



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

PŘEDÚPRAVA CHMELE PRO DALŠÍ ZPRACOVÁNÍ V PIVNÍ TECHNOLOGII

PRETREATMENT OF HOPS FOR FURTHER PROCESSING IN BEER TECHNOLOGY

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Anna Tichá

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1729/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Anna Tichá**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Předúprava chmele pro další zpracování v pivní technologii

Zadání diplomové práce:

Cílem této práce je otestovat vliv kryogenní modifikace chmelového materiálu na extraktivitu látek zásadních pro pivní technologii.

V rámci diplomové práce budou řešeny tyto dílčí úkoly:

1. Zajistit vakuovaný chmel ve formě pelet a šištic různých odrůd.
2. Provést zmrazení chmelového materiálu při různých teplotách až do -80°C s různou dobou setrvání.
3. Provést simulovaný chmelovar do modelové sladiny v laboratorních podmínkách za použití výchozích i modifikovaných chmelů.
4. Provést extrakci za studena pomocí výchozích a modifikovaných chmelů.
5. Analyzovat vzorky z hlediska obsahu hořkých látek, chmelových silic, fenolických sloučenin a prvků.
6. Vyhodnotit experimentální data.
7. Definovat závěry práce.

Termín odevzdání diplomové práce: 22.5.2022:

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

Bc. Anna Tichá
studentka

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá předúpravami chmele pro další zpracování v pivní technologii. V experimentální části práce byl zkoumán konkrétně vliv působení nízkých teplot, jakožto předúpravy chmele, na sledované parametry. Byly zkoumány tři typy chladové předúpravy. Ve dvou případech se jednalo o zmražení chmelového materiálu pomocí mrazícího zařízení na teploty $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ve druhém případě na $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ve třetím případě byl chmelový materiál upravován pomocí kontaktu s tekutým dusíkem v kombinaci s mechanickou úpravou rozmělněním. Jako chmelový materiál byl využit chmel odrůdy Žatecký poloraný červeňák, který byl ve formě pelet nebo lisovaných chmelových hlávek. Zkoumána byla celková hořkost vzorků, celkový obsah fenolických látek, celkový obsah flavonoidů, antioxidační aktivita a koncentrace silic, konkrétně myrcenu humulenu a geraniolu. Vliv předúprav vzorků byl zkoumán při běžném chmelovaru i při studeném chmelení. Součástí experimentální části jsou popisy postupu chmelení, popisy postupů jednotlivých analytických metod. U každého vzorku bylo provedeno paralelní měření. Výrazné výhody či nevýhody některé z předúprav nebyly prokazatelné, nicméně nejvýraznější odlišnosti byly pozorovány u vzorků chmelených pomocí chmele předupraveného mražením na teplotu $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, který měl pozitivní vliv zejména na množství vyextrahovaných silic při studeném chmelení.

KLÍČOVÁ SLOVA

Předúprava chmele, chmel, pivo, cryo hops, antioxidační aktivita, fenolické látky, flavonoidy, hořkost, silice, studené chmelení, chmelovar, Žatecký poloraný červeňák

ABSTRACT

This diploma thesis deals with pre-treatment of hops for further processing in beer technology. In the experimental part of the work, the effect of low temperatures, as pre-treatment of hops, on the monitored parameters was observed. Three types of cold pretreatment were used. In two cases, the hop material was frozen using a freezer at -25°C and in the second case at -70°C . In the third case, the hop material was treated by contact with liquid nitrogen in combination with mechanical treatment. The variety of hop material was Žatecký poloraný červeňák, which were in the form of pellets or pressed hop cones. The total bitterness of the samples, the total content of phenolic substances, the total content of flavonoids, the antioxidant activity and the concentration of essential oils, specifically myrcene humulene and geraniol, were examined. The effect of pre-treatment was investigated during conventional wort boiling as well as dryhopping. The experimental part includes descriptions of the hopping process, descriptions of individual analytical methods. A parallel measurement was performed on each sample. Significant advantages or disadvantages of some of the pretreatments were not demonstrable, however, the most significant differences were observed in samples hopped with hops pretreated by freezing at -70°C , which had a positive effect on the amount of extracted essential oils during cold hops.

KEY WORDS

Pretreatment of hops, hops, beer, cryochmel, antioxidant activity, phenolic substances, flavonoids, bitterness, essential oils, dry hopping, wort boiling, Saaz

TICHÁ, Anna. Předúprava chmele pro další zpracování v pivní technologii. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139294>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Jaromír Pořízka.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. 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

Ráda bych na tomto místě poděkovala Ing. Lence Punčochářové, díky které mohla být celá práce realizována. Po celou dobu práce mi ochotně poskytovala konzultace a veškerou potřebnou podporu. Dále bych chtěla poděkovat vedoucímu práce Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. za odborné vedení práce a konzultaci výsledků.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část	9
2.1	Historie chmele.....	9
2.2	Botanické zařazení chmele	10
2.3	Chemické složení chmele	10
2.4	Pěstování a posklizňová úprava chmele	12
2.5	Odrůdy chmele.....	13
2.6	Charakteristika Žateckého poloraného červeňáku.....	14
2.7	Chmelové výrobky.....	15
2.7.1	Mechanická úprava.....	15
2.7.2	Chemické úpravy.....	16
2.7.1	Jiné úpravy chmele.....	18
2.7.2	Cryo chmel	19
2.8	Technologie výroby piva	20
2.8.1	Suroviny pro výrobu piva.....	20
2.8.2	Postup výroby piva.....	24
2.9	Analytické metody používané pro stanovení vybraných parametrů v pivě.....	31
2.9.1	GC-MS	31
2.9.2	UV-VIS spektrofotometrie.....	32
3	Praktická část	34
3.1	Laboratorní pomůcky a vybavení	34
3.1.1	Seznam chemikálií	34
3.1.2	Seznam vybavení.....	34
3.2	Příprava chmelového materiálu	35
3.2.1	Mražení za teploty -25 °C	35
3.2.2	Mražení za teploty -70 °C	35
3.2.3	Úprava tekutým dusíkem.....	35
3.3	Chmelovar.....	35
3.4	Studené chmelení.....	36

3.5	Analytické metody.....	36
3.5.1	Stanovení vlhkosti sušením	36
3.5.2	Stanovení chmelových silic pomocí GC/MS	36
3.5.3	Stanovení α - a β -hořkých kyselin pomocí UV-VIS spektrofotometrie.....	37
3.5.4	Stanovení celkových fenolických látek (TPC) pomocí UV-VIS spektrofotometrie	38
3.5.1	Stanovení celkových flavonoidů (TFC) pomocí UV-VIS spektrofotometrie	38
3.5.2	Stanovení antioxidační aktivity pomocí ABTS.....	38
3.5.3	Stanovení hořkosti dle metody EBC 9.8	38
4	Výsledky a diskuse.....	39
4.1	Charakterizace neupraveného chmelového materiálu	39
4.2	Vliv předúprav chmele na extrakci zkoumaných látek při chmelovaru	39
4.2.1	Vliv úpravy chmelového materiálu na hořkost	39
4.2.2	Vliv úprav chmele na obsah fenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivitu	42
4.2.3	Vliv úprav chmelového materiálu na obsah chmelových silic.....	45
4.3	Vliv předúprav na extrakci zkoumaných látek při studeném chmelení.....	49
4.3.1	Vliv chmelových úprav na hořkost	49
4.3.2	Vliv chmelových úprav na obsah fenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivita	50
4.3.3	Vliv chmelových úprav na obsah silic	54
5	Závěr	56

1 ÚVOD

Česká republika je významným vývozcem piva o celosvětově uznávané kvalitě, obliba českého piva se odráží i v množství vypitého piva na obyvatele, v roce 2021 to bylo v průměru 129 litrů na obyvatele [1]. Typickým českým pivem jsou piva tzv. plzeňského typu tedy spodně kvašené ležáky s dobrou pitelností, příjemnou hořkostí a jemným aroma. V posledních letech je viditelný vývoj v oblasti českého pivovarnictví, především rozvojem řemeslných pivovarů, díky tomu se na trhu čím dál častěji objevují nejrůznější exotické pivní styly, jež jsou často velmi odlišné od piv ležáckého typu. Trendy moderního pivovarnictví si žádají neotřelá aroma, výrazné chutě a nové nápady [2], [4], [36].

Jedna z výrobních surovin, bez které by se pivo jednoznačně neobešlo je chmel. Právě chmel a z něho vyrobené přípravky dávají pivu jeho hořkost a unikátní aromatické vlastnosti, a vytváří tak z piva zcela unikátní nápoj. Nesmíme však opomíjet ani technologické přínosy chmele ovlivňující vlastnosti finálního produktu, jako například vliv na stabilitu pivní pěny [2], [4], [36].

Stejně jako pivovarnictví má i samotné chmelařství na území Českých zemí starou a pevnou tradici, možná i proto se do dnešní doby řadíme mezi špičkové pěstitele chmele. Žatecký chmel je díky svému jemnému aroma a hořkosti dokonce považován za určitý standard kvality [2].

S modernizací pivovarnictví přichází často ruku v ruce i používání průmyslově upravených výrobků, jako jsou různé chmelové extrakty nebo přípravky, které obsahují chemicky modifikované analogy iso- α -hořkých kyselin. Důvodem popularity těchto výrobků je hlavně technologické a ekonomické hledisko, ale také lepší chemicko-fyzikální vlastnosti piva po užití těchto přípravků [3]. S modifikovaným chmelem, ať už ve formě pelet, extraktů či jiných chmelových produktů, se lépe manipuluje, je zpřesněno dávkování, zlepšuje se skladovatelnost a zároveň chuťově je často prakticky neodlišitelný. Některé produkty jako například tzv. Tetrahop mohou zlepšovat vlastnosti piva po stránce fyzikální, v tomto případě stabilitu a pěnivost pěny [36].

2 TEORETICKÁ ČÁST

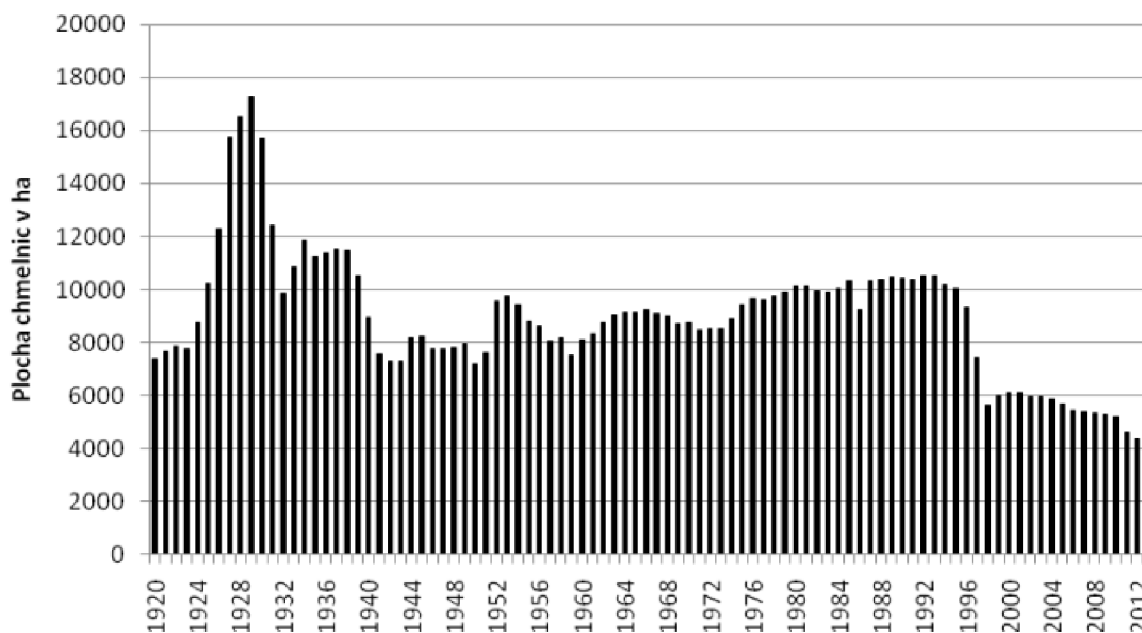
2.1 Historie chmele

Dnešní ušlechtilý chmel pochází zřejmě z divokého chmele otáčivého (*Humulus lupulus*). Tato rostlina vyžaduje dostatek vláhy a planě roste od Evropy až po Asii. Původ chmele jakožto planě rostoucí rostliny sahá až do dávnověku pravděpodobně v úrodných oblastech Kavkazu a jižní Sibiře. Výskyt chmele v Evropě můžeme poprvé potvrdit archeologickými nálezy z mladší doby kamenné. Původně chmel ale nebyl využíván pro ochucení nápojů, ale byl znám spíše pro své lékařské účinky [2]. Zprávy o vaření piva značně předcházejí dokumenty o využití chmele. Uplatnění v pivovarnictví nachází chmel pravděpodobně až kolem 9. století našeho letopočtu [4]. Používání chmele rozšířili zřejmě Slované z území dnešní Ukrajiny, od kterých převzali chmelení sousední germánské kmeny. Není možné s určitostí říci, kdy se začal chmel cíleně vysazovat a pěstovat, ale zprávy z 11. století hovoří o povinném odevzdávání chmele vrchnosti nebo klášteru. V 11. a 12. století byl již chmel zřejmě cíleně pěstován v oblastech jižních Čech, Plzeňska, Boleslavska, Přeloučska, v Praze a dalších lokalitách [5].

V období feudalismu nebylo pěstování chmele ničím omezeno a pivo se tedy vařilo skoro v každé domácnosti. V době vlády Karla IV. došlo k velkému rozvoji chmelařství. Později se vyvinulo i vaření piva na živnost, což vedlo také k zakládání nových chmelnic. S chmelem se začíná již hojně obchodovat, a to také se zapojením znalců chmele. Historické prameny dokládají, že již počátkem 15. století bylo Žatecko významnou chmelařskou oblastí s vysokou kvalitou. V druhé polovině 17. století se vyhraňují požadavky na kvalitu chmele a zřetelně se projevuje zájem o chmel z určitých oblastí jako např. Žatecko, Louny či Ústěcko. Tyto oblasti jsou do dnes známy svým kvalitním chmelem. Vysoká kvalita chmele z určitých oblastí již tehdy lákala k falšování, proto byl za vlády Marie Terezie vydán patent, který nařizoval chmel pečeti a označovat [5].

S technickým pokrokem na konci 18. a v 19. století přichází i novinky v technologii pivovarství. S přičiněním významné osobnosti pivního světa F. O. Poupěte se rozšiřuje používání pokročilejších hospodárných metod a vzkvétá snaha o lepší poznání jednotlivých surovin pro výrobu piva, tedy i chmele. S postupem času se čím dál více dbalo na známkování chmele, a tedy zaručování jeho kvality. S vědeckým pokrokem přichází nové technologie a jejich využívání na chmelnicích. Pokrok je znatelný jak ve vybavení (tepelné sušárny), tak ve šlechtění nových odrůd. Válečné období pěstování chmelu ze zřejmých důvodů neprosperovalo. Po válce se chmelnice začaly opět oživovat a byly převedeny do „společného hospodaření“, tedy znárodněny. V období komunismu probíhaly chmelové brigády a chmelařství u nás hrálo poměrně důležitou roli v československém průmyslu [5]. České chmelařství neodmyslitelně patří k českému zemědělství. V současné době je české chmelařství ve světovém měřítku považováno za velmi kvalitní. V Žatecké chmelařské oblasti bylo vypěstováno celkem 1,30 t/ha, v Ústěcké oblasti celkem 1,24 t/ha a v Tršické oblasti celkem 1,49 t/ha. Přestože světová produkce piva stále stoupá, narůstajícím podílem vysokoobsažných odrůd postupně klesá produkce zeleného chmele. Více než 95 % světové produkce se v současné době

nevyužívá přímo, ale zpracovává se na chmelové výrobky, jako mletý a granulovaný chmel či chmelové extrakty [37].



Obrázek 1 - vývoj českého chmelařství [37]

2.2 Botanické zařazení chmele

Zařazení chmele z botanického hlediska není zcela jednoznačné, ale ve většině případů bývá chmel začleněn do čeledi konopovitých (*Canabinaceae*) [2]. Chmel využívaný pro pivovarnické účely patří pod druh chmel otáčivý (*humulus lupulus* L.). Jedná se o víceletou rostlinu vyskytující se napříč mírným pásmem. Dle specifičtější morfologie je rozlišován chmel evropský, novomexický nebo srdčitolistý. Právě chmel Evropský kulturní (*var culta*) je chmel cíleně pěstěný v tradičních chmelařských oblastech. Dle zbarvení se pak rozlišují odrůdy chmele na červeňáky (typicky Žatecký poloraný červeňák) a zeleňáky [6].

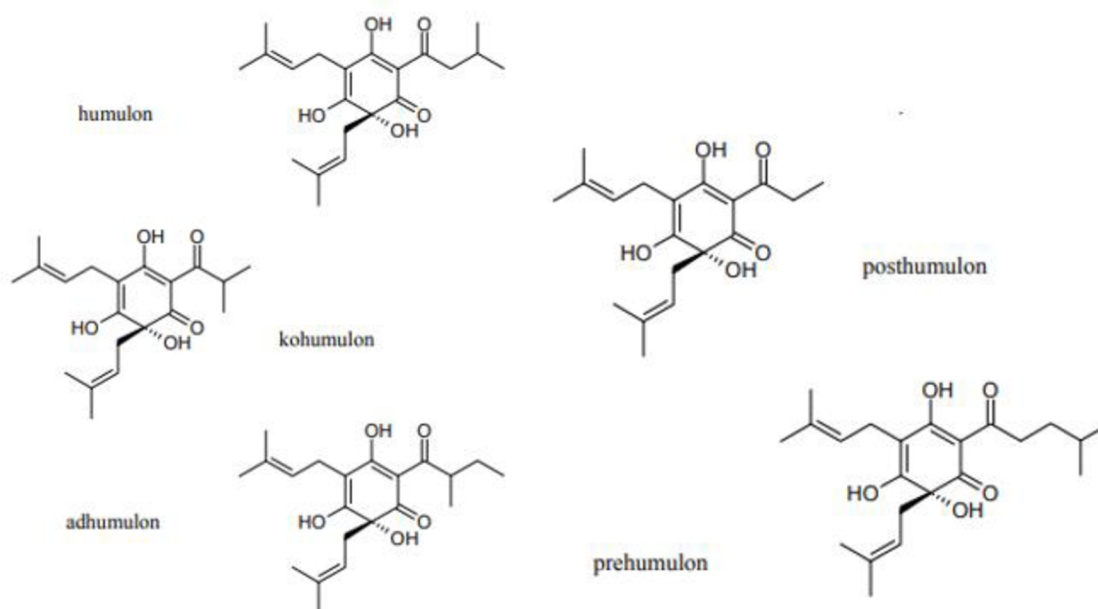
Chmelová rostlina se skládá z kořenové soustavy, révy s pazochy, listů a květenství. Pivovarníci využívají pro chmelení pouze samičí rostliny. Neoplozené hlávky mají lepší pivovarskou kvalitu [2]. Pivovarsky důležité látky se nacházejí v hlávkách, které se posléze vyvinou z květenství. Hlávka obsahuje stopku, věténko, pravé a krycí listeny. Lupulinové žlázy se nacházejí ve speciálních buněčných vakuolách. Obsahují sekundární metabolity, které jsou cenné nejen v pivovarnictví, ale také ve farmacii [2].

2.3 Chemické složení chmele

Chemické složení chmele se odvíjí od odrůdy, provenience, ročníku a způsobu posklizňové úpravy. V průměru obsahuje zhruba 10 % vody, 15 % celkových pryskyřic, 4 % polyfenolových látek, 0,5 % silic, 3 % vosků a lipidů, 15 % dusíkatých látek, 44 %

sacharidických složek a 8 % minerálních látek [7]. Pro kvalitu chmele je rozhodující obsah pivovarsky cenných složek, zejména pryskyřic, polyfenolů a silic.

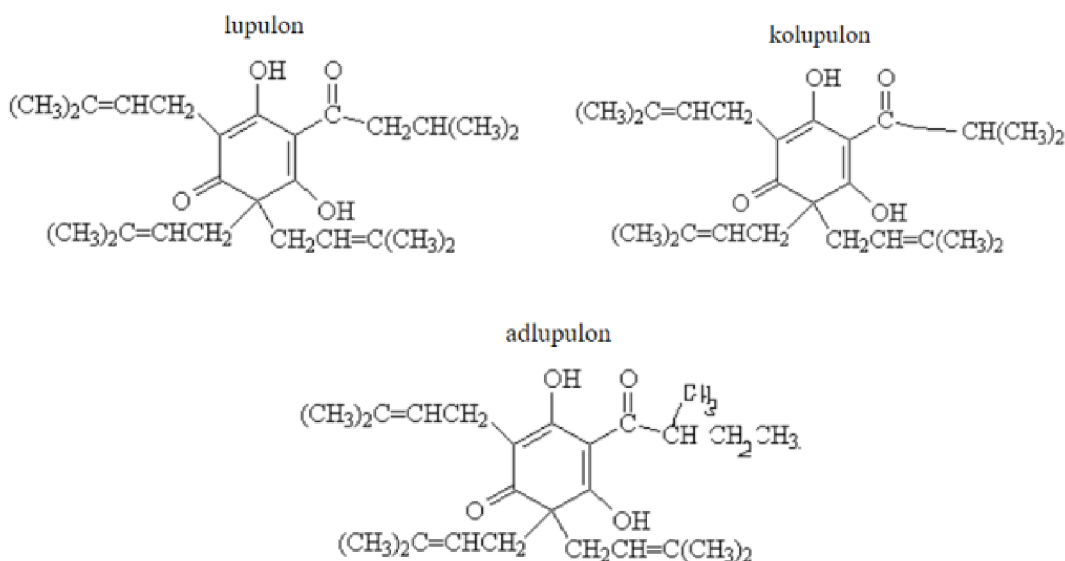
Chmelové pryskyřice mají senzoričtý význam v hořčení piva. Dělí se na měkké a tvrdé pryskyřice. Z pohledu pivovarnictví je nejdůležitější právě frakce měkkých pryskyřic, obsahující α , β a γ kyseliny [2].



Obrázek 2 - strukturální vzorce α -hořkých kyselin [3]

α -Hořké kyseliny jsou směsí několika analogů, které se liší radikálem na druhém uhlíku benzenového jádra [6]. Během chmelovaru dochází k izomeraci α -hořkých kyselin na odpovídající iso- α -hořké kyseliny. Díky tomu dochází ke zvýšení rozpustnosti ve vodě, potažmo vyšší organoleptické hořkosti. Výsledkem reakce jsou dva geometrické izomery každé iso- α -hořké kyseliny, přičemž jejich poměr v pivu je prakticky neměnný a pohybuje se okolo 68:32 ve prospěch cis izomerů. Vzniklé iso- α -hořké kyseliny se v průběhu chmelovaru rozkládají na další produkty [3].

