

Technologie výroby bezlepkového piva

Filip Petroš

Bakalářská práce
2022

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Filip Petroš**
Osobní číslo: **T19118**
Studijní program: **B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin**
Specializace: **Technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Technologie výroby bezlepkového piva**

Zásady pro vypracování

Teoretická část

Vypracujte literární rešerši zaměřenou na produkci bezlepkových piv:

1. Charakterizujte bezlepkové pivo a legislativní předpisy související s jeho produkcí.
2. Popište suroviny pro jeho výrobu a technologické postupy, které mohou ovlivnit obsah a stav bílkovin pocházejících ze sladu/surogovaných obilovin a alternativních plodin.
3. Charakterizujte senzorický profil bezlepkových piv přítomných v tržní síti.

Praktická část

1. Vytvořte prototyp bezlepkového piva, kdy slad bude vyroben z bezlepkových surovin. Zaměřte se na faktory ovlivňující výslednou senzorickou kvalitu výrobku.
2. Proveďte základní provozní analýzy.

Výsledky výroby a analýz popište a diskutujte, vyvoďte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] HAGER, Anna-Sophie et al., 2014. Gluten free beertextendash A review. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 36(1), 44-54 [cit. 2021-4-29]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2014.01.001
- [2] MEO, B. et al., 2011. Behaviour of Malted Cereals and Pseudo-Cereals for Gluten-Free Beer Production. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 117(4), 541-546 [cit. 2021-4-29]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2011.tb00502.x
- [3] NIEWINSKI, Mary M., 2008. Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet. *Journal of the American Dietetic Association* [online]. 108(4), 661-672 [cit. 2021-4-29]. ISSN 00028223. Dostupné z: doi:10.1016/j.jada.2008.01.011
- [4] OWUAMA, C.I. Sorghum: a cereal with lager beer brewing potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [online]. 13(3), 253-260 [cit. 2021-4-29]. ISSN 09593993. Dostupné z: doi:10.1023/A:1018566503879

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Richardos Nikolaos Salek, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **20. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 25. února 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské 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.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce byla zaměřena na charakteristiku a výrobu čirokového (bezlepkového) piva. V praktické části byl vyroben čirokový slad (z odrůdy Ruzrok) a z něj byly připraveny čtyři šarže čirokového piva, lišící se rmutovacím postupem a přidavkem zcukřovacích enzymů. V rámci kontroly meziprojektu a piva byly provedeny vybrané fyzikální–chemické analýzy, dále pak stanovení barvy, hořkosti, velikosti částic, reologických vlastností a biogenních aminů. Na závěr byly vzorky podrobeny sensorické analýze. Z výsledku bylo patrné, že přidavek enzymů a zvolený rmutovací postup, měl vliv na vlastnosti mladiny, prokvašeného piva i výsledného finálního produktu. Použitím zcukřovacích enzymů bylo možné dosáhnout stejného prokvašení jako při výrobě piv z ječného sladu.

Klíčová slova: čirok, pivo, slad, bez lepku, zcukřovací enzymy, rmutovací postup

ABSTRACT

The bachelor thesis was focused on the characteristics and production of sorghum (gluten-free) beer. In the practical part, sorghum malt was produced from the Ruzrok variety and four batches of sorghum beer were prepared from it, presenting differences in the mashing process and the addition of amylolytic enzymes. As a part of the control of the intermediate products and beer, selected physico–chemical analyses were carried out, and further determination of color, bitterness, particle size, rheological properties and biogenic amines. Finally, the samples were subjected to sensory analysis. The result showed that the addition of the enzymes and the chosen mashing strategy had an effect on the tested properties of wort, fermented beer and the final product. By using amylolytic enzymes, it was possible to achieve the same fermentation degree as in the production of barley–malt beers.

