

# Slad jako zdroj biogenních aminů

Bc. Petra Machalová

---

Diplomová práce  
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin  
akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petra Machalová**  
Osobní číslo: **T16183**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Slad jako zdroj biogenních aminu**

Zásady pro vypracování:

1. **Obecná charakteristika sladu.**
2. **Technologie výroby piva.**
3. **Výskyt biogenních aminu v pivě.**
4. **Detekce biogenních aminu v sladech a sladových extraktu s využitím metody RP-HPLC s UV detekcí.**
5. **Vyhodnocení výsledku, diskuze a formulace závěru.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] **BASAŘOVÁ, G. Sladařství: Teorie a praxe výroby sladu. 2015. ISBN: 8087109473.**

[2] **BASAŘOVÁ, G. Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva. 2010. SBN: 8070807342.**

[3] **TANG, T., SHI, K., QIAN, J., LI, P., LI a Y., CAO. Determination of biogenic amines in beer with pre-column derivatization by high performance liquid chromatography.**

**Journal of Chromatography B. Elsevier B.V, 2009, 877(5), 507–51.**

**DOI:10.1016/j.jchromb.2008.12.064. ISSN 15700232.**

[4] **FERNANDES, J, I JUDAS, M OLIVEIRA, I FERREIRA a M FERREIRA. GC-MS method for quantitation of histamine and other biogenic amines in beer. Chromatographia. Vieweg Verlag, 2001, 53(S1), S327–S331. DOI: 10.1007/BF02490351. ISSN 00095893.**

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Richardos Nikolaos Salek, Ph.D.**

Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**2. února 2019**

Termín odevzdání diplomové práce:

**3. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*

doc. Ing. Jiří Miček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně .....

.....

---

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá sledováním obsahu biogenních aminů (dále jen BA) a polyaminů (dále jen PA) ve sladech a sladových extraktech. Stanovení obsahu BA byly podrobeny pevné vzorky sladů (34 vzorků), ale i sladové extrakty (5 vzorků). Hlavním cílem praktické části této práce bylo změřit a stanovit vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (dále jen HPLC) zastoupení jednotlivých BA a jejich celkový obsah ve sladech a ve sladových extraktech.

Bylo zjištěno, že ve všech vzorcích bez rozdílu, zda se jednalo o vzorky světlých sladů, tmavých sladů nebo sladových výtažků, dosahoval spermin nejvyšších hodnot ze všech sledovaných BA (od 3 mg/kg do 162 mg/kg). Celkový obsah BA ve světlých sladech se pohyboval v rozmezí od 94 do 309 mg/kg, u tmavých sladů od 24 do 134 mg/kg a u sladových výtažků od 16 do 34 mg/l. Stanovené koncentrace BA ve vzorcích sladů a sladových výtažků dle literatury nepředstavovaly žádné riziko.

Zároveň byl ve zkoumaných vzorcích sledován obsah volných aminokyselin (dále jen FAA) pro potvrzení možného výskytu daných BA ve sladech a sladových výtažcích. Bylo zjištěno, že ve většině sladů a sladových výtažků dosahoval arginin (od 41 mg/kg do 443 mg/kg) a ornitin (od 16 mg/kg do 401 mg/kg) nejvyšších hodnot ze všech sledovaných FAA. Celkové množství vybraných FAA ve vzorcích světlých sladů bylo detekováno v rozmezí 317 – 1387 mg/kg a u tmavých sladů se pohybovalo v rozmezí 163 – 476 mg/kg. Ve sladových výtažcích bylo celkové množství vybraných FAA ve vzorcích v rozmezí 540 – 1360 mg/l. Z výsledků stanovení uvedených u jednotlivých vzorků sladů a sladových výtažků byla prokázána závislost mezi výskytem jednotlivých FAA a výskytem jednotlivých BA.

Klíčová slova: biogenní aminy, polyaminy, volné aminokyseliny, slad, sladové extrakty, pivo

## **ABSTRACT**

The aim of the current Master thesis was the monitoring of biogenic amine (BA) content and polyamines (PA) content in selected malt and malt extracts. Moreover, solid samples of malts (34 samples in total) and also malt extracts (5 samples in total) were subjected to the determination of BA content. The main scope of the practical part of this work was to determine by high-performance liquid chromatography (HPLC) the representation of individual BA and their total content in malts and malt extracts.

It was found that in all examined samples, irrespective of whether the samples were light malts, dark malts or malt extracts, spermine presented the highest values of all monitored BA (from 3 to 162 mg/kg). In addition, the total BA content in light malts ranged from 94 to 309 mg/kg and from 24 to 134 mg/kg in dark malts and from 16 to 34 mg/l in malt extracts. The determined BA concentrations in malt and malt extract samples did not present any health risk.

Furthermore, the content of free amino acids (FAA) was monitored in the tested samples in order to confirm the possible presence of the determined BAs in malts and malt extracts. In general, it was found that in most malts and malt extracts, arginine (from 41 to 443 mg/kg) and ornithine (from 16 to 401 mg/kg) reached the highest values of all observed FAA. The total amount of selected FAA in the light malt samples was detected in the range of 317 - 1387 mg/kg and in the dark malts ranged within the interval of 163 - 476 mg/kg. Additionally, in the case of malt extracts, the total amount of FAA in the tested samples ranged from 540 up to 1360 mg/l. Finally, from the obtained results dependence between the occurrence of individual FAA and the occurrence of individual BA was confirmed.

**Keywords:** Biogenic amines, Polyamines, Free amino acids, Malt, Malt extracts, Beer

Ráda bych poděkovala Ing. Richardosovi Nikolaosovi Salekovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při psaní této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala laborantce Ing. et Ing. Ludmile Zálešákové za spolupráci a ochotu v laboratoři při měření praktické části. Na závěr bych chtěla poděkovat mé rodině a příteli za podporu během studia.

Prohlášení:

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.



# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>3</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>4</b>
<b>1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA SLADU</b> .....	<b>5</b>
1.1 VÝROBA SLADU.....	5
1.1.1 Jarní sladovnický ječmen .....	5
1.1.2 Nákup, příjem, čištění, třídění a skladování ječmene .....	6
1.1.3 Dormance, posklizňové dozrávání ječmene a porůstání .....	8
1.1.4 Máčení ječmene .....	9
1.1.5 Klíčení ječmene.....	10
1.1.6 Hvozďení zeleného sladu a pražení sladu.....	11
1.1.7 Závěrečné úpravy a skladování sladu .....	12
1.2 DRUHY SLADŮ.....	13
1.2.1 Slad český.....	13
1.2.2 Slad bavorský.....	13
1.2.3 Slad vídeňský .....	14
1.2.4 Pšeničný slad .....	14
1.2.5 Speciální slady .....	14
1.3 NÁHRAŽKY SLADU .....	15
1.3.1 Škrobnaté náhražky sladu .....	16
1.3.2 Cukernaté náhražky sladu .....	17
1.3.3 Sladové výtahy .....	17
<b>2 TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA</b> .....	<b>18</b>
2.1 PIVOVARSKÉ SUROVINY .....	18
2.1.1 Chmel .....	18
2.1.2 Voda .....	19
2.1.3 Pivovarské kvasinky.....	19
2.2 VÝROBA PIVA.....	20
2.2.1 Výroba mladiny.....	20
2.2.2 Výroba piva .....	23
<b>3 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ V PIVĚ</b> .....	<b>26</b>
3.1 VZNIK BIOGENNÍCH AMINŮ A POLYAMINŮ.....	26
3.2 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ A POLYAMINŮ V POTRAVINÁCH.....	29
3.3 VLIV BIOGENNÍCH AMINŮ A POLYAMINŮ NA LIDSKÉ ZDRAVÍ.....	29
3.4 ZDROJE BIOGENNÍCH AMINŮ V PIVU .....	30
3.4.1 Suroviny na výrobu piva jako zdroje biogenních aminů .....	31
3.4.2 Vliv technologie výroby na obsah biogenních aminů a polyaminů v pivu.....	32
3.4.3 Výskyt biogenních aminů v konečném produktu.....	33
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>34</b>
<b>4 CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>35</b>
<b>5 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE</b> .....	<b>36</b>
5.1 VZORKY SLADŮ A SLADOVÝCH EXTRAKTŮ .....	36
5.1.1 Charakteristika jednotlivých vzorků sladů .....	36

5.1.2	Charakteristika jednotlivých vzorků extraktů sladu.....	40
5.2	METODIKA PRÁCE .....	40
5.2.1	Stanovení sušiny.....	40
5.2.2	Příprava vzorků pro stanovení biogenních aminů, polyaminů a volných aminokyselin (extrakce) .....	41
5.2.3	Stanovení volných aminokyselin .....	42
5.2.4	Stanovení biogenních aminů a polyaminů .....	42
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>44</b>
6.1	STANOVENÍ SUŠINY .....	44
6.1.1	Stanovení sušiny v pevných vzorcích sladu .....	44
6.1.2	Stanovení sušiny ve sladových výtažcích .....	46
6.2	STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN .....	47
6.2.1	Stanovení FAA ve světlých sladech.....	47
6.2.2	Stanovení FAA v tmavých sladech .....	49
6.2.3	Stanovení FAA ve sladových výtažcích .....	52
6.2.4	Celkové hodnocení sladů a sladových výtažků z hlediska obsahu vybraných volných aminokyselin .....	53
6.3	STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ A POLYAMINŮ .....	55
6.3.1	Stanovení biogenních aminů ve světlých sladech .....	55
6.3.2	Stanovení biogenních aminů v tmavých sladech .....	64
6.3.3	Stanovení biogenních aminů ve sladových výtažcích.....	71
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>73</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>74</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>84</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>87</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>88</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>89</b>

## ÚVOD

V rámci výroby, zpracování a skladování potravin je kladen důraz především na kvalitu, bezpečnost a zdravotní nezávadnost těchto potravin s cílem zaručit ochranu zdraví spotřebitelů. V řadě potravin mohou vznikat v důsledku metabolické aktivity mikroorganismů nežádoucí látky jako jsou například biogenní aminy. Biogenní aminy (dále BA) jsou sice nezbytné pro řadu fyziologických pochodů probíhajících v lidském organismu, ale jejich nadměrný příjem potravou je pro člověka toxický [1, 2, 3].

BA a polyaminy (dále PA) jsou nízkomolekulární dusíkaté látky, které jsou přirozenou součástí každé živé buňky. Podílejí se zde na metabolických a fyziologických funkcích. BA vznikají dekarboxylací volných aminokyselin činností nativních nebo mikrobiálních enzymů, kterými disponuje kulturní či kontaminující mikroflóra. Tyto látky se tvoří prakticky ve všech potravinách obsahující bílkoviny a volné aminokyseliny [4, 5, 6, 7].

Významným zdrojem BA jsou fermentované potraviny jednak rostlinného původu (pivo, víno, fermentovaná zelenina, aj.), ale také potraviny živočišného původu (fermentované masné výrobky, sýry, fermentované mléčné nápoje, aj.). A právě v těchto fermentovaných potravinách se mohou BA tvořit v toxikologicky závažných koncentracích [1, 7, 8, 9].

Pivo patří mezi fermentované alkoholické nápoje. Je vyráběno z varní vody, sladu, chmele a pivovarských kvasnic. Při výrobě piva lze použít i netradiční suroviny nebo také surogáty. Zmíněné suroviny mohou obsahovat BA v přirozeném stavu, jakou svoji složku nebo jako produkt kontaminující mikroflóry. Ze všech surovin použitých na výrobu piva je za nejvýznamnější zdroj BA a PA v pivu považován slad [10, 11, 12, 13, 14].

Tato diplomová práce byla zaměřena na aktuální problematiku, tzn. na sledování výskytu a určení koncentrace BA a PA v různých komerčních výrobcích sladu a ve sladových extraktech.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA SLADU

Sladařství neboli příprava sladu je historicky spjata s vývojem výroby piva, která patří k nejstarším činnostem člověka již nejméně 10 000 až 7000 let před naším letopočtem [15].

Slad patří mezi čtyři základní suroviny, ze kterých se vyrábí pivo. Je to důležitá surovina, která je odpovědná za většinu chuti, barvy a charakteru piva. Při vaření je pak substrátem pro kvasinky. Kromě sladu se na výrobu piva používá chmel, kvasnice a voda [16, 17, 18].

### 1.1 Výroba sladu

Proces výroby sladu zahrnuje jednak tradiční postupy, které se vytvořily a osvědčily v dlouhodobé historii sladařství, ale zároveň zapracovává moderní poznatky výzkumu a vědeckého vývoje. Tyto nové poznatky umožňují u již zachovaného základního principu výroby sladu zkrácení výrobních procesů, snížení nároků například na spotřebu energie, vody a především výrobu specifických druhů sladů pro jednotlivé typy piva [17, 19].

Pro výrobu sladu a také sladových extraktů se u nás pěstují vybrané odrůdy jarního ječmene, které patří k velmi kvalitním [16].

Cílem sladování je vyrobit řízeným procesem klíčení a hvozdnění z ječmene (případně jiných obilovin) slad. Takto vyrobený slad by měl obsahovat potřebné enzymy a aromatické i barevné látky, které jsou nezbytné pro výrobu určitého druhu piva [20, 21].

Principem sladování je vytvořit optimální podmínky pro klíčení ječmene. Při klíčení dochází v zrně k aktivaci a tvorbě technologicky důležitých enzymů. Takto vzniká zelený slad, který se následným hvozdněním přemění v hotový slad. Při hvozdnění totiž dochází vlivem zvýšené teploty k chemické reakci za vzniku aromatických a barevných látek [21, 22].

#### 1.1.1 Jarní sladovnický ječmen

Pro výrobu sladu se jako surovina používá ječmen. Konkrétně se jedná o ječmen jarní (*Hordeum vulgare* L.), jak bylo zmíněno výše [12, 15].

Parametry sladovnického ječmene jsou následující: výnos přibližně 7 tun/ha, délka vegetační doby přibližně 100 dní, počet zrn v klasu 18–20, obsah škrobu 60–65 % (w/w), obsah bílkovin 10–11 % (w/w). Na našem území se pro výrobu sladu a sladových extraktů pěstují vybrané odrůdy, např. Blaník, Malz, Bojos a další [15, 17, 20].

Volba odrůdy sladovnického ječmene je dána především požadavky zpracovatele, pro kterého je budoucí produkce pěstována. Ve střední Evropě patří mezi nejpěstovanější Malz a Bojos [15].

### 1.1.2 Nákup, příjem, čištění, třídění a skladování ječmene

Nákup ječmene se provádí přímo od pěstitele, nebo od obchodní organizace, a to na základě smlouvy. V kupní smlouvě je dán požadavek zákazníka např. na odrůdu či odrůdovou skladbu ječmene a také na jeho základní analytické znaky. Jedná se především o obsah bílkovin, vlhkost, klíčivost, třídění, popřípadě další znaky. K dodávce ječmene bývá dodán i certifikát, kde kromě obchodních údajů jsou uvedeny i dohodnuté již zmíněné analytické hodnoty ječmene [15, 23].

Ječmen je dodáván do sladoven různými dopravními cestami. Jednak je dodáván v pytlích, které se používají pro menší zásilky nebo v kontejnerech, a to zejména při lodní dopravě [12]. Příjem zrna se pak provádí na přijímací rampě z valníků, nákladních automobilů nebo vagonů. Z každé dodávky ječmene je nutné odebrat vzorky k analýzám. Z příjmových košů je následně ječmen dopraven k předčištění, čištění a uložení do sil. Jako dopravní prostředky k dopravě zrna se používají elevátory, šnekové dopravníky, dopravní pásy nebo se používá pneumatická doprava [12, 15, 23].

Z ječmene musí být před uskladněním v silech odstraněny nečistoty a příměsi, jako například kaménky, písek, cizí zrna, pluchy, úlomky zrn atd. [24, 25] Čištění ječmene probíhá na čističce. Proces čištění probíhá ve dvou stupních. V prvním stupni dojde k odstranění hrubých nečistot, cizích příměsí a na závěr těch jemných. Tato operace probíhá na vibrujících sítích zvaných aspirátory. Druhý stupeň potom probíhá na triéru, kde dochází k odstranění kulatých zrn jiných plodin nebo úlomků ječných zrn [12, 17, 22]. Dále je nutné ječmen roztřídit dle velikosti zrn. Z tohoto důvodu na čističku navazuje třídička [25].

Třídění ječmene má význam z technologického hlediska. Třídění je totiž důležité pro docílení jednotného máčení, klíčení a získání dokonale homogenního sladu.

Dělení sladu podle velikosti:

I. třída – velikost zrna větší než 2,5 mm (prima)

II. třída – velikost zrna v rozmezí 2,2 – 2,5 mm (sekunda)

propad – velikost zrna menší než 2,2 mm

Pro třídění ječmene se používají vysévadla s rovinnými síty, třídiče v kombinaci s aspirátorem a válcové třídiče v kombinaci s triérem [15, 25].

Čištění a třídění ječmene je spojeno s prašností. Z tohoto důvodu je potřeba dokonale odsávat prach a udržovat čistotu [12, 25]. Odprašování je důležité jednak pro kvalitu čištěného materiálu, ale i pro čistotu vnějšího vzduchu, pro snížení rizika poškozování strojního zařízení a pro zabránění exploze prachu [15].

Procesům čištění, třídění a odprašování materiálu je třeba ve sladařství věnovat pozornost. Tyto operace jsou totiž důležité z hlediska zajištění vhodných podmínek pro skladování a pro dobrou a vyrovnanou kvalitu sladu [15, 17, 21].

Po vyčištění a vytřídění je ječmen skladován buď na půdách, nebo v silech. Ječmen ve starších a menších sladovnách je uskladněn v hromadách na dobře větraných půdách. Moderní skladování se ovšem odehrává v silech vybavených automatickou regulací obsahu vody a teploty [17, 18]. Optimální skladovací podmínky jsou důležité pro zachování kvalitativních vlastností sladovnického ječmene. Hlavními faktory, které ovlivňují skladování, jsou vlhkost a teplota partií skladovaného zrna. Zrna při skladování dýchají, což vede k tvorbě oxidu uhličitého, vody a tepla. V případě, že obsah oxidu uhličitého není regulován, přejde dýchání v kvašení a produkty kvašení jsou pro zárodek ječmene toxické. Produkty tohoto metabolismu mohou zhoršit klíčivost. Z hlediska negativního vlivu faktorů, které způsobují ztráty prodýcháním, případně celkové zhoršení kvality skladovaného ječmene, má větší význam nepříznivý dopad v důsledku vyššího obsahu vody v ječmeni než vyšší teplota skladování [15, 21, 23]. Kunze uvádí možnosti skladovatelnosti ječmene bez poškození při různých teplotách a obsahu vlhkosti (tab. 1) [23].

*Tabulka 1: Skladovatelnost ječmene v závislosti na vlhkosti a teplotě skladování*

<b>Obsah vlhkosti</b>	<b>Teplota skladování</b>	<b>Skladovatelnost</b>
12,0–15,0 %	9–12 °C	neomezená
15,0–16,5 %	8–10 °C	1–1,5 roku
16,6–18,0 %	5–7 °C	4–6 měsíce
18,0–20,0 %	5 °C	3–4 měsíce
20,0–22,0 %	5 °C	2–3 měsíce

22,0–25,0 %	5 °C	1–2 týdny
25,0–30 %	4–5 °C	2–3 dny
Nad 30 %	—	—

Při skladování musí sladovnický ječmen fyziologicky dozrát. Během dozrávání je nutná výměna vzduchu a také aerobní podmínky. Je to z toho důvodu, že dochází k respiraci zrna a k odbourání přítomných inhibitorů klíčení. Dozrávání sladovnických ječmenů trvá přibližně 4 až 5 týdnů [12, 26].

### 1.1.3 Dormance, posklizňové dozrávání ječmene a porůstání

Před klíčením většina semen prochází obdobím klidu. Tento fyziologický jev je označován jako dormance, z latinského *dormire* neboli spánek. Jako dormance se označuje přechodné zastavení nebo také omezení fyziologických procesů a viditelných projevů růstu [27, 28, 29]. Tento proces zabraňuje semenům klíčit v nevhodnou dobu, jako například před příchodem mrazů. Dormance může být primární nebo sekundární [15, 30]. Primární dormance je kódována geneticky a brání semenům vyklíčit před nástupem nepříznivých podmínek. Některé odrůdy ječmene jsou schopné klíčit krátce po sklizni, u jiných odrůd trvá primární dormance několik týdnů i měsíců [31]. Sekundární (vyvolaná) dormance je dormance, kterou ovlivňují podmínky v době vegetace před sklizní i při skladování po sklizni. Je také spojena se sníženou citlivostí obilek ječmene k vodě. Tato dormance je závislá například na teplotě skladování po sklizni a technologii klíčení [32, 33].

Délku dormance a také délku posklizňového dozrávání ovlivňují faktory, jako jsou průběh počasí, tzn. množství srážek, teplota a sluneční záření v době tvorby obilek [32, 33]. Pozitivní vliv má vhodná teplota a vlhkost vzduchu skladovacích prostor, které přispívají k degradaci inhibitorů klíčení [15, 30, 34].

V době tvorby obilky se začíná projevovat primární dormance a končí několik týdnů až měsíců po sklizni. Po sklizni následuje různě dlouhé období posklizňového dozrávání. V tomto období dochází k fyziologickému dozrávání obilek. Po ukončení posklizňového dozrávání jsou obilky schopny rychle a jednotně klíčit [15, 30].

Výrobce sladů se u přijatého zrna ječmene zajímá o dobu potřebnou pro dosažení plné fyziologické zralosti s docílením optimální energie klíčení a klíčivosti. Při skladování



zrna se rozlišují podmínky pro čerstvé zrno, které špatně klíčí a musí prodělat posklizňové dozrávání a pro vyzrálé zrno, tedy zrno odležené, které již rovnoměrně klíčí a může se okamžitě zpracovávat na slad [15, 30, 34].

#### 1.1.4 Máčení ječmene

Výroba sladu je proces, který je ovlivněn průběhem řady vegetačních, strukturálních, fyzikálních, chemických a biochemických, především enzymových změn, které probíhají v zrně. Proces výroby sladu ve sladovnách lze z hlediska jednotlivých fází rozdělit na tři úseky: máčení, klíčení a hvozďení [15, 35, 36].

Máčení ječmene je počáteční a velmi významný úsek výroby sladu. Tento proces zajišťuje zrně příjem vegetační vody, což je důležité při klíčení, dále pro průběh metabolických procesů zrna vedoucí k optimálnímu rozluštění. Dochází zde ke strukturálním změnám obilky i k aktivaci a syntéze enzymů, které jsou důležité v procesu přípravy mladiny. Jedná se o amylolytické enzymy, které štěpí škrob na zkvasitelné cukry. Obsah dodané máčecí vody musí odpovídat jednak potřebám odrůdy zpracovávaného ječmene, jejím ročníkovým vlastnostem, ale i technologické variantě a zařízením použitých při klíčení a druhu vyráběného sladu se zajištěním potřebné optimální kvality [30, 36, 37, 38].

Cílem máčení je řízeným způsobem zvýšit obsah vody v zrně pro zahájení enzymatických reakcí a pro klíčení zrna. Obsah vody v zrně se zvyšuje podle typu vyráběného sladu na 42–48 % (w/w). U světlých sladů by obsah vody měl být do 35–44 % (w/w) a u tmavých sladů zase do 45–48 % (w/w). Dosažený obsah vody se nazývá stupeň domočení. Technologicky významným krokem je vyprání ječmene, kdy se ze zrna vyluhují barevné hořké látky. Tyto látky jsou nežádoucí z toho důvodu, že zhoršují sensorické vlastnosti piva a podporují vznik zákalu v pivu [12, 15, 34, 36].

Samotné máčení se provádí v zařízeních zvané náduvníky, které mají většinou válcový tvar s kónickým dnem se sklonem 45°, aby se náduvník mohl samočinně vyprázdnit. Náduvník se naplní zhruba do jedné poloviny vodou a ječmen se ze zásobního koše vypustí do náduvníku. U všech způsobů máčení je první máčecí voda značně znečištěna, a proto musí být brzy vyměněna. Rozlišuje se několik typů máčení a to: vzdušné, záplavové, opakované, sprchové a klasické máčení. Nejvíce používaným způsobem máčení je vzdušné máčení. Tento způsob máčení se skládá ze tří fází:

- 1. namočení – zrno je pod vodou 2 až 6 hodin. Obsah vody v zrně se zvýší na 30 % (w/w). Poté následuje vzdušná přestávka 14 až 20 hodin.
- 2. namočení – zrno je pod vodou 2 až 6 hodin. Obsah vody se v této fázi zvýší na 38 až 40 % (w/w). Následuje opět vzdušná přestávka.
- 3. namočení – zrno je pod vodou 4 až 6 hodin a obsah vody vzroste na 42 až 44 % (w/w) [12, 15, 30, 34].

Na závěr se vypustí voda z náduvníku a ječmen se nechá 2 až 4 hodiny okapat. Za sucha nebo pomocí vody se ječmen dopraví do pneumatických klíčidel [12, 15].

### 1.1.5 Klíčení ječmene

Dalším důležitým krokem při výrobě sladu je klíčení ječmene. Při tomto procesu dochází k řadě změn, se kterými souvisejí růstové projevy, strukturální změny závislé na degradaci vysokomolekulárních látek vedoucí k modifikaci čili rozluštění zrna [15, 30, 35].

Cílem klíčení je nejen aktivace a tvorba enzymů, ale i dosažení požadovaného stupně rozluštění zrna. Cytolytické a proteolytické rozluštění je totiž významným kritériem pro kvalitu vyráběných druhů sladů [12, 30].

Klíčení je tedy fyziologický proces, při kterém dochází v zárodečné části zrna k vývinu zárodků kořínků a listů. Při klíčení se současně využívají i zásobní látky z endospermu. Působením enzymů se tyto zásobní látky štěpí, čímž se zvyšuje rozpustnost a luštitelnost endospermu. Aktivace a tvorba enzymů je s klíčením úzce spjata. Největší technologický význam mají fosfatázy, cytázy, proteázy a hlavně amylázy [34, 35, 39].

Amylázy jsou nejdůležitějšími enzymy sladu. Díky těmto enzymům dochází k odbourávání škrobu při rmutování.  $\alpha$ -amyláza v ječmeni není přítomna, ale vytváří se od druhého do čtvrtého dne klíčení.  $\beta$ -amyláza je naopak přítomna v zrně, ale pouze v malém množství a její obsah se zvyšuje od druhého do třetího dne klíčení. Teplota obecně ovlivňuje průběh enzymových reakcí. Optimální podmínky pro klíčení ječmene jsou při 14 až 18 °C v hromadě. Důležitý je i přístup kyslíku, aby bylo zajištěno intenzivní dýchání zrna [12, 15, 35].

Při klíčení se rozlišují různá stádia klíčení:

- Mokrý hromada – vymáčená zrna ječmene putují na humna nebo klíčidla
- Suchá hromada – do 24 hodin po vymočení. Objevuje se zde hlavní zárodečný kořínek. Zde je nutný přívod vzduchu.

- Pukavka – objevují se další kořínky. Hromada v tomto stádiu intenzivně dýchá.
- Mladík – jedná se o nejdůležitější stádium. Zrno intenzivně dýchá a probíhají enzymatické přeměny a dochází k vývinu střelky.
- Vyrovnaná hromada – v tomto stádiu dochází ke zpomalení dýchání. Zrno se dolušťuje a hromada zavádá.
- Stará hromada – dochází zde k mírnému dýchání a tvoří se zde tzv. vrabci, tedy shluky zrn s vzájemně prorostlými kořínky [24].

Konečným produktem klíčení je zelený slad. Takto vyrobený zelený slad má mít zdravou vůni, mírně zavadlé kořínky, správně vyvinutou střelku a má být rozluštěn [15, 34].

Sladovací zařízení lze rozdělit na zařízení klasická a moderní. Klasické sladování na humnech je příliš pracné, a proto je nahrazováno velmi často moderním sladováním a to pneumatickým. V moderních sladovnách se nejvíce uplatňují skříňová klíčidla a polo-kontinuální posuvné hromady [12, 15, 34].