β -Hořké kyseliny jsou směsí několika analogů, z nichž nejvýznamnější jsou kolupulon, lupulon a adlupulon. Přítomnost dalšího isoprenylového bočního řetězce způsobuje, že molekula jako celek má hydrofobnější charakter. β -Hořké kyseliny jsou tedy ve vodě oproti α -hořkým kyselinám mnohem méně rozpustné. Unikátní struktura je na druhé straně zdrojem antimikrobiálních vlastností a schopnosti působit proti celé řadě mikroorganismů a dalších fyziologických účinků na organismus savců [8].



Obrázek 3 - strukturální vzorce nejvíce zastoupených β -hořkých kyselin

Chmelové polyfenoly se uplatňují v průběhu technologie při srážení vysokomolekulárních bílkovin. V kvalitě piva mohou mít pozitivní i negativní význam. Mají redukční schopnosti zamezující oxidaci chmelových pryskyřic a podporují tvorbu lomu při chmelovaru. V průběhu chlazení mladiny a kvasného procesu polyfenoly reagují s dusíkatými látkami a díky tomu dochází k čiření piva. Polyfenoly se také podílejí na plnosti chuti. Pokud však dojde k oxidaci, mohou negativně ovlivnit vzhled i chuť piva. Chmelové polyfenoly mají polární charakter, jsou ve vodě poměrně snadno rozpustné. Tvoří přibližně 20 % celkových polyfenolů v pivě (množství se ale odvíjí od navážky a odrůdy použitého chmele) [2].

Další důležitou skupinou látek ve chmelu jsou rostlinné silice, které patří mezi aromatické látky. Jedná se o směs několika set látek různého chemického složení, jejichž zastoupení závisí především na genetických vlastnostech odrůdy, podmínkách pěstování, sklizně i skladování. Působením vonných a chuťových látek obsažených v chmelových silicích vzniká komplexní vjem, označovaný jako chmelové aroma. Chmelové silice jsou produktem sekundárního metabolismu rostliny. Obsah silic v chmelu se pohybuje okolo 0,4–2,5 %. Nejvíce se vyskytujícími chmelovými silicemi jsou myrcen, karyofylen, humulen a farnesen [9].

2.4 Pěstování a posklizňová úprava chmele

Pro pěstování chmele jsou vhodné především oblasti mírného pásma. Chmel je náročný na světlo, vláhu a teplotu. Vhodná teplota se pohybuje okolo 8 až 10 °C a není vhodné její prudké kolísání v počátcích vegetačního období. Naproti tomu v pozdější fázi růstu se dá kolísání teplot využít ve prospěch spotřebitele např. v případě tzv. cryo chmele, který využívá přemrznutí chmelového materiálu ke zpřístupnění pivovarsky důležitých chmelečných látek. Vhodná půda má neutrální až mírně kyselé pH v rozmezí 5,6 až 7,5 [2].

Před samotnou výsadbou je nutné vystavit opěrnou konstrukci pro chmel, na kterou je možné připevnit vodící drátek a pomocí toho potom vést výhonky mladé rostliny. Pokud by byl růst samovolný, docházelo by k zamotávání chmele do klubek a snížení výnosu rostlin. Půda chmelnice by měla být udržována bez plevele, za občasného kypření, přihrnování a dostatečného přísunu živin. Chmelnice se osazují kořenáči získanými z ročních sádí, eventuálně ze zakořeněných postranních výhonků z předchozího vegetačního období nazývaných vlky nebo mladých jarních výhonků [2]. Výsadba probíhá na podzim nebo na jaře. Agrotechniku chmele můžeme rozdělit do tří časových období, a to podzimní, jarní a letní. V období podzimu se provádí úklid révy, podzimní orba a podzimní řez chmelu. Na jaře je potom provedeno vláčení chmelnic (orba), očištění rostlin a řez chmelu a zavádění výhonků. Léto s sebou přináší nutnost plečkování, letní přiorávky, zavěšování spadlých keřů, závlahu, přihnojování a nutnou ochranu proti škůdcům. Následuje sklizeň chmele [5].

Sklizeň je nejnáročnějším úsekem pěstování chmele. Prvním krokem je správné určení doby hospodářské zralosti chmele. U předčasně sklizeného chmele není totiž dosaženo maximální tvorby hořkých kyselin, které jsou při výrobě piva zásadní. Přestárnutí chmele pak s sebou nese znehodnocení barvy hlávek. Doba zralosti odrůdy Žatecký poloraný červeňák trvá přibližně 10 až 12 dní. Charakteristickými znaky zralosti chmele je velikost chmelové hlávky, její barva, uzavřenost a pružnost. Hodnotí se také plnost vůně a množství lupulinu v hlávkách [5]. Zralé hlávky je následně nutné očesat. Tento proces se obvykle provádí pomocí česacích strojů. Obsah vody v čerstvém chmelu dosahuje 70 až 80 % a je nutné ho snížit na 10 až 11 %. Nedostatečně vysušený chmel by se mohl při skladování zapařit a podléhat plísním, čímž je znehodnocen. Sušení probíhá ve dvou stupních. Prvním je vysoušení „na stopku“, kdy je stopka vysušena, ale vřeténko zůstává ohebné. Druhý stupeň se nazývá „na vřeténko“, kdy je suchá stopka i vřeténko. Obvykle se suší „na vřeténko“, kdy se vlhkost pohybuje okolo 5 až 7 % a následně je vlhkost doupravena v klimatizační skříni na 10,5 až 11 %. Vlhkost by neměla klesnout pod 10 %, hlávky jsou pak velmi křehké, a další manipulace se tím komplikuje. Moderní sklizňová střediska obvykle disponují systémem strojů, které na sebe navazují a umožňují tak plynulé česání, následně sušení a poté posklizňovou úpravu. Pro konzervování chmele je používána síra v podobě oxidu siřičitého, který se následně mění na kyselinu sírovou, potažmo sírany, ale tento proces není nutný, a tak se dnes již často vynechává. Balení chmele je zcela klíčové z hlediska rychlosti stárnutí chmele během jeho skladování. Pokud dojde ke špatnému zabalení a styku se vzdušným kyslíkem, podléhá chmel oxidačním změnám a není vhodné jej pro vaření piva používat. Usušený chmel se zpravidla lisuje a balí do žoků, balotů, juty nebo plechových krabic či beden. Každé balení musí být náležitě legislativně označeno. Skladování chmele pak vyžaduje temnou, chlazenou místnost a zamezení styku s kondenzovanou vodou [2].

2.5 Odrůdy chmele

Vlivem člověka byl divoký chmel zkulturněn a dle podmínek pěstování a křížení odrůd bylo také dosaženo jeho diversifikace. Chmel jako plodina tedy dostává charakter odrůdy. České pěstitelství chmele se až do 90. let 20. století zaměřovalo pouze na pěstování jemných

aromatických odrůd. Díky šlechtění Žateckého poloraného červeňáku se dosáhlo jeho zušlechtění a získání nových hybridních odrůd. České odrůdy díky dlouholeté šlechtitelské činnosti vykazují vysokou kvalitu aromatických aspektů. V současné době disponuje české chmelařství širokou škálou všech typů chmelových odrůd [11].

V základu se chmelové odrůdy dělí na krajové a šlechtěné. Krajové odrůdy se vymeziily dlouholetým pěstováním v konkrétní oblasti, zatímco šlechtěné odrůdy byly vytvořeny šlechtěním a pohlavním množním. Chmel je rozlišován také dle barvy révy na červeňáky a zeleňáky. Červeňáky jsou velmi typické právě pro české pěstitelství, obvykle jsou rané nebo polorané a charakteristické svým červenohnědým zbarvením. Jedná se o velmi jemné odrůdy bohaté na lupulin. Zeleňáky jsou zbarveny zeleně, jak už sám název napovídá, a jedná se spíše o pozdější odrůdy [9]. Dálším kritériem pro rozlišení chmele je jeho vůně. Z tohoto pohledu se chmel dělí na jemné aromatické (fine aroma), aromatické (aroma), jemné hořké (dual purpose), hořké (bitter) a vysokoobsažné (high alpha). Dále je rozlišována ranost odrůd. Odsud pochází rozdělení na rané, polorané a pozdní [10].

2.6 Charakteristika Žateckého poloraného červeňáku

Zásadní význam pro české chmelařství mají výsledky šlechtitelské práce doc. Karla Osvalda. Osvaldovy klony, které byly registrovány v roce 1952, patří mezi nejvýznamnější české odrůdy. Zaujímají převážnou část osázených ploch ve všech chmelařských oblastech. Tyto hospodářsky významné odrůdy jsou známé pod názvem Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ). Výrazným znakem je jemná a ušlechtilá chmelová vůně, která je dána jedinečnou skladbou chmelových silic [12]. Chemické složení této odrůdy je shrnuto v tabulce 1.

Tabulka 1- charakteristika ŽPČ [13]

Veškeré pryskyřice	Veškeré pryskyřice	13-20 % w.
	α-hořké kyseliny	2,5-4 % w.
	β-hořké kyseliny	4-6 % w.
	Kohumulon	23-26 % w.
	Kolupulon	39-43 % w.
Chmelové silice	Váha silic	0,4-0,8 g/100g
	Myrcen	25-40 % rel.
	2-undecanonen	1,0-1,5 % rel.
	4-decenoid acid ME	1-2 % rel.
	Karyofylen	6-9 % rel.
	Humulen	15-30 % rel.
	Farnesen	14-20 % rel.
	Selenin	0,5-1,5 % rel.
Chmelové polyfenoly	Veškeré polyfenoly	5,5-7 %w/w
	Xanthohumol	0,3-0,5 %w/w

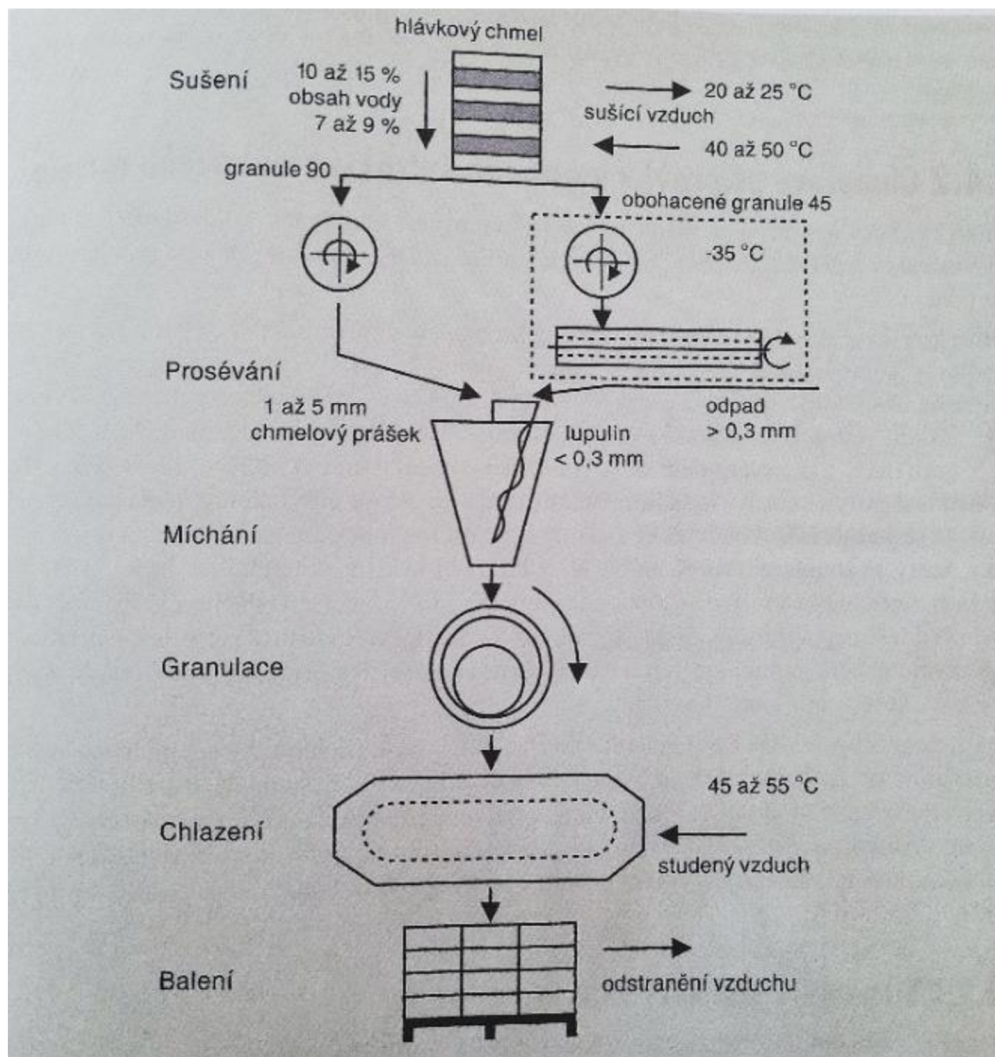
2.7 Chmelové výrobky

Využití čerstvého chmele je v mnoha ohledech problematické, a proto se s postupným vývojem pivovarnictví vyvíjí i úprava chmele do lépe využitelné podoby. Jako hlavní problém čerstvého chmele se jeví nízká koncentrace a využitelnost pivovarsky cenných látek, jejich nízká stabilita, nehomogenita chmelového materiálu, přítomnost reziduí postřiků a dusičnanů a také vysoké nároky na skladovací prostory. Ani tento technologický posun s sebou ovšem nepřináší pouze samé výhody. Byly zaznamenány technologické nevýhody způsobené použitím chmelových přípravků například přepěňování piva. Některé výrobky jsou navíc pouze jednosložkové a jejich využitím se ochuzujeme o komplexní vlastnosti chmele. Kromě ekonomického hlediska tedy musí být při využití chmelových výrobků zodpovědně zvažovány i fyzikálně chemické aspekty, jinak hrozí jak senzorické, tak technologické změny [2], [14]. Hlávkový chmel může být upraven jen drobnými zásahy nebo může podléhat složitějším operacím, které poskytují více specializované produkty. Charakter úpravy hlávkového chmele může být pouze mechanický, nebo také fyzikální či chemický. Jednou ze základních úprav je granulování chmele. Granule typu 90, které se svými vlastnostmi jen málo liší od lisovaného chmele, se mohou dále zpracovávat do podoby extraktů [2]. V následujících podkapitolách budou jednotlivé úpravy chmele popsány podrobněji.

2.7.1 Mechanická úprava

Tento typ úpravy umožňuje zjednodušení uchování důležitých vlastností chmele za poměrně malého zásahu do charakteru suroviny. Tímto způsobem je zpracováváno až 60 % vypěstovaného chmele [15]. Do této skupiny patří drcený chmel, ale hlavně různé typy pelet. Mechanická úprava probíhá tak, že se chmel vysuší na 4–5 % vlhkosti, následně se rozele a homogenizuje při nízké teplotě a bez přístupu kyslíku. Pokud se jedná o pelety, dochází k lisování prášku v děrované matici na pelety o průměru 5–6 mm. Při tomto procesu se tlakem a třením zvyšuje teplota až na 65 °C, což může ovlivnit některé složky chmele. Následně se chmelové pelety balí pod tlakem za ochrany inertního plynu do obalů a poté jsou skladovány při teplotě do 4 °C [2].

Dle složení je rozlišováno několik typů pelet [2]. Granulovaný chmel (pelety 100) je první skupinou řadící se mezi mechanicky upravovaný chmel. Jedná se čistě o rozemletý sušený chmel bez jakýchkoliv dalších úprav. Další skupinou jsou pelety 90 neboli chmelové granule. Označení číslem 90 znamená, že ze 100 g chmele bylo získáno 90 g pelet. Jedná se tedy téměř o původní složení. Tyto pelety mají obvykle standardizovanou hodnotu obsahu α -hořkých kyselin. Pelety 45 jsou obohacené chmelové granule se zvýšenou koncentrací lupulinu, které se dosahuje pomocí rozemletí chmele, jeho homogenizací a následnou flotací při silném podchlazení na -30 až -35 °C. Je používáno síto s velikostí pórů 0,3 mm [65]. Tím se odstraní přebytečná rostlinná hmota. Tyto granule obsahují přibližně dvojnásobné množství hořkých kyselin. Obdobným způsobem se také mohou vyrábět pelety 30, které dosahují dokonce až trojnásobného obsahu hořkých kyselin, než hlávkový chmel [2]. Na podobném principu se zakládá i výroba chladem upravovaného chmele, tzv. cryo hops.



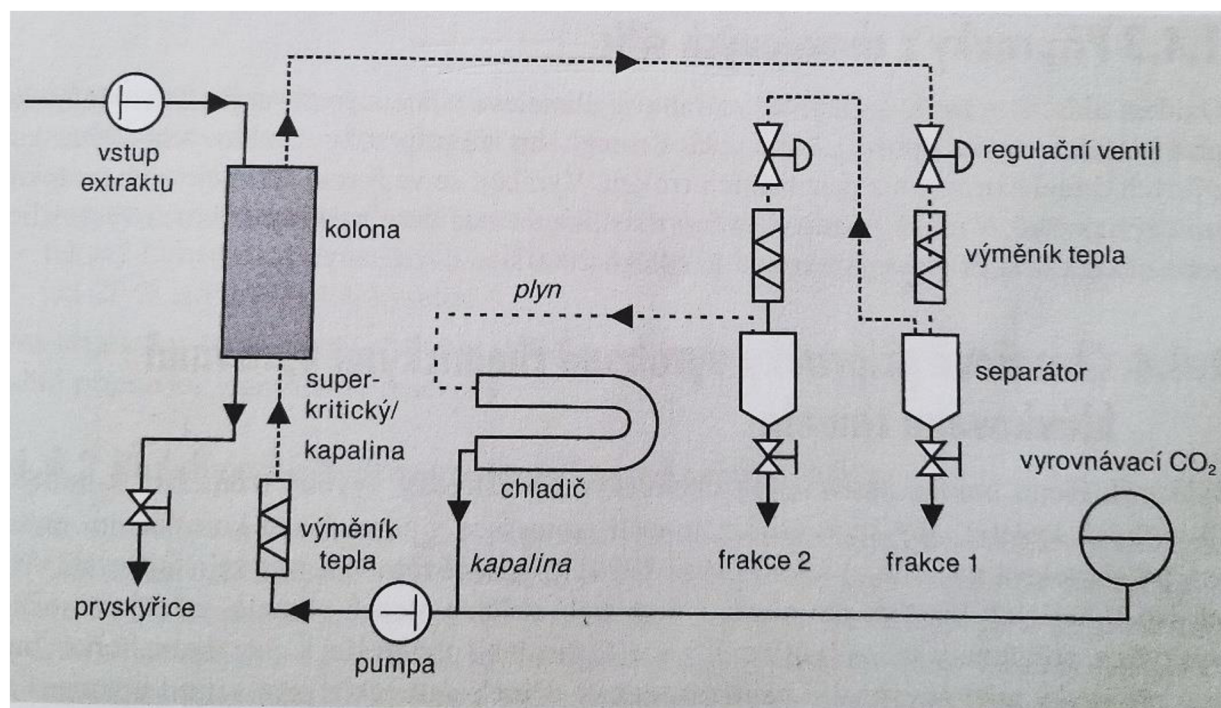
Obrázek 4 - schéma přípravy pelet 90 a 45 [2]

2.7.2 Chemické úpravy

Extrakce

Jedná se o úpravu chmele pomocí různých organických rozpouštědel. Chemické složení se od hlávkového chmele liší, na rozdíl od mechanické úpravy, kde k podstatným změnám nedochází [2]. Při výrobě chmelových extraktů se dnes používají zejména dva extrakční postupy, a to extrakce ethanolem a extrakce tekutým nebo superkritickým oxidem uhličitým. Tyto dvě látky jsou látkami pro pivo a pivovarství typickými, takže není nutné se obávat nebezpečí zbytkového obsahu těchto rozpouštědel [16]. Vyráběny jsou jednosložkové nebo dvousložkové extrakty. Jednosložkový extrakt je získáván extrakcí organickým rozpouštědlem, obsahuje pouze hořké látky a bývá standardizovaný na obsah α -hořkých kyselin. Tento extrakt je velmi stabilní. Dvousložkový extrakt je směsí extraktu organického rozpouštědla a vodného extraktu. Kromě hořkých látek obsahuje i fenolické látky. Extrakty mohou být rozlišovány i podle použitého rozpouštědla. V dnešní době se používají již prakticky převážně ethanol

a oxid uhličitý. Ethanolový extrakt se vyrábí extrakcí chmele v 90 % ethanolu. Získáváme tak nepolární podíl obsahující pryskyřice a částečně i silice, proteiny a cukry. V polárním podílu jsou obsaženy polyfenoly. Oxid uhličitý je druhým používaným rozpouštědlem. Stejně jako ethanol v pivě vzniká i za běžného technologického procesu a je tedy bez obtíží možné jej použít k extrakci. Používá se oxid uhličitý ve formě pod kritickým bodem i superkritický oxid uhličitý. Je velmi nepolární a obsahuje tedy nepolární složky chmele jako hořké kyseliny, silice a malé množství tvrdých pryskyřic. Extrakce tekutým oxidem uhličitým má menší výtěžnost než extrakce pomocí superkritického oxidu [2].



Obrázek 5 - extrakce pomocí superkritického oxidu uhličitého [2]

Chemicky upravené přípravky zvyšují výtěžnost iso- α -hořkých kyselin a zajišťujících bakteriostatický účinek, ale zároveň jsou ochuzeny o řadu dalších důležitých látek přispívajících k charakteru hořké chuti piva. Většinou jsou přidávány až po hlavním kvašení, aby nedocházelo k přepěnování piva. V některých zemích je použití těchto přípravků legislativně omezeno [2]. V následujících kapitolách je podrobnější popis jednotlivých přípravků.

Izoextrakty

Jedním ze zástupců skupiny chemicky upravovaného hlávkového chmele jsou chmelové izoextrakty. Obsahují zejména izomerizované produkty α -hořkých kyselin (až 50 %). Výroba probíhá extrakcí organickým rozpouštědlem, nejčastěji hexanem, kdy je získáván pryskyřičný extrakt. Ten je poté zahříván a emulgován vodní parou a následně izomerizován alkalickým katalyzátorem. Nejčastěji se používají hořečnaté nebo draselné soli. Dochází k odizolování vosků a měkkých pryskyřic pomocí a zbylý roztok je ochlazen. Zvýšením pH roztoku až na 8

dochází k precipitaci β -hořkých kyselin. Následným snížením pH a odstředěním, jsou vysráženy i neizomerované α -hořké kyseliny. Následně dochází k dalšímu snížení pH a vysrážení volných iso- α -hořkých kyselin. Poté je extrakt převeden na draselnou nebo hořečnatou sůl a zakonzentrován [2].