Keywords: sorghum, beer, malt, gluten-free, amylolytic enzymes, mashing procedure

Rád bych poděkoval panu doc. Ing. Richardosovi Nikolaosovi Salekovi, Ph.D. za pomoc, odborné vedení a cenné rady, které mi pomohly při vypracování této práce. Dále bych chtěl poděkovat zaměstnancům ústavu za pomoc při práci v laboratoři. Závěrem bych chtěl poděkovat své přítelkyni a rodině za podporu při celém studiu.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHARAKTERISITKA BEZLEPKOVÉHO PIVA	12
1.1 PLATNÁ LEGISLATIVA PRO PRODUKCI BEZLEPKOVÉHO PIVA	12
1.2 CHARAKTERISTIKA LEPKU	13
1.3 CELIAKIE	14
1.4 ALERGIE NA LEPEK	15
1.5 NECELIAKÁLNÍ GLUTENOVÁ SENZITIVITA.....	15
1.6 STANOVENÍ LEPKU V PIVU A SLADU	16
1.7 BEZLEPKOVÉ PIVOVARNICTVÍ V ČESKÉ REPUBLICE.....	17
1.8 CHARAKTERISTIKA BEZLEPKOVÉHO PIVA DLE BJCP	18
2 VÝROBA PIVA.....	19
2.1 SUROVINY PRO VÝROBU PIVA	19
2.1.1 Voda.....	19
2.1.2 Slad	19
2.1.3 Chmel.....	20
2.1.4 Pivovarské kvasinky	20
2.2 VÝROBA SLADU	20
2.2.1 Máčení zrna	20
2.2.2 Klíčení.....	21
2.2.3 Hvozdění	21
2.2.4 Konečné úpravy sladu.....	21
2.3 VÝROBA PIVA	21
2.3.1 Šrotování	21
2.3.2 Vystírání.....	22
2.3.3 Rmutování	22
2.3.4 Scezování	22
2.3.5 Chmelovar	23
2.3.6 Chlazení mladiny.....	23
2.3.7 Hlavní kvašení	23
2.3.8 Zrání piva	24
2.3.9 Filtrace a pasterizace.....	24
2.3.10 Stáčení piva	24
3 VÝROBA BEZLEPKOVÉHO PIVA	25
3.1 VÝROBA Z JEČNÉHO SLADU	25
3.2 VÝROBA Z PŘIROZENĚ BEZLEPKOVÝCH SUROVIN.....	26
3.2.1 Čirok	26
3.2.2 Proso	28
3.2.3 Kukuřice.....	28

3.2.4	Rýže	29
3.2.5	Teff	29
3.2.6	Oves	30
3.2.7	Pohanka.....	30
3.2.8	Quinoa.....	31
3.2.9	Amarant.....	31
4	BEZLEPKOVÉ PIVA V TUZEMSKÉ TRŽNÍ SÍTI	33
II	PRAKTICKÁ ČÁST.....	37
5	CÍL PRAKTICKÉ ČÁSTI.....	38
6	METODIKA PRÁCE.....	39
6.1	SUROVINY.....	39
6.1.1	Čirok	39
6.1.2	Chmel.....	39
6.1.3	Kvasnice.....	39
6.1.4	Enzymy	39
6.1.5	Voda.....	39
6.2	POMŮCKY	40
6.3	VÝROBA SLADU	41
6.4	VÝROBA PIVA	41
6.5	MĚŘENÍ A ANALÝZY	44
6.5.1	Stanovení sladovnické ztráty.....	44
6.5.2	Stanovení obsahu vody v zrně	44
6.5.3	Stanovení vybraných fyzikálně-chemických parametrů piva.....	44
6.5.4	Mikrobiologický rozbor.....	45
6.5.5	Stanovení biogenních aminů	46
6.5.6	Stanovení barvy piva metodou EBC	46
6.5.7	Stanovení barvy piva metodou CIELab.....	46
6.5.8	Stanovení hořkosti piva	47
6.5.9	Stanovení velikosti částic.....	47
6.5.10	Reologická analýza.....	47
6.5.11	Senzorická analýza	47
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	49
7.1	SLAD	49
7.2	MLADINA.....	50
7.3	PIVO	53
7.3.1	Fyzikálně-chemické parametry	53
7.3.2	Mikrobiologický rozbor.....	57
7.3.3	Biogenní aminy	58
7.3.4	Instrumentální analýza barvy	60
7.3.5	Hořkost.....	61
7.3.6	Velikost částic	62
7.3.7	Reologická analýza.....	63
7.3.8	Senzorická analýza	65

