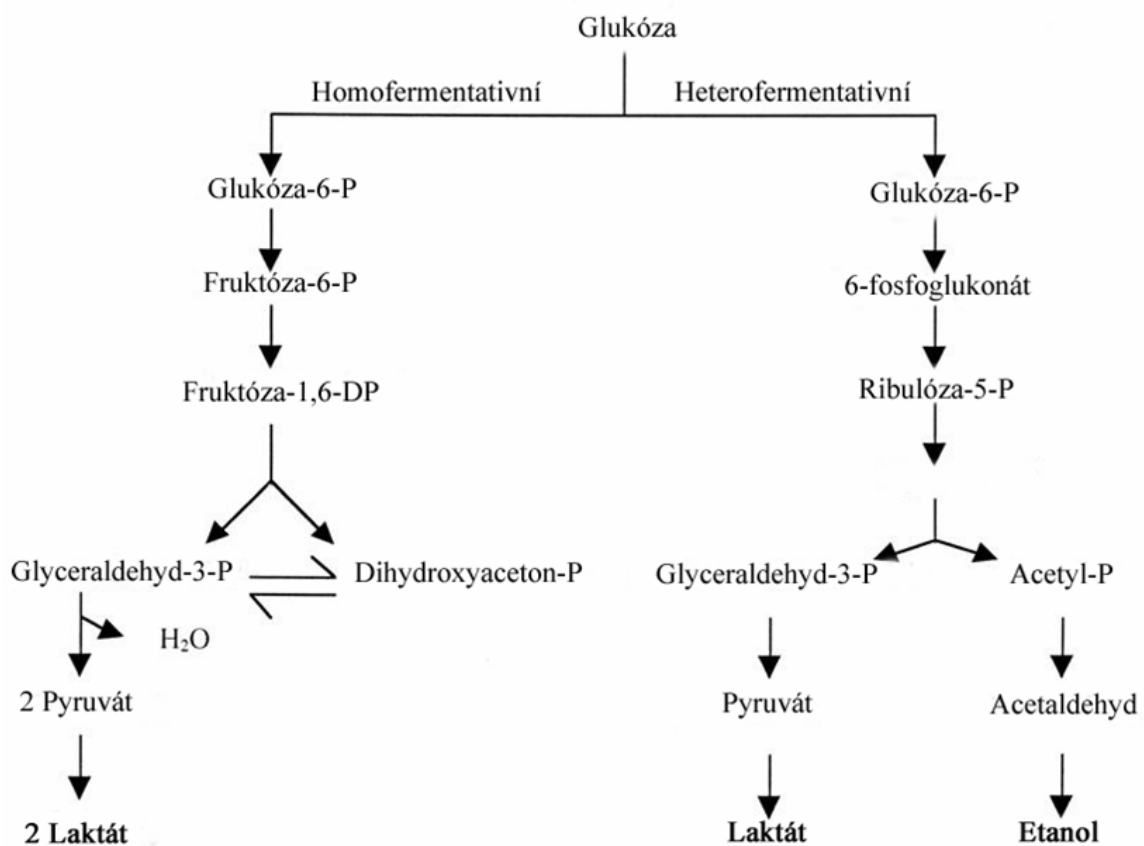


Obrázek 23: boxový graf koncentrace kyseliny mléčné

Naměřené hodnoty v této práci vykazovaly spíše nižší koncentrace mléčné kyseliny v porovnání s odbornými publikacemi. Koncentrace kyseliny mléčné ve studeně chmelených vzorcích se pohybovala od 35 do 74 mg·dm<sup>-3</sup>. V literatuře lze nalézt široké spektrum hodnot v intervalu od 10 do 250 mg·dm<sup>-3</sup> u ležáků, u speciálních typů kyselých piv i přes 1000 mg·dm<sup>-3</sup> [109, 111, 115].

Li et al. (2015) uvádí, že došlo ke změnám koncentrace kyseliny mléčné v průběhu fermentace spodními kvasinkami u mladiny i syntetického média. Počáteční obsah kyseliny mléčné v syntetickém médiu byl podstatně nižší, než tomu bylo u mladiny. Přesto byl celkový nárůst kyseliny mléčné během celé fermentace výrazně větší u mladiny, než tomu bylo u syntetického média připraveného ze sacharidů a aminokyselin v koncentracích simulujících mladinu. Lze tedy dojít k závěru, že množství vytvořené kyseliny mléčné během fermentace piva je významné [112]. Tím lze vysvětlit poměrně silnou korelaci (0,785) koncentrace kyseliny mléčné a obsahu ethanolu ve vzorcích. Stejně jako u kyseliny jantarové více prokvašená piva měla větší obsah mléčné kyseliny.

Stejně jako předchozí uvedené kyseliny, má i kyselina mléčná vliv na sensorickou kyselost piva, proto by její množství mělo být co nejnižší [113]. Byla nalezena korelační závislost (0,555) mezi celkovým hodnocením vzorků piv a koncentrací kyseliny mléčné. Vzorky s vyšším obsahem kyseliny měly i horší celkové hodnocení.

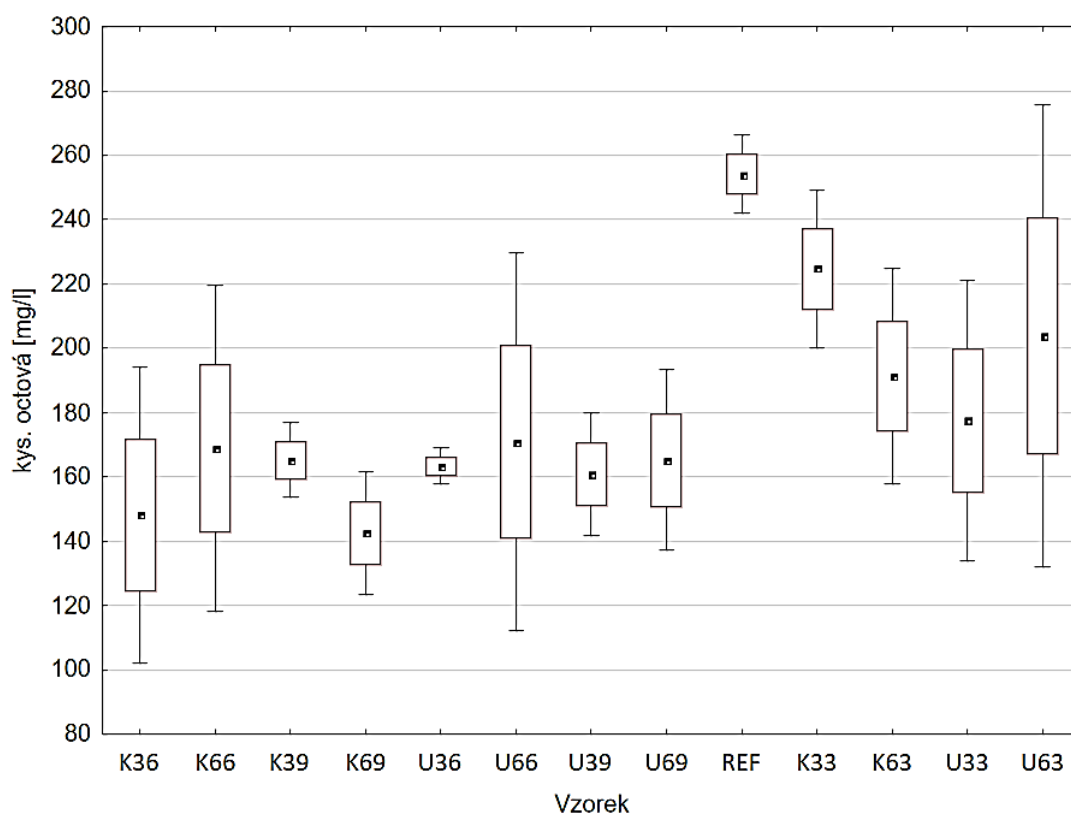


Obrázek 24: homofermentativní a heterofermentativní mléčné kvašení [117]

Kyselina mléčná je produkována mléčnými bakteriemi jako jsou Laktobacily a pedikoky. Laktobacily jsou neobávanější kontaminací při výrobě piva, přesto se však v malé míře nachází ve většině pivovarů. Ačkoliv se jedná o mikroaerofilní bakterie, mohou být nalezeny už i v počátečních fázích výroby a zároveň mohou znehodnocovat pivo i za anaerobních podmínek během zrání piva v ležáckých tancích. Laktobacily se dělí na homofermentativní produkující pouze kyselinu mléčnou a heterofermentativní, které kromě kyseliny mléčné produkují také ethanol, kyselinu octovou, mravenčí nebo glycerol.  $\alpha$ -Hořké kyseliny mají vůči laktobacilům antimikrobiální vliv [2]. Suzuki et.al. (2006) však popisuje určité druhy mléčných bakterií, které jsou vůči látkám chmele odolné [116]. Některé pivovary používají kyselinu mléčnou k cílenému okyselování rmutu [2].

### Kyselina octová

Dle obrázku 25 je evidentní, že se studeně chmelené vzorky v koncentraci kyseliny octové významně liší od referenčního vzorku, což bylo prokázáno analýzou rozptylu ( $p=0,0476$ ). Vzhledem k použité dávce chmele nejsou pozorovány významné závislosti na koncentraci octové kyseliny. Co se týká délky studeného chmelení, korelační analýza prokázala středně silnou negativní závislost (-0,558), tedy že kratší dobu chmelené vzorky obsahovaly více kyseliny octové.



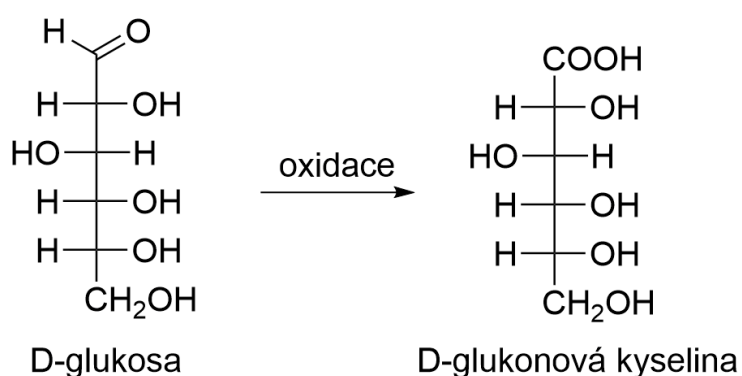
Obrázek 25: boxový graf koncentrace kyseliny octové

Koncentrace octové kyseliny ve studeně chmelených vzorcích se pohybovala v intervalu 142–224 mg·dm<sup>-3</sup>. Zdroje udávají rozmezí 10–250 mg·dm<sup>-3</sup>, u kyselých variant piva to může být i více než 2000 mg·dm<sup>-3</sup> [109, 110, 111, 115]. Vzorky v rámci této práce se koncentrací kyseliny octové řadily spíše k horní hranici u ležáckých piv.