Redukované hydrogenované iso- α -hořké kyseliny

Dalším způsobem úpravy hlávkového chmele jsou redukované hydrogenované iso- α -hořké kyseliny. Jsou vyráběny pomocí katalytické redukce karbonylových skupin iso- α -hořkých kyselin. Dle stupně hydrogenace dvojných vazeb postranních řetězců mohou být připraveny dihydro-iso- α -hořké kyseliny až hexahydro-iso- α -hořké kyseliny. Tyto přípravky zvyšují hořkost piva, ale charakter hořkosti je odlišný v porovnání s hořkostí pocházející z hlávkového chmele. Tyto extrakty jsou foto stabilní, údajně zlepšují pěnivost a fyzikálně-chemickou stabilitu piva [2].

Izopelety

Izopelety se vyrábějí smícháním granulovaného chmele s oxidem hořečnatým. Díky zvýšené teplotě po dobu několika dní dochází k izomeraci α -hořkých kyselin na iso- α -hořké kyseliny. Tento druh chmelového přípravku se používá poměrně zřídka, neboť ovlivňuje charakter chuti piva [2].

Huluponové extrakty

Dalším produktem chemické úpravy chmele jsou huluponové extrakty. Tento produkt využívá možnosti modifikace struktury β -hořkých kyselin a uvolnění huluponů. Po stabilizaci je získán silně hořký roztok, který může být použit na tzv. hořčení piva [2]. Vyrábí se ze základního extraktu, do kterého je přidáno alkalické rozpouštědlo a hexan. β -Hořké kyseliny se následně navážou na alkalické rozpouštědlo a dochází k jejich oxidaci. Po okyselení a extrakci hexanem je rozpouštědlo za sníženého tlaku odstraněno. Finální úpravy pak probíhají stejně, jako u isoextraktu. Ideální je jejich kombinace s isoextrakty, kdy toto spojení údajně poskytuje pivu stejný charakter hořkosti, jako kdyby byly použity chmelové hlávky za zlepšení ekonomického hlediska [65].

2.7.1 Jiné úpravy chmele

Toxikologické a ekologické problémy spojené s používáním některých organických rozpouštědel vedly k hledání ekologičtějších alternativ. Proto byly vyvinuty nové techniky, jež by mohly být relevantní ze zdravotního, environmentálního a ekonomického hlediska [28].

Přípravky z chmelových silic se vyrábějí pomocí extrakce pomocí oxidu uhličitého, z jiných druhů extraktů či destilačních izolátů. Používají se k úpravě aroma piva. Jednou z dalších možností předúpravy zvyšující koncentraci silic je mikrovlnná hydrodestilace, která je

realizována při 335 W po dobu 30 minut. Díky této operaci byl získán dvojnásobný výtěžek silic, zejména β -myrcenu oproti klasické hydrodestilaci [28].

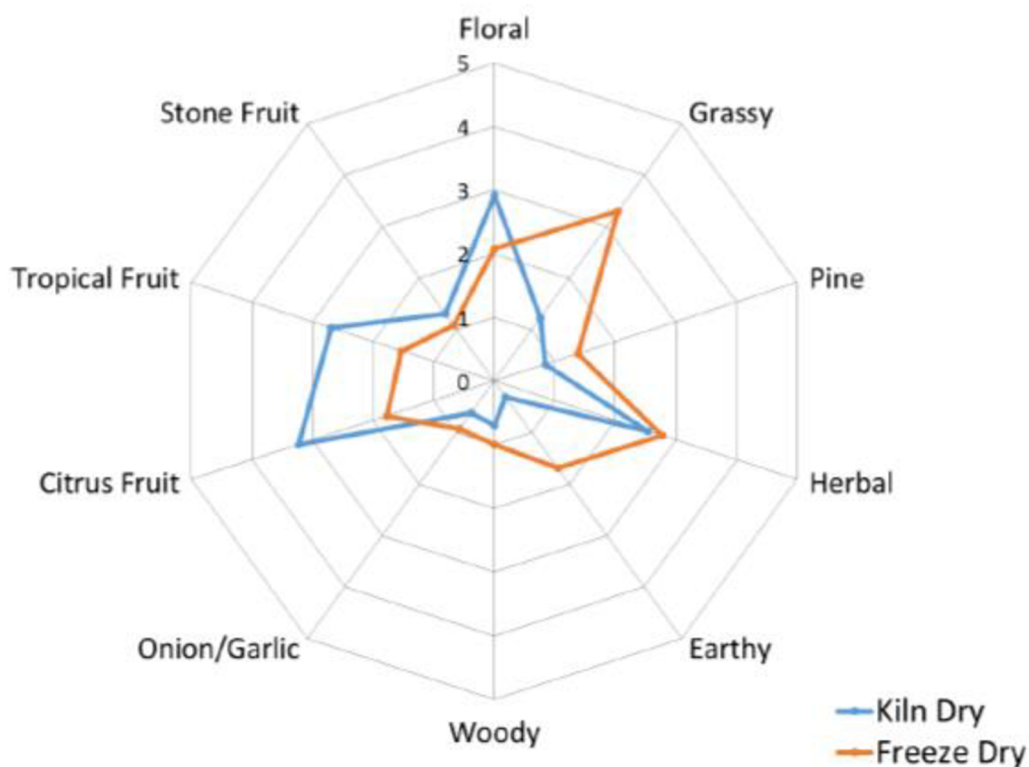
Mezi nové alternativy můžeme také zařadit aplikaci pulzního elektrického pole v rozpouštědle, kdy dochází k lyzi buněčných membrán chmele a lepšímu zpřístupnění pivovarsky důležitých látek [28].

Nabízí se také extrakce pod tlakem za použití několika možností rozpouštědel, jako methylenchlorid s methanolem (1:1), tlaku 10 MPa a současné zvýšené teploty na 80 °C. Toto využití je ale vhodné zejména pro extrakty použitelné ve farmacii, nikoliv pivovarnictví. Rozpouštědlem může být také hexan, jehož použitím dosáhneme oddělení sloučenin s nízkou polaritou, a ethanol, který nám umožňuje extrahovat isoxanthohumulon. Ekologičtější alternativou je potom tlaková horkovodní extrakce chmele při 150 °C, kdy je možné extrahovat xanthohumulon za současné transformace na isoxanthohumulon a udržení obsahu α - a β -hořkých kyselin [28].

Zkoumána je také metoda hydrodynamické kavitace. Tato technika nabízí výhodu mírných extrakčních podmínek. Je realizována v bezkyslíkaté atmosféře, což zajišťuje ochranu před oxidací. Extrakce má vysokou rychlost a účinnost a také nižší dopad na životní prostředí [28].

2.7.2 Cryo chmel

Termín cryo hops je odvozen z řeckého slova „kryos“, což znamená mráz. Jedná se o poměrně novou technologii, jejíž využití není zatím příliš běžné. Z tohoto důvodu nejsou klady a zápory využívání kryogenní metody úpravy chmele plně prozkoumány. Tato metoda vystavuje čerstvé chmelové šistice kontaktu s tekutým dusíkem v atmosféře bez přístupu kyslíku. Kryogenizovaný dusík je nadále rozmělněn a je vyzolována lupulinová frakce, která je oddělena od zeleného, pivovarsky bezcenného materiálu. Lupulinová frakce je následně lisována do peletet [45], [46]. Termín cryo hops je patentem americké firmy Yakima chief. Cílem cryo chmele je zpřístupnění aromatických látek, a díky tomu dosažení co možná nejintenzivnějšího aroma. Výhodou je zvýraznění organoleptických vlastností piva a zlepšení varného procesu [34]. Tento proces by také měl zaručovat nižší degradaci pivovarsky cenných látek, samotřejmě v této fázi je klíčový postup zpracování. Práce s lupulinovou frakcí může být v některých případech problematická, neboť lupulinový prášek má tendenci ulpívat na vybavení, se kterým přichází do kontaktu. Při neopatrné manipulaci může docházet ke ztrátám, které by proces mohly činit neefektivním [45]. Vystavení chmelového materiálu kryogenní úpravě má do velké míry vliv na sensorický profil piva [52]. Bylo pozorováno, že použití chmele sušeného pomocí tekutého dusíku vyvolávalo odlišné sensorické vjemy, než stejný chmel sušený horkým vzduchem.



Obrázek 6 - deskriptivní analýza vlivu sušení na senzorický profil studeně chmelených piv [52]

2.8 Technologie výroby piva

2.8.1 Suroviny pro výrobu piva

Mezi základní suroviny pro výrobu piva patří voda, slad, chmel a pivovarské kvasinky. Pivo ale může být obohaceno i o různé dodatečné suroviny, díky kterým je možné dosáhnout zajímavějšího aroma či zlepšit vlastnosti piva. Příkladem jsou různé byliny či ovoce. Jednotlivým základním surovinám se věnují následující podkapitoly.

Voda

Voda jako jedna ze základních surovin při výrobě piva má na výsledný charakter a kvalitu piva poměrně velký vliv. Musí splňovat pravidla hygienické nezávadnosti a samozřejmě musí být pitná [20].

Přírodní vody jsou koncentrovaným roztokem iontů, jejichž obsah závisí na geologickém složení podloží, v němž se voda nachází. U iontů obsažených v pivě je vždy důležitá rovnováha. V malém množství mohou být prospěšné, dokonce i nezbytné pro určité organoleptické vlastnosti piva, ale ve větších koncentracích mohou mít zcela negativní vliv [2].

Hořčnaté ionty jsou součástí varní vody zcela běžně. Jsou důležitými aktivátory enzymů, ale ve zvýšeném množství způsobují hořkou a nakyslou chuť [2]. Obsah hořčnatých iontů v pivě by měl dosahovat maximálně 20 mg/l [38].

Důležitým iontem je také kationt vápenatý, který stimuluje činnost některých sladových enzymů, snižuje degeneraci buněk kvasinek a kompenzuje nadbytek hořčnatých iontů. Dále má také pozitivní vliv při flokulaci kvasnic. Reakcí se šťavelany mohou vznikat nebiologické zákaly a může docházet k přepěňování piva (tzv. gushing) [2].

Při vyšší koncentraci sodných a draselných kationtů vzniká drsná chuť piva, navíc draslík má inhibiční účinek na některé sladové enzymy při přípravě mladiny. Na druhou stranu má ale draslík pozitivní fyziologický účinek při kvašení [2].

Železnaté a železité ionty mohou způsobit přibarvení rmutů, mladiny a pивní pěny, dále snižují plnost chuti piva. Kladně však působí na stabilitu pěny [2].

Kationty manganaté jsou důležité pro množení kvasinek, nebo jako důležité kofaktory enzymů. Ve vysokých koncentracích mají podobné negativní účinky jako železo [2].

Zinečnaté ionty stimulují kvašení. Větší množství však může být toxické a zhoršuje stabilitu piva [2].

Ionty amonné jsou indikátorem organické kontaminace vody. Stejně tak aniont NO_2^- indikuje mikrobiální činnost [2].

Síranové ionty působí příznivě na koloidní a senzoričnou stabilitu piva. Ve větší míře může negativně ovlivnit chuť piva [2].

Chloridové ionty pak inhibují flokulaci kvasinek, podporují působení amyláz. Ve formě chloridu sodného zvyšují plnost chuti, ale je nutné opět hlídat množství, aby nedošlo k zdrsnění chuti, jak je již zmíněno u sodných iontů. V přírodních vodách jsou také rozpuštěny plyny jako oxid uhličitý, chlor nebo sulfan [2].

Uvádí se, že na 1 litr piva se spotřebuje i 8 litrů vody (včetně provozní vody) [20]. Voda pro využití v pivovarských provozech se upravuje tak, aby odpovídala požadavkům výroby. Mezi postupy používané při úpravách vod patří odstranění větších pevných nečistot, odželezování a odmanganování, odstranění dusičnanů, odstranění křemičitanů, odstranění volného agresivního oxidu uhličitého, dekarbonizace a odsolení vody, přidávání kyselin, přidávání chloridu vápenatého a síranu vápenatého, odzdušnění a sterilizace vody [2].

Slad

Klíčovou surovinou výroby piva je slad. Nejběžněji používaný slad u nás je ječný slad, ale lze sladovat více druhů obilovin. Druhou nejčastěji sladovanou obilovinou je pšenice [18]. Právě ze sladu pochází hlavní podíl extraktivních látek, které ovlivňují jeho základní fyzikálně-chemické, biochemické a organoleptické vlastnosti. Míra tvorby vonných a chuťových látek nebo jejich prekurzorů, které se transformují na aromatické látky během vaření piva, je dán převážně postupem hvozdění zeleného sladu [19].

Obilka se skládá z obalu, zárodku a endospermu. Při klíčení semene dochází k aktivaci pivovarsky využitelných enzymů. Endosperm tvoří největší část obilky, jedná se o zásobník sacharidů, bílkovin a ostatních technologicky důležitých látek.

Tabulka 2 - složení ječmene

Látka	obsah v obilce [%]
Škrob	60-65
Sacharóza	1-2
Ostatní cukry	1
Rafinosa	0,3-0,5
Maltosa	0,1
Glukosa	0,1
Fruktosa	0,1
β -glukany	3,3-4,9
Pentosany	9
Celulosa	4-7
Tuky	3,5
Fytin	0,9
Fenolické látky	0,1-0,6
Dusíkaté látky	7-18
Rozpustné dusíkaté látky	1,9
Albuminy a globuliny	3,5
Hordeiny (prolaminy)	3-4
Gluteliny	3-4
Minerální látky	2

Během hvozdění zrna dochází k fyzikálním a chemickým změnám. Hvozdění má několik fází. Prvním stádiem je šetrné vysoušení zeleného sladu. V této fázi ještě probíhají biochemické procesy. Následuje několik stupňů zvyšování teploty za účelem dosažení žádoucího stupně tvorby nebo změny sensoricky, fyziologicky a redoxně aktivních látek prostřednictvím několika typů reakcí, kterými jsou transformace redukujících sacharidů bez účasti amino sloučenin (karamelizace), Maillardova reakce (reakce redukujících sacharidů s amino sloučeninami), ostatní reakce neenzymového hnědnutí a oxidace lipofilních složek [20].

Prekurzorů vonných a chuťových látek sladu je několik. Aroma je z velké míry ovlivněno Maillardovou reakcí, za primární prekurzory aromatických látek sladu proto lze považovat redukující sacharidy a volné aminokyseliny. Kromě monosacharidů se Maillardovy reakce při sladování přímo účastní maltosa, isomaltosa nebo maltotriosa. V ječmeni se nachází také lipidová frakce. Celkový obsah lipidů v ječmeni je kolem 3,5 % v sušině. Při sladování jsou důležité změny zejména v triacylglycerolové frakci. Část těchto lipidů je hydrolyzována lipasami na glycerol a volné mastné kyseliny. Nenasycené mastné kyseliny, resp. metabolické produkty oxidace esenciálních mastných kyselin lipoxygenasami, mohou přispívat ke zvětralé chuti piva při stárnutí piva [19].

Příležitostně jsou místo sladu při výrobě piva používány náhražky sladu, nazývané též surogáty. Používají se většinou k částečnému nahrazení sladu, a to zejména z důvodů ekonomických, někdy i technologických. V Česku se používají spíše omezeně, ale v některých zemích je jejich používání poměrně rozšířeno. Náhražky dělíme na dva typy, a to škrobnaté a cukerné [2].

Chmel

Chmel udává pivu aroma, které je zcela typické a neodmyslitelně k tomuto nápoji patří. Jeho důležitost však nespočívá pouze v dodané chuti, nýbrž i v jeho vlastnostech využitelných v technologii vaření piva.

Pivovarské kvasinky

Kvasinky jsou houbovité, fakultativně anaerobní jednobuněčné organismy. Jedná se o eukaryotickou buňku kulovitě až vejčitého tvaru. Velikost této buňky je obvykle 6–8 μm . V pivovarství se kvasinky používají k přeměně zkvasitelných cukrů obsažených v mladině na ethanol a oxid uhličitý.

V pivovarnictví se využívají zejména dva typy kvasinek, a to kvasinky svrchního kvašení a spodního kvašení. Odlišnosti mezi nimi jsou například ve složení buněčných stěn, stupni zkvášení α -rafinosy, technologických vlastnostech atd. [2]. Kvasinky spodního kvašení (*Saccharomyces cerevisiae uvarum*) mají hydrofilní povrch a sedimentují na konci kvasného procesu na dno kvasné nádoby. Optimální teplota pro jejich využití je 7–15 °C. Pro kvasinky svrchního kvašení je optimální teplota 18–22 °C. Povrch buňky této kvasinky je více hydrofobní a při kvašení je vynášena na povrch kvasícího média vznikajícím oxidem uhličitým [2].

V praxi se v rámci zefektivnění a snížení finanční náročnosti výroby dají kvasinky nasadit opakovaně. V tomto případě však musí být zaručeno kvalitní skladování, které zachovává vitalitu kvasinek a zabráňuje jejich kontaminaci. Skladování by mělo být co nejkratší, maximální doba je však závislá na podmínkách uchovávání, mikrobiologické čistotě kvasnic, generaci kvasnic a jejich fyziologickém stavu v okamžiku stažení z mladého piva. Podmínkami skladování je myšlena převážně teplota, doba hladovění, oxidativní stres a míchání [2].

2.8.2 Postup výroby piva

Postup výroby piva sestává z několika fází, každý pivovar má své přesné a konkrétní postupy. Jednotlivé procesy jsou popsány v následujících podkapitolách.

Šrotování

Účelem této operace je mechanické vymletí endospermu zrn na dostatečnou jemnost, za současného uchování celistvosti obalu zrna. Tento proces je mechanický a po jeho završení by neměly být ve sladovém podílu žádná celá zrna. Během tohoto děje dochází ke zpřístupnění extraktivních látek sladu, které nadále umožňují biochemické změny. Způsob mletí se většinou volí dle scezovacího zařízení, které je k dispozici. Šrotuje se obvykle na šrotovnicích opatřených dvěma, čtyřmi, pěti nebo šesti válci. Rozlišuje se několik základních postupů mletí, a to mletí sladu za sucha, mletí sladu za sucha s oddělením jednotlivých frakcí, mletí s kondicionováním, mletí namočeného sladu a příprava velmi jemného moučnatého šrotu. Našrotovaný slad by se měl spotřebovat ideálně do dvou hodin, neboť delší stání může mít vliv na stabilitu piva [2].

Vystírání

Vystírání neboli vystírka vzniká smícháním tzv. sypání, což je pevný podíl, a nálevu, což je objem vody. Trvá asi 10–30 minut (podle zvoleného způsobu). Slad obsahuje pouze malý podíl látek, které jsou rozpustné ve vodě. Je to například sacharóza, maltóza, glukóza, fruktóza, gumovité látky, β -glukany, pentozany, nízkomolekulární dusíkaté látky, lipidy, fenolické látky, anorganické sloučeniny a enzymatické látky. Jejich uvolňování je podporováno při zapáře, což je proces dalšího zvýšení teploty na 38 °C. Pokud je vařeno pivo se záměrem uvařit světlý nápoj, míchá se řidší rmut. Pokud je vařeno pivo tmavé, tak je rmut obvykle hustší. Hlavní nálev se někdy dělí do dvou částí. První částí se provádí vystírka a druhou částí zapárka. Některé menší pivovary z kapacitních důvodů smíchají sypání hned s celým podílem vody a ten následně ohřívají na zapařovací teplotu. Používají se tři způsoby vystírky, které jsou voleny podle kvality sladu, postupu rmutování, zařízení varní soupravy a požadavků na kvalitu mladiny. Prvním z těchto postupů je studené vystírání s teplotou pod 20 °C. Dále se používá vystírání teplé, které probíhá za teploty 35–38 °C. Existuje také horké vystírání probíhající při teplotě 50–62 °C. V českém pivovarnictví je nejběžnějším způsobem teplé vystírání [2].

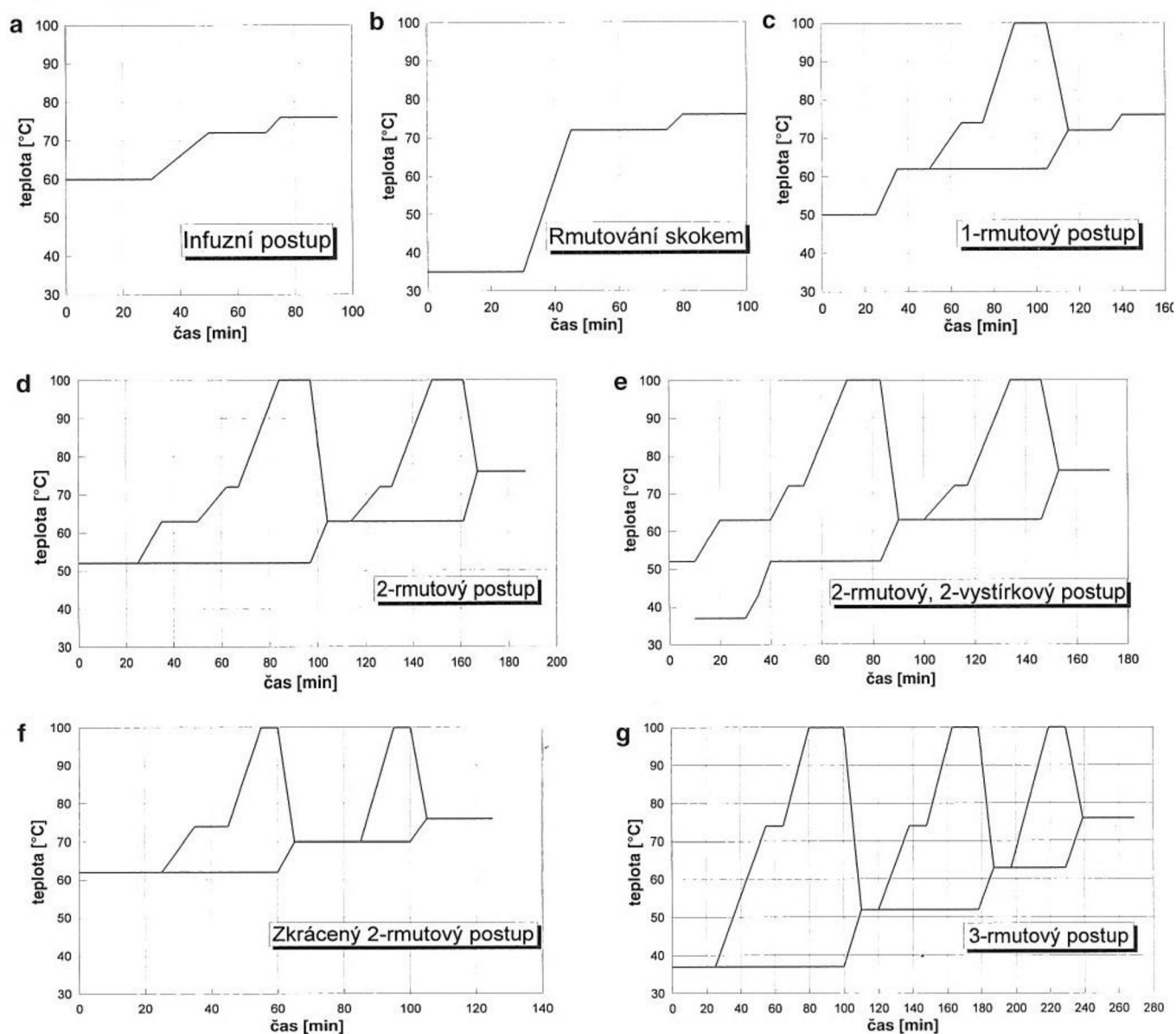
Rmutování

Rmutování se provádí za účelem převést do roztoku škrob, vhodný podíl bílkovin a také dalších látek z extraktu a následně umožnit enzymatické procesy, díky kterým se škrob štěpí na zkvasitelné cukry. Škrob je polysacharid, skládající se z molekul glukózy. Ta obsahuje amylózu a amylopektin, které jsou následně štěpeny pomocí enzymů amyláz. Účinek enzymů je závislý na teplotě, pH a době působení [21]. Štěpení škrobu probíhá za působení fyzikálně-chemických a enzymatických procesů ve třech stupních, které se nazývají mazovatění, ztekucení a zcukření [2].