### 1.1.6 Hvozdění zeleného sladu a pražení sladu

Závěrečnou fází výroby sladu je hvozdění. Cílem hvozdění je převést zelený slad, který má vysoký obsah vody, do skladovatelného a stabilního stavu. Proto cílem hvozdění je snížit obsah vody na hodnoty 3–4 % (w/w) u světlých sladů a 1,5–2 % (w/w) u tmavých sladů. Dalším cílem je zastavit životní a lušticí pochody, které probíhají v zrně a vytvořit aromatické a barevné látky, které jsou charakteristické pro určitý druh sladu [12, 15, 18, 30, 39].

Při hvozdění jsou optimální vlastnosti sladu závislé na vzájemných relacích teploty, množství a vlhkosti vzduchu v čase [15]. Naklíčený (zelený) slad je předsušen při teplotě sušícího vzduchu do 60 °C a poté je dosušen při teplotách 80–105 °C. Při hvozdění sladu se dále provádí dotahování. U českého (plzeňského, světlého) sladu je dotahovací teplota 80–85 °C, u tmavého (bavorského) sladu se zase používají teploty 100–105 °C a u karamelového sladu jsou dotahovací teploty v rozmezí 120–180 °C [16, 20, 30].

Při hvozdění se rozlišují z hlediska chemických a biochemických změn 3 fáze:

- Růstová fáze – zrno je v této fázi schopné dále klíčit. Dochází k růstu kořínků a střelky. Obsah vody je nad 20 % (w/w) a teplota do 40 °C.
- Enzymová fáze – dochází zde k zastavení vegetačních procesů, ale enzymové reakce pokračují. Obsah vody je pod 20 % (w/w) a teplota je v rozmezí 40 až 60 °C.

- Chemická fáze – dochází zde k zastavení enzymových reakcí, ale probíhají chemické změny. Tyto změny vedou k tvorbě chuťových a barevných látek. Obsah vody je pod 10 % (w/w) a teplota nad 60 °C [15, 17].

Pro sušení sladů se používají různé konstrukce hvozdů. Pro zajištění požadovaných hodnot barvy a stupně karamelizace sladů se používají speciální pražicí zařízení. Hvozdění, ale není pouze sušení sladu. Od pouhého sušení se liší dlouhou počáteční fází, kdy v této fázi probíhají fyziologické a biochemické procesy v zeleném sladu. V druhé fázi pak dochází k tvorbě senzorycky aktivních látek, oxido-redukčních látek a také ke karamelizaci cukernatých sloučenin [15, 30, 34].

Pražení sladu při výrobě karamelových a barvicích sladů je realizováno v tzv. pražicích bubnech, kde se zelený slad zahřívá za velmi vysokých teplot bez přístupu vzduchu. Provádí se to tak dlouho, až slad zkarameluje nebo zuhelnatí do určitého stupně a poté se opatrně ochladí [17, 18].

K nejdůležitějším reakcím, které při hvozdění probíhají, patří tvorba barevných a aromatických látek. Tyto látky mohou být jak dusíkaté, tak i bezdusíkaté. Látky, které obsahují dusík, jsou tzv. melanoidiny. Melanoidiny jsou sloučeniny, které vznikají při dotahování sladu při Maillardových reakcích. Melanoidiny mají sladovou aromatickou chuť a vůni. Barevné a aromatické látky bezdusíkaté označuje jako melaniny. Tyto látky vznikají karamelizací cukerných roztoků při termickém štěpení cukrů. Dále tyto látky vznikají enzymovou oxidací polyfenolů a reduktonů [12, 17, 40].

Na hvozdění navazují závěrečné úpravy sladu a dále pak skladování sladu [12].

### 1.1.7 Závěrečné úpravy a skladování sladu

Po ukončení hvozdění a převedení sladu do skladovacích prostor se provádějí závěrečné úpravy sladu. Mezi tyto úpravy patří ochlazení sladu, odklíčení, vyčištění, odprašnění a zvážení [15].

Slad po ukončení hvozdění má vysokou teplotu až 80 °C, a proto je nutné jej co nejrychleji ochladit, aby nepokračovala inaktivace enzymů a zvyšování barvy sladu. V odkličovací zařízení se teplota sníží na 35 °C a v závěru úprav na 20 až 25 °C [25].

Odkličování je proces, při němž se slad zbaví kořínků, poškozených zrn a prachu. Současně se ochladí a poté se uskladní do sladových sil. Odklíčení je nutné, protože klíčky jsou hyroskopické, rychle vlhnou a slad by byl obtížně skladovatelný. Další důvodem je, že by

přítomnost klíčků zhoršovala analytické a senzorické vlastnosti sladu a následně i piva [23, 37].

Slad se ještě před expedicí ke zpracování čistí, případně leští, což označujeme jako polírování. Cílem je zbavit slad zbytků sladového květu (název pro suché kořínky a stříčku), prachu, rozdrčených zrn, případně oddělit slabší sladová zrna a dodat sladu pěkný vzhled a lesk. Touto úpravou se zvyšuje také výtěžek a slad získá čistší chuť [25].

Čerstvě odhvozděný slad se nezpracovává, ale nechává se odležet 4 až 6 týdnů. Je to z toho důvodu, že čerstvý slad má nízkou vlhkost, což může působit problémy zejména při scezování sladiny, ale i některé problémy chuti, pěnivosti a stability piva [12].

## 1.2 Druhy sladů

Celosvětově se slady vyrábějí ze sladovnického ječmene, a to především světlé slady typu plzeňského a tmavé slady typu mnichovského (bavorského). Přejedem mezi světlým a tmavým sladem je slad vídeňský. Další typy speciálních sladů např. karamelový a barevný slad, slouží k zvýraznění určitých kvalitativních a specifických vlastností základních typů světlých a tmavých piv. V některých zemích jako je např. Belgie nebo Německo, se piva ve větší míře vyrábějí z pšeničného sladu [16, 17, 25].

### 1.2.1 Slad český

Světlé slady plzeňského typu jsou připravené ze sladovnického ječmene s nízkým až středním obsahem bílkovin. Pro výrobu je charakteristické máčení zrna na vlhkost 42 až 45 % (w/w). Při hvozdění se předsouší při teplotě 40–50 °C po dobu 12 hodin a do poklesu obsahu vody na 10 % (w/w). Následně se dosouší dalších 12 hodin, přičemž posledních 5 hodin se udržuje dotahovací teplota 80 °C. Tyto slady se používají pro výrobu piv typu ležáků, konzumních piv a speciálních piv [12, 16].

### 1.2.2 Slad bavorský

Tmavé slady mnichovského typu se též označují jako slady bavorské. Mají vyšší obsah bílkovin, výrazné aroma a zvýšenou koncentraci produktů Maillardovy reakce. Vyrábí se z ječmene, jehož obsah bílkovin je 12 % (w/w) a více. Zrno se máčí na vyšší vlhkost a to 46 až 48 % (w/w). Hvozdění je zaměřeno na podpoření tvorby melanoidů a slad je dotahován při teplotách okolo 105 °C. Tyto slady se používají při výrobě tmavých piv [16, 30].

### 1.2.3 Slad vídeňský

Vídeňský slad je přechodným typem mezi tmavými a světlými slady. V současnosti je výroba tohoto sladu nízká. Dříve se tento slad používal pro zvýšení sytosti barvy světlého piva. Dnes se používá pro výrobu určitých speciálních piv [16, 30].

### 1.2.4 Pšeničný slad

Pšeničný slad se používá k výrobě pšeničných piv, piv typu Lambic atd. Surovinou pro tento druh sladu je pšenice setá (*Triticum aestivum* L.). Výroba pšeničných sladů je obdobná jako u ječných sladů. Rozdíl spočívá v kratší době klíčení a sušení probíhá při mnohem nižších teplotách. Zrno pšenice snadno vysychá a míra rozluštění zrna se obtížně posuzuje, protože zrno má silný škrobnatý vzhled. Dotahovací teplota, proto nesmí překročit teplotu 75 °C. Pro pšeničný slad je typická schopnost podporovat pěnivost piv. Dále také zajišťuje různé chuťové variace výrobků [41, 42].

### 1.2.5 Speciální slady

Speciální slady se používají při výrobě tmavých nebo speciálních světlých piv či k úpravě určitých kritérií piv vyráběných z běžných světlých či tmavých sladů, např. pro zvýšení barvy, enzymové aktivity, chuti apod. [15]

Mezi základní druhy speciálních sladů patří:

- Karamelové slady – mají vysoký obsah barevných a aromatických látek. Surovinou pro výrobu tohoto sladu je zelený slad. Tento slad se vlhčí na 45 % vody, aby se při zahřívání vytvořilo dostatečné množství vodní páry. Vodní pára je potřebná pro ztekucení a zcukření škrobu endospermu při 70–75 °C. Následuje karamelizace podle typu sladu, pro světlý je volena teplota 120–130 °C, pro polotmavý 160 °C a pro tmavý 180 °C [16, 43].
- Barevné slady – jsou v odborné literatuře označovány také jako slady barvicí. Používají se při výrobě silně tmavých piv, jejichž barvy nelze docílit běžným tmavým sladem mnichovského typu. Vyrábějí se z hotových, navlhčených sladů upražených při teplotě až 225 °C. Technologickým postupem se zajišťuje vysoká tvorba melanoidinů a postupná degradace škrobu, ze kterého vznikají dextriny a karamel. Speciálním výrobkem této skupiny je slad čokoládový, který je typický svou tmavě hnědou barvou [15].

- Nakuřované slady – se vyrábějí pro přípravu whisky skotského typu. Tyto slady jsou vyráběny ve specializovaných sladovnách z ječného sladu sušeného přímými spalovacími rašeliny. Mají typické aroma, které souvisí s vysokým obsahem fenolů [44].
- Diastatické slady – se používají při zpracování enzymově chudých sladů nebo při zpracování náhražek sladu a také při výrobě sladových výtažků. Pro výrobu těchto sladů se používají ječmeny s vyšším obsahem dusíkatých látek. Klíčení probíhá při nízké teplotě 2 týdny do dosažení dokonalého zcukření. Tento slad obsahuje velký počet zcela vyklíčených zrn. Opatrným sušením při teplotě do 50 °C dojde k zachování vysoké hodnoty diastatické mohutnosti [12, 15].
- Melanoidinové slady – se používají při výrobě tmavých piv. Na rozdíl od karamelových sladů se při výrobě melanoidinových sladů docílí vyšší barvy, charakteristické chuti a vůně. Docílí se toho nikoliv teplotou, ale intenzivnějším průběhem Maillardovy reakce. Tyto slady mají čistě sladovou vůni a chuť bez nahořklé příchutě, která je typická pro barevné a karamelové slady [15].
- Proteolytické (kyselé) slady – slouží k úpravě neboli ke zvýšení kyselosti. Vyrábějí se ze zeleného nebo hotového sladu zkráplením kulturou mléčných bakterií. Tímto procesem se zajistí v hotovém sladu obsah mléčné kyseliny 0,7–4 %. Mléčné bakterie se sušením zničí a acidita sladiny je výrazně vyšší než u běžných světlých sladů. Tento typ sladu se v zahraničí používá k úpravě pH rmutů [16].
- Krátké slady – se připravují zkrácením klíčení, které se již po 48–72 nebo po 96–120 hodinách přerušuje. Tyto slady neovlivňují barvu sladiny. Mají vyšší obsah vysokomolekulárních látek, což pozitivně ovlivňuje plnost chuti a pěnovost [15, 26].

### 1.3 Náhražky sladu

Náhražky sladu se používají z ekonomických důvodů, aby snížili náklady. Dále se používají v dobách a místech s nedostatkem sladu pro výrobu piva. Některé náhražky sladu se zase používají pro docílení vlastností specifických druhů piv (např. v Belgii) nebo pro výrobu bezlepkového piva z rýže nebo čiroku [45].

Pivovary používají vyšší podíl náhražek sladu z toho důvodu, aby se snížila cena piva, dále se zlepšila jeho koloidní stabilita vzhledem k většinou nižší hladině dusíkatých látek a vyrobila se lehčí a světlejší piva [16].

### 1.3.1 Škrobnaté náhražky sladu

Za škrobnaté náhražky sladu lze považovat všechny suroviny mající vysoký podíl škrobu nebo polysacharidů s obdobnými vlastnostmi a možností praktického využití v pivovarské technologii. Škrobnaté náhražky se dělí na 3 typy:

- nesladové obiloviny
- škrobnaté výluhy, sirupy a koncentráty
- speciální sladové náhražky [15, 18]

Škrobnaté náhražky obsahují škrob v původním stavu. Zatímco sladový škrob mazovatí a ztekucuje téměř současně, nativní škrob zcukřuje později. V oddělené nádobě se do surogátové vystírky přidává obvykle 25 % (w/w) sladového šrotu, vztaženo na hmotnost surogátu. Zahřívání se provádí pomalu a před povařením se zařadí 10 až 20minutová prodleva při teplotě 78–80 °C, při které dojde ke ztekucení škrobového mazu. Při zpracování rýže škrob mazovatí při teplotě 85–90 °C. Po ochlazení na 70–75 °C je možné přidat slad [12, 18].

K surogaci se nejvíce používají nesladové obilniny, z nichž nejvhodnější je ječmen. Ječmen se používá pro zlepšení chuti a pěnivosti. Výhodou této surogace je kromě ceny i příznivé chemické složení obilky, která je nejvíce podobná sladu. Rozdíly jsou zejména v obsahu sacharidů a bílkovin [15, 23, 46].

Pšenice se používá jako náhražka sladu při výrobě speciálních piv zejména v Německu a Belgii. Výhodou je vysoká extraktivnost. Nevýhodou je obsah bílkovin, především lepku. Lepek způsobuje problémy, jako je prodloužení scezování mladiny nebo komplikace při filtraci piva [47].

Kukuřice se jako náhražka sladu používá především v Severní Americe a v Asii. Výhodou kukuřice je extraktivnost, která je podobná sladu. Nevýhodou je vysoký obsah tuků, který nedovoluje používat zrno v nativní formě. Kukuřice se loupe a zbavuje klíčku, ten totiž obsahuje až 25 % (w/w) tuku. Kukuřice se proto používá ve formě krupice nebo vloček, případně moučky [12, 15, 23].

Rýže se používá jako surogát zejména v Asii a v Americe. Je velmi dobrou náhražkou sladu s obdobnou extraktivností a s velmi nízkým obsahem bílkovin [12].



### 1.3.2 Cukernaté náhražky sladu

Zpracování cukernatých náhražek je snadnější než zpracování škrobnatých náhražek. Cukerné náhražky se nejčastěji dávkuje do mladiny, nebo až v průběhu chmelovaru. Použitím cukernatých náhražek se snižuje v mladině obsah dusíkatých, polyfenolových a růstových látek, zvyšuje se prokvašení a obsah alkoholu v pivu a dochází ke snížení pěnivosti piva, při vyšších dávkách se snižuje i plnost chuti. Cukernaté náhražky se používají jak v krystalickém, tak i tekutém stavu [16, 18, 46].

Krystalový cukr se používá jak řepný, tak i třtinový. Piva surogovaná tímto cukrem mají světlejší barvu a zvýšený obsah alkoholu. Surový cukr se používá pro výrobu tmavých a speciálních piv. Dále se používá invertní cukr, který se dodává ve formě sirupu a je dokonale zkvasitelný [12, 16, 46].

Mezi cukernaté náhražky také patří škrobový cukr. Tento cukr se vyrábí ve formě sirupu z bramborového nebo obilného škrobu enzymovou nebo chemickou hydrolyzou kyselinami za tlaku a vyšší teploty. Po neutralizaci a zahuštění se rafinuje. Přidává se stejně jako krystalový cukr do chmelovaru a dodává pivu plnější chuť [12, 16, 23].

### 1.3.3 Sladové výtažky

Jedná se o speciální výrobky připravované ze světlého plzeňského nebo diastatického sladu rmutováním infuzním postupem. Provádí se to z toho důvodu, aby zůstala co nejvíce zachována enzymová aktivita sladových enzymů. Scezené nebo stažené výluhy se dále zahustí na sirup ve vakuové odparce při teplotě 40 °C (diastatické výtažky) nebo při teplotě 55 °C (běžné výtažky). Sladové výtažky se dělí na potravinářské a textilní. Potravinářské se ještě dále dělí na jedlé, kanditní a pekařské [12].

Jedlé sladové výtažky jsou husté sladové sirupy. Získávají se zahuštěním prvního výluhu. Mají hnědou až načervenalou medovou barvu a jsou sladké sladové chuti. Kanditní sladový výrobek je tmavé barvy. Vyrábí se pouze zahuštěním výstřelků. Používá se při výrobě maltózových vín a také ve farmaceutickém průmyslu. Pekařský sladový výtažek vzniká smícháním odděleně zahuštěných výluhů. Přidáním toho výtažku do těsta se zlepší kynutí těsta, jeho pórovitost a struktura hotového výrobku [12, 16].

## 2 TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA

Pivovarství patří k významným oborům potravinářského průmyslu a má v České republice mnoholetou tradici. Pivo je slabě alkoholický nápoj, který se vyrábí ze sladu, vody, chmele a za účasti mikroorganismů, kterými jsou pivovarské kvasinky. Pivo patří v České republice k nejkonzumovanějšímu alkoholickému nápoji [16]. Průměrná roční spotřeba piva u nás činí (r. 2017) 138 litrů na osobu [48].

### 2.1 Pivovarské suroviny

Pivo je vyrobeno z již zmíněných čtyř hlavních surovin a to sladu, chmele, kvasnic a vody. Slad je odpovědný za většinu chuti, barvy, a hlavně charakteru piva. Dále také poskytuje potravu pro pivovarské kvasinky. Samotnému sladu se věnuje kapitola 1. Chmel je odpovědný za hořkost piva a tím vyvažuje sladkou chuť extraktu. Voda potom poskytuje prostředí, kde spolu výše uvedené suroviny přicházejí do kontaktu. Další surovinou jsou kvasinky, které v procesu kvašení přeměňují cukr, obsažený ve sladu na alkohol, oxid uhličitý a další produkty, které mají vliv na sensorické vlastnosti piva. Při kvašení piva jsou používány kvasinky tzv. spodní nebo svrchní. Jako spodní kvasinky bývají označovány *Saccharomyces pastorianus*, jako svrchní *Saccharomyces cerevisiae* [12, 16, 18, 21, 30, 42].

#### 2.1.1 Chmel

Chmel a výrobky z chmele hrají důležitou roli při výrobě piva. Dodávají pivu jak typickou hořkost, tak i charakteristické aroma. Chmel je v podstatě usušená chmelová hlávka samičí rostliny chmele [16, 20, 21]. Hlavní pěstovanou odrůdou je Žatecký poloraný červeňák. U nás je chmel pěstován ve třech oblastech, a to v oblasti Žatecké, Ústecké a Tršické [12].

Chmel bývá přidáván do piva při výrobě, a to při takzvaném chmelovaru. Zde je vařen minimálně 90 minut. Za tuto dobu lze získat z chmelových šišek přibližně 27 % z celkového obsahu jejich hořkosti. Chmel je nejčastěji přidáván do piva na začátku, uprostřed a na konci varu. Na začátku a uprostřed varu je používán chmel hořký. Na konci varu je používán chmel aromatický. Tento chmel vytváří charakteristickou vůni některých typů a druhů piv [16, 21].

### 2.1.2 Voda

Voda podstatně ovlivňuje charakter a jakost piva. Spotřeba vody je v pivovarech a sladovnách velká. Spotřeba vody ve sladovnách činí 10–15 hl vody/100 kg sladu a v pivovarech 12–15 hl vody/hl piva [16, 22, 23]. Voda je totiž surovina, které je v pivu nejvíce. Každý druh piva vyžaduje svou typickou vodu, to znamená, že pokud voda nemá požadované složení, je nutné ji upravit [12]. K výrobě světlých ležáků se hodí měkká voda, naopak středně tvrdá voda se hodí k výrobě tmavých a černých piv. Důležitá je také hodnota pH. Zvýšené pH, tedy přes hodnotu pH 7, má vliv na štěpení škrobů při rmutování, dále na chmelení piva a stupeň prokvašení ve sklepě, což vede ke sladšímu charakteru piva. Z tohoto důvodu se provádí změkčování vody a tím se sníží i hodnota pH [16, 23, 42].

### 2.1.3 Pivovarské kvasinky

Průmyslová i domácí výroba piva se cíleně opírá o využívání kvasinek, převážně druhu *Saccharomyces cerevisiae*. Výrobní proces je založen na použití pivovarských kvasnic, které mají definované vlastnosti, pokud možno neměnné i při opakovaném nasazení. Role pivovarských kvasnic je tudíž při výrobě piva velmi důležitá. Je to z toho důvodu, že kvasinky mohou ovlivnit chemické složení a sensorické vlastnosti, které určují kvalitu piva [16].

Kvasinky jsou jednobuněčné eukaryotické mikroorganizmy. Původně se pivovarské kvasinky rozlišovaly na kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces carlsbergensis*. Toto rozlišení bylo narušeno z důvodu jejich přeřazování k různým druhům. V dnešní době je používáno označení pro druh spodních pivovarských kvasinek *Saccharomyces pastorianus* a pro svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* [12, 49]. Mezi základní rozdíly mezi těmito druhy kvasinek patří: složení genetického materiálu, rozdílné složení buněčných stěn, stupeň zkvašování, růst na specifických půdách, obtížná sporulace spodních kvasinek, rozdílné technologicky významné vlastnosti, vyšší maximální teplota růstu u svrchních kvasinek, vyšší tepelná odolnost svrchních kvasinek, spodní kvasinky při kvašení sedají ke dnu, svrchní kvasinky jsou zase vyplavovány při kvašení do deky na hladinu kvasícího média [16, 50].

Pivovarské kvasinky jsou získávány od známých dodavatelů v podobě sušených nebo tekutých kvasnic. Zdrojem čistých kultur pivovarských kvasinek se stala jak pro české, tak i zahraniční pivovary Sběrka pivovarských kvasinek Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského. Sběrku tvoří kvasinky spodního kvašení *Saccharomyces pastorianus*, které pochá-

zejí z existujících nebo již zaniklých pivovarských provozů. Sbíрку dále tvoří svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a divoké kvasinky izolované jako kontaminanty pivovarské výroby [16, 49].

Z pivovarského hlediska je metabolismus kvasinek hlavně přeměna zkvasitelných cukrů na alkohol a oxid uhličitý za účasti enzymů a koenzymů. Metabolismus kvasinek zahrnuje procesy katabolické, kdy se jedná o procesy, při nichž buňky biochemickým odbouráváním látek získávají energii, a anabolické, při nichž buňky energii spotřebovávají na tvorbu nových nezbytných látek pro životní projevy. Látková výměna kvasinek také souvisí s dalšími složkami mladiny a vzniká tak široké spektrum vedlejších produktů, které ovlivňují charakter hotového piva [12, 16].

V rámci druhu *Saccharomyces cerevisiae* existuje mnoho kmenů, které mají technologický význam a také různé vlastnosti. Proto pro výrobu svrchně kvašených piv se používají svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Tyto kvasinky jsou používány na výrobu piv typu Ale, ale i dalších druhů piv s teplotním rozmezím hlavního kvašení 18 až 22 °C. Pro výrobu spodně kvašených piv jsou zase používány spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces pastorianus*. Tyto kvasinky jsou používány při výrobě piv typu ležáků s teplotním rozmezím hlavního kvašení 7 až 15 °C [16, 51].

## 2.2 Výroba piva

Pivovarská výroba se postupem času oddělila od výroby sladu, který v dnešní době větší i menší pivovary nakupují od pivovarských sladoven. Postupů výroby piva je několik. Liší se zejména dle technologického vybavení pivovaru a samozřejmě i podle typu piva. Výroba Českého piva je zajímavá užitím specifického výrobního postupu a to tzv. dekokční metody rmutovacího procesu. Tento proces je založený na vaření mladiny a na následném dvojstupňovém kvašení. Postup výroby piva zahrnuje dvě fáze a to: výrobu mladiny a výrobu piva [16, 22].

### 2.2.1 Výroba mladiny

Mladina vzniká v první fázi technologického procesu výroby piva. Lze ji definovat jako extrakt sladu a chmele. Nejdůležitějším krokem při výrobě mladiny je přeměna nerozpustných složek sladu (škrobu) na látky rozpustné, což je výsledkem enzymových reakcí. Mladina je připravována ve varně pivovaru ze sladu, vody a chmele nebo chmelových přípravků. Podmínky přípravy se volí v závislosti na druhu vyráběného piva [16, 52, 53].

Výroba mladiny zahrnuje kroky, jako jsou: čištění a šrotování sladu, vystírání a rmutování, scezování a vyslazování mláta, chmelovar, filtrace a chlazení mladiny [53].

### **Čištění a šrotování sladu**

Slad určený pro pivovary může obsahovat cizorodé látky, jako jsou kamínky, prach, kovové příměsi aj. Tyto látky je nutné před šrotováním odstranit. K odstranění těchto látek je používána čistička, odkaménkovač, magnet a aspirátér [16, 30, 54].

Šrotování sladu je zdánlivě jednoduchý mechanický proces. Složení šrotu je však důležité, protože ovlivňuje proces rmutování, scezování a varní výtěžek. Sladové zrno je odolné a varní vodě umožňuje jen nedostatečný přístup k uvnitř ležícím extraktivním látkám. Cílem šrotování je tedy dokonalé vymletí endospermu sladových zrn [17, 26].

### **Vystírání a rmutování sladu**

Vystírání je proces, při kterém dochází ke smíchání sladového šrotu s vodou. U dobře rozluštěných sladů se vystírá při teplotách 35–38 °C. U špatně rozluštěných sladů se vystírací teplota pohybuje v rozmezí 50 až 52 °C. U světlých piv se volí řidší vystírka a to 5–6 hl vody na 100 kg sypání. U tmavých piv je vystírka hustší a to 4–5 hl vody na 100 kg sypání [18, 26].

Dalším krokem je rmutování, což je rozhodující krok při výrobě piva. Rmutování je proces, při kterém jde o to, aby se pevné složky nakonec rozpustily ve vodě. Tento děj probíhá ve rmutovací pánvi a roztok sladu a vody se v tomto okamžiku nazývá rmut [55].

Cílem rmutování je převést žádoucí složky, které jsou obsažené ve sladu do roztoku [16]. Z pivovarského hlediska je nejdůležitější látkou škrob. Škrob je potřeba rozštěpit na cukry (oligosacharidy, disacharidy, monosacharidy), tedy na látky, které jsou během hlavního kvašení kvasinkami přeměněny na etanol a oxid uhličitý. Štěpení škrobu je zajištěno enzymy, které jsou obsaženy ve sladu. Ve sladu se nacházejí i enzymy schopné štěpit i ostatní látky, které jsou klíčové k výrobě piva [12, 53].

V praxi jsou rozlišovány dvě rmutovací technologie, a to infuzní a dekokční rmutování. Pro dekokční postupy je typické povaření dílčích rmutů a podle jejich počtu se dělí na jednormutové, dvourmutové a třírmutové postupy. Nejčastěji využívané jsou ale postupy dvourmutové. Infuzní postupy jsou založeny na rozpouštění a štěpení extraktu sladu s dlouhodobějším účinkem sladových enzymů bez povařování rmutů. Od dekokčních postupů se

liši podstatně kratší dobou. Infuzní postupy trvají přibližně 180 minut a jsou méně energeticky náročné a lze je provádět v jedné nádobě. Tyto postupy jsou vhodné pro dobře rozluštěné slady a používají se především pro svrchně kvašená piva. Průběh rmutování zásadně ovlivňuje charakter a chuť hotového piva [16, 26, 53].

### **Scezování a vyslazování mláta**

Po rmutování následuje proces scezování. Cílem scezování je získat čistou sladinu a maximum extraktu. Scezování lze definovat jako proces, při němž se odděluje sladový extrakt tedy sladina od pevného podílu, tj. mláta. K tomuto procesu dochází přirozenou filtrací přes vrstvu sedimentovaných pluch a ostatních nerozpustných zbytků sladu. Zfiltrovaný podíl extraktu je označován jako „předek“ [20, 53, 56].

Vyslazování je proces, při kterém se mláto promývá horkou vodou o teplotě 75–78 °C. Takto získaná zředěná sladina se označuje jako „výstřelky“ a spolu s „předkem“ se shromažďuje v mladinové pánvi. Vyslazování mláta je prováděno 2 až 3krát [20, 53, 56].