Ve studii Li et.al. (2015) bylo prokázáno, že probíhají změny v koncentraci kyseliny octové v průběhu fermentace spodními kvasinkami jak mladiny, tak i syntetického média. Původní koncentrace před zakvašením byla v syntetickém médiu nulová, zatímco v mladině se již kyselina octová vyskytovala v koncentraci okolo 40 mg·dm<sup>-3</sup>. Navzdory rozdílu v počáteční koncentraci byl vývoj změn obsahu kyseliny octové během fermentace podobný. Kyselina octová se rychle vytvořila na začátku fermentace a v dalším průběhu se již postupně stabilizovala a koncentrace nevzrůstala. U mladiny se jednalo o hranici okolo 200 mg·dm<sup>-3</sup>, zatímco u syntetického média koncentrace dosahovala až 250 mg·dm<sup>-3</sup> [112].

Kyselina octová je tvořena v pivovarství octovými bakteriemi rodu *Acetobacter* a *Gluconobacter*. V pivovarském provozu lze tyto bakterie nalézt zejména ve zbytcích piva a meziproduktech za přístupu kyslíku. Jedná se o striktní aeroby odolné vůči nízkému pH i ethanolu. V pivu nasyceném oxidem uhličitým nerostou, mohou v něm však přežít. Rod *Gluconobacter* oxiduje ethanol na kyselinu octovou a glukózu na glukonovou a 5-ketoglukonovou kyselinu. Zatímco rod *Acetobacter* oxiduje octovou kyselinu na oxid uhličitý a vodu.

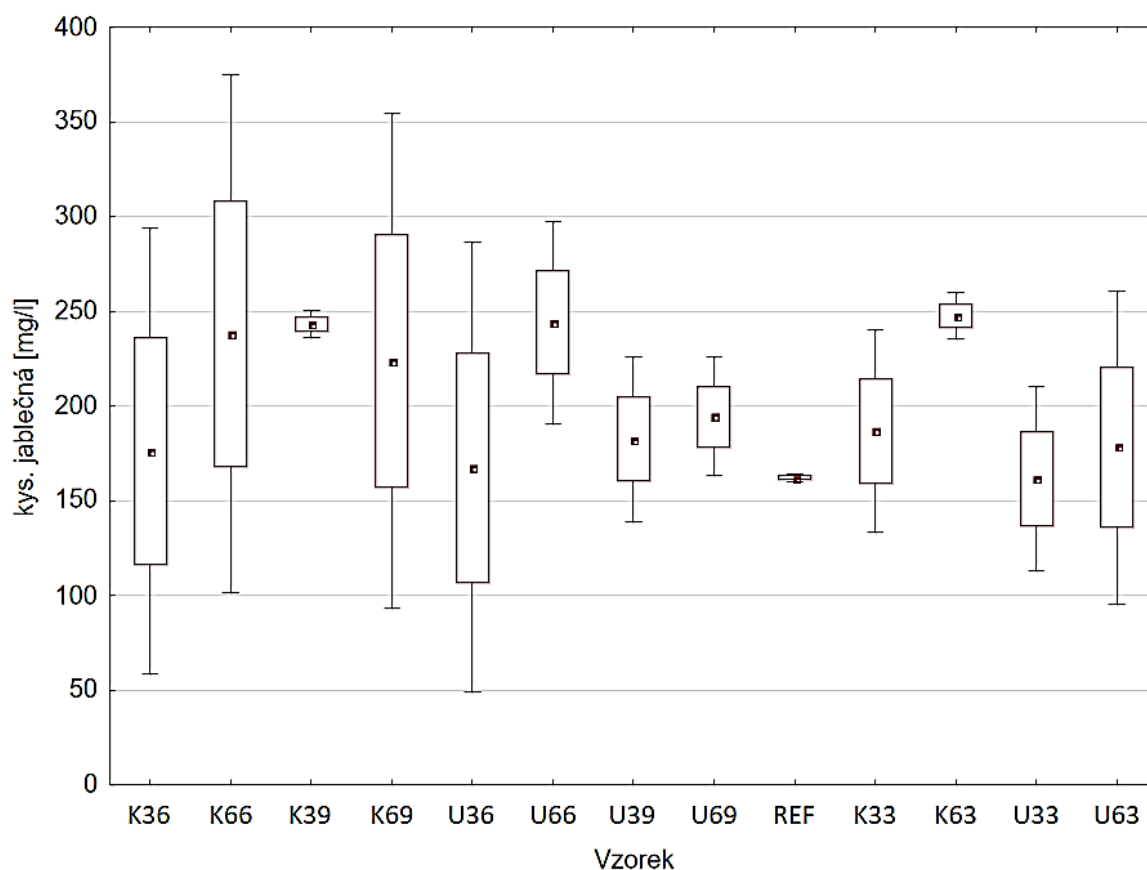
Ze senzoričského hlediska má kyselina octová vliv na výslednou kyselost i aroma piva [113]. To potvrzuje středně silná pozitivní korelace (0,472) mezi koncentrací octové kyseliny a mírou kyselosti hodnocenou při senzoričské analýze.



Obrázek 26: oxidace glukózy rodem *Gluconobacter*

## Kyselina jablečná

Z grafu na obrázku 27 lze pozorovat, že mezi studeně chmelenými vzorky a referencí nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v koncentraci kyseliny jablečné oproti referenci. Analýza rozptylu rovněž neprokázala signifikantní rozdíly mezi jednotlivými vzorky ( $p=0,734$ ). Dávka chmele ani doba studeného chmelení neměla prokazatelný vliv na obsah kyseliny jablečné ve výsledném produktu.



Obrázek 27: boxový graf koncentrace kyseliny jablečné

Kyselina jablečná byla ve studeně chmelených vzorcích obsažena v rozmezí 161–247  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . V literatuře lze nalézt uvedené koncentrace kyseliny jablečné v intervalu 25–140  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  [109, 110, 111, 115]. Vzorky připravené v rámci práce tedy vykazovaly poměrně vysoké koncentrace oproti hodnotám u komerčních piv.

Při pozorování změn koncentrace kyseliny jablečné během fermentace porovnával Li et.al. (2015) ve své studii změny obsahu v mladině a v syntetickém médiu. Syntetické medium neobsahovalo kyselinu jablečnou, zatímco v mladině se před samotnou fermentací koncentrace pohybovala okolo 50  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . U syntetického média došlo během fermentace pouze k mírnému nárůstu, u mladiny se obsah kyseliny téměř nezměnil. Množství vyprodukovaného malátu je během fermentace piva malé a hladina kyseliny jablečné v pivu je dána hlavně její koncentrací v mladině [112].

Z hlediska koncentrace organických kyselin ve vzorcích studeně chmeleného piva nebyly pozorovány významné rozdíly při použití odrůdy chmele Kazbek nebo použití odrůdy Uran.

#### 4.6 Vliv studeného chmelení na obsah vybraných těkavých látek v pivu

Práce byla zaměřena na tři těkavé aromatické sloučeniny. Jedná se o myrcen, humulen a geraniol. Zejména u studeně chmelených piv jsou uvedené aromatické látky obsaženy z hlediska sensorického nad prahem vnímání. V případě běžného chmelení totiž z většiny vytékají v důsledku vysokých teplot již během chmelovaru, z tohoto důvodu se aroma takto připraveného piva jen minimálně podobá aroma použité odrůdy chmele. Řešením může být pozdní chmelení na konci chmelovaru nebo během whirlpoolu, případně chmelení za studena během kvašení, zrání nebo chmelení již hotového piva. Z tabulky 22 lze pozorovat nárůst koncentrace uvedených těkavých látek u studeně chmelených piv oproti referenci. Mezi dávkou chmele a obsahem vybraných chmelových silic nebyla nalezena souvislost. Čas studeného chmelení však měl vliv na zastoupení tří uvedených látek, kdy kratší dobu (3 dny) chmelená piva vykazovala vyšší koncentrace. Možné příčiny jsou popsány níže v této kapitole.

Tabulka 22: koncentrace složek silic ve vzorcích piva

vzorek	Myrcen [ $\mu\text{g/l}$ ]	Humulen [ $\mu\text{g/l}$ ]	Geraniol [ $\mu\text{g/l}$ ]
<b>K36</b>	0,840	0,034	0,822
<b>K66</b>	0,509	0,009	0,846
<b>K39</b>	0,169	0,017	0,539
<b>K69</b>	0,406	0,007	0,484
<b>U36</b>	0,372	0,017	0,163
<b>U66</b>	0,528	0,007	0,398
<b>U39</b>	0,596	0,016	0,157
<b>U69</b>	0,098	0,023	0,442
<b>K33</b>	1,914	0,069	0,497
<b>K63</b>	0,236	0,024	1,752
<b>U33</b>	0,630	0,020	0,211
<b>U63</b>	0,528	0,036	0,302
<b>rf</b>	0,061	0,003	0,084

Výsledné aroma piva nelze vnímat jako součet příspěvků jednotlivých aromatických látek. Bylo prokázáno, že mezi sensoricky aktivními složka funguje synergický i antagonický efekt, tedy že některé látky se navzájem ve své intenzitě tlumí nebo naopak umocňují. Výsledné aroma chmele nebo piva tedy nelze hodnotit pouze na základě zastoupení aromatických látek [118].

