

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv přídavku bylin na kvalitu fermentačního procesu při  
výrobě piva**

**Bakalářská práce**

**Martin Buchta**

**Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů**

**Ing. Karel Štěrba, Ph.D.**

**© 2023 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv přídavku bylin na kvalitu fermentačního procesu při výrobě piva" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2023

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Karlu Štěřbovi, Ph.D. za vedení bakalářské práce, konzultace, poskytnutí informací a objasnění určité problematiky, Františku Buchtovi za kontrolu pravopisu a formulaci vět, sládkovi Jiřímu Kratochvílovi za poskytnutí teoretických a praktických znalostí v oboru pivovarství a své rodině a přátelům za podporu a případné rady a tipy vztahující se k bakalářské práci.

# Vliv přídatku bylin na kvalitu fermentačního procesu při výrobě piva

## Souhrn

Pivovarské kvasinky *Saccharomyces* jsou v pivovarském průmyslu ovlivňovány několika faktory. Jedná se především o nasycení mladiny kyslíkem, teploty při kterých jsou vedeny fermentace, nebo při kterých jsou kvasinky skladovány. Dále osmotický tlak odvíjející se především od hustoty připravené mladiny a extraktivních látek v ní obsažených, které pocházejí převážně ze sladu a chmele. Nejdůležitějším aspektem je však složení mladiny, které kromě původních surovin lze ovlivnit i přídatkem různých bylin, ty svým chemickým složením mohou tak mladinu obohatit o pozitivní či negativní látky. Za pozitivní látky lze řadit zkvasitelné cukry, aminokyseliny, vitaminy B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>8</sub> a H, fosfor, zinek společně s manganem a nadbytek Mg<sup>2+</sup> iontů nad Ca<sup>2+</sup> ionty. Chemické látky různých bylin jsou také schopny inhibovat různá mikrobiální společenstva. Mohou tak zamezit mikrobiální kontaminaci nežádoucích bakterií a kvasinek, současně s tím ale mohou ovlivnit i žádoucí kulturní kvasinky *Saccharomyces*. Cílem této práce bylo zpracovat informace o některých bylinách, které byly nebo jsou používány při výrobě piva a jejich vliv na fermentační proces. Posuzovány byly z hlediska jejich chemického složení, sensorických vlastností a antimikrobiálních vlastností proti nežádoucím mikroorganismům. Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*) může pivu dodat osvěžující chuť, řadu vitamínů skupiny B stejně jako žádoucí minerální látky. Konopí seté (*Cannabis sativa*) se může v pivu výrazněji projevit díky svému obsahu sensoricky aktivních látek. Jeho semena obsahují vitamíny skupiny B a některé žádoucí minerální látky. Pelyněk černobýl (*Artemisia vulgaris*) obsahuje silně hořké látky, které lze využít jako náhradu hořkých chmelových kyselin. Jeho použití je však limitováno obsahem thujonu, který může negativně působit na centrální nervovou soustavu. V případě použití třezalky tečkované (*Hypericum perforatum*) je ideální volit mladé rostliny, díky vysokému obsahu tříslovin a barviv, které se vlivem času snižují. Lékořice lysá (*Glycyrrhiza glabra*) byla využívána především pro stabilizaci pěny a změnu sensorických vlastností. Díky obsahu zkvasitelných cukrů může zvýšit zkvasitelný extrakt mladiny.

Všechny studované byliny inhibovaly gram-negativní rody bakterií, pelyněk černobýl s kopřivou dvoudomou navíc i některé rody kvasinek.

**Klíčová slova:** chmel, aktivní látky, mladina, *Saccharomyces cerevisiae*, rostliny

# Influence of the addition of herbs on the quality of the fermentation process in beer production

## Summary

The brewer's yeast *Saccharomyces* is influenced by several factors in the brewing industry. These are mainly the oxygen saturation of the wort, the temperatures at which fermentations are conducted or at which the yeast are stored. Furthermore, the osmotic pressure depends mainly on the density of the prepared wort and the extractive substances contained therein, which come mainly from malt and hops. The most important aspect, however, is the composition of the wort, which, in addition to the original raw materials, can also be influenced by the addition of various herbs, whose chemical composition can thus enrich the wort with positive or negative substances. Positive substances include fermentable sugars, amino acids, vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>8</sub> and H, phosphorus, zinc together with manganese and an excess of Mg<sup>2+</sup> ions over Ca<sup>2+</sup> ions. The chemicals of various herbs are also capable of inhibiting various microbial communities. Thus, they can prevent microbial contamination by undesirable bacteria and yeasts, but at the same time they can also affect the desirable cultured yeast *Saccharomyces*. The aim of this work was to compile information on some herbs that have been or are used in beer production and their effect on the fermentation process. They were assessed in terms of their chemical composition, sensory properties and antimicrobial properties against undesirable microorganisms. Nettle (*Urtica dioica*) can provide beer with a refreshing taste, a number of B vitamins as well as desirable minerals. Hemp (*Cannabis sativa*) can be more pronounced in beer due to its sensory active compounds. Its seeds contain B vitamins and some desirable minerals. Black wormwood (*Artemisia vulgaris*) contains strong bittering substances which can be used as a substitute for bitter hop acids. However, its use is limited by its thujone content, which can have a negative effect on the central nervous system. In the case of St John's wort (*Hypericum perforatum*), it is ideal to choose young plants, due to their high content of tannins and colouring agents, which decrease with time. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) has been used mainly to stabilise the foam and change the sensory properties. Due to its content of fermentable sugars, it can increase the fermentable extract of the wort.

All the herbs studied inhibited gram-negative bacterial genera, black wormwood and stinging nettle additionally inhibited some yeast genera.

**Keywords:** Hops, active substances, wort, *Saccharomyces cerevisiae*, plants

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Historie výroby klasických a bylinných piv .....</b>	<b>3</b>
3.1.1	Výroba klasických piv.....	3
3.1.2	Výroba bylinných piv.....	4
3.1.2.1	Gruit:.....	5
3.1.2.2	Reinheitsgebot – Zákon o čistotě piva:.....	6
<b>3.2</b>	<b>Varná technologie.....</b>	<b>6</b>
3.2.1	Šrotování a vystírání .....	6
3.2.2	Rmutování, scezování a chmelovar.....	7
3.2.3	Spílání .....	8
<b>3.3</b>	<b>Fermentační procesy při výrobě piva.....</b>	<b>8</b>
3.3.1	Tvar kvasinek.....	9
3.3.2	Cytologie kvasinek.....	9
3.3.2.1	Buněčná stěna .....	9
3.3.2.2	Cytoplazma .....	10
3.3.3	Rozmnožování kvasinek: .....	11
3.3.4	Chemické složení kvasinek: .....	11
3.3.5	Rozdělení kvasinek .....	12
3.3.6	Fáze kvašení.....	13
3.3.6.1	Zakvašování: .....	13
3.3.6.2	Hlavní kvašení: .....	14
3.3.6.3	Sudování: .....	15
3.3.6.4	Sběr kvasnic: .....	16
3.3.6.5	Dokvašení a zrání:.....	17
<b>3.4</b>	<b>Vliv přídavku bylin .....</b>	<b>19</b>
3.4.1	Chmel otáčivý .....	21
3.4.1.1	Popis rostliny .....	21
3.4.1.2	Chemické složení .....	22
3.4.1.3	Využití .....	23
3.4.1.4	Antimikrobiální aktivita .....	23
3.4.2	Kopřiva dvoudomá.....	24

3.4.2.1	Popis rostliny .....	24
3.4.2.2	Chemické složení .....	24
3.4.2.3	Využití .....	25
3.4.2.4	Antimikrobiální aktivita .....	25
3.4.3	Lékořice lysá .....	26
3.4.3.1	Popis rostliny .....	26
3.4.3.2	Chemické složení .....	26
3.4.3.3	Využití .....	27
3.4.3.4	Antimikrobiální aktivita .....	27
3.4.4	Konopí seté .....	28
3.4.4.1	Popis rostliny .....	28
3.4.4.2	Chemické složení .....	29
3.4.4.3	Využití .....	29
3.4.4.4	Antimikrobiální aktivita .....	30
3.4.5	Třezalka tečkovaná .....	30
3.4.5.1	Popis rostliny .....	30
3.4.5.2	Chemické složení .....	31
3.4.5.3	Využití .....	31
3.4.5.4	Antimikrobiální aktivita .....	32
3.4.6	Pelyněk černobýl .....	32
3.4.6.1	Popis rostliny .....	32
3.4.6.2	Chemické složení .....	33
3.4.6.3	Využití .....	33
3.4.6.4	Antimikrobiální aktivita .....	34
<b>4</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>37</b>

# 1 Úvod

V mnohých oblastech a kulturách bylo vařeno pivo s přidavkem bylin. Použití jednotlivých bylin se vztahovalo především na oblast jejich výskytu. Účel jejich přidávání byl hlavně ve zvýšení opojných vlastností piva, které se často i vztahovaly k určitým náboženským rituálům. Díky svým silicím, terpenům a olejům byliny dodávaly pivu také aromatické a chuťové vlastnosti. Určité byliny dodávaly pivu také charakteristickou barvu, pomáhaly ve stabilizaci pěny, čiření piva od zákalu nebo napomáhaly jeho delší trvanlivosti a odolnosti proti mikroorganismům.

V současné době je celosvětově při vaření piva využíván zejména chmel otáčivý (*Humulus lupulus*), zatímco se vytrácí povědomí o možnostech nabízených ostatními bylinami, které mají v některých případech podobné, ale často i rozdílné složení. Právě díky rozdílným obsahovým látkám byly byliny používány ke konzervaci a ochraně různých komodit, například i kvasnic. Vliv jejich přidavku tak mohl jak pozitivně, tak negativně ovlivňovat jejich funkci a množení a tím i celý fermentační proces.



## **2 Cíl práce**

U piv typu gruit jsou místo chmele používány různé byliny pro vytvoření požadované chuti. Vzhledem k jejich rozdílnému složení nelze vyloučit vliv různých látek na průběh kvašení a v důsledku toho i na kvalitu vyrobeného piva.

Cílem práce je popsat jednotlivé druhy bylin a způsoby použité fermentace, jejich možný vliv na organismus, sensorické vlastnosti a koloidní stabilitu piva. Na základě získaných poznatků budou studované byliny posouzeny z hlediska vhodnosti použití jako přísady ke chmelu či jako úplné náhražky chmelu při výrobě piva.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Historie výroby klasických a bylinných piv

Semena některých rostlin se v pravěku nechávala sušit, leckdy až pražit u ohně či na slunci a následně se uchovávala do vypálených děr v zemi na horší časy. Už díky tehdejší empatii ženy nejspíš předžvýkávaly a namáčely tato semena pro bezzubé starší či nejmladší členy kmene. To by odpovídalo myšlence, že takto předžvýkaná a namočená semena samovolně fermentovala působením vzdušných kvasnic či bakterií a mohl tak vzniknout první předchůdce dnešních piv (Novák Večerníček 2009).

Objev výroby piva a chleba nejspíš přiměl tehdejšího člověka k prvnímu zemědělství, tedy cílenému pěstování obilovin na rozdíl od pouhého sběru (Novák Večerníček 2009).

První oficiální zmínky a dochované nálezy naznačují, že kolébka výroby jak chleba tak i piva byla v Mezopotámii 8000 let před naším letopočtem, kde se cíleně pěstovaly různé obiloviny sloužící pro výrobu již zmiňovaného chleba i jednoduchých kvašených nápojů podobných právě pivu (Hornsey 2003; Basařová 2010).

#### 3.1.1 Výroba klasických piv

Ne všechny suroviny, které se dnes používají na výrobu piva sloužily v historii primárně k tomu účelu. Podobně jako první zmínky o pěstování obilovin v Mezopotámii, má zde i chmel silně zakořeněnou svou minulost (Hornsey 2003; Basařová 2010).

Kdy přesně započalo vaření piva s chmelem, jako jednou z hlavních ingrediencí je stále spekulativní. Avšak velký nárůst objevů chmelových fragmentů nastal mezi koncem doby římské a počátkem středověku, kdy z původních 1,3 fragmentů chmelových šištic na vykopávku narostl počet nálezů na 209,9 fragmentů. Také na Vikingských lodích datovaných do období od 7. do 10. století bylo nalezeno velké množství chmelových šištic, nejspíše pro obchodní účely. Zda Vikingové znali výrobu chmeleného piva také není známo, jedná se opět jen o domněnky. První oficiální potvrzená zmínka o použití chmele se datuje do 9. století našeho letopočtu v Německu. v roce 822 se uvádí, že mlynáři sbírali divoký chmel z přírody, stejně jako dřevo, kterým se topilo při vaření piva (Verberg 2020).

První záznamy o účincích chmele byly oficiálně zaznamenány až v 11. století, kdy byla popsána jeho protizánětlivost a následně ve 13. století jeho uklidňující účinek. To bylo potvrzeno vědeckým výzkumem mezi 19. a 20. stoletím, kdy byly zjištěny sedativní a pozitivní gastrointestinální účinky na lidské zdraví. Tyto účinky se však částečně inhibují, jelikož silice a alkoholy navozující sedativní účinky vznikají rozkladem  $\alpha$  a  $\beta$  hořkých kyselin, které jsou naopak zodpovědné za podporu gastrointestinálního traktu (Biendl & Pinzl 2009).

Cílevědomé pěstování chmele a zakládání prvních chmelnic se datuje kolem 9. století v Německém klášteře Hochstift. Vznikaly zde první sady a pole na pěstování chmele, zda se ale jednalo o chmel na vaření piva, dochucování pokrmů nebo farmaceutické účely není známo. Jde však o důkaz, že pouhé sbírání divoce rostoucího chmele již nestačilo lidským potřebám (Verberg 2020).

Ačkoliv v dnešní době je nejpoužívanější obilninou pro výrobu sladu ječmen setý (*Hordeum vulgare*), až do konce 18. st. převládala v českých zemích výroba sladů z pšenice seté (*Triticum aestivum*) a z nich vyrobená, svrchně kvašená piva. Častější používání ječných sladů nastalo až začátkem 19. století díky Františku Ondřeji Poupěti (1753-1805) a v důsledku toho i vznik prvních spodně kvašených pív (Basařová 2010).

Z historických záznamů jsou dochované receptury na takzvané „Sladové koncentráty“. Tyto koncentráty vyvinuli Britové za pomoci dlouhého varu, a odstranění kondenzované vody při vaření. Sloužily převážně pro posílení extraktu při další várce či jako živinový zdroj sekundární fermentace v kvasných nádobách pro nasycení oxidem uhličitým. Někdy byly vařeny samostatně a do některých byly přidávány byliny pro svou konzervační schopnost (Verberg 2020).

Původní zakvašení uvařené mladiny bylo v mnoha kulturách spíše náboženským rituálem než technologickým procesem. V Norsku se například věřilo, že mladinu zakváší duch takzvaný „Bryggjeman“ neboli pivovarník a kvašení se říkalo vaření právě kvůli tvorbě pěny. Neznalost mikroorganismů tak vedla k různým rituálům, jako například rytí písma do kvasných nádob či vkládání větví jalovce na dno kádě. Tyto rituály však měly svou první technologickou podstatu, jelikož kvasinky ulpěly v rýhách nádoby nebo větvích jalovce a následně rozkvášely další várky. Případně se rozkvášelo přímo sedimentem z předchozí várky (Buhner 1998; Hornsey 2003).

Za pokrok v kvašení používáním čistých pivovarských kvasinek lze poděkovat studiím Louise Pasteura, který v 19. století popsal, že kvašení je zapříčiněno činností mikroorganismů. Pasteur se taktéž zapsal do historie pomocí konzervačního zákroku, takzvané „Pasterace“, při které se inhibují životaschopné mikroorganismy za pomoci rychlého zvýšení teploty a následného zchlazení nebo také kyselého praní kvasnic, které odděluje životaschopné kvasinky od bakterií a slabých vyčerpaných kvasnic (Basařová 2010).

Varní i oplachová voda v pivovarech, která pocházela z nejbližších vodních zdrojů byla několikrát opakovaně převařována. I přes neznalost existence mikroorganismů si sládci byli vědomi, že nepřevaření vody může vést ke zkáze piva (Basařová 2010).

První vědomé kvašení mladiny probíhalo v ledem dochlazovaných sklepích „Lednicích“, uvnitř malých, kamenných nádob (Basařová 2010).