### **Chmelovar**

Sladina získaná scezováním se v tomto kroku vaří s chmelem v mladinové pánvi. Při tomto procesu probíhá řada fyzikálních, chemických a biochemických reakcí. Cílem chmelovaru je odpařit přebytečnou vodu a docílit obsahu extraktu mladiny odpovídající typu vyráběného piva. Dále pak inaktivovat enzymy, sterilovat mladinu (inhibovat mikroflóru z vody, sladu, chmele a zařízení), zajistit koagulaci bílkovin s polyfenolovými látkami chmele a sladu, převést hořké látky chmele do mladiny atd. [16, 57]

Chmelovar trvá 90 až 120 minut a provádí se za varu v mladinovém kotli. Chmel se v průběhu chmelovaru přidává třikrát:  $\frac{1}{4}$  na začátku varu;  $\frac{1}{2}$  po hodině varu a poslední čtvrtina 30 minut před ukončením varu. Výsledným produktem chmelovaru je mladina [58]. Po chmelovaru následuje proces oddělení zbytků chmele (chmelové mláto). Mladina včetně chmele protéká zařízením, kde se chmelové mláto oddělí a vylouží vodou [16].

### **Filtrace a chlazení mladiny**

Mladina po chmelovaru obsahuje vysrážené bílkovinné vločky a další částičky ze sladu a chmele, tj. hrubé kaly. Hrubé kaly jsou odstraňovány pomocí vířivé nebo méně často používané usazovací kádě. Dále je možné použít také odstředivky nebo dekantéry [20].

Vyrobenou mladinu je nutné ještě před zakvašením ochladit na zákvasnou teplotu. Současně se s ochlazením mladiny provádí její provzdušnění. Mladina je zchlazována na

teplotu 5 až 6 °C, a to pro tradiční „studené“ hlavní kvašení nebo na teplotu 12 až 18 °C pro výrobu svrchně kvašených piv [16].

### 2.2.2 Výroba piva

Proces výroby piva zahrnuje následující kroky: kvašení mladiny, dokvašování a zrání piva, závěrečné úpravy piva [22].

#### **Kvašení mladiny**

Kvašení mladiny probíhá ve dvou krocích. První krok se označuje jako hlavní kvašení, kdy dojde k pomnožení kultury pivovarských kvasinek. Druhá fáze se označuje jako dokvašování a zrání piva [12].

V první fázi vznikají jako základní produkty kvašení etanol, oxid uhličitý a biomasa. Dále vzniká řada vedlejších metabolitů, které mají zásadní vliv na chuť piva. Jedná se o pozitivně působící sloučeniny, estery, alkoholy a mastné kyseliny, ale vzniká i přirozený antioxidant, kterým je oxid siřičitý. K negativním vedlejším produktům patří například vyšší hladiny diacetylu, aldehydů a různých sirných sloučenin [12, 59, 60, 61].

#### **Hlavní kvašení**

Při výrobě piva typu ležáků jsou použity spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces pastorianus* s teplotním rozmezím 7 až 15 °C a se sedimentací kvasnic na dně kvasné nádoby. Svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* jsou použity při výrobě piv typu Ale, ale používají se i při výrobě dalších druhů piv a jejich teplotní rozmezí je 18 až 22 °C, často s vynášením kvasnic do kvasničné deky. Anaerobním kvašením dojde k přeměně zkvasitelných sacharidů (glukózy, maltózy a maltotriózy) na etanol a oxid uhličitý. Současně vznikají v malé míře i další kvasné produkty jako jsou: vyšší alkoholy, estery, aldehydy, ketony, organické kyseliny atd. [16, 49, 62].

Hlavní kvašení probíhá v otevřených kvasných kádích v chlazené místnosti zvané spilka, ale dnes se častěji používají uzavřené cylindrokónické tanky (CKT). CTK jsou v současnosti hodně využity jak na kvašení, tak i na dokvašování piva. Hlavní kvašení trvá obvykle 6 až 8 dní podle druhu vyráběného piva [12, 16].

#### **Dokvašování a zrání**

V druhé fázi kvašení, která probíhá vždy pod mírným tlakem, pomalu dokvašuje zbylý extrakt kvasnicemi, které zůstaly ve vznosu [12].

Dokvašování a zrání piva probíhá v ležáckých nádobách v podzemních sklepích nebo v izolovaných chlazených budovách. V moderních postupech pak dokvašování a zrání probíhá ve velkoobjemových izolovaných nádobách. Při klasickém dokvašování se teplota postupně snižuje z 5 °C na 2 až 0 °C. Doba dokvašování při tradiční technologii je v závislosti na typu piva a koncentraci mladiny v rozmezí 1–10 týdnů [12, 16].

### **Závěrečné úpravy piva**

Vyzrálé pivo je nutné před expedicí upravit. K závěrečným úpravám piva patří filtrace, pasterace a stabilizace. Cílem těchto úprav je vyhovět spotřebitelským a komerčním požadavkům na vzhled, trvanlivost a obchodovatelnost výrobku [53].

#### ***Filtrace***

Filtrace piva se nejčastěji provádí na deskových nebo na křemelinových filtrech. V dnešní době se používají i tzv. EK-filtry, aby byla zajištěna vysoká biologická stabilita. Nejmodernějším, ale zároveň velmi nákladným způsobem je membránová filtrace. Použitím membránové filtrace lze nahradit pasteraci, a tím se odstraní negativní působení tepla na chuť piva. Cílem filtrace je odstranit zbytky kvasnic a koloidních částic, tak aby pivo získalo svou čirost [16, 63].

#### ***Pasterace***

Pasterace se používá z důvodu zvýšení biologické stability piva. Jako pasterace je označována tepelná inaktivace mikroorganismů, které mohou kazit pivo. Nejvíce používaná pasterace piva je v lahvích nebo plechovkách. Provádí se to pomocí ponorných pastérů při teplotě 62 °C po dobu obvykle 20–30 minut [16].

#### ***Stabilizace***

Stabilizace je prováděna u exportních piv. Provádí se to z toho důvodu, aby byla zaručena mnohaměsíční trvanlivost. Podstatou stabilizace je odstranění prekurzorů zákalů piva. Jedná se především o vysokomolekulární dusíkaté složky, polyfenoly, kovové ionty a rozpuštěný kyslík. Jako stabilizátor se používá například tanin nebo také silikagel. Stabilizátory jsou přidávány do piva nejčastěji ke konci dokvašování, aby se případně vyloučené látky odstranily při filtraci [64, 65, 66].

#### ***Stáčení a expedice piva***

Stáčení piva je konečnou fází výroby. Jedná se o velmi důležitý a náročný proces, při kterém nesmí docházet ke ztrátám oxidu uhličitého a dalších těkavých látek a zároveň se



musí zamezit přístupu kyslíku, protože nepříznivě ovlivňuje stabilitu. U nás se pivo stáčí do cisteren pro stáčírny a pro export nebo se stáčí do sudů, lahví a plechovek pro vnitřní obchodní síť i pro export [16, 67].

### 3 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ V PIVĚ

Zdravotní nezávadnost potravin je v dnešní době samozřejmou součástí jakosti daného produktu. Z tohoto důvodu jsou v potravinářském průmyslu monitorovány cizorodé a zdraví škodlivé látky, mezi něž se řadí i biogenní aminy (BA) a polyaminy (PA) [68, 69].

BA v potravinách představují nežádoucí zplodiny konečného rozkladu bílkovin. Proces vzniku BA je katalyzován zejména mikrobiálními enzymy a postupuje od bílkovin přes peptidy k aminokyselinám, jejichž dekarboxylací vznikají již zmíněné BA [69, 70].

Odborná literatura uvádí dva důvody pro sledování BA v potravinách. Prvním důvodem je toxicita těchto nízkomolekulárních organických látek. Druhým důvodem je pak snaha o nalezení souvislosti mezi obsahem aminů v potravinách a samotnou jakostí potravin [69, 71].

Sledování BA může být zdrojem cenných informací zejména v takových potravinářských provozech, v nichž důležitou roli hraje činnost mikroorganismů, jako je např. výroba piva [69, 72].

#### 3.1 Vznik biogenních aminů a polyaminů

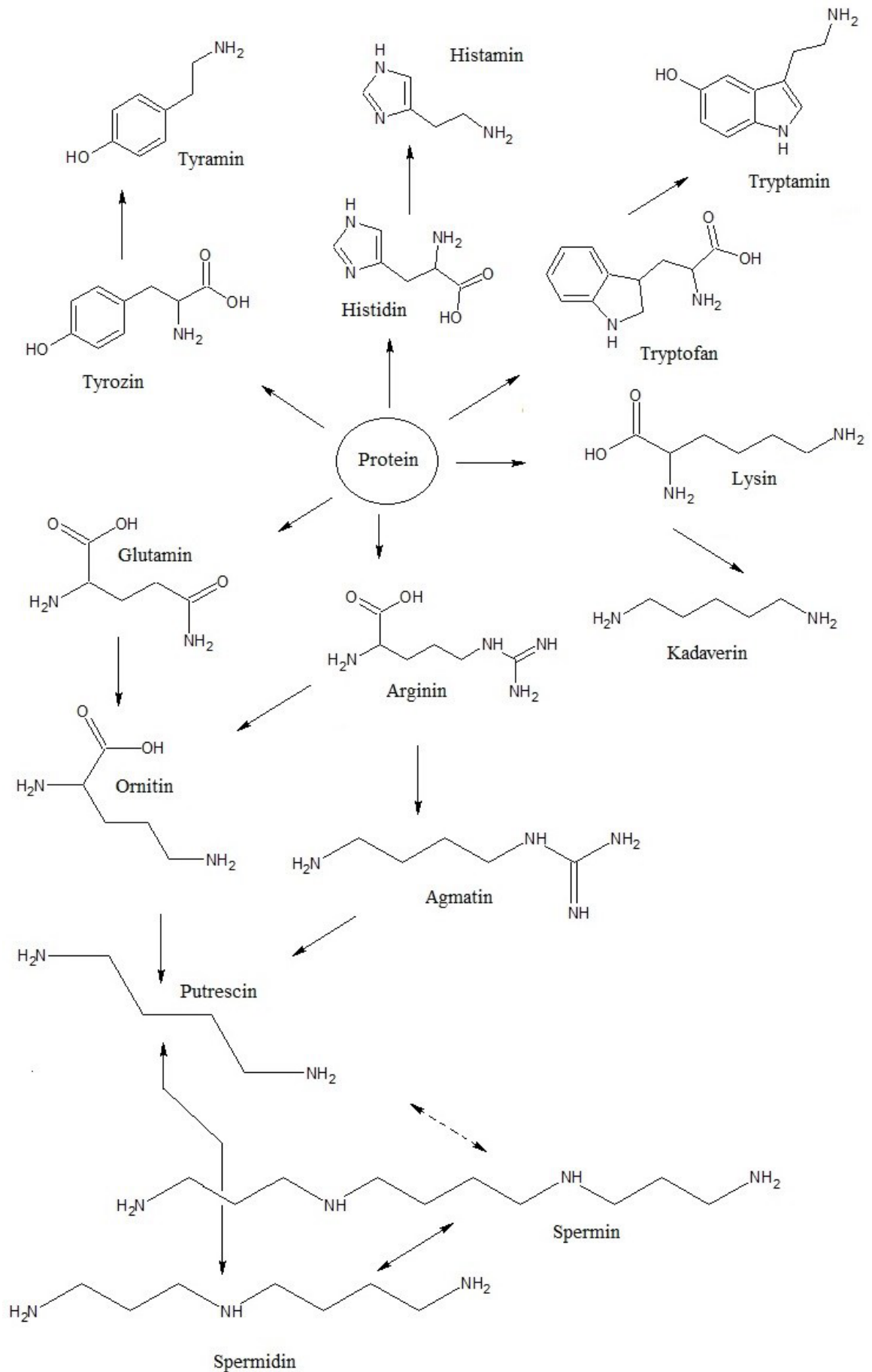
BA jsou dusíkaté nízkomolekulární organické sloučeniny s vysokou biologickou aktivitou, které vznikají v procesu dekarboxylace aminokyselin. Proces dekarboxylace může být katalyzován prostřednictvím dvou biologických cest. První cestou je dekarboxylace katalyzována přirozeně prostřednictvím endogenních dekarboxyláz, které jsou přítomny v živočišných nebo rostlinných buňkách. Druhou cestou je dekarboxylace katalyzována pomocí exogenních enzymů, které jsou produkovány mikroorganismy. BA jsou pro živé organismy zdrojem dusíku např. pro stavbu nukleových kyselin nebo proteinů. Zvláštní skupinu, která se dříve řadila mezi BA, tvoří polyaminy. PA jako je spermin a spermidin v současnosti tvoří samostatnou skupinu z důvodu rozdílné syntézy a také kvůli biologickým účinkům. Spermin a spermidin vznikají biologickou syntézou, na rozdíl od BA, které vznikají jednoduchou dekarboxylací. Tyto PA jsou důležité pro živé buňky, protože se podílejí na syntéze bílkovin a nukleových kyselin. Na druhou stranu je jim v současnosti věnována větší pozornost ve spojitosti s vyšší koncentrací ve většině nádorových tkáních [5, 6, 70, 71, 73].

BA a PA se nejčastěji dělí dle chemické struktury na:

- alifatické – kadaverin (CAD)

- aromatické – tyramin (TYR), 2-fenyletylamin (PHE)
- heterocyklické – histamin (HIS), tryptamin (TRP)
- polyaminy – spermin (SPM), spermidin (SPE), putrescin (PUT), agmatin (AGM) [4, 74]

Tvorba BA (Obr. 1) je ovlivněna řadou faktorů jako je dostupnost substrátu, teplota, pH, přítomnost kyslíku atd. V biosyntéze BA je klíčový enzym s dekarboxylázovou aktivitou. Jedná se o dekarboxylázy aromatických aminokyselin pro serotonin, tryptamin a dopamin. Histidin-dekarboxylázy pro histamin, dále arginin-dekarboxylázy pro agmatin a ornitin-dekarboxylázy pro putrescin [70].



Obrázek 1: Tvorba biogenních aminů [75].

### 3.2 Výskyt biogenních aminů a polyaminů v potravinách

Celkové množství BA v potravinách závisí zejména na povaze potravin a přítomných mikroorganismů. BA jsou běžnou součástí potravin. V potravinách mohou být přítomny jednak přirozeně, jako součást buněčných struktur rostlin či živočichů nebo mohou vznikat v procesu výroby a skladováním potravin jako výsledek metabolického působení mikroorganismů. Vysoké koncentrace BA mohou být v potravinách, jako jsou např. ryby nebo výrobky z ryb, fermentované potraviny – maso nebo mléčné výrobky, pivo, víno. U nefermentovaných potravin vyšší koncentrace BA slouží jako indikátory kažení [1, 70, 73].

Jedním ze zdrojů PA jsou potraviny. PA se ale také tvoří přímo v lidském těle, a to v důsledku dekarboxylázové aktivity střevní mikroflóry [70, 76].

PA můžeme najít jednak v potravinách rostlinného původu (ovoce, zelenina), ale i v potravinách živočišného původu (mléko, vejce, ryby, maso). Vyšší koncentrace spermidinu jsou typické pro potraviny rostlinného původu. Zatímco pro potraviny živočišného původu jsou typické vyšší koncentrace sperminu. Obsah putrescinu v potravinách se zvyšuje činností mikroorganismů během nevhodného skladování a výroby potravin živočišného původu [76, 77].

Problematice výskytu BA a PA v pivě je věnována samostatná kapitola (3.4 Zdroje biogenních aminů v pivu).

### 3.3 Vliv biogenních aminů a polyaminů na lidské zdraví

BA mohou být ve vyšších koncentracích považovány za toxické látky, které jsou schopné vyvolat alimentární onemocnění. Ve vysokých koncentracích jsou odpovědné za bolesti hlavy, dýchací potíže, bušení srdce, hypertenzi nebo hypotenzi a některá alergická onemocnění [14, 69, 71].

Stanovení prahu toxicity BA a PA je velmi obtížné. Toxická dávka je závislá na účinnosti detoxikačního mechanismu jedince. Byla stanovena horní hranice toxicity pro histamin v potravinách, která činí 100 mg/kg potraviny a 2 mg/l alkoholického nápoje, pro tyramin je hranice následující 100–800 mg/kg potraviny a pro 2-fenyletylamin je hranice 30 mg/kg potraviny. Histamin je spojován s častými otravami jídlem, zatímco tyramin a 2-fenyletylamin jsou považovány za iniciátory hypertenze. Přítomnost jiných aminů jako je kadaverin,

putrescin a tyramin může zvyšovat toxicitu například histaminu. BA mohou být také považovány za karcinogeny, je to z toho důvodu, že jsou schopné reagovat s dusitany za vzniku potenciálně karcinogenních nitrozaminů [11, 70].

Trávicí trakt člověka disponuje detoxikačním systémem, který je schopen metabolizovat obvyklý příjem BA. BA jsou z potravy vstřebávány a rychle degradovány působením aminooxidáz. Při vysoké koncentraci BA, ale dojde v lidském organismu k narušení procesu detoxikace a BA se hromadí v těle. Zdravotní komplikace v důsledku vyšších koncentrací BA jsou častější a závažnější u jedinců, kteří mají narušený detoxikační systém díky genetickým predispozicím [78, 79].

Alkoholické nápoje jako jsou pivo a víno se řadí mezi potraviny, které mohou díky přítomnosti BA způsobovat u konzumentů zdravotní problémy. Alkohol negativně ovlivňuje detoxikační systém, což vede k inhibici odbourávání BA z organismu [70, 71]. Z tohoto důvodu dojde ke zvýšení toxicity BA a PA a již nízké koncentrace histaminu 8–20 mg/l, tyraminu 25–40 mg/l a 2-fenyletylamin 3 mg/l mohou způsobit zdravotní problémy. Nejčastějším BA, který způsobuje otravy z piva je tyramin. Jedním z důvodů je také, to že účinky tyraminu ještě navíc umocní alkohol obsažený v pivu [2, 10, 71].

### 3.4 Zdroje biogenních aminů v pivu

Pivo z chemického hlediska představuje složitou disperzní soustavu, která je tvořena více než 2000 sloučeninami. Některé složky piva pocházejí přímo ze vstupních surovin a přetrvávají v pivu beze změny. Přesto je zde velká část sloučenin, které jsou výsledkem biochemických změn, které probíhají při základních technologických operacích [12].

Vzhledem ke svému složení je pivo nevhodné prostředí pro rozvoj většiny mikroorganismů. Jedním z důvodů je koncentrace etanolu, která se pohybuje v rozmezí od 0,5 % do 10 % (v/v). Další důvodem je kyselé prostředí, které má rozsah pH od 3,8 do 4,7. Takovéto pH není schopno mnoho mikroorganismů tolerovat. Navíc vysoká koncentrace oxidu uhličitého a snížená přítomnost kyslíku vytváří v pivu anaerobní prostředí [12, 16, 18].

Mikroorganismy, které tyto podmínky přežívají, řadíme k acidotolerantním, rezistentním vůči etanolu a anaerobním nebo fakultativně anaerobním mikroorganismům. Mezi tyto mikroorganismy se řadí zejména bakterie mléčného kvašení a některé kvasinky [12, 16, 80].

Velký význam u piva zaujímá hodnota pH. Tato hodnota ovlivňuje stabilitu chuťových vlastností piva a hořkost piva. Dalším důležitým znakem pH je, že ovlivňuje mikrobiologickou stabilitu a tím i dekarboxylázovou aktivitu [16, 80].

Výskyt jednotlivých BA je závislý jednak na použitých surovinách, ale také způsobu vaření piva a jeho úpravách. BA, které se vyskytují v pivu, je možné dělit do dvou skupin. První skupina zahrnuje aminy, které pocházejí ze sladu a dalších surovin a lze je tedy považovat za běžnou složku piva. Do této skupiny patří putrescin, agmatin, spermin a spermidin. Do druhé skupiny lze zařadit histamin, tyramin a kadaverin. Přítomnost těchto BA, ale zpravidla ukazuje na aktivitu kontaminujících bakterií během výroby piva. Typ a koncentrace BA a PA v pivu je výsledkem jednak kvality vstupních surovin, ale také výsledkem pivovarnických technik a hygienických podmínek [2, 14, 71].

### 3.4.1 Suroviny na výrobu piva jako zdroje biogenních aminů

Obsah BA a PA v pivu je ovlivněn zejména odrůdou ječmene, procesem sladování, kvalitou chmele i použitím pivovarských kvasnic. Pivovarské suroviny jsou i přesto pouze omezeným zdrojem těchto biologicky aktivních látek [81]. Ječný slad je ze všech surovin použitých na výrobu piva považován za nejvýznamnější zdroj BA a PA v pivu. V samotném ječmeni se jako přirozená složka vyskytuje tyramin, putrescin, spermin, spermidin a agmatin. V průběhu procesu sladování dochází ke zvýšení obsahu BA a PA. Je to z důvodu štěpení přítomných bílkovin na nízkomolekulární sloučeniny a volné aminokyseliny, které pak slouží jako prekurzory těchto látek [13]. Mírný nárůst koncentrace histaminu, kadaverinu a fenyletylaminu v průběhu sladování, byl zaznamenán ve studii Izquierdo-Pulido, Marine-Font a Vidal-Carou (1994). Také obsah putrescinu, sperminu, spermidinu a agmatinu se zvyšoval [81].

Na konečné množství BA ve sladu má zásadní vliv intenzita klíčení, teplota a odrůda ječmene [2]. Široké rozmezí koncentrace BA ve sladu v závislosti na odrůdě ječmene dokázal Halász, Baráth a Holzapfel (1999) ve své práci. Obsah tyraminu byl v rozmezí 87–189 mg/kg, obsah putrescinu byl v rozmezí 76–210 mg/kg, obsah sperminu byl v rozmezí 63–196 mg/kg a obsah spermidinu byl v rozmezí 101–274 mg/kg [11]. Vyšší hodnoty putrescinu, tyraminu a histaminu uvádí ve své práci také Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) [82]. Romero a spol. (2003) srovnával obsah BA a PA ve sladu a kukuřici použité jako surogát. Byla zjištěna vyšší hladina putrescinu, sperminu a spermidinu ve sladu než v surogátu. Přítomnost kadaverinu, histaminu a tyraminu byla zjištěna pouze ve sladu [72].

Chmel obsahuje menší množství BA a PA než slad. V chmelu se vyskytuje putrescin spermidin, spermin a agmatin. Některé zdroje uvádějí, že obsah BA je v chmelu relativně vysoký. Nicméně jejich množství je zanedbatelné z důvodů velmi malého množství použitého při výrobě piva. Pro srovnání je možné uvést, že vyšší koncentrace histaminu a tyraminu byly naměřeny v extraktu chmele než v sušeném chmelu a chmelových granulích [82].

Existují různé vědecké závěry v souvislosti se schopností kvasinek dekarboxylovat aminokyseliny. Costantini a spol. (2009) uvádí, že čistá kultura *Saccharomyces cerevisiae* používaná při výrobě piva není schopná produkovat BA. Původní výsledky práce spíše napovídaly opaku, avšak v závěru byla přítomnost BA přičítána kontaminujícím mikroorganismům [83]. Další práce od Caruso a spol. (2002) uvádí zanedbatelnou produkci histaminu, putrescinu, kadaverinu a tryptaminu různými druhy kvasinek. Nejvyšší produkce BA, ale byla zaznamenána u druhu *Brettanomyces bruxellensis* a dále byla zjištěna zvýšená produkce BA také u druhu *Saccharomyces cerevisiae* [84]. Dalším, kdo se zabýval dekarboxylázovou aktivitou pivovarských kvasinek byl i Halász a spol. (1994). Halász a spol. (1994) prokázali vyšší produkci spermidinu, putrescinu a kadaverinu [75].

Za surovinu, která neobsahuje žádné aminy a používá se při výrobě piva, je považována voda [2].

### 3.4.2 Vliv technologie výroby na obsah biogenních aminů a polyaminů v pivu

Obsah BA a PA je také závislý na samotné technologii výroby piva. Výroba piva zahrnuje procesy jako je příprava mladiny, kvašení, zrání piva a závěrečné úpravy piva. Jedná se v podstatě o sled složitých mechanických, fyzikálně–chemických a biochemických procesů [13, 16].

V souvislosti s obsahem BA a PA je podstatným krokem pivovarského procesu rmutování. Při sladování ječmene přechází 35–40 % bílkovin do rozpustné nízkomolekulární formy a v průběhu rmutování díky teplotní aktivaci exopeptidáz dochází k nárůstu volných aminokyselin. Tento krok je významný z důvodu nárůstu prekurzorů BA a PA, které mohou být později využity kvasinkami či kontaminující mikroflórou při dekarboxylaci. Při rmutování může dojít také ke snížení již přítomných BA a PA. Dochází k tomu pravděpodobně z důvodu působení vyšších teplot v kombinaci s termolabilní povahou sloučenin [2, 11, 12].

Další důležitým procesem z hlediska tvorby BA a PA je fermentace, která je považována za nejkritičtější technologický krok. Během hlavního kvašení a dokvašování piva



může vznikat toxikologicky významné množství tyraminu, histaminu a kadaverinu. Obsah BA a PA je ovlivněn zejména typem a podmínkami fermentace mladiny [10].

Za produkci BA a PA v pivu nejsou však odpovědné kvasinky, ale BA a PA vznikají v důsledku činnosti kontaminujících bakterií mléčného kvašení. Mezi bakterie, které se účastní fermentace piva a produkce BA, řadíme rody jako je *Pediococcus*, zejména *Pediococcus damnosus* a *Lactobacillus*, zejména *Lactobacillus brevis*. Tyto grampozitivní bakterie jsou zodpovědné zejména za produkci tyraminu a histaminu. V průběhu fermentace mladiny může dojít také ke kontaminaci gramnegativními bakteriemi, které jsou zodpovědné za produkci kadaverinu a putrescinu [2, 72].

Z dosud získaných poznatků můžeme jako zdroj putrescinu, spermidinu, sperminu a agmatinu určit slad. Zatímco tyramin, histamin a kadaverin jsou tvořeny zejména během fermentace především díky činnosti kontaminujících mikroorganismů [10].

### 3.4.3 Výskyt biogenních aminů v konečném produktu

Množství BA v lahvových pivech narůstá s délkou skladování. Nejvýznamnějším BA, který bývá v lahvovém pivu detekován, je tyramin. Přítomnost jednak tyraminu, ale také histaminu a kadaverinu v lahvovém pivu je způsobena činností kontaminujících bakterií mléčného kvašení [82, 85]. Kalač a spol. (2002) ve své studii potvrdili výskyt tyraminu a histaminu v lahvovém pivu. Tyto BA vznikly v lahvovém pivu především činností laktobacilů, které přežily nedostatečnou pasteraci piva. Zvýšené množství BA může být způsobeno kontaminací bakteriemi mléčného kvašení, zejména kontaminovanými kvasinkami, a to při jejich opakovaném použití [10].

Z výsledků různých studií vyplývá, že nízká úroveň mikrobiální čistoty pivovaru a případná nedostatečnost pasteračního procesu může představovat riziko z hlediska tvorby BA a PA v pivu [10].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 CÍLE PRÁCE

Hlavní cíl:

- sledování výskytu biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v různých typech sladů a ve sladových extraktech

Dílčí cíle:

- stanovení sušiny, resp. zjištění obsahu vody ve sladech a sladových extraktech
- stanovení volných aminokyselin ve sladech a sladových extraktech

Pro dosažení určitých výsledků byla tato práce rozdělena do několika částí:

- Příprava vzorků – extrakce pevných vzorků do tekuté formy a následná derivatizace vzorků
- Stanovení BA a PA – detekce derivatizovaných vzorků zařízením HPLC/DAD
- Úprava chromatogramů pomocí programu Chromeleon
- Zpracování všech výsledků a formulace závěrů

Výsledky této experimentální práce umožňují pochopit problematiku výskytu BA ve sladech a sladových extraktech.

## 5 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

### 5.1 Vzorky sladů a sladových extraktů

Bylo analyzováno 34 vzorků sladu od výrobců Weyermann (Bamberg, Německo) a Sladovna Záhlinice (Záhlinice, Česká republika). Dále bylo testováno pět vzorků extraktů sladu od výrobců Mr. Sládek (Šenov, Česká republika) a Coopers Brewery (Adelaide, Austrálie). Vzorky se lišily druhem, vlastnostmi a způsobem výroby. Byly tedy předpokládány i různé výsledky obsahu BA a PA. Níže v textu jsou uvedeny charakteristiky jednotlivých vzorků, které jsou dostupné na webových stránkách výrobců a prodejců.