$\beta$ -Myrcen je monoterpenický uhlovodík vyznačující se intenzivním bylinným a kořenitým aroma. Může také podléhat autoxidaci a vytvářet cyklické produkty ( $\alpha$ -pinen a  $\beta$ -pinen) a monoterpenové oxidy (linalool, geraniol, geranial a neral). Některé z těchto těkavých látek byly nalezeny v pivu při jejich prahových hodnotách pro detekci nebo nad nimi [119]. V pivech připravených běžným postupem se myrcen vyskytuje v nízkých, sensoricky

podprahových koncentracích z důvodu jeho vytékání během chmelovaru. Vzhledem ke skutečnosti, že se jedná u většiny odrůd chmele o nejvíce zastoupenou látku silic (až 70 % rel.), je u studeně chmelených piv jednou z nejvýraznějších látek ovlivňujících aroma, která je zodpovědná za jejich osobitý charakter. Avšak i během chmelení zchlazené mladiny je problémem udržení této látky v pivu [74]. Při studeném chmelení během kvašení totiž dochází ke stripování silice oxidem uhličitým a společnému vytékání, zároveň dochází také k sorpci na buněčný povrch kvasinek. Takoi et.al. (2014) proto nedoporučuje studené chmelení dříve než po hlavním kvašení piva [120]. Tato skutečnost vysvětluje nízké zastoupení myrcenu ve studeně chmelených vzorcích této práce. Zároveň i to, že vzorky, u nichž bylo studené chmelení prováděno nejkratší dobu (3 dny) ke konci hlavního kvašení jsou na  $\beta$ -myrcen nejbohatší. Závislost byla potvrzena statistickou analýzou hlavních komponent (PCA). Literatura udává u některých studeně chmelených piv obsah myrcenu 20-50  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  [122, 72].

Halsbeck et.al. (2017) ve své studii studeného chmelení piv potvrzuje, že myrcen ochotně přechází do plynné fáze během kvašení, čímž dochází k vysokým ztrátám. Zároveň dodává, že vyšší teplota fermentace má vliv na větší ztráty této aromatické látky. Uvádí také, že koncentrace kvasinek má velký vliv na ztráty myrcenu. Při studiu této problematiky se ukázalo, že při koncentraci 100 milionů buněk na gram mladiny zbyla pouze stopová množství myrcenu v roztoku (ztráty 98–99 %), zatímco v kontrolním vzorku bez kvasinek zůstala koncentrace beze změny. Předpokládá se, že nepolární látka  $\beta$ -myrcen byla sorbována k nepolárnímu povrchu kvasinkových buněk. Ukázalo se také, že pivo s obsahem ethanolu 5 % není vhodným rozpouštědlem pro zpětné uvolnění myrcenu z kvasinek [121].

Mikyška et.al. (2018) prokázal více než dvojnásobný nárůst myrcenu u studeně chmeleného piva oproti pivu vyrobenému klasickým postupem. Na obsah myrcenu má také vliv použitá odrůda chmele, kdy aromatické chmele do piva extrahují více silic. Avšak během stárnutí piva obsah myrcenu prudce klesá až o 70 % [122].

$\alpha$ -Humulen je chmelovou silicí řadící se z chemického hlediska mezi seskviterpeny. Jedná se o látku s kořenitým, ušlechtilým chmelovým aroma, která se v pivu transformuje do řady aromaticky aktivních oxidačních produktů, podílejících se na výsledném aroma piva. Během studeného chmelení bylo však zaznamenáno stejné chování jako u  $\beta$ -myrcenu, tedy že problémem je vytékání společně s oxidem uhličitým během hlavního kvašení [74]. Vyšším obsahem  $\alpha$ -humulenu se vyznačují především české a německé odrůdy chmele. V rámci této práce byl  $\alpha$ -humulen u všech studeně chmelených vzorků prokázán, jeho koncentrace se však pohybovala těsně nad hranicí detekce, proto lze kvantifikaci považovat za poměrně nepřesnou. Avšak literaturou udávané hodnoty  $\alpha$ -humulenu v pivu jsou také velmi nízké v intervalu 0,4-3,0  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  v závislosti na odrůdě a dávce chmele použitého pro dry hopping [72, 122].

Dle studie Mikyšky et.al. (2018) během studeného chmelení dávkou chmele 2  $\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  došlo průměrně pouze k 30% nárůstu obsahu humulenu oproti referenčnímu pivu, které bylo chmeleno pouze při chmelovaru. Zastoupení silice v odrůdě chmele však i v tomto případě korelovalo s výsledným obsahem v pivu. Zajímavým poznatkem jsou výrazně vyšší naměřené koncentrace  $\alpha$ -humulenu u staršího piva než u čerstvě připraveného [122].

Geraniol se řadí do kyslíkaté frakce chmelových silic (viz. 2.4.2.1), která se vyznačuje lepší rozpustností ve vodě a slabých roztocích alkoholu. Má nižší prahové hodnoty než frakce uhlovodíková, a podílí se tak na senzoričtém profilu piva. Geraniol patří společně s linalolem a citronelolem mezi nejvíce zastoupené látky této frakce. Geraniol se vyznačuje květinovým, růžovým nebo také limetkovým aroma [74]. Linalool známý citrusovým aroma při synergickém efektu s geraniolem nabývá také spíše květinových tónů [123]. Geraniol může podléhat několika biotransformačním přeměnám. Vzniká nejčastěji z geranylacetátu a může se přeměňovat na zmíněný  $\beta$ -citronelol. To je dle Takoi et.al. (2016) důvodem proč dochází k razantnímu poklesu koncentrace geraniolu během prvních čtyř dní hlavního kvašení [118]. Relativně nízký obsah geraniolu ve vzorcích připravených pro tuto práci si lze vysvětlit jak vytěkáním geraniolu během kvašení díky úniku  $\text{CO}_2$ , tak přeměnou geraniolu na jiné senzoričtí aktivní látky.

Obsah geraniolu ve studeně chmelených pivech závisí jak na dávce chmele, tak na použité odrůdě. Stejně jako u předešlých dvou látek o koncentraci rozhoduje, ve které fázi výroby piva je studené chmelení prováděno. U geraniolu také dochází k významným ztrátám následkem vytěkání společně s oxidem uhličitým během hlavního kvašení. Mikyška et.al. (2018) uvádí u studeně chmelených piv s dávkou chmele  $2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentraci  $2\text{-}5 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  v závislosti na použité odrůdě chmele [122]. LaFontaine et.al. (2018) pozoroval koncentrace  $24 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  při použití vyšších dávek chmele pro studené chmelení [72].

Použité odrůdy chmele byly pomocí GC-MS porovnány v obsahu uvedených tří látek. V obsahu myrcenu nebyl mezi odrůdami pozorován významný rozdíl. Obsah humulenu byl však u odrůdy Kazbek o více než 30 % vyšší než u odrůdy Uran. Zároveň Odrůda Kazbek vykazovala až o 70 % vyšší obsah geraniolu. Dle tabulky 22 lze pozorovat vliv koncentrace humulenu a geraniolu v chmelu na vyšší obsah těchto látek ve vzorcích chmelených odrůdou Kazbek.



#### 4.7 Vliv studeného chmelení na sensorický profil piv

Všechny připravené studeně chmelené vzorky piv byly podrobeny sensorickému hodnocení. Bylo hodnoceno 8 chuťových a aromatických vlastností piva zahrnující aroma, říz, plnost, sladkost, kyselost, intenzitu, charakter a doznívání hořkosti. Tyto vlastnosti byly hodnoceny vždy na stupnici od 0 do 5 (vyjma parametru charakter a doznívání hořkosti – hodnoceno 1–5) dle intenzity vjemu. U všech vzorků bylo provedeno také celkové hodnocení na stupnici 1–9, kdy 1 znamená velmi dobrý a 9 nepřijatelný vzorek. Způsob sensorického hodnocení vychází z publikace Sensorická analýza piva [75], podle které byl sestaven dotazník pro hodnocení (k nahlédnutí v příloze 8.1). Sensorickou analýzu provedlo průměrně 20 hodnotitelů. Výsledky ve formě mediánů jsou uvedeny v tabulce 23.

Tabulka 23: medián sensorického hodnocení vzorků

vzorek	aroma	říz	plnost	intenzita hořkosti	charakter hořkosti	doznívání hořkosti	sladkost	kyselost	Celkový dojem
<b>K36</b>	2	2	2	4	3	3	2	0	4
<b>K66</b>	3	3	3	3	2	2	1	1	3
<b>K39</b>	2	2	2	3	2	2	2,5	1	5
<b>K69</b>	2	2	3	3,5	3	3	1	0	5,5
<b>U36</b>	3	3	3	3	3	3	2	1	3
<b>U66</b>	3	3	3	4	4	3	1	1	5
<b>U39</b>	2	2	3	3,5	3	3	2	1	4
<b>U69</b>	2	2	3	3	2,5	2	2	1	3
<b>K33</b>	2	3	3	2	2	2	3	1,5	2,5
<b>K63</b>	2	3	2	2	3	2	2	1	3
<b>U33</b>	3	3	4	3,5	3	3	2	2	4
<b>U63</b>	3	3	4	2	2	2	2	1	4

Vzorky piva K33 a K63 za studena chmelená odrůdou Kazbek po dobu tří dní vykazovala v sensorickém hodnocení, dobrý říz, nižší intenzitu hořkosti a vzorek K33, chmelený menší dávkou chmele, i vyšší sladkost. Při použití odrůdy Uran pro třídní chmelení byla u vzorků piv U33 a U63 pozorována dobrá plnost a vyšší intenzita chmelového aroma, což lze u kratší doby chmelení očekávat. Vzorek U33 chmelený menší dávkou chmele vykazoval o něco vyšší kyselost.

Při délce chmelení 6 dní, vzorky K36 a K66, u nichž byla použita odrůda Kazbek, se vyznačovaly vyšší intenzitou a dozníváním hořkosti. Stejný trend se potvrdil i při chmelení odrůdou Uran u vzorků U36 a U66, kdy byl hodnocen i charakter hořkosti jako „hrubší“. V porovnání se vzorky chmelenými 3 dny došlo tedy především k nárůstu intenzity a doznívání hořkosti, z hlediska aroma nedošlo k výrazným změnám.

Dle obrázku 30 je evidentní, že piva chmelená po dobu 9 dní K39, K69 a U39, K69 vykazují především intenzivní hořkost a doznívání hořkosti. Došlo k poklesu intenzity aroma a řízu, což bylo hodnoceno negativně v rámci celkového hodnocení. Doba chmelení po dobu 9 dní se tedy nejvíce jako optimální vzhledem k sensorickým vlastnostem piva.