ZÁVĚR	67
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	69
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	78
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	79
SEZNAM TABULEK	80
SEZNAM PŘÍLOH	81

ÚVOD

Pivo patří mezi nejstarší alkoholické nápoje, jehož vznik se datuje do dob neolitické revoluce. Cílená výroba piva byla potvrzena již 4000 let př.n.l. v Mezopotámii. Zmínky o přípravě kvašených obilných nápojů nalezneme u starověkých civilizací v Egyptě, Asii, Palestině nebo v Jižní Americe. (Chládek, 2007) Do dnešních dob se ve světě vyrábí různé varianty kvašených nápojů z obilí. V České republice byla spotřeba piva na osobu v roce 2020 téměř 140 l. (ČSÚ, 2021) Pivo je v naší zemi vnímáno jako národní nápoj, který je součástí českého kulturního dědictví (Chráněné zeměpisné označení „České pivo“). Surovinou pro výrobu piva je slad z ječmene (pšenice), chmel a voda. V posledních letech vzrůstá počet osob vyhýbající se konzumaci lepku. Lepek se nachází v pšenici, ječmeni, žitu a ovsu. Z tohoto důvodu může být pro lidi trpící některým typem onemocnění nevhodné klasické obilné pivo. Kromě ochuzení o sensorický aspekt piva má toto omezení dopad také na sociální život jedince.

Bakalářská práce je rozdělena na část teoretickou a praktickou. Teoretická část práce se skládá ze čtyř kapitol. V první kapitole se charakterizuje bezlepkové pivo, ve druhé kapitole je popsán postup výroby klasického ječného sladu a piva, ve třetí kapitole možnosti výroby bezlepkového piva. Poslední kapitola teoretické části prezentuje český trh s bezlepkovým pivem. V praktické části je popsána výroba čirokového sladu, modelových vzorků piva a výsledky práce s diskuzí.

Chtěl bych touto prací přispět svou měrou do rozvoje českého pivovarství a umožnit objevovat jeho krásy i lidem, kterým to zdravotní omezení neumožňuje.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISITKA BEZLEPKOVÉHO PIVA

Bezlepkové pivo se od klasického piva odlišuje nižším nebo žádným obsahem lepkových bílkovin. Toho lze dosáhnout jak speciálními varnými postupy, tak i použitím surovin, které lepkové bílkoviny neobsahují. (Hager et al., 2014)

Část populace se dlouhodobě vyhýbá konzumaci lepku, a to buď z důvodu diagnostikované nemoci nebo z dobrovolného rozhodnutí. Nejrozšířenějším onemocněním souvisejícím s nesnášenlivostí lepku je celiakie. Předpokládá se, že touto nemocí trpí asi 1 % světové populace. (Niewinski, 2008) Mezi další onemocnění související s lepkem patří alergie na lepek a neceliakální glutenová senzitivita. (Zavoral, Frič a Dvořáková, 2013)

1.1 Platná legislativa pro produkci bezlepkového piva

Výrobu bezlepkového piva nespecifikuje žádný legislativní předpis, ale řídí se všeobecnými pokyny vztahující se k výrobě piva a označování alergenů. V rámci značení alergenů a informací o obsahu lepku v potravině se Česká republika a všechny státy Evropské unie řídí nařízeními Evropského parlamentu a rady. Stěžejní jsou nařízení č. 1169/2011 a č. 828/2014. (Evropská unie, 2011; Evropská unie 2014)

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, definuje 14 potravinových alergenů. Číslem jedna jsou označeny obiloviny obsahující lepek. Dle nařízení zde patří: pšenice (například špalda a khorasan), žito, ječmen, oves nebo jejich hybridní odrůdy a výrobky z nich. V tomto nařízení jsou stanovené také potraviny, které mají sice původ ve zmíněných obilovinách, ale technologický postup u nich odstranil problematické alergenní látky. Patří zde: glukozové sirupy na bázi pšenice včetně dextrózy, maltodextriny na bázi pšenice, glukozové sirupy na bázi ječmene a obiloviny použité k výrobě alkoholických destilátů, včetně etanolu zemědělského původu. (Evropská unie, 2011)

Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 828/2014 ze dne 30. července 2014 o požadavcích na poskytování informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách spotřebitelům definuje pokyny pro značení potravin bez lepku nebo se sníženým obsahem lepku. Výrobek označený výrazem „bez lepku“ nesmí překročit celkové množství lepku nad 20 mg/kg. Byl definován výraz „velmi nízký obsah lepku“, kterým se stanovuje, že výrobek obsahuje nanejvýš 100 mg/kg lepku. Nařízení se zabývá také ovsem. Ten se

považuje za bezpečný, pokud je obsah lepku nanejvýš 20 mg/kg a během výroby nedošlo ke kontaminaci pšenicí, ječmenem nebo žitem. (Evropská unie, 2014)

V národní legislativě České republiky je pivo definováno vyhláškou 248/2018 Sb. o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí, části čtvrtou. Zde se uvádí, že pivo je vyrobené zkvašením mladiny ze sladu, vody a chmele. Sladem se rozumí zrno ječmene nebo jiné obiloviny, kdy vlivem sladování došlo k enzymatickým přeměnám endospermu a k vytvoření typických chuťových, aromatických a barvicích látek. Slad lze do jedné třetiny z hmotnosti celkového extraktu původní mladiny nahradit nesladovanou obilovinou, škrobem nebo cukrem. Dále vyhláška definuje pivo z jiných obilovin jako pivo s extraktem jiné obiloviny, než je ječmen, a to nad jednu třetinu z celkového extraktu. Dle české legislativy se tak může bezpečné pivo vyrobené z alternativní suroviny nazývat pivem. (Česká republika, 2018)

1.2 Charakteristika lepku

Mezi obiloviny obsahující lepek patří pšenice (*Triticum*), žito (*Secale*) a ječmen (*Hordeum*), včetně jejich starších variant a kříženců. Společně se řadí do čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Všechny tyto kulturní plodiny obsahují imunostimulační glutenové i neglutenové peptidy. (Hoffmanová, 2019) Mezi tyto plodiny je někdy řazen také oves (*Avena*). Nové poznatky naznačují, že při zamezení posklizňové kontaminace ovsa, s obilovinami obsahující lepek, je možné oves považovat za bezpečný. (Janatuinen, 2000) Studie dokazují, že oves bývá v procesu výroby velmi často kontaminovaný, proto je třeba zvolit vždy takový výrobek z ovsa, který je označen jako bezpečný. (Rysová, Mašková a Šmídová, 2019)

Zásobní bílkoviny zrn obilovin se dělí na ve vodě rozpustné (albuminy, globuliny) a ve vodě nerozpustné (prolaminy, gluteliny). Samotný lepek (gluten) je tvořen prolaminy a gluteliny. Rozdíl mezi nimi je ve struktuře molekul. Prolaminy jsou tvořeny lineárními řetězci aminokyselin, zatímco gluteliny rozvětvenými řetězci aminokyselin. Název prolaminu pro jednotlivé obiloviny je odvozen od jejich názvů. U pšenice jsou to gliadiny, u žita sekaliny, u ječmene hordeiny a u ovsa aveniny. Gluteliny pšenice se nazývají gluteniny, u žita, ječmene a ovsa se používá název glutelin. (Hoffmanová, 2019) Složení proteinu vybraných obilovin je uvedeno v Tabulce 1.