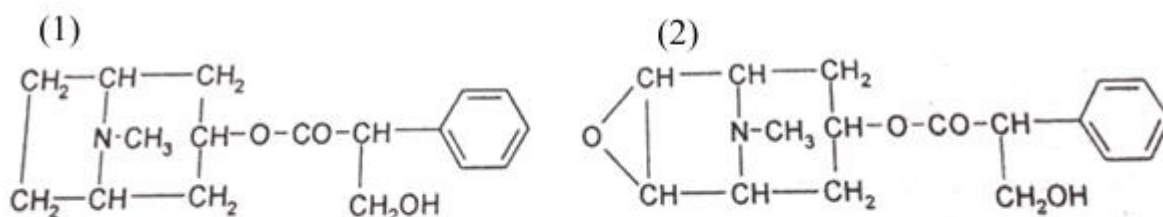
### 3.1.2 Výroba bylinných pív

První bylinná piva zde byla mnohem dříve než piva chmelená. Některé byliny dodávaly pivům charakteristické vlastnosti jak po stránce sensorické, tak i po stránce konzervační (Buhner 1998; Basařová 2010).

V Německých kláštrech byly byliny přidávány přímo do uskladněných kvasnic, pro prodloužení jejich trvanlivosti a ochraně proti mikroorganismům (Meussdoerffer 2009).

Dle Basařové (2010) někteří sládci přidávali byliny do svých pív záměrně, pro získání odběratelů i přes možnou toxicitu výsledného produktu. Zde můžeme uvést například piva z blínu černého (*Hyoscyamus niger*), durmanu obecného (*Datura stramonium*) nebo pelyňku pravého (*Artemisia absinthium*). Blín společně s durmanem vyvolávají díky alkaloidům hyosciaminu, skopolaminu a atropinu silné halucinace, mohou vést k ochrnutí, vzácně i k úmrtí.

Jejich chemické struktury jsou vyobrazeny na Obr. 1. Pelyněk obsahuje thujon, který po delším užívání postihuje centrální nervovou soustavu (Buhner 1998; Valíček 2000; Basařová 2010).



Obrázek 1 - Chemické vzorce Atropinu (1) a Skopolaminu (2) (Valíček 2000)

Toxicita absintu, v němž hrál pelyněk zásadní roly je přiřazována jak vysokému obsahu ethanolu, tak i obsahu thujonu. Bylo prokázáno, že thujon sice působí negativně na centrální nervovou soustavu, ne však v takové míře, jak se očekávalo (Patočka et al. 2003).

### 3.1.2.1 Gruit:

Jako nejznámější pivo, do kterého byly přidávány byliny byl Gruit. Jednalo se o pivo vařené převážně v Německu a Nizozemsku v období od 9. do 16. století. Vařilo se v malých pivovarech takzvaných „gruithuisech“. Na vaření gruitu bylo potřeba mít privilegium, které vydal Karel Veliký roku 811 pod názvem „Capitulare de Villis“ jakožto královskou výsadu vařit pivo (a to nejen pro vlastní spotřebu), která se vztahovala na určité místo a nazývala se „gruitrecht“. Dle historických pramenů se Gruit skládal převážně z několika různých bylin, nicméně buď vřesna bahenní (*Myrica gale*), nebo rojovník bahenní (*Ledum palustre L.*) byly přítomny jakožto základní byliny. Jejich využití určovalo převážně místo výskytu, zatímco vřesna rostla hlavně Nizozemsku a Německu. Výskyt rojovníku byl spíše na severovýchodě Německa, Slezska, Čech a na Moravě. Mezi další používané složky patřil například vavřík (*Laurus*), „laserwort“ (neidentifikovaná bylina nejspíše z čeledi *Apiaceae*), blatouch bahenní (*Caltha palustris*), koriandr setý (*Coriandrum sativum*), řebříček obecný (*Achillea millefolium*) nebo i chmel otáčivý (*Humulus lupulus*), které se vyskytovaly v úctech „gruithuisů“ ze 14. a 15. století. Seznam používaných bylin v Nizozemských a Německých městech je vyobrazen v tabulce č. 1 (Buhner 1998; Meussdoerffer 2009; Verberg 2018).

Jednou z možností úpadku gruitu bylo zjištění konzervačních schopností chmele a bylo tak gruitové pivo postupně nahrazeno chmeleným. Což vedlo k uvedení daně na gruitové pivo, jelikož již nebylo tak výnosné (Verberg 2018).

Tabulka č. 1: Suroviny na výrobu Gruitu v Německých a Nizozemských městech (Verberg 2018)

Město	Období	Surovina								
		Vřesna bahenní	Rojovník bahenní	Plody vavřínu	Hladýš / Lazerník	Pryskyřice borovice	Chmel	Anýz	Kmín	Jalovec
Deventer	1339-1348	X		X	X	X	X			
Wesel	1342-1381	X		X	X	X				
Dortmund	1390-1399		X	X	X		X			
Cologne	1391-1393	X		X	X	X	X	X	X	X
Zwolle	1398-1411	X		X	X	X				
Duisburg	1417	X			X	X				
Munster	Chybí		X	X	X					
Osnabruck	Chybí		X	X	X	X				
Tecklenburg	17. století		X	X	X					

### 3.1.2.2 Reinheitsgebot – Zákon o čistotě piva:

Jako další možnost úpadku gruitu lze také zmínit německý zákon o čistotě piva takzvaný „Reinheitsgebot“. Jednalo se o zákon vydaný roku 1516, který stanovoval jediné tři přísady, které lze použít na výrobu piva. Šlo o ječný slad, chmel a vodu. Jelikož v té době nebyly kvasinky známy a byly objeveny až o 300 let později, kdy byly následně přidány jako čtvrtá povolená surovina. Předchůdce tohoto zákona byl již v roce 1156, kdy Fridrich I. vydal nařízení „*Justitia Civitatis*“, podle kterého měl být sládek, který uvaří špatné pivo potrestán pokutou, má mu být odebrána varná licence a pivo vylito. Následně roku 1447 bylo vydáno nařízení, které doporučovalo, že pivo má být stejně jako v „Reinheitsgebotu“ vařeno pouze z ječmene, chmele a vody. Zákon měl sloužit jako ochrana pro spotřebitele, související s toxicitou bylin a jiných příměsí a také pro ekonomickou podporu trhu s ječmenem a chmelem. Jelikož pšenice nebyla popsána jako přísada pro vaření piva, byl zákon upraven výhradně pro rod Degenbergerů, kteří z pšeničných piv utvořili monopolní postavení. Po vymření rodu, právo připadlo rodu Wittelsbachů, kteří ho roku 1872 zpřístupnili volně všem, výměnou za plochu na rozšíření svého pivovaru. Od „Reinheitsgebotu“ bylo Německo nuceno ustoupit roku 1987 z ekonomických důvodů díky nařízení Evropské unie (Schiller & Busch 1993; Holle & Schaumberger 2011).

## 3.2 Varná technologie

### 3.2.1 Šrotování a vystírání

První fází výroby mladiny je mletí sladu. Mletí je mechanický proces, kdy za pomoci válcových šrotovníků se vymílá endosperm, rozdělují se jemné a hrubé části za současného zachování celistvosti sladových pluch. Pluchy následně slouží jako filtrační materiál v pozdější fází výroby mladiny. Mletím jsou zpřístupněny extraktivní látky pro fyzikálně-chemické a enzymové pochody (Basařová 2010).

Důležité faktory při mletí neboli šrotování sladu jsou poměry jednotlivých krupic. Jemná krupice a mouka by měly být ve větším poměru právě díky dobře rozluštěným extraktivním látkám, naopak hrubá krupice nacházející se ve špičce obilky je nevhodná ve větším poměru právě díky nízké výtěžnosti. Ačkoli je šrotování sladu jednoduchý proces, závisí na jeho správném provedení následný proces rmutování, scezování a varní výtěžek (Kosař 2000).

Po namletí šrotu následuje vystírání. Jedná se o smíchání namletého šrotu, a případných aditiv s vodou. Poměry sypání a hlavního nálevu se volí podle požadovaného typu piva. U světlých piv je potřeba řidší rmut pro rychlejší proces zcukřování za pomoci amylolytických enzymů, jimiž jsou maltasa a sacharasa, zatímco u piv tmavých volíme rmut hustý, pro působení enzymů proteolytických spolu s dekokčním rmutováním a tím i karamelizací cukrů a zvýšením barvy (Kosař 2000; Basařová 2010).

Vystírání také dělíme na studené, teplé a horké. Studené vystírání probíhající při teplotě pod 20 °C, se dříve volilo pro špatně rozluštěné slady. Teplé vystírání při teplotě 35 až 38 °C pro dobře rozluštěné slady následované zapárkou na teplotu 52 °C a horké vystírání pro slady přelouštěné. Doba vystírání se odhaduje od 10 až po 30 minut (Basařová 2010).

### **3.2.2 Rmutování, scezování a chmelovar**

Rmutování je fáze, při které dochází ke štěpení sacharidů, především amylozy a amylopektinu na zkvasitelné cukry, za pomoci postupného zvyšování teplot a amylolytických enzymů. Dělí se do tří stupňů, z nichž první je bobtnání, následované zmazováním, až ztekucením škrobu. Nejprve dochází k bobtnání a praskání škrobových zrn, čímž vznikne koloidní roztok a škrobový maz. K mazování dochází od 55 až 60 °C působením enzymu  $\alpha$ -amylázy, kdy vznikají oligosacharidy a amylopektin. Celý proces zakončují enzymy  $\beta$ -amylasa a hraniční dextrinasa za vzniku 2-4 glukosových jednotek a dochází tak ke „zcukření“ (Kosař 2000; Basařová 2010).

Po zcukření následuje scezování, což je fyzikální proces oddělení tekutého podílu od mláta (pevné zbytky sladového šrotu). Mláto se nechá sedimentovat na scezovací dno, kde převážně pluchy vytvoří filtrační materiál, přes který následně protéká tekutý podíl díla. Prvnímu podílu se říká předek a obsahuje nejvíce extraktivních látek. Aby bylo dosaženo požadovaného objemu a extraktu, je třeba zbylé mláto vykrápet vodou o teplotě od 75-78 °C. Tento proces se nazývá vyslazování a je velmi důležité hlídat hladinu nad mlátem, aby mláto nevyschlo nebo se nezakalilo vykrápečí vodou. Jedná se o časově náročný proces ovlivněný vrstvou mláta, kvalitou pluch a správným nastavením čerpadla (Kosař 2000; Basařová 2010).

Poslední fází při výrobě piva na varně je chmelovar, tedy přidání chmelu do sladiny při varu, za vzniku mladiny. Mezi hlavní cíle chmelovaru patří odpaření těkavých látek a přebytečné vody a tím dosažení požadovaného extraktu, taktéž inaktivace enzymů (při teplotách kolem 95 °C), sterilizace mladiny, rozpuštění  $\alpha$ -hořkých kyselin, polyfenolů, dusíkatých látek a dalších složek pocházejících z chmele či chmelových produktů a zvýšení acidity, tedy snížení pH. Chmelovar je poměrně dlouhý proces, trvající od 70-120 minut, v závislosti na varném postupu, druhu piva a kvalitě chmelu či chmelových produktů. Chmelení neboli dávkování chmele na várku se v praxi provádí v jedné až třech dávkách. Obecně platí,

že první dvě dávky dávají mladině spíše charakteristickou hořkost, zatímco třetí dávka přidávaná 10-30 minut před koncem chmelovaru, dodává výslednému pivu především aroma (Basařová 2010).

### 3.2.3 Spílání

Čerpání mladiny z mladinové pánve až do kvasného tanku se nazývá spílání a zahrnuje odstranění kalů, chlazení a provzdušnění mladiny. První krok úspěšného spílání je odstranění hrubých kalů, k tomu je v praxi nejčastěji využívána vířivá kád' neboli „Whirlpool“. Mladina se čerpá do vířivé kádě tangenciálně z bočního pláště nádoby pro dosažení rotačního pohybu, kdy se hrubé kaly usadí uprostřed dna nádoby a jsou následně odstraněny (Kosař 2000).

Po odstranění hrubých kalů se z boku vířivé kádě čerpá mladina do chladiče. Nejpoužívanější je chladič deskový, kde se jako chladící medium používá voda. Deskové chladiče se dále dělí na dvoustupňové, které jsou v první fázi předchlazovány varní vodou a následně dochlazovány vodou ledovou a na jednostupňové chladiče, kde je používána pouze předchlazená varní voda na teplotu 2-3 °C. Při chlazení dochází k tvorbě jemných neboli „chladových kalů“, které lze odstranit za pomoci filtrace, odstředivky, či v menší míře sběrem deky. Výsledná teplota mladiny se určuje převážně podle typu kvašení, pro spodní kvašení by měla být teplota mladiny kolem 5-6 °C, pro zrychlené kvašení 10-15 °C a pro svrchní kvašení teplota 12-18 °C. Před chlazením další várky je nutná precizní sanitace chladiče z důvodu nebezpečí kontaminace (Kosař 2000; Basařová 2010).

Bezprostředně po zchlazení mladiny nebo během transportu do kvasné kádě dochází k provzdušnění mladiny. Cílem provzdušnění je nasytit mladinu rozpustným kyslíkem na hodnotu 6-8 mg.l<sup>-1</sup> ze sterilního vzduchu. Kyslíkem nasycená mladina je důležitá pro pomnožování a správný metabolismus kvasinek (Kosař 2000).

## 3.3 Fermentační procesy při výrobě piva

Po předchozím zchlazení a provzdušnění mladiny, kdy je transportována do kvasné kádě nebo tanku, se ideálně v nejkratším intervalu provádí zakvašování pivovarskými kvasnicemi. Jedná se o rody kvasinek spodního kvašení *Saccharomyces pastorianus* neboli *S. carlsbergensis* a *S. uvarum* využívané převážně pro ležáky nebo kvasinky svrchního kvašení *Saccharomyces cerevisiae* (Kosař 2000; Basařová 2010).

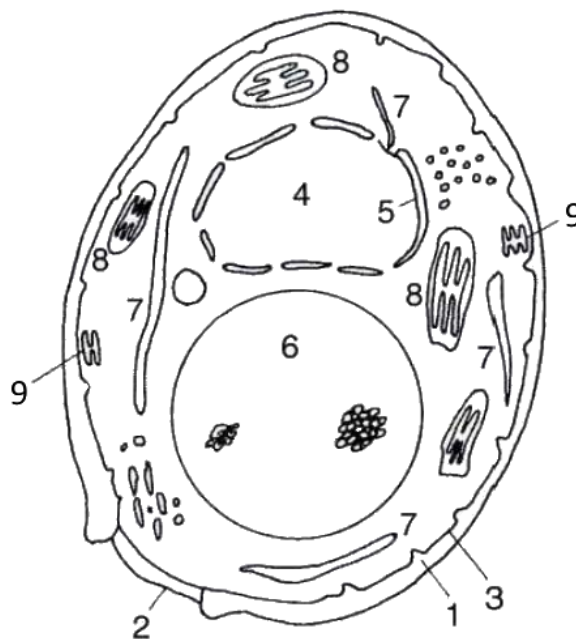
Jedná se o houbovité, heterotrofní, eukaryotní mikroorganismy, které jsou schopny zkvašovat, tedy přeměňovat mono-, některé di- a tri-sacharidy na ethanol a oxid uhličitý. Díky tomu také tyto MO dosáhly svému českému názvu „Kvasinky“ (Šilhánková 2002).

Kvasinky ve zkratce přeměňují jednoduché disacharidy jako maltózu, sacharózu a trisacharid rafinózu na ethanol a oxid uhličitý. Současně se také vytváří vedlejší produkty, mezi které patří vyšší alkoholy a estery. Ty jsou vítané například u pivních druhů, jako je ALE a Weizen (Hasík 2013).

### 3.3.1 Tvar kvasinek

Tvar buněk kvasinek odlišuje jejich způsob vegetativního rozmnožování, tedy pučením a dělením. Mezi nejčastější tvary patří elipsoidní, následně vejčitý až kulovitý. Existují i variace dlouze protáhlé, citronovité, trojúhelníkovité a válcovité, avšak pouze u určitých druhů kvasinek. Pivovarské kvasinky dosahují převážně mírně oválného tvaru (který je znázorněn na Obr. 2) o šířce 5-8  $\mu\text{m}$  a délce 6-10  $\mu\text{m}$  (Šilhánková 2002; Basařová 2010).

1. - Buněčná stěna
2. - Jizva zrodu
3. - Cytoplasmatická membrána
4. - Jádro
5. - Jaderná membrána
6. - Vakuola
7. - Endoplasmatické retikulum
8. - Mitochondrie
9. - Golgiho aparát



Obrázek 2 - Schématický náčrt kvasničné buňky (Basařová 2010)

### 3.3.2 Cytologie kvasinek

#### 3.3.2.1 Buněčná stěna

Slouží k ochraně proti mechanickému poškození a vlivu osmotického tlaku. Skrz její póry jsou schopny projít veškeré sloučeniny, kromě například polysacharidů a bílkovin, jež jsou sloučeniny vysokomolekulární. U rodu *Saccharomyces* je buněčná stěna tvořena třemi vrstvami. Skládá se z 80 % z polysacharidů, tvořící pevnou spleť vláken, vyplněnou bílkovinami zahrnující 6-10 % sušiny buněčné stěny. Obsahuje také fosfátové zbytky, jejichž podíl ku bílkovinám se na kvasinkách odráží v podobě barvy a chuti. Jizvy po spojení s mateřskou buňkou se nazývají „Jizvy zrodu“. Počet jizev určuje stáří kvasinky, nejčastěji se jedná o 15-24 jizev (Šilhánková 2002; Kopecká et al. 2012).