#### 5.1.1 Charakteristika jednotlivých vzorků sladů

Abbey malt (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad, který je vyroben z kvalitního jarního ječmene. Jedná se o kyselý slad, který je silně aromatický. Má jantarovou až červenohnědou barvu. Aroma tohoto sladu je sladové a může připomínat i vůni medu, ořechů a čokolády. Používá se při výrobě svrchně kvašených piv typu Ale v zemích jako je Belgie a Francie [86].

Carahell (Weyermann, Bamberg, Německo) je tvořen zlatohnědými a mírně aromatickými zrny jarního ječmene. Slad Carahell má sladké aroma a toto aroma může připomínat vůni karamelu. Používá se při výrobě piv typu Ale, Bock, ale i při výrobě ležáků nebo nealkoholických piv [86].

Carapils (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad, který zvyšuje pěnivost piva. Aroma u toho sladu je nasládlé a může opět připomínat vůni karamelu. Používá se na výrobu piv plzeňského typu a na výrobu nealkoholických piv [86].

Special W (Weyermann, Bamberg, Německo) je tvořen tmavohnědými, lehce aromatickými zrny. Slad má jantarovou až měděnou barvu, což ovlivňuje výslednou barvu piva. Vůně tohoto sladu je intenzivní s mírně karamelovým aroma. Tento druh sladu se používá na výrobu piv typu Porter, Stout, černé pivo, Ale nebo také Eisbock [86].

Caraamber (Weyermann, Bamberg, Německo) má jemnou sladovou vůni. Může vonět po karamelu nebo karamelu a chleba. Jeho barva je červená. Tento slad podporuje stabilitu chuti. Využívá se pro výrobu piv typu Ale, Bock nebo také na výrobu ležáků [86].

Pilsner malt (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený z velmi kvalitního ječmene a je vhodný pro všechny typy ležáků. Jeho vůně je sladká a může vykazovat i jemné tóny medu [86].

Carafa (Weyermann, Bamberg, Německo) má kávově–hnědou barvu, vzniklou jeho pečlivým pražením. Aroma toho sladu je kávové, kakaové a může vonět i po tmavé čokoládě. Tento slad je využívám pro výrobu tmavých piv, piv typu Bock, Stout a tmavých pivu typu Ale [86].

Bohemian pilsner malt (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený z českého jarního ječmene a je speciálně vyroben pro výrobu českých piv. Vůně toho sladu je charakterizována jako intenzivní sladové mírně nasládlé aroma [86].

Caramunich (Weyermann, Bamberg, Německo) je tvořen zlatohnědými, lehce aromatickými zrny. Vůně toho sladu je intenzivní karamelová a může připomínat vůni sušenek. Tento slad je používán na výrobu tmavých piv, piv typu Bock, Festbiere a jiných [86].

Vienna malt (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad, který dodává hotovému pivu sladové aroma. Vienna malt je určen pro výrobu piv typu Ale a ležáků. Vůně toho sladu je sladká a může připomínat vůni ořechů a medu [86].

Caraaroma (Weyermann, Bamberg, Německo) dodává hotovému výrobku tmavě červenou barvu a také podporuje stabilitu chutí v konečném produktu. Caraaroma je slad, který voní po pražených ořechách, karamelu a sušeném ovoci. Využívá se pro výrobu piv typu Porter, Stout, Ale apod. [86]

Caraffa special (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený odstraněním plev ze zrn používaných na výrobu sladu Carafa. K odstranění plev ze zrn dochází před procesem sladování a pražení. Tento slad snižuje hořkost a zároveň dodává kávově hnědou barvu a kávové aroma hotovému výrobku. Používá se na výrobu tmavých piv [86].

Carabohemian (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad, který je tvořen tmavě hnědými a lehce aromatickými zrny. Dodává hotovému pivu tmavou barvu. Jeho vůně připomíná vůni chleba a karamelu. Používá se při výrobě piv typu Stout, Porter, Ale a Bock [86].

Munich malt (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad, který dodává hotovému výrobku sladové aroma. Tento slad je určen zejména pro piva typu Ale a ležáky [86].

Carawheat (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený z kvalitní pšenice. Jeho vůně připomíná karamel, mandle a sušenky. Používá se na výrobu pív typu Hefe–Weizen, Dunkle–Weizen a Red Ales [86].

Cararye (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený z kvalitního žita. Jedná se o zkaramelizovaná hnědá zrna. Tento slad přispívá k tmavě hnědé barvě piva. Používá se při výrobě ležáků nebo také pív typu Ale [86].

Carared (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený z ječmene. Dodává hotovému výrobku lehce načervenalou barvu. Zrna tohoto sladu jsou mírně aromatická. Vůně sladu je sladká a připomíná karamel, med nebo sušenky. Tento slad je vhodný pro výrobu pív typu Scottish Ale, Bock, Red Ales apod. [86]

Pšeničný slad světlý (Weyermann, Bamberg, Německo) je vyrobený z kvalitní pšenice. Hraje důležitou roli při výrobě pív dodávaných do severoamerických hospod. Používá se na výrobu pšeničných pív, pív typu Ale a také Hefe–Weizen [86].

Slad žitný (Weyermann, Bamberg, Německo) je vyroben z kvalitního žita. Hotovému pivu dodává typické žitné aroma. Je využíván na výrobu pivních speciálů, pív typu Ale nebo žitných ležáků [86].

Pale Ale (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený z jarního ječmene a vyrobený speciálně pro výrobu anglických pív. Používá se na výrobu pív typu Porter, Stout a Ale [86].

Kyselý slad (Weyermann, Bamberg, Německo) snižuje pH sladiny a piva. Zvyšuje enzymatickou aktivitu, dále se podílí na zvýšení stability hotového výrobku a prodlužuje trvanlivost. Vůně tohoto sladu je ovocná a nakyslá. Používá se při výrobě ležáků a pšeničných pív [86].

Melanoidní slad (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad vyrobený z ječmene. Jedná se o kyselý a sladově aromatický slad. Hotovému výrobku dodává jantarovou až červenohnědou barvu. Tento slad podporuje stabilitu chuti v hotovém výrobku. Melanoidní slad je využit při výrobě pív typu Red Ale, Dark Ale, skotských a irských pív typu Ale [86].

Čokoládový pšeničný pražený slad (Weyermann, Bamberg, Německo) je vyroben z kvalitní pšenice. Jedná se o pražená, kávově hnědá, aromatická zrna. Čokoládový slad je využit při výrobě pivních speciálů nebo také při výrobě pšeničných pív [86].

Pšeničný tmavý slad (Weyermann, Bamberg, Německo) je vyroben z kvalitní pšenice. Byl vyroben speciálně pro bavorská piva. Dodává pivu pšeničnou chuť a je využit při výrobě pív Weizenbock, Altbier, Dunkle–Weizen apod. [86]

Čokoládový žitný pražený slad (Weyermann, Bamberg, Německo) je slad s vůní kávy, čokolády a ořechů a je vyroben z kvalitního žita. Využívá se při výrobě žitných ležáků a pивních speciálů [86].

Pšeničný nakuřovaný slad (Weyermann, Bamberg, Německo) je typický vůní dubového kouře, ale zároveň může vonět také po vanilce a medu. Používá se při výrobě pšeničných pив, kouřových pив, pив typu Ale nebo Porter [86].

Nakuřovaný slad (Weyermann, Bamberg, Německo) jedná se o unikátní slad, který je vyrobený z jarního ječmene a původně byl vyroben pro pivo Bamberg Rauchbier (Bamberg Smoked Beer). V současnosti jej lze využít pro výrobu jakéhokoliv ležáku nebo piva typu Ale. Pro tento druh sladu je charakteristická vůně bukového dřeva [86].

Slad mnichovský (Sladovna Záhlinice, Záhlinice, Česká republika) je tmavší slad určený na výrobu pив německého typu. Může být také použit na zvýšení barevnosti piva. Vyrábí se z něj Mnichovské ležáky, pivo typu Mainbock nebo také Dark Ale [87].

Slad karamelový (Sladovna Záhlinice, Záhlinice, Česká republika) má vysoký obsah barevných a aromatických látek. Používá se ke zvýšení barevnosti, podpoře pěnivosti a k dosažení typického karamelového aroma. Je vhodný pro výrobu mnoha pивních stylů [87].

Slad melanoid (Sladovna Záhlinice, Záhlinice, Česká republika) má silné sladové aroma a dodává pivu polotmavou barvu. Používá se při výrobě pив typu Red Ale, Kellerbier apod. [87]

Slad vídeňský (Sladovna Záhlinice, Záhlinice, Česká republika) se používá na výrobu ležáků vídeňského typu a také na zvýšení barevnosti typických českých pив [87].

Slad český (Sladovna Záhlinice, Záhlinice, Česká republika) je určen především k výrobě typických českých pив. Jedná se o základní světlý slad pro výrobu všech ležáků [87].

Slad pšeničný (Sladovna Záhlinice, Záhlinice, Česká republika) je převážně použit na výrobu pšeničných pив (Weisenbier, Weissbier), ale lze jej také použít i při výrobě jiných druhů pив [87].

Slad Black (Sladovna Záhlinice, Záhlinice, Česká republika) neboli slad barvicí se používá při výrobě tmavých pив a černých pив. Vyrábí se pražením hotového sladu. Jedná se o speciálně vyrobený slad, který se převážně používá pro barvení piva. Tento slad má velmi charakteristické kávové aroma [87].

### 5.1.2 Charakteristika jednotlivých vzorků extraktů sladu

Sladový výtažek – extra světlý (Coopers Brewery, Adelaide, Austrálie) se používá jednak jako náhrada sladu (surogace) při vaření z mladinových koncentrátů nebo pro vaření piva ze sladových výtažků [88].

Sladový výtažek – tekutý světlý (Mr. Sládek, Šenov, Česká republika) je vyroben z českých světlých sladů. Využívá se k výrobě světlých ležáků a piv typu Pils [88].

Sladový výtažek – jantarový (Mr. Sládek, Šenov, Česká republika) je polotmavý a nepasterovaný výtažek vyrobený ze sladu plzeňského, tmavého, barvícího a vody. Doporučuje se jej použít k výrobě bitterů a polotmavých piv [88].

Sladový výtažek – pšeničný (Mr. Sládek, Šenov, Česká republika) je přírodní nepasterovaný výtažek. Doporučuje se k výrobě piv typu Weissbier, Witbier, Hefe, Dunkel, Wheat a pro některé typy piv Bock [88].

Sladový výtažek – tmavý (Mr. Sládek, Šenov, Česká republika) je nepasterovaný výtažek, který je vyroben ze sladu plzeňského, mnichovského, karamelového, barvícího a vody. Tento slad je určen k výrobě tmavého piva [88].

## 5.2 Metodika práce

Pro experimentální část bylo použito celkem 39 vzorků, z toho 34 vzorků tvořily pevné slady a 5 vzorků sladové výtažky. U všech vzorků byly provedeny následující analýzy: stanovení sušiny, stanovení volných AMK a stanovení BA a PA. Níže v textu jsou popsány jednotlivé metody stanovení.

### 5.2.1 Stanovení sušiny

#### *Pevné vzorky sladu*

Vzorky sladů byly rozemlety pomocí ručního mixéru na moučku. Do váženky uzavřené víčkem bylo na analytických vahách s přesností  $\pm 0,0001$  g naváženo asi 3 až 5 g rozemletého sladu. Následně byly vzorky sušeny dvě hodiny při teplotě 130 °C bez víčka v elektrické sušárně. Po této době se váženka vyjmula, uzavřela víčkem a vložila do exsikátoru asi na 20 minut a po uplynutí této doby se opět zvažila s přesností  $\pm 0,0001$  g na analytických vahách [89, 90]. Výsledkem byl průměr ze tří stanovení s výpočtem směrodatné odchylky.



Obsah sušiny ve vzorku v % se vypočte dle vzorce [91]:

$$S = \frac{m_1 - m_2}{m} 100,$$

kde S – sušina vzorku [%]

m – hmotnost navážky vzorku [g]

$m_1$  – hmotnost misky se vzorkem po sušení [g]

$m_2$  – hmotnost vysušené prázdné misky [g]

### *Sladové výtažky*

Metodika pro stanovení sušiny u sladových výtažků byla téměř stejná jako pro stanovení sušiny u pevných sladů. Jediným rozdílem bylo navažování tekutého vzorku do váženky s pískem a tyčinkou. Výsledkem byl opět průměr ze tří stanovení s výpočtem směrodatné odchylky. K výpočtu sušiny ve sladových výtažcích byl použit vzorec uvedený u pevných sladů.

### **5.2.2 Příprava vzorků pro stanovení biogenních aminů, polyaminů a volných aminokyselin (extrakce)**

#### *Pevné slady*

Vzorky sladů byly rozemlety pomocí ručního mixéru na moučku. Následně byl navážen 1 g z každého vzorku na analytických vahách do 15 ml zkumavky. Dále bylo ke každému vzorku napipetováno 10 ml 0,6 M HClO<sub>4</sub>. Poté byly vzorky ve zkumavce promíchány a umístěny na třepačku, kde došlo k 30–ti minutovému třepání. Následně byly vzorky odstředovány na odstředivce 5 minut. Po odstředění byl tekutý podíl vzorku přelit do 25 ml odměrné baňky. Ke zbytku vzorku ve zkumavce bylo přidáno 7 ml 0,6 M HClO<sub>4</sub>. Opět bylo provedeno promíchání, třepání pouze 15 minut a odstředování. Tekutý podíl byl přidán do odměrné baňky k prvnímu podílu. Ke zbytku vzorku ve zkumavce bylo opět přidáno 7 ml 0,6 M HClO<sub>4</sub>. Následovalo promíchání, třepání 15 minut a odstředování. Poslední tekutý podíl byl přidán ke dvěma předchozím podílům a odměrná baňka byla doplněna po rysku 0,6 M HClO<sub>4</sub>. Všechny vzorky byly na závěr zfiltrány přes papírový filtr do kádinky. Odtud byly filtráty vzorků přelivány do 15 ml zkumavek [92].

### *Sladové výtažky*

Příprava vzorků sladových výtažků pro stanovení BA a PA (extrakce) byla provedena téměř stejným způsobem jako příprava vzorků pevných sladů. Rozdílem bylo množství navažovaného vzorku, kdy z každého vzorku sladového výtažku bylo navažováno do zkumavky 5 g toho vzorku. Další rozdílem bylo množství  $\text{HClO}_4$ , která byla přidávána ke vzorku v množství 5 g.

#### **5.2.3 Stanovení volných aminokyselin**

Derivatizace vzorků pro stanovení volných aminokyselin (dále jen FAA) ve sladech a sladových extraktech byla provedena dle metodiky vytvořené na ústavu Technologie potravin v roce 2019. Tato metodika byla upravena na základě metodiky, kterou ve své práci uvádí Fiechter, Sivec a Helmut (2013), dále také Ma, Zhao, Li a Meng (2015) a Bosch, Alegria a Farré (2006) [93, 94, 95].

K 10  $\mu\text{l}$  vzorku byl přidán vnitřní standard (n-leucin  $c = 0,001 \text{ mol/l}$ ), 75  $\mu\text{l}$  borátového pufru (0,2M, pH 7,3) a 100  $\mu\text{l}$  AQC (1 mg/1 ml ACN) při působení teploty 55 °C po dobu 10 min. Vzorek byl následně zchlazen. Po zchlazení bylo přidáno 100  $\mu\text{l}$  kyseliny mravenčí 20mM a vzorek byl dávkován v množství 5  $\mu\text{l}$  do systému.

Vlastní stanovení bylo provedeno pomocí vysoce účinného kapalinového chromatografu Agilent Technologies, Santa Clara, USA. Jako kolona byla použita analytická kolona s předkolonou XBridge® BEH Plus C18 (3 x 10 mm, 2,5  $\mu\text{m}$ ), Waters, Irsko. UV detekce byla prováděna při vlnové délce  $\lambda = 254 \text{ nm}$ .

#### **5.2.4 Stanovení biogenních aminů a polyaminů**

Derivatizace vzorků pro stanovení BA a PA ve sladech a sladových extraktech byla provedena dle metodiky Dadákové, Křížka a Pelikánové. Následně byla provedena separace a detekce BA a PA na reverzních fázích vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP-HPLC) s UV detekcí ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) [92, 96, 97].

Z každého vzorku ve zkumavce byl odpipetován 1 ml do derivatizačních vialek. Ke vzorku bylo přidáno 100  $\mu\text{l}$  vnitřního standardu, kterým je 1,7–heptandiamin. Dále bylo přidáno 1,5 ml karbonátového pufru a 2 ml čerstvě připraveného dansylchloridu o koncentraci 5 g/l v acetonu. Následovalo 20–ti hodinové třepání v temnu. Po uplynutí této doby bylo do každého vzorku napipetováno 200  $\mu\text{l}$  prolinu a vzorky byly třepány 1 hodinu. Na závěr byly

do derivatizačních vialek napipetovány 3 ml heptanu a vzorky byly 3 minuty ručně protřepávány. Po třepání byl odebrán 1 ml z vrchní heptanové vrstvy, která obsahuje BA a PA, do vialek. Heptan byl následně z vialek odpařen při teplotě 60 °C pod proudem dusíku. Odparek ve vialce byl poté rozpuštěn v 1,5 ml acetonitrilu. Derivatizované vzorky byly před vlastním stanovením filtrovány a poté nanášeny na kolonu, kde došlo k separaci BA a PA [92, 96, 97]. Tato metodika pro stanovení obsahu BA a PA byla použita například v práci Buňka a kol. (2012) [98] nebo Lorencová a kol. (2012) [99].

Vlastní stanovení bylo provedeno pomocí vysoce účinného kapalinového chromatografu Dionex HPLC UltiMate 3000, Německo. Jako kolona byla použita analytická kolona s předkolonou ZORBAC RRHD Eclipse Plus C18 (3 x 50 mm, 1,8 µm), Agilent Technologies, USA.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro experimentální část této diplomové práce bylo použito celkem 39 vzorků, z toho 34 vzorků tvořily pevné slady a zbylých 5 vzorků sladové výtažky. Pevné slady se dále dělily na světlé a tmavé slady podle barvy, resp. podle hodnoty EBC. Kdy za světlé slady byly považovány slady s hodnotou EBC nižší než 20 a za tmavé slady byly považovány slady s hodnotou EBC vyšší než 20. U všech vzorků byly provedeny následující analýzy, a to stanovení sušiny, stanovení BA a PA a stanovení volných AMK.

### 6.1 Stanovení sušiny

#### 6.1.1 Stanovení sušiny v pevných vzorcích sladu

Stanovení sušiny bylo provedeno dle metodiky uvedené v kapitole 5.2.1. Výsledné hodnoty byly vypočítány dle vzorce v kapitole 5.2.1. Zjištěné výsledky jsou pro světlé slady uvedeny v tabulce 2 a pro tmavé slady v tabulce 3, kdy se jedná o průměr ze tří měření se směrodatnou odchylkou.

Tabulka 2: Obsah sušiny a vody ve vzorcích světlých sladů (v %)

Světlé slady		
Název	Obsah sušiny ± S.D. [%]	Vlhkost ± S.D. [%]
Carapills	96,54 ± 0,77	3,46 ± 0,77
Pilsner Malt	95,79 ± 0,74	4,21 ± 0,74
Bohemian Pilsner Malt	95,38 ± 0,89	4,62 ± 0,89
Vienna malt	96,04 ± 0,69	3,96 ± 0,69
Munich malt	96,37 ± 0,54	3,63 ± 0,54
Pšeničný slad světlý	96,57 ± 0,18	3,43 ± 0,18
Slad mnichovský	96,87 ± 0,48	3,13 ± 0,48
Slad vídeňský	96,82 ± 0,14	3,18 ± 0,14
Slad český	96,65 ± 0,51	3,35 ± 0,51
Slad pšeničný	95,46 ± 0,16	4,54 ± 0,16
Slad žitný	96,76 ± 0,58	3,24 ± 0,58
Pale Ale	96,13 ± 0,24	3,87 ± 0,24
Kyselý slad	95,28 ± 0,19	4,72 ± 0,19
Pšeničný tmavý slad	97,00 ± 0,31	3,00 ± 0,31
Pšeničný nakuřovaný slad	95,84 ± 0,11	4,16 ± 0,11
Nakuřovaný slad	96,92 ± 0,20	3,08 ± 0,20

\* S. D. – směrodatná odchylka

Obsah sušiny v jednotlivých vzorcích světlých sladů se pohyboval v rozmezí 95,28 – 97,00 %. Pro srovnání najdeme v příloze č. 1 hodnoty obsahu sušiny, které uvádí výrobce. Dle literatury by měl být obsah sušiny u světlých sladů cca 96,5 % [18, 90].

Obsah vlhkosti ve vzorcích světlých sladů se pohyboval v rozmezí 3,00 – 4,72 %. Pro srovnání pak v příloze č. 2 najdeme údaje o vlhkosti, které udává výrobce. Vlhkost světlých sladů by měla být v rozmezí 3,0 – 4,8 % a neměla by přesáhnout hodnotu 6,2 % [15, 17, 100].

Tabulka 3: Obsah sušiny a vody ve vzorcích tmavých sladů (v %)

Tmavé slady		
Název	Obsah sušiny ± S.D. [%]	Vlhkost ± S.D. [%]
Abbey malt	97,11 ± 0,67	2,89 ± 0,67
Carahell	97,10 ± 0,74	2,90 ± 0,74
Special W	97,13 ± 0,16	2,87 ± 0,16
Caraamber	96,89 ± 0,74	3,11 ± 0,74
Carafa	96,29 ± 0,06	3,71 ± 0,06
Caramunich	97,24 ± 0,91	2,76 ± 0,91
Caraaroma	97,76 ± 0,23	2,24 ± 0,23
Carafa special	96,42 ± 0,23	3,58 ± 0,23
Carabelge	97,06 ± 0,54	2,94 ± 0,54
Carabohemian	97,03 ± 0,13	2,97 ± 0,13
Carawheat	96,95 ± 0,28	3,05 ± 0,28
Cararye	97,28 ± 0,53	2,72 ± 0,53
Carared	98,10 ± 0,87	1,90 ± 0,87
Slad karamelový	96,45 ± 0,05	3,55 ± 0,05
Slad melanoid	97,08 ± 0,05	2,92 ± 0,05
Slad Black	96,61 ± 0,16	3,39 ± 0,16
Melanoidní slad	96,82 ± 0,06	3,18 ± 0,06
Čokoládový pšeničný pražený slad	98,93 ± 0,48	1,07 ± 0,48
Čokoládový žitný pražený slad	98,56 ± 0,06	1,44 ± 0,06

\* S. D. – směrodatná odchylka

Obsah sušiny v jednotlivých vzorcích tmavých sladů se pohyboval v rozmezí 96,29 – 98,93 %. Pro srovnání jsou v příloze č. 1 uvedeny hodnoty obsahu sušiny, které uvádí výrobce. Dle literatury by obsah sušiny u tmavých sladů měl být cca 98 % [18, 90].

Obsah vlhkosti ve vzorcích se pohyboval v rozmezí 1,07 – 3,71 %. Pro srovnání pak v příloze č. 2 najdeme údaje o vlhkosti, které udává výrobce. Vlhkost tmavých sladů by měla být v rozmezí 1,0 – 3,8 % a neměla by přesáhnout hodnotu 5,2 % [15, 17, 100].

Tabulka 4: Porovnání sladů z hlediska obsahu sušiny a vlhkosti (v %)

	<b>Světlé slady</b>	<b>Tmavé slady</b>
<b>Rozmezí sušiny [%]</b>	95,28 – 97,00	96,29 – 98,93
<b>Sušina dle literatury [%]</b>	cca 96,5	cca 98
<b>Rozmezí vlhkosti [%]</b>	3,00 – 4,72	1,07 – 3,71
<b>Vlhkost dle literatury [%]</b>	3 – 4,8 (max. 6,2)	1 – 3,8 (max. 5,2)

Rozmezí sušiny a vlhkosti u světlých a tmavých sladů je uvedeno v tabulce 4. Hodnoty sušiny u světlých a tmavých sladů se pohybovaly kolem hodnoty, kterou uvádí literatura. Co se týče vlhkosti sladu tak, ta by měla být v rozmezí 3 až 5 %, ale záleží na typu vyráběného sladu. Vyšší hodnoty vlhkosti u zpracovávaného sladu nejsou žádoucí, protože mohou způsobovat problémy jako např. snižovat extraktivnost, způsobovat problémy při skladování (náchylnost sladu k rozmnožení mikrobiální kontaminace) a také způsobovat problémy při kvašení. Vlhkost sladu by proto neměla přesáhnout hodnotu 6 % [15, 100, 101]. Hodnoty vlhkosti ve zkoumaných vzorcích nepřekračovaly stanovené meze.

### 6.1.2 Stanovení sušiny ve sladových výtažcích

Stanovení sušiny bylo provedeno dle metodiky pro sladové výtažky uvedené v kapitole 5.2.1. Výsledné hodnoty byly vypočítány dle vzorce v kapitole 5.2.1. Zjištěné výsledky jsou uvedeny v tabulce 3 a jedná se o průměr ze tří měření s následným výpočtem směrodatné odchylky.

Tabulka 5: Obsah sušiny a vody ve sladových výtažcích (v %)

<b>Sladové výtažky</b>		
<b>Název</b>	<b>Obsah sušiny ± S.D. [%]</b>	<b>Vlhkost ± S.D. [%]</b>
Sladový výtažek – extra světlý	78,43 ± 0,23	21,57 ± 0,23
Sladový výtažek – tekutý světlý	79,50 ± 0,07	20,50 ± 0,07
Sladový výtažek – jantarový	78,51 ± 0,14	21,49 ± 0,14
Sladový výtažek – pšeničný	78,79 ± 0,25	21,21 ± 0,25
Sladový výtažek – tmavý	79,78 ± 0,06	20,22 ± 0,06

\* S.D. – směrodatná odchylka

Obsah sušiny ve sladových výtažcích se pohyboval v rozmezí 78,43 – 79,78 %. V příloze č. 1 jsou uvedeny hodnoty obsahu sušiny, které uvádí výrobce. Dle literatury by se měl obsah sušiny ve sladových výtažcích pohybovat v rozmezí  $80 \pm 3$  % [102, 103].

Obsah vlhkosti u zkoumaných vzorků se pohyboval v rozmezí 20,22 – 21,57 %. Pro srovnání jsou v příloze č. 2 uvedeny údaje o vlhkosti, které udává výrobce. Podle literatury by měl být obsah vody ve sladových výtažcích v rozmezí 16 – 23 % [12, 103].

## 6.2 Stanovení volných aminokyselin

Stanovení FAA bylo provedeno dle metodiky uvedené v kapitole 5.2.4. Ve vzorcích sladů a sladových výtažků byl sledován obsah zejména FAA, které slouží jako prekurzory BA a PA. Konkrétně se jedná o aminokyseliny jako je tyrozin, histidin, lyzin, arginin, ornitin a fenylalanin. Kdy tyrozin je prekurzorem tyraminu, histidin je prekurzorem histaminu, lyzin je prekurzorem kadaverinu a fenylalanin je prekurzorem fenyletylaminu. Prekurzorem putrescinu, sperminu a spermidinu je ornitin. Ornitin vzniká hydrolyzou argininu a jeho dekarboxylací vzniká již zmíněný putrescin, spermin a spermidin [70, 75].

Nejprve byl hodnocen obsah vybraných FAA v jednotlivých vzorcích a až poté byl hodnocen celkový obsah FAA ve sladech a sladových výtažcích.

### 6.2.1 Stanovení FAA ve světlých sladech

Slad Carapilis (CP)

Zastoupení prekurzorů BA ve vzorku sladu bylo následující ornitin ( $245 \pm 2$  mg/kg), arginin ( $213 \pm 8$  mg/kg), histidin ( $129 \pm 5$  mg/kg), tyrozin ( $112 \pm 4$  mg/kg), lyzin ( $72 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $11 \pm 1$  mg/kg).