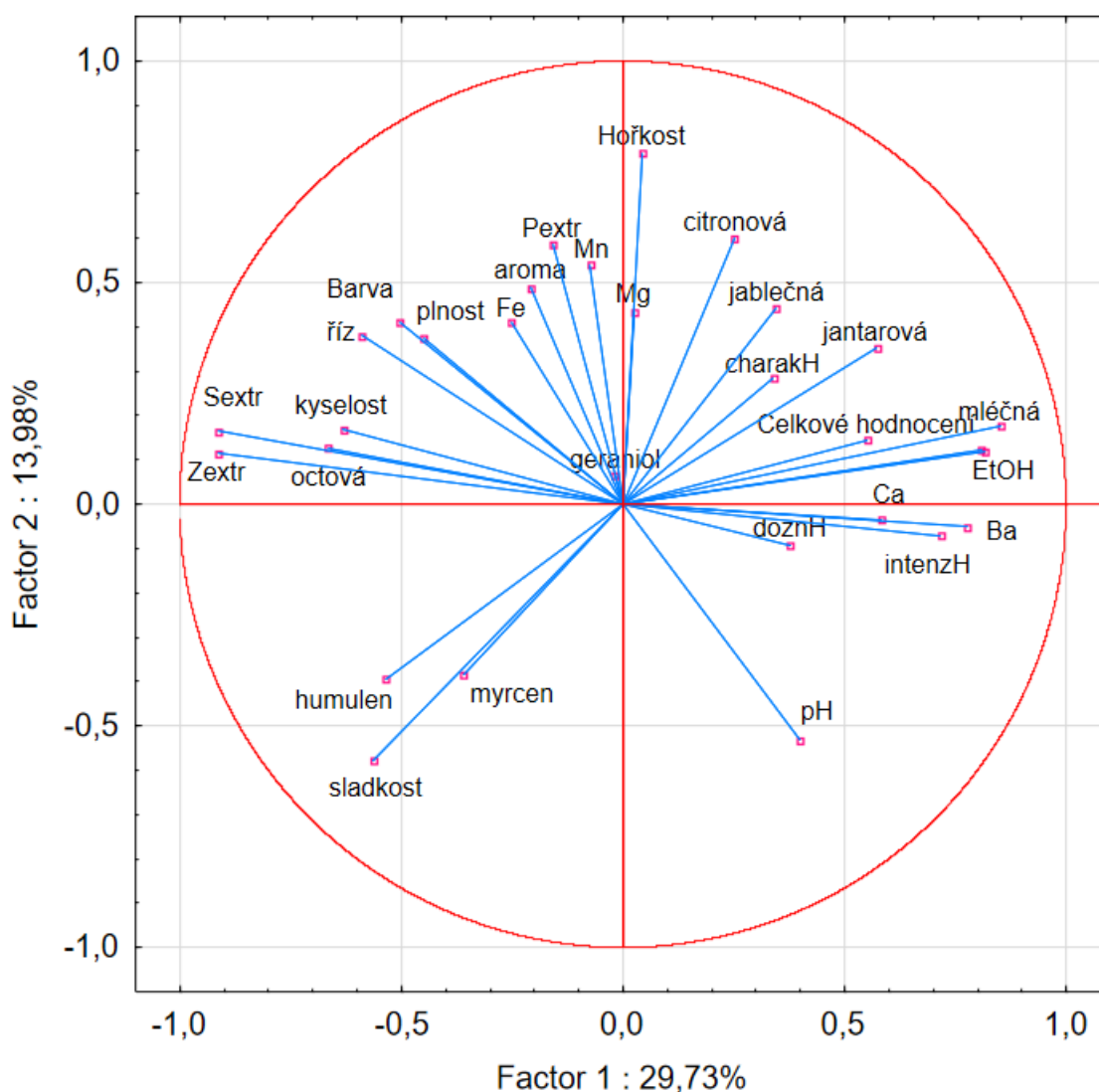
Obrázek 28: pavučinové grafy senzoričké hodnocení vzorků pív



Obrázek 29: pavučinové grafy senzoričkého hodnocení vzorků pív

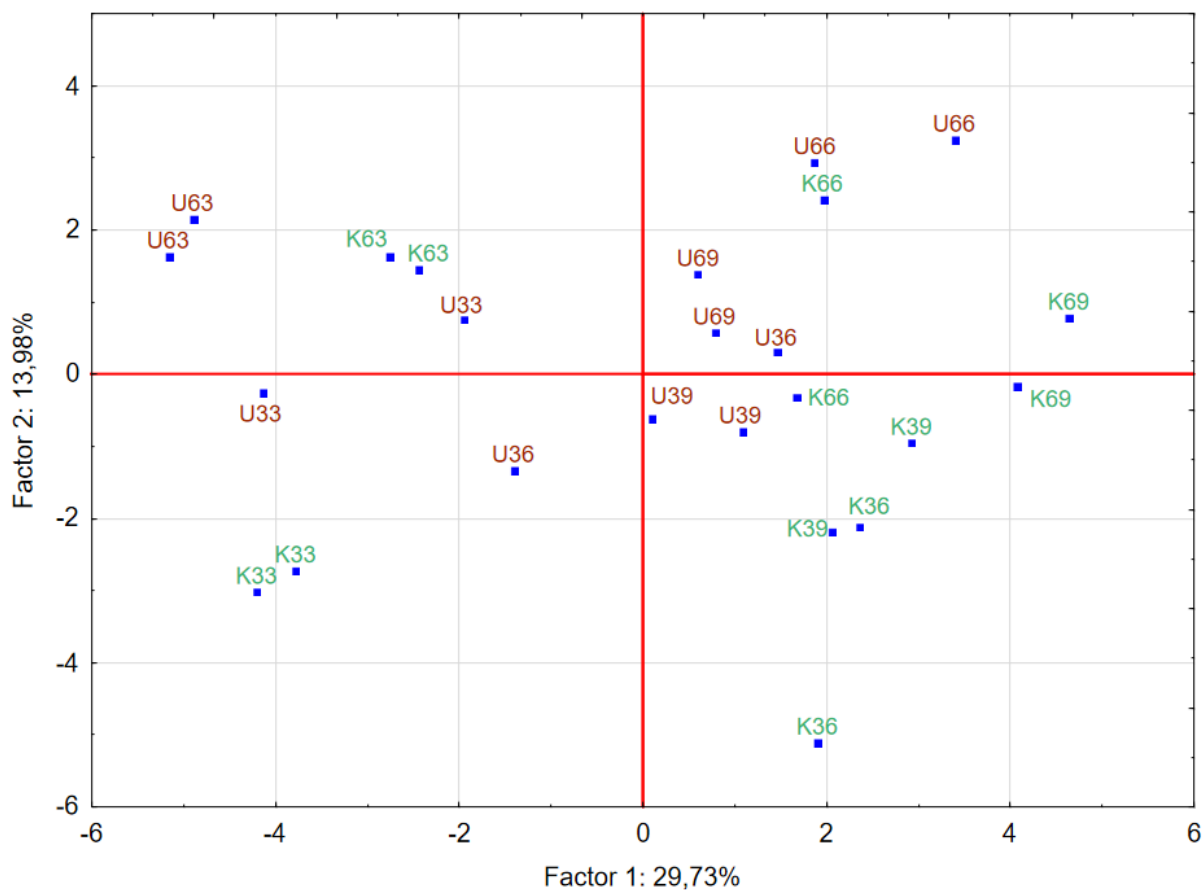
#### 4.8 Vliv studeného chmelení z pohledu vícerozměrné statistické analýzy

Poznatky prezentované v předchozích kapitolách byly propojeny v rámci vícerozměrné analýzy dat a jsou prezentovány na PCA grafech (obrázek 30, obrázek 31). Metoda umožňuje pozorovat rozdíly mezi vzorky vzhledem k naměřeným charakteristikám. Do zpracování byla zahrnuta jak data analytická, tak i senzorické hodnocení. Na obrázku 31 jsou prezentovány výsledky formou grafu založeném na hlavních komponentách F1 a F2.



Obrázek 30: projekce proměnných do plochy hlavních komponent 1 a 2

Z obrázku 31 je patrné, že vzorky chmelené po dobu tří dní se vyprojetovaly do oblasti s negativním skóre pro komponentu F1. Projekce vzorků chmelených po dobu 6 a 9 dní byla charakteristická pozitivním skóre komponenty F1. Vzhledem k množství chmele se vzorky s dávkou chmele  $6 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  projetovaly spíše do plochy s pozitivním skóre komponenty F2, zatímco u vzorků s nižším dávkováním ( $3 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) lze pozorovat především záporné skóre komponenty F2.



Obrázek 31: projekce vzorků do plochy hlavních komponent 1 a 2

Při porovnání s projekcí proměnných do faktorové roviny hlavních komponent F1 a F2 (Obrázek 30) je možné usoudit, že vzorky pív podrobené studenému chmelení pouze po dobu tří dní vykazovaly vyšší koncentraci aromatických látek (především myrcenu a humulenu), než vzorky chmelené delší časový interval. Možným důvodem je, že při kratší době chmelení zůstalo v pivu více těkavých látek, neboť bylo chmelení prováděno až ke konci hlavního kvašení. Naopak při delší době kontaktu chmele s mladinou, kdy byl chmel přidán už v dřívějších fázích kvašení, došlo k vytěkání aromatických látek společně s oxidem uhličitým.

Zároveň vzorky chmelené nejkratší dobu, avšak s vyšší navázkou chmele, vykazovaly při sensorickém hodnocení nejvyšší říz, plnost a intenzivní aroma. Plnost by mohla souviset s vyšší hodnotou zbytkového extraktu, kterou u těchto vzorků lze rovněž pozorovat. Intenzivní aroma souvisí s vyšším obsahem aromatických látek ve vzorcích.

Pro vyšší dávky chmele pro studené chmelení je typická především vyšší hořkost. Ta je v kombinaci s delším časem studeného chmelení (6 a 9 dní) vnímána jako intenzivní a s dlouhým dozníváním. Charakter hořkosti byl u těchto vzorků rovněž vnímán jako nepříjemnější. Při pohledu na proměnnou celkového sensorického hodnocení je možné si povšimnout, že vzorky chmelené po dobu 6 a 9 dní byly vnímány spíše negativně. Doba 3 dny se tedy ze sensorického hlediska výsledného produktu jeví jako vhodnější.

## 5. ZÁVĚR

Technika studeného chmelení je způsobem, jak pivu předat zajímavé senzorycké vlastnosti, které běžnými metodami nelze docílit. Ve světě se jedná o běžnou metodu, v ČR se se studeně chmelenými pivy setkáváme spíše prostřednictvím řemeslných pivovarů a minipivovarů, které tuto techniku používají při výrobě převážně svrchně kvašených piv typu ale. Na tento trend reagují čeští pěstitelé chmele a šlechtí nové aromatické variety. Cílem této práce bylo vyzkoušet metodiku studeného chmelení a aplikovat ji na výrobu tradičního českého piva ležáckého typu s využitím čistě českých aromatických odrůd chmele.