Na základě poměru bílkovin a polysacharidů lze také experimentálně měřit hydrofobicitu buněčné stěny, která přímo koreluje na flokulační (čiřící) a sedimentační vlastnosti buňky (Basařová 2010).



### 3.3.2.2 Cytoplazma

Mezi buněčnou stěnou kvasinek a cytoplazmou se nachází cytoplazmatická membrána, označovaná jako „plazmalema“, jedná se o sídlo mechanismů pro transport látek dovnitř buňky nebo ven do prostředí (Šilhánková 2002).

Cytoplazmatická membrána je tvořena především fosfolipidy a steroly, jejichž poměr následně určuje vlastnosti membrány. Fosfolipidy jsou zodpovědné za její fluiditu (tekutost) a steroly naproti tomu způsobují její rigiditu (tuhost) (Basařová 2010).

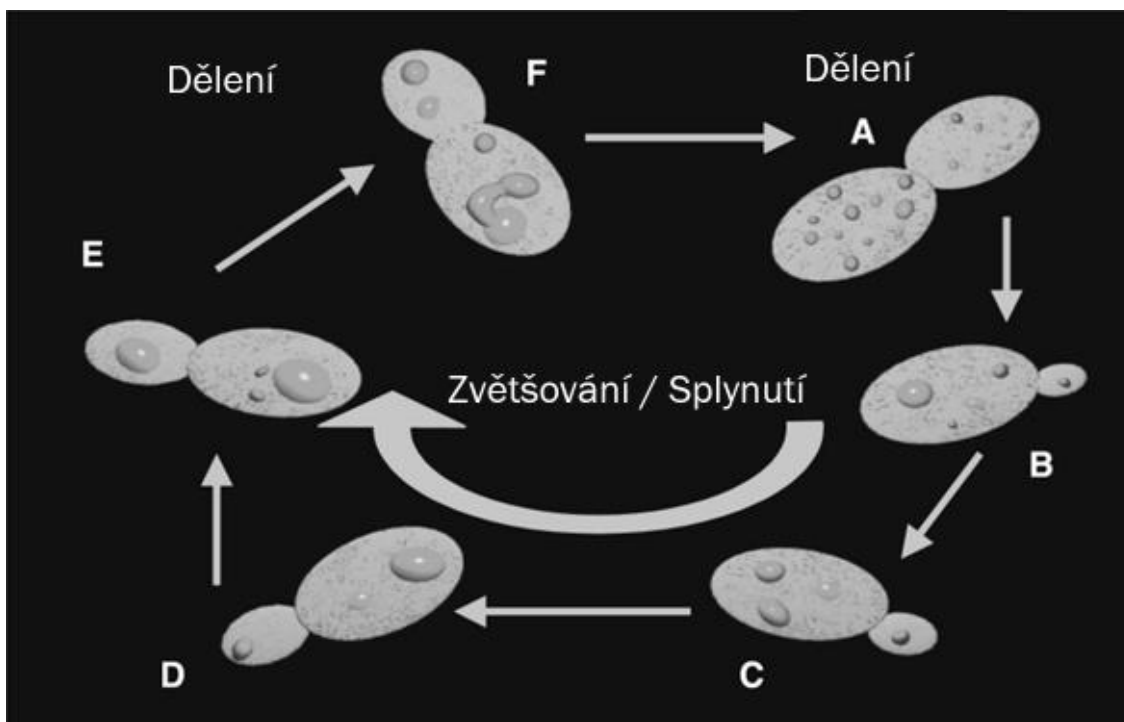
Cytoplazma je průhledná homogenní hmota, obsahující Endoplasmatické retikulum pro tvorbu bílkovin, z nichž i enzymů, a rezervních látek (Šilhánková 2002).

Endoplasmatické retikulum je děleno na hrubé a hladké, podílí se na tvorbě lipidů, modifikaci a transportu proteinů. Je zde taktéž přítomný enzym katalasa (Šilhánková 2002; Basařová 2010).

Dále, cytoplazma obsahuje mitochondrie obsahující jak RNA, tak malé množství DNA, sloužící jako mimojaderný nositel dědičnosti. Jsou sídlem oxidační fosforylace a dýchacích enzymů, obsahují také volutin, glykogen nebo tuk, sloužící jako rezervní látky (Šilhánková 2002).

Mitochondrie jsou za anaerobních podmínek, tedy za nepřístupu kyslíku neaktivní, zároveň také mohou za biosyntézu mastných kyselin (Basařová 2010).

Vakuola je kulovitý útvar ohraničený jednoduchou membránou s výběžky do cytoplazmy. Počet vakuol závisí na stáří buňky. Mladé buňky mají obvykle více malých vakuol, zatímco u starších buněk se vakuoly spojují do jedné velké. Spojování a dělení buněk je znázorněno na Obr. 3. Vakuoly propouštějí světlo, čehož se využívá při mikroskopických testech. Vakuoly obsahují hydrolytické enzymy, polyfosfáty, draselné ionty, aminokyseliny a puriny. Podle obsahu vakuol se také stanovují vitální testy kvasinek (Šavel 1999; Šilhánková 2002).



Obrázek 3 - Diagram znázorňující změny vakuol při replikačním cyklu kvasinek (Schwenke 1977)

Cytoskelet je síť proteinových vláken, zajišťující pohyb organel uvnitř buňky za pomoci mikrotubulů. Nachází se uvnitř cytoplazmy a v jádře, kde se také podílí na jeho dělení a spájení (Šilhánková 2002; Basařová 2010).

Golgiho aparát je membránový útvar, sloužící k transportu prekurzorů buněčné stěny z cytoplazmy přes cytoplazmatickou membránu (Šilhánková 2002).

Ve středu buňky se nachází jádro kvasinek, které je ohraničeno dvojitou jadernou membránou s velkými póry, obsahující nukleové kyseliny. Pod jadernou membránou lze také nalézt jadérko (Šilhánková 2002; Kopecká et al. 2012).

### 3.3.3 Rozmnožování kvasinek:

U většiny kvasinek dochází k vegetativnímu neboli nepohlavnímu rozmnožování zvanému „pučení“, kdy z mateřské buňky vznikne buňka dceřiná. Membrány endoplazmatického retikula před pučením splynou a následně se opět dělí. Dochází k opakovanému dělení vakuoly a protahování mitochondrií. Vytvoří se pupen, do kterého začnou vstupovat drobné mitochondrie a vakuoly, za současného mitotického dělení jádra. Společně s jádrem se do nově vzniklého pupenu přesunou i ostatní zbylé složky cytoplazmy. Kanálek mezi mateřskou a dceřinou buňkou uzavírá cytoplazmatická membrána a rozšiřuje se endoplazmatické retikulum. Pučení končí ve chvíli, kdy se drobné vakuoly spojí v jednu velikost pupenu vzroste a vytvoří se buněčná stěna mezi mateřskou a dceřinou buňkou. V případě, kdy se dceřiná buňka od mateřské neoddělí, dochází k tvorbě tzv. „Buněčných svazků“. Cyklus pučení trvá za optimálních podmínek kolem 2 hodin (Šilhánková 2002; Basařová 2010).

Mimo vegetativní způsob rozmnožování některé rody kvasinek uplatňují také rozmnožování pohlavní. Jedná se o spájení dvou haploidních buněk a jejich jader, za vzniku diploidních jader. Mezi nejznámější rody využívající pohlavní způsob rozmnožování patří například *Ascomycotina*, *Basidiomycotina*, *Debaryomyces* nebo *Nadsonia*. I rod *Saccharomyces* má schopnost se rozmnožovat pohlavně, avšak jen za určitých podmínek. Částečně k němu dochází u kvasinek svrchního kvašení, tedy *Saccharomyces cerevisiae*, u spodních kvasinek *Saccharomyces uvarum* (*S. carlsbergensis*) se objevuje jen velmi zřídka (Šilhánková 2002; Basařová 2010).

### 3.3.4 Chemické složení kvasinek:

Buňka kvasinky obsahuje kolem 65-83 % vody, kdy ze 75 % se jedná především o vodu intracelulární, tedy voda vázaná a zbylých 25 % tvoří voda volná. Vliv na obsah vody v kvasinkách závisí převážně na rodu kvasinek, zda se jedná o mladé či starší kvasinky nebo na vytvořených podmínkách, ve kterých kvasinky kultivujeme. Nejvíce vody obsahují vakuoly, lze tedy říci, že ve starších kvasinkách, najdeme větší obsah vody právě kvůli spojení malých vakuol do jedné velké (Šilhánková 2002).

Za nejvýznamnější sacharidy, které lze v kvasinkách nalézt patří mannan a glukan obsažené v buněčné stěně, v cytoplazmě glykogen opět společně s mannánem jakožto zásobní polysacharidy. Obsah glykogenu je ovlivněn na genetickými, fyziologickými a fermentačními

podmínkami, přičemž kvasinky svrchního kvašení obsahují obecně více glykogenu (až o 30 %) než kvasinky spodní (Basařová 2010).

Z celkového množství sacharidů obsažených v mladině využívají kvasinky pouze kolem 10 % sacharidů na tvorbu vlastní kvasničné biomasy, zbylých 90 % využijí k tvorbě ethanolu a oxidu uhličitého (Onofre et al. 2018).

Dusíkaté látky jsou v kvasničné buňce ve všech formách, ať už jako aminokyseliny sloužící k metabolickým pochodům nebo syntéze, tak jako peptidy (glutathion) nacházející uplatnění v redoxním systému. Nejvíce zastoupené jsou však enzymy jako například alfa-amyláza nebo glukoamyláza (Janderová et al. 1989; Basařová 2010).

Z aminokyselin jsou pivovarské kvasinky nejbohatší na esenciální lysin a treonin, které lze využít jako suplement ve výživě člověka (Onofre et al. 2018).

Obsahem dusíkatých a uhlíkatých látek v substrátu pro kvasinky lze regulovat funkci a složení kvasinek. Při snížení dusíkatých látek a zvýšení látek uhlíkatých dosáhneme snížení bílkovin v kvasničných buňkách, což zvyšuje trvanlivost kvasinek, avšak za cenu nižší kvasivosti (Šilhánková 2002).

V mitochondriích a buněčných membránách lze nalézt lipidy ve formě fosfolipidů a mastných kyselin, které ovlivňují průchod substrátu do buněk. Obsah O<sub>2</sub> v substrátu má na jejich složení zásadní vliv (Basařová 2010).

Kvasinky jsou také významný zdroj makroprvků jakožto draslíku, sodíku, hořčíku a nejvýznamnějšího fosforu, obsaženého převážně v nukleových bázích. U mikroprvků jde o chrom, zinek, lithium, selen a mangan (Šilhánková 2002; Onofre et al. 2018).

Kvasinky sice obsahují velké množství bílkovin, ale vzhledem k vysokému podílu purinů a nukleových kyselin je nelze použít jako zdroj bílkovin v lidské výživě. Dle Šilhánkové (2000) by jejich maximální dávka neměla přesáhnout 2 g na den na člověka, naproti tomu Onofre et al. (2018) udává dávku 10krát větší a to 20-30 g, avšak na sušené kvasnice (Šilhánková 2002; Basařová 2010; Onofre et al. 2018).

Z vitamínů je nejvýznamnější ergosterol, jakožto prekurzor vitamínu D a následně vitamíny skupiny B, tedy především B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> a B<sub>6</sub>, které kvasinky absorbují z mladiny (Šilhánková 2002; Onofre et al. 2018).

### 3.3.5 Rozdělení kvasinek

Mezi nejzákladnější rozdělení pivovarských kvasinek patří bezpochyby dělení na spodní a svrchní kvasinky. Kvasinky takzvaného „svrchního kvašení“ jsou využívány převážně v teplotním rozmezí 18-22 °C dle Basařové (2010), nebo širší rozmezí teplot 15-25 °C dle Hasíka (2013). U „spodních kvasinek“ se jedná o výrazně nižší teploty, dle Hasíka (2013) se pohybují v teplotním optimu kolem 8-12 °C, naopak dle Basařové (2010) se teplotní rozmezí optimální funkce kvasinek liší jen o jeden až dva stupně a to 7-15 °C. Avšak přesnou teplotu kvašení si každý technolog upravuje dle svého.

Výrazné rozdíly svrchního a spodního kvašení jsou znatelné i v sensorických vlastnostech výsledného piva. U svrchního kvašení dochází k tvorbě vonných látek, jedná se například o banánové, jablečné, hřebíčkové aroma nebo například aroma tropického ovoce

bez jakéhokoli přídavku dalších surovin při vaření (Basařová 2010; Hasík 2013; Olšovská et al. 2017).

Kvasinky spodního kvašení naproti tomu právě díky nízkým teplotám nechávají vyniknout chuti a vůni základních surovin, chmelu a sladu. U chmelu tak dávají vyniknout ovocným, bylinným, pryskyřičným či ostatním aromatům. Sladové aroma a chuť jsou především ovlivňovány, způsobem výroby sladu či jeho úpravou, pražením nebo nakuřováním. Nízká teplota u spodního kvašení má také pozitivní vliv na nižší tvorbu diacetylu, jakožto původce máselné chuti a aromatu (Basařová 2010; Olšovská et al. 2017).

Další rozdělení oddělující kvasinky svrchního a spodního kvašení od sebe je ve způsobu zkvašování trisacharidu rafinózy, který je štěpen enzymem melibiasou. Jedná se o znak, kterým se od sebe kvasinky odlišovaly při kvasném testu. Spodní kvasinky jsou schopny tento trisacharid zkvasit kompletně, naproti tomu kvasinky svrchního kvašení pouze zhruba z 33 % (Kosař 2000; Basařová 2010).

Kvasinky spodního kvašení po fermentaci klesají ke dnu nádoby, ve které byla mladina fermentována, naopak svrchní kvasinky stoupají směrem k hladině, kdy jsou vynášeny oxidem uhličitým a tak vytvářejí součást takzvané „kvasné deky“. Tento jev vzniká na základě hydrofobnosti buněčné stěny (Kosař 2000; Basařová 2010).

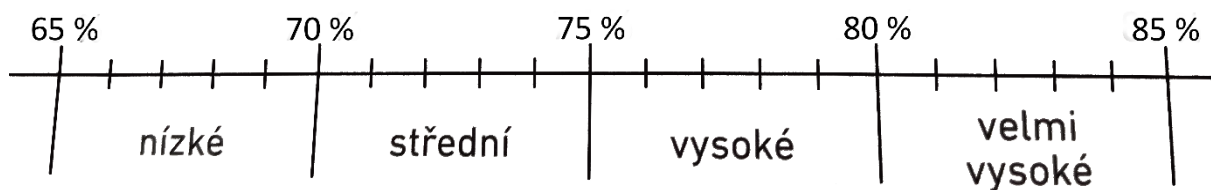
### 3.3.6 Fáze kvašení

#### 3.3.6.1 Zakvašování:

Poté, co se při spílání uvařená mladina zchladí a provzdušní, nastává proces zakvašování. Při tomto procesu se dávkuje kvasnice do kvasné kádě nebo do potrubních cest, přičemž jsou proudem přitékající zchlazené mladiny rovnoměrně promíchány a začíná první proces kvašení. Obvyklé dávkování kvasnic se odhaduje na 500 ml hustých kvasnic na 100 litrů mladiny, tento údaj však není fixní. Při větším objemu kvasnic na 100 litrů lze dosáhnout rychlejšího prokvašení, avšak za cenu menší výtěžnosti a horšího stavu kvasnic (Kosař 2000).

U pivovarských kvasnic se taktéž používá pojem „Pitching rate“, který znázorňuje potřebné množství kvasnic (počáteční koncentrace kvasnic) k tomu, aby proběhlo správné zakvašení následované hlavním kvašením a dokvašením. Podle této hodnoty lze urychlit dobu fermentace a pomnožování kvasinek. Na druhou stranu zvětšující se počet buněk, snížené pH a rychlejší vyčerpání živin a kyslíku, vede ke stresové reakci kvasinek, což může zpomalit či případně kompletně ukončit kvašení. Mezi další negativní vlastnost užití kvasnic s vysokým „pitching ratingem“ patří silně zvýšená tvorba diacetylu (Verbelen et al. 2009).

Mimo „pitching rate“ se po fermentaci také hodnotí stupeň prokvašení na základě schopnosti kvasnic metabolizovat určité sacharidy v určitém množství. Podle stupně prokvašení tak dělíme kvasinky do čtyř kategorií, které jsou znázorněny na Obr. 4 (Novotný 2017).