Pilsner malt (PM)

Z FAA byl v tomto vzorku nejvíce zastoupen ornitin v množství ( $275 \pm 1$  mg/kg). Další FAA byly zde zastoupeny v množství arginin ( $271 \pm 2$  mg/kg), histidin ( $151 \pm 11$  mg/kg), tyrozin ( $115 \pm 2$  mg/kg), lyzin ( $73 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $15 \pm 1$  mg/kg).

Bohemian Pilsner malt (BPM)

Ve vzorku byl nejvíce zastoupen ornitin ( $247 \pm 1$  mg/kg), druhou nejvíce zastoupenou FAA byl arginin ( $217 \pm 2$  mg/kg). Další FAA byly zastoupeny v množství histidin ( $123 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $91 \pm 4$  mg/kg), lyzin ( $65 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $12 \pm 1$  mg/kg).

#### Vienna malt (VM)

Ve sladu byl nejvíce zastoupen z FAA arginin ( $255 \pm 2$  mg/kg) a ornitin ( $239 \pm 1$  mg/kg). Zbylé FAA se ve vzorku nacházely v množství histidin ( $108 \pm 3$  mg/kg), tyrozin ( $107 \pm 2$  mg/kg), lyzin ( $68 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $11 \pm 1$  mg/kg).

#### Munich malt (MM)

Zastoupení FAA ve vzorku sladu bylo následující arginin ( $259 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $233 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $85 \pm 4$  mg/kg), lyzin ( $76 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $28 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $21 \pm 1$  mg/kg).

#### Pšeničný slad světlý (PSS)

Ve vzorku sladu byly jednotlivé FAA zastoupeny v následujícím množství arginin ( $183 \pm 7$  mg/kg), ornitin ( $164 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $72 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $35 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $15 \pm 1$  mg/kg).

#### Slad mnichovský (SMN)

Nejvíce zastoupenou FAA ve vzorku byl tyrozin ( $182 \pm 1$  mg/kg). Zastoupení ostatních FAA bylo následující arginin ( $177 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $165 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $138 \pm 12$  mg/kg), lyzin ( $125 \pm 5$  mg/kg) a fenylalanin ( $15 \pm 1$  mg/kg).

#### Slad vídeňský (SV)

Ve vzorku sladu dosahoval nejvyšších hodnot arginin ( $207 \pm 1$  mg/kg). Druhou nejvíce zastoupenou FAA byl tyrozin ( $182 \pm 1$  mg/kg). Množství zbylých FAA bylo následující ornitin ( $175 \pm 4$  mg/kg), histidin ( $167 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $157 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $15 \pm 1$  mg/kg).

#### Slad český (SČ)

Ve vzorku sladu byly jednotlivé FAA zastoupeny v následujícím množství arginin ( $78 \pm 4$  mg/kg), histidin ( $78 \pm 2$  mg/kg), ornitin ( $65 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $56 \pm 3$  mg/kg), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $14 \pm 1$  mg/kg).

#### Slad pšeničný (SP)

Ve vzorku sladu byl nejvíce zastoupen arginin ( $360 \pm 1$  mg/kg). Obsah ostatních FAA byl následující tyrozin ( $189 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $175 \pm 3$  mg/kg), histidin ( $162 \pm 4$  mg/kg), lyzin ( $133 \pm 6$  mg/kg) a fenylalanin ( $12 \pm 1$  mg/kg).



### Slad žitný (SŽ)

Zastoupení prekurzorů BA ve vzorku sladu bylo následující arginin ( $203 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $189 \pm 9$  mg/kg), ornitin ( $175 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $156 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $112 \pm 11$  mg/kg) a fenylalanin ( $15 \pm 1$  mg/kg).

### Pale Ale (SPA)

Ve vzorku sladu byl nejvíce zastoupen z FAA arginin ( $416 \pm 6$  mg/kg) a ornitin ( $399 \pm 4$  mg/kg). Zbylé FAA se ve vzorku nacházely v množství histidin ( $201 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $187 \pm 2$  mg/kg), lyzin ( $141 \pm 14$  mg/kg) a fenylalanin ( $14 \pm 1$  mg/kg).

### Kyselý slad (KS)

Ve sladu byl nejvíce z FAA zastoupen arginin ( $360 \pm 6$  mg/kg) a ornitin ( $341 \pm 2$  mg/kg). Ostatní FAA se ve vzorku nacházely v množství histidin ( $204 \pm 17$  mg/kg), tyrozin ( $188 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $146 \pm 5$  mg/kg) a fenylalanin ( $15 \pm 1$  mg/kg).

### Pšeničný tmavý slad (PTS)

Zastoupení jednotlivých FAA ve vzorku sladu bylo následující arginin ( $272 \pm 6$  mg/kg), tyrozin ( $173 \pm 6$  mg/kg), histidin ( $171 \pm 15$  mg/kg), ornitin ( $110 \pm 9$  mg/kg), lyzin ( $65 \pm 3$  mg/kg) a fenylalanin ( $13 \pm 1$  mg/kg).

### Pšeničný nakuřovaný slad (PNS)

Ve sladu byl nejvíce z FAA zastoupen arginin ( $240 \pm 7$  mg/kg). Obsah ostatních FAA byl následující histidin ( $193 \pm 16$  mg/kg), ornitin ( $190 \pm 6$  mg/kg), tyrozin ( $172 \pm 2$  mg/kg), lyzin ( $78 \pm 4$  mg/kg) a fenylalanin ( $13 \pm 1$  mg/kg).

### Nakuřovaný slad (NS)

Ve sladu byl nejvíce z FAA zastoupen arginin ( $425 \pm 11$  mg/kg) a ornitin ( $401 \pm 17$  mg/kg). Ostatní FAA se ve vzorku nacházely v množství tyrozin ( $185 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $184 \pm 4$  mg/kg), histidin ( $180 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $12 \pm 1$  mg/kg).

## 6.2.2 Stanovení FAA v tmavých sladech

### Abbey malt (AM)

Zastoupení jednotlivých FAA ve vzorku bylo následující ornitin ( $126 \pm 1$  mg/kg), arginin ( $98 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $83 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $78 \pm 2$  mg/kg), histidin ( $68 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $23 \pm 1$  mg/kg).

## Slad Carahell (CH)

Ve vzorku sladu se jednotlivé FAA nacházely v následujícím množství ornitin ( $109 \pm 4$  mg/kg), arginin ( $77 \pm 3$  mg/kg), histidin ( $71 \pm 4$  mg/kg), tyrozin ( $66 \pm 2$  mg/kg), lyzin ( $52 \pm 2$  mg/kg) a fenylalanin ( $13 \pm 1$  mg/kg).

## Slad Special W (SW)

Množství jednotlivých FAA ve vzorku bylo následující histidin ( $52 \pm 1$  mg/kg), arginin ( $44 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $39 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $26 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $20 \pm 2$  mg/kg) a fenylalanin ( $16 \pm 1$  mg/kg).

## Slad Caraamber (CAM)

FAA se ve vzorku sladu nacházely v následujícím množství arginin ( $98 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $93 \pm 3$  mg/kg), tyrozin ( $87 \pm 3$  mg/kg), ornitin ( $79 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $78 \pm 4$  mg/kg) a fenylalanin ( $38 \pm 1$  mg/kg).

## Slad Carafa (CF)

Ve vzorku sladu byl nejvíce zastoupen arginin ( $50 \pm 1$  mg/kg). Obsah zbylých FAA byl následující tyrozin ( $31 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $29 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $24 \pm 2$  mg/kg) a fenylalanin ( $14 \pm 2$  mg/kg).

## Slad Caramunich (CMU)

Nejvíce zastoupenou FAA ve vzorku byl ornitin ( $88 \pm 1$  mg/kg). Množství zbylých FAA bylo následující histidin ( $76 \pm 1$  mg/kg), arginin ( $72 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $67 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $58 \pm 2$  mg/kg) a fenylalanin ( $19 \pm 1$  mg/kg).

## Slad Caraaroma (CAR)

Ve vzorku sladu byl nejvíce zastoupen histidin ( $62 \pm 1$  mg/kg). Dále se ve vzorku vyskytoval arginin ( $48 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $46 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $28 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $15 \pm 1$  mg/kg).

## Slad Carafa special (CFS)

Nejvíce zastoupenou FAA ve vzorku byl arginin ( $49 \pm 1$  mg/kg). Množství ostatních FAA bylo následující ornitin ( $28 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $28 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $23 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $19 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $16 \pm 1$  mg/kg).

**Slad Carabohemian (CBO)**

Zastoupení prekurzorů BA ve vzorku bylo následující: arginin ( $46 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $47 \pm 2$  mg/kg), tyrozin ( $29 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $26 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $25 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $12 \pm 1$  mg/kg).

**Slad Carawheat (CW)**

Nejvíce zastoupenou FAA ve vzorku byl arginin ( $44 \pm 1$  mg/kg). Další FAA se ve vzorku vyskytovaly v menším množství a jejich obsah byl následující tyrozin ( $33 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $27 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $20 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $12 \pm 1$  mg/kg).

**Slad Cararye (CRY)**

Zastoupení jednotlivých FAA ve vzorku bylo následující arginin ( $43 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $36 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $25 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $24 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $21 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $17 \pm 1$  mg/kg).

**Slad Carared (CRD)**

Největší zastoupení z FAA ve vzorku měl arginin ( $81 \pm 1$  mg/kg) a ornitin ( $74 \pm 2$  mg/kg). Zbylé FAA se ve vzorku vyskytovaly v následujícím množství tyrozin ( $37 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $25 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $23 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $17 \pm 1$  mg/kg).

**Slad karamelový (SK)**

Zastoupení jednotlivých FAA ve vzorku sladu bylo následující arginin ( $67 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $54 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $26 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $24 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $19 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $14 \pm 1$  mg/kg).

**Slad melanoid (SM)**

Ve vzorku sladu se jednotlivé FAA nacházely v množství arginin ( $100 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $96 \pm 2$  mg/kg), histidin ( $84 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $75 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $45 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $12 \pm 1$  mg/kg).

**Slad Black – barvící (SB)**

Nejvíce zastoupenou FAA ve vzorku byl histidin ( $77 \pm 5$  mg/kg). Ostatní FAA se ve vzorku vyskytovaly v menším množství a jejich obsah byl následující arginin ( $41 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $28 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $26 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $20 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $13 \pm 1$  mg/kg).

#### Melanoidní slad (SM)

Nejvíce zastoupenou FAA ve vzorku byl arginin ( $109 \pm 1$  mg/kg). Zbylé FAA se ve vzorku vyskytovaly v množství ornitin ( $95 \pm 2$  mg/kg), tyrozin ( $41 \pm 2$  mg/kg), histidin ( $41 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $14 \pm 1$  mg/kg).

#### Čokoládový pšeničný pražený slad (ČPPS)

Zastoupení jednotlivých FAA ve vzorku sladu bylo následující arginin ( $57 \pm 1$  mg/kg), histidin ( $46 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $35 \pm 4$  mg/kg), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $20 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $12 \pm 1$  mg/kg).

#### Čokoládový žitný pražený slad (ČŽPS)

Ve vzorku sladu se jednotlivé FAA nacházely v množství histidin ( $55 \pm 4$  mg/kg), arginin ( $42 \pm 1$  mg/kg), lyzin ( $26 \pm 1$  mg/kg), tyrozin ( $20 \pm 1$  mg/kg), ornitin ( $16 \pm 1$  mg/kg) a fenylalanin ( $11 \pm 1$  mg/kg).

### 6.2.3 Stanovení FAA ve sladových výtažcích

#### Sladový výtažek extra světlý (ES)

Ve sladovém výtažku extra světlém byl nejvíce ze všech FAA zastoupen arginin ( $182 \pm 1$  mg/l). Množství zbylých FAA bylo následující ornitin ( $181 \pm 4$  mg/l), tyrozin ( $141 \pm 13$  mg/l), histidin ( $53 \pm 6$  mg/l) a lyzin ( $25 \pm 1$  mg/l).

#### Sladový výtažek tekutý světlý (TS)

Množství jednotlivých FAA ve vzorku sladového výtažku bylo následující lyzin ( $206 \pm 3$  mg/l), tyrosin ( $188 \pm 1$  mg/l), arginin ( $182 \pm 7$  mg/l), ornitin ( $170 \pm 1$  mg/l), histidin ( $52 \pm 2$  mg/l) a fenylalanin ( $<1$  mg/l).

#### Sladový výtažek jantarový (JAN)

Nejvíce zastoupenými FAA ve vzorku byly arginin ( $443 \pm 24$  mg/l) a ornitin ( $391 \pm 1$  mg/l). Množství ostatních FAA bylo následující histidin ( $208 \pm 1$  mg/l), tyrozin ( $190 \pm 1$  mg/l), lyzin ( $127 \pm 7$  mg/l) a fenylalanin ( $<1$  mg/l).

#### Sladový výtažek pšeničný (PŠE)

Ve sladovém výtažku byl nejvíce z FAA zastoupen arginin ( $187 \pm 1$  mg/l) a ornitin ( $184 \pm 1$  mg/l). Ostatní FAA se ve vzorku nacházely v množství tyrozin ( $80 \pm 4$  mg/l), histidin ( $62 \pm 5$  mg/l), lyzin ( $27 \pm 1$  mg/l) a fenylalanin ( $<1$  mg/l).

Sladový výtažek tmavý (TM)

Ve sladovém výtažku tmavém byl nejvíce zastoupen arginin ( $206 \pm 1$  mg/l) a ornitin ( $171 \pm 1$  mg/l). Množství zbylých FAA bylo následující histidin ( $88 \pm 2$  mg/l), lyzin ( $72 \pm 5$  mg/l), tyrozin ( $8 \pm 1$  mg/l) a fenylalanin ( $<1$  mg/l).

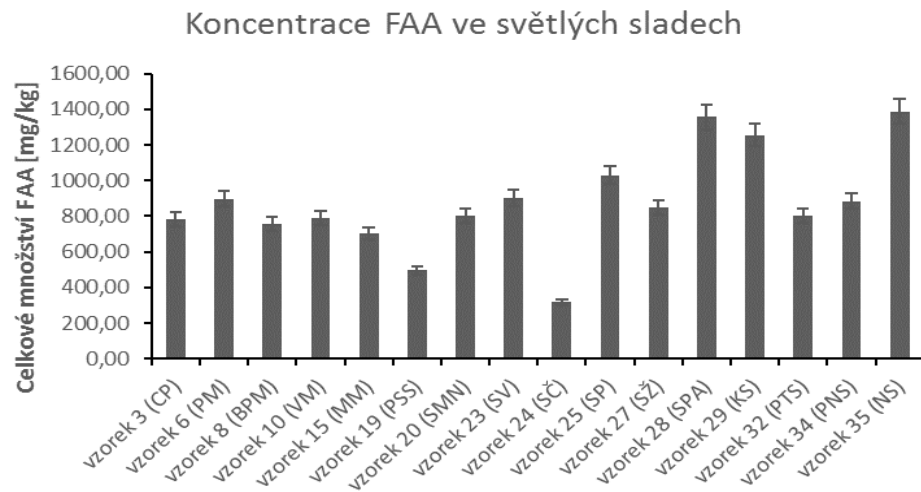
#### **6.2.4 Celkové hodnocení sladů a sladových výtažků z hlediska obsahu vybraných volných aminokyselin**

Ve vzorcích sladů a sladových výtažků byl sledován obsah vybraných FAA (histidin, arginin, tyrozin, fenylalanin, lyzin, ornitin) z hlediska jejich přeměny na sledované BA a PA.

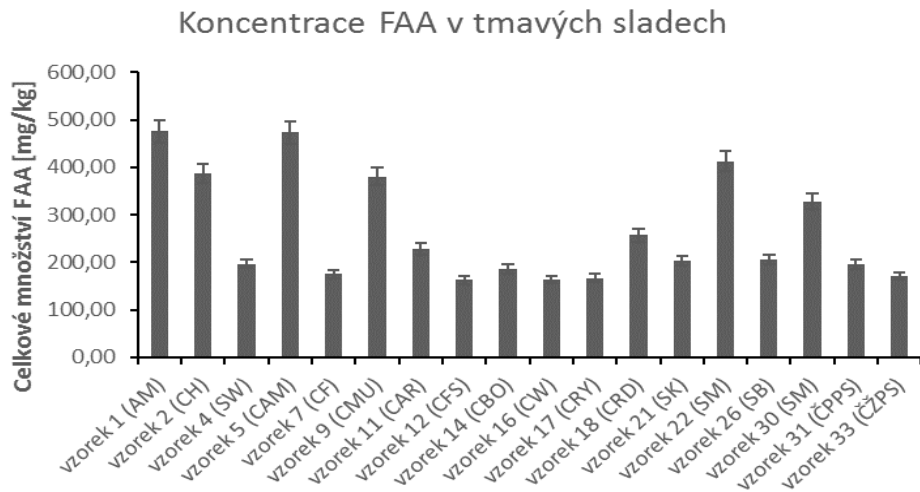
Celková množství FAA u jednotlivých vzorků světlých sladů jsou uvedena v grafech (Obr. 2-4). Celkové množství vybraných FAA ve vzorcích světlých sladů se pohybovalo v rozmezí 317 – 1387 mg/kg a u tmavých sladů se pohybovalo v rozmezí 163 – 476 mg/kg. Ve sladových výtažcích bylo celkové množství vybraných FAA ve vzorcích detekováno v rozmezí 540 – 1360 mg/l.

Cong Nie a kol. (2010) stanovil celkové množství FAA u zkoumaných vzorků sladů v rozmezí 1974 – 2347 mg/kg. Ve své práci také určil množství jednotlivých FAA ve vzorcích jednotlivých sladů. Obsah histidinu se pohyboval kolem hodnoty 50 mg/kg, argininu, tyraminu a lyzinu kolem hodnoty 100 mg/kg a fenylalaninu kolem hodnoty 150 mg/kg [104]. Poměrně široké rozmezí koncentrací jednotlivých FAA ve sladech prokázal ve své práci Nogata a kol. (2011). Jednotlivé FAA byly zde detekovány v rozmezí: histidin 22 – 208 mg/kg, arginin 44 – 518 mg/kg, tyrozin 15 – 190 mg/kg, fenylalanin 11 – 218 mg/kg a lyzin 25 – 249 mg/kg [105]. Dalšími, kdo se zabývali stanovením FAA ve sladu byli Kocadağh a kol. (2015), kteří stanovili obsah histidinu 59,6 mg/kg, argininu 181,5 mg/kg, tyrozinu 38,4 mg/kg, fenylalaninu 61,2 mg/kg a lyzinu 83,3 mg/kg [106].

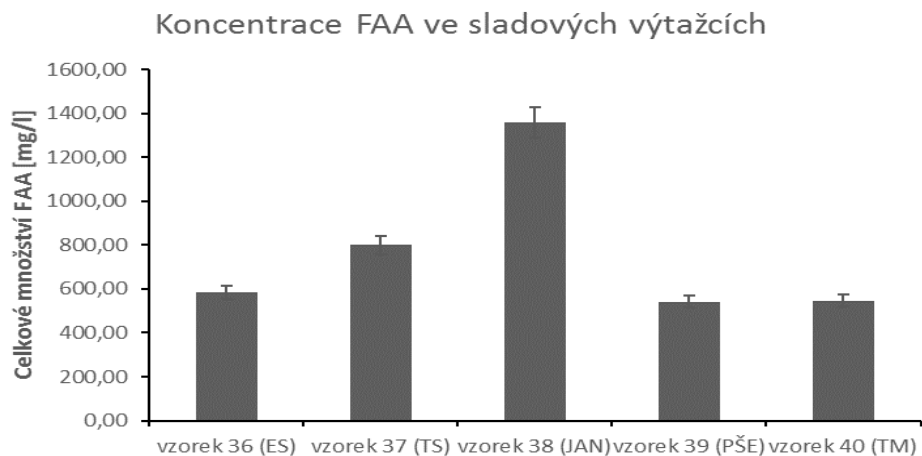
Detekované celkové obsahy FAA ve vzorcích sladů a sladových výtažků a také obsah vybraných FAA v jednotlivých vzorcích jsou v souladu s výše uvedenými pracemi. Z výsledků stanovení uvedených u jednotlivých vzorků sladů a sladových výtažků lze prokázat závislost mezi výskytem jednotlivých FAA a výskytem jednotlivých BA a PA.



Obrázek 2: Celkové množství FAA ve světlých sladech



Obrázek 3: Celkové množství FAA v tmavých sladech



Obrázek 4: Celkové množství FAA ve sladových výtazcích

### 6.3 Stanovení biogenních aminů a polyaminů

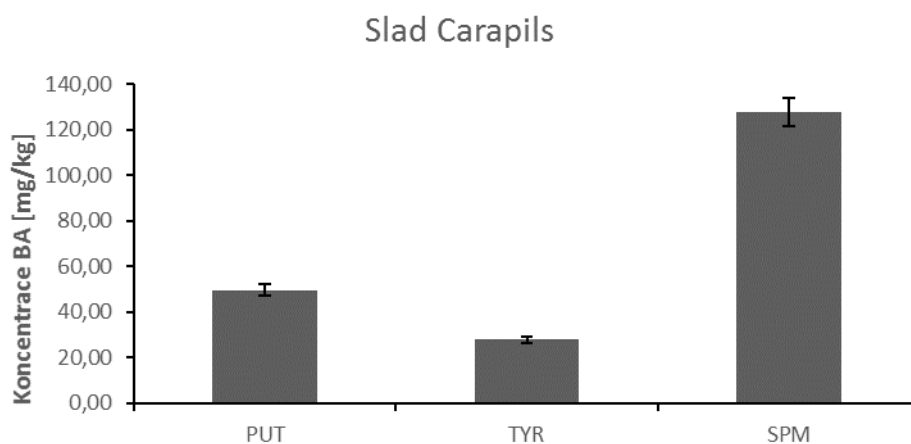
Stanovení BA a PA bylo provedeno dle metodiky uvedené v kapitole 5.2.3. Ve vzorcích sladů a sladových výtažků byl sledován obsah tryptaminu (dále jen TRP), fenyletylaminu (dále jen PHE), putrescinu (dále jen PUT), kadaverinu (dále jen CAD), histaminu (dále jen HIS), tyraminu (dále jen TYR), sperminu (dále jen SPE) a spermidinu (dále jen SPM). V následujících kapitolách byly brány BA a PA pod jednotným označením jako BA. Nejprve byl hodnocen obsah jednotlivých BA ve vzorcích a až poté byl hodnocen celkový obsah BA ve sladech a sladových výtažcích v rámci daných skupin.

Putrescin, spermin a spermidin patří mezi přirozené složky sladů. Ostatní BA mohou indikovat kontaminaci sladů a sladových výtažků mikroorganismy (histamin, tyramin, aj.). Získané hodnoty mohou být užitečné z hlediska charakterizace stupně mikrobiologické kvality použitého sladu, tedy zda nedošlo k příliš velké kontaminaci mikroorganismy [7, 9, 74, 75]. Důležité je i sledování obsahu BA z hlediska možné toxicity pro člověka, zejména pokud je koncentrace BA vyšší než 100 mg/kg nebo 100 mg/l. Vyšší příjem BA v potravinách, může totiž u konzumenta vyvolat nežádoucí účinky. Tyto nežádoucí účinky může způsobit vyšší příjem histaminu, tyraminu a fenyletylaminu v potravinách. Putrescin a kadaverin nevykazují přímé toxické účinky, ale mohou zesilovat toxický účinek jiných BA [1, 75].

#### 6.3.1 Stanovení biogenních aminů ve světlých sladech

Slad Carapilis (CP)

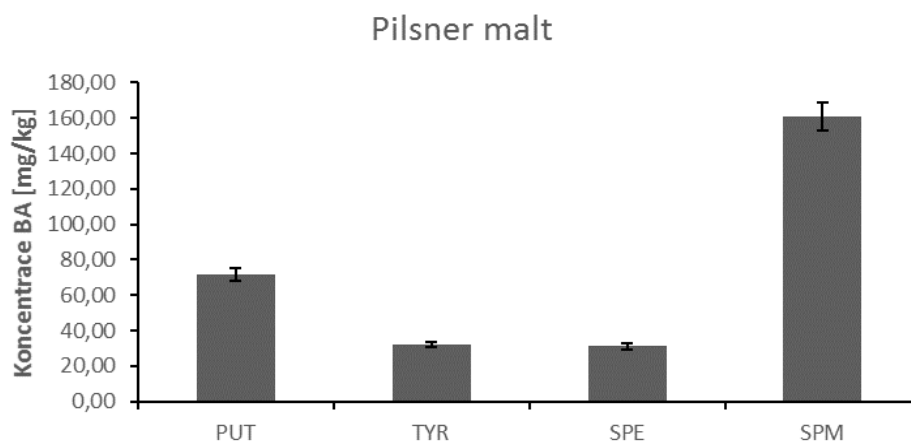
Na obrázku 5 je uveden obsah nejvíce zastoupených BA ve vzorku. Z grafu je patrné, že nejvyšších hodnot dosahoval spermin ( $128 \pm 6$  mg/kg). Druhých nejvyšších hodnot dosahoval putrescin ( $50 \pm 3$  mg/kg). Třetím nejvíce zastoupeným BA byl tyramin ( $28, \pm 1$  mg/kg). Ostatní BA byly ve vzorku zastoupeny v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Konkrétní hodnoty jsou následující: kadaverin ( $9 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $8 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).



Obrázek 5: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carapilis

#### Pilsner malt (PM)

Z grafu (Obr. 6) je patrné, že nejvyšších hodnot dosahoval spermin ( $161 \pm 24$  mg/kg). Druhým nejvíce zastoupeným BA byl putrescin ( $72 \pm 23$  mg/kg). Dále se ve vzorku vyskytoval tyramin ( $32 \pm 6$  mg/kg), spermidin ( $31 \pm 5$  mg/kg). Kadaverin ( $10 \pm 4$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg) byly ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg.

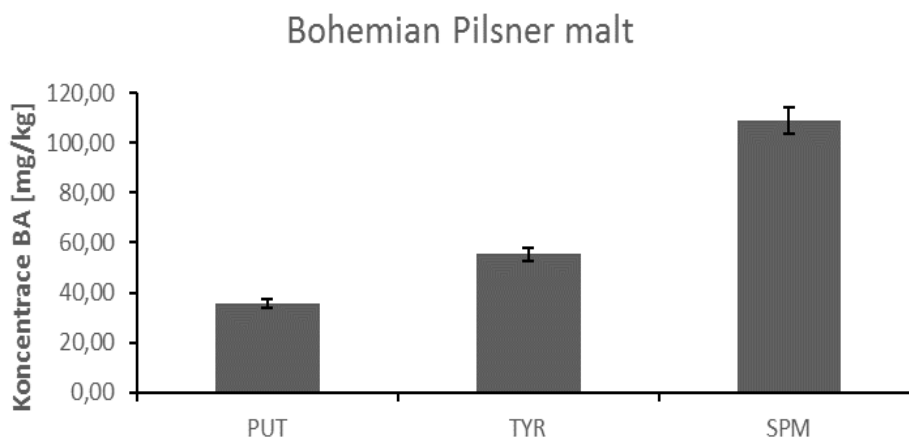


Obrázek 6: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Pilsner malt

#### Bohemian Pilsner malt (BPM)

Z grafu na obrázku 7 lze vyčíst, že nejvyšších hodnot dosahoval spermin ( $109 \pm 14$  mg/kg). Druhým nejvíce zastoupeným BA byl tyramin ( $55 \pm 5$  mg/kg) a dalším zastoupeným aminem byl putrescin ( $36 \pm 3$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 10 mg/kg. Konkrétní zastoupení ostatních BA bylo následující: spermidin ( $8 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $4 \pm 2$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).