V experimentální části byly stanoveny základní charakteristiky piva, běžně využívané ke kontrole kvality ve velkých pivovarech. Byl prokázán vliv studeného chmelení na obsah ethanolu. Při delším čase studeného chmelení (9 dní) docházelo ke zvýšení koncentrace ethanolu, s čímž rovněž souvisel pokles zdánlivého extraktu. Rozdíly v pH jednotlivých vzorků byly téměř zanedbatelné a vliv dry hoppingu v tomto případě nebyl prokázán. Hodnota barvy piva pak byla ovlivněna především zákalem, jelikož se jednalo o pivo nefiltrované.

Studené chmelení mělo významný vliv na hořkost piva. Z naměřených výsledků vyplývá, že došlo k významnému nárůstu hořkosti oproti pivu referenčnímu. Zároveň byl pozorován trend vyšší hořkosti při použití větší dávky chmele. Zvýšení hořkosti je připisováno zejména humulinonům a polyfenolům, jelikož hořké kyseliny jsou velmi špatně rozpustné.

U koncentrace prvků ve chmelených vzorcích byl pozorován vliv dry hoppingu u vápníku, hořčíku a železa. V těchto parametrech se vzorky významně lišily od reference, přičemž byl pozorován stejný trend nárůstu koncentrace zmíněných prvků. Jak vápník, tak hořčík hrají důležitou roli při výrobě piva, kdy vápník podporuje flokulaci a sedimentaci kvasinek a zabraňuje tvorbě nežádoucích zákalů. Hořčík je pak důležitým kofaktorem enzymů kvasinek důležitých pro kvasný proces. Železo může mít negativní vliv na oxidaci piva, avšak jeho ionty jsou významné pro stabilitu pивní pěny.

Vliv studeného chmelení na koncentraci organických kyselin, konkrétně kyseliny citronové a kyseliny jantarové nebyl prokázán. U kyseliny mléčné však došlo k významnému nárůstu koncentrace oproti referenci, a to zejména u vzorků chmelených po dobu 6 a 9 dní. Obsah kyseliny mléčné souvisel se stupněm prokvašení, jelikož kyselina mléčná vzniká při fermentaci. U kyseliny octové došlo naopak následkem studeného chmelení k poklesu koncentrace oproti referenci.

Z analýzy aromatických těkavých látek myrcenu, humulenu a geraniolu vyplývá, že studené chmelení mělo vliv na zastoupení těchto látek v pivu. Byl pozorován významný nárůst oproti referenci. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny ve vzorcích s nejkratší dobou chmelení. Příčinou bylo pravděpodobně vytěkání látek společně s oxidem uhličitým během kvašení při delším čase chmelení.

Z výsledků sensorické analýzy se jeví jako vhodnější kratší doba studeného chmelení vzhledem k udržení těkavých látek v pivu. Celkově nejlépe hodnoceným vzorkem bylo pivo chmelené odrůdou Kazbek po dobu tří dní s nižší dávkou chmele. Při delším čase studeného chmelení (9 dní) vykazovala piva intenzivnější hořkost s delším dozníváním, což celkově nebylo kladně hodnoceno.

Do další studie by bylo vhodné optimalizovat technologie studeného chmelení. Z hlediska doby by bylo vhodné zkrácení kontaktu chmele s mladinou, jelikož bylo prokázáno, že s delším časem dochází k poklesu koncentrace těkavých látek. Zároveň se jeví jako výhodnější studené chmelení provádět až ve fázi zrání piva, jelikož nedochází k adsorpci aromatických látek na kvasinky.

## 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] *Zákon o potravinách a tabákových výrobcích: Vyhláška 248/2018 Sb.*, od 1.12.2018. Česká republika.
- [2] BASAŘOVÁ, Gabriela, 2010. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [3] ČEJKA, Pavel, Vladimír KELLNER, Jiří ČULÍK, Tomáš HORÁK a Marie JURKOVÁ, 2004. Characterizing a Czech-Type Beer. *Kvasny Prumysl.* **50**(1), 3-11. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2004001
- [4] OLŠOVSKÁ, J., P. ČEJKA, K. SIGLER a V. HÖNIGOVÁ, 2014. The phenomenon of Czech beer. *Czech Journal of Food Sciences.* **32**(4), 309-319. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/455/2013-CJFS
- [5] DE KEUKELEIRE D. 1999: *Plant Polyphenols, Chemistry, Biology, Pharmacology*. Academic Publishers, New York
- [6] ERBE, Thorsten a Hans BRÜCKNER, 2000. Chromatographic determination of amino acid enantiomers in beers and raw materials used for their manufacture. *Journal of Chromatography A.* **881**(1-2), 81-91. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(00)00255-7
- [7] CEJNAR, R., O. MESTEK a P. DOSTÁLEK, 2013. Determination of silicon in Czech beer and its balance during the brewing process. *Czech Journal of Food Sciences.* **31**(2), 166-171. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/65/2012-CJFS
- [8] HÖNIGOVÁ, Věra. *Český svaz pivovarů a sladoven: CHZO České pivo* [online]. 2013 [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <http://ceske-pivo.cz/cp/chzo-ceske-pivo>
- [9] *Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s.: Chráněné zeměpisné označení České pivo* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://beerresearch.cz/chanene-zemepisne-oznaceni-chzo-ceske-pivo/>
- [10] *Státní zemědělská a potravinářská inspekce: Kontrolní činnost SZPI* [online]. 2021 [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://www.szpi.gov.cz/clanek/kontrolni-cinnost-szpi.aspx?q=Y2hudW09OQ%3d%3d>
- [11] *Zveřejnění žádosti o zápis podle čl. 6 odst. 2 nařízení Rady (ES) č. 510/2006 o ochraně zeměpisných označení a označení původu zemědělských produktů a potravin: NAŘÍZENÍ RADY (ES) č. 510/2006 „ČESKÉ PIVO“*, 2008. In: . Úřad průmyslového vlastnictví, Úřední věstník Evropské unie.
- [12] KOSAŘ, Karel, 2000. *Technologie výroby sladu a piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 80-902-6586-3
- [13] NEWMAN, Rosemary K. a C. Walter NEWMAN, c2008. *Barley for food and health: science, technology, and products*. Hoboken: Wiley. ISBN 978-0-470-10249-7.
- [14] ZAVŘELOVÁ, Marta, 2014. The composition of barley grain in regards to food technology. *Kvasny Prumysl.* **60**(5), 127-130. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2014013
- [15] NENTWICHOVÁ, M. a A. DOLEŽALOVÁ, 1984. New methods for malt checking. Determination of  $\alpha$ -amylase in malt. *Kvasny Prumysl.* **30**(2), 25-28. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1984005
- [16] HLAVÁČEK, I., B. KRÁLOVÁ a J. MOŠTEK, 1979. Determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Amylase Activity in the Malt. *Kvasny Prumysl.* **25**(11), 241-245. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1979036
- [17] ZHANG, Guoping, Wang JUNMEI a Chen JINXIN, 2002. Analysis of  $\beta$ -glucan content in barley cultivars from different locations of China. *Food Chemistry.* **79**(2), 251-254. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(02)00127-9



- [18] HARTMAN, I., I. SVOBODOVÁ, V. SPÁČILOVÁ a P. MÍŠA, 2017. Reakce odrůd sladovnického ječmene na pěstování v režimu nízkých vstupů („low – input“) a ekologickém režimu II. část Sladovnická kvalita. *Obilnářské listy*. Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, Kroměříž: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Brno, **25**(3-4).
- [19] KREJČA, Jindřich; KRESÁNEK, Jaroslav. *Atlas léčivých rostlin a lesných plodov*. Martin: Osveta, n.p., 1982. 70-010-82. S. 768
- [20] *Vitamíny bez cenzury: Chmel otáčivý – rostlina nejen k výrobě piva* [online], 2018. [cit. 2021-5-28]. Dostupné z: <https://www.vitaminybezcenzury.cz/roslinne-extrakty/chmel-otacivy>
- [21] VENT, L. a J. VENT, 1999. Skupiny odrůd chmele a jejich využití v pivovarském průmyslu. *Kvasný průmysl*. **45**(12), 335-337.
- [22] ŠŘEDL, Karel, Marie PRÁŠILOVÁ, Roman SVOBODA a Lucie SEVEROVÁ, 2020. Hop production in the Czech Republic and its international aspects. *Heliyon*. **6**(7). ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04371
- [23] KROFTA, Karel a Alexandr MIKYŠKA, 2014. Hop beta acids: Properties, significance and utilization. *Kvasny Prumysl*. **60**(4), 96-105. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2014010
- [24] PALAMAND, Suryanarayana R. a Jeanne M. ALDENHOFF, 1973. Bitter tasting compounds of beer. Chemistry and taste properties of some hop resin compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **21**(4), 535-543. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf60188a005
- [25] ASHURST, P. R., 1967. The Chemistry of the Hop Resins. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products / Progrès dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles*. Vienna: Springer Vienna, 1967, 63-89. ISBN 978-3-7091-8166-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-7091-8164-5\_2
- [26] DE KEUKELEIRE, Denis, 2000. Fundamentals of beer and hop chemistry. *Química Nova*. **23**(1), 108-112. ISSN 0100-4042. Dostupné z: doi:10.1590/S0100-40422000000100019
- [27] ZHANG, Guoqing, Nan ZHANG, Anran YANG, Jingling HUANG, Xueni REN, Mo XIAN a Huibin ZOU. Hop bitter acids: resources, biosynthesis, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-021-11329-4
- [28] MIKYŠKA, A., JURKOVÁ, M., ČEJKA, P., KROFTA, K., 2012: *Nové poznatky o hořkosti beta kyselin chmele*. Sborník přednášek a plných textů XX. konference technologie a hodnocení výrobků nápojového průmyslu, Plzeň 14. a 15. června 2012. ISBN 978-80-7080-831-3.
- [29] EYRES, Graham a Jean-Pierre DUFOUR, 2009. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2009, 239-254. ISBN 9780123738912. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-373891-2.00022-5
- [30] MOŠTEK, J. a J. ČEPIČKA, 1969. Chemism of volatile oils present in hops and their role in brewing industry. *Kvasny Prumysl*. **15**(12), 259-265. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1969026
- [31] RETTBERG, Nils, Martin BIENDL a Leif-Alexander GARBE, 2018. Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools—A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. **76**(1), 1-20. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1080/03610470.2017.1402574