Tabulka 1: Složení proteinu (% w/w) ve vybraných obilovinách (Velíšek a Hajšlová, 2009)

Obilovina	Albuminy	Globuliny	Prolaminy/gliadiny	Gluteliny
Pšenice	14,7 % leukosin	7,0 % edestin	32,6 % gliadin	45,7 % glutelin
Žito	44,4 %	10,2 %	20,9 % sekalin	24,5 % sekalinin
Ječmen	12,1 %	8,4 %	25,0 % hordein	54,5 % hordenin
Oves	20,2 %	11,9 % avenalin	14,0 % gliadin	53,9 % avenin
Rýže	10,8 %	9,7 %	2,2 % oryzin	77,3 % oryzeinin
Kukuřice	4,0 %	2,8 %	47,9 % zein	45,3 % zeinin

Obsah jednotlivých glutenových bílkovin se liší u jednotlivých obilovin. Složení bílkovin globálně nejdůležitější obiloviny pšenice je z 80–85 % w/w tvořené prolaminy (gliadiny). Právě díky vyššímu obsahu prolaminu je pšenice potravinářský velmi významná. Gliadin spolu s gluteninem tvoří trojrozměrnou síť, která způsobuje elasticitu pekařských těst a hmot. Do síťové struktury se během kypření zabudovává kypřící plyn a tím dochází ke kypření výrobku. Využívá se taky jako náhražka do levnějších druhů potravin případně jako aditivum v potravinářství. (Velíšek a Hajšlová, 2009; Hoffmanová, 2019)

Struktura jednotlivých bílkovin je v pšenici, ječmeni a žitu podobná. V prolaminu se nachází vyšší obsah aminokyseliny prolin a glutamin. Prolin se váže svým postranním řetězcem na α -aminoskupinu jiných aminokyselin na glutenovém řetězci. Tato vazba je odolná vůči hydrolytickému štěpní proteáz v organizmu. (Hoffmanová, 2019)

1.3 Celiakie

Celiakie patří do skupiny autoimunitních onemocnění, jehož jediná současná léčba je vyřazení potravin obsahující lepek. (Hoffmanová, 2019)

Pro vznik celiakie u jedince je podstatná genetická predispozice a konzumace potravin obsahující lepek. Důležité jsou také vnější faktory prostředí, které jsou často spouštěčem onemocnění. Nositeli specifických genů HLA–DQ2 a HLA–DQ8 je okolo 95 % pacientů postižených celiakii. Tyto geny způsobují tvorbu glykoproteinu, které se nacházejí na enterocytech a buňkách imunitního systému na povrchu tenkého střeva. Při štěpení lepku digestivními proteázami dochází ke vzniku antigenních peptidů, na které reagují

glykoproteinové receptory. Mezi buňkami epitelu tenkého střeva prochází tyto antigeny do krevního oběhu. Podle odpovědi imunitního systému dojde buď ke vzniku imunogenní nebo tolerogenní reakce. Imunogenní reakce vzniká ve střevní sliznici, kde se nacházejí specifické T-lymfocyty, které antigenní peptidy vyhodnotí jako cizorodý prvek a dají signál B-lymfocytům. Tyto buňky spustí tvorbu protilátek. Do krevního oběhu se spouští enzym tkáňová transglutamináza (tTG). Tento enzym začne reagovat s peptidy ve střevní sliznici a vlivem přeměny se stanou ještě více reaktivní. Postupně z nich vznikají velké imunokomplexy, jejíž součástí jsou i tkáňové enzymy (tTG). Organismus celý komplex (včetně vlastní bílkoviny tTG) vyhodnotí jako cizí a spouští další imunitní reakci. Všechny tyto reakce probíhají ve sliznici tenkého střeva a vznikem různých zánětlivých míst dojde k obnažování slizniční vrstvy a zmenšování střevních klků a mikrokľků. Zmenšuje se tím plocha pro příjem živin. Dlouhodobá tvorba antigenů může vést k rozvoji dalších autoimunitních onemocnění. (Frič a Keil, 2011)

Mezi příznaky tohoto onemocnění patří: průjem, bolesti břicha, plynatost, anémie, hubnutí, Duhringova dermatitida, polyneuritidy, neurologické problémy, deprese, samovolné potraty, u dětí problém s vývojem a impotence. (Frič a Keil, 2011)