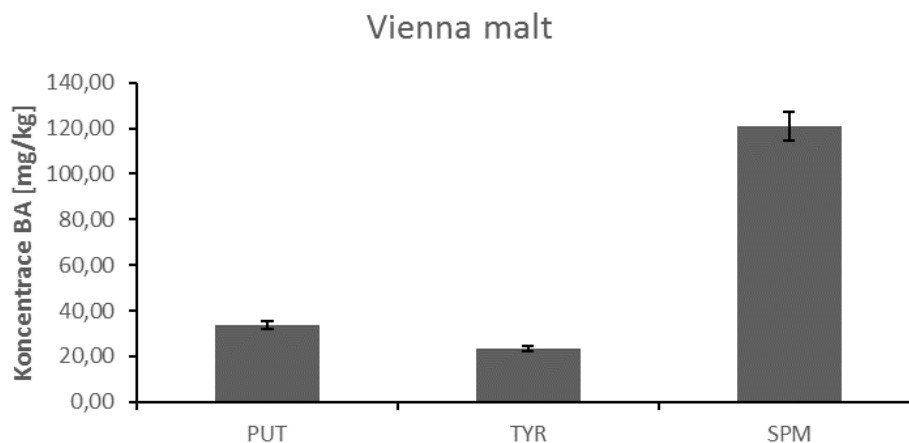




Obrázek 7: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Bohemian Pilsner malt

#### Vienna malt (VM)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku sladu byl spermin ( $121 \pm 8$  mg/kg), což je patrné z grafu na obrázku 8. Dalšími BA, které se vyskytovaly ve vzorku jsou putrescin ( $33 \pm 8$  mg/kg) a tyramin ( $23 \pm 2$  mg/kg). Množství zbylých BA bylo nižší než 10 mg/kg. Jednalo se o BA: spermidin ( $9 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $7 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).

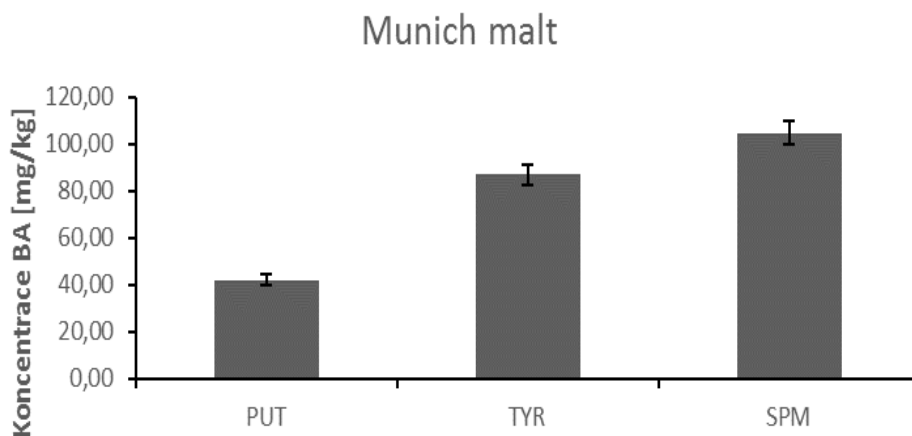


Obrázek 8: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Vienna malt

#### Munich malt (MM)

Z výsledků uvedených v grafu (Obr. 9) je patrné, že nejvyšších hodnot dosahoval spermin ( $105 \pm 7$  mg/kg). Druhým nejvíce zastoupeným BA byl tyramin ( $87 \pm 1$  mg/kg).

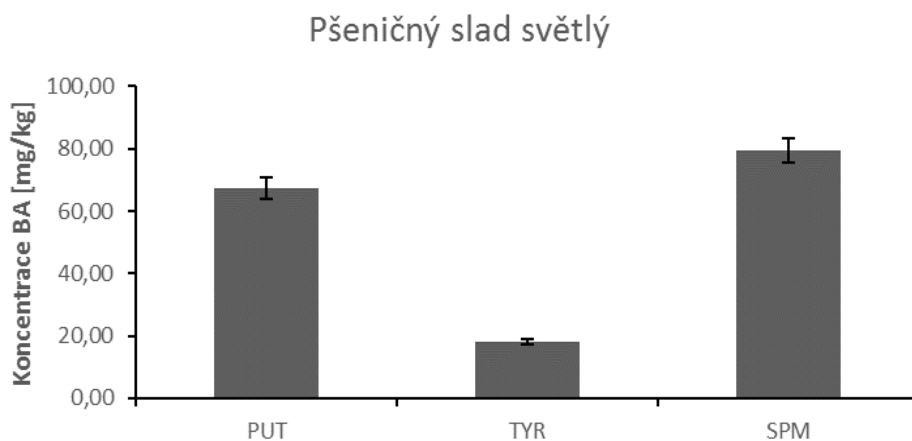
Třetím nejvíce zastoupeným BA byl putrescin ( $42 \pm 3$  mg/kg). Dále se ve vzorku vyskytovaly BA s koncentrací nižší než 10 mg/kg. Jejich zastoupení bylo následující: kadaverin ( $9 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $4 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).



Obrázek 9: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Munich malt

Pšeničný slad světlý (PSS)

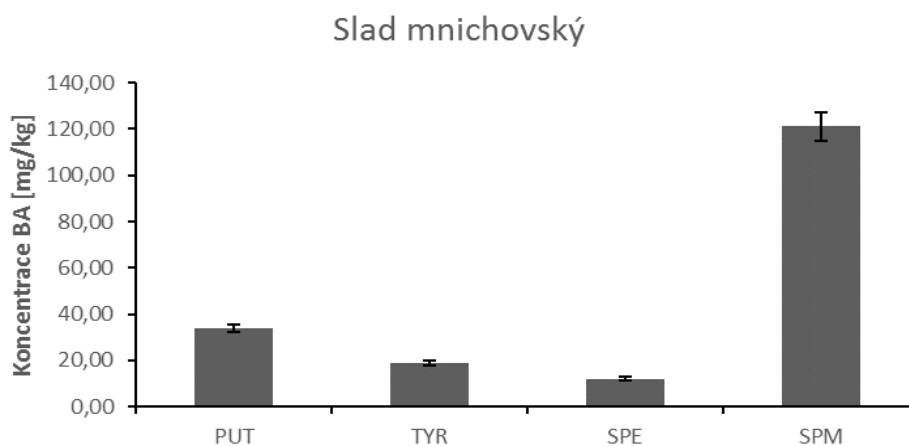
Na obrázku 10 je uveden obsah nejvíce zastoupených BA ve vzorku sladu. Z grafu je zjevné, že nejvyšších hodnot dosahoval spermin ( $79 \pm 8$  mg/kg). Druhých nejvyšších hodnot dosahoval putrescin ( $67 \pm 13$  mg/kg). Třetím nejvíce zastoupeným BA byl tyramin ( $18 \pm 2$  mg/kg). Obsah ostatních BA byl nižší než 10 mg/kg. Konkrétní hodnoty jsou následující: spermin ( $6 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $5 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).



Obrázek 10: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu pšeničném světlém

## Slad mnichovský (SMN)

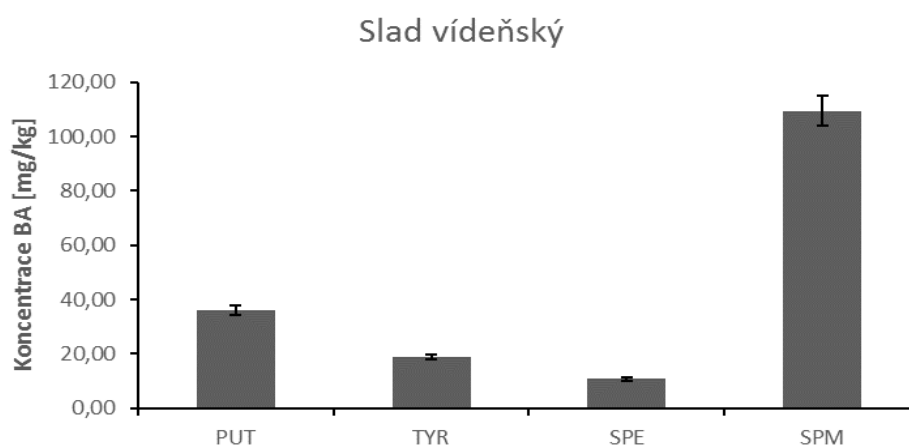
Nejvíce zastoupeným BA ve sladu byl spermin ( $121 \pm 6$  mg/kg), což lze vyčíst z grafu (Obr. 11). Dalšími BA vyskytujícími se ve vzorku byly putrescin ( $34 \pm 5$  mg/kg), tyramin ( $19 \pm 2$  mg/kg) a spermidin ( $12 \pm 1$  mg/kg). Obsah zbylých BA byl nižší než 10 mg/kg. Jednalo se o BA: kadaverin ( $2 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $<2$  mg/kg) a fenyletylamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 11: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu mnichovském

## Slad vídeňský (SV)

Z grafu na obrázku 12 je patrné, že nejvíce zastoupeným BA ve sladu byl spermin ( $109 \pm 14$  mg/kg). Další BA, které se ve vzorku vyskytovaly byl putrescin ( $36 \pm 4$  mg/kg), tyramin ( $19 \pm 2$  mg/kg) a spermidin ( $11 \pm 1$  mg/kg). Ostatní BA byly detekovány ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Jednalo se o BA kadaverin ( $2 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $<2$  mg/kg) a histamin ( $<1$  mg/kg).



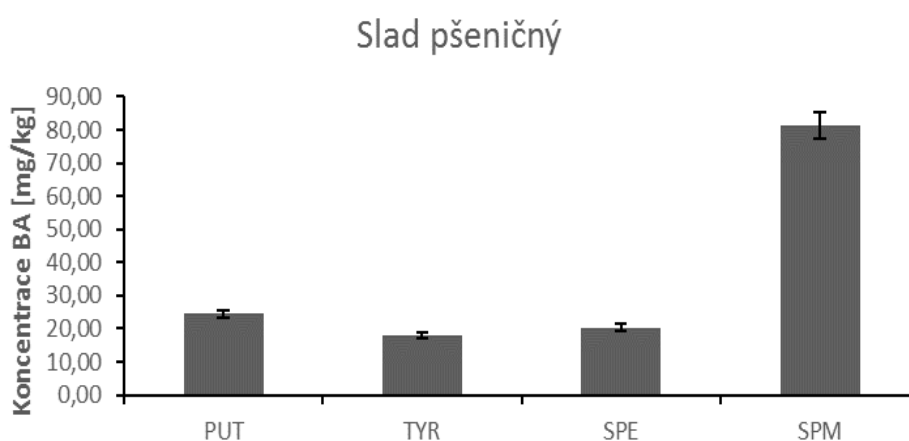
Obrázek 12: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu vídeňském

### Slad český (SČ)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $75 \pm 2$  mg/kg). Koncentrace zbylých sledovaných BA byla nižší než 10 mg/kg. Jejich koncentrace ve vzorku byla následující: putrescin ( $7 \pm 2$  mg/kg), tyramin ( $3 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $2 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).

### Slad pšeničný (SP)

Z grafu (Obr. 13) vyplývá, že nejvíce zastoupeným BA ve sladu byl spermin ( $81 \pm 5$  mg/kg). Dalšími BA, které se vyskytovaly ve sladu, byly putrescin ( $24 \pm 4$  mg/kg), spermidin ( $20 \pm 5$  mg/kg) a tyramin ( $18 \pm 1$  mg/kg). Ostatní BA byly ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Jednalo se o BA: fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 13: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu pšeničném

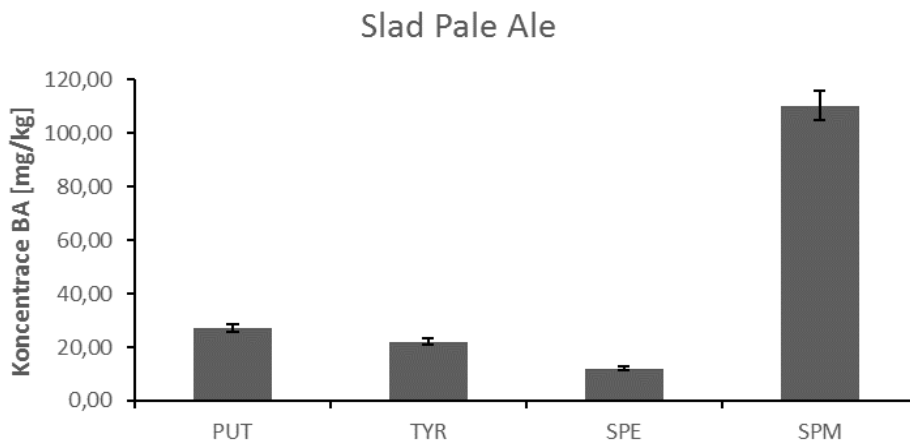
### Slad žitný (SŽ)

Ve vzorku žitného sladu byl nejvíce zastoupeným BA spermin ( $58 \pm 11$  mg/kg). Druhým nejvíce zastoupeným BA byl putrescin ( $36 \pm 7$  mg/kg). Koncentrace zbylých BA byla nižší než 10 mg/kg. Hodnoty jejich obsahu ve vzorku byly následující: tyramin ( $8 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $6 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).

### Pale Ale (SPA)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $110 \pm 6$  mg/kg), což je patrné z grafu na obrázku 14. V podstatně menším zastoupení se zde vyskytovaly další BA jako

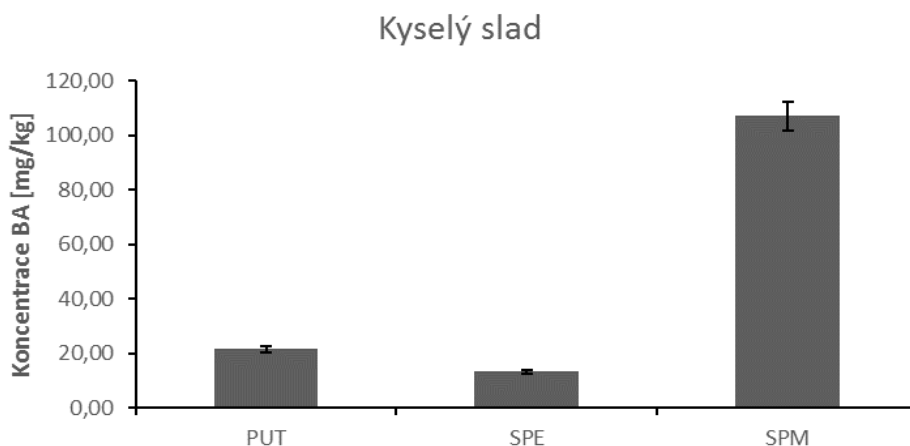
putrescin ( $27 \pm 3$  mg/kg), tyramin ( $22 \pm 4$  mg/kg) a spermidin ( $12 \pm 2$  mg/kg). Další sledované BA byly ve vzorku zastoupeny v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Jejich koncentrace byla následující: kadaverin ( $3 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).



Obrázek 14: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Pale Ale

Kyselý slad (KS)

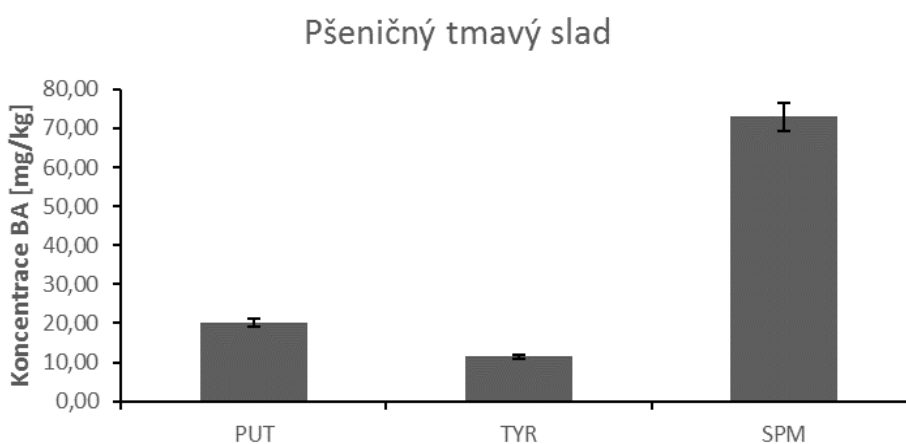
Z grafu (Obr. 15) lze vyčíst, že nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $107 \pm 16$  mg/kg). V menších koncentracích se zde vyskytovaly další BA jako putrescin ( $22 \pm 4$  mg/kg) a spermidin ( $13 \pm 2$  mg/kg). Ostatní BA byly ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Jejich koncentrace byla následující: tyramin ( $9 \pm 2$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $<2$  mg/kg) a histamin ( $<1$  mg/kg).



Obrázek 15: Obsah nejvíce zastoupených BA v kyselém sladu

## Pšeničný tmavý slad (PTS)

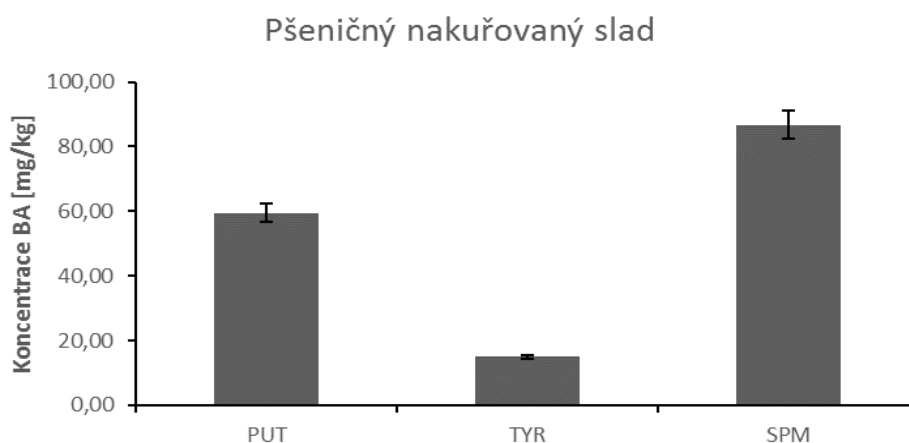
Ve vzorku sladu byl nejvíce zastoupen BA spermin ( $73 \pm 6$  mg/kg), což vyčíst i z grafu (Obr. 16). Dalšími zastoupenými BA byly ve vzorku putrescin ( $20 \pm 2$  mg/kg) a tyramin ( $11 \pm 2$  mg/kg). Koncentrace zbylých BA byla nižší než 10 mg/kg. Hodnoty jejich obsahu ve vzorku byly následující: spermidin ( $5 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $2 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $<2$  mg/kg) a fenyletylamin ( $<1$  mg/kg).



Obrázek 16: Obsah nejvíce zastoupených BA v pšeničném tmavém sladu

## Pšeničný nakuřovaný slad (PNS)

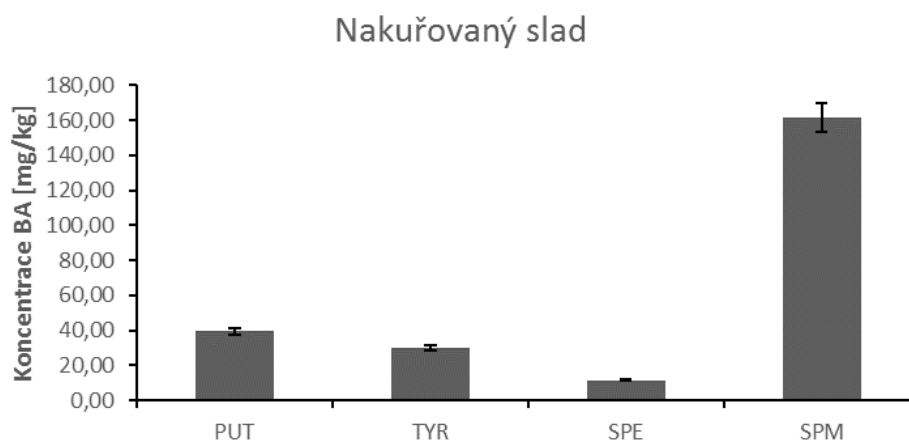
V pšeničném nakuřovaném sladu byl nejvíce zastoupeným BA spermin ( $87 \pm 7$  mg/kg), což je zjevné i z grafu (Obr. 17). Druhým nejvíce zastoupeným BA byl putrescin ( $59 \pm 9$  mg/kg). Třetím nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl tyramin ( $15 \pm 3$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 10 mg/kg. Jejich množství bylo následující: spermidin ( $8 \pm 2$  mg/kg), kadaverin ( $3 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a fenyletylamin ( $<1$  mg/kg).



Obrázek 17: Obsah nejvíce zastoupených BA v pšeničném nakuřovaném sladu

Nakuřovaný slad (NS)

Z grafu na obrázku 18 vyplývá, že nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $162 \pm 22$  mg/kg). V menších koncentracích se zde vyskytovaly další BA jako putrescin ( $39 \pm 4$  mg/kg), tyramin ( $30 \pm 6$  mg/kg) a spermidin ( $12 \pm 2$  mg/kg). Ostatní BA byly ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Jejich koncentrace byla následující: kadaverin ( $4 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $<2$  mg/kg) a histamin ( $<1$  mg/kg).



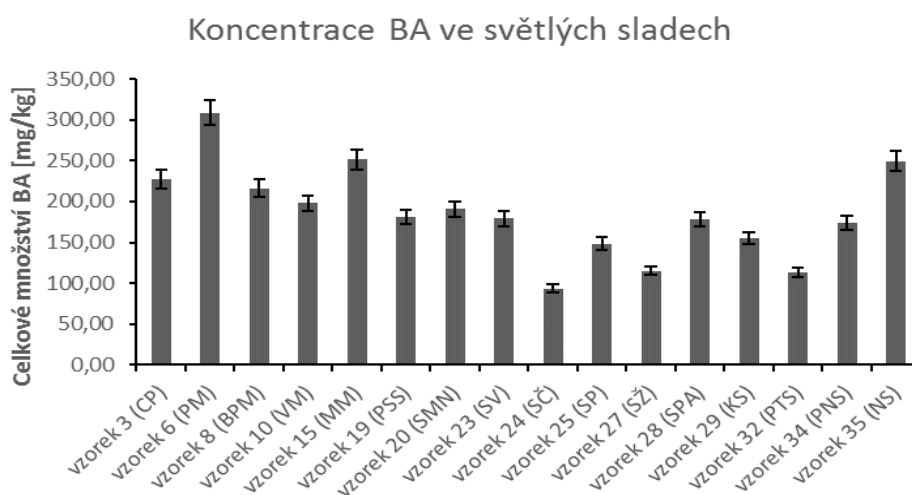
Obrázek 18: Obsah nejvíce zastoupených BA v nakuřovaném sladu

Celkové hodnocení světlých sladů

Z grafu na obrázku 19, je patrné, že kromě vzorku č. 24 (slad český) byla u všech sladů detekována koncentrace BA vyšší než 100 mg/kg. Důvodem je, že většina těchto vzorků obsahovala BA, jako jsou putrescin, spermin, spermidin ve vyšší koncentraci, než je koncentrace ostatních BA. Poměrně široké rozmezí koncentrací BA ve světlých sladech

uvedli ve své práci Halász, Baráth a Holzapfel (1999). BA byly zde byly detekovány v rozmezí: putrescin 76 – 210 mg/kg, kadaverin 5 – 11 mg/kg, histamin 14 – 31 mg/kg, tyramin 81 – 189 mg/kg, spermidin 106 – 274 mg/kg a spermin 63 – 196 mg/kg [11]. Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) ve své práci uvedli následující rozmezí pro vybrané BA: putrescin 61 – 84 mg/kg, kadaverin 5 – 24 mg/kg, histamin 11 – 17 mg/kg a tyramin 20 – 29 mg/kg [82]. Dalšími, kdo se zabývali stanovením BA ve sladu, byli Izquierdo-Pulido, Marine-Front a Vidal-Carou (1994), kteří stanovili obsah putrescinu ve vzorcích sladu kolem hodnoty 40 mg/kg [81]. Romero, Sánchez-Viñas a Gázquez (2003) detekovali ve sledovaných sladech také fenyletylamin v rozmezí 6 – 16 mg/kg a histamin v rozmezí 3 – 11 mg/kg [72].

Výsledky obsahu BA u světlých sladů uvedené v této práci jsou v souladu s výše uvedenými studiemi. Z uvedených výsledků vyplývá, že dle literatury koncentrace BA ve světlých sladech nepředstavuje žádné riziko z hlediska vysokých koncentrací BA.



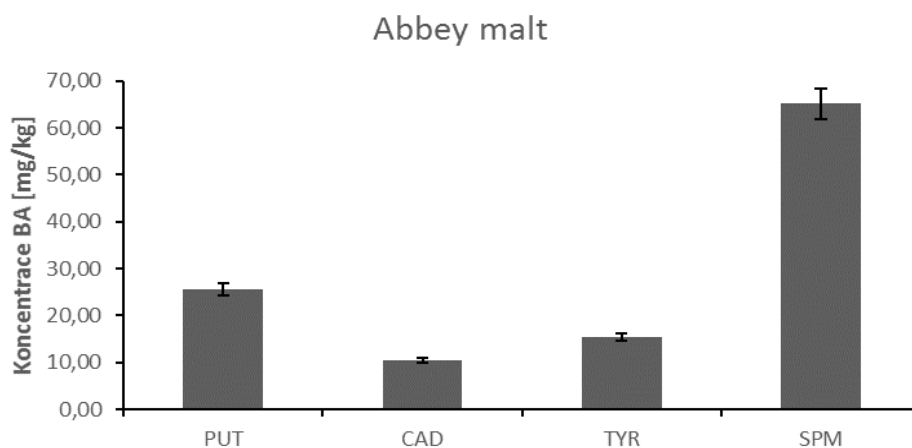
Obrázek 19: Celkové množství BA u jednotlivých vzorků světlých sladů

### 6.3.2 Stanovení biogenních aminů v tmavých sladech

Abbey malt (AM)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $65 \pm 4$  mg/kg), což vyplývá z grafu na obrázku 20. Mezi další zastoupené BA, které se ve vzorku vyskytovaly, patří: putrescin ( $26 \pm 4$  mg/kg), tyramin ( $15 \pm 4$  mg/kg) a kadaverin ( $10 \pm 1$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 10 mg/kg. Jejich zastoupení ve vzorku bylo následující: spermidin ( $3 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).