- [32] SHARPE, F. R. a D. R. J. LAWS, 1981. THE ESSENTIAL OIL OF HOPS A REVIEW. *Journal of the Institute of Brewing*. **87**(2), 96-107. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1981.tb03996.x
- [33] DE KEUKELEIRE, Denis, Luc DE COOMAN, Haojing RONG, Arne HEYERICK, Jogen KALITA a Stuart R. MILLIGAN, 1999. Functional Properties of Hop Polyphenols. *Plant Polyphenols 2*. Boston, MA: Springer US, 1999, 739-760. ISBN 978-0-306-46218-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-4139-4\_41
- [34] MIKYŠKA, A., M. HRABÁK, D. HAŠKOVÁ a J. ŠROGL, 2002. The Role of Malt and Hop Polyphenols in Beer Quality, Flavour and Haze Stability. *Journal of the Institute of Brewing*. **108**(1), 78-85. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2002.tb00128.x
- [35] ALONSO-ESTEBAN, José Ignacio, José PINELA, Lillian BARROS, et al., 2019. Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. *Industrial Crops and Products*. **134**, 154-159. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2019.04.001
- [36] NESVADBA, Vladimír, Zdeňka POLONČÍKOVÁ a Alena HENYCHOVÁ, 2012. Brewing characteristics of Czech fine aroma hops "Saaz." *Kvasny Prumysl*. **58**(7-8), 209-214. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2012020
- [37] NESVADBA, Vladimír, Zdeňka POLONČÍKOVÁ, Alena HENYCHOVÁ, Karel KROFTA a Josef PATZAK, 2012. *Czech hop varieties*. 1. Žatec: Chmelařský institut s.r.o. ISBN 978-80-87357-11-8.
- [38] NOVOTNÝ, Petr, 2019. *Pivařka<sup>2</sup>: průvodce domácího sládky : teorie, rady, návody, recepty*. V Brně: Jota. Populárně naučná. ISBN 978-80-7565-555-4.
- [39] NESVADBA, V., Brynda, M., Henychová, A., Ježek, J., Kořen, J., Krofta, K., Malířová, I., Patzak, J., Polončíková, Z., Svoboda, P., Valeš, V., Vostřel, J. (2013): *Vývoj a tradice českých odrůd chmele*. Chmelařský institut, Žatec, 104 s. ISBN 978-80-87357-11-8.
- [40] KROFTA, Karel, Miroslav BRYNDA a Vladimír NESVADBA, 2010. *Rajonizace českých odrůd chmele*. 1. Žatec: Chmelařský institut. ISBN 978-80-87357-04-0.
- [41] KROFTA, K., 2011. Comparison of quality parameters of Czech and foreign hop varieties. *Plant, Soil and Environment*. **49**(6), 261-268. ISSN 12141178. Dostupné z: doi:10.17221/4123-PSE
- [42] PLUHÁČKOVÁ, Helena, Jaroslava EHRENBERGEROVÁ, Pavel KRETEK a Blanka KOCOURKOVÁ, 2011. Hop essential oils in the selected varieties from differently old hop yards. *Kvasny Prumysl*. **57**(7-8), 266-271. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2011030
- [43] JELÍNEK, L., M. ŠNEBERGER, M. KARABÍN a P. DOSTÁLEK, 2010. Comparison of Czech hop cultivars based on their content of secondary metabolites. *Czech Journal of Food Sciences*. **28**(4), 309-316. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/65/2010-CJFS
- [44] NESVADBA, Vladimír, Jitka CHARVÁTOVÁ, Josef VOSTŘEL a Markéta WERSCHALLOVÁ, 2020. Evaluation of Czech hop cultivars since 2010 till 2019. *Plant, Soil and Environment*. **66**(12), 658-663. ISSN 12141178. Dostupné z: doi:10.17221/430/2020-PSE
- [45] *Svaz pěstitelů chmele České republiky* [online], 2010. Žatec: Chmelařský institut [cit. 2021-4-27]. Dostupné z: [http://www.czhops.cz/index.php?option=com\\_content&view=article&id=48%3Asladek&catid=34%3Aceske-odrudy-chmele&Itemid=55&lang=cs](http://www.czhops.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=48%3Asladek&catid=34%3Aceske-odrudy-chmele&Itemid=55&lang=cs)

- [46] KROFTA, Karel, Josef PATZAK, Vladimír NESVADBA, Alexandr MIKYŠKA, Martin SLABÝ a Pavel ČEJKA, 2013. The Czech hop hybrid varieties - Part I. *Kvasny Prumysl.* **59**(1), 2-13. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2013001
- [47] KOSAŘ, Karel, 2000. *Technologie výroby sladu a piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 80-902-6586-3.
- [48] KROFTA, Karel a Josef PATZAK, 2011. Investigation of Czech hop varieties authenticity by means of chemical and genetic analyses. *Kvasny Prumysl.* **57**(7-8), 296-304. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2011035
- [49] KROFTA, Karel, Alexandr MIKYŠKA, Josef PATZAK, Martin SLABÝ, Vladimír NESVADBA a Pavel ČEJKA, 2013. VITAL - The Czech hop hybrid varieties - Part II. *Kvasny Prumysl.* **59**(7-8), 190-197. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2013019
- [50] KROFTA, Karel, Josef PATZAK, Tomáš SEDLÁK, Alexandr MIKYŠKA, Karel ŠTĚRBA a Marie JURKOVÁ, 2019. Kazbek – The First Czech Aroma “Flavor Hops” Variety: Characteristics and Utilization. *KVASNY PRUMYSL.* **65**(2). ISSN 2570-8619. Dostupné z: doi:10.18832/kp2019.65.72
- [51] EYRES, Graham a Jean-Pierre DUFOUR, 2009. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2009, 239-254. ISBN 9780123738912. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-373891-2.00022-5
- [52] VAN OPSTAELE, Filip, Brecht DE CAUSMAECKER, Guido AERTS a Luc DE COOMAN, 2012. Characterization of Novel Varietal Floral Hop Aromas by Headspace Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry/Olfactometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **60**(50), 12270-12281. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf304421d
- [53] YANG, Xiaogen., Cindy. LEDERER, Mina. MCDANIEL a Max. DEINZER, 1993. Chemical analysis and sensory evaluation of hydrolysis products of humulene epoxides II and III. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **41**(8), 1300-1304. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf00032a026
- [54] PARKIN, Ellen a Thomas SHELLHAMMER, 2017. Toward Understanding the Bitterness of Dry-Hopped Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists.* **75**(4), 363-368. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2017-4311-01
- [55] KROFTA, Karel, Vladimír NESVADBA, Alexandr MIKYŠKA a Danuša HAŠKOVÁ, 2009. Harmonie - Czech aroma hop variety. *Kvasny Prumysl.* **55**(7-8), 170-176. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2009017
- [56] KROFTA, K., V. NESVADBA, J. ČEPIČKA a A. MIKYŠKA, 2002. Agnus - First Czech High-Alpha Hop Variety. *Kvasny Prumysl.* **48**(9), 239-244. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2002018
- [57] NESVADBA, V. a K. KROFTA, 2011. New hop variety Agnus as the result of breeding process innovation in the Czech Republic. *Plant, Soil and Environment.* **48**(11), 513-517. ISSN 12141178. Dostupné z: doi:10.17221/4405-PSE
- [58] MIKYŠKA, Alexandr a Marie JURKOVÁ, 2019. Analysis and prognosis of bitter acids content in Czech hop varieties - year 2018 and long-term comparisons and trends. *KVASNY PRUMYSL.* **65**(1), 23-31. ISSN 2570-8619. Dostupné z: doi:10.18832/kp2019.65.23
- [59] NESVADBA, Vladimír, Jana OLŠOVSKÁ, Lenka STRAKOVÁ a Jitka CHARVÁTOVÁ, 2021. Evaluation of Czech hop varieties. *KVASNY PRUMYSL.* **67**(2), 428-434. ISSN 2570-8619. Dostupné z: doi:10.18832/kp2021.67.428
- [60] KROFTA, K., J. ČEPIČKA a J. KUBÍČEK, 1999. The using of new Czech hybrid varieties of hops in brewing industry. *Kvasny Prumysl.* **45**(7), 187-190. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1999014