1.4 Alergie na lepek

Onemocnění způsobené IgE protilátkami reagujícími na pšeničnou bílkovinu. Protilátky reagují především s aminokyselinou prolin a glutamin, které se v bílkovině lepku opakovaně vyskytují. Vlivem toho dojde k uvolnění prozánětlivých mediátorů (např. histaminu) a vzniku alergické reakce. Rozlišuje se několik typů příznaku podle expozice alergenu: potravinová alergie (anafylaxe vyvolaná fyzickou aktivitou, atopická dermatitida, kopřivka), rinitida nebo astma pekařů. Diagnostika probíhá kožními testy. (Zavoral, Frič a Dvořáková, 2013)

1.5 Neceliakální glutenová senzitivita

Někteří jedinci mají přetrvávající zdravotní problémy i přes negativní vyšetření na celiakii či alergii na lepek. Toto onemocnění bylo v posledních letech označeno jako neceliakální glutenová senzitivita. Nemoc je způsobená lepkem, který v organismu spouští prolomení imunologické slizniční tolerance. To vede k zapojení prvků přirozené imunity. Dále lepek může vyvolat zvýšenou sekreci acetylcholinu, který vyvolává průjem. Popsán byl také vliv na zpomalení pohybu střev vedoucí k zácpě. Není ještě znám přesný mechanismus

onemocnění. Vliv na reakci může mít také mikrobiální diverzita střevního mikrobiomu. Bylo také zjištěno, že strava složená z fermentabilních oligosacharidů, disacharidů, monosacharidů a polyolů (FODMAPs) může být substrátem pro střevní bakterie, které vyvolávají tvorbu plynu podporující větší přechod tekutin do střev. To může zesílit gastrointestinální problémy u pacientů s touto nemocí. Zmiňován je i vliv potravinových aditiv. Příznaky nemoci jsou: nadýmání, průjem, zácpa, bolesti břicha, kožní projevy, neurologicko–psychiatrické projevy, anémie nebo bolesti kloubů. Diagnóza je stanovena postupným vyloučením celiakie a alergie na lepek. Následně je ze stravy vysazen lepek a pozorováno případné zlepšení. Po čase je do stravy opět lepek zařazen pro potvrzení senzitivity. (Hoffmanová a Sánchez, 2015)

1.6 Stanovení lepku v pivu a sladu

Několik studií a výzkumu se zabývalo stanovením lepku v pivu nebo sladu. Ke stanovení množství lepku se nejčastěji využívá sendvičová metoda ELISA (Enzyme–linked Immuno Sorbent Assay). Principem této metody je reakce antigenů s protilátkou. Komerčně dodávané sety jsou ve formě vzorkovacích destiček s jamkami. Na dno je navázaná první protilátka, na niž se váže specifický antigen. Nenavázaný antigen se vyplaví. Poté se přidá druhá protilátka vázající se na stejný antigen, která nese enzym (např. peroxidáza). Vzorek se inkubuje a nezachycené části se vyplavují. Poté se přidá substrát navázaného enzymu a pozoruje se vznik produktu, který je charakterizován barevnou změnou. Obsah antigenu ve vzorku se stanovuje spektrofotometricky nebo fluorescenčně. (Schneiderka, 2004)

V rámci studie, kterou se zabýval Dostálek et al. (2006) bylo zjištěno, že například světlý plzeňský slad obsahoval 18 g/kg, slad Carafa 45 g/kg a pšeničný světlý 68 g/kg lepku. Dále bylo zjištěno, že při procesu vaření piva ze světlého plzeňského sladu dvourmutovým způsobem, se jen malá část lepku ze sladu převede do sladiny, většina zůstane v mlátu během scezování. Před začátkem kvašení se v mladině nacházelo jen 48 mg/kg původního lepku. Během kvašení se obsah lepku snížil jen na 6 mg/kg a po křemelinové filtraci na 3 mg/kg. Výsledky naznačují, že nejnižší obsah lepku vykazovala piva nealkoholická, poté ležáky, tmavá piva a nejvyšší obsah měla piva pšeničná. (Dostálek et al., 2006)

Při obdobné studii Mikulíkové et al. (2013) bylo analyzováno 33 vzorků piva (30 českých a 3 zahraniční). Ve světlých ležácích české produkce se nacházelo 24 - 108,4 mg/l lepku, u výčepních piv 6,2 - 58,8 mg/l lepku. Zahraniční piva vykazovala nižší hodnoty gliadinu (do 20 mg/l). Autoři se domnívají, že to je způsobeno použitím surogátu ve výrobě piva.