V základu rozlišujeme dva druhy rmutování, a to rmutování infuzní a dekokční. Vlastnosti piva jsou do jisté míry ovlivněny právě rmutovacím procesem. Rozdílnými technologickými procesy rmutování jsme schopni dosáhnout podobných výsledků z hlediska analytického, ale na chuti se odlišnost postupu mohou projevit. Proto je nutné pro zachování charakteru udržovat postup rmutování [22].

Infuzní rmutování s sebou přináší výhodu nižší investice do zařízení, jednoduchosti procesu a vyšší energetické náročnosti. Na obrázku č.7 můžeme vidět graf závislosti teploty na čase, ze kterého je patrný průběh infuzního rmutování. Můžeme vidět, že průběh je v porovnání s ostatními způsoby nejplynulejší. Na druhou stranu piva vyráběná touto cestou mají obvykle světlejší barvu a méně výraznou chuť [21]. Dále je potřeba velmi důkladně rozluštěný slad s vysokou enzymatickou aktivitou a trvalé míchání při teplotních prodlevách. Průběh infuzního rmutování je následující: vystření šrotu probíhá ve vodě o teplotě 60–62 °C, jak můžeme vidět na již zmíněném grafu v časovém bodě 0-30 minut, což je doba, po kterou se tato teplota udržuje. Dále se obsah zahřeje na 72 °C, kdy je zařazena opět časová prodleva dvacet minut. Posléze dochází k zahřátí na odrmutovací teplotu 76 °C. Následně dílo odpočívá zhruba dvacet minut. Zvláštním případem infuzního rmutování je rmutování skokem, které se ale používá pouze pro výrobu speciálních piv s nízkým obsahem alkoholu [21]. Pro tento způsob rmutování je také uveden graf na obrázku č. 8, kde vidíme začátek rmutovacího procesu na teplotě 35 °C a následné skokové zvýšení na 70 °C.

Dekokční rmutování může probíhat jednormutovým způsobem, který je podobný infuznímu způsobu. Je znám i třirmutový způsob, který je ale poměrně zdlouhavý a energeticky náročný. Nejvíce používaný je dvojrmutový způsob. Ten trvá zpravidla více než tři hodiny. Po vystírce o teplotě 37 °C a zapáře o teplotě 52 °C je oddělena část díla. Této části se říká první rmut a musí být tak velká, aby po jejím povaření a navrácení ke zbytku díla, se zvýšila teplota celého objemu na požadovanou teplotu. Rmut se zahřívá gradientem 1 °C za minutu až na 63 °C, kde je ponechán odpočinku v časovém rozmezí 10–20 minut. V dalším kroku je gradient ohřevu snížen na 0,7 °C za minutu a nadále probíhá vyhřívání až do 72–74 °C. V této chvíli je opět zařazena prodleva, tentokrát 5–10 minut. V posledním kroku je teplota zvýšena až na 100 °C gradientem 1,5 °C za minutu a po dosažení této teploty je dílo ponecháno 15–20 minut ve varu. U tmavých piv výrazné chuti může být doba vaření o něco delší. Po povaření je rmut navrácen ke zbytku díla, a to pomalu a za stálého míchání, aby nedošlo k lokálnímu přehřátí. Tímto spojením dojde ke zvýšení teploty celého díla na 62–64 °C. Nyní je možné odebrat druhý rmut, který je stejným postupem jako v první fázi zahříván na 72–74 °C a následně je přiveden k varu a povařen asi 15 minut. Po opětovném smíchání se teplota celého díla zvýší na 75–78 °C neboli odrmutovací teplotu [2].



Obrázek 7- příklady rmutovacích postupů [21]

Scezování

Cílem scezování je získat čistou sladinu s maximem extraktu získaného ze vstupních surovin. Při scezování je oddělen extrakt od nerozpustných podílů rmutu. Scezování je ovlivněno několika faktory, mezi které patří kvalita sladu, složení sladového šrotu, míra degradace vysokomolekulárních látek, teplotní podmínky a procesní zařízení [2].

Scezovací kád' má cylindrokónický tvar a může obsahovat scezovací kohouty. Dno nádoby je opatřeno odvodným potrubím. Dále pak scezovací kád' obsahuje takzvané jalové dno, které je vyjímatelné a slouží k zadržování mláta. Na každý 1 m² obsahuje 2500–3000 šterbinek [2]. Dále pak scezovací nádoba obsahuje kypřidlo a kropidlo. Scezování probíhá ve dvou fázích,

a to stahování předku a vyluhování mláta neboli vyslazování. Před samotným scezováním, se napouští mezi plné a jalové dno voda o teplotě 78 °C, aby vytlačila vzduch a ohřála dno [23]. Po promytí vodou je do nádoby napuštěn rmut a je ponechán odpočinku. Mezitím mláto sedimentuje na scezovací dno kádě a vytváří vrstvu vysokou asi 20–30 cm, přes kterou následně protéká sladina a čistí se [24]. První část sladiny bývá kalná, a proto je vrácena zpět a je znovu přehnána přes filtr z mláta. Dále pak již probíhá druhá část procesu, kterou nazýváme vyslazování. Jedná se o prolévání mláta horkou vodou, za současného kypření mláta. Celý proces trvá přibližně dvě hodiny. Nejrychleji jsou vyluhovány cukernaté, dusíkaté a další snadno rozpustné látky zachycené na povrchu částic a v kanálcích mláta. Na konci procesu se uvolňují spíše méně žádoucí látky jako fenolické látky, hořké látky sladu, lipidové složky, minerální látky a podobně. Vyšší obsah těchto látek může mít za následek zhoršení organoleptických a fyzikálně-chemických vlastností piva [2].

Chmelovar

Chmelovar je jednou z nejdůležitějších operací pivovarské technologie a do velké míry ovlivňuje technologické i organoleptické vlastnosti piva. Při chmelovaru probíhá mnoho biochemických, chemických a fyzikálních dějů. Jedná se zejména o zahuštění mladiny, sterilaci mladiny a inaktivaci enzymů, koagulaci bílkovin a tvorbu lomu, rozpuštění a izomeraci hořkých chmelových látek, tvorbu redukujících a aromatických látek, odstranění nežádoucích aromatických látek a jako výsledek těchto dějů také změnu barvy a pH [25].

Mladina je z 90 % tvořena sacharidickými složkami, z nichž asi 68–75 % je zkvasitelných. Pouze malá část těchto látek podléhá interakcím s dusíkatými složkami. Ty tvoří podstatně menší podíl mladiny, ale zato poskytují větší variabilitu reakcí. Patří mezi ně například denaturace a koagulace vysoko molárních dusíkatých sloučenin. Tyto reakce výrazně ovlivňují některé vlastnosti mladiny a piva. Jedná se převážně o koloidní stabilitu, stabilitu pивní pěny, sensorické vlastnosti a další. Velmi důležitým chemickým procesem je také Maillardova reakce. Jedná se o soubor reakcí nízkomolárních dusíkatých složek mladiny s přítomnými monosacharidy. Díky těmto reakcím vznikají charakteristické chutě a vůně, které pomáhají vytvářet sensorický profil piva [25].

Chmelovar probíhá v mladinové pánvi válcovitého tvaru se dnem, které je přizpůsobeno druhu ohřevu. Nádoba je opatřena kuželovitým víkem a párníkem. Většinou je celonerezová a bývá velmi dobře tepelně izolovaná [21].

Při chmelovaru dochází k ohřevu celého objemu sladiny až k varu. U některých topných zařízení je nutné doprovázet ohřev stálým mícháním. Při chmelovaru je nutné dosáhnout požadovaného vyloučení dusíkatých látek, vytěkání dimethylsulfidu a izomerace hořkých látek. V této fázi dochází k odparu zhruba 10 % obsahu [21]. Celý chmelovar trvá asi 100–120 minut.

Množství chmele, které je na dávku přidáváno, se liší dle druhu piva a originální receptury. Obvyklé množství na pivo desetistupňové se pohybuje kolem 250 g chmele na 1 hl piva.

U ležáků činí podíl chmele asi 400 g na 1 hl piva a u tmavých piv pak 200 g na 1 hl piva [23]. Chmel je možné přidávat během chmelovaru postupně v několika fázích. Nejčastěji se používá přidávání chmele na třikrát, někdy na dvakrát a nejméně často pak na jednou. Nejprve se dávkuje vysokoobsažné chmele, jemné a aromatické odrůdy se přidávají až ke konci, neboť aromatické látky by delším varem mohly vytékat [26]. Ke chmelení se používá nejčastěji chmelový granulát nebo chmelové extrakty. Hlávkový chmel je velmi obtížně skladovatelný a dávkovatelný, pomalu se extrahuje, dochází ke ztrátám hořkých látek a je doprovázen obtížnou separací chmelového mláta. Odstranění kalů vzniklých při chmelovaru je většinou zajištěno pomocí vířivé kádě [21]. Po skončení chmelovaru a odstranění kalů ve vířivé kádě má mladina teplotu 95–97 °C a je nutné ji zchladit na zákvasnou teplotu. Pro větší pivovary jsou typické spíše jednostupňové chladiče, které pro chlazení využívají ledovou vodu o teplotě kolem 2–3 °C. V menších pivovarech se používají i dvoustupňové chladiče, které nejdříve předchlazují varní vodou a až poté dochlazují na finální teplotu pomocí chladicího média, kterým může být voda, solanka, ethylenglykol nebo přímý odpar amoniaku [21].

Hlavní kvašení

Úlohou kvašení je řízená přeměna sacharidů na alkohol a oxid uhličitý za současného vytváření organoleptických vlastností piva. Chuťový charakter je ovlivněn i vedlejšími produkty, které při procesu vznikají jako jsou vyšší alkoholy, estery, ketony, aldehydy nebo sloučeniny síry [21].

Celý kvasný proces je možné rozdělit na dvě části, hlavní kvašení a dokvašení. Hlavní kvašení je ovlivněno několika faktory. Určuje jej složení mladiny a její koncentrace, vlastnosti kmene kvasinek, jejich vitalita a viabilita, teplotní průběh a regulace, doba kvašení a stupeň provzdušnění, dávka kvasnic a způsob kvašení, dosažený stupeň homogenizace směsi kvasnic a mladiny, druh fermentoru a jeho geometrie, způsob a intenzita cirkulace a podmínky tlaku [2].

Provzdušnění mladiny zajišťuje pomnožení kvasinek. Následuje proces hlavního kvašení, který má několik fází. První fází je zaprašování. To nastává po 12 hodinách od zakvašení, můžeme pozorovat první bílou pěnu na povrchu. Následuje takzvané odrážení, kdy pěna houstne a je vytlačována do středu kvasné kádě. Po dvou až třech dnech kvašení nastává fáze nízkých bílých kroužků. V této etapě je kvašení nejintenzivnější, dochází k největšímu vývinu oxidu uhličitého a vzhled pěny je hustý a smetanový. Následně poklesem pH a vyplavením chmelových a bílkovino-tříslovinových sloučenin se přechází do fáze vysokých hnědých kroužků. Závěrečnou fází je pak propadání kroužků, kdy se tvoří hustá „deka“, která je sbírána. Proces spodního kvašení za tohoto průběhu trvá 6–10 dní za teploty 5–10 °C. Po skončení kvasinky sedimentují na dno a mohou být recyklovány [23]. Svrchní kvašení pak trvá 2–8 dní za teploty o něco vyšší, a to zpravidla 15–22 °C [4].

Kvasné kádě bývají vyrobené z nerez. Na spilce se obvykle nachází i místo pro skladování kvasinek. Musí zde být dodržována maximální hygiena, aby nedošlo ke kontaminaci. Při kvašení dochází k velkému vývinu oxidu uhličitého, který se drží u země a v koncentracích

od 3 % je nebezpečný (aktivní ohrožení života v 7–10 %), proto musí být místnost, kde kvas probíhá, dobře ventilována. [21]. V současné době je také velmi rozšířené kvašení v cylindrokónických tancích (CKT). Jejich hlavní předností je intenzifikace a racionalizace procesu. Pozitivní jsou také nízké pořizovací náklady, snadná montáž, malá zastavěná plocha, možnost jímání oxidu uhličitého a v neposlední řadě možnost automatizace. Obvykle jsou vyrobeny z nerezů a izolovány pomocí polyuretanové pěny a pozinkovaným plechem. Jejich tvar, výška i vrcholový úhel mají vliv na samotný průběh kvašení. Při kvašení v těchto tancích se využívá buď jednofázový postup, kdy probíhá kvašení i dokvácení v jedné nádobě, nebo dvojfázový postup, kdy se po hlavním kvašení mladé pivo přečerpá do jiného CKT nebo do ležáckého sklepa [2]. Hlavní kvašení tímto způsobem probíhá 5–9 dní [2].

Dokvácení

Dokvácení je pomalý proces zkvašování sacharidů při nízkých teplotách, zatímco se pivo sytí oxidem uhličitým, vyčeří se a dosáhne těch správných organoleptických vlastností [23]. Tento proces probíhá v ležáckých tancích. Teplota pro dokvácení by měla být velmi nízká, aby proces probíhal pozvolna. Většinou se pohybuje kolem 1–3 °C. Vznik oxidu uhličitého je při dokvácení zcela zásadní, neboť dodává výslednému pivu říz a podílí se i na dalších faktorech jakosti piva. V hotovém pivě bývá obsažen v množství kolem 0,5 % [23]. Sycení piva je závislé na hradicím tlaku a na teplotě. Čím je tlak vyšší a teplota nižší, tím více probíhá sycení a fixace oxidu uhličitého. Při zrání se také odbourává chuť mladého piva. Klesá obsah oxidu siřičitého, thiolů, acetaldehydu, mastných kyselin a diacetylů. Současně se mění složení a narůstá obsah sensoricky aktivních esterů. Dochází také k interakci polyfenolických látek a bílkovin, při níž se tvoří nerozpustné komplexy [21]. Součástí procesu dokvácení a zrání je také číření. Jedná se o soustavu procesů, při kterých dochází k mechanickému vylučování kalů, adsorpci a řadě fyzikálně-chemických reakcí. Číření ovlivní následný průběh filtrace, pěnivost piva, chuť nebo jeho koloidní stabilitu [21].

Doba ležení piva se nedá přesně stanovit, odvíjí se od jeho stupňovitosti a charakteru. Výčepní piva leží obvykle 21 dní, ležáky pak až 70 dní [21]. Některá speciální piva však mohou ležet dokonce několik měsíců.

Studené chmelení

Tato technika je běžně používána v zahraničí při výrobě pivních stylů typu ale, IPA, APA apod. Studené chmelení piv v České republice nemá tak dlouhou tradici, do podvědomí spotřebitelů se dostává až v průběhu posledních let především prostřednictvím řemeslných pivovarů. V porovnání s tradičními výrobními postupy umožňuje studené chmelení dodat výrazně vyšší množství aromatických látek chmele, zejména silic. Zároveň se jedná o jediný dosud známý technologický proces, s jehož pomocí lze připravit pivo tak, aby se jeho výsledný sensorický profil blížil profilu použitého chmelového materiálu. Přejít aromatických látek do piva během studeného chmelení probíhá pomocí macerace. Tato technika probíhá za nízkých teplot, které jsou běžné při kvašení mladiny. Chmel se může přidávat do piva v průběhu kvašení nebo

v pozdější fázi výroby piva. Při udržení správného technologického postupu jsou ztráty silic i jejich transformace v porovnání s chmelovarem minimální. Kromě extrakce silic dochází během studeného chmelení i k extrakci minoritního podílu hořkých kyselin a od nich odvozených látek [29].

Výsledný sensorický profil piva je ovlivněn několika faktory, zejména dávkou použitého chmele, typem chmelového výrobku, způsobem extrakce, dobou kontaktu nebo přítomností kvasinek. Neméně důležité je také složení mladiny. Chmelové silice jsou obecně nepolární látky, a tedy lépe přechází do silných piv s vysokým obsahem alkoholu. Dle metody, kterou je proces realizován, se rozděluje studené chmelení statické a dynamické. Při statických metodách je chmelový materiál pouze vložen do kvasné nádoby, kde je macerován. Při dynamické metodě je pivo čerpáno přes chmelový materiál [29].

	STATICKÉ METODY	DYNAMICKÉ METODY
Distribuce silic do piva	macerace	dynamická extrakce
Technologický úsek aplikace	kvašení, zrání, hotové pivo	zrání, hotové pivo
Doba kontaktu s chmelem	dny až měsíce	minuty až hodiny
Technologická náročnost	nenáročná	náročná
Pořizovací náklady	minimální	vysoké
Nástroje/zařízení	sáčky, klíčky, inserty	chmelové extraktory

Obrázek 8 - srovnání dynamické a statické metody studeného chmelení [29]

Konečné úpravy

Mezi závěrečné úpravy patří filtrace piva, pasterace a stabilizace, a nakonec také stáčení piva. Filtrace je proces, který má za cíl upravit pivo před stáčením tak, aby se jeho vlastnosti v transportním obalu nezměnily [21]. Při filtraci je pivo zbavováno zbytků neusazených mikroorganismů a koloidních částic, aby dosáhlo biologické stability. Filtrace by však neměla snižovat pěnivost piva nebo dodávat látky, které by změnilly chemické složení piva nebo jeho organoleptické vlastnosti. Používané filtrační materiály jsou vláknité, mezi které patří pivovarská hmota nebo syntetická tkanina, dále zrnité a práškovité, které zahrnují křemelinu, perlity, kombinované materiály z celulózové vlákniny, silikagel či aktivní uhlí, nakonec pak pórovité materiály, což jsou membrány z plastu, kovu nebo keramiky. Druhů filtrů je mnoho, například kombinované filtry, filtrační naplavovací desky, desky pro dofiltraci piva, filtrační membrány a další. Dále se dají využít tzv. odstředivky, které se ale v současné době pro filtraci už používají velmi výjimečně. Využívána je také membránová technika, jejíž velkou výhodou je snížení obsahu křemeliny ve filtrech [2].

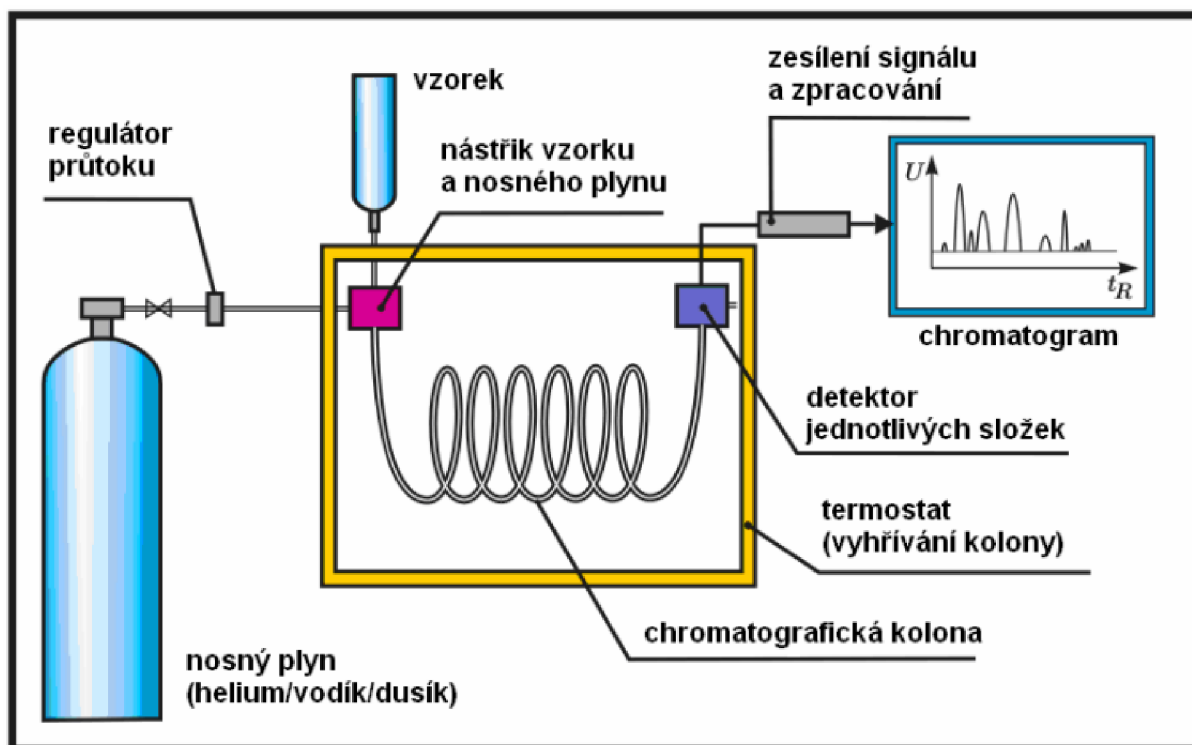
Stabilita piva se dá zvýšit i pomocí pasterace. Ta se provádí buď přímo v obalech za teploty kolem 62 °C, nebo pomocí průtokové technologie, kde je teplota ještě vyšší [27]. Při tomto procesu se tepelně inaktivují veškeré mikroorganismy, které mohou ovlivnit stabilitu piva. Pasterace se dá částečně nahradit ostrou filtrací pomocí EK filtrů a membránových filtrů [2]. Pro biologickou stabilitu je však zcela zásadní hlavně hygiena při celém procesu výroby piva. K účelu sanitace se využívají takzvané CIP stanice [2].

Většinou poslední úpravou je plnění piva do obalů, které jsou nadále již distribuovány z pivovaru. Pivo může být plněno do skleněných lahví, plastových obalů, plechovek, sudů či cisteren. Při plnění je hlavně nutné zamezit ztrátám oxidu uhličitého, čehož je možné docílit díky izobarickému principu strojů, a také zabránit styku s kyslíkem. Toho se snaží pivovary docílit pomocí stáčení piva pod tlakem oxidu uhličitého. Obaly, do kterých se pivo stáčí jsou předem plněny tímto plynem, případně jeho kombinací s dusíkem [27].