Obrázek 4 Osa zdánlivého prokvašení (Novotný 2017)

### 3.3.6.2 Hlavní kvašení:

Po zakvašení přichází fáze hlavního kvašení, trvající dle Kosaře (2000) 6 až 10 dní a dle Hasíka (2013) 5 až 10 dní, při které dochází za pomoci kvasinek *Saccharomyces* k přeměně extraktu mladiny na ethanol a oxid uhličitý. Oxid uhličitý se v této fázi částečně rozpouští v mladém pivu (pouze kolem 0,2 %), zbylý se nechává odcházet z kvasné kádě. V případě velkých pivovarů se oxid uhličitý přečišťuje a jímá pro další použití (Kosař 2000; Basařová 2010; Hasík 2013).

#### **Hlavní kvašení lze rozdělit do fází:**

- Zaprašování a odrážení
- Nízké bílé kroužky
- Hnědé vysoké kroužky
- Propadání deky

Při zaprašování, které obvykle nastává za 12-24 hodin po zakvašení, se na hladině mladiny začne objevovat bílá pěna, tvořena právě oxidem uhličitým. Pěna se postupně začne přesouvat od stěn nádoby k jejímu středu vlivem stále rostoucího množství pěny. Tato fáze se nazývá odrážení (Kosař 2000).

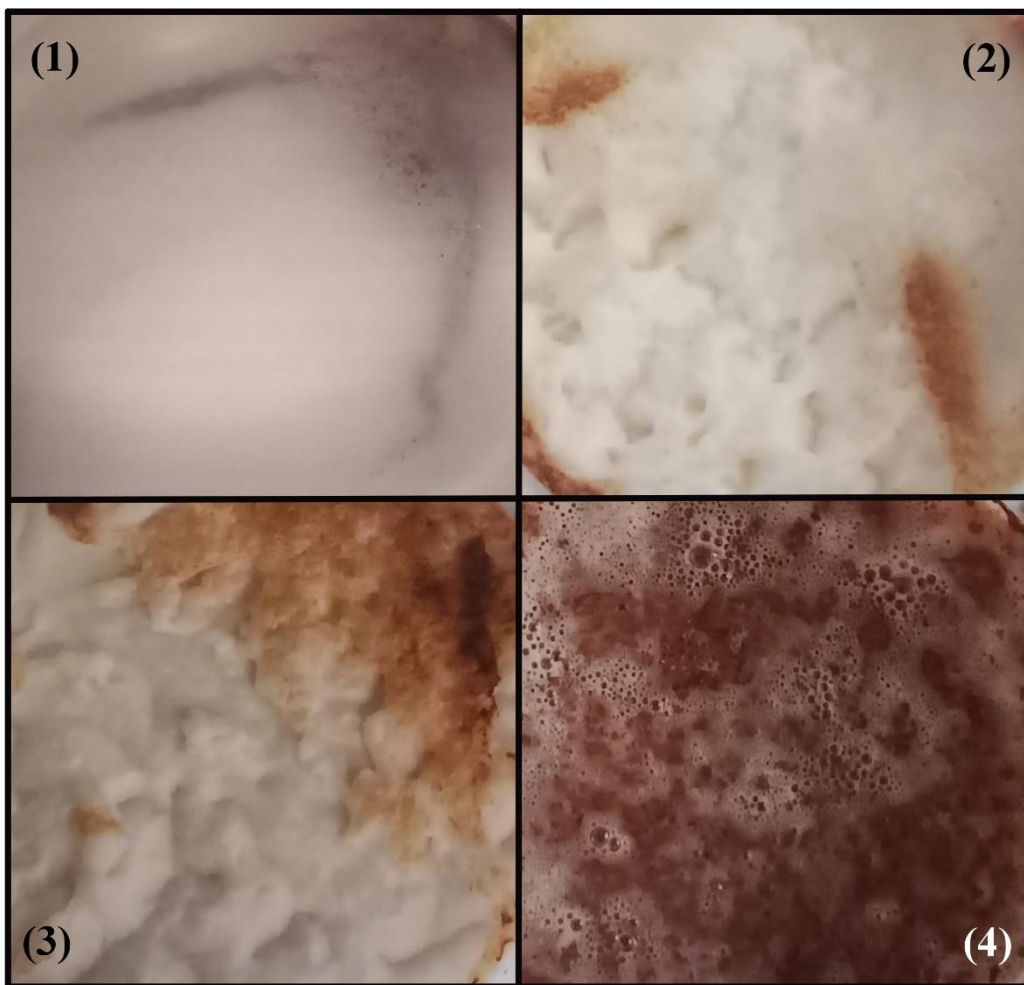
Ve chvíli, kdy je celá hladina kvasné nádoby pokryta pěnou (kolem jednoho až jednoho a půl dne), nastává fáze nízkých bílých kroužků. Zdánlivý extrakt náhle začne klesat o 0,8-1,2 % za den, hodnota pH poklesne na 4,7-4,9, naopak teplota mladiny začne pozvolně stoupat o 0,5-0,8 °C za den (Kosař 2000; Basařová 2010).

Fáze vysokých hnědých kroužků začíná kolem 3. až 5. dne od zakvašení. Pěna na povrchu začíná postupně hnědnout vlivem vynášení mrtvých kvasinek a metabolitů. Mladé pivo se začne okyselovat, hodnota pH klesá pod hodnotu 4,6. Zároveň v této fázi dochází k nejsilnějšímu kvašení, kdy za den klesá hodnota zdánlivého extraktu o 1,0-1,8 %. Kvašení probíhá při teplotě kolem 8–12 °C, kvůli vysokému množství generovaného tepla z molekul glukosy je nutné teplotu hlídat (Kosař 2000; Kunze et al. 2019).

Když intenzita kvašení začne postupně upadat, přichází fáze propadání. Nyní, již čistě tmavá, 2–3 cm nízká pěna, také nazývaná „deka“, obsahuje mrtvé kvasinky, metabolity případně kontaminanty z ovzduší. Právě díky těmto vlastnostem je nutné deku co nejdříve odstranit. Jednotlivé fáze hlavního kvašení jsou vyobrazeny na Obr. 5 (Kosař 2000; Basařová 2010).

Kontinuální fermentace je zrychlený druh hlavního kvašení a částečně i dokvašení za pomoci zvýšené fermentační teploty, neustálého dávkování látek nezbytných pro kvasinky jako aminokyseliny, cukry a kyslík. Důležitým aspektem je také selekce správných druhů kvasinek. Díky kontinuální fermentaci je pivovar schopný prokvasit mladinu ve zrychlených intervalech a pivo díky tomu může být hotové do 3 až 4 dní. Kontinuální kvašení probíhá v bioreaktoru s vysokou koncentrací kvasinek imobilizovaných na určitém nosiči. Díky nim je mnohem větší spotřeba cukerných složek a zároveň i vyšší syntéza ethanolu než u klasického vsádkového kvašení (Pires et al. 2015, Kunze et al. 2019).

Jako hlavní negativní vliv kontinuálního kvašení, je tvorba diacetylu, který je vlivem rychlého kvašení a nastavených podmínek v bioreaktoru tvořen ve větším množství. Z tohoto důvodu je nutné nechat pivo dozrávat déle, aby byl diacetyl postupně odbouráván kvasnicemi (Pires et al. 2015).



Obrázek 5 - Fáze hlavního kvašení - Zprašování (1), Nízké bílé kroužky (2), Vysoké hnědé kroužky (3), Propadání deky (4) (Novotný 2017)

### 3.3.6.3 Sudování:

Sudování je proces, při kterém se po konci hlavního kvašení „mladé zelené pivo“ přesouvá do ležáckých tanků k další fázi, kterou je dokvašení nebo také nazývané zrání. Suduje se při teplotách okolo 5 až 6 °C a je důležité, aby při sudování nedocházelo k oksyličování a tím i potencionální kontaminaci (Basařová 2010; Kunze et al. 2019).

Mladé pivo by se mělo sudovat poté, co jsou pro to ideální podmínky. Mladina by měla být prokvašena kolem 80 %, tedy s 20 % zbytkového extraktu. Biomasa kvasinek by měla být v rozmezí  $10-12 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$  mladiny. Mladé pivo se transportuje do tanků samospádem nebo s využitím čerpadla. Výkon čerpadla a jeho umístění má zásadní vliv na rozpěňování mladého piva a tím i ztráty oxidu uhličitého. Na konci sudování je nutné provést takzvanou „Protlačku“, tedy dočerpání zbytků mladého piva do tanku tlakem vody (Kosař 2000).

#### 3.3.6.4 Sběr kvasnic:

Po hlavním kvašení a přečerpání takzvaného „mladého zeleného piva“ na dně kvasných kádí zůstávají kvasinky, odděleny od sebe ve třech vrstvách. První a třetí vrstva, tedy spodní a vrchní, jsou kvasnice, které jsou charakteristicky zatmavlé a nedoporučuje se je používat na zakvácení další várky, jelikož se jedná převážně o kvasinky mrtvé a také nečistoty a metabolity. Naopak prostřední vrstva kvasnic, která skýtá také největší objem biomasy ze všech tří kategorií, je označovaná jako jádro. Jádro oproti spodní a svrchní vrstvě kvasnic je pro opakované zakvácení vhodné a obsahuje největší podíl vitálních kvasnic. Avšak doporučený počet opakovaných zakvácení várky za pomoci jádra se doporučuje 3krát až 4krát, z důvodu možné kontaminace várky, a také jejich oslabené funkce (Kosař 2000).

Důležitý faktor při sběru kvasinek hraje čas sběru. Správný čas sběru ovlivňuje obsah těkavých látek v následujícím pivu a fyziologický stav kvasinek. Jelikož po konci hlavního kvašení jsou v kvasničné biomase stále přítomné extraktivní látky, kvasničné metabolické dráhy dále pokračují. Čtvrtý den po sudování piva dochází k pětinasobnému nárůstu kvasničných buněk. Ideální den pro sběr kvasnic se jeví jako 7 den po sesudování mladého piva. Sbíráni kvasinek příliš brzy má za následek prodlouženou lag-fázi, tedy zpomalení celkové fermentace. Dochází také k inhibici biochemických změn, které mohou následně negativně ovlivňovat chuť a buket piva. Naopak opožděný sběr kvasnic způsobuje zpomalený počáteční nárůst biomasy kvasinek, ale snižuje se množství acetaldehydu (Kucharczyk et al. 2018).

Klesání kvasinek ke dnu nádoby se nazývá aglutinace. Aglutinační schopnost se u jednotlivých druhů kvasinek značně liší, dobře aglutinující se nazývají krupičkovité, jejich přesný opak jsou pak kvasinky práškovité, které aglutinují obtížněji (Kosař 2000; Basařová 2010).

PYF, neboli „Premature Yeast Flocculation“ je jev při kvašení, při kterém dochází k předčasné sedimentaci kvasinek na dno kádě před vyčerpáním živinových látek. Sedimentace kvasinek je způsobena vysokomolekulárními polysacharidy nebo frakcemi bílkovin obsaženými ve sladu nebo nesladovaném ječmenu označované jako PYF-faktor. Tyto látky se následně extrahují do mladiny vlivem rmutování. Nejvíce látek způsobujících předčasnou sedimentaci je obsaženo v plevách a následně v nesladovaném ječmenu. PYF-faktor lze zjistit ze sladu za pomoci extrakce sladového šrotu vodou, následného vysrážení ethanolem a opětovného rozpuštění vodou. Výsledná sraženina se následně hodnotí jako absorbance ze spektrofotometru (Koizumi & Ogawa 2005).

Z hektolitrů prokvašené mladiny lze sbírat kolem 2 až 2,5 litru kvasnic z jádra. Po sběru jsou kvasnice uloženy do chlazených prostor, kde probíhají další opatření. Mezi nejčastější patří praní kvasnic za pomoci ledové vody. Při této operaci jsou vyplavovány metabolity, nežádoucí látky a mrtvé kvasinky. Zároveň se za pomoci vodního proudu mladina okysličuje a podporuje tak aerobní dýchání, tím se zlepšuje i činnost kvasinek. Mezi nevýhody však patří i riziko kontaminace kvasinek z vodovodního řádu či vypírání zbylých extraktivních látek z kvasničné biomasy, což má za následek zpomalené prvotní rozkvašení další várky (Kunze et al. 2019).

### 3.3.6.5 Dokvácení a zrání:

Po hlavním kvašení, kdy se mladé pivo sesuduje do ležáckých tanků, nastávají dvě významné fáze, které silně ovlivňují výsledný charakter piva. Jedná se o dokvácení a organoleptická zrání. Při dokvácení jde především o metabolické dráhy kvasinek, dotvářející ze zbylého zkvasitelného extraktu ethanol a převážně oxid uhličitý. Jde o fázi, která je ukončena především vyčerpáním živin a přímo na ní navazuje fáze organoleptického zrání, která poté trvá až do úplné organoleptické zralosti a tedy do stáčení piva do obalů. Při zrání nedochází pouze k tvorbě nových sensorických vlastností, ale i k jejich celkovému splnutí a provázanosti (Mücke & Annemüller 1976; Cuřín et al. 1977).

#### **Doba dokvácení a následného zrání závisí především na třech faktorech:**

- Extrakt původní mladiny
- Množství zkvasitelných cukrů v mladině
- Množství dusíkatých látek (a z nich množství aminodusíku)

Extrakt původní mladiny v mladém pivě ovlivňuje především osmotický tlak, vytváří tak stresový faktor pro kvasinky, které s rostoucí mírou extraktu původní mladiny dokvácěji pivo po delší dobu. Na tento faktor přímo navazuje množství zkvasitelných cukrů zahrnutých v extraktu původní mladiny, které jsou snadno zkvasitelné na ethanol a oxid uhličitý. Z toho vyplývá, že s rostoucím množstvím zkvasitelných cukrů v mladině je proces dokvácení urychlován (Cuřín et al. 1977).

Pro rozštěpení cukrů „nesnadno“ zkvasitelných, kvasinky využívají enzym invertasu, který hydrolyzuje rozklad sacharózy na zkvasitelné cukry glukosu a fruktosu. Enzym je přítomen na buněčných stěnách kvasinek a jeho přítomnost v mladině je ovlivňována především teplotou, vitalitou kvasnic, hydrostatickým tlakem, či provzdušněním mladiny. Aktivita invertasy v pivě roste se zvyšující se teplotou nad 9 °C, naopak při praní kvasnic její aktivita klesá. Jedná se především o autolýzu kvasnic, při které se invertasa do mladiny dostává a může tak sloužit jako ukazatel vitálnosti a podmínek kvasnic (Šrogl et al. 2007).

Poslední ze tří faktorů je obsah aminodusíku, tedy dusíkatých látek obecně. Do piva se dostávají především díky dobře rozluštěnému sladu a následně autolýzou. Obsah aminodusíku v nezakvašené mladině by měl být obsažen v množství nad 240 mg/l v mladině s 10 % extraktu původní mladiny. Obsah aminodusíku pod 200 mg/l je již považován za kritickou hranici, pod kterou by obsah neměl v žádném případě klesnout, jinak se mohou objevit negativní následky, jako zpomalené kvašení a dokvácení a změny sensorické kvality výsledného produktu (Cuřín et al. 1977).

Optimální doba zrání se pohybuje v rozmezí 70-100 dní, dokvácení a zrání však závisí na vyráběném druhu piva a již zmíněných faktorech. Při použití takzvané „surogace“, tedy přídavku cukru při vaření, lze optimální dobu zkrátit o 20-30 dní, právě díky zvýšení množství zkvasitelných cukrů. Mezi další faktory ovlivňující dobu kvašení a zrání patří také koncentrace kvasnic, vedení teplot během dokvácení a zrání a použití tlaků v ležáckých nádobách sycených oxidem uhličitým. U klasického způsobu dokvácení a zrání je doba ovlivněna také obsahem sirných sloučenin a diketonů (diacetyl), jež musí kvasinky svou redukční schopností odbourávat. U urychlených způsobů jako je kontinuální nebo



diskontinuální jde především o dekarboxylaci ketohydroxykyselin (Mücke & Annemüller 1976; Cuřín et al. 1977).

Dokvášení a organoleptické zrání je charakteristické především změnami a formováním sensorického profilu výsledného piva. Jako například ztráta aromatu, jehož klesání se odvíjí podle extraktu původní mladiny. Dochází k nárůstu řízu, poklesu plnosti a částečné ztrátě hořké chuti, která se zjemňuje (Cuřín et al. 1977).

Avšak v uzavřených nádobách, jako jsou velkoobjemové cylindrokonicke tanky, dochází k menšímu poklesu hořkých látek až o 40 % (Mücke & Annemüller 1976).