- [61] KOVAŘÍK, Michal, 2014. *Český chmel 2014*. 1. Těšnov 17, 117 05 Praha 1: Ministerstvo zemědělství. ISBN 978-80-7434-161-8.
- [62] LEWIS, Michael J. a Tom W. YOUNG, 2001. Water for brewing. *Brewing*. Boston, MA: Springer US, 2001, 57-70. ISBN 978-0-306-47274-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-0729-1\_4
- [63] EUMANN, M., 2006. Water in brewing. *Brewing*. Elsevier, 2006, 183-207. ISBN 9781845690038. Dostupné z: doi:10.1533/9781845691738.183
- [64] PUNČOCHÁŘOVÁ, Lenka, Jaromír POŘÍZKA, Pavel DIVIŠ a Václav ŠTURSA, 2019. Study of the influence of brewing water on selected analytes in beer. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 13(1), 507-514. ISSN 1337-0960. Dostupné z: doi:10.5219/1046
- [65] LODOLO, Elizabeth J., Johan L.F. KOCK, Barry C. AXCELL a Martin BROOKS, 2008. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* â the main character in beer brewing. *FEMS Yeast Research*. 8(7), 1018-1036. ISSN 15671356. Dostupné z: doi:10.1111/j.1567-1364.2008.00433.x
- [66] SIGLER, Karel a Dagmar MATOULKOVÁ, 2011. Stress responses in brewing yeast. *Kvasny Prumysl*. 57(7-8), 277-284. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2011032
- [67] DICKINSON, J. R., 2008. Filament formation in *Saccharomyces cerevisiae* — a review. *Folia Microbiologica*. 53(1), 3-14. ISSN 0015-5632. Dostupné z: doi:10.1007/s12223-008-0001-6
- [68] BARTH, Roger, 2013. The Chemistry of Beer. Using Food To Stimulate Interest in the Chemistry Classroom. Washington, DC: American Chemical Society, 2013-01-17, 37-47. ACS Symposium Series. ISBN 9780841228184. Dostupné z: doi:10.1021/bk-2013-1130.ch004
- [69] KUBEŠ, Slavomír a Martina KLÍMOVÁ, 2018. Plzeňský pivovar navýšil výrobu o třetinu. *Český rozhlas Plzeň* [online]. Plzeň, 19.6.2018 [cit. 2021-7-3]. Dostupné z: <https://plzen.rozhlas.cz/plzensky-pivovar-navysil-vyrobu-o-tretinu-7541873>
- [70] WILLAERT, Ronnie, 2007. The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer Fermentation. CHANDAN, R.C., S. CLARK, N. CROSS, J. DOBBS a W.J. HURST. *Handbook of food products manufacturing*. 1. United States of America: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, s. 444-461. ISBN 978-0-470-04964-8.
- [71] LAGUNAS, R., 1979. Energetic irrelevance of aerobiosis for *S. cerevisiae* growing on sugars. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 27(3), 139-146. ISSN 0300-8177. Dostupné z: doi:10.1007/BF00215362
- [72] LAFONTAINE, Scott R. a Thomas H. SHELLHAMMER, 2018. Impact of static dry-hopping rate on the sensory and analytical profiles of beer. *Journal of the Institute of Brewing*. 124(4), 434-442. ISSN 0046-9750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.517
- [73] PODESZWA, Tomasz a Joanna HARASYM, 2016. NEW METHODS OF HOPPING (DRYHOPPING) AND THEIR IMPACT ON SENSORY PROPERTIES OF BEER. *Acta Innovations*. Department of Biotechnology and Food Analysis, Faculty of Engineering and Economics, Wrocław University of Economics, 21, 81-88. ISSN 2300-5599.
- [74] JELÍNEK, Lukáš, Jana MÜLLEROVÁ, Marcel KARABÍN a Pavel DOSTÁLEK, 2018. The secret of dry hopped beers - Review. *Kvasny Prumysl*. 64(6), 287-296. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp201836
- [75] OLŠOVSKÁ, Jana, Pavel ČEJKA, Karel ŠTĚRBA, Martin SLABÝ a František FRANTÍK, 2017. *Senzorická analýza piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 978-80-86576-74-9.
- [76] OLŠOVSKÁ, Jana, 2015. *Měření původního extraktu mladiny*. Zvíkovské Podhradí: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský.

- [77] NAURATO, Nicholas, Peggy WONG, Ying LU, Karol WROBLEWSKI a Anders BENNICK, 1999. Interaction of Tannin with Human Salivary Histatins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(6), 2229-2234. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf981044i
- [78] Select Science [online], 2021. [cit. 2021-7-16]. Dostupné z: <https://www.selectscience.net/products/dma-4500-m/?prodID=210663>
- [79] IRINA, Nikolova. *Chromatografické metody*. Oddělení ochrany čistoty ovzduší. Ústí nad Labem: Český hydrometeorologický ústav.
- [80] P., ZACHAŘ a SÝKORA D., 2003. *Plynová chromatografie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1-6.
- [81] LERMUSIEAU, Guillaume, Marie BULENS a Sonia COLLIN, 2001. Use of GC-Olfactometry to Identify the Hop Aromatic Compounds in Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(8), 3867-3874. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf0101509
- [82] ŠTĚRBA, Karel, Pavel ČEJKA, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Karel KROFTA, Martin PAVLOVIČ, Alexander MIKYŠKA a Jana OLŠOVSKÁ, 2018. Determination of Linalool in Different Hop Varieties Using a New Method Based on Fluidized-Bed Extraction with Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Detection. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 73(2), 151-158. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2015-0406-01
- [83] MASOODI, Khalid Z., Sameena Maqbool LONE a Rovidha Saba RASOOL, 2021. Ion-exchange chromatography. *Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology*. Elsevier, 2021, 151-154. ISBN 9780128244494. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-824449-4.00027-X
- [84] BAHADIR, Ozlem, 2013. *Ion-Exchange Chromatography and Its Applications*. Column Chromatography. InTech, 2013-04-10. ISBN 978-953-51-1074-3. Dostupné z: doi:10.5772/55744
- [85] BEYNON, John Herbert and BROWN, Louis. "mass spectrometry". *Encyclopedia Britannica*, Invalid Date, <https://www.britannica.com/science/mass-spectrometry>. Accessed 16 July 2021
- [86] NODA, Masanori, Kiichi FUKUI a Susumu UCHIYAMA, 2016. *Mass Spectrometry*. *Advanced Methods in Structural Biology*. Tokyo: Springer Japan, 2016-07-21, 185-198. Springer Protocols Handbooks. ISBN 978-4-431-56028-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-4-431-56030-2\_11
- [87] GHOSH, Somsubhra, PRASANNA, V.L. SOWJANYA B., SRIVANI, P. ALAGARAJA, M., BANJI, David. (2013). *Inductively coupled plasma - Optical emission spectroscopy: A review*. *Asian J. Pharm. Ana.* 3. 24-33.
- [88] PARKIN, Ellen a Thomas SHELLHAMMER, 2017. Toward Understanding the Bitterness of Dry-Hopped Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 75(4), 363-368. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2017-4311-01
- [89] PARKIN, Ellen Jane, 2014. *The Influence of Polyphenols and Humulinones on Bitterness in Dry-Hopped Beer*. Master thesis. Oregon State University.
- [90] OLADOKUN, Ola a Trevor COWLEY, 2017. Dry-Hopping: the Effects of Temperature and Hop Variety on the Bittering Profiles and Properties of Resultant Beers. *Brewing science*. 70(11), 187-196. Dostupné z: doi:10.23763/BRSC17-18OLADOKU
- [91] YVES WERRIE, PIERRE, 2018. *STUDY OF HOP ENZYMATIC ACTIVITY DURING DRY-HOPPING AND ITS IMPACT ON YEAST PHYSIOLOGY AND ON THE BEERAROMA PROFILE: A SUGAR STORY*. France. Master thesis. Liege

- université, Gembloux Agro-Bio Tech. Vedoucí práce PROF. MARIE-LAURE FAUCONNIER, DR. IR. SYLVIE DECKERS.
- [92] ČEJKA, P., J. ČEPIČKA, P. ZÍTEK a G. BASAŘOVÁ, 1983. Comparison of subjective and objective methods for a colorimetric measurement of wort. *Kvasny Prumysl.* 29(3), 52-56. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1983009
- [93] GUYOT-DECLERCK, Christine, Nancy FRANÇOIS, Christian RITTER, Bernadette GOVAERTS a Sonia COLLIN, 2005. Influence of pH and ageing on beer organoleptic properties. A sensory analysis based on AEDA data. *Food Quality and Preference.* 16(2), 157-162. ISSN 09503293. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodqual.2004.04.007
- [94] INTELMANN, Daniel, Gesa HASELEU, Andreas DUNKEL, Annika LAGEMANN, Andreas STEPHAN a Thomas HOFMANN, 2011. Comprehensive Sensomics Analysis of Hop-Derived Bitter Compounds during Storage of Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 59(5), 1939-1953. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf104392y
- [95] MONTANARI, Luigi, Heidi MAYER, Ombretta MARCONI a Paolo FANTOZZI, 2008. Minerals in Beer. *Beer in Health and Disease Prevention 1st Edition.* 1. Via San Costanzo, Perugia, Italy: Italian Brewing Research Centre (CERB), University of Perugia, s. 359-364. ISBN 9780123738912.
- [96] NISHIHARA, Hiroshi, Tetsuya FUJITA, Naomi YOKOI a Masaomi TAKAO, 1994. STUDIES ON FLOCCULATION OF SACCAROMYCES DIASTATICUS , ESPECIALLY IRREVERSIBLE DEFLOCCULATION BY FE (III)\*. *Journal of the Institute of Brewing.* 100(6), 427-430. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1994.tb00842.x
- [97] ŠEMÍK, P., 2002. Plant Experiences in Additioning of Calcium During Wort Production. *Kvasny Prumysl.* 48(7), 192-195. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2002017
- [98] POHL, Pavel, 2009. Metals in Beer. *Beer in health and disease prevention.* 1. USA: Academic Press is an imprint of Elsevier, s. 349-361. ISBN 978-0-12-373891-2. Division of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Wroclaw University of Technology, Wroclaw, Poland.
- [99] STYBURSKI, Daniel, Katarzyna JANDA, Irena BARANOWSKA-BOSIACKA, et al., 2018. Beer as a potential source of macroelements in a diet: the analysis of calcium, chlorine, potassium, and phosphorus content in a popular low-alcoholic drink. *European Food Research and Technology.* 244(10), 1853-1860. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-018-3098-0
- [100] FERNANDES, Sílvia M. V., António O. S. S. RANGEL a José L. F. C. LIMA, 1997. Flow Injection Determination of Sodium, Potassium, Calcium, and Magnesium in Beer by Flame Emission and Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 45(4), 1269-1272. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf9604347
- [101] WALKER, G. M., R. M. BIRCH, G. CHANDRASENA a A. I. MAYNARD, 2018. Magnesium, Calcium, and Fermentative Metabolism in Industrial Yeasts. *Journal of the American Society of Brewing Chemists.* 54(1), 13-18. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-54-0013
- [102] WIETSTOCK, P. C., T. KUNZ, H. WATERKAMP a F.-J. METHNER, 2018. Uptake and Release of Ca, Cu, Fe, Mg, and Zn during Beer Production. *Journal of the American Society of Brewing Chemists.* 73(2), 179-184. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2015-0402-01
- [103] BLANCO, Carlos A, Isabel CABALLERO, Antonio ROJAS, Manuel GOMEZ a Javier ALVAREZ, 2003. Chelation of aqueous iron(III) by 2-acetyl-1,3-