2.9 Analytické metody používané pro stanovení vybraných parametrů v pivě

2.9.1 GC-MS

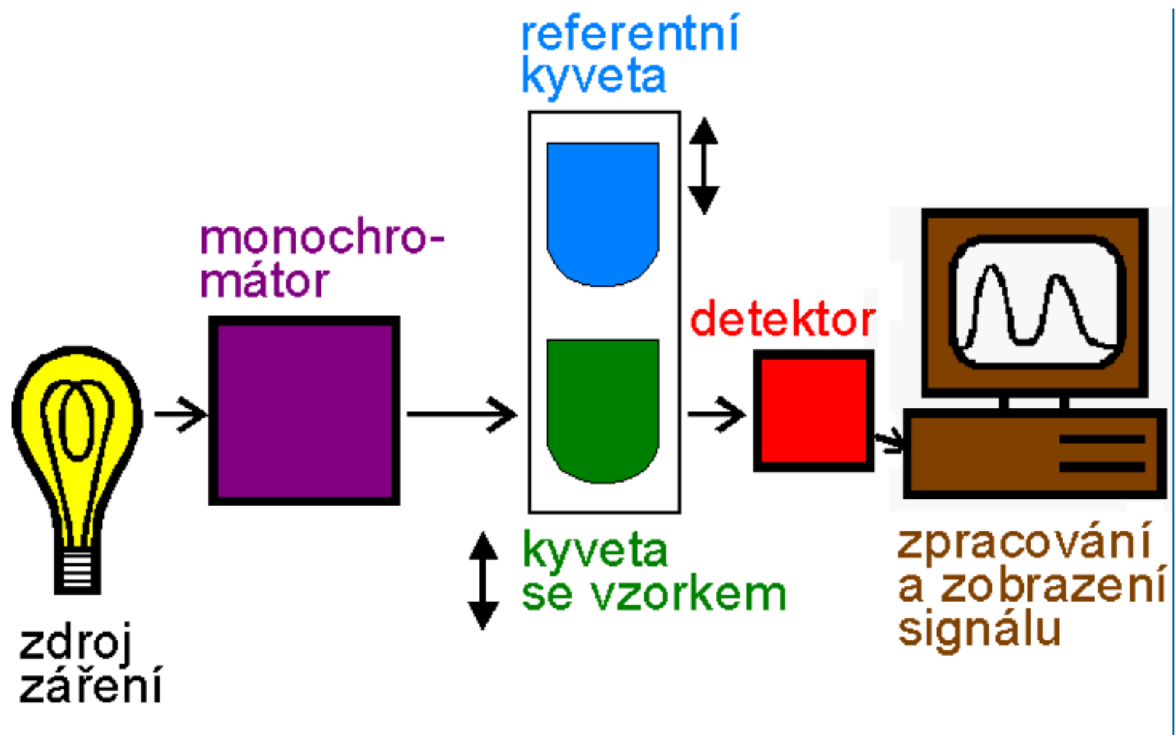
Plynová chromatografie je v souvislosti s potravinami široce využívanou analytickou metodou, která umožňuje jak kvantitativní, tak kvalitativní analýzu. GC je typicky využívána pro analýzu nepolárních a těkavých látek. Metoda je založena na rozdělování složek mezi mobilní a stacionární fázi. Mobilní fázi bývá nosný plyn, kterým je nejčastěji helium, dusík, vodík nebo argon. Stacionární fázi může být pevná látka nebo kapalina. Vzorek je nastříknut do nástřikové komory, kde dochází k odparu a následně je vzorek unášen kolonou pomocí mobilní fáze. Složky vzorku se dělí na základě distribuční konstanty a vstupují do detektoru, v tomto případě hmotnostního detektoru. K analýze je tedy využívána hmotnostní spektrometrie. Při průchodu čistého nosného plynu pozorujeme základní linii, ale pokud dojde k průchodu sledovaných látek, je zaznamenáván chromatografický pík. Výsledným výstupem analýzy je chromatogram, kde každý pík reprezentuje jinou složku směsi [31]. Dnes je věnována zvýšená pozornost sensoricky aktivním látkám ovlivňujícím kvalitu piva. Pro stanovení těkavých sensoricky aktivních látek v pivu se často používají metody plynové chromatografie [64]. V praxi se tato metoda dá využít například pro stanovení kvality a kvantity těkavých polutantů v plynné fázi, těkavých organických látek v pivě a chmelu. Právě organické látky, konkrétně silice byly stanovovány i v našem experimentu.



Obrázek 9 - schéma plynového chromatografu [58]

2.9.2 UV-VIS spektrofotometrie

Spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti patří mezi analytické metody, které řadíme mezi elektromagnetické spektroskopické metody. Jedná se o metodu, která je v pivovarské analytice velmi často využívanou. Její výhodou je především rychlost a dobrá dostupnost. Po přidavku různých činidel nám tato metoda umožňuje získat informace o vyskytujících se sloučeninách [32]. Metoda je založena na sledování absorpce elektromagnetického záření molekulami vzorku v oblasti UV nebo VIS (200-800 nm). Principem je interakce mezi elektrony vazebných či nevazebných orbitalů molekuly s fotony UV/VIS záření. Dochází k excitaci elektronů do vyšší energetické hladiny, zároveň dochází k pohlcení určitého množství záření o konkrétní vlnové délce. Obecně poskytuje málo informací o struktuře vzorku, ale je velmi užitečná pro kvantitativní měření. Tato metoda je přesná, rychlá, citlivá a experimentálně nenáročná. Pro stanovení koncentrace využíváme Lambert – Beerova zákona. Spektrofotometrických zařízení je mnoho typů ale v základu by měl UV/VIS spektrofotometr obsahovat zdroj záření, monochromátor, absorbující prostředí, detektor záření a výstupní či řídicí zařízení [41], [42]. Schématicky je uspořádání spektrometru zobrazeno na obrázku č. 11. UV-VIS spektrofotometrie má v analýze piva široké uplatnění, využívá se například ke stanovení celkového obsahu sacharidů, barvy, chuti a dalších parametrů. V této práci byla například využita pro stanovení obsahu α - a β -hořkých kyselin, obsahu fenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivity.



Obrázek 10 - schéma spektrometru [40]

3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Laboratorní pomůcky a vybavení

3.1.1 Seznam chemikálií

Tabulka 3 - seznam použitých chemikálií

Název	Mr [g/mol]	CAS
Toluen	92,14	108-88-3
Methanol	32,04	67-56-1
Hydroxid sodný	39,997	1310-73-2
Ethanol	46,07	64-17-5
Uhličitan sodný	105,99	497-19-8
Kyselina gallová	170,12	149-91-7
Peroxodisíran draselný	270,32	7727-21-1
ABTS	514,62	30931-67-0
Chlorid sodný	58,443	7647-14-5
Troxol	250,29	53188-07-1
Folin-Ciocalteu činidlo	–	521-24-4

3.1.2 Seznam vybavení

- Předvážky, analytické váhy
- Refraktometr
- Varná plotýnka
- Filtrační aparatura, filtrační papír
- Tlouček a třecí miska
- Třepačka
- Sušárna
- Automatická pipeta
- Pasteurova pipeta
- Teploměr
- Odměrný válec
- Zkumavky, kádinky odměrné baňky, Erlenmeyerovy baňky

- Vialky s výčkem a septem
- UV-VIS spektrofotometr
- Plynový chromatograf s hmotnostním detektorem
- Parafilm

3.2 Příprava chmelového materiálu

3.2.1 Mražení za teploty -25 °C

Peletovaný chmel odrůdy Žatecký poloraný červeňák ($\alpha = 5,3 \%$) byl rozdělen do sáčků určených k vakuování a zavakuován. Následně byl vložen do mrazícího zařízení, které bylo nastaveno na teplotu -25 °C. Zde byl chmel ponechán po dobu jednoho týdne. Stejný postup byl proveden i s lisovanými hlávkami Žateckého poloraného červeňáku ($\alpha = 3,5 \%$).

3.2.2 Mražení za teploty -70 °C

Peletovaný chmel odrůdy Žatecký poloraný červeňák ($\alpha = 5,3 \%$) byl rozdělen do sáčků určených k vakuování a zavakuován. Následně byl vložen do mrazícího zařízení, které bylo nastaveno na teplotu -70 °C. Zde byl chmel ponechán po dobu jednoho týdne. Stejný postup byl proveden i s lisovanými hlávkami Žateckého poloraného červeňáku ($\alpha = 3,5 \%$).

3.2.3 Úprava tekutým dusíkem

Peletovaný chmel odrůdy Žatecký poloraný červeňák ($\alpha = 5,3 \%$) byl zalit tekutým dusíkem a následně rozmělněn pomocí tloučku. Následně byl znovu přelit tekutým dusíkem a znovu podrcen. Takto upravený materiál byl vložen do sáčků určených k vakuování a zavakuován, následně byl skladován v lednici za teploty 4 °C. Stejný postup byl proveden i s lisovanými hlávkami Žateckého poloraného červeňáku ($\alpha = 3,5 \%$).

3.3 Chmelovar

Byla připravena sladina ze světlého sladového výtažku a naředěna vodou tak, aby extrakt původní mladiny (EPM) byl 12 %. Sladina byla rozdělena ve stejných objemech (400 ml) Erlenmeyerových baněk. V daných časových intervalech uvedených tabulce č. 4 byl přidáván chmelový materiál připravený dle kapitoly 3.2. Celková doba chmelovaru byla 60 minut, teplota chmelovaru byla 100 °C. Následně byla mladina zchlazena na laboratorní teplotu a přefiltrována přes filtrační papír do uzavíratelných odměrných baněk a doplněna deionizovanou vodou na 500 ml.

Tabulka 4 - dávkování chmele při chmelovaru

Pelety (IBU 30,9)			
	0. minuta chmelovaru	30. minuta chmelovaru	55. minuta chmelovaru
Neupravené pelety	1 g	0,8 g	0,7 g
Pelety -25 °C	1 g	0,8 g	0,7 g
Pelety -70 °C	1 g	0,8 g	0,7 g
Pelety s tekutým dusíkem	1 g	0,8 g	0,7 g
Hlávky (IBU 30,5)			
	0. minuta chmelovaru	30. minuta chmelovaru	55. minuta chmelovaru
Neupravené hlávky	1,5 g	1,2 g	1 g
Hlávky -25 °C	1,5 g	1,2 g	1 g
Hlávky -70 °C	1,5 g	1,2 g	1 g
Hlávky s tekutým dusíkem	1,5 g	1,2 g	1 g

3.4 Studené chmelení

Byl připraven 5 % roztok ethanolu pro simulaci prokvašené mladiny. Roztok byl rozdělen ve stejných objemech (100 ml) do Erlenmeyerových baněk, do kterých byly přidány upravené vzorky dle kapitoly 3.2 po 0,5 g. Studené chmelení probíhalo po dobu deseti dní. Následně byl chmelový materiál z roztoku odfiltrován pomocí filtračního papíru.

3.5 Analytické metody

3.5.1 Stanovení vlhkosti sušením

Vzorek chmele byl rozdrcen v třecí misce a následně sušen při 103 až 104 °C po dobu jedné hodiny. Obsah vody ve vzorku byl stanoven vázkově na základě zjištěné hmotnostní difference před a po sušení a vyjádřen v hmotnostních procentech:

$$w = \frac{m_0 - m_1}{m_0}$$

kde m_0 = navážka před sušením, m_1 = váha vzorku po sušení.

3.5.2 Stanovení chmelových silic pomocí GC/MS

Do vialky o objemu 10 ml byly pipetovány 3 ml vzorku a přidáno 0,3 g NaCl. Vialka byla uzavřena víčkem se septem. Těkavé sloučeniny v pivu byly extrahovány mikroextrakcí na pevnou fázi (SPME) a analyzovány za použití plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Podmínky analýzy jsou uvedeny v tabulce č. 5. Extrakce těkavých látek probíhala v headspace prostoru vialky pomocí SPME vlákna po dobu 30 minut při teplotě 40 °C

a rychlosti míchání 400 otáček/min. Po každé extrakci bylo SPME vlákno vloženo do GC injektoru a těkavé látky tepelně desorbovány. Nástříky byly prováděny v režimu splitless při teplotě 250 °C, vlákno SPME bylo desorbováno po dobu 2 minut v injektoru. GC pec měla počáteční teplotu 40 °C, která byla udržována po dobu 2,5 minut a zvýšena na 120 °C při gradientu 2,5 °C/minutu. Poté byla teplota zvýšena na 200 °C v 5 minutách, a nakonec zvýšena na 250 °C s gradientem 15 °C/minutu. Analyty myrcen, α -humulen a geraniol byly kvantifikovány na základě kalibrační křivky. Ze standardů byly do odměrných baněk připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 0,5; 1,0; 10; 100 a 200 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ pro myrcen. Pro α -humulen a geraniol byla připraveny roztoky o koncentraci 0,5; 1,0; 10 a 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.

Tabulka 5 - podmínky analýzy GC-MS

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

3.5.3 Stanovení α - a β -hořkých kyselin pomocí UV-VIS spektrofotometrie

Do skleněné láhve o objemu 250 ml bylo naváženo 2,5 g vzorku chmele a přidáno 50 ml toluenu. Láhev byla uzavřena a protřepávána v třepačce po dobu 30 minut. Po vytřepání byl obsah láhve ponechán v klidu, aby došlo k usazení. Do 100ml odměrné baňky bylo odpipetováno 5 ml vyčištěného toluenového extraktu a doplněno methanolem po rysku (roztok A). Z roztoku A bylo odpipetováno 5 ml do 50 ml odměrné baňky a doplněno po rysku alkalickým methanolem (do 100 ml methanolu bylo přidáno 0,2 ml roztoku 6 M NaOH) (roztok B). Absorbance roztoku B byla změřena při vlnových délkách 275, 325 a 355 nm proti slepému vzorku, který byl připraven stejným způsobem jako vzorky chmele.

Obsah α - a β -hořkých kyselin byl stanoven dosazením změřených absorbancí do níže uvedených regresních rovnic:

$$\alpha\text{-hořké kyseliny} = d(-51,56 \cdot A_{355} + 73,79 \cdot A_{325} - 19,07 \cdot A_{275})$$

$$\beta\text{-hořké kyseliny} = d(55,57 \cdot A_{355} + 47,59 \cdot A_{325} - 5,10 \cdot A_{275})$$

kde hodnota d je faktor ředění.

3.5.4 Stanovení celkových fenolických látek (TPC) pomocí UV-VIS spektrofotometrie

Pro vzorky neupraveného chmele (pelet a slisovaných chmelových hlávek) bylo připraveno 100 μ l extraktu a smícháno s 1 μ l Folin-Ciocalteuova činidla (1:9 ředěný deionizovanou vodou) a 1 ml deionizované vody. Byla provedena inkubace při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Následně byl přidán 1 ml 7,5 % Na_2CO_3 a směs se byla dále inkubována 30 minut v temnu. Absorbance byla měřena při 765 nm a kvantifikována pomocí kalibrační křivky kyseliny gallové v rozmezí 0–200 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Pro mladinové vzorky byl použit následující postup: Do zkumavky byl napipetován 1 ml Folin-Ciocalteuova roztoku (10x zředěný deionizovanou vodou), 1 ml deionizované vody a 100 μ l vzorku mladiny. Směs byla promíchána na vortexu a nechána reagovat 5 minut. Poté byl přidán 1 ml 7,5 % roztoku Na_2CO_3 a nechán 30 minut reagovat v temnu. Absorbance byla měřena při 765 nm proti reakční směsi (přídavek 100 μ l deionizované vody). Pro kalibraci se používá kyselina gallová.

3.5.1 Stanovení celkových flavonoidů (TFC) pomocí UV-VIS spektrofotometrie

Do 10 ml zkumavky bylo pipetováno 100 μ l vzorku a 4 ml deionizované vody. Poté bylo přidáno 0,3 ml 5% roztoku NaNO_2 . Po 5 minutách bylo přidáno 0,3 ml 10% roztoku AlCl_3 . Po minutě byly přidány 2 ml 1 M roztoku NaOH . Směs byla doplněna 3,3 ml deionizované vody a protřepána. Absorbance vzorků byla měřena při 510 nm oproti blanku připraveného stejným postupem jako vzorky (100 μ l deionizované vody). Kvantifikace proběhla na základě kalibrační křivky katechinu v koncentračním rozmezí 30–100 mg/l .

3.5.2 Stanovení antioxidační aktivity pomocí ABTS

Byl připraven 7 mM roztok ABTS obsahující 2,45 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. Směs byla umístěna při 4 °C po dobu 12–16 hodin v temnu. Poté byl roztok zředěn 60 % ethanolem na absorbanci 0,7 při 734 nm. Při měření bylo smícháno 20 μ l extraktu nebo kalibračních roztoků (příprava kalibračních roztoků na Trolox v 60 % EtOH) s 2 ml připraveného roztoku ABTS a inkubováno při laboratorní teplotě po dobu 6 minut. Absorbance byla měřena při 734 nm.

3.5.3 Stanovení hořkosti dle metody EBC 9.8

Do 50ml centrifugační zkumavky bylo napipetováno 10 ml vzorku piva, 1 ml 3 M HCl , 20 ml isooktanu. Směs byla protřepána na vortexu při 2300 ot/min. Následně byla směs centrifugována 5 min při 5 000 rpm. Horní organická fáze byla odebrána a převedena do křemenné kyvety. Absorbance byla měřena při 275 nm proti slepému vzorku (isooktan). Výpočet hořkosti IBU byl provede dle následující rovnice:

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

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Předmětem této práce bylo zjistit do jaké míry mají vliv, kryogenní úpravy chmelového materiálu a zjistit, do jaké míry mají vliv na jednotlivé analytické parametry. Jelikož se při výrobě piva eventuelně používá krom tradičního chmelovaru i proces studeného chmelení, byly testovány oba postupy přidávání chmele. Jako vzorek byl použit Žatecký poloraný červeňák ve formě pelet a ve formě sušených a slisovaných chmelových hlávek. Tyto dva druhy předupraveného chmele byly podrobeny stejným kryogenním metodám a testovány ve stejném postupu. Chmelový materiál byl upravován třemi způsoby. Prvním způsobem bylo zmrazení v klasickém mrazícím zařízení na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Druhý způsob úpravy testoval teplotu $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. při třetím způsobu byly vzorky vystaveny přímému kontaktu s tekutým dusíkem, čímž jsme dosáhli požadované kryogenní úpravy.

4.1 Charakterizace neupraveného chmelového materiálu

Tabulka 6 charakterizace neupraveného chmelového materiálu

Typ materiálu	α -hořké kyseliny [%]	β -hořké kyseliny [%]	Vlhkost [%]
pelety	$4,10 \pm 0,05$	$4,16 \pm 0,27$	$7,21 \pm 0,22$
hlávky	$2,29 \pm 0,07$	$3,49 \pm 0,11$	$8,98 \pm 0,39$

V tabulce 6 jsou uvedeny hodnoty pro neupravený chmelový materiál. Obsah α -hořkých kyselin se pohybuje u Žateckého poloraného červeňáku mezi 2,5-5,5 %, takže jak hlávkový, tak peletovaný chmel do tohoto rozmezí zapadá. Stejně tak obsah β -hořkých kyselin odpovídá běžnému rozsahu 2,5-5 % [62]. Jedná se tedy o standardní materiál. Stanovení obsahu vody v chmelu je jedním ze základních analytických parametrů. Za optimální obsah vody v sušeném chmelu lze považovat 10-11 % hm, ale může být i nižší [63]. Stanovená vlhkost byla o něco nižší, což může být způsobeno dlouhodobějším skladováním. Vlhkost obou materiálů se lišila o necelé dvě procenta, jednalo se tedy o podobné hodnoty.

4.2 Vliv předúprav chmele na extrakci zkoumaných látek při chmelovaru

4.2.1 Vliv úpravy chmelového materiálu na hořkost

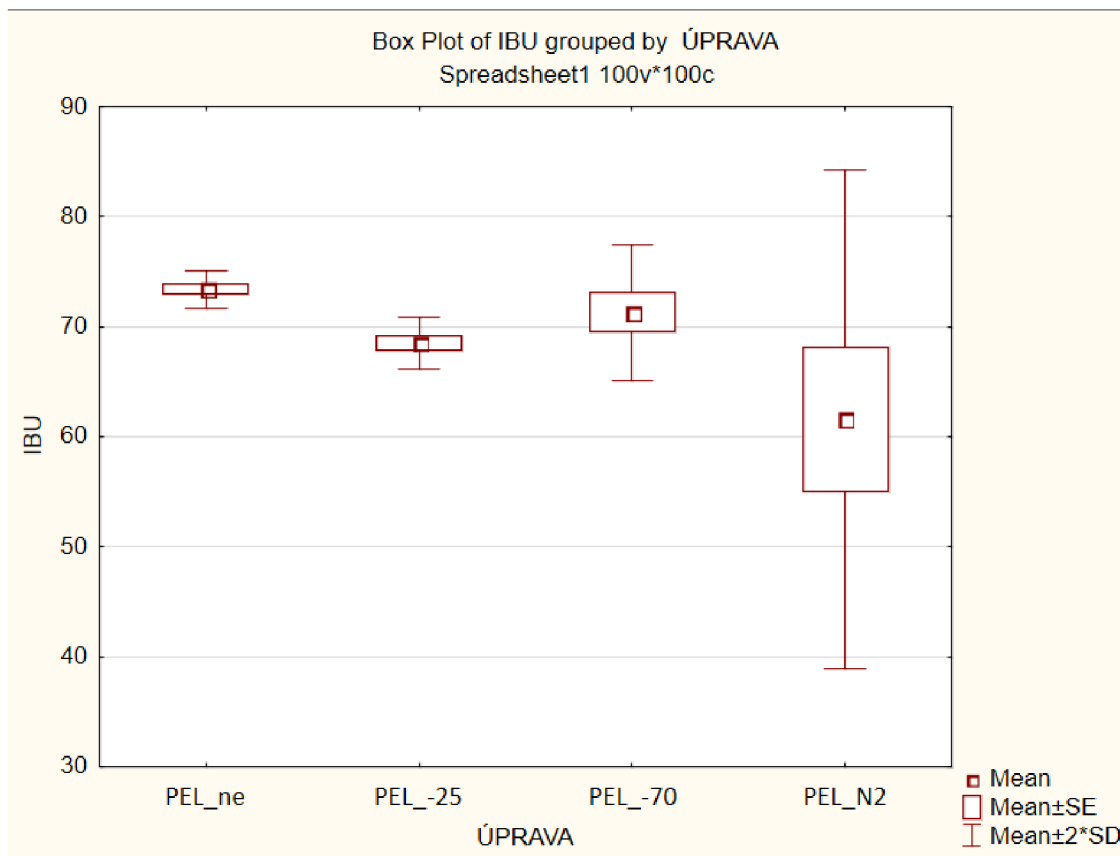
V tabulce č. 7 a na obrázku č. 13 a 14 jsou uvedeny výsledky stanovení hořkosti u vzorků upravených chmelových hlávek a pelet dle postupu uvedeného v kapitole 3.2. Jedná se o průměrné hodnoty vycházející ze tří paralelních měření. Hořkost se definuje pomocí jednotek IBU. Tyto jednotky udávají množství iso- α -hořkých kyselin v miligramech na litr piva [45]. Iso- α -hořké kyseliny vznikají izomerací α -hořkých kyselin při chmelovaru [46].