Klasická kvasničná vůně přechází v esterovou. Avšak při surogaci, tedy přidání cukru, byly pozorovány negativní vlivy během dokvášení, které byly vyhodnoceny jako původci autolyzační či hnilobné vůně (Cuřín et al. 1977).

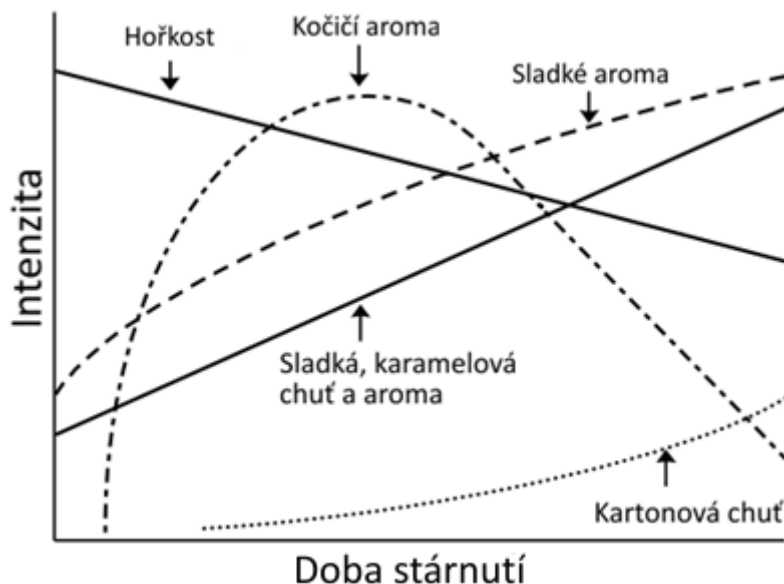
Senzorické změny jdou za sebou také ve třech fázích. V první dochází k již už zmíněnému úbytku aroma a chuti, částečně dochází i k chemickým změnám. Ve fázi druhé se jednotlivé sensorické vlastnosti vzájemně propojují a dochází tak k optimální organoleptické zralosti, dodávající pivu harmonickou vůni a chuť. Poslední, třetí a také jediná negativní fáze, ke které by nemělo docházet, je fáze takzvaného „Zlomení piva“. Při této fázi dochází k významnému uvolňování aminodusíku, což způsobuje autolýza kvasinek. Aminodusík ve velké míře dodává pivu právě nepříjemnou, autolyzační, až hnilobnou chuť a aroma. V menší míře je však i prospěšný, jelikož se částečně uvolňuje do piva těsně před dosažením plné organoleptické zralosti (Cuřín et al. 1977).

Na sensorickou degradaci při dokvášení a kvašení mají také vliv mastné kyseliny. Z nižších masných kyselin je nutné zmínit převážně kyselinu oktanovou, kyselinu hexanovou, nebo kyselinu dekanovou, které jsou následně odpovědné za příchut' žluknutí, nebo kozí aroma. Naopak z vyšších masných kyselin se jedná převážně o kyselinu linolovou a kyselinu linolenovou, které díky oxidační dekarboxylaci dodávají pivu naopak starou příchut' (Horák et al. 2013).

Za nejvýznamnější vadu piva vznikající při kvašení, dokvášení a zrání je považován diacetyl. Tento diketon se do piva dostává více způsoby a jeho obsah je ovlivňován mnoha faktory. Mezi nejznámější způsob patří kontaminace bakteriemi *Pediococcus*, především druhy *P.damnosus* a *P.perniciosus*. Jedná se o bakterie mléčného kvašení, u kterých vznik diacetylu je pouze meziproduktem hlavní metabolické dráhy. Další možností tvorby diacetylu je vznik díky metabolismu kvasinek. Při metabolismu je z kyseliny pyrohroznové vytvářena chemická sloučenina acetoin, který je následně oxidován na diacetyl (Bendová 1967).

Jeden z hlavních faktorů ovlivňujících tvorbu diacetylu je obsah valinu v mladině. Pokud je ho v mladině dostatek, kvasinky nemají potřebu syntetizovat vlastní valin a s ním i jako doprovodný produkt diacetyl. Při kvasničné syntéze izoleucinu vzniká acetylpropionyl (2,3-pentadien), který s diacylem sdílí podobné aroma a lze ho tedy snadno zaměnit. Oxidace mladého piva v rámci manipulace může zvýšit tvorbu diacetylu až o 5–6násobek. Vyrovnanost mezi aminokyselinami a cukry je také klíčová, jelikož pokles aminokyselin a nárůst cukerných složek jde ve prospěch diacetylu, právě díky již zmiňované interakci s valinem. Tvorba diacetylu také závisí na pH mladého piva, teplotě vedení a stupni prokvašení. Diacetyl se postupně snižuje na přijatelnou hranici s rostoucí dobou zrání (Bendová 1967; Mücke & Annemüller 1976).

Poté co je pivo po senzoričských a chemických vlastnostech připraveno pro konzumaci, jedná se již o finální výrobek. Při stárnutí finálního piva se také projevuje několik senzoričských změn jako například zvýšená sladkost, snížená hořkost a vůně chmele, nebo oxidační chuť a vůně. Jednotlivé změny při stárnutí lze nalézt na Obr. 6 (Olšovská et al. 2017).



Obrázek 6 Grafické znázornění senzoričských změn během zrání (Stewart 2004)

### 3.4 Vliv přídavku bylin

Na růst, rozmnožování a funkci kvasnic má kromě fyzikálních vlivů, jako je teplota, nasycení kyslíkem či aerobní nebo anaerobní prostředí, také vliv složení mladiny, tedy prostředí do kterého jsou nasazeny. Mezi nejdůležitější faktory, ovlivňující správnou funkci kvasinek jsou:

- Vitaminy (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>8</sub> a H)
- Obsah Zinku a Manganu
- Poměr Ca<sup>2+</sup> a Mg<sup>2+</sup> iontů
- Mikrobiální kontaminace

Vitaminy skupiny B výrazně ovlivňují kvašení a do mladiny se dostávají především ze sladu. Thiamin (vitamin B<sub>1</sub>) ovlivňuje především látkovou výměnu kvasnic. Riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>) se podílí na oxidačně-redukčních reakcích nebo ve formě FMN a FAD jako koenzym. Kyselina nikotinová, nazývaná niacin (vitamin B<sub>3</sub>) je obsažená v nukleoidech jako součást enzymů a NAD a NADP při oxidačně-redukčních reakcích. Kyselina pantothenová (vitamin B<sub>5</sub>) urychluje aklimatizaci kvasinek při nasazení a účastní se odbourávání mastných kyselin. Při jejím nedostatku dochází k prodloužení lag-fáze kvašení a zpomaluje se dělení. Inositol (vitamin B<sub>8</sub>) je zodpovědný za oddělování dceřiných buněk od mateřských a zvyšuje fermentační schopnost kvasinek. A biotin (vitamin H) je součást ligáz, podílejících se na přenosu CO<sub>2</sub> a složení tuků v kvasničné hmotě. Při jeho nedostatku dochází

ke změně kvasničných sacharidů a dochází tak ke slučování buněk k sobě tzv. „aglutinaci“ (Bendová et al. 1970).

Zinek je jeden z prvků, který významně ovlivňuje dobu kvašení a funkci kvasnic. Při zvýšení dávky zinku o 5 ppm, bylo prokázáno zkrácení doby aklimatizace kvasnic při hlavním kvašení, zvýšená produkce ethanolu, esterů a zároveň snížená tvorba aldehydů. Při koncentraci nad 500 ppm v mladině, dochází již k lehké toxicitě vůči kvasinkám, tohoto množství je však možno dosáhnout jen díky zvýšenému poměru manganu. Při množství nad 0,4 ppm manganu jsou totiž kvasinky schopny tolerovat až 65,5 ppm zinku. Při poklesu manganu pod 0,4 ppm pouze 2 ppm zinku. Vliv má zinek také na příjem maltosy a maltotriasy kvasnicemi (Rees et al. 1998).

Hořčík a vápník mají k sobě konkurenční vztah. Zatímco hořčík podporuje rozmnožování kvasinek, tlumí inhibiční účinky vznikajícího ethanolu na kvasinky a prodlužuje jejich exponenciální růst, vápník naopak jejich růst inhibuje. Při zvýšení množství  $Mg^{2+}$  iontů dochází k rychlejšímu nástupu počáteční fermentace, zvyšuje příjem maltotriasy, tvorbu ethanolu a vitalitu kvasinek (Rees et al. 1997).

Fáze kvašení také ovlivňují mikrobiální kontaminace, převážně bakterií či cizích kvasinek. Z bakterií se jedná převážně o rody indukující mléčné kvašení, tedy *Lactobacillus* (*L. brevis* a *L. casei*) nebo *Pediococcus* (*P. cerevisiae*, *P. damnosus*, *P. acidilactici*). *Lactobacillus* přechází do piva nejčastěji skrz ječmen a z něj vyrobený slad. Tento gram-pozitivní rod je odolný vůči hořkým chmelovým látkám a vyznačuje se zvýšenou tvorbou diacetylu a kyseliny mléčné. *Pediococcus* (také gram-pozitivní bakterie) se do pivovaru dostává v pozdějších fázích výroby piva a to přes sladinu či mladinu. Jeho výskyt se vyznačuje zhoršením vzhledu piva, medovou až máselnou chutí a aromatem a jako u rodu *Lactobacillus* dochází ke zvýšené tvorbě diacetylu a kyseliny mléčné (Bendová 1976; Kunze et al. 2019).

Z octových bakterií se jedná převážně o rod *Acetobacter* a *Gluconobacter* jakožto gram-negativní bakterie. Nejsou citlivé na hořké chmelové látky a způsobují oxidaci ethanolu na kyselinu octovou. Bakterie octového kvašení jsou aerobní, tudíž se s nimi při procesu kvašení nesetkáváme tak často (Bendová 1976).

Dále lze zmínit gram-negativní *Zimomonas*, tvořící zákal, acetaldehyd a sirovodík, nebo mladinové bakterie *Escherichia* a *Serratiae*, dále *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* a *Klebsiella aerogenes* tvořící acetoin a 2,3-butandiol (Bendová 1976).

Cizí nebo také „Divoké kvasinky“ mohou vytvářet fenolické látky, mastné kyseliny, estery nebo zákal (Van Der Aa Kühle & Jespersen 1998; Basařová 2010).

Kontaminace cizích kvasinek (uvedených v tabulce č. 2) do pivovaru přichází nejčastěji společně se základními surovinami, tedy sladem a chmelem. Zde je nutné uvést kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus*, známé také jako původce kontaminace anglických typů pív. Kromě zkvasitelných cukrů, štěpí také škroby a dextriny, což vede ke snížení kvality vyráběných pív. Stejná vlastnost byla zjištěna také u rodu *Brettanomyces*, která navíc vykazuje zvýšenou tvorbu kyselin (Bendová et al. 1975).

Za nejčastější cizí kvasinky jsou považovány *Saccharomyces cerevisiae* var. *Turbidans*, způsobující špatné čiření svrchních typů pív a *S. bayanus* měnící chuť a aroma, společně s tvorbou zákalu (Bendová et al. 1975).

Lze také uvést rody *Pichia* a *Hansenula* vyskytující se jako křísovitý povlak nebo *Candida* tvořící zákal (Bendová et al. 1975).

Tabulka č. 2: Cizí kvasinky popsané v pivovarství (Basařová 2010)

Rod:	Druh:
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae, bayanus, exiguus, rouxii, delbrueckii, uvarum, italicus, rosei, heterogenicus, inusitatus, microellipsoides, diastaticus</i>
<i>Candida</i>	<i>krusei, intermedia, vini, valida, guilliermondii, silvae, lambica, ingens, utilis, sake, mesenterica, parapsilosis, humicola, melinii, catenulata, solani</i>
<i>Pichia</i>	<i>membranifaciens, fermentans, farinosa</i>
<i>Torulopsis</i>	<i>candida, norvegica, glabrata, dattila, pinus, versatilis, stellata, inconspicua, gropengiesseri, colliculosa, holmii</i>
<i>Hansenula</i>	<i>anomala, subpelliculosa, californica</i>
<i>Kloeckera</i>	<i>apiculata</i>
<i>Dekera</i>	<i>intermedia</i>
<i>Debaryomyces</i>	<i>hansenii</i>
<i>Brettanomyces</i>	<i>anomalus, bruxellensis, claussenii</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>infirmito-miniatus, albidus var. diffluens, laurentii</i>
<i>Trichosporon</i>	<i>cutaneum, capitatum</i>
<i>Rhodotorula</i>	<i>rubra, minuta</i>
<i>Endomycopsis</i>	<i>burtonii</i>

Díky těmto poznatkům můžeme hodnotit vhodnost použití bylin do piva na základě jejich obsahových látek, které by mohly doplňovat látky obsažené v mladině potřebné pro kvasinky. Vyhodnotit lze i mikrobicidní nebo mikrobistatické využití bylin proti divokým kvasinkám, bakteriím, plísním či jiným patogenním nebo jinak pivu škodícím mikroorganismům. Kromě chmelu otáčivého (*Humulus lupulus*) bylo v rámci této práce vybráno dalších 5 bylin, které byly či jsou používány jako přísady pro výrobu piva převážně díky svým chuťovým, léčivým nebo aromatickým vlastnostem. Jedná se o kopřivu dvoudomou (*Urtica dioica*), lékořici lysou (*Glycyrrhiza glabra*), konopí seté (*Cannabis sativa*), třezalku tečkovanou (*Hypericum perforatum*) a pelyněk černobýl (*Artemisia vulgaris*). Na základě informací o jejich chemickém složení a inhibiční aktivitě proti mikroorganismům lze vyhodnotit vliv dané byliny na průběh fermentace a její použití společně s chmelem či samostatně.

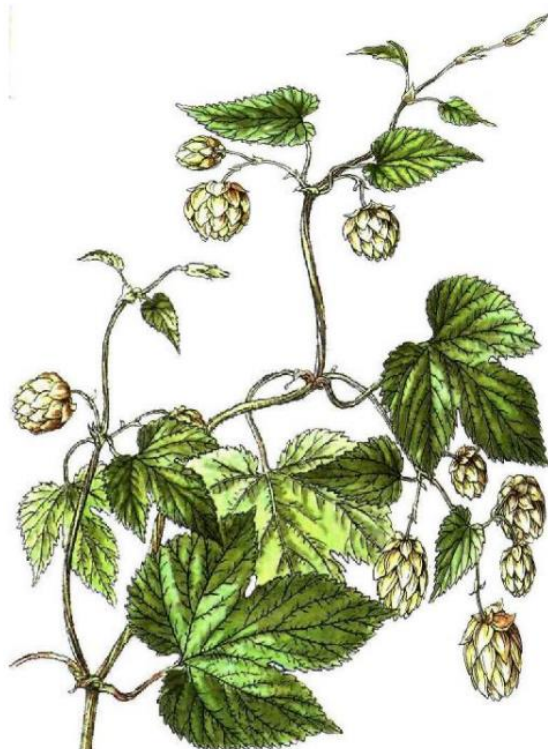
### 3.4.1 Chmel otáčivý

#### 3.4.1.1 Popis rostliny

Chmel otáčivý (Obr. 7), latinským názvem *Humulus lupulus*, spadá do čeledi *Cannabaceae*, a podobně jako je tomu u konopí setého (*Cannabis sativa*) i u chmelu

se využívají převážně samičí rostliny. Jedná se o vytrvalou, dvoudomou bylinu s pravotočivou lodyhou. Listy jsou dlanité s pilovitými okraji a na bázi řapíku se dvěma blanitými palisty. Samčí, prašnickové květy jsou uloženy v latách a samičí pestíky jsou v krátkých klasech, tvořící takzvané „Vejščité šišťice“ (Korbelář & Endris 1968).

Z historických zdrojů chmel otáčivý pochází z Asie díky výskytu všech odrůd chmele na čínském území. Vyskytuje se však hojně i v Evropě převážně na březích potoků, řek, v okolí lesů, zastíněných luk a olšínách (Korbelář & Endris 1968; Arsene et al. 2015; Kowalska et al. 2022).



Obrázek 7 – Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) (Korbelář & Endris 1968)

#### 3.4.1.2 Chemické složení

Jak již bylo zmíněno pro potravinářský a nápojový průmysl nebo ve farmacii se využívá převážně samičích šišťic, dozrávajících od srpna do září a následně sušených při 40°C. Ty obsahují pryskyřice s hořčinami ( $\beta$ -hořké kyseliny v poměru od 8 do 12 % a  $\alpha$ -hořké kyseliny od 2 do 6 %), silice, následně těkavé oleje, polyfenoly a trísloviny (Korbelář & Endris 1968; Kowalska et al. 2022).