Nejvyšší hodnoty gliadinu byly zaznamenány u pšeničného piva 1335,5 mg/l. (Mikulíková et al., 2013)

Dlouhodobá studie Pernica et al. (2020) se zabývala množstvím lepku ve vzorcích 361 českých komerčních piv průběžně v letech 2014–2019. Výsledky potvrdily, že bezlepková piva jsou v 99 % bezlepková. V případě radleru (pivo smíchané s ovocnou limonádou) lze 84,6 % vzorků považovat za vhodné. U nealkoholických piv splnilo 43 % vzorku hranici pro označení bezlepkové. U všech ostatních vzorku se hladiny lepku vešly do tvrzení s velmi nízkým obsahem lepku. Piva označené jako ležáky a speciální se až na výjimky také vešla do obou kategorií (průměrně 52,7 mg/l). Nevyhovující byla piva pšeničná, u kterých byl obsah lepku velmi vysoký (průměrně 2198,3 mg/l). Závěr této studie je takový, že kromě piv označených jako bezlepková se na českém trhu vyskytuje značné množství výrobků, které tuto hranici splňují, ačkoliv to na obalu nedeklarují. (Pernica et al., 2020)

Piva s obsahem pšenice obsahují vždy vysoké množství lepku. Dokládají to i výsledky zahraničních studií. V testu 153 belgických piv (51 piv po 3 šaržích) byl obsah lepku rozdílný dle výrobní šarže. Piva s obsahem pšenice měla vysoké hodnoty lepku oproti pivům z ječmene. Závěr studie byl takový, že obsah lepku úzce souvisí s technologických procesem vaření. (Watson et al., 2018)

1.7 Bezlepkové pivovarnictví v České republice

Prvním českým pivovarem, který uvařil bezlepkové pivo byl „Zámecký minipivovar Ostrava-Zábřeh“. V roce 2008 uvařili devítiprocentní pohankové pivo a o rok později jedenáctiprocentní kukuřičné pivo. (NAŠE PRAHA, 2009) Od roku 2010 vyrábí „Žatecký pivovar“ světlý bezlepkový ležák („Celia“) a od roku 2014 také tmavou verzi („Celia dark“). „Pivovar Bernard“ začal vyrábět bezlepkový světlý ležák v roce 2013. (Pro alergiky, 2014) Od roku 2017 začal s výrobou bezlepkového piva „Pivovar Krušnohor“ který se na trhu nacházel pod názvem „Bezlepkoun 11 %“ nebo „Světlý ležák 11° Bez lepku“. Od roku 2017 vyrábí dvanáctiprocentní světlý bezlepkový ležák také „Pivovar Ferdinand“. Později začal s produkcí nealkoholického bezlepkového piva. Největší pivovarská skupina v zemi „Plzeňský Prazdroj“ započal výrobu bezlepkového nealkoholického piva v roce 2018. V posledních letech produkuje několik druhů bezlepkových piv „Pivovar Clock“, který obsah lepku snižuje přidáním nesladovaného čiroku. Více danou problematiku rozebírá kapitola č. 4.

1.8 Charakteristika bezlepkového piva dle BJCP

Dle organizace BJCP (Beer Judge Certification Program) se bezlepkové pivo řadí do kategorie *31.A Alternativní obilné pivo*. Do této kategorie se zařazují klasické pivní styly s alternativními obilovinami. Kromě bezlepkových surovin se zde řadí i žito, pšenice špalda nebo oves. Senzorický charakter piva se řídí parametry dle základního stylu, ve kterém je pivo vyrobeno. Použitá obilovina se může promítnout do výsledného aroma. Pokud má pivo charakter odlišný od základního stylu může se řadit pouze do této kategorie. Nezařazují se zde piva z ječmene, ze kterých byl technologickým postupem odstraněn lepek nebo pivní styly u niž je základem alternativní obilovina. Bezlepkové pivo lze také částečně zařadit do kategorie *31.B Alternativní cukernaté pivo*, pokud při jeho výrobě došlo k nahrazení sladu cukrem nebo jiným bezlepkovým sladidlem. (Strong a England, 2021)