Tabulka 7- hořkost vzorků při použití kryogenních úprav u pelet

IBU	
Typ úpravy	[-]
Pelety neupravené	73,42 ± 0,85 ^a
Pelety -25 °C	68,54 ± 1,16 ^a
Pelety -70 °C	71,29 ± 3,07 ^a
Pelety tekutý dusík	61,56 ± 11,31 ^a
Typ úpravy	[-]
Hlávky neupravené	52,31 ± 4,41 ^a
Hlávky -25 °C	54,91 ± 1,13 ^a
Hlávky -70 °C	54,33 ± 4,59 ^a
Hlávky tekutý dusík	59,37 ± 0,94 ^a

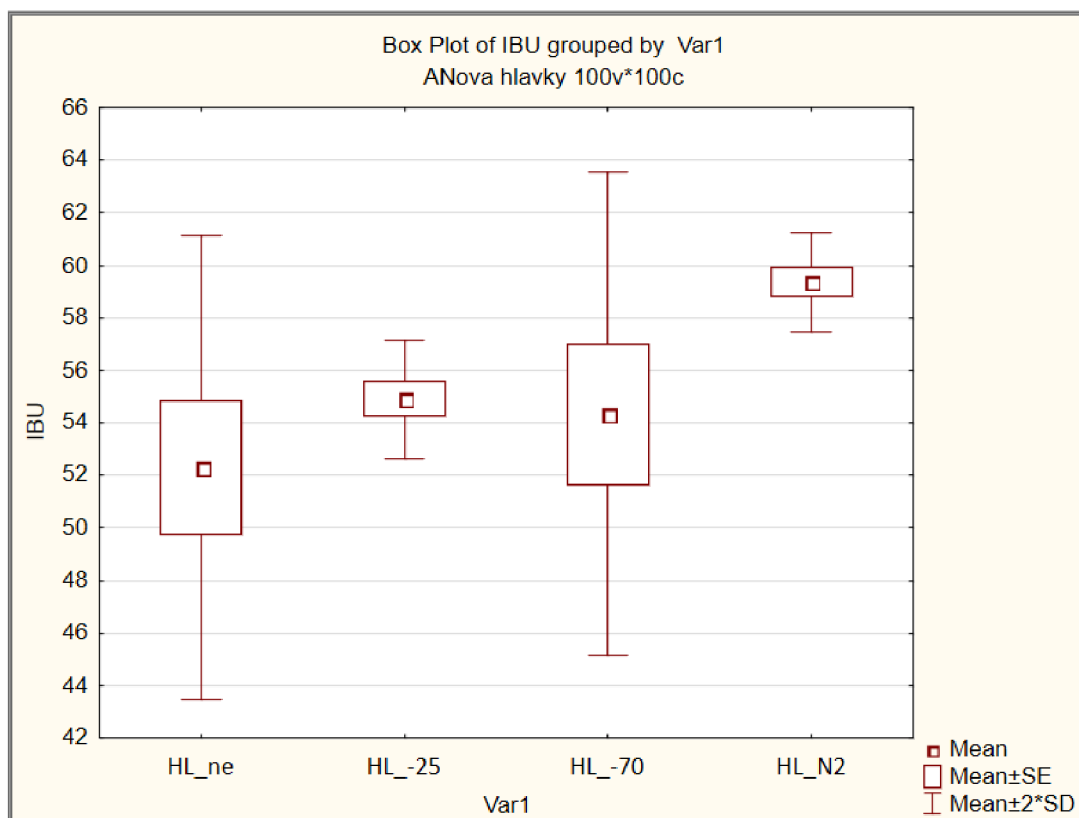
Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Při měření hořkosti v pivech chmelených peletovaným materiálem nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly. Hořkost v pivu po chmelovaru s neupraveným chmelem se pohybovala v průměru kolem 73 jednotek IBU. Kryogenní úpravou nedošlo k zásadnímu navýšení výtěžnosti hořkých látek. Spíše došlo k poklesu koncentrace hořkých látek oproti referenčnímu vzorku s neupraveným chmelem, a to až na 61,6 IBU u vzorku upraveného tekutým dusíkem. Vlivem kryogenní úpravy dochází k narušení buněk rostlinného materiálu, a tím k lepšímu zpřístupnění využitelných látek obsažených v těchto buňkách. U chmelových hlávek se jedná o oddělení lupulinu od zbytku chmelového materiálu [34]. To může při chmelovaru vést ke zvýšení extrakce a izomerace hořkých látek na odpovídající hořké produkty [8], [45]. Z výsledků vyplývá, že samotné vymrazovací techniky nejsou dostatečně efektivní k zpřístupnění a extrakci lupulinu. Pokud je úprava pomocí tekutého dusíku správně provedena za co nejnižšího přístupu kyslíku, měla by do velké míry chmel ochránit před dalšími degradačními změnami [46]. Z grafu na obrázku č. 12 je patrné, že měření u dusíkem upravených pelet se v jednotlivých opakováních poměrně hodně rozcházely, což se projevuje vysokou směrodatnou odchylkou. Rozdíly mohly být způsobeny nerovnoměrným přístupem dusíku ke chmelovému materiálu.



Obrázek 12- boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi hořkostí pro jednotlivé úpravy pelet

Z grafu na obrázku č. 13 pozorujeme lehký nárůst IBU u tekutým dusíkem upravených lisovaných chmelových hlávek. Je možné, že dusík u lisovaných chmelových šištic, které nejsou natolik mechanicky upravené, jako pelety, hrál významnější roli v narušení buněčné struktury chmelového materiálu a díky této skutečnosti se uvolnilo nepatrně vyšší množství hořkých kyselin. Po podrobnější statistické analýze však díky velkým rozptylům hodnot nebyly stanoveny statisticky významné rozdíly.



Obrázek 13 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi hořkostí pro jednotlivé úpravy lisovaných chmelových hlávek

4.2.2 Vliv úprav chmele na obsah fenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivitu

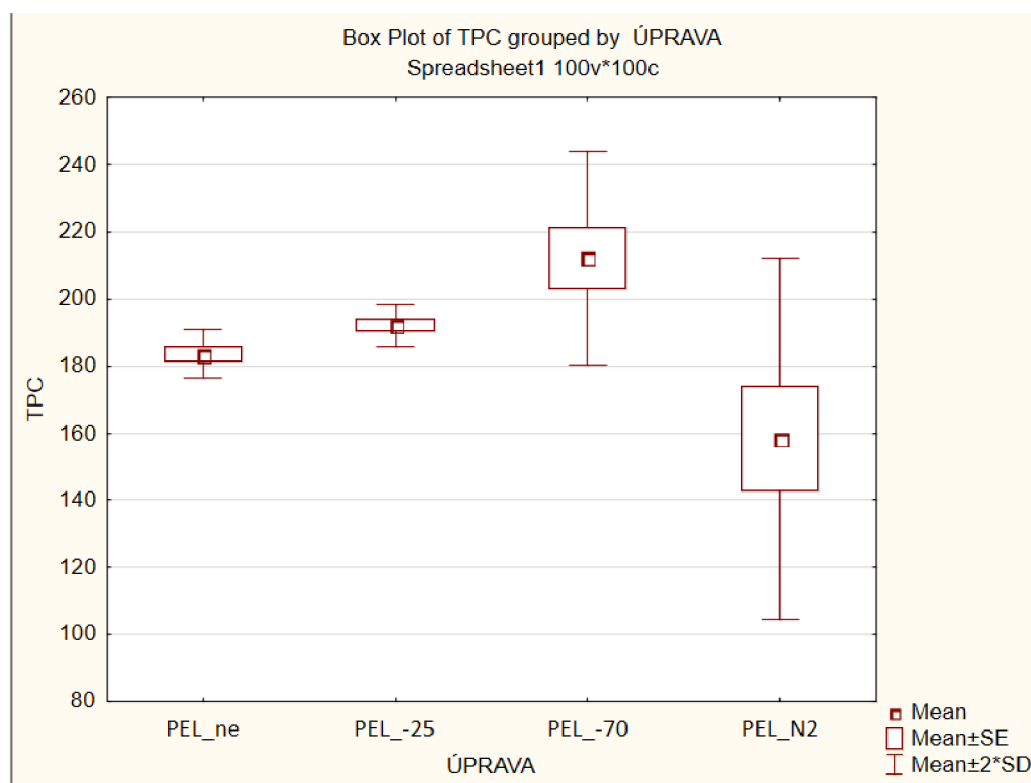
Obsah fenolických látek v peletových vzorcích i vzorcích lisovaných chmelových hlávek je zaznamenán v tabulce č. 8. V obou případech se jedná o průměrné hodnoty vycházející ze tří paralelních měření.

Tabulka 8 - celkový obsah fenolických látek ve vzorcích při použití kryogenních úprav

TPC	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Pelety neupravené	183 ± 3,66 ^a
Pelety -25 °C	192 ± 3,13 ^a
Pelety -70 °C	212 ± 15,86 ^b
Pelety tekutý dusík	158 ± 26,94 ^c
TPC	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Hlávky neupravené	128 ± 0,90 ^a
Hlávky -25 °C	129 ± 0,42 ^a
Hlávky -70 °C	127 ± 2,26 ^a
Hlávky tekutý dusík	129 ± 5,95 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Z obrázku 14 je patrné, že se snižující se teplotou došlo k nárůstu fenolických látek ve vzorcích upraveného chmelu. Byl nalezen statisticky významný rozdíl u pelet vymrazovaných při $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($p=0,013$). V porovnání s peletami vymrazovanými pouze při $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ došlo ke zvýšení výtěžnosti fenolických látek o 20 mg/g, respektive o 30 mg/g chmele, v porovnání s neupravenými peletami. U vzorků pelet upravených pomocí tekutého dusíku došlo k signifikantnímu poklesu koncentrace fenolických látek ($p=0,013$). Fenolické látky ovlivňují nejen celkovou trvanlivost, ale i sensorické vlastnosti produktu. Obecně se podílejí na chemicko-fyzikální stabilitě piva, na odolnosti proti jeho stárnutí, oxidaci a na formování pěny [60]. Z chemického hlediska jde o široký soubor látek. Fenolické látky jsou účinné antioxidanty a během úpravy tedy mohlo dojít k částečné oxidaci těchto sloučenin. Fenolické látky v pivě jsou ze dvou třetin sladového původu a pouze z jedné třetiny původu chmelového [47].



Obrázek 14 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi TPC pro jednotlivé úpravy pelet

U lisovaných chmelových hlávek nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými typy úprav chmelového materiálu ani v porovnání s neupravenými vzorky.

Mezi fenolické sloučeniny patří rozsáhlá skupina látek – flavonoidy. V rámci této diplomové práce byl studován vliv předúpravy chmele na extrakci flavonoidů během chmelovaru. V tabulce č. 9 jsou uvedeny průměrné hodnoty celkových flavonoidů, které byly získány ze tří paralelních měření.

Tabulka 9 - celkové množství flavonoidů ve vzorcích při použití kryogenních úprav

TFC	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Pelety neupravené	24,87 ± 0,18 ^a
Pelety -25 °C	25,09 ± 0,13 ^a
Pelety -70 °C	26,42 ± 3,51 ^a
Pelety tekutý dusík	22,92 ± 4,84 ^a
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Hlávky neupravené	17,98 ± 1,03 ^a
Hlávky -25 °C	19,86 ± 0,91 ^a
Hlávky -70 °C	18,07 ± 1,16 ^a
Hlávky tekutý dusík	18,42 ± 0,07 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Flavonoidy jsou látky na bázi polyfenolů. V současné době je známo více než čtyři tisíce zástupců flavonoidních látek a stále se objevují nové. Mezi hlavní skupiny flavonoidů ve výživě člověka patří flavanoly, flavanony a flakony. Flavonoidy patří mezi významné antioxidanty. Jejich antioxidační aktivita závisí na počtu a poloze hydroxylových skupin v molekule a také na jejich glykosylaci. Jsou to primární antioxidanty pro jejichž antioxidační aktivitu je důležitý počet hydroxylových skupin a jejich uspořádání v molekule [61].

Úpravou peletovaného ani sušeného hlávkového chmele nedošlo ke změně extraktivity flavonoidů během chmelovaru. Ukazuje se tedy, že zpracování mrazem nemá v případě chmelovaru na flavonoidy prokazatelný vliv.

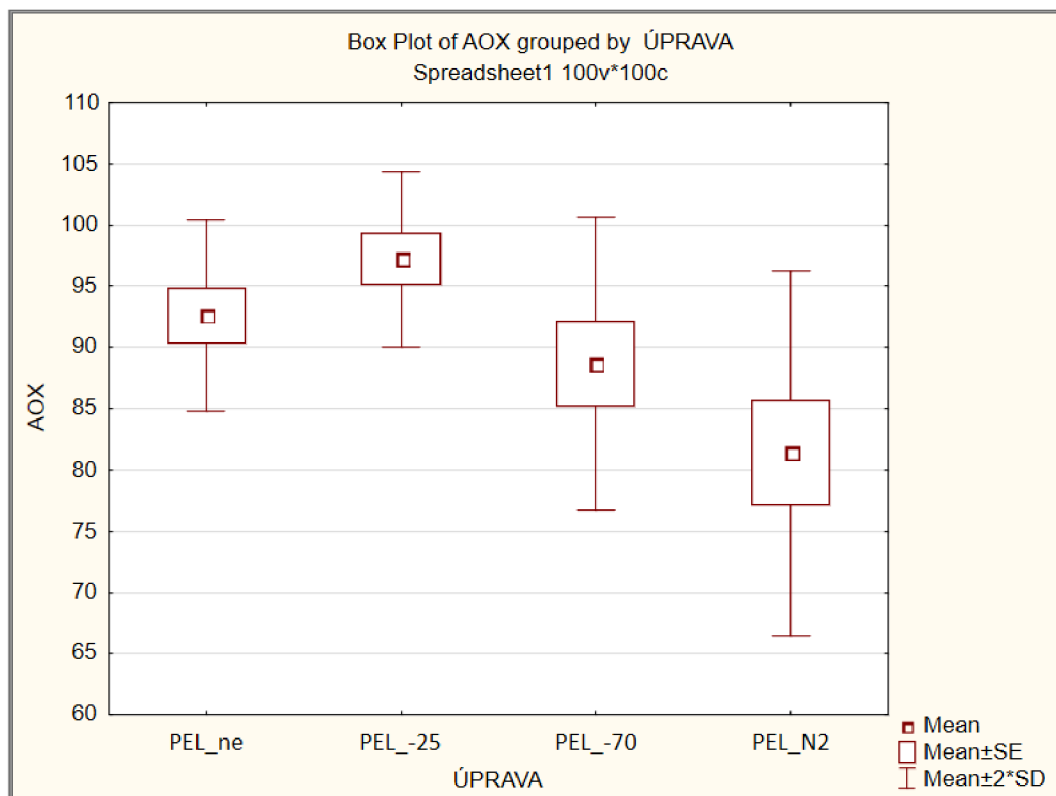
Dále byl zhodnocen vliv kryoúprav chmele na antioxidační aktivitu piva po chmelovaru. Antioxidační aktivita pro chladem upravené pelety a lisované chmelové hlávky je zaznamenána v tabulce č. 10. Odpovídající boxový graf pro peletované vzorky je prezentován na obrázku 15.

Tabulka 10 - antioxidační aktivita ve vzorcích při použití kryogenních úprav

AOX	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Pelety neupravené	92,59 ± 3,91 ^a
Pelety -25 °C	97,21 ± 3,58 ^b
Pelety -70 °C	88,69 ± 5,99 ^a
Pelety tekutý dusík	81,39 ± 7,45 ^c
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Hlávky neupravené	70,25 ± 1,99 ^a
Hlávky -25 °C	62,72 ± 13,27 ^a
Hlávky -70 °C	67,64 ± 0,47 ^a
Hlávky tekutý dusík	63,44 ± 8,55 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami peletových vzorků chmele. Z grafu na obrázku č. 15 je patrná klesající antioxidační aktivita spolu s klesající teplotou. Nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena pro vzorky upravené zmražením při $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Naopak nejnižší antioxidační aktivita byla stanovena u vzorků upravených tekutým dusíkem. Antioxidační aktivita do velké míry souvisí s obsahem fenolických látek, které fungují jako antioxidanty [48]. Drobný nárůst u pelet upravených zmražením na teplotu $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ si můžeme vysvětlit narušením buněčné struktury v důsledku zmražení a možnému zpřístupnění antioxidačních látek. U lisovaného hlávkového chmele došlo k mírnému, avšak ne statisticky významnému poklesu antioxidační aktivity.



Obrázek 15 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi AOX pro jednotlivé pelet

4.2.3 Vliv úprav chmelového materiálu na obsah chmelových silic

V rámci této práce byli zkoumáni tři zástupci silic a to myrcen, humulen a geraniol. V tabulce č. 11 jsou uvedeny výsledky stanovení koncentrace myrcenu u vzorků připravovaných z pelet a hlávkového lisovaného chmele. Jedná se o průměrné hodnoty vycházející ze tří paralelních měření. V následujících tabulkách jsou pak se stejným principem uvedeny hodnoty pro koncentraci humulenu (tab. č. 12) a geraniolu (tab. č. 13).

Tabulka 11 - koncentrace myrcenu ve vzorcích při použití kryogenních úprav

Silice (myrcen)	
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Pelety neupravené	117,37 \pm 27,40 ^a
Pelety -25 °C	85,75 \pm 19,89 ^a
Pelety -70 °C	17,14 \pm 0,99 ^b
Pelety tekutý dusík	1,16 \pm 1,06 ^c
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Hlávky neupravené	0,35 \pm 0,13 ^a
Hlávky -25 °C	4,61 \pm 5,76 ^a
Hlávky -70 °C	8,12 \pm 10,53 ^b
Hlávky tekutý dusík	1,33 \pm 0,01 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Tabulka 12 - koncentrace humulenu ve vzorcích při použití kryogenních úprav

Silice (humulen)	
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Pelety neupravené	16,63 \pm 1,22 ^a
Pelety -25 °C	17,83 \pm 1,54 ^a
Pelety -70 °C	9,19 \pm 2,12 ^b
Pelety tekutý dusík	2,70 \pm 0,61 ^c
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Hlávky neupravené	1,37 \pm 0,22 ^a
Hlávky -25 °C	1,62 \pm 0,43 ^a
Hlávky -70 °C	2,31 \pm 1,47 ^a
Hlávky tekutý dusík	1,11 \pm 0,17 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Tabulka 13 - koncentrace geraniolu ve vzorcích při použití kryogenních úprav

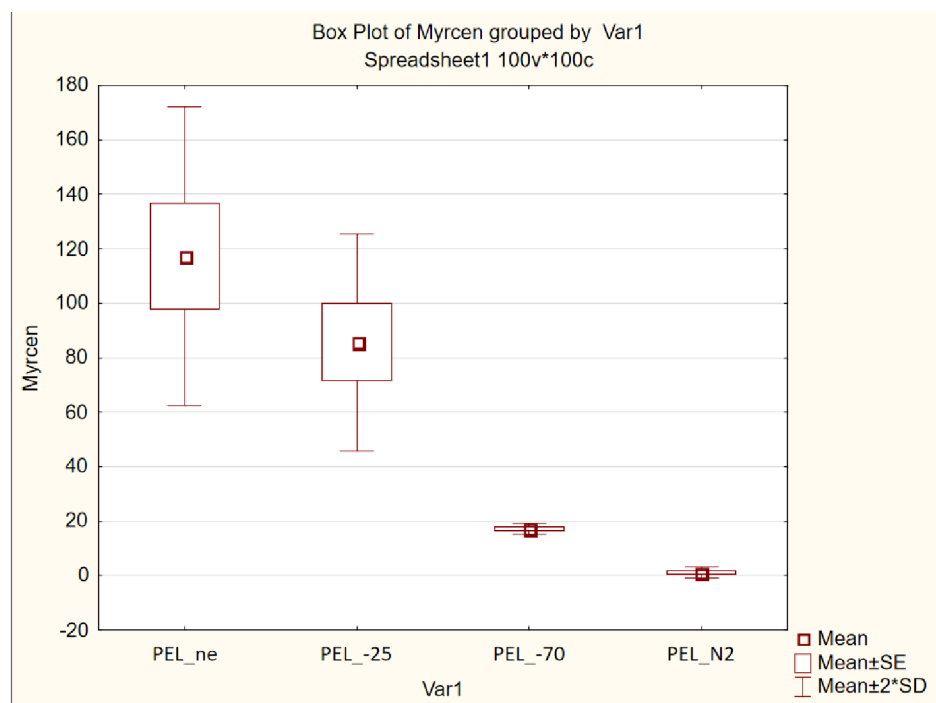
Silice (geraniol)	
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Pelety neupravené	1,25 \pm 0,14 ^a
Pelety -25 °C	1,19 \pm 0,24 ^a
Pelety -70 °C	2,07 \pm 0,41 ^b
Pelety tekutý dusík	0,86 \pm 0,02 ^c
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Hlávky neupravené	0,55 \pm 0,11 ^a
Hlávky -25 °C	1,43 \pm 0,31 ^b
Hlávky -70 °C	1,03 \pm 0,09 ^c
Hlávky tekutý dusík	0,92 \pm 0,11 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

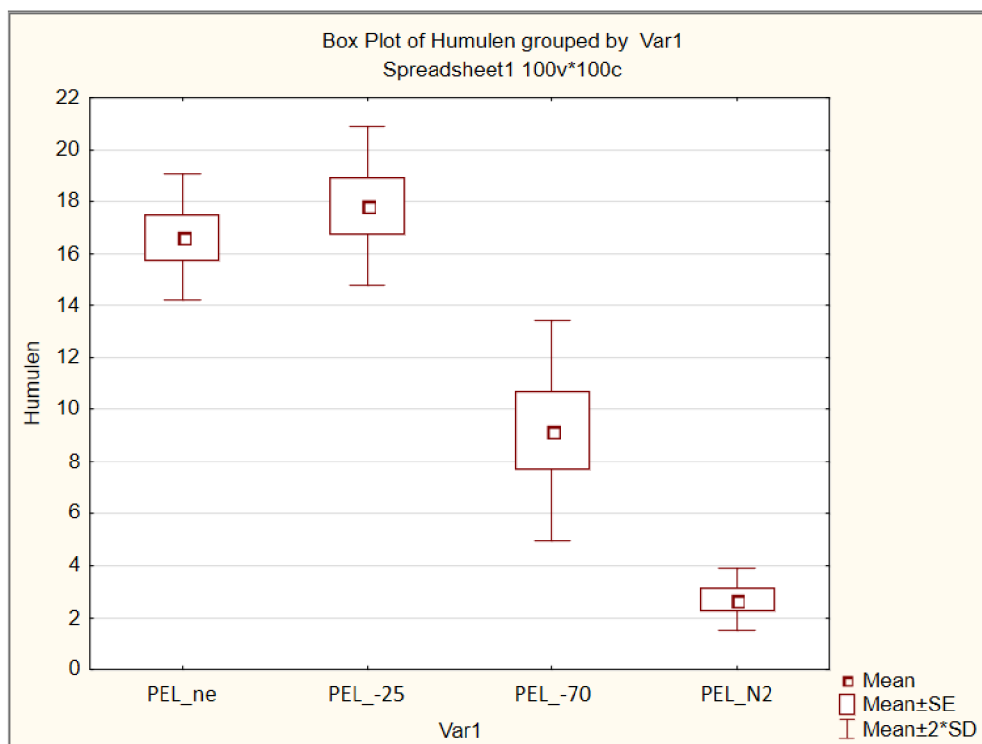
Chmelové silice jsou těkavé látky, které během varu do velké míry vytěkají anebo se přeměňují na jiné sensoricky aktivní látky [50], [51]. Například bylo zjištěno, že po pouhých deseti minutách varu se koncentrace myrcenu snížila o 50 % [55]. Při chmelovaru se na počátku chmelí hořkými chmelovými odrůdami tzv. na hořkost, naopak těsně před koncem chmelovaru se využívají k chmelení aromatické odrůdy chmele, aby se do mladiny dostaly právě i chmelové silice.