Chmelové silice obsahují z 57 až 82 % terpeny, mezi nimiž jsou nejvíce zastoupené myrcen, humulen,  $\beta$ -karyofylen a farnesen. Právě díky myrcenu má chmel štiplavou chuť a kvalita chmelových šišťic se následně posuzuje podle poměru  $\alpha$ -humulenu (který by měl být v nadbytku) ku myrcenu. Ideální poměr těchto látek by měl být 1,1 myrcenu ku 1,8  $\alpha$ -humulenu. Myrcen společně s geraniolem jsou nežádoucí ve větším poměru také díky podléhání oxidaci a polymeraci (Kowalska et al. 2022).

Polyfenoly jsou v chmelových šišťicích zastoupeny od 3 do 6 % na sušinu chmelových šišťic. Jejich poměr v chmelových šišťicích závisí převážně na době sklizně, odrůdě

a klimatických podmínkách. Jejich vliv se následně odráží v kvalitě, senzorických vlastnostech a stabilitě piva. Mají antioxidační vlastnosti a vychytávají tak reaktivní formy kyslíku a dusíku v živých buňkách. Aromatické odrůdy obvykle obsahují vyšší poměr polyfenolů, než je tomu u hořkých chmelových odrůd, které na úkor polyfenolů obsahují vyšší množství  $\alpha$ -hořkých kyselin tedy humulonů (Mikyška et al. 2018).

#### 3.4.1.3 Využití

Chmel se používal například jako stelivo pro hospodářská zvířata nebo pro výrobu tkanin a lan. Díky svým „hořčícím vlastnostem“, se používal převážně na dochucování medoviny, či jiných pokrmů a nápojů. Později však našel své místo právě i při výrobě piva (Basařová 2010; Verberg 2020).

Ve farmacii je využíván převážně pro podporu spánku a trávení nebo jako diuretikum (Korbelář & Endris 1968).

#### 3.4.1.4 Antimikrobiální aktivita

Již od 11. století byly známy antibakteriální účinky chmele, působící proti bakteriím napadajícím pivo, prvokům, virům a plísním (Čermák et al. 2017).

Ve studii Arsene et al. (2015) zaměřené na sledování vlivu chmelových látek na bakterie byly využity chmelové šišťice z jižní části Rumunska, které byly následně sušeny ve větraném prostoru při 18–25 °C. Šišťice byly následně rozemlety v laboratorním mlýnku na jemný prášek a rozpuštěny v 70% ethanolu v poměru 1:10. Vzniklý chmelový roztok byl následně přefiltrován za pomoci filtrační membrány o pórovitosti 0,22  $\mu\text{m}$  a uchován při 4 °C na temném místě. Takto připravený chmelový roztok byl využit pro stanovení inhibičního efektu na gram-pozitivní bakterie (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* a *Staphylococcus aureus*) a gram-negativní bakterie (*Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens* a *Escherichia coli*) za pomoci diskové difuzní metody, která byla provedena ve třech kopiích. Pro porovnání inhibičního efektu bylo použito antibiotikum Vankomycin. Výsledky studie ukázaly, že nejlepší účinek měl chmelový roztok na *Bacillus subtilis*, kde byla inhibiční zóna srovnatelná s antibiotiky a to 7–9 mm. Následoval *Staphylococcus aureus* s inhibiční zónou mezi 4 až 5 mm. Nejmenší inhibiční zóna byla naměřena u *Enterococcus faecalis*, a to 1–2 mm, stále se však potvrdil inhibiční efekt. Lze tedy říci, že chmel působí antibakteriálně převážně na G<sup>+</sup> bakterie (Arsene et al. 2015).

Podobnou antibakteriální studii, avšak na střevní bakterie publikoval Čermák et al. (2017), který izoloval z CO<sub>2</sub> chmelového extraktu  $\alpha$ -hořké kyseliny o čistotě 93 %,  $\beta$ -hořké kyseliny o čistotě 99,7 % a xanthohumol o čistotě 95 %. Získané extrakty byly použity proti rodům *Clostridium* a *Bacteroides*. Při studii se ukázalo, že  $\alpha$ -hořké kyseliny jsou schopné usmrcovat *Bacteroides fragilis* od 160  $\mu\text{g/ml}$  a *Clostridium perfringens* od 680  $\mu\text{g/ml}$ .  $\beta$ -hořké kyseliny usmrcovaly *Bacteroides fragilis* od 50  $\mu\text{g/ml}$  a *Clostridium perfringens* od 150  $\mu\text{g/ml}$ . Nejlepších výsledků dosáhl xanthohumol, který *Bacteroides fragilis* usmrcoval již od 15-60  $\mu\text{g/ml}$  a *Clostridium perfringens* od 10-50  $\mu\text{g/ml}$  (Čermák et al. 2017).

### 3.4.2 Kopřiva dvoudomá

#### 3.4.2.1 Popis rostliny

Kopřiva dvoudomá (Obr. 8), latinským názvem *Urtica dioica*, z čeledi *Urticaceae* je dle Korbeláře & Endrise (1968) 120 cm vysoká, dle Knauerové & Drnkové (2017) až 150 cm vysoká vytrvalá bylina, s drobnými jak samčími, tak i samičími květy, v zelené až žluto-zelené barvě. Květy jsou uspořádány v klubíčkách dohromady tvořících klasy nebo hrozny. Listy jsou zašpičatělé, vstřícné, vejčité až podlouhlé, s hrubými pilovitými okraji. Lodyha je čtyřhranná s řapíky. Doba květu dle Korbeláře & Endris (1968) začíná od června do září, dle Knauerové & Drnkové (2017) je o měsíc delší a to až do října. Plodem kopřivy je nažka vejčitého tvaru. Celá rostlina je pokryta žahavými trichomy. Vyskytuje se hojně po celé Evropě. Nejvíce obývá pustá místa jako rumišťe, skládky, křoviny, břehy vodních toků nebo také okolí lidských obydlí. Listy a nať kopřivy se co nejrychleji po sběru suší v temných místech, při teplotách do 50 °C (Korbelář & Endris 1968; Knauerová & Drnková 2017).



Obrázek 8 - Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*) (Korbelář & Endrise 1968)

#### 3.4.2.2 Chemické složení

Mezi asi nejvýraznější chemické látky v kopřivách lze považovat směs uvnitř žahavých trichomů, tvořenou acetylcholinem (1 %), histaminem (do 5 %) a serotoninem (0,02 %). Právě tyto tři látky způsobují po odlomení trichomu bolest, či pálení. Tento „jed“ je bezdusíkatá směs látek, pryskyřičného charakteru, a lze jej degradovat napařením nebo zahřátím (Korbelář & Endris 1968).

Kromě tohoto „jedu“ kopřiva obsahuje množství prvků, jakožto: železo, kobalt, vápník, hořčík, fosfor, draslík, zinek, chrom, mangan, selen, křemík, cín, síru, sodík a měď. Z vitaminů lze nalézt například vitamin B<sub>1</sub> (thiamin), vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin), vitamin B<sub>3</sub> (niacin), vitamin

B<sub>5</sub> (kyselina pantothenová), vitamin C (kyselina askorbová), vitamin D (kalciferol) a vitamin K (fytochinon) (Korbelář & Endris 1968; Buhner 1998).

#### 3.4.2.3 Využití

Z kopřivy se využívají především listy a nať, které mají diuretické účinky. Bylina se zároveň využívá proti revmatu, cukrovce (mladé listy kopřivy snižují hladinu glukózy v krvi), proti tuberkulóze, pro podporu gastrointestinálního traktu nebo proti chudokrevnosti (Korbelář & Endris 1968; Buhner 1998).

Dle Knauerové & Drnkové (2017) lze využít odvar z kopřivové natě proti ztrátě vlasů a lupům, tento účinek však Korbelář & Endris (1968) popírá.

Kopřiva byla ve středověku využívána podobně jako chmel a to jako přadná rostlina. Což napovídá i jejímu anglickému názvu „nettle“, který je nejspíše odvozen od anglického slova „net“ neboli síť. Mimo rybářských sítí se z kopřivových vláken předly i provazy, trvanlivé papíry nebo plachty (Buhner 1998; Knauerová & Drnková 2017).

V Anglii se z kopřiv připravoval osvěžující a chutný nápoj. Jednalo se o kvašený nápoj popisovaný jako „kopřivové pivo“, do kterého se mohly přidávat i další byliny – pampeliška (*Taraxacum*), zázvor (*Zingiber officinale*), svízel přítula (*Galium aparine*), přestup (*Smilax*) nebo lopuch (*Arctium*). Mladé listy kopřivy jsou popisovány jako chutné, bez zápachu a lehce nahořklé. Dle receptu z roku 1925 uvedeného od Buhnera (1998), se na 5 galonů vody (tedy 22,7 litrů) používal 1 galon kopřiv (tedy 4,6 litrů), což odpovídá množství přes 20 % kopřiv použitých na 80 % varné vody. Je také pravděpodobné, že kopřiva byla kvůli svým barvicím účinkům využívána pro změnu barvy piva (Korbelář & Endris 1968; Buhnera 1998).

#### 3.4.2.4 Antimikrobiální aktivita

Dle studie Modarresi-Chahardehi et al. (2012) byly zkoumány antimikrobiální účinky extraktu z kopřivy dvoudomé za pomoci diskové difuzní metody. První kopřivový extrakt byl získán ze 100 g usušených a rozemletých rostlin, které byly následně vloženy do Soxhletova extraktoru se 400 ml hexanového rozpouštědla, extrakce probíhala při 40-45°C po dobu 2-3 dní. Druhá metoda využívala opět Soxhletův extraktor, avšak 100 g sušených a rozemletých kopřiv bylo extrahováno methanolem a získaný extrakt byl pomocí dělicí nálevky extrahován dalšími čtyřmi rozpouštědly. Jako srovnávací látky byly použity: Amoxicilin na bakterie, Vankomycin na rod *Streptococcus* a Mikonazol pro plísně a kvasinky. Extrakty byly aplikovány v koncentracích od 0,13-133,33 mg/ml. Z výsledků studie vychází, že získané kopřivové extrakty nemají žádný inhibiční účinek na plísně. Naopak některé extrakty byly velmi účinné proti *Acinetobacter calcoaceticus* s inhibiční zónou nad 15 mm, následně *Bacillus cereus* od 10-15 mm a *Staphylococcus aureus* s inhibiční zónou od 9-15 mm. Negativní vliv byl pozorován i u kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, které byly inhibovány v rozmezí 9-15 mm. Naopak kvasinky rodu *Candida*, které jsou brány za divoké kvasinky kontaminující pivo, inhibovány nebyly (Modarresi-Chahardehi et al. 2012).



### 3.4.3 Lékořice lysá

#### 3.4.3.1 Popis rostliny

Lékořice lysá (Obr. 9), latinským názvem *Glycyrrhiza glabra* je dle Korbeláře & Endrise (1968) 180 cm, dle Fenwicka et al. (1990) 70-200 cm, či dle Lee (2018) 90-120 cm vysoká, vytrvalá, dřevnatá bylina, pocházející z čeledi *Fabeceae*. Oddenek je vřetenovitý, obsahující válcovité výběžky. Listy jsou střídavě lichozpeřené, lepkavé s délkou od 10 do 20 cm. Květy mají modrofialovou barvu a jsou uspořádány do stopkatě-úžlabných klasů. Plodem je kožovitý lusk o délce 2,5 cm obsahující 3-5 semen. Lékořice má hluboký kořenový systém.

Původní stanoviště lékořice je nejspíše v subtropických oblastech v Asijských zemích, odkud jí do Evropy rozšířili Clunyští mniši, kteří jí našli při křížáckých výpravách. V České republice se cíleně pěstuje na Moravě. Dobře snáší hluboké, vlhké půdy, nevadí jí záplavy, čehož bylo využíváno v Egyptě, kde byla pěstována poblíž vodních toků (Korbelář & Endris 1968; Fenwick et al. 1990; Lee 2018).

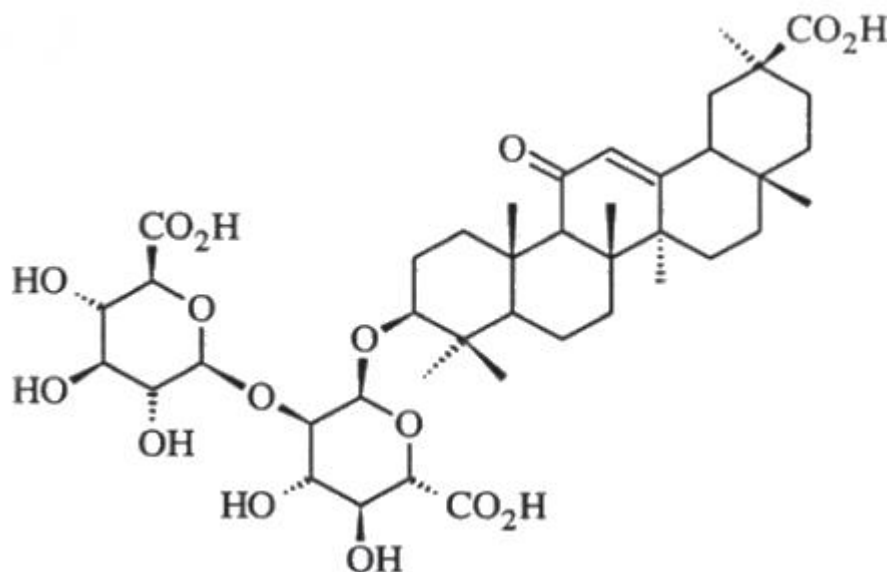


Obrázek 9 - Lékořice lysá (*Glycyrrhiza glabra*)  
(Korbelář & Endrise 1968)

#### 3.4.3.2 Chemické složení

Kořen lékořice obsahuje především triterpenový glykosid zvaný glycyrrhizin (kyselina glycyrrhizinová) v obsahu od 5–24 %, následně 20 % vody, 3–16 % cukrů, 30 % škrobu, 6 % popelovin, silice, flavanoidy, třísloviny a fytoncidy. Z cukrů je nejvíce zastoupená sacharóza v obsahu od 1–20,3 %, následně fruktóza od 0,5–4,1 % a glukóza od 0,15–4,15 %. Glycyrrhizin má dle Korbeláře & Endrise (1968) až čtyřicetinásobně větší sladivost než sacharóza, dle Nirmala et al. (2011) až padesátinásobně (Korbelář & Endrise 1968; Fenwick et al. 1990; Nirmala et al. 2011).

Nejvyšší obsah glycyrrhizinu má rostlina ve třetím roce života, kdy se také doporučuje sklízet a to v obsahu od 11-15 %. Chemická struktura glycyrrhizinu je vyobrazena na Obr. 10 (Korbelář & Endrise 1968; Fenwick et al. 1990).



Obrázek 10 - Chemický vzorec Glycyrrhizinu (Lee 2018)

#### 3.4.3.3 Využití

U lékořice se především využívá oddenků a kořene, právě díky sladké chuti a charakteristickému aromatu. Ty jsou sbírány od zřína do října, následně se myjí, případně loupají a suší při teplotách do 40 °C. Využití nachází především díky obsahu glycyrrhizinu, který dal lékořici označení jako „sladké dřevo“. Toho se využívá například v potravinářském průmyslu, při výrobě nápojů nebo sladkostí (Korbelář & Endris 1968).

Lékořice je také silné laxativum, kterého bylo v minulosti zneužíváno především u onemocnění jako anorexie, či bulimie. Při požití docházelo ke ztrátám draslíku z ledvin a jeho následné nahrazení sodíkem, což mohlo vést k chronickému poškození ledvin, nebo úmrtí. Díky těmto problémům byla stanovena hranice použití lékořice na 100 mg glycyrrhizinu denně (Lee 2018).

V pivovarství byla využívána především pro svou charakteristickou sladkou chuť a vůni, která dobře maskuje hořkou a štiplavou chuť a vůni. V kořeninových a tmavých pivech (Stout a Porter) byl využíván glycyrrhizin z lékořice také jako barvivo nebo jako látka stabilizující pěnu. Stabilita pěny poté přímo závisí na množství lékořice použité na várku. (İbanoğlu & İbanoğlu 2000; Karaaslan & Dalgiç 2014; Adeel et al. 2022)

#### 3.4.3.4 Antimikrobiální aktivita

Ve studii Nirmala et al. (2011) byla posuzována antimikrobiální aktivita extraktů z lékořicového kořene na *Bacillus coagulans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella typhimurium*. Extrakty byly vytvořeny za pomoci Soxhletova extraktoru, bylo použito 20 g kořene z lékořice a 150 ml čtyř druhů rozpouštědel (methanol, chloroform, aceton a ethylacetát). Za pomoci diskové difuzní

metody byla zjištěna inhibiční aktivita methanolového a chloroformového extraktu proti *Escherichia coli*, *Bacillus coagulans* a *Salmonella typhimurium*. Naopak *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* nebyly inhibovány žádným z použitých extraktů (Nirmala et al. 2011).

Dle Lee (2018) taktéž brání peptidickým vředům, které způsobuje bakterie *Helicobacter pylori*.