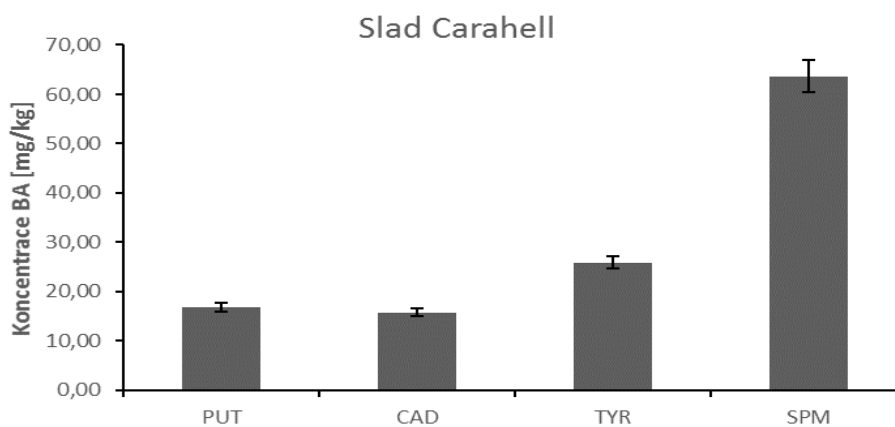




Obrázek 20: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Abbey malt

#### Slad Carahell (CH)

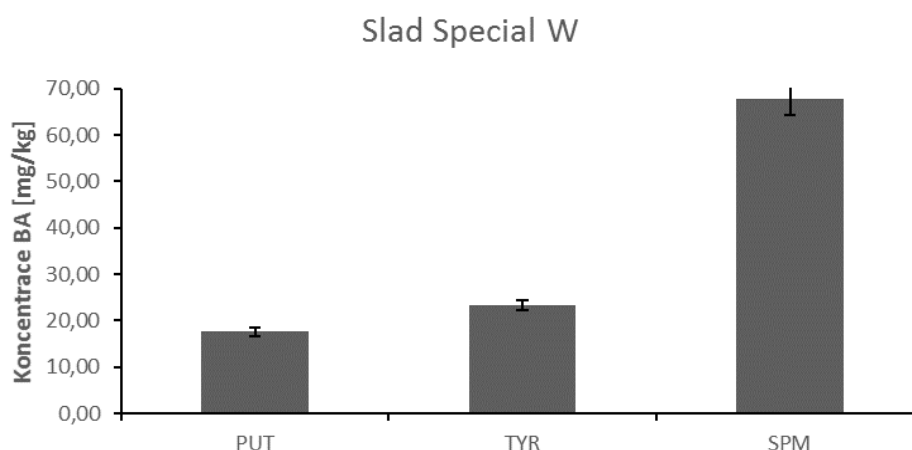
Z grafu na obrázku 21 je patrné, že nejvíce zastoupeným aminem byl spermin ( $64 \pm 3$  mg/kg). Zastoupení ostatních BA bylo následující: tyramin ( $26 \pm 4$  mg/kg), putrescin ( $17 \pm 3$  mg/kg), kadaverin ( $16 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $4 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $<2$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 21: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carahell

#### Slad Special W (SW)

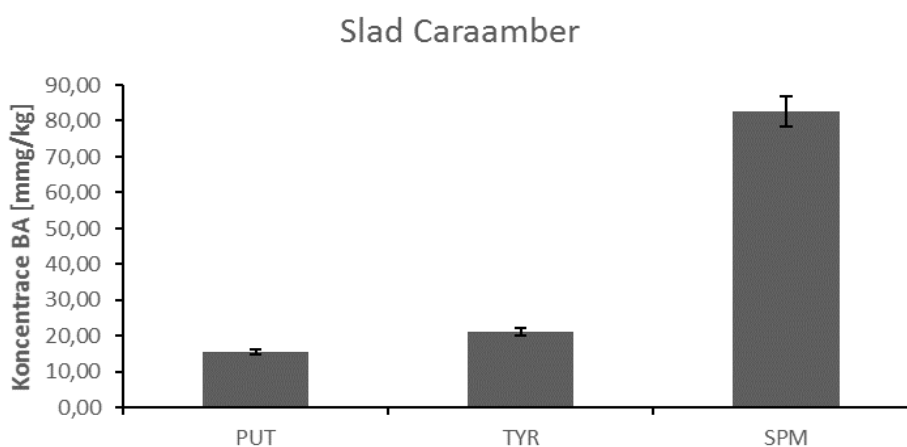
Z grafu (Obr. 22) vyplývá, že nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $68 \pm 1$  mg/kg). V menší koncentraci se zde vyskytoval tyramin ( $23 \pm 1$  mg/kg) a putrescin ( $18 \pm 1$  mg/kg). Ostatní BA byly ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Jejich koncentrace byla následující: kadaverin ( $4 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $3 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 22: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Special W

#### Slad Caraamber (CAM)

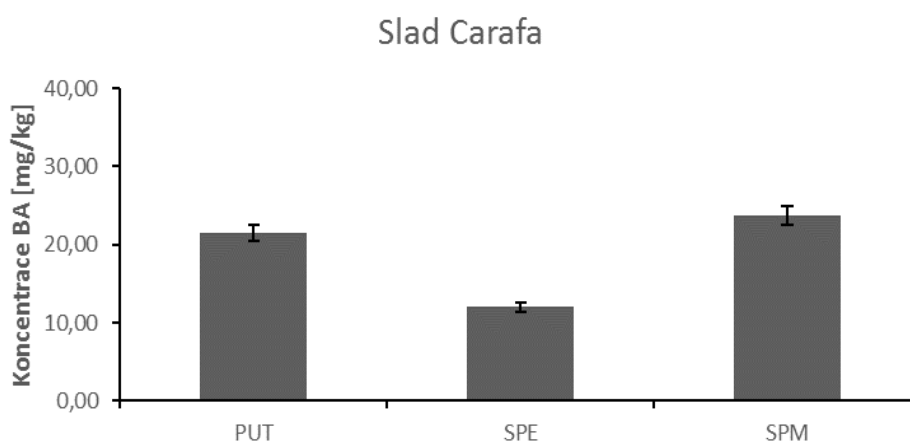
Ve vzorku sladu byl nejvíce zastoupen BA spermin ( $83 \pm 2$  mg/kg), což lze vyčíst z grafu na obrázku 23. Dalšími nejvíce zastoupenými BA byly tyramin ( $21 \pm 1$  mg/kg), putrescin ( $16 \pm 4$  mg/kg). Množství zbylých BA bylo nižší než 10 mg/kg. Hodnoty jejich obsahu ve vzorku byly následující: kadaverin ( $6 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $4 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 23: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Caraamber

#### Slad Carafa (CF)

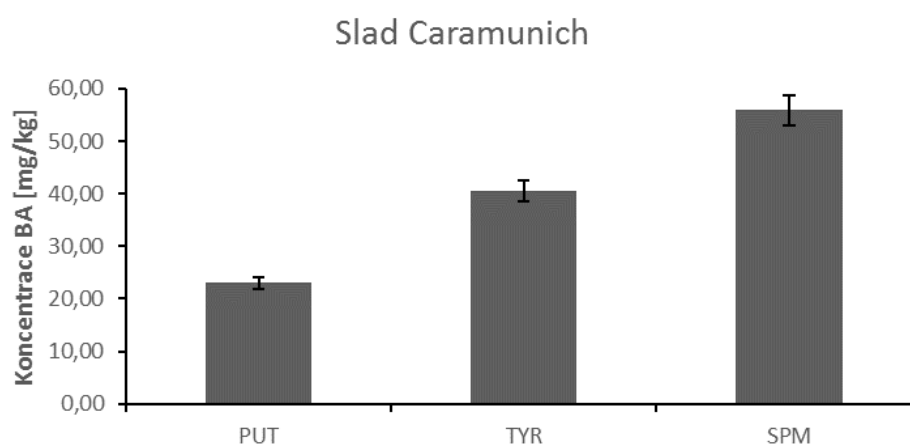
Nejvíce zastoupenými BA ve vzorku byly spermin ( $24 \pm 2$  mg/kg), putrescin ( $22 \pm 3$  mg/kg) a spermidin ( $12 \pm 3$  mg/kg), což je zjevné i z grafu (Obr. 24). Zbylé BA byly ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Jejich zastoupení ve vzorku bylo následující: tyramin ( $9 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $4 \pm 2$  mg/kg), fenyletylamin ( $<2$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 24: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carafa

#### Slad Caramunich (CMU)

Ve sladu Caramunich byl nejvíce zastoupeným BA spermin ( $56 \pm 3$  mg/kg), jak je patrné z grafu (Obr. 25). Druhým nejvíce zastoupeným BA byl tyramin ( $41 \pm 5$  mg/kg). Třetím nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl putrescin ( $23 \pm 3$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 10 mg/kg. Jejich obsah ve vzorku byl následující: kadaverin ( $4 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $3 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 25: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Caramunich

#### Slad Caraaroma (CAR)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $46 \pm 3$  mg/kg). Druhým nejvíce zastoupeným aminem byl putrescin ( $24 \pm 5$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 10 mg/kg. Množství těchto BA ve vzorku bylo následující: kadaverin ( $7 \pm 1$  mg/kg), tyramin ( $7 \pm 4$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).

### Slad Carafa special (CFS)

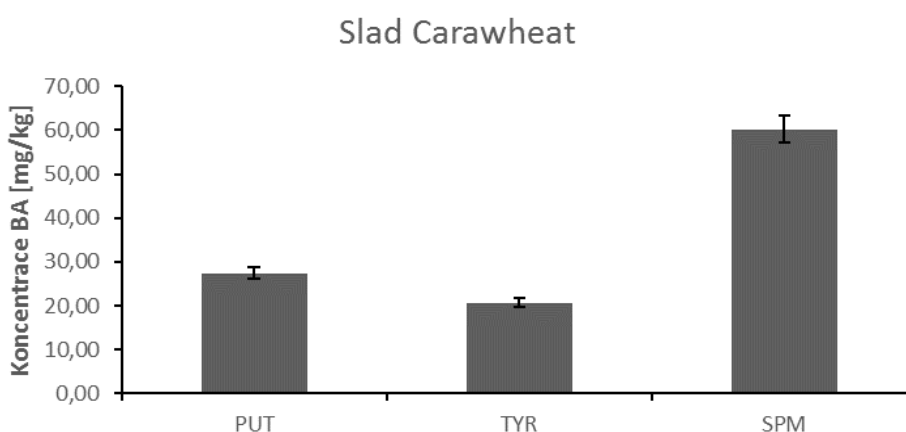
Ve vzorku byl nejvíce ze všech BA zastoupen spermin ( $33 \pm 4$  mg/kg) a putrescin ( $24 \pm 2$  mg/kg). Ostatní BA byly ve vzorku zastoupeny v menší koncentraci než 10 mg/kg. Jejich koncentrace byla následující: spermidin ( $10 \pm 1$  mg/kg), tyramin ( $8 \pm 2$  mg/kg), kadaverin ( $8 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $4 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).

### Slad Carabohemian (CBO)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $66 \pm 8$  mg/kg). Druhým nejvíce zastoupeným aminem byl putrescin ( $19 \pm 2$  mg/kg). Ostatních BA se nacházely ve vzorku v koncentraci nižší než 10 mg/kg. Množství těchto BA ve vzorku bylo následující: tyramin ( $6 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $3 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).

### Slad Carawheat (CW)

Z grafu na obrázku 26 je patrné, že nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $60,22 \pm 6,21$  mg/kg). Dalšími BA, které se ve vzorku vyskytovaly, byly putrescin ( $27 \pm 4$  mg/kg) a tyramin ( $21 \pm 3$  mg/kg). Koncentrace ostatních aminů byla nízká (pod 10 mg/kg): kadaverin ( $9 \pm 2$  mg/kg), spermidin ( $5 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).

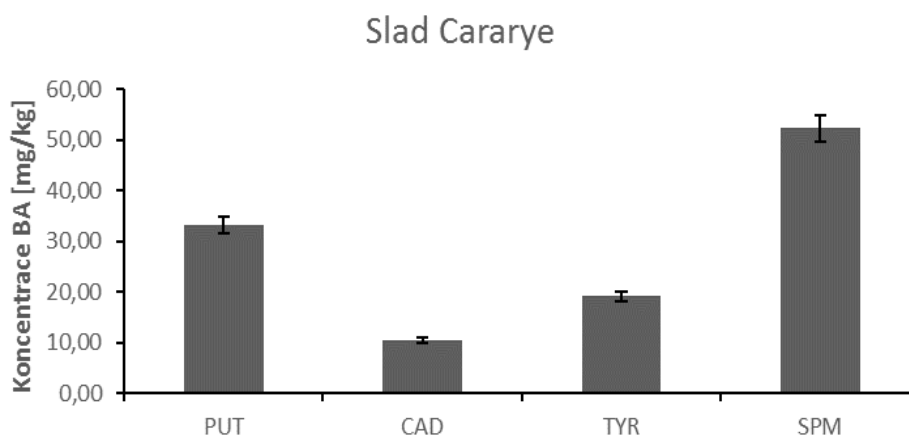


Obrázek 26: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carawheat

### Slad Cararye (CRY)

Nejvíce zastoupeným BA ve sladu Cararye byl spermin ( $52 \pm 3$  mg/kg), což je patrné z grafu na obrázku 27. Druhým nejvíce zastoupeným aminem byl putrescin ( $33 \pm 1$  mg/kg). Dalšími BA vyskytujícími se ve vzorku byly tyramin ( $19 \pm 1$  mg/kg) a kadaverin ( $10 \pm 1$

mg/kg). Obsah ostatních BA byl menší než 10 mg/kg. Jejich koncentrace ve vzorku byla následující: spermidin ( $7 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).



Obrázek 27: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Cararye

#### Slad Carared (CRD)

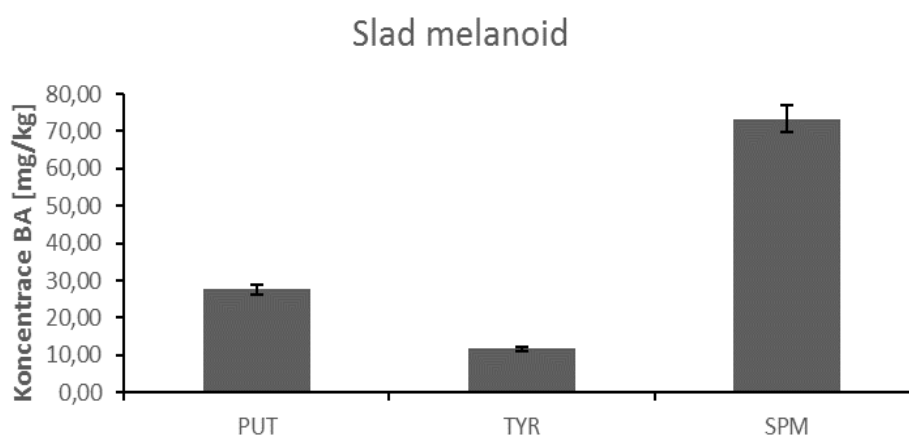
Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $60 \pm 4$  mg/kg). V menším množství se zde vyskytoval i putrescin ( $22 \pm 4$  mg/kg). Ostatní BA se ve vzorku vyskytovaly v koncentraci menší než 10 mg/kg. Jejich množství ve vzorku bylo následující: tyramin ( $8 \pm 3$  mg/kg), kadaverin ( $5 \pm 2$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $3 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg).

#### Slad karamelový (SK)

V karamelovém sladu dosahoval největší koncentrace spermin ( $24 \pm 1$  mg/kg). Druhým nejvíce zastoupeným aminem ve vzorku byl putrescin ( $11 \pm 1$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byl pod 10 mg/kg. Koncentrace zbylých BA byla následující: tyramin ( $4 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $2 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $2 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $<2$  mg/kg) a fenyletylamin ( $<2$  mg/kg).

#### Slad melanoid (SM)

Ve vzorku melanoidního sladu byl nejvíce zastoupen spermin ( $73 \pm 1$  mg/kg), což lze vyčíst i z grafu na obrázku 28. Dále se zde vyskytoval putrescin ( $28 \pm 2$  mg/kg) a tyramin ( $12 \pm 1$  mg/kg). Ostatní BA se zde vyskytovaly v malých koncentracích (pod 10 mg/kg): spermidin ( $6 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $2 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a fenyletylamin ( $<2$  mg/kg).



Obrázek 28: Obsah nejvíce zastoupených BA v melanoidním sladu

#### Slad Black – barvicí (SB)

Koncentrace BA ve vzorku byla nižší než 10 mg/kg a jejich hodnoty byly následující: spermidin ( $8 \pm 1$  mg/kg), putrescin ( $6 \pm 1$  mg/kg), spermin ( $6 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $5 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg), tyramin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a fenyletylamin ( $<2$  mg/kg).

#### Melanoidní slad (SM)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $86 \pm 3$  mg/kg). V menším množství se ve vzorku vyskytoval také tyramin ( $16 \pm 5$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 10 mg/kg. Jejich zastoupení ve vzorku bylo následující: putrescin ( $8 \pm 2$  mg/kg), kadaverin ( $6 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $3 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).

#### Čokoládový pšeničný pražený slad (ČPPS)

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $12 \pm 2$  mg/kg). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 10 mg/kg. Jejich hodnoty byly následující: spermidin ( $9 \pm 1$  mg/kg), putrescin ( $5 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $3 \pm 1$  mg/kg), histamin ( $2 \pm 1$  mg/kg), tyramin ( $<2$  mg/kg) a fenyletylamin ( $<1$  mg/kg).

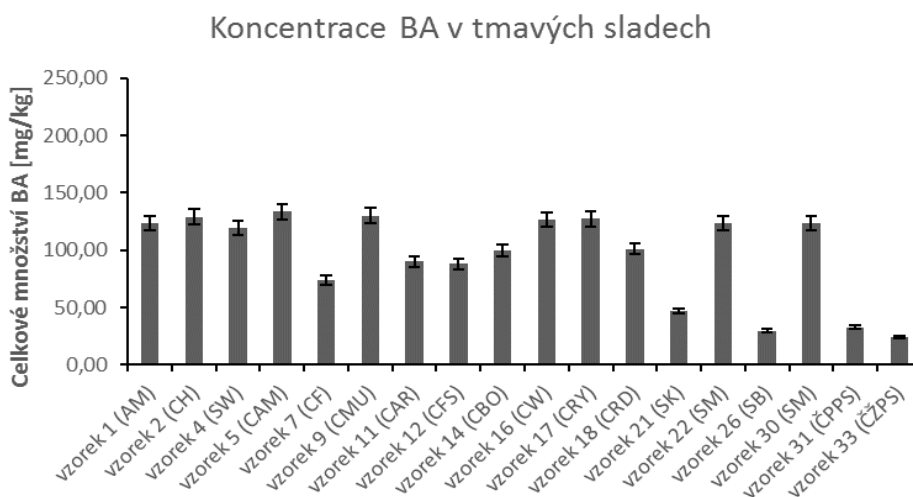
#### Čokoládový žitný pražený slad (ČŽPS)

Koncentrace BA v daném sladu byla nižší než 10 mg/kg. Zastoupení BA ve vzorku bylo následující: putrescin ( $6 \pm 1$  mg/kg), spermidin ( $5 \pm 1$  mg/kg), spermin ( $3 \pm 1$  mg/kg), tyramin ( $3 \pm 1$  mg/kg), kadaverin ( $3 \pm 1$  mg/kg), fenyletylamin ( $2 \pm 1$  mg/kg) a histamin ( $<2$  mg/kg).

### Celkové hodnocení tmavých sladů

Z výsledků uvedených na obrázku 29 pro tmavé slady vyplývá, že u některých vzorků tmavých sladů bylo celkové množství BA vyšší než 100 mg/kg. Důvodem je vyšší koncentrace sperminu a putrescinu. Stanovením BA v tmavých sladech se také zabýval Halász, Baráth a Holzapfel (1999) ve své práci. Putrescin byl detekován v rozmezí 84 – 146 mg/kg, kadaverin 12 – 18 mg/kg, spermidin 86 – 228 mg/kg, spermin 71 – 192 mg/kg a tyramin 57 – 154 mg/kg [11].

Detekované obsahy BA ve vzorcích tmavých sladů, které byly testovány v rámci této diplomové práce, jsou ve shodě s výše uvedenou studií. Z výsledků vyplývá, že BA obsažené ve vzorcích tmavých sladů nepředstavují žádné zdravotní riziko.



Obrázek 29: Celkové množství BA u jednotlivých vzorků tmavých sladů

### 6.3.3 Stanovení biogenních aminů ve sladových výtažcích

#### Sladový výtažek extra světlý

Ve sladovém výtažku extra světlém byl nejvíce ze všech BA zastoupen spermin ( $20 \pm 2$  mg/l). V menším množství se zde vyskytoval i tyramin ( $3 \pm 1$  mg/l). Koncentrace ostatních BA (putrescin, kadaverin, histamin) byla nižší než 1 mg/l.

#### Sladový výtažek tekutý světlý

Nejvíce zastoupeným BA ve vzorku byl spermin ( $27 \pm 2$  mg/l). Dalším nejvíce zastoupeným BA byl tyramin ( $3 \pm 1$  mg/l). Ostatní BA se ve vzorku nacházely pouze ve stopovém množství.

### Sladový výtažek jantarový

Ze všech sledovaných BA ve vzorku dosahoval nejvyšší koncentrace spermin ( $27 \pm 1$  mg/l). Druhým nejvíce zastoupeným BA byl tyramin ( $5 \pm 1$  mg/l). Ostatní BA se ve vzorku vyskytovaly v množství menším než 1 mg/l.

### Sladový výtažek pšeničný

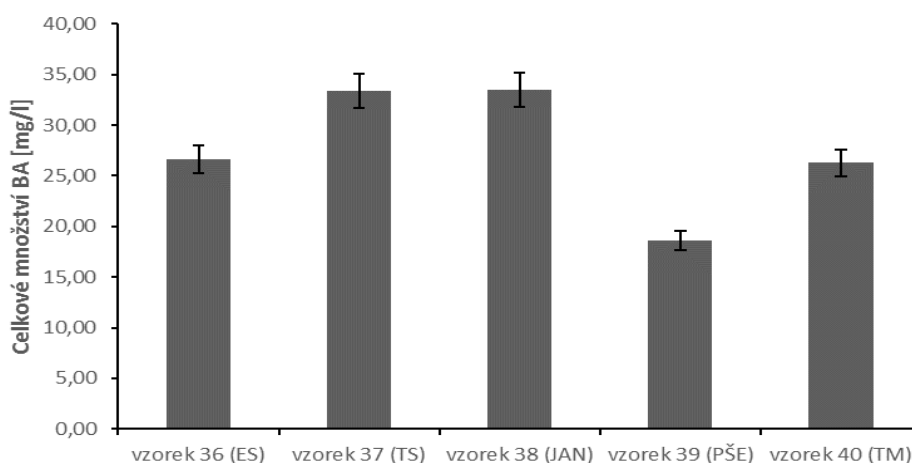
V daném vzorku dosahoval největší koncentrace ze všech BA spermin ( $13 \pm 2$  mg/kg). Dále se ve vzorku vyskytoval tyramin ( $3 \pm 1$  mg/l). Koncentrace ostatních BA byla nižší než 1 mg/l.

### Sladový výtažek tmavý

Nejvyšší koncentrace ve vzorku dosahoval spermin ( $19 \pm 5$  mg/l). Dalším BA, který se ve vzorku vyskytoval, byl tyramin ( $3 \pm 1$  mg/l). Koncentrace zbylých BA byla nižší než 1 mg/l.

### Celkové hodnocení sladových výtažků

Z výsledků stanovení BA ve sladových výtažcích uvedených na obrázku 30 je patrné, že koncentrace BA ve všech pěti vzorcích sladových výtažků byla nižší než 100 mg/l. Z toho vyplývá, že BA obsažené v těchto vzorcích nepředstavují žádné riziko z hlediska vysokých koncentrací BA.



Obrázek 30: Celkové množství BA u jednotlivých sladových výtažků



## ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala aktuální problematikou, tzn. sledováním výskytu a určením koncentrace BA a PA v různých komerčních výrobcích sladu a ve sladových extraktech. Současně byl ve vzorcích sledován obsah vody z hlediska mikrobiální kontaminace a také koncentrace vybraných FAA, které představují potenciální prekurzory sledovaných BA a PA.

Na základě výsledků získaných v experimentální části této diplomové práce lze konstatovat následující:

- Hodnoty vlhkosti v testovaných vzorcích sladů a sladových extraktů nepřekračovaly meze uvedené literaturou.
- Ve všech vzorcích bez rozdílu dosahoval spermin nejvyšších hodnot ze všech sledovaných BA (3 – 162 mg/kg).
- Celkový obsah BA (včetně PA) se pohyboval ve světlých sladech v rozmezí 94 – 309 mg/kg, u tmavých sladů v rozmezí 24 – 134 mg/kg a u sladových výtažků v rozmezí 16 – 34 mg/l.
- Stanovené koncentrace BA v testovaných vzorcích sladů a sladových výtažků dle literatury nepředstavovaly žádné riziko.
- Ve většině sladů a sladových výtažků dosahoval arginin (41 – 443 mg/kg) a ornitin (16 – 401 mg/kg) nejvyšších hodnot ze všech sledovaných FAA.
- Celkový obsah vybraných FAA ve vzorcích světlých sladů se pohyboval v rozmezí 317 – 1387 mg/kg, u tmavých sladů v rozmezí 163 – 476 mg/kg a u sladových výtažků v rozmezí 540 – 1360 mg/l.
- Z výsledků stanovení uvedených u jednotlivých vzorků sladů a sladových výtažků lze prokázat závislost mezi výskytem jednotlivých FAA a výskytem jednotlivých BA a PA.

Závěrem lze tvrdit, že zkoumané slady a sladové extrakty nepředstavují pro konečného spotřebitele riziko z hlediska vysokých koncentrací BA. Koncentrace BA uvedené v této práci nepřekračovaly hodnoty zmiňované ve studiích, se kterými byly porovnávány. Naměřené hodnoty mohou být spíše užitečné pro určení stupně mikrobiologické kvality použitého sladu, tedy zda nedošlo ke kontaminaci. Množství BA vyskytující se ve sladu se snižuje při výrobě piva, zejména při rmutování a chmelovaru. Dochází k tomu pravděpodobně z důvodu působení vyšších teplot v kombinaci s termolabilní povahou sloučenin.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] SILLA-SANTOS, M. H. Biogenic Amine: Their Importance in Foods. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, roč. 29, 213-231 s. ISSN: 0168-1605.
- [2] KALACH, P. a KRÍŽEK, M. A review of biogenic amines and polyamines in beer. *Journal of the institute od Brewing*, 2003, roč. 109, 123-128 s. ISSN:2050-0416.
- [3] KAROVIČOVÁ, J. a KOHAJDOVÁ, Z. Biogenic Amines in Food. *Chemical Papers*, 2005, roč. 59, 70-79 s. ISSN: 0931-7597.
- [4] SMĚLÁ, D., PECHOVÁ, P., KOMPRDA, T., KLEJDUS, B. a KUBÁŇ, V. Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chemické Listy*. Brno, 2004, roč. 98, 432–437 s. ISSN: 0009-2770.
- [5] GARDINI, F., ÖZOGUL, Y., SUZZI, G., TABANELLI, G. a F. ÖZOGUL. Technological Factors Affecting Biogenic Amine Content in Foods: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 2016, roč. 71218. ISSN: 1664-302X.
- [6] AGOSTINELLI, E., MARQUES, M. P. M., CALHEIROS, R., GIL, F. P. S. C., TEMPERA, G., VICECONTE, N., BATTAGLIA, V., GRANCARA, S. a TONINELLO, A. Polyamines: fundamental characters in chemistry and biology. Review article. *Amino Acids*, 2010, roč. 38, 393–403 s. ISSN: 0939-4451.
- [7] FERNANDES CH. a M. B. A. GLÓRIA. Bioactive Amines. Handbook of Food Analysis. *CRC Press*, 2015, vyd. 3, 301–328 s. ISBN: 978-1-4665-5654-6.
- [8] VIDAL-CAROU, M. C., LATORRE-MORATALLA, M. L. a BOVED-CID, S. Biogenic Amines. Handbook of Processed Meats and Poultry Analysis. *CRC Press*, 2008, 665–686 s. ISBN: 978-1-4200-4531-4.
- [9] MCKAY, M., BUGLASS, A. J. a LEE, CH., G. Fermented Beverages: Beers, Ciders, Wines and Related Drinks. Handbook of Alcoholic Beverages. Willey, 2011, vyd. 1, 63–454 s. ISBN: 978-0-470-51202-9.
- [10] KALACH, P., ŠAVEL, J., KRÍŽEK, M., PELIKÁNOVÁ, T. a PROKOPOVÁ, M. Biogenic amine formation in bottled beer. *Food Chemistry*, 2002, č. 4, 431–434 s. ISSN: 0308-8146.
- [11] HALÁSZ, A., BARÁTH, Á. a HOLZAPFEL, W. H. The biogenic amine content of beer; the effect of barley, malting and brewing on amine concentration. European

- Food Research and Technology, 1999, roč. 208, č. 5-6, 418-423 s. ISSN: 1438-2377.
- [12] KOŠAŘ, K. a PROCHÁZKA, S. *Technologie výroby sladu a piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000, 398 s. ISBN: 80-902658-6-3.
- [13] GLÓRIA, M. a IZQUIERDO-PULIDO, M. B. A. Levels and Significance of Biogenic Amines in Brazilian Beers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1999, roč. 12, č. 2, 129–136 s. ISSN: 0889-1575.
- [14] OLŠOVSKÁ, J., MATOULKOVÁ, D., ČEJKA, P. a JURKOVÁ, M. Pivo a zdraví. *Kvasný průmysl*, 2014, roč. 60, č. 174,7-8 s. ISSN: 0023-5830.
- [15] BASAŘOVÁ, G. *Sladařství: teorie a praxe výroby sladu*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství Havlíček Brain Team, 2015, 626 s. ISBN: 978-80-87109-47-2.
- [16] BASAŘOVÁ, G. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010, 863 s. ISBN: 978-80-7080-734-7.
- [17] BRIGGS, D.E. *Malts and Malting*. London: Vydavatelství Blackie Academic & Professional, 1998, 796 s. ISBN: 0-412-29800-7.
- [18] KUNZE, W. *Technology brewing and malting*. Berlín: VLB Verlagsabteilung, 2004, 948 s. ISBN: 3-921-690-49-8.
- [19] DE CLERCK, J. *The textbook of brewing*. London: Vydavatelství Chapman & Hall, 1952, 909 s. ISBN: 978-04-12058-30-1.
- [20] CHLÁDEK, L. *Pivovarnictví*. 1. vyd. Praha: Grada, 2007, 207 s. ISBN: 978-80-247-1616-9.
- [21] BUGLASS, A. J. *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional*. Department of Chemistry, KAIST, Republic of Korea: John Wiley & Sons, 2011, 1185 s. ISBN: 978-0-470-51202-9.
- [22] PELIKÁN, M., DUDÁŠ, F. a MÍŠA, D. *Technologie kvasného průmyslu*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1996, 135 s. ISBN: 80-7157-240-3.
- [23] KUNZE, W. *Technology brewing and malting*. Berlín: VLB Verlagsabteilung, 1996, 726 s. ISBN: 3-921 690-34-X.
- [24] BASAŘOVÁ, G. a ČEPIČKA, J. *Sladařství a pivovarství*. Praha: SNTL, 1986, 256 s.
- [25] NARZISS, L. *Die Bierbrauerei: Die Technologie der Malzbereitung*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1976, 382 s. ISBN: 3-432-84996-6.