Z tabulky 11 je patrný statisticky významný rozdíl v obsahu myrcenu. Je jasně zřetelné, že se snižující se teplotou chladové úpravy se snižovaly i koncentrace myrcenu ve vzorcích. Stejný trend můžeme pozorovat i peletových vzorků humulenu a geraniolu. U vzorků připravených z lisovaných chmelových hlávek se kromě geraniolu statisticky významné rozdíly neobjevily. Obsah geraniolu může být ovlivněn jeho biotransformací na jiné produkty. To, že u pelet byly pozorovány celkově vyšší koncentrace silic, je pravděpodobně způsobeno lepší homogenitou materiálu a změnami které při výrobě pelet v chmelovém materiálu proběhnou [2], [15].

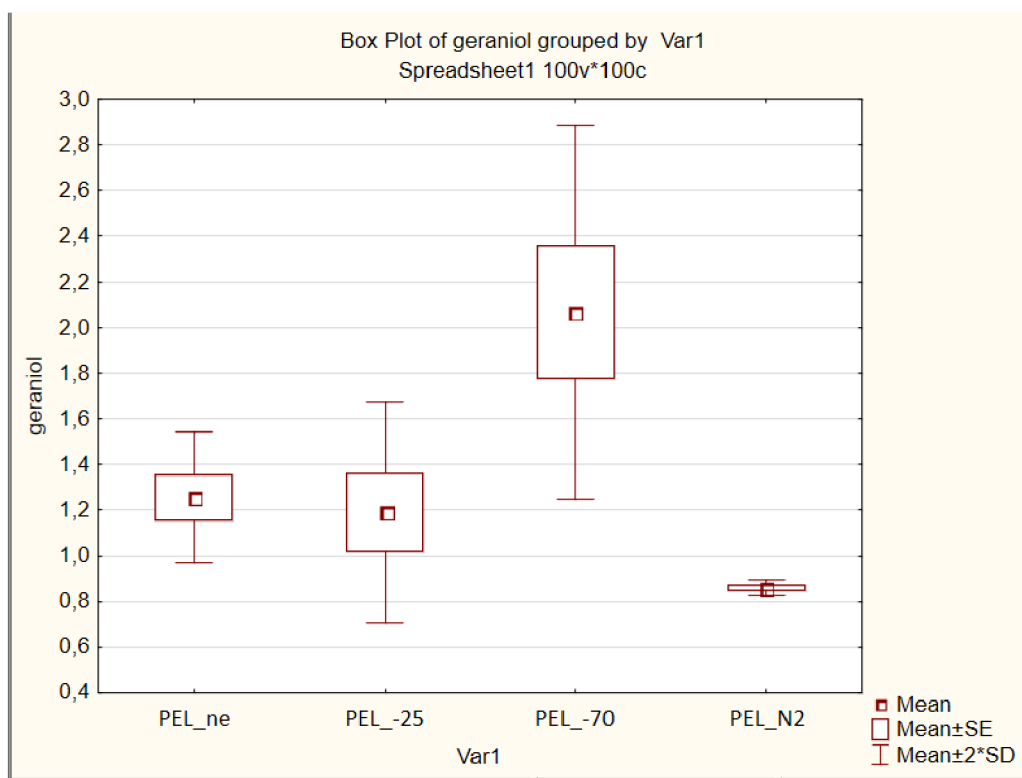
Výsledky v této práci potvrzují výsledky výzkumu Algazzaliho et al. (2015), kteří také pozorovali snížení koncentrace většiny silic při použití tekutého dusíku prosušení chmelového materiálu [52]. Bylo tedy potvrzeno, že kryogenní úprava má na koncentraci silic negativní vliv. Nejnižší koncentrace myrcenu, humulenu i geraniolu vykazovaly vzorky upravené pomocí tekutého dusíku v porovnání s jinými úpravami použitými v této práci. To může být způsobeno stripováním chmelových silic do plynné fáze při upravování vzorků chmele pomocí tekutého dusíku, tento jev potvrdili i Haselbeck et. Al. (2017) [59].



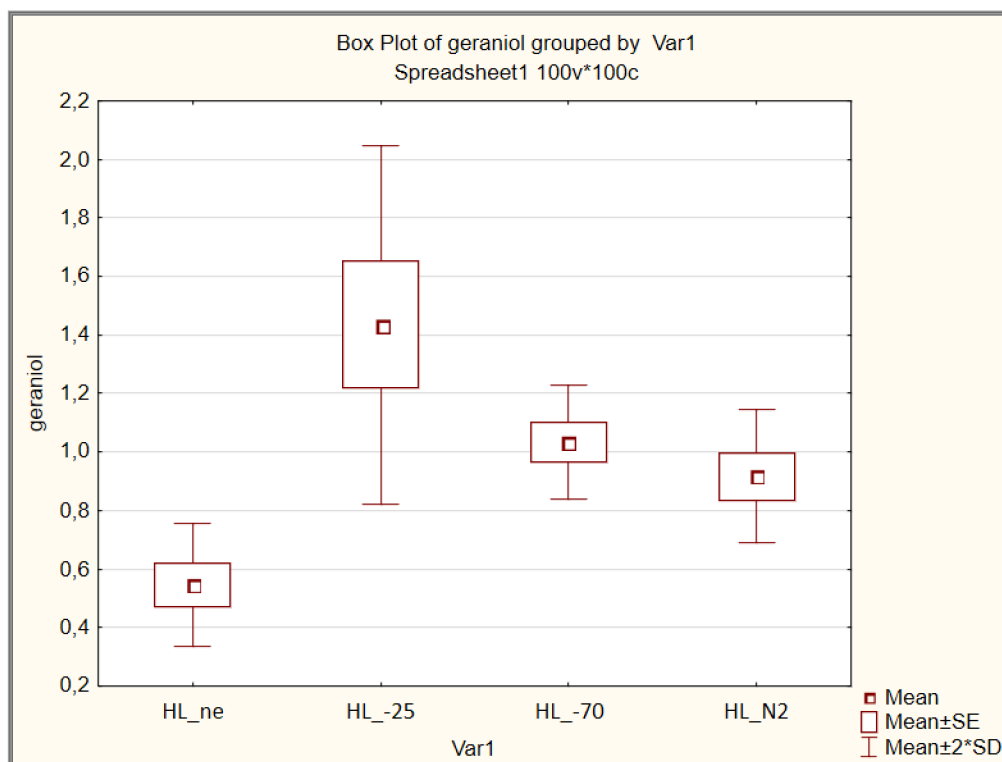
Obrázek 16 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi koncentrací myrcenu pro jednotlivé úpravy pelet



Obrázek 17 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi koncentrací humulenu pro jednotlivé úpravy pelet



Obrázek 18 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi koncentrací geraniolu pro jednotlivé úpravy pelet



Obrázek 19 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi koncentrací geraniolu pro jednotlivé úpravy lisovaných chmelových hlávek

4.3 Vliv předúprav na extrakci zkoumaných látek při studeném chmelení

4.3.1 Vliv chmelových úprav na hořkost

Tabulka č. 14 uvádí hořkost v jednotkách IBU pro vzorky pelet a lisovaných chmelových hlávek. Uvedené hodnoty jsou výsledkem tří paralelních měření.

Tabulka 14 - hořkost vzorků při použití kryogenních úprav

IBU	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Pelety neupravené	51,16 ± 3,35 ^a
Pelety -25 °C	50,86 ± 2,79 ^a
Pelety -70 °C	49,52 ± 0,69 ^a
Pelety tekutý dusík	50,34 ± 0,36 ^a
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Hlávky neupravené	40,64 ± 5,71 ^a
Hlávky -25 °C	44,99 ± 1,84 ^a
Hlávky -70 °C	42,02 ± 0,30 ^a
Hlávky tekutý dusík	42,16 ± 0,22 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Při procesu studeného chmelení v pivu nedochází k tak významnému zvýšení hořkosti jako při chmelovaru, jelikož nedochází k extrakci a izomeraci α -hořkých kyselin na iso- α -hořké kyseliny [53]. β -Hořké kyseliny se při studeném chmelení nijak výrazně neuplatňují, protože jsou ve vodě nerozpustné a do piva se při tomto procesu neextrahují. Za zvyšování m hořkosti během studeného chmelení mohou být jiné látky, jako například některé fenolické látky, případně oxidační produkty α - a β -hořkých kyselin humulinony nebo hulupony [53].

Z tabulky č. 14, která udává hořkost v jednotkách IBU pro vzorky chmele připravené z pelet, můžeme vidět, že zde nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. Roli zde pravděpodobně hraje právě již zmíněný průběh procesu za nižší teploty než u chmelovaru. Podeszwa et. (2016) ve svém výzkumu uvádí, že z celkového množství α -hořkých kyselin se extrahuje při studeném chmelení pouze 4–5 % [54]. V tomto případě nebyl prokázán významný vliv kterékoliv chladové úpravy na zvýšení hořkosti, a to ani v případě vzorků připravených z hlávkového chmele.

4.3.2 Vliv chmelových úprav na obsah fenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivita

V tabulce č. 15 jsou uvedeny hodnoty koncentrace celkových fenolických látek, které jsou průměrnými hodnotami získanými ze tří paralelních měření.

Tabulka 15 - celkový obsah fenolických látek ve vzorcích při použití kryogenních úprav

TPC	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Pelety neupravené	230,73 ± 5,22 ^a
Pelety -25 °C	229,75 ± 2,24 ^a
Pelety -70 °C	236,44 ± 2,50 ^a
Pelety tekutý dusík	232,43 ± 7,91 ^a
TPC	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Hlávky neupravené	244,03 ± 9,87 ^a
Hlávky -25 °C	250,41 ± 12,28 ^a
Hlávky -70 °C	245,56 ± 12,94 ^a
Hlávky tekutý dusík	255,50 ± 17,80 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

V případě vzorků připravených z pelet ani v případě vzorků připravených z lisovaných chmelových hlávek nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl. Obsah fenolických látek hraje při studeném chmelení důležitou roli a dle literatury by se měly fenolické látky pomocí procesu macerace při studeném chmelení do piva poměrně dobře přenášet. Jelikož se koncentrace u chladem upravených vzorků významně neliší, usuzujeme, že narušení buněčného materiálu nemá na zpřístupnění fenolických látek a jejich extrakci do piva markantní vliv, nebo za dobu macerace došlo k vyextrahování veškerých fenolických látek a vliv úpravy tedy nebyl znatelný.

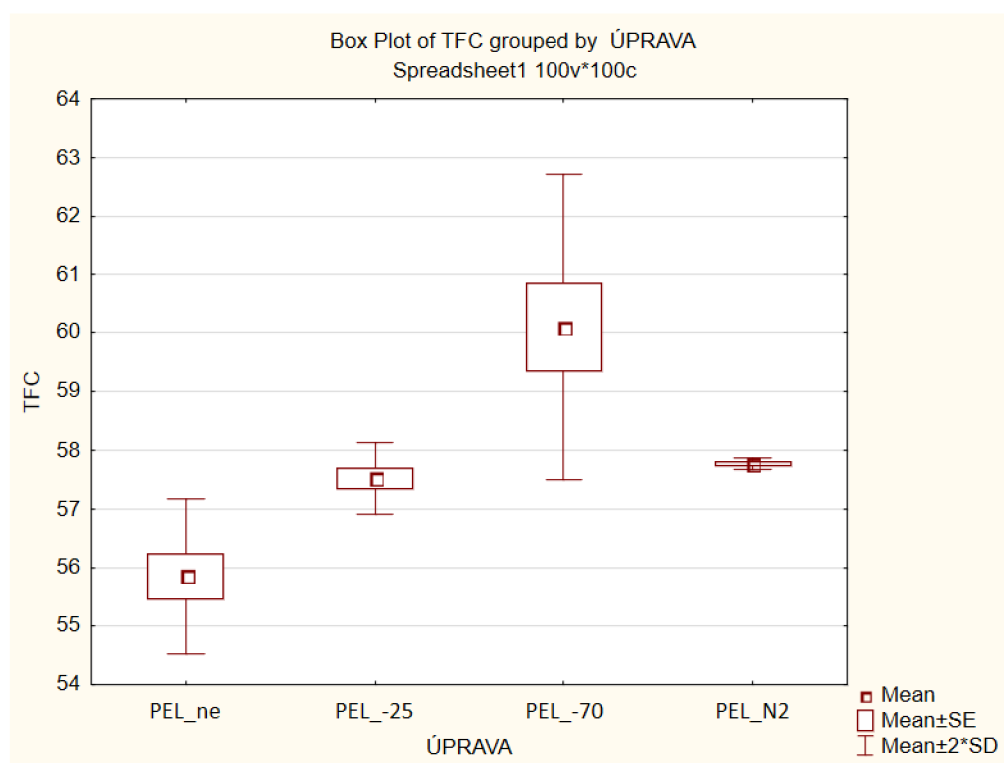
Naměřené koncentrace flavonoidů pro vzorky z pelet a chmelových hlávek jsou uvedeny v tabulce č. 16.

Tabulka 16 - celkový obsah flavonoidů látek ve vzorcích při použití kryogenních úprav u pelet

TFC	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Pelety neupravené	55,85 ± 0,66 ^a
Pelety -25 °C	57,51 ± 0,31 ^a
Pelety -70 °C	60,10 ± 1,30 ^b
Pelety tekutý dusík	57,77 ± 0,05 ^a
Typ úpravy	Koncentrace[mg/g]
Hlávky neupravené	63,22 ± 3,24 ^a
Hlávky -25 °C	64,11 ± 3,47 ^a
Hlávky -70 °C	62,93 ± 9,65 ^a
Hlávky tekutý dusík	63,35 ± 5,55 ^a

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Tabulce 16 odpovídá boxový graf na obrázku č. 20, ze kterého je zřetelné, že koncentrace flavonoidů pro pelety upravené pomocí mrazení v chladícím zařízení za teploty -70 °C je signifikantně vyšší, v porovnání se všemi ostatními vzorky. Pokud se podíváme na koncentrace fenolických látek u peletovaných vzorků, vidíme statistický rozdíl u pelet mražených za teploty -70 °C . Koncentrace je zde také vyšší než u ostatních úprav. Tato souvislost by dávala smysl právě z hlediska zahrnutí flavonoidů pod skupinu celkových fenolických látek. V tomto kontextu můžeme uvažovat o ovlivnění přístupnosti flavonoidů, a do jisté míry i celkových fenolických látek, pomocí narušení buněčné struktury chmele nízkou teplotou. Teplota -25 °C je pro markantnější projev zřejmě příliš nízká a nedochází k dostatečnému vlivu na finální koncentraci. Projev kryogenní úpravy pomocí dusíku nemusí být patrný z již zmiňovaného důvodu obtížné manipulace s jemným práškem, který má tendenci ulpívat na použitých materiálech [45]. Teplota -70 °C se tedy zdá dostatečně vysokou pro zpřístupnění flavonoidů pro extrakci a zároveň tato metoda zamezuje možným ztrátám, ke kterým by mohlo docházet u použití metody s dusíkem. U vzorků připravovaných z lisovaných hlávek se statisticky významná odlišnost neprokázala, nicméně je zde patrná vysoká variabilita dat a je tedy možné, že zaznamenání rozdílu bylo znemožněno nedostatečnou homogenitou materiálu.



Obrázek 11 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi TFC hodnotami pro jednotlivé úpravy pelet

Tabulka č. 17 uvádí antioxidační aktivitu pro vzorky peletovaného chmele a lisovaných sušených hlávek chmele.

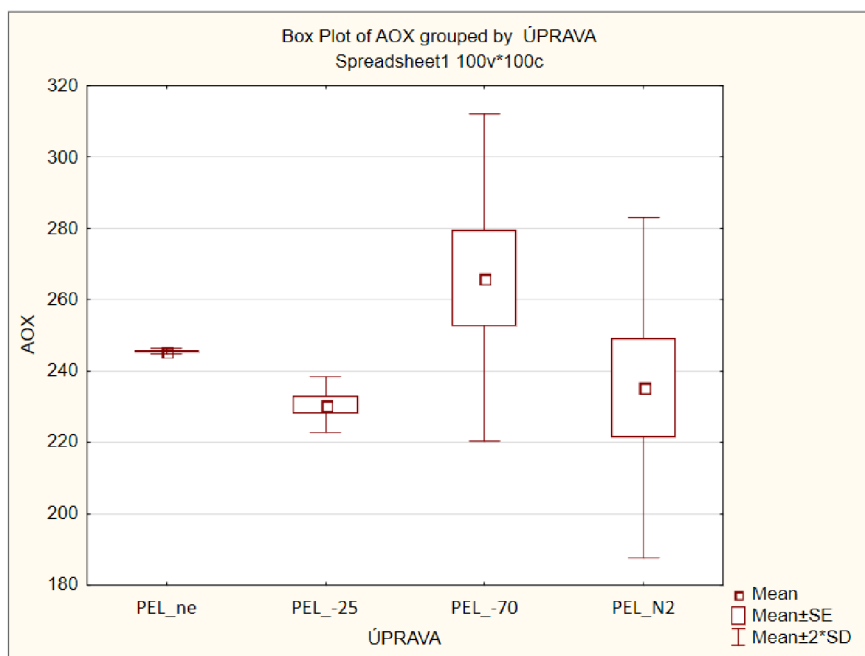
Tabulka 17 - celkový antioxidační aktivita ve vzorcích při použití kryogenních úprav

AOX	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Pelety neupravené	245 ± 0,35 ^a
Pelety -25 °C	230 ± 3,88 ^a
Pelety -70 °C	266 ± 22,94 ^a
Pelety tekutý dusík	235 ± 23,78 ^a
AOX	
Typ úpravy	Koncentrace [mg/g]
Hlávky neupravené	237 ± 4,89 ^a
Hlávky -25 °C	260 ± 0,75 ^a
Hlávky -70 °C	258 ± 30,41 ^a
Hlávky tekutý dusík	163 ± 48,17 ^b

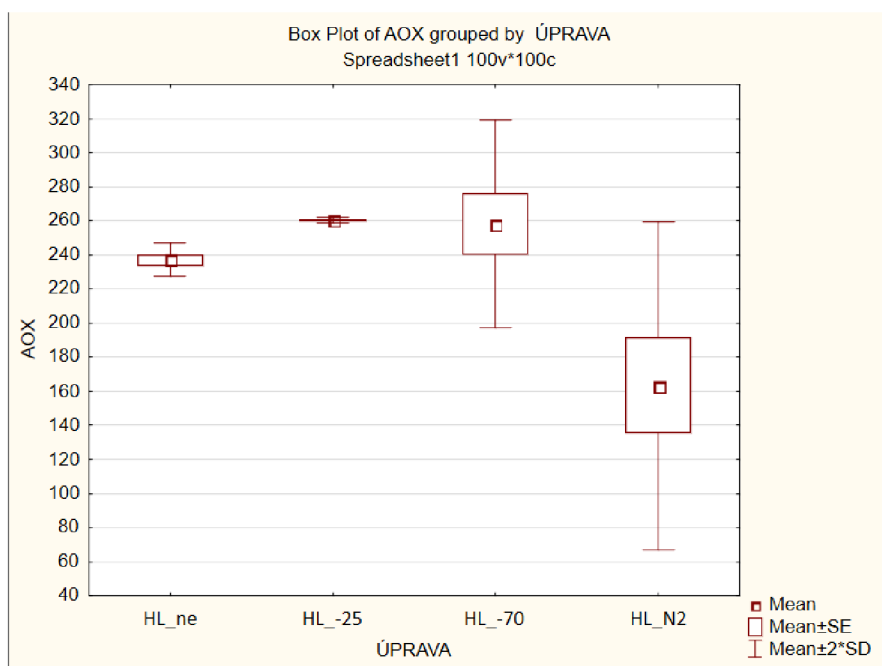
Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Antioxidační aktivita je také do velké míry spojena s obsahem fenolických látek a flavonoidů [48], můžeme zde tedy očekávat podobný vývoj jako u předešlých dvou kapitol. Jak si můžeme všimnout v tabulce č. 17, nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly, stejně jako fenolických látek. Opět ale můžeme pozorovat nepatrné zvýšení hodnot u pelet upravených mražením na -70 °C. Bohužel zde ale hraje roli poměrně vysoká variabilita dat a zvýšená

hodnota se tedy nemůže považovat s určitostí za směrodatnou. U vzorků připravených z lisovaných chmelových hlávek je statisticky významný rozdíl patrný u vzorků připravených pomocí metody s tekutým dusíkem, kde došlo ke snížení antioxidační aktivity. Je možné, že k tomuto jevu mohlo dojít z důvodu problematické manipulace s takto připraveným materiálem. Obrázky 21 a 22 zobrazují boxové grafy peletových a lisovaných vzorků.



Obrázek 21 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi antioxidační aktivitou pro jednotlivé úpravy pelet



Obrázek 22 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi antioxidační aktivitou pro jednotlivé úpravy lisovaných chmelových hlávek

4.3.3 Vliv chmelových úprav na obsah silic

Tabulka č. 18 udává hodnoty koncentrace myrcenu, tabulka č.19 pak hodnotu humulenu a tabulka č. 20 udává hodnoty pro geraniol.