### 3.4.4 Konopí seté

#### 3.4.4.1 Popis rostliny

Konopí seté (Obr. 11), latinským názvem *Cannabis sativa* je jednoletá, jednodomá nebo dvoudomá krytosemenná bylina pocházející stejně jako výše zmíněný chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) z čeledi *Cannabaceae*. Kořen rostliny je kulový a dosahuje hloubky až 200 cm. Lodyha konopí je přímá, lysá nebo chlupatá, čtyř až šestihránná dle Valíčka (2000) 2-6 m nebo dle Borhade (2013) 3-4,5 m vysoká. Listy jsou dlouze řapíkaté, vytrvalé, jejichž čepele jsou 3–11 čtené, pilovité a na okrajích zašpičatělé. Květy jsou stopkaté se srostlým okvětím (Valíček 2000; Borhade 2013).

Na samiččích květech jsou žláznaté trichomy, obsahující konopnou silici, která působí příznivě proti škůdcům (Ascrizzi et al. 2020).



Obrázek 11 - Kresba konopí z roku 1517 (Valíček 2000)

Konopí pochází ze střední Asie, pěstuje se v mírném podnebí, jakožto i v České republice, a to v nejteplejších oblastech převážně na výrobu textilií. Konopí disponuje vysokou odolností ke změnám ve fotoperiodě, je však velmi citlivé na nedostatek vláhy (Valíček 2000; Borhade 2013; Ascrizzi et al. 2020).

Sklizeň konopí je rozdílná, podle požadované suroviny a obsahových látek. Například stonky s nejvyšším podílem kanabinoidů (1,52 %) se sklízí čtvrtý týden po vysetí. Listy a květy obsahují největší podíl kanabinoidů 11 týdnů po vysetí, zatímco semena až 16 týdnů po vysetí (Borhade 2013; Noppawan et al. 2022).

#### 3.4.4.2 Chemické složení

Květy konopí obsahují převážně konopnou silici produkovanou žláznatými trichomy na samiččích květech. Pryskyřice obsahuje přes 40 % kannabinoidních látek, přičemž listy a samotné květenství pouze 8–12 %. Pryskyřice také působí pozitivně proti škůdcům (Valíček 2000; Ascrizzi et al. 2020).

Z kannabinoidů převládá především  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol,  $\Delta^8$ -tetrahydrokanabinol, cannabinal, cannabidiol, cannabichromen a cannabigerol, z nichž pouze  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu jsou přisuzovány halucinogenní účinky, zatímco ostatní kannabinoidy působí spíše sedativně (Valíček 2000; Ascrizzi et al. 2020).

Následně květy obsahují organické kyseliny, fytoosteroidy a pyridinové alkaloidy jakožto trigonelin a nikotin, které však nemají na omamné účinky konopí žádný vliv (Valíček 2000).

Z monoterpenových uhlovodíků dominují například  $\alpha$ -pinen, myrcen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -karyofylen a limonen (Ascrizzi et al. 2020).

Podíl jednotlivých složek však závisí na podmínkách pěstování, odrůdě a také na osvětlení, které hraje v poměru kannabinoidů a terpenoidů významnou roli. Dle studie Namdara et al. (2018) byl vyšší podíl právě zmíněných kannabinoidů a terpenoidů ve vrchních květenstvích rostliny právě díky vlivu většího osvětlení.

Semena konopí mají příjemně oříškovou chuť a vůni. Obsahují kolem 25 % bílkovin, 30 % sacharidů, 15 % nerozpustné vlákniny, karotenoidy, fosfor, draslík, síru, vápník, železo, zinek, vitaminy E, C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>. Průměrné složení semen konopí je znázorněno v tabulce č.3 (Borhade 2013).

Tabulka č. 3: Složení semen konopí z průměrné analýzy (Borhade 2013)

Složka:	Obsah (%)
Voda	3,07 %
Olej	32,21 %
Bílkoviny	23,90 %
Popeloviny	04,32 %
Vláknina	17,30 %
Sacharidy	28,50 %

#### 3.4.4.3 Využití

Konopí má všestranné využití, jeho semena mají díky svému složení výborné dietetické vlastnosti pro výživu jak člověka, tak zvířat. Olej z konopných semen se dříve také používal jako palivo do světelných lamp (Valíček 2000; Ascrizzi et al. 2020).

Další uplatnění nalézá konopí jako energetická plodina, pro výrobu textilií, které jsou schopny pohlcovat 95 až 100 % UV světelného záření, při výrobě papíru, jako izolace a stavební materiál, nebo díky svým sedativním a bolest-tlumícím účinkům ve farmacii (Valíček 2000; Namdar et al. 2018; Ascrizzi et al. 2020).

Díky své příbuznosti s chmelem otáčivým (*Humulus lupulus*) se konopí používá právě i při výrobě piva. Konopné květy mají slabě hořčící, zato silně aromatické vlastnosti. Využívá

se především listů, stonků, ale i květů technického konopí. Dle studie Ascrizzi et al. (2020) byla použita odrůda s obsahem tetrahydrokannabinoidů pod 0,2 % společně s chmelem chinook. Studie poukázala na použití konopí jako ideální doplněk ke klasickým chmeleným pivům. Konopí dodalo výslednému produktu aromatické vlastnosti díky  $\alpha$ -pinenu a myrcenu, dodávající pivu sladké balzámové aroma, následně  $\beta$ -pinenu s dřevitou chutí a vůní,  $\beta$ -karyofylenu s vůní koření a hřebíčku a v poslední řadě limonenu s citrusovým aroma (Ascrizzi et al. 2020).

#### 3.4.4.4 Antimikrobiální aktivita

Ali et al. (2012) testovali antimikrobiální účinky konopného extraktu proti gram-pozitivní bakterii *Bacillus subtilis*, gram-negativním bakteriím *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*, plísni *Aspergillus niger* a kvasinkám *Candida albicans*. Extrakt byl připraven z 50 g sušeného konopí a petroletheru za pomoci Soxhletova extraktoru po dobu 20 hodin při 40-60 °C. Výsledky studie ukázaly výtečné inhibiční účinky extraktu proti *Bacillus subtilis* s inhibiční zónou od 21–28 mm, následně *Pseudomonas aeruginosa* se zónou 16 mm a *Escherichia coli* se zónou 15 mm. Žádná inhibiční aktivita nebyla pozorována u *Aspergillus niger* a *Candida albicans* (Ali et al. 2012).

### 3.4.5 Třezalka tečkovaná

#### 3.4.5.1 Popis rostliny

Třezalka tečkovaná (Obr. 12), latinským názvem *Hypericum perforatum* je dle Knauerové & Drnkové (2017) 100 cm a dle Korbelaře & Endrise (1968) 60 cm vysoká dřevnatějící bylina z čeledi *Hypericaceae*. Lodyha je lysá s plazivě větvenými oddenky. Listy třezalky jsou vejčité, lysé celokrajné s délkou až 3 cm. Zbarvení květů je žluté až zlaté, jsou pětičetné, o velikosti 20-25 mm, uspořádané do vrcholíků. Kvete dle Knauerové & Drnkové (2017) od června do srpna, dle Korbelaře & Endrise (1968) od května do září. Plodem třezalky je tobolka.

Vyskytuje se v Evropě, Asii a na severu Afriky, na slunečných místech, houštinách, ale i v rašelinách, či na březích toků, v horských i nížinných oblastech (Korbelař & Endris 1968; Knauerová & Drnková 2017).



Obrázek 12 - Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*) (Korbelář & Endris 1968)

#### 3.4.5.2 Chemické složení

Nat' třezalky obsahuje silice v rozmezí od 0,2–1 %, skládající se převážně ze sloučenin hyperosidu, hypericinu, hyperforinu, rutinu, kyseliny chlorogenové (1 %), tříslovin (katechin, epikatechin a prokyanid B2) a esenciálních olejů (Korbelář & Endris 1968; Nahrstedt & Butterweck 1997).

Hypericin dosahuje žluté, oranžové až červené barvy v nesusené bylině, při sušení a vlivem času se barevný odstín degraduje. Až 35–40 % lze extrahovat ve vodě při teplotách od 60–80 °C. Složení a obsah jednotlivých barviv závisí na stanovišti, naopak obsah tříslovin klesá po celou dobu skladování (Korbelář & Endris 1968; Nahrstedt & Butterweck 1997; Ma et al. 2019).

Z dalších látek lze jmenovat 2-methyl-3-buten-2-ol, který je silně nestabilní při vystavení světlu, zvýšené teplotě či zvýšené kyselosti roztoku, stejně jako hořké kyseliny u chmele. Nad 100 mg vyvolává sedativní účinky (Nahrstedt & Butterweck 1997; Ang et al. 2004).

V esenciálních olejích o obsahu 0,1–0,25 %, jsou převážně monoterpeny,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, myrcen a limonen představující stejná aromata a chuti jako u konopí setého (*Cannabis sativa*), či chmele otáčivého (*Humulus lupulus*) (Nahrstedt & Butterweck 1997).

#### 3.4.5.3 Využití

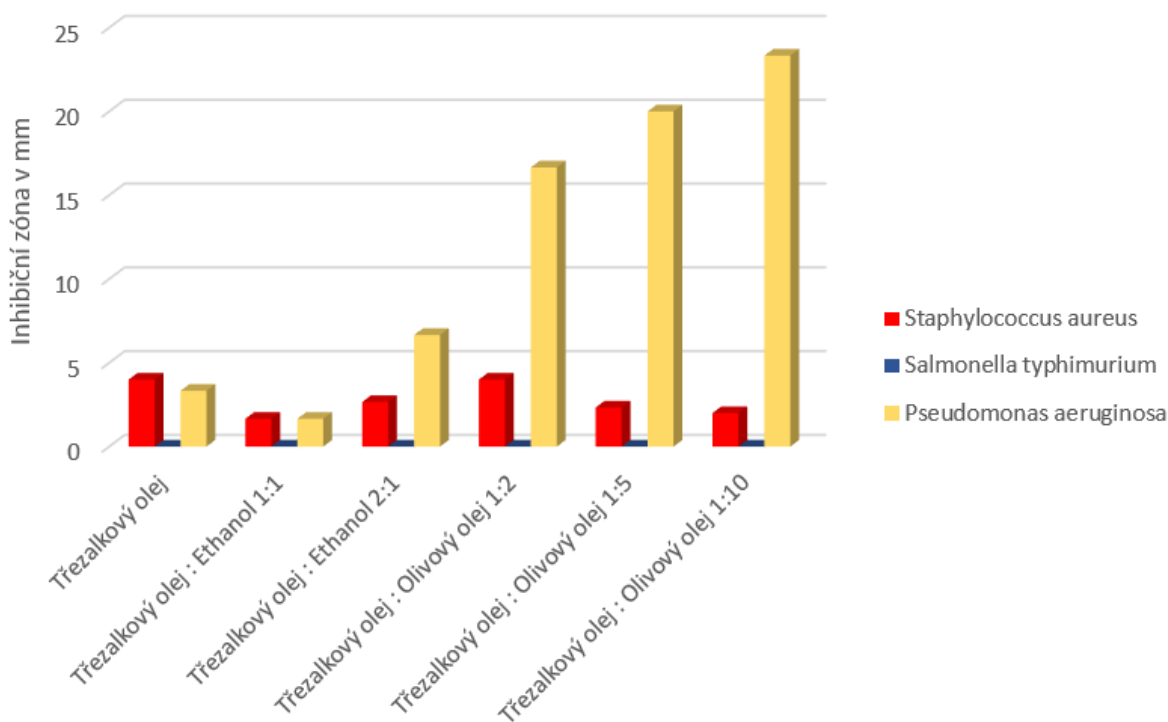
Využívá se sušená nat', která se seřízne od vrcholu na 20–30 cm a následně se suší v temnu při teplotách pod 40 °C. Využití nachází ve farmacii jako sedativum, podpora krevního oběhu nebo využití v podobě oleje na těžké rány a spáleniny. Olej lze také použít pro podporu funkce antibiotik. Nebezpečí hypericinu je ve vyvolávání fotosenzibility, tedy zvýšené citlivosti kůže na světlo a třezalkové oleje by tak neměli být aplikovány před vystavením slunečnímu záření (Korbelář & Endris 1968; Kalaba et al. 2015; Knauerová & Drnková 2017).

Třezalkové třísloviny (v obsahu od 2–4 %) mají antioxidační, antivirové a antimikrobiální účinky (Nahrstedt & Butterweck 1997).

V Norsku byla třezalka využívána při výrobě piva díky svým sedativním účinkům a také se používala jako filtrační materiál společně s řebříčkem (*Achillea millefolium*) pro scezování sladiny (Buhner 1998).

#### 3.4.5.4 Antimikrobiální aktivita

Ve studii Kalaba et al. (2015) byla zkoumána antimikrobiální aktivita třezalkového oleje (*Oleum hyperici*), na *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* a *Pseudomonas aeruginosa*. Třezalkový olej byl zředěn 96% ethanolem na poměry 1:1, 2:1 a olivovým olejem na poměry 1:2, 1:5 a 1:10. Inhibiční aktivita oleje byla stanovena za pomoci diskové difuzní metody. Ze studie vyplývá, že nejlepších inhibičních výsledků dosahoval olej zředěný s olivovým olejem na 1:10 proti *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Olej měl však negativní inhibiční efekt na *Salmonella typhimurium*. Grafické znázornění inhibičního efektu je zobrazeno na Obr. 13 (Kalaba et al. 2015).



Obrázek 13 Graf znázorňující inhibiční zóny třezalkových extraktů (Kalaba et al. 2015)

### 3.4.6 Pelyněk černobýl

#### 3.4.6.1 Popis rostliny

Pelyněk černobýl (Obr. 14), latinským názvem *Artemisia vulgaris* je dle Korbeláře & Endrise (1968) 150 cm a dle Knauerové & Drnkové (2017) 200 cm vysoká vytrvalá bylina, z čeledi *Asteraceae*. Lodyhy jsou červenofialové v trsech. Kořen pelyňku je 2 cm silný,

šedohnědý. Listy jsou peřenodílné až 15 cm dlouhé, na rubech běloplstnaté. Květy jsou zbarveny od žluté po červenohnědou barvu, jsou plstnaté a uspořádané do laty. Plodem pelyňku černobýlu je nažka bez chmýru. Dle Korbeláře & Endrise (1968) kvete od srpna do září, naopak dle Knauerové & Drnkové (2017) kvete od června do října.

Vyskytuje se hojně v celé Evropě, převážně na rumištích, příkopech, podél cest, v porostech či křovinách, jak v nížinách, tak i v horských oblastech (Korbelář & Endris 1968; Knauerová & Drnková 2017).



Obrázek 14 - Pelyněk černobýl (*Artemisia vulgaris*) (Korbelář & Endrise 1968)

#### 3.4.6.2 Chemické složení

Pelyněk černobýl obsahuje silice v množství od 0,2 %, které se skládají převážně z eukalyptolu, thujonu, hořčinu, inulinu a cholinu. Na rozdíl od pelyňku pravého (*Artemisia absinthium*), využívaného při výrobě absintu, je pelyněk černobýl méně škodlivý a nebezpečné látky poškozující centrální nervovou soustavu jsou v něm obsaženy v mnohem menším množství (Korbelář & Endris 1968; Singh et al. 2023).

Pelyněk černobýl obsahuje také aromatické oleje, jejichž hlavní složky tvoří  $\alpha$ -pinen, kamfén,  $\beta$ -myrcen, již zmiňovaný eukalyptol a humulen. Jedná se o látky, které byly již dříve zmíněny u třezalky tečkované (*Hypericum perforatum*), konopí setého (*Cannabis sativa*) a chmelu otáčivého (*Humulus lupulus*). Mimo jiné obsahuje také karyofylen, kafr, endoborneol a sabinen (Singh et al. 2023).

#### 3.4.6.3 Využití

Pelyněk se hojně využívá v gastronomii na přípravu nádivek nebo při přípravě masa a polévek. Jeho aromatických a silně hořkých účinků se využívá také k odpuzování hmyzu a odstraňování střevních parazitů (Buhner 1998; Knauerová & Drnková 2017; Singh et al. 2023).



Ve farmacii se využívá převážně k léčbě nechutenství, snižování bolestí během nepravidelné menstruace a k podpoře trávení díky většímu vylučování žluči (Korbelář & Endris 1968; Knauerová & Drnková 2017).

Při delším užívání může obdobně jako u zmiňovaného pelyňku pravého (*Artemisia absinthium*), docházet k poruchám centrální nervové soustavy, není to však časté. Otrava pelyňkem černobýlem se projevuje snížením krevního tlaku a narušením srdečního rytmu. Mimo tyto aspekty se také jedná o silný alergen v době kvetení (Korbelář & Endris 1968; Knauerová & Drnková 2017).