2 VÝROBA PIVA

Nejrozšířenějším typem piva vyráběným na území České republiky je spodně kvašený ležák. Jeho spotřeba v posledních letech mírně klesá. (ČSÚ, 2021) Charakteristický pivní styl v naší zemi je světlý ležák. Vyráběn je z měkké vody, světlého ječného sladu a jemně aromatického chmele.

2.1 Suroviny pro výrobu piva

2.1.1 Voda

Voda tvoří 75–80 % z celkové hmotnosti piva. K výrobě světlého ležáku se používá voda měkká tzv. plzeňská. Ta má nízký obsah iontově rozpuštěných látek. Pro srovnání celková tvrdost plzeňské vody je 0,29 mmol/l a např. mnichovské vody 2,64 mmol/l. Různými postupy lze varní vodu před použitím upravit. (Basařová a Čepička, 1985)

2.1.2 Slad

Základním sladem pro výrobu světlého ležáku je ječný světlý slad plzeňského typu. Charakteristickou vlastností tohoto sladu je nízká hodnota barvy připravené sladiny a velmi dobrá enzymatická výbava. Schopnost sladových enzymů zcukřit škroby během rmutování je charakterizováno diastatickou mohutností udávanou v jednotkách Windische a Kolbacha (hodnoty se pohybují okolo 220–250 j. W.K.). Světlý slad obvykle bývá doplňován speciálními slady pro úpravu vlastností výsledného piva. Celkové množství sladu na várku se nazývá sypání. (Basařová et al., 2021)

Nejvýznamnější surovinou pro výrobu sladu je ječmen setý (*Hordeum vulgare* L.), který je taxonomicky řazen do rodu ječmen (*Hordeum*) jenž náleží do čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Zrna pro klíčení musí projít obdobím dormance (klíčivého klidu), kdy se odbourávají inhibitory klíčení. (Moštek, 1975; Basařová a Čepička, 1985) Mezi sladařsky významné odrůdy ječmene patří Bojos, Francis, Laudis 550, Overture, aj. (Dvořáčková, 2020)

Část sladu lze nahradit nesladovanou obilovinou, škrobem, sirupem nebo cukrem. Takové suroviny se nazývají surogáty. Při výrobě některých piv se uplatňují pro dodání charakteristikách vlastností. Obvykle se používají pro zlevnění výroby i když mohou mít negativní vliv na finální výrobek. (Basařová et al., 2021)

2.1.3 Chmel

Pro výrobu piva se používají samičí květenství chmele evropského (*Humulus lupulus* L.). Uvnitř květu se nachází žlutý prášek zvaný lupulin, který obsahuje hořké chmelové látky. Dnes se chmel dělí dle použití na jemně aromatické odrůdy (Žatecký poloraný červeňák), aromatické odrůdy (Sládek), hořké odrůdy (Premiant) a vysokoobsažné odrůdy (Columbus). (Basařová et al., 2021)

Technologicky významné složky chmele jsou polyfenoly, silice, a pryskyřice. Mezi hlavní úlohu polyfenolů v pivu je jejich antioxidační vlastnost a podpora srážení bílkovin v mladině. Chmelové silice jsou olejovité látky udávající pivu typické aroma. Chmelové pryskyřice dodávají pivu hořkost. Nejvýznamnější složkou jsou α -hořké kyseliny, jejichž varem během chmelovaru dojde k přeměně na iso- α -hořké kyseliny, které způsobují významnou část hořkosti piva. Technologicky méně významné jsou β -hořké kyseliny. (Basařová et al., 2021)

V pivovarství se dnes, až na výjimky, nejčastěji využívají chmelové výrobky. Jedná se o preparáty vyrobené z chmelových hlávek