Tabulka 18 - koncentrace myrcenu ve vzorcích při použití kryogenních úprav

Silice (myrcen)	
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Pelety neupravené	$12,31 \pm 2,54^a$
Pelety -25 °C	$29,69 \pm 28,56^a$
Pelety -70 °C	$21,42 \pm 12,66^a$
Pelety tekutý dusík	$4,37 \pm 0,17^a$
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Hlávky neupravené	$1,08 \pm 0,02^a$
Hlávky -25 °C	$1,79 \pm 0,29^a$
Hlávky -70 °C	$33,96 \pm 2,75^b$
Hlávky tekutý dusík	$1,15 \pm 0,79^a$

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Tabulka 19 - koncentrace humulenu ve vzorcích při použití kryogenních úprav

Silice (humulen)	
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Pelety neupravené	$2,61 \pm 0,01^a$
Pelety -25 °C	$6,47 \pm 4,54^a$
Pelety -70 °C	$5,44 \pm 1,10^a$
Pelety tekutý dusík	$4,59 \pm 0,27^a$
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Hlávky neupravené	$3,01 \pm 1,75^a$
Hlávky -25 °C	$4,59 \pm 4,56^a$
Hlávky -70 °C	$4,08 \pm 1,25^a$
Hlávky tekutý dusík	$1,27 \pm 0,47^a$

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

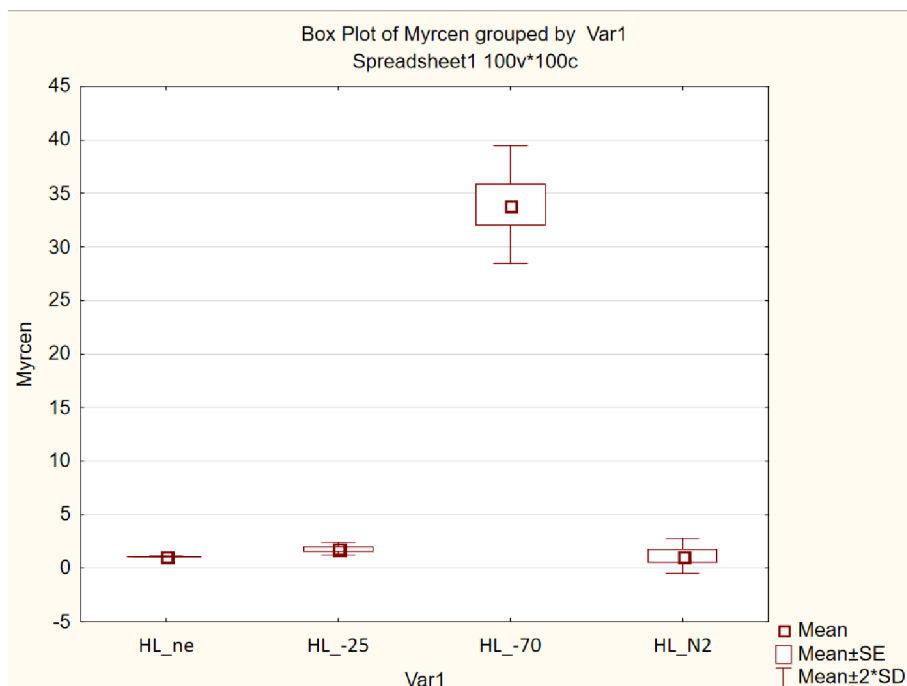
Tabulka 20 - koncentrace geraniolu ve vzorcích při použití kryogenních úprav

Silice (geraniol)	
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Pelety neupravené	$1,78 \pm 0,58^a$
Pelety -25 °C	$3,12 \pm 0,77^a$
Pelety -70 °C	$3,17 \pm 1,73^a$
Pelety tekutý dusík	$2,78 \pm 1,58^a$
Typ úpravy	Koncentrace [$\mu\text{l/l}$]
Hlávky neupravené	$1,21 \pm 0,15^a$
Hlávky -25 °C	$0,82 \pm 0,41^a$
Hlávky -70 °C	$0,45 \pm 0,32^a$
Hlávky tekutý dusík	$0,44 \pm 0,30^a$

Písmenné indexy indikují rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti 0,05

Chmelovar poskytuje pivu základní chmelové aroma, pokud ho však chceme obohatit o zajímavé aromatické složky, je právě studené chmelení ideálním procesem. Při chmelovaru většina obsahu silic vytěká. Studené chmelení probíhá za nižších teplot obvykle mezi 4–20 °C, proto se v pivě uchovává mnohem větší množství chmelových silic.

Měření koncentrace myrcenu v případě pelet nevykazovalo statisticky významné rozdíly, nicméně u mražených vzorku na –25 °C a –70 °C došlo ke vzniku velké variability dat, která nám znemožňuje objektivní posouzení. U vzorků z lisovaného hlávkového chmele se však statistický rozdíl potvrdil. Vzorek s využitím úpravy mražením na –70 °C se zcela zřetelně odlišuje od všech ostatních vzorků ve skupině, jak je patrné i z grafu na obrázku č. 23. Žádná jiná úprava se zde neprojevila. Můžeme usuzovat, že úprava pomocí zmražení na –70 °C zapříčinila dostatečně důkladné narušení struktury buněk, díky kterému byl myrcen lépe přístupný extrakci do piva. Současně nám tato úprava umožnila manipulaci bez významných ztrát. Úprava zmražením na –25 °C zřejmě nenarušuje strukturu tak dobře, aby to bylo pro nás významné. Úprava dusíkem se buď také ukazuje jako méně účinná, nebo je problém zapříčiněn právě velkými ztrátami důležitých látek při manipulaci. U ostatních skupin se statisticky významné rozdíly neprojevily. Na ostatní zkoumané silice tedy kryogenní úpravy zřejmě nemají vliv.



Obrázek 23 - boxový graf znázorňující statistické rozdíly mezi koncentracemi myrcenu pro jednotlivé úpravy lisovaných chmelových hlávek

5 ZÁVĚR

V experimentální části této práce byly zkoumány různé typy úpravy pomocí nízkých teplot. Vycházeli jsme z faktu, že působením mrazu na rostlinný materiál může docházet k narušení buněčné struktury, čímž mohou být některé frakce rostlinného materiálu lépe zpřístupněny. Byly testovány tři postupy úpravy a také neupravený vstupní materiál. Vstupním materiálem byl chmel odrůdy Žatecký poloraný červeňák předupravený na pelety nebo v druhé variantě předupravený pomocí sušení a lisování chmelových hlávek. Tyto dva typy vstupní suroviny byly upravovány třemi způsoby. Materiál byl zamrazen na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu jednoho týdne. V druhé verzi byl vakuovaný vstupní materiál zamrazen na teplotu $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu jednoho týdne. Ve třetím způsobu úpravy vstupní materiál vystaven opakovanému kontaktu s tekutým dusíkem a mechanicky rozmělněn. Následně byl zkoumán vliv těchto úprav při běžném chmelovaru a při studeném chmelení.

U vzorků byl zkoumán vliv kryogenních předúprav na hořkost piva. Zde nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl ani u jedné z úprav. Rozdíly nebyly pozorovány při chmelovaru ani při studeném chmelení.

Dalším zkoumaným parametrem byl celkový obsah fenolických látek. U peletových vzorků, které prošly chmelovarem byl zaznamenán statisticky výrazný rozdíl, kdy byl pozorován nárůst koncentrace celkových fenolických látek u pelet zmražených na $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Podskupinou fenolických látek jsou i flavonoidy, které byly zkoumány jako další parametr. Vzorky po chmelovaru žádný statisticky významný rozdíl nevykazovaly. U studeného chmelení byla koncentrace pro vzorky používající pelety upravené pomocí mrazení v chladícím zařízení za teploty $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ vyšší. U materiálu zmražených na $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ tedy mohlo dojít k vyšší extrakci flavonoidů z důvodu lepším zpřístupnění díky úpravě.

Antioxidační aktivita u vzorků, které prošly chmelovarem klesala spolu s klesající teplotou. Nejvyšší hodnota antioxidační aktivity byla naměřena pro pelety v úpravě zmražením na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. U studeného chmelení peletami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. U vzorků připravených z lisovaných chmelových hlávek je statisticky významný rozdíl patrný u vzorků připravených pomocí metody s tekutým dusíkem, kde došlo ke snížení antioxidační aktivity.

Pro myrcen v peletových vzorcích, je patrný statisticky významný rozdíl koncentrací. Je jasně zřetelné, že se snižující se teplotou chladové úpravy se snižovaly i koncentrace myrcenu ve vzorcích. Stejný trend můžeme pozorovat i peletových vzorků humulenu a geraniolu. Pravděpodobně se zde tedy ukazuje negativní vliv chladových úprav na koncentraci silic. U vzorků připravených z lisovaných chmelových hlávek se kromě geraniolu statisticky významné rozdíly neobjevily. V případě geraniolu se bude pravděpodobně jednat o nepřesnost způsobenou nehomogenitou materiálu. U studeného chmelení koncentrace myrcenu v případě pelet nevykazovala statisticky významné rozdíly, nicméně u mražených vzorku na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ došlo ke vzniku velké variability dat, která nám znemožňuje objektivní posouzení. U vzorků lisovaného hlávkového chmele se statistický rozdíl potvrdil. Vzorek s využitím úpravy mražením na $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ se zcela zřetelně odlišuje od všech ostatních vzorků ve skupině. Žádná jiná úprava se zde neprojevila.

Celkově se dá usuzovat, že jediná úprava, která byla napříč skupinami a parametry významná, je úprava mražením na $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tento typ úpravy zřejmě zajišťuje dostatečné narušení buněčné struktury a umožňuje tak uvolnění některých látek ve vyšší míře. Zároveň úprava nepůsobila obtíže s manipulací a přípravou, které byly zřejmě úskalím pro úpravu používající tekutý dusík.

- [1] Fakta a zajímavosti @ České pivo. O ČSPS @ České pivo [online]. Copyright © 2022 Český svaz pivovarů a sladoven, [cit. 16.02.2022]. Dostupné z: <http://ceske-pivo.cz/fakta-a-zajimavosti>
- [2] BASAŘOVÁ, Gabriela. Pivovarství: teorie a praxe výroby piva. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [3] KARABÍN, Marcel, Tomáš BRÁNYIK, Radim KRULIŠ, Markéta DVOŘÁKOVÁ a Pavel DOSTÁLEK. VYUŽITÍ CHEMICKY MODIFIKOVANÝCH HOŘKÝCH LÁTEK V PIVOVARSTVÍ. Chemické listy. 2009, 2009(103), 721-728.
- [4] KUNATH, Brian. Pivní bible. Praha: Mladá fronta, 2012. ISBN 978-80-204-2665-9.
- [5] VENT, Lubomír. Chmelařství: organizace a technologie velkovýroby. 2. vydání. Chrástany: Agrosience spol. s r.o., 2019. ISBN 978_80-906121-5-0.
- [6] RYBÁČEK, Václav. Chmelařství. 2. vydání. Chrástany: Agrosience spol. s r.o., 2020. ISBN 978-80-906121-4-3.
- [7] Ústav počítačové a řídicí techniky [online]. Dostupné z: <http://uprt.vscht.cz/ucebnice/mb/MB43-v2.HTM>
- [8] KROFTA, Karel a Alexandr MIKYŠKA. Beta kyseliny chmele, význam a využití. Kvasný průmysl. 2014, 60(4), 96-105.
- [9] PLUHÁČKOVÁ, Helena, Jaroslava EHRENBERGEROVÁ, Pavel KRETEK a Blanka KOCOURKOVÁ. Chmelové silice ve vybraných odrůdách z různě starých chmelnic. Kvasný průmysl. 2011, 57(7-8), 266-271.
- [10] CHMEL: Odrůdy chmele. Chmelařské muzeum Žatec [online]. Žatec: Unibot, 2015 [cit. 2022-03-15]. Dostupné z: <http://www.chmelarskemuzeum.cz/cz/chmel.htm>
- [11] NESVATBA, Vladimír, Zdeňka POLONČÍKOVÁ, Alena HENYCHOVÁ, Karel KROFTA a Josef PATZAK. Atlas českých odrůd chmele. Žatec: Chmelařský institut, 2012. ISBN 978-80-87357-11-8.
- [12] NESVADBA, Vladimír, Zdeňka POLONČÍKOVÁ a Alena HENYCHOVÁ. Brewing characteristics of Czech fine aroma hops "Saaz." Kvasny Prumysl. 2012, 58(7-8), 209-214. ISSN 00235830. Dostupné z: [doi:10.18832/kp2012020](https://doi.org/10.18832/kp2012020)
- [13] Odrůda Žatecký poloraný červeňák. News [online]. Copyright © 2013 [cit. 15.03.2022]. Dostupné z: <http://www.bohemiahop.cz/cz/odrudy-chmele/87-odruda-zatecky-polorany-cervenak>

- [14] ČEPIČKA, J. a G. BASAŘOVÁ. Strategies of modern hop boiling. Kvasny Prumysl. 1993, 39(3), 66-69. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1993005
- [15] MIKYŠKA, A., KROFTA, K., HAŠKOVÁ, D., ČULÍK, J. AND ČEJKA, P. Vliv skladování chmelových pelet na kvalitu piva. Kvasny Prum., 2012, vol. 58, iss. 5, p. 148-154.
- [16] BIENDL, M. Aktuální vlastnosti ethanolových extraktů chmele ve srovnání s CO₂-extrakty. Kvasny Prum., 1996, vol. 42, iss. 10, p. 310-314.
- [17] What Are Cryo Hops? • Hop Culture. Hop Culture [online]. Copyright © 2022 Hop Culture [cit. 20.03.2022]. Dostupné z: <https://www.hopculture.com/what-are-cryo-hops/>
- [18] KADLEC, Pavel. Technologie potravin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-708-0510-2.
- [19] CEJPEK, Karel. Vonné a chuťové složky sladů. Chemické listy. 2014, 2014(108), 426–435.
- [20] ELIÁŠEK, Jan. Pivo a pivovary Čech, Moravy a Slezska. Český Krumlov: MCU, 2017. VisitBohemia guide. ISBN 978-80-7339-326-7.
- [21] KOSAŘ, Karel. Technologie výroby sladu a piva. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000. ISBN 80-902-6586-3.
- [22] ENGE, J., ŠEMÍK, P., KORBEL, J., ŠROGL, J. AND SEKORA, M. Technological aspects of infusion and decoction mashing. Kvasny Prum., 2005, vol. 51, iss. 5, p. 158-165.
- [23] DRDÁK, M. Základy potravinářských technologií: spracovanie rastlinných a živočišných surovín cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín. Bratislava: Malé centrum, 1996. ISBN 80-967-0641-1.
- [24] CHLÁDEK, Ladislav. Pivovarnictví. Praha: Grada, 2007. Řemesla, tradice, technika. ISBN 978-80-247-1616-9.
- [25] ŤOPKA, P., PROCHÁZKA, S., KOCAR, B. AND TOMŠÍK, J. Moderní způsoby chmelovaru. I. Část. teorie varního procesu, úpravy klasické varní pánve. Kvasny Prum., 1987, vol. 33, iss. 5, p. 130-134.
- [26] ČEPIČKA, J. AND BASAŘOVÁ, G. Strategie moderního chmelení. Kvasny Prum., 1993, vol. 39, iss. 3, p. 66-69

[27] KADLEC, Pavel. Technologie potravin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-708-0510-2

[28] SANZ, Vanesa, María Dolores TORRES, José M. López VILARIÑO a Herminia DOMÍNGUEZ. What is new on the hop extraction?. Trends in Food Science & Technology. 2019, 2019(93), 12-22.

[29] JELÍNEK, L., MÜLLEROVÁ, J., KARABÍN, M. AND DOSTÁLEK, P. Tajemství výroby studeně chmelených piv – přehled. Kvasny Prum., 2018, vol. 64, iss. 6, p. 287-296.

[30] DE CARO, Cosimo A., Albert AICHERT a Christian M. WALTER. Efficient, precise and fast water determination by the Karl Fischer titration. Food Control. 2001, 12(7), 431-436.

[31] LEHOTAY, Steven J. a Jana HAJŠLOVÁ. Application of gas chromatography in food analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2002, 21(9-10), 686-697.

[32] ŠAVEL, J., KOŠIN, P. AND BROŽ, A. Přímá spektrometrie piva a jeho destilátů. Kvasny Prum., 2011, vol. 57, iss. 6, p. 143-148.

[33] TOMÁS-BARBERÁN, Francisco A., María I. GIL, Paedar CREMIN, Andrew L. WATERHOUSE, Betty HESS-PIERCE a Adel A. KADER. HPLC–DAD–ESIMS Analysis of Phenolic Compounds in Nectarines, Peaches, and Plums. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, 49(10), 4748-4760. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf0104681

[34] Commercial Cryo Hops. Yakima Chief Hops [online]. Copyright © Yakima Chief Hops Inc. All Rights Reserved. [cit. 29.04.2022]. Dostupné z: <https://www.yakimachief.com/commercial-cryo-hops>

[35] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. METODY STANOVENĚ ANTIOXIDAČNĚ AKTIVITY PŘĚRODNĚCH LĚTEK IN VITRO. Chemické listy. 2014, 98(98), 174–179.

[36] HASÍK, Tomáš. Svět piva a piva světa. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4648-7.

[37] KOCOURKOVÁ, Blanka, Helena PLUHÁČKOVÁ a Gabriela RŮŽIČKOVÁ. Pěstování speciálních plodin. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-020-1.

[38] BASAŘOVÁ, Gabriela. Kvalita provozních vod pro výrobu sladu a piva. Kvasny Prumysl. 1983, 29(5), 103-106.

- [39] Dokumenty [online]. Copyright ©r [cit. 05.05.2022]. Dostupné z: <https://dokumenty.upce.cz/FCHT/kbbv-vk/pokrocila-instrum-analyza/kapalinova-chromatografie.pdf>
- [40] [online]. Copyright © [cit. 05.05.2022]. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/anl/matejka/2012-ACH1-9-spektra-molekuly-UV-vis.pdf>
- [41] SKOOG; et al., Principles of Instrumental Analysis (6th ed.), 2007, Belmont, CA: Thomson Brooks/Cole. pp. 169–173.
- [42] NOVOTNÁ, R., ŠILHA, T., TRÁVNÍČEK, Z., Spektrální metody, Olomouc 2011 (elektronický text)
- [43] European Brewery Convention – Analytica EBC, kap. 7.8, Getränke Fachverlag, Nürnberg 1998.
- [44] PREEDY, Victor R., ed. Beer in health and disease prevention. Burlington, Mass.: Elsevier/Academic Press, 2009. ISBN 978-0-12-373891-2.
- [45] TEMBO, Geraldine M. *EFFECTS OF STORAGE CONDITIONS ON α -ACID DEGRADATION ON INDIANA GROWN HOPS (*Humulus lupulus*)*. West Lafayette, Indiana, 2020. Diplomová práce. Faculty of Purdue University.
- [46] *Cryogenic hop lupulin or cannabis trichome pelets*. 2019/055587 A1.
- [47] ŠKODA, Jakub, Petr GABRIEL a Miroslav DIENSTBIER. Světelná degradace piva a tvorba letinkové příchuti. Chemické listy. nedatováno, 2016(110), 112–117
- [48] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY PŘÍRODNÍCH LÁTEK IN VITRO. *Chemické listy*. 2004, (98), 174–179.
- [49] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY PŘÍRODNÍCH LÁTEK IN VITRO. *Chemické listy*. 2004, (98), 174–179.
- [50] STEVENS, Roger. The Chemistry of Hop Constituents. Chemical Reviews [online]. 1967, 67(1), 19–71. ISSN 0009-2665. Dostupné z: doi:10.1021/cr60245a002
- [51] ALMAGUER, Cynthia, Christina SCHÖNBERGER, Martina GASTL, Elke K. ARENDT a Thomas BECKER. *Humulus lupulus* – a story that begs to be told. A review. Journal of the Institute of Brewing [online]. 2014, 120(4), 289–314. ISSN 0046-9750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.160

[52] ALGAZZALI, Victor, Martin HODEL, Scott GARDEN, Daniel VOLLMER a Thomas SHELLHAMMER. *A Comparison of Quality : Freeze dried vs. Kiln dried Cascade hops* Victor. La Quinta, CA: ASBC Annual Meeting, 2015

[53] 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

[54] 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, Wroclaw University of Economics, 21, 81-88. ISSN 2300-5599.

[55] JANISH, Scott. Dry Hop Best Practices: Using Science as a Guide for Process and Recipe Development. *Master Brewers Association of the Americas TQ*. 2021, **58**(1), 59-65.

[56] HUGHES, Paul a William SIMPSON. Production and composition of hop products. *MBAA Tech. Q*. 1993, 30, 146–154.

[57] Krakowska-Sieprawska, A.; Kielbasa, A.; Rafińska, K.; Ligor, M.; Buszewski, B. Modern Methods of Pre-Treatment of Plant Material for the Extraction of Bioactive Compounds. *Molecules* **2022**, 27, 730. <https://doi.org/10.3390/molecules27030730>

[58] OPLETAL, Lubomír, DRAŠAR, Pavel. *Fytochemické metody 1. Izolace obsahových látek*. 1994. vyd. Praha [s.n.], 1994. 142 s. ISBN 80-7066-912-8.

[59] HASLBECK, K. a S. BUB. On the Fate of β -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*. 2017, **70**(70), 159-169.

[60] HOFTA, P.; DOSTÁLEK, P.; BASAŘOVÁ, G. Xanthohumol - Chmelová pryskyřice nebo polyfenol?.. *Chemické listy*. 2004, 2004, č. 98, s. 825-830

[61] VELÍŠEK, J. a J. HAJŠLOVÁ, *Chemie potravin II.*, Havlíčkův Brod: OSSIS, 2009, ISBN 978-80-86659-16-9.

[62] Žatecký červeňák :: Brelex. Úvod [online]. Copyright © 2021 BRELEX, s. r. o. [cit. 17.05.2022]. Dostupné z: <https://www.brelex.cz/zatecky-cervenak/>

[63] KROFTA, Karel. *Hodnocení kvality chmele. Žatec: Chmelařský institut*, 2008. Metodika (Chmelařský institut). ISBN 978-80-86836-84-3

[64] HORÁK, Tomáš, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Pavel ČEJKA, Vladimír KELLNER, Josef DVOŘÁK a Danuša HAŠKOVÁ. Faster gas chromatography and its use in brewing. Part 2. - The determination of high volatile beer flavours after headspace extraction. *Kvasný Průmysl*, 2009, 55(10), 268-272

[65] Briggs, Dennis E. Boulton, Chris A. Brookes, Peter A. Stevens, Roger. (2004). *Brewing Science and Practice*. Woodhead Publishing. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpBSP00001/brewing-science-practice/brewing-science-practice>

[66] RYBÁČEK, Václav. *Hop production*. New York: Elsevier Science publisher, 1991. ISBN 0-444-98770-3