- cyclohexanedione and beer ageing. *Food Chemistry*. 81(4), 561-568. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(02)00491-0
- [104] LUYKX, Josepha M. M., 1960. INFLUENCE OF METAL IONS ON BEER PROPERTIES, WITH SPECIAL REFERENCE TO FOAM. *Journal of the Institute of Brewing*. 66(5), 399-407. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1960.tb01732.x
- [105] POHL, Pawel, 2008. Determination and fractionation of metals in beer: A review. 25(6), 693-703. ISSN 1944-0049. Dostupné z: doi:10.1080/02652030701772323
- [106] PORTER, Jason R. a Charles W. BAMFORTH, 2018. Manganese in Brewing Raw Materials, Disposition during the Brewing Process, and Impact on the Flavor Instability of Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 74(2), 87-90. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2016-2638-01
- [107] OÑATE-JAÉN, A., D. BELLIDO-MILLA a M.P. HERNÁNDEZ-ARTIGA, 2006. Spectrophotometric methods to differentiate beers and evaluate beer ageing. *Food Chemistry*. 97(2), 361-369. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2005.05.010
- [108] JENKINS, David, Sue JAMES, Frida DEHRMANN, Katherine SMART a David COOK, 2018. Impacts of Copper, Iron, and Manganese Metal Ions on the EPR Assessment of Beer Oxidative Stability. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 76(1), 50-57. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1080/03610470.2017.1402585
- [109] COOTE, N. a B. H. KIRSOP, 1974. THE CONTENT OF SOME ORGANIC ACIDS IN BEER AND OTHER FERMENTED MEDIA. *Journal of the Institute of Brewing*. 80(5), 474-483. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1974.tb06797.x
- [110] MONTANARI, Luigi, Giuseppe PERRETTI, Fausta NATELLA, Alessia GUIDI a Paolo FANTOZZI, 1999. Organic and Phenolic Acids in Beer. *LWT - Food Science and Technology*. 32(8), 535-539. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1006/fstl.1999.0593
- [111] KLOPPER, W. J., S. A. G. F. ANGELINO, B. TUNING a H. A. VERMEIRE, 1986. ORGANIC ACIDS AND GLYCEROL IN BEER. *Journal of the Institute of Brewing*. 92(3), 225-228. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1986.tb04405.x
- [112] LI, g a Fang LIU, 2018. Changes in Organic Acids during Beer Fermentation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 73(3), 275-279. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2015-0509-01
- [113] LI, Hong a Fang LIU, 2015. The chemistry of sour taste and the strategy to reduce the sour taste of beer. *Food Chemistry*. 185, 200-204. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.135
- [114] TYRELL, Thomas, 2018. Strategies for Reducing Succinic Acid Concentrations in Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 72(4), 246-252. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2014-1010-01
- [115] BUIATTI, Stefano, 2009. Beer Composition: An Overview. PREEDY, Victor. *Beer in health and disease prevention*. 1. USA: Academic Press is an imprint of Elsevier, s. 213-226. ISBN 978-0-12-373891-2. Division of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Wroclaw University of Technology, Wroclaw, Poland.
- [116] SUZUKI, Koji, Kazumaru IJIMA, Kanta SAKAMOTO, Manabu SAMI a Hiroshi YAMASHITA, 2006. A Review of Hop Resistance in Beer Spoilage Lactic Acid Bacteria. *Journal of the Institute of Brewing*. 112(2), 173-191. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2006.tb00247.x

- [117] [online]. [cit. 2021-7-23]. Dostupné z: <http://genderi.org/bakterie-mlnho-kvaen-bmk-jsou-heterogenn-skupinou-mikroorganismu.html>
- [118] TAKOI, Kiyoshi, Koichiro KOIE, Yutaka ITOGA, Yuta KATAYAMA, Masayuki SHIMASE, Yasuyuki NAKAYAMA a Junji WATARI, 2010. Biotransformation of Hop-Derived Monoterpene Alcohols by Lager Yeast and Their Contribution to the Flavor of Hopped Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(8), 5050-5058. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf1000524
- [119] Investigating the Factors Impacting Aroma, Flavor, and Stability in Dry-Hopped Beers, 2019. *Technical Quarterly*. ISSN 07439407. Dostupné z: doi:10.1094/TQ-56-1-0225-01
- [120] TAKOI, 2014. Screening of Geraniol-rich Flavor Hop and Interesting Behavior of beta-Citronellol During Fermentation under Various Hop-Addition Timings. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. ISSN 03610470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2014-0116-01
- [121] HASLBECK, BUB, SCHÖNBERGER, ZARNKOW, JACOB a COELHAN, 2017. On the Fate of  $\beta$ -Myrcene during Fermentation – The Role of Stripping and Uptake of Hop Oil Components by Brewer's Yeast in Dry- Hopped Wort and Beer. *Brewing Science*. 70(11), 159-169. Dostupné z: doi:10.23763/BrSc17-16haslbeck
- [122] MIKYŠKA, Alexandr, Jana OLŠOVSKÁ, Martin SLABÝ, et al., 2018. Analytical and sensory profiles of Slovenian and Czech hop genotypes in single hopped beers. *Journal of the Institute of Brewing*. 124(3), 209-221. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.494
- [123] EYRES, Graham a Jean-Pierre DUFOUR, 2009. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2009, 239-254. ISBN 9780123738912. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-373891-2.00022-5



## **7. SEZNAM ZKRATEK**

ŽPČ – Žatecký poloraný červeňák

W.K. – Jednotky Windische-Kolbacha vyjadřující hmotnost maltózy v gramech vzniklé působením amyláz ze 100 g sladu.

IBU – International Bittering Unit

EPM – extrakt původní mladiny

EBC – European Brewery Convention

## 8. PŘÍLOHY

### 8.1 Senzorické hodnocení piva

muž x žena

kuřák x nekuřák

zdravotní stav:

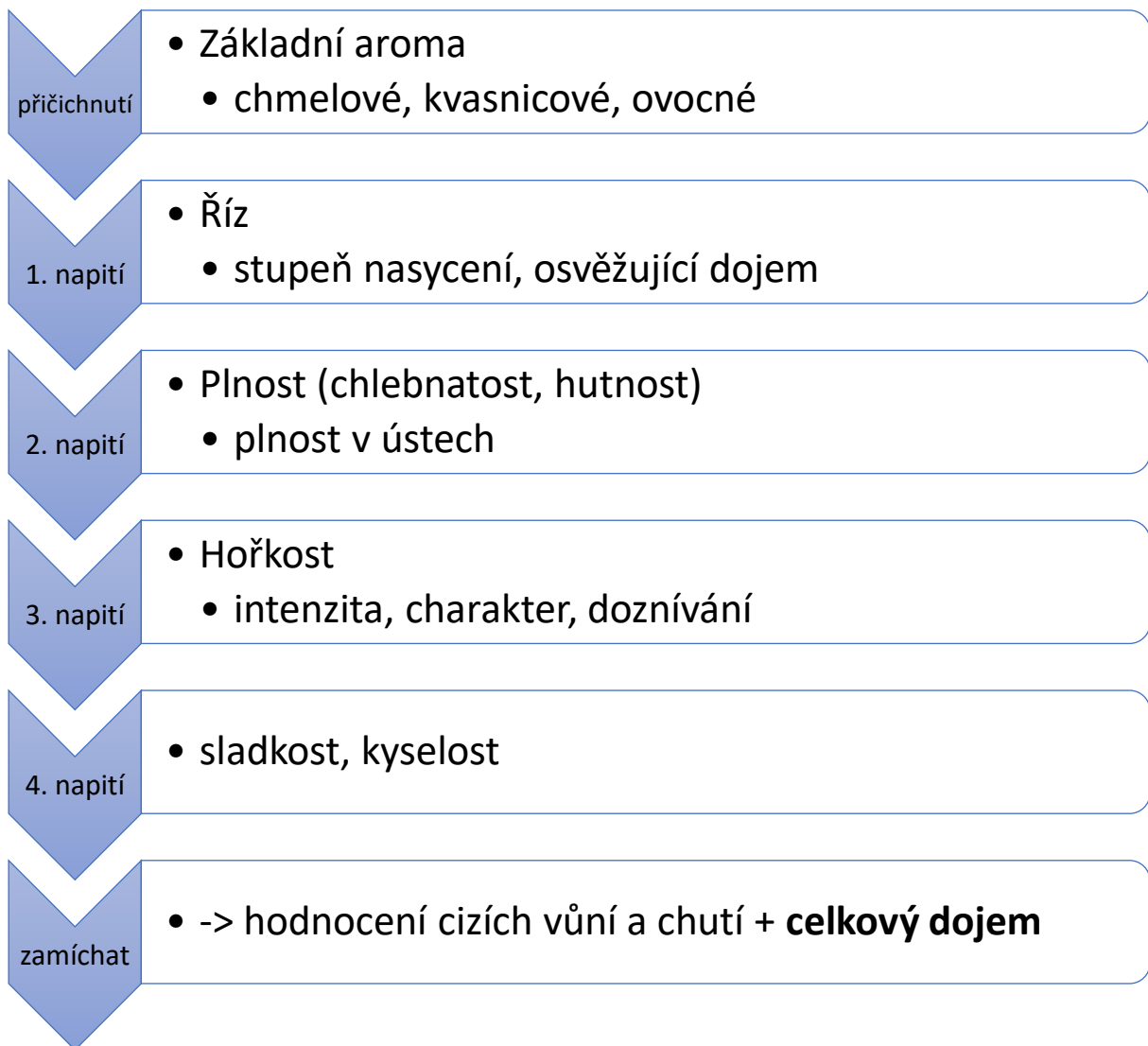
Oblíbenost nápoje: 1) pivo je pro mě velmi oblíbené – konzumuji často

2) pivo je pro mě oblíbené – konzumuji občas

3) pivo je pro mě neoblíbené – nekonzumuji

Postup hodnocení piva:

Jako první Vám bude předložen referenční vzorek, u něhož nebylo provedeno studené chmelení, vzorek se nehodnotí. Další vzorky byly chmeleny za studena, přičemž výchozím pivem bylo referenční pivo (první nehodnocený vzorek).



Intenzita **chmelového** aroma: stupnice 0 (žádné) až 5 (velmi intenzivní)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Celkové aroma: slovní hodnocení dle přiloženého kruhového schéma (např. kvasničná, ovocná, květinová...)


Říz: stupnice 0 (žádné) až 5 (velmi intenzivní)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Plnost: stupnice 0 (velmi lehké) až 5 (plné, hutné)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Intenzita hořkosti: hodnotíme 15 s po polknutí - 0 (žádná) až 5 (velmi intenzivní)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Charakter hořkosti: stupnice 1 (velmi jemná hořkost) až 5 (velmi drsná až nepříjemná)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Doznívání hořkosti: hodnotíme cca 40 s po napití – stupnice 1 (krátké) až 5 (ulpívající)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Sladkost: stupnice 0 (žádná) až 5 (sladké)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Kyselost: stupnice 0 (žádná) až 5 (velmi kyselé – nepitelné)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

Cizí chutě a vůně: pokud jsou přítomny – hodnocení dle kruhového schéma


Celkový subjektivní dojem: stupnice 1 (velmi dobré) až 9 (nepřijatelné)

Číslo vzorku							
Hodnocení							

## Kruhové schéma chutí a vůní piva