- [26] NARZISS, L. *Die Bierbrauerei. Die Technologie der Würzebereitung*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1985, 385 s. ISBN: 3-432-85006-9.
- [27] VEGIS, A. Dormancy in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 1964, 185–224 s. ISSN: 0066-4294.
- [28] FINCH-SAVAGE, W.E. a LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 2006, 501–523 s. ISSN: 1469-8137.
- [29] MAPES, G., ROTHWELL, G.W. a HAWORTH, M.T. Evolution of seed dormancy. *Nature*, 1989, roč. 337, 645–646 s. ISSN: 1476-4687.
- [30] BRIGGS, D. E., BOULTON, CH. A., BROOKES, P. A. a STEVENS, R. *Brewing Science and Practice*. North America: Woodhead Publishing, 2004, 863 s. ISBN: 1-85573-906-2.
- [31] BENECH-ARNOLD, R.L. *Bases of pre-harvest sprouting resistance in barley: Physiology, molecular biology and Environmental control of dormancy in barely grain*. In: SLAFER, G.A., MOLINA-CANO, J.L., ARAUS, J.L., SAVIN, R. a ROMAGOSA, I.: *Barley science. Recent advances from molecular biology to agronomy of yield and quality*. New York: Food Product Press, 2002, 665 s. ISBN: 10 1560229101.
- [32] KHAN, A.A. *The physiology and Biochemistry of seed development, dormancy and germination*. Amsterdam: Elsevier, 1982, 547 s. ISBN: 0-444-80423-4.
- [33] BEWLEY, J.D. a BLACK, M. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. New York: Plenum Press, 1994, 465 s. ISBN: 0306447479.
- [34] KENT, N. L a EVERS, A. D. *Technology of Cereals*. Butterworth-Heinemann, 1994, 250 s. ISBN:978-0080408347.
- [35] DOYLE, M. P. a BUCHANAN, R. L. *Food Microbiology–Fundamentals and Frontiers*. Washington, D.C.: ASM Press, 2013, 1139 s. ISBN: 9781555818463.
- [36] ESKIN, M. N. A. a SHAHIDI, F. *Biochemistry of Foods - 7.2 Malt and Malting*. Academic Press. Amsterdam (The Netherlands) and Boston (Massachusetts): Elsevier, 2012, 565 s. ISBN:978-0-12-242352-9.
- [37] SCHUSTER, K. *Die technologie der Malzbereitung*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1963, 496 s. ISBN: 9783527317769.

- [38] ROUILLER, M., MOLL, M., FLAYEUX, R., LUNEAU, F. a SIMIANO, J.P. *Specificity of varietal response and cultivation areas in relation to various steeping and germination patterns*. European Brewery Convection Proceedings. 20. Congress, Helsinki 1985, příspěvek 67, 619–626 s. Oxford: IRL Press, 1991, 800 s. ISBN: 0-947946-42-X.
- [39] BRIGGS, D. a HOUGH, J. *Malting and Brewing Science: Malt and Sweet Wort*. Springer, 1981, 388 s. ISBN: 9780412165801.
- [40] KADLEC, P. *Technologie potravin II*. Praha: VŠCHT, 2002, 236 s. ISBN: 80-708-0510-2.
- [41] HEISEL, S.E. *Providing cereals for brewing*. In: *Brewing New Technologies*. Ed C. W. Bamforth. Cambridge: Woodhead Publishing limited, 2006, 487 s. ISBN: 978-1-84569-003-8.
- [42] MOLL, M. *Beer & Coolers*. Andover, Hampshire: Intercept Ltd., 1994, 495 s. ISBN: 1-898298-2.
- [43] HEREN, M.F., VANTHOURNHOUT, C., GIJS, L. a COLLINS, S. *Influence de la composition en hétérocycles azotés de malts spéciaux sur le profil aromatique de la bière*. European Brewery Convection Proceedings. 26. Congress, Maastricht 1997, příspěvek 20. Oxford: IRL Press, 1997, 771 s. ISBN: 0-19-963690-7.
- [44] KRÜGER, E. a ANGER, H.M. *Kennzahlensur Betriebskontrolle und Qualitätsbeschreibung in der Brauwirtschaft*. Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co, 1990. ISBN: 3-925673-75-X.
- [45] GALLAGHER, E., GORMLEY, T. R. a ARENDT, E. K. Recent advances in the formulation of gluten-free cereals based products. *Trends in Food science and Technology*, 2004, č. 15, 143–152 s. ISSN: 0924-2244.
- [46] ROBINSON, R. K. *Encyclopedia of Food Microbiology* [online]. 2. vydání. Elsevier, 2000 [cit. 2019-01-12]. ISBN: 978-0-08-052359-0. Dostupné z: [http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?\\_EXT\\_KNOVEL\\_DISPLAY\\_bookid=1870&VerticalID=0](http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1870&VerticalID=0)
- [47] DELWAUX, F., COMBES, F. J. a DELWAUX, F. R. The effect of wheat Malting on the colloidal haze of white beers. *Technical Quarterly Master Brewers Association of America*, 2004, č. 41, 27–32 s. ISSN: 0743-9407.

- [48] Fakta a zajímavosti. In: *Český svaz pivovarů a sladoven* [online]. [cit. 2018-11-04]. Dostupné z: <http://ceske-pivo.cz/fakta-a-zajimavosti>
- [49] MATOULKOVÁ, D. a ŠAVEL, J. Pivovarství a taxonomie pivovarských kvasinek. *Kvasný průmysl*, 2007, roč. 53, s. 206–209. ISSN: 0023-5830.
- [50] TURAKAINEN, H., SIRPA, A. a KORHOLLA, M. MEL gene polymorphism in the genus *Saccharomyces*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, roč. 59, 2622–2629 s. ISSN: 0099-2240.
- [51] JACKSON, M. *Encyklopedie piva*. Vyd. 1. Praha: Volvox Globator, 1994, 256 s. ISBN: 80-85769-37-9.
- [52] HLAVÁČEK, F. a LHOTSKÝ, A. *Pivovarství*. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1972, 538 s.
- [53] KADLEC, P., MELZUCH, K., VOLDŘICH, M. a kol. *Technologie potravin: Přehled tradičních potravinářských výrob.* 1. vyd. KEY Publishing s.r.o., 2012, 569 s. ISBN: 978-80-7418-145-0.
- [54] MORRIS, P. C. a BRYCE, J. H. *Cereal Biotechnology - 9.3 Malting Industry: Current Practice*. Woodhead Publishing, 2000, 183–215 s. ISBN: 9781855734982.
- [55] VERHOEF, B. *Encyklopedie piva*. Rebo Productions, 1998, 304 s. ISBN: 80-7234-012-3.
- [56] SARX, H. G. Der Einfluss der Malzqualität auf den Läuterprozess. *Brauerei Forum*, 2003, roč. 18, 4–6 s. ISSN: 0179-2466.
- [57] HOUGH, J. S., BRIGGS, D. E., STEVENS, R. a YOUNG, T. W. *Malting and Brewing Science: Hopped Wort and Beer*. London: Chapman and Hall, 1982, 885 s. ISBN: 0-412-16590-2.
- [58] FRANČÁKOVÁ, H. a TÓTH, Ž. *Sladovníctvo a pivovarníctvo*. Nitra: SPU, 2005, 147 s. ISBN: 978-80-5521-301-9.
- [59] BASAŘOVÁ, G. Vývoj teorie a praxe kvašení a dokvašování piva. *Kvasný průmysl*, 2002, roč. 48, 61–66 s. ISSN: 0023-5830.
- [60] FELLOWS, P. J. *Food Processing Technology: Principles and Practice - - 7.1.2.2.2 Alcoholic Beverages*. 2. vydání. CRC Press, 2000. ISBN: 9780849308871.
- [61] KÜCK, U. a FRANKENBERG – DINKEL, N. *Biotechnology*. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG (Verlag), 2015, 458 s. ISBN: 978-3-11-038360-7.

- [62] WHITE, CH. a ZAINASHEFF, J. *Yeast: The practical guide to beer fermentation*. Boulder, Colorado: Brewers Associations, 2010, 304 s. ISBN: 978-0-937-381-96-0.
- [63] LEEDER, G. a GIRR, M. Cross-flow microfiltration for processing brewery tank bottoms. *Technical Quarterly Master Brewers Association of America*, 1994, č. 31, 58–63 s. ISSN: 0743-9407.
- [64] Technologie výroby piva In: *Přírodovědná fakulta Masarykovy univerzity* [online]. [cit. 2018-7-4]. Dostupné z: <http://sci.muny.cz/data/C6210/C6210>.
- [65] KOTLÍKOVÁ, B., JELÍNEK, L., KARABÍN, M. a DOSTÁLEK, P. Předpověď vzniku koloidního zákalu piva. *Kvasný průmysl*, 2013, roč. 59, 100-104 s. ISSN: 0023-5830.
- [66] DOSTÁLEK, P., KOTLÍKOVÁ, B., FIALA, J., JELÍNEK, L., ČERNÝ, Z., ČÁSENSKÝ, B. a MIKULKA, J. Stabilizační prostředky pro zvýšení koloidní stability piva. *Kvasný průmysl*, 2011, roč. 57, 290-295 s. ISSN: 0023-5830.
- [67] MORGAN, A. R. *Designing packaging for brand growth. Proceedings European Brewery Convection: 28. Congress, Budapešť 2001*, příspěvek 94, 867-885 s. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, 2001. ISBN: 90-70-70143-21-22-4.
- [68] RODRIGUEZ, M. B. R. a spol. Bioactive Amines: Aspects of Quality and Safety in Food. *Food and Nutrition Sciences*, 2014, roč. 5, č. 2, 138-146 s. ISSN: 2157-944X.
- [69] KRŮŽEK, M. a HLAVATÁ, V. Stanovení vybraných biogenních aminů v pivu. *Kvasný průmysl*, 1995, roč. 41, č. 9. ISSN: 0023-5830.
- [70] FRIAS, J., MARTINEZ-VILLALUENGA, C. a PEÑAS, E. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention - 27.1 Classification, Biosynthesis, and Metabolism of Biogenic Amines*. Elsevier, 2017.[online]. [cit. 2018-7-19]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0112U1VG/fermented-foods-inhealth/classification-biosynthesis>
- [71] TANG, T., SHI, T., QIAN, K., LI, J., LI, P. a CAO, Y. Determination of biogenic amines in beer with pre-column derivatization by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*. Elsevier B. V., 2009, 507-512 s. ISSN: 15700232.

- [72] ROMERO, R., SÁNCHEZ-VIÑAS, M. a GÁZQUEZ, D. The influence of the brewing process on the formation of biogenic amines in beers. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, roč. 376, č. 2, 162-167 s. ISSN: 1618-2642.
- [73] FERNANDES, J., JUDAS, I., OLIVEIRA, M., FERREIRA, I. a FERREIRA, M. GC-MS method for quantitation of histamine and other biogenic amines in beer. *Chromatographia*. Vieweg Verlag, 2001, 327-331 s. ISSN: 00095893.
- [74] PRADENAS, J., GALARCE-BUSTONS, O., HENRÍQUEZ-AEDO, K., MUNDACATURIBE, R. a ARANDA, M. Occurrence of Biogenic Amines in Beers from Chilean Market. *Food Control*, 2016, 138-145 s. ISSN: 0956-7135.
- [75] HALÁSZ, A., BARÁTH, Á., SIMON-SARKADI, L., a HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, 1994, roč.5, č.2, 42-49 s. ISSN: 0924-2244.
- [76] LARQUÉ, E., SABATER-MOLINA, M. a ZAMORA, S. Biological Significance of Dietary Polyamines. *Nutrition*, 2007, roč. 23, 87-95 s. ISSN: 0899-9007.
- [77] GUGLIUCCI, A. Polyamines as Clinical Laboratory Tools. *Clinica Chimica Acta*, 2004, roč. 344, 23-35 s. ISSN: 0009-8981.
- [78] KOHAJDOVÁ, Z., KAROVIČOVÁ, J. a GREIF, G. Biogénne amíny v potravinách. *Potravinárstvo*, 2008, roč. 2, 30–49 s. ISSN: 1337-0960.
- [79] JUNEJA, V. K. a SOFOS, J. N. *Pathogens and toxins in foods: challenges and interventions*. Washington, DC: ASM Press, 2009, 512 s. ISBN: 978-1-55581-459-5.
- [80] SAKAMOTO, K. a KONINGS, W. N. Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, roč. 89, 105-124 s. ISSN: 0168-1605.
- [81] IZQUIERDO-PULIDO, M. L., MARINE-FONT, A. a VIDAL-CAROU, M. C. Biogenic Amines Formation during Malting and Brewing. *Journal of Food Science*, 1994, roč. 59, č. 5, 1104-1107 s. ISSN: 1750-3841.
- [82] KALAČ, P., HLAVATÁ, V. a KŘÍŽEK, M. Concentrations of Five Biogenic Amines in Czech Beers and Factors Affecting Their Formation. *Food Chemistry*, 1997, roč. 58, č. 3, 209-214 s. ISSN: 0308-8146.
- [83] COSTANTINI, A. VAUDANO, E., DEL PRETE, V., DANEI, M. a GARCIA-MORUNO, E. Biogenic Amine Production by Contaminating Bacteria Found in Starter Preparations Used in Winemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, roč. 57, č. 22, 10664-10669 s. ISSN: 0021-8561.



- [84] CARUSO, M., FIORE, C., CONTURSI, M., SALZANO, G., PAPARELLA, A. a ROMANO, P. Formation of biogenic amines as criteria for the selection of wine yeast. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 2002, roč. 18, č. 2, 159-163 s. ISSN: 0959-3993.
- [85] ERCAN, S. S., BOZKURT, H. a SOYSAL, C. Significance of biogenic amines in food and their reduction methods. *Journal of Food Science*, 2013, roč. 3, 395-410 s. ISSN: 2159-5828.
- [86] *Weyermann* [online]. Bamberg Německo: Andreas Richter – Quality Manager, 2018 [cit. 2019-01-22]. Dostupné z: [www.weyermannmalt.com](http://www.weyermannmalt.com)
- [87] *Raven Trading* [online]. Záhlinice: Tomáš Koranda, 2018 [cit. 2019-01-22]. Dostupné z: <https://www.raven-trading.cz/slad>
- [88] *Mistr Sládek* [online]. Šenov, 2015 [cit. 2019-01-22]. Dostupné z: <http://www.mr-sladek.cz/uvod/sladove-vytazky/31>
- [89] BERNARD, M. Determination of repeatability and reproducibility of EBC accepted methods 1–malt and laboratory wort. *Journal of the Institute of Brewing*, 1992, roč. 98, 81–83 s. ISSN: 2050-0416.
- [90] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Pivovarsko-sladařská analytika I*. Praha: Merkanta, 1992.
- [91] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2007, 55 s. ISBN: 978-80-7271-184-0.
- [92] DADÁKOVÁ, E., KŘÍŽEK, M. a PELIKÁNOVÁ, T. Determination of Biogenic Amines in Foods Using Ultra-performance Liquid Chromatography (UPLC). *Food Chemistry*, 2009, roč. 116, 365-370 s. ISSN: 0308-8146.
- [93] FIECHTER, G., SIVÉC, G. a MAYER, H. K. Application of UHPLC for the simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in ripened acid-curd cheeses. *Journal of Chromatography B*. Elsevier B. V., 2013, 191-200 s. ISSN: 15700232.
- [94] MA, X., ZHAO, D., LI, X. a MENG, L. Chromatographic method for determination of the free amino acid content of chamomile flowers. *Pharmacognosy Magazine*. 2015, 176-179 s. ISSN: 0973-1296.
- [95] BOSCH, L., ALEGRÍA, A. a FARRÉ, R. Application of the 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) reagent to the RP-HPLC determination of amino

- acids in infant foods. *Journal of Chromatography B*. Elsevier B. V., 2006, 176-183 s. ISSN: 15700232.
- [96] ZOTOU, A., LOUKOU, Z., SOUFLEROS, E. a STRATIS, I. Determination of biogenic amines in wines and beers by high performance liquid Chromatography with pre-column dansylation and ultraviolet detection. *Chromatographia*, 2003, roč. 57, 429–439 s. ISSN: 1612-1112.
- [97] HOLBAN, A. M. a GRUMEZESCU, A. M. *Food Control and Biosecurity*. Cambridge, USA: ELSEVIER (Academic Press), 2018, 590 s. ISBN: 978-0-12-811445-2.
- [98] BUŇKA, F., BUDINSKÝ, P., ČECHOVÁ, M., DRIENOVSKÝ, V., PACHLOVÁ, V., MATOULKOVÁ, D., KUBÁŇ, V. a BUŇKOVÁ, L. Content of Biogenic Amines a Polyamines in Beers from the Czech Republic. *Journal od The Institute of Brewing*, 2012, roč. 118, 213–216 s. ISSN: 2050-0416.
- [99] PLEVA, P., BUŇKOVÁ, L., LAUKOVÁ, A., LORENCOVÁ, E., KUBÁŇ, V. a BUŇKA, F. Factors Affected Decarboxylation Activity of *Enterococcus Faecium* Isolated from Rabbit. *Potravinárstvo*, 2012, roč. 6., 46–49 s. ISSN: 1337-0960.
- [100] PELIKÁN, M., DUDÁŠ, F. a MÍŠA, D. *Technologie kvasného průmyslu*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004, 129 s. ISBN: 80-7157-578-X.
- [101] LEWIS, M. J. a YOUNG, T. W. *Brewing*. New York: Springer Science & Business Media, 2012, 398 s. ISBN: 978-0-306-47274-9.
- [102] MANLEY, D. *Technology of biscuits, crackers and cookies*. Philadelphia: Woodhead Publishing, 2000, 499 s. ISBN: 0-8493-0895-X.
- [103] MAREČEK, V. *Sladové výtažky*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1957, 116 s.
- [104] CONG, N., WANG, CH., ZHOU, G., DOU, F. a HUANG, M. Effects of Malting conditions on the amino acid compositions of final malt. *African Journal of Biotechnology*. China: Academic Journals, 2010, 9018-9025 s. ISSN: 1684–5315.
- [105] NOGATA, Y., YANAGISAWA, T., ABE, D., SAITO, T., YOSHIDA, A., OHTA, H. a NAGAMINE, T. Determination of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid and Free Amino Acid Contents in Barley. *Food Science and Technology Research*. Japan: Japanese Society for Food Science and Technology, 2012, 263 – 269 s. ISSN: 1344-6606.
- [106] KOCADAĞLI, T., ŽILIC, S., TAŞ, N. G., VANČETOVIĆ, J., DODIG, D. a GÖKMEN, V. Formation of  $\alpha$ -dicarbonyl compounds in cookies made from wheat,

hull-less barley and colored corn and its relation with phenolic compounds, free amino acids and sugars. *European Food Research and Technology*. Springer Berlin Heidelberg, 2016, 51-56 s. ISSN: 1438-2377.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AGM	Agmatin
AM	Abbey malt
AMK	Aminokyseliny
BA	Biogenní aminy
BPM	Bohemian Pilsner malt
CAD	Kadaverin
CAM	Slad Caraamber
CAR	Slad Caraaroma
CBO	Slad Carabohemian
CF	Slad Carafa
CFS	Slad Carafa special
CH	Slad Carahell
CMU	Slad Caramunich
CP	Slad Carapils
CTK	Cylindrokónické tanky
CRD	Slad Carared
CRY	Slad Cararye
CW	Slad Carawheat
ČPPS	Čokoládový pšeničný pražený slad
ČŽPS	Čokoládový žitný pražený slad
DAD	Detektor v diodovém poli
EBC	Jednotka barvy sladu/piva
ES	Extra světlý
FAA	Volné aminokyseliny
HIS	Histamin

---

HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
JAN	Jantarový
KS	Kyselý slad
MM	Munich malt
NS	Nakuřovaný slad
PA	Polyaminy
PHE	Fenyletylamin
PM	Pilsner malt
PNS	Pšeničný nakuřovaný slad
PSS	Pšeničný slad světlý
PŠE	Pšeničný
PTS	Pšeničný tmavý slad
PUT	Putrescin
SB	Slad Black (barvící)
SČ	Slad český
S.D.	Směrodatná odchylka
SK	Slad karamelový
SM	Slad melanoidní
SMN	Slad mnichovský
SP	Slad pšeničný
SPA	Slad Pale Ale
SPE	Spermidin
SPM	Spermin
SV	Slad vídeňský
SW	Slad Special W
SŽ	Slad žitný

TM	Tmavý
TRP	Tryptamin
TS	Tekutý světlý
TYR	Tyramin
UV	Ultrafialové záření
VM	Vienna malt

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Tvorba biogenních aminů [75]</i> .....	28
<i>Obrázek 2: Celkové množství FAA ve světlých sladech</i> .....	54
<i>Obrázek 3: Celkové množství FAA v tmavých sladech</i> .....	54
<i>Obrázek 4: Celkové množství FAA ve sladových výtažcích</i> .....	54
<i>Obrázek 5: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carapilis</i> .....	56
<i>Obrázek 6: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Pilsner malt</i> .....	56
<i>Obrázek 7: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Bohemian Pilsner malt</i> .....	57
<i>Obrázek 8: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Vienna malt</i> .....	57
<i>Obrázek 9: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Munich malt</i> .....	58
<i>Obrázek 10: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu pšeničném světlém</i> .....	58
<i>Obrázek 11: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu mnichovském</i> .....	59
<i>Obrázek 12: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu vídeňském</i> .....	59
<i>Obrázek 13: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu pšeničném</i> .....	60
<i>Obrázek 14: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Pale Ale</i> .....	61
<i>Obrázek 15: Obsah nejvíce zastoupených BA v kyselém sladu</i> .....	61
<i>Obrázek 16: Obsah nejvíce zastoupených BA v pšeničném tmavém sladu</i> .....	62
<i>Obrázek 17: Obsah nejvíce zastoupených BA v pšeničném nakuřovaném sladu</i> .....	63
<i>Obrázek 18: Obsah nejvíce zastoupených BA v nakuřovaném sladu</i> .....	63
<i>Obrázek 19: Celkové množství BA u jednotlivých vzorků světlých sladů</i> .....	64
<i>Obrázek 20: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Abbey malt</i> .....	65
<i>Obrázek 21: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carahell</i> .....	65
<i>Obrázek 22: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Special W</i> .....	66
<i>Obrázek 23: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Caraamber</i> .....	66
<i>Obrázek 24: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carafa</i> .....	67
<i>Obrázek 25: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Caramunich</i> .....	67
<i>Obrázek 26: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Carawheat</i> .....	68
<i>Obrázek 27: Obsah nejvíce zastoupených BA ve sladu Cararye</i> .....	69
<i>Obrázek 28: Obsah nejvíce zastoupených BA v melanoidním sladu</i> .....	70
<i>Obrázek 29: Celkové množství BA u jednotlivých vzorků tmavých sladů</i> .....	71
<i>Obrázek 30: Celkové množství BA u jednotlivých sladových výtažků</i> .....	72

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tabulka 1: Skladovatelnost ječmene v závislosti na vlhkosti a teplotě skladování .....</i>	<i>7</i>
<i>Tabulka 2: Obsah sušiny a vody ve vzorcích světlých sladů (v %).....</i>	<i>44</i>
<i>Tabulka 3: Obsah sušiny a vody ve vzorcích tmavých sladů (v %) .....</i>	<i>45</i>
<i>Tabulka 4: Porovnání sladů z hlediska obsahu sušiny a vlhkosti (v %).....</i>	<i>46</i>
<i>Tabulka 5: Obsah sušiny a vody ve sladových výtažcích (v %) .....</i>	<i>46</i>



## SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: Údaje o sušině dané výrobcem

PŘÍLOHA P II: Údaje o vlhkosti dané výrobcem

## PŘÍLOHA P I: ÚDAJE O SUŠINĚ DANÉ VÝROBCEM

<b>Slady Weyermann</b>	
<b>Název vzorku</b>	<b>Sušina [%]</b>
Abbey malt	min. 75,0
Carahell	min. 74,0
Carapills	min. 75,0
Special W	min. 73,0
Caraamber	min. 75,0
Pilsner Malt	min. 80,5
Carafa	min. 65,0
Bohemian Pilsner Malt	min. 80,0
Caramunich	min. 73,0
Vienna malt	min. 79,0
Caraaroma	min. 74,0
Carafa special	min. 65,0
Carabohemian	min. 73,0
Munich malt	min. 78,0
Carawheat	min. 68,0
Cararye	min. 74,0
Carared	min. 74,0
Pšeničný slad světlý	min. 82,0
Slad žitný	min. 81,0
Pale Ale	min. 79,0
Kyselý slad	min. 75,0
Melanoidní slad	min. 75,0
Čokoládový pšeničný pražený slad	min. 65,0
Pšeničný tmavý slad	min. 81,0
Čokoládový žitný pražený slad	min. 65,0
Pšeničný nakuřovaný slad	min. 82,0
Nakuřovaný slad	min. 77,0

<b>Sladovna Záhlinice</b>	
<b>Název vzorku</b>	<b>Sušina [%]</b>
Slad mnichovský	80,4
Slad karamelový	78,3
Slad melanoid	81,0
Slad vídeňský	80,2
Slad český	80,0
Slad pšeničný	82,0
Slad barvící	73,9

<b>Tekuté vzorky (Coopers, Mr. Sládek)</b>	
<b>Název vzorku</b>	<b>Sušina [%]</b>
Sladový výtažek – extra světlý	81,0
Sladový výtažek – tekutý světlý	80,0 – 82,0
Sladový výtažek – jantarový	81,0
Sladový výtažek – pšeničný	82,0
Sladový výtažek – tmavý	82,0

## PŘÍLOHA P II: ÚDAJE O VLHKOSTI DANÉ VÝROBCEM

<b>Slady Weyermann</b>	
<b>Název vzorku</b>	<b>Vlhkost [%]</b>
Abbey malt	max. 4,5
Carahell	max. 9
Carapills	max. 7
Special W	max. 6,5
Caraamber	max. 4,5
Pilsner Malt	max. 5
Carafa	max. 3,8
Bohemian Pilsner Malt	max. 5
Caramunich	max. 6,5
Vienna malt	max. 5,5
Caraaroma	max. 7
Carafa special	max. 3,8
Carabohemian	max. 6,5
Munich malt	max. 4,5
Carawheat	max. 6,5
Cararye	max. 6,5
Carared	max. 7,5
Pšeničný slad světlý	max. 5,5
Slad žitný	max. 6
Pale Ale	max. 4,5
Kyselý slad	max. 10
Melanoidní slad	max. 4,5
Čokoládový pšeničný pražený slad	max. 4
Pšeničný tmavý slad	max. 5
Čokoládový žitný pražený slad	max. 4
Pšeničný nakuřovaný slad	max. 5,5
Nakuřovaný slad	max. 5

<b>Sladovna Záhlinice</b>	
<b>Název vzorku</b>	<b>Vlhkost [%]</b>
Slad mnichovský	2,9
Slad karamelový	4,1
Slad melanoid	3,4
Slad vídeňský	3,9
Slad český	4,8
Slad pšeničný	4,8
Slad Black	3,4

<b>Tekuté vzorky (Coopers, Mr. Sládek)</b>	
<b>Název vzorku</b>	<b>Vlhkost [%]</b>
Sladový výtažek – extra světlý	19
Sladový výtažek – tekutý světlý	18 - 20
Sladový výtažek – jantarový	19
Sladový výtažek – pšeničný	19
Sladový výtažek – tmavý	18