Díky tomu že je pelyněk černobýl hořčí než chmel, byl také využíván při výrobě piva, avšak v mnohem menších dávkách. Pelyněk černobýl bylo doporučováno přidávat přímo k chmelu pro údajné psychoaktivní vlastnosti (Buhner 1998; Barney & Ditommaso 2003).

#### 3.4.6.4 Antimikrobiální aktivita

Dle studie Singh et al. (2023) byla sledována antimikrobiální aktivita oleje z pelyňku černobýlu proti *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*. Olej byl připraven z 500 g sušených listů pelyňku černobýlu za pomoci čtyřhodinové destilace v přístroji Clevenger. Olej byl zředěn acetonelem na koncentrace 1, 3, 5 a 7 %. Výsledná inhibiční aktivita oleje byla testována pomocí diskové difuzní metody. Studie poukázala na to, že olej nejlépe inhiboval *Staphylococcus aureus* se zónou inhibice od 16-36 mm, následně *Bacillus cereus* s 11-18 mm. Inhibiční aktivita proti *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* nebyla zjištěna (Singh et al. 2023).

Současně je také uváděna inhibiční aktivita proti rodům *Klebsiella* a *Acinetobacter*, účinky eukalyptolu proti rodu *Candida* a karyofylenu proti rodu *Fusaria* (Buhner 1998, Singh et al. 2023).

## 4 Závěr

Vaření bylinných piv má výrazně delší tradici než výroba piv ochucených pouze chmelem. Přestože byly byliny používány převážně pro sensorické obohacení vzniklých nápojů nebo pro své opojné účinky, jejich obsahové látky napomáhaly delší trvanlivosti a odolnosti piv. Z tohoto důvodu byly přidávány například do kvasnic při jejich uchovávání.

Cílem této práce bylo zjistit, zda určité byliny použité při výrobě piva, a především při fázi kvašení mohou ovlivňovat funkci kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Jedná se především o faktory jako doba kvašení, tvorba ethanolu či mikrobiální kontaminace.

Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*) se jevila jako nejlepší surovina, kterou využít společně s chmelem. Ačkoli nemá dostatek hořčících látek na samostatné použití, obsahuje významné vitaminy skupiny B, zinek, mangan a fosfor které kvasinky vyžadují pro svůj metabolismus, správnou funkci a jejich aklimatizaci v mladině. Dodávala také pivu nazelenalou barvu a svěží aroma s chutí. Lze jí využít také při ochraně piva před gram-negativním rodem bakterií *Acinetobacter*. Otázkou využití kopřivy dvoudomé je její dávkování, jelikož inhibovala také kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*.

Lékořice lysá (*Glycyrrhiza glabra*) nacházela v pivě uplatnění především díky glycyrrhizinu obsaženého v kořenech a jeho funkci stabilizovat pěnu, obarvovat nebo přidat specifickou sladkou chuť a vůni. Díky vysokému obsahu cukrů bylo možné jí zařadit jako užitečnou pro kvasinky, avšak s nutným využitím chmele i přes to, že sama obsahuje určité množství tříslovin. Jejím obohacením v pivě, bylo možné také inhibovat gram-negativní rod mladinových bakterií *Escherichia*. Opět bylo však nutné hlídat její dávkování díky laxativním účinkům.

Konopí seté (*Cannabis sativa*) bylo využíváno převážně díky aromatickým a chuťovým látkám, které dodávaly pivu barvitou paletu různých chutí a vůní. Přestože se jednalo o bylinu, která sdílí čeled' s chmelem otáčivým (*Humulus lupulus*) nedosahovala hořčících standardů na samostatné použití bez chmele. Jako zajímavá možnost bylo navrženo využití semen konopí, jakožto stimulantu kvasnic těsně před zakvašením, díky obsahu vitaminů skupiny B, zinku a fosforu. Zároveň byl přídavek konopných částí rostliny pozitivní vůči působení gram-negativních rodů bakterií *Pseudomonas* a *Escherichia*.

Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*) byla užívána převážně jako filtrační materiál při scezování, dodávání sedativních účinků, barvy a chuťově aromatických látek. Jelikož obsah tříslovin a barviv klesal společně s dobou skladování a sušení, byla navržena možnost zvážit použití nesusušených (avšak vhodně ošetřených) rostlin samostatně, bez použití chmele. Její přídavek také inhiboval gram-negativní rod *Pseudomonas*.

Pelyněk černobýl (*Artemisia vulgaris*) byl využíván převážně pro své silně hořčící a aromatické a chuťové účinky. Částečně mohl být využíván i pro své opojné účinky. Díky hořkým látkám, které byly v pelyňku obsaženy, by bylo možné ho použít i samostatně bez využití chmele, avšak bylo by nutné zvážit dávkování, vzhledem k možnému negativnímu ovlivnění funkce kvasinek a sensorických vlastností piva. Na druhou stranu se jevil jako výborný konzervant proti gramnegativním rodům bakterií *Klebsiella* a *Acinetobacter* nebo cizorodým kvasinkám rodu *Candida*.

Lze tedy konstatovat, že přidavek jakékoli byliny do piva částečně ovlivňuje určitým způsobem funkci kvasnic. To, zda se jedná o pozitivní či negativní vliv, závisí především na druhu použité byliny a jejím použitím množství. Nicméně vzhledem k omezenému množství publikací zabývajících se daným tématem by pro získání přesnějších informací bylo třeba provést praktickou studii zaměřenou na použití vybraných rostlin při vaření piva.

## 5 Literatura

ADEEL, Shahid, et al. Sustainable isolation of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.)-based yellow natural colorant for dyeing of bio-mordanted cotton. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, **29**: 31270-31277.

ALI, Esra MM, et al. Antimicrobial activity of *Cannabis sativa* L. *Chinese Medicine*, 2012, **3**:61-64.

ANG, Catharina YW, et al. Instability of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and degradation of hyperforin in aqueous solutions and functional beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, **52**: 6156-6164.

ARSENE, ANDREEA LETIȚIA, et al. Study on antimicrobial and antioxidant activity and phenolic content of ethanolic extract of *Humulus lupulus*. *Farmacia*, 2015, **63**: 851-857.

ASCRIZZI, Roberta, et al. "Hemping" the drinks: Aromatizing alcoholic beverages with a blend of *Cannabis sativa* L. flowers. *Food chemistry*, 2020, **325**: 126909.

BARNEY, J. N.; DITOMMASO, A. The biology of Canadian weeds. 118. *Artemisia vulgaris* L. *Canadian journal of plant science*, 2003, **83**: 205-215.

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

BENDO VÁ, O. Baktérie kontaminující pivovarskou výrobu. *Kvasny Prum.*, 1976, vol. **22**, iss. 1, p. 10-13.

BENDO VÁ, O. Diacetyl při kvašení a dokvašování piva. *Kvasny Prum.*, 1967, vol. **13**, iss. 2, p. 35-38.

BENDO VÁ, O., KURZOVÁ, V. AND PARDONOVÁ, B. Kvasinky jako kontaminanty pivovarské výroby. *Kvasny Prum.*, 1975, vol. **21**, iss. 5, p. 100-102.

BENDO VÁ, O., KURZOVÁ, V. AND PARDONOVÁ, B. Význam růstových faktorů a aminokyselin pro pivovarské kvasinky a jejich typizaci. *Kvasny Prum.*, 1970, vol. **16**, iss. 7-8, p. 161-164.

BIENDL, Martin; PINZL, Christoph. Hops and health. *MBAA TQ*, 2009, **46**:1-7.

BORHADE, Shobha S. Chemical Composition and Characterization of Hemp (*Cannabis sativa*) Seed oil and essential fatty acids by HPLC Method. *Archives of applied science research*, 2013, **5**: 5-8.

BUHNER, Stephen Harrod, 1998. Sacred and herbal healing beers: the secrets of ancient fermentation. Boulder: Brewers Publications. ISBN 978-0937381663.

ČERMÁK, Pavel, et al. Strong antimicrobial activity of xanthohumol and other derivatives from hops (*Humulus lupulus* L.) on gut anaerobic bacteria. *Apmis*, 2017, **125**: 1033-1038.

CUŘÍN, J., ČERNOHORSKÝ, V. AND ŠTICHAUER, J. Klasické dokvašování a organoleptické zrání piva. *Kvasny Prum.*, 1977, vol. **23**, iss. 10, p. 221-225.

FENWICK, G. R.; LUTOMSKI, J.; NIEMAN, C. Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L.-Composition, uses and analysis. *Food chemistry*, 1990, **38**: 119-143.

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

HORÁK, T., ČULÍK, J., JURKOVÁ, M., ČEJKA, P. AND OLŠOVSKÁ, J. Stanovení mastných kyselin v pivu rychlou, rutinní metodou. *Kvasny Prum.*, 2013, vol. **59**, iss. 3, p. 58-62.

HORNSEY, S., Ian, 2003. A History of Beer and Brewing. Cambridge: RSC Paperbacks. ISBN 978 0854046300.

İBANOĞLU, Esra; İBANOĞLU, Şenol. Foaming behaviour of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract. *Food chemistry*, 2000, **70**: 333-336.

JANDEROVÁ, B., PŮTA, F. AND BENDO VÁ, O. Amylolytické systémy kvasinek. *Kvasny Prum.*, 1989, vol. **35**, iss. 5, p. 147-149.

KALABA, Vesna, et al. Antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* essential oil. *Quality of Life (Banja Luka)-APEIRON*, 2015, **6**:45-52.

KARAASLAN, İrem; DALGIÇ, Ali Coşkun. Spray drying of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, **51**:3014-3025.

KNAUEROVÁ, Marta a Jana DRNKOVÁ, 2017. *Atlas bylin*. Ilustroval Attila VÖRÖS. Brno: Edika. ISBN 978-80-266-1096-0.

KOIZUMI, H.; OGAWA, T. Rapid and sensitive method to measure premature yeast flocculation activity in malt. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2005, **63**: 147-150.

KOPECKÁ, J., MATOULKOVÁ, D. AND NĚMEC, M. Kvasinky a jejich využití. *Kvasny Prum.*, 2012, vol. **58**, iss. 11-12, p. 326-335.

KORBELÁŘ, Jaroslav a Zdeněk ENDRIS, 1968. Naše rostliny v lékařství. 2., rozšíř. a přeprac. vyd. Ilustroval Jindřich KREJČA. Praha: SZdN.

KOSAŘ, Karel, 2000. Technologie výroby sladu a piva. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 80-902658-6-3.

KOWALSKA, Grażyna, et al. The hop cones (*Humulus lupulus* L.): Chemical composition, antioxidant properties and molecular docking simulations. *Journal of Herbal Medicine*, 2022, **33**:100566.

KUCHARCZYK, Krzysztof; TUSZYŃSKI, Tadeusz; ŻYŁA, Krzysztof. Effect of yeast harvest moment on a brewing process in beer produced on an industrial scale. *Czech Journal of Food Sciences*, 2018, **36**: 365-371.

- Kunze, W. et al., 2019. *Technology Brewing & Malting*. Berlin: VLB. ISBN 978-3921690772.
- LEE, M. R. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): the journey of the sweet root from Mesopotamia to England. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 2018, **48**:378-382.
- MA, Hongzhi, et al. Effects of nitrogen substitute and *Hypericum perforatum* extract on the ethanol fermentation of traditional Chinese medicine dregs. *Industrial Crops and Products*, 2019, **128**: 385-390.
- MEUSSDOERFFER, Franz G. A comprehensive history of beer brewing. *Handbook of brewing: Processes, technology, markets*, 2009, **1**: 1-42.
- MIKYŠKA, A., VRZAL, T., DUŠEK, M. AND JURKOVÁ, M. Faktory ovlivňující polyfenolové látky a antiradikálovou aktivitu chmele: Dlouhodobá studie českých odrůd chmele. *Kvasny Prum.*, 2018, vol. **64**, iss. 6, p. 323-330.
- MODARRESI-CHAHARDEHI, Amir, et al. Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*. *Revista de biologia tropical*, 2012, **60**: 1567-1576.
- MÜCKE, O. AND ANNEMÜLLER, G. Faktory působící na urychlení kvašení a zrání piva v cylindrokónickém velkoobjemovém tanku. *Kvasny Prum.*, 1976, vol. **22**, iss. 3, p. 51-56.
- NAHRSTEDT, Adolf; BUTTERWECK, Veronika. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 1997, **30**: 129-134.
- NAMDAR, Dvory, et al. Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in *Cannabis sativa* derived from inflorescence position along the stem and extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 2018, **113**: 376-382.
- NIRMALA, P., et al. Anti-inflammatory and anti-bacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* L. *Journal of Agricultural Technology*, 2011, **7**: 815-823.
- NOPPAWAN, Pakin, et al. Effect of harvest time on the compositional changes in essential oils, cannabinoids, and waxes of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Royal Society Open Science*, 2022, **9**: 211699.
- NOVÁK VEČERNÍČEK, Jaroslav, 2009. *Dějiny piva: od zrození až po konec středověku*. Brno: Computer Press. ISBN 978-80-251-2019-4.
- NOVOTNÝ, Petr, 2017. *Pivařka: tajemství domácího pivovarství*. V Brně: Jota. Populárně naučná. ISBN 978-80-7565-108-2.
- OLŠOVSKÁ, Jana, Pavel ČEJKA, Karel ŠTĚRBA, Martin SLABÝ a František FRANTÍK, 2017. *Senzorická analýza piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 978-80-86576-74-9.
- Onofre, S. B., Bertoldo, I. C., Abatti, D., & Refosco, D. Chemical Composition of the Biomass of *Saccharomyces cerevisiae* - (Meyen ex E. C. Hansen, 1883) Yeast obtained from the Beer Manufacturing Process. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 2018, **5**: 351–355.

PATOČKA, Jiří, et al. Pharmacology and toxicology of absinthe. *Journal of Applied Biomedicine*, 2003, **1**: 199-205.

PIRES, Eduardo J., et al. Continuous beer fermentation–diacetyl as a villain. *Journal of the Institute of Brewing*, 2015, **121**: 55-61.

REES, Elizabeth MK; STEWART, Graham G. Strain specific response of brewer's yeast strains to zinc concentrations in conventional and high gravity worts. *Journal of the Institute of Brewing*, 1998, **104**: 221-228.

REES, Elizabeth MR; STEWART, Graham G. The effects of increased magnesium and calcium concentrations on yeast fermentation performance in high gravity worts. *Journal of the Institute of Brewing*, 1997, **103**: 287-291.

SCHILLER, Martin; BUSCH, Jim. Reinheitsgebot and the Fifth Ingredient. *Brewing Techniques*, 1993, **1**: 1-9.

Schwenke J. Characteristics and integration of the yeast vacuole and cellular functions. *Physiologie Vegetale*, 1977, **15**: 491-517.

SINGH, Nameirakpam Bunindro, et al. Phytochemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from the Leaves of *Artemisia vulgaris* L. *Molecules*, 2023, **28**: 2279.

Stephen R. Holle & M. Schaumberger. 2011. The Reinheitsgebot - One Country's Interpretation of Quality Beer. MoreFlavor Inc. Available from [www.morebeer.com/articles/Reinheitsgebot\\_Brewing\\_Germany\\_Purity\\_Law\\_Bavaria\\_1516\\_Malt\\_Barley\\_Water\\_Hops\\_Yeast](http://www.morebeer.com/articles/Reinheitsgebot_Brewing_Germany_Purity_Law_Bavaria_1516_Malt_Barley_Water_Hops_Yeast) (accessed January 2011)

STEWART, Graham G. The chemistry of beer instability. *Journal of chemical education*, 2004, **81**: 963.

ŠAVEL, J. Měření aktivity pivovarských kvasinek. *Kvasny Prum.*, 1999, vol. **45**, iss. 10, p. 258-261.

ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila, 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia. ISBN 80-200-1024-6.

ŠROGL, J., VERNEROVÁ, H., MATASOVÁ, L. AND SIGLER, K. Faktory ovlivňující aktivitu invertasy během kvašení, dokvašování a v hotovém pivu. *Kvasny Prum.*, 2007, vol. **53**, iss. 5, p. 134-138.

VALÍČEK, Pavel, 2000. *Rostlinné omamné drogy*. Benešov: Start. ISBN 80-86231-09-7.

VAN DER AA KÜHLE, A.; JESPERSEN, L. Detection and identification of wild yeasts in lager breweries. *International journal of food microbiology*, 1998, **43**: 205-213.

VERBELEN, P. J., et al. Impact of pitching rate on yeast fermentation performance and beer flavour. *Applied microbiology and biotechnology*, 2009, **82**: 155-167.

VERBERG, Susan. From herbal to hopped beer: the displacement of regional herbal beer traditions by commercial export brewing in medieval Europe. *Brewery History*, 2020, **183**: 9-23.

VERBERG, Susan. The rise and fall of Gruit. *Brewery History*, 2018, **174**: 46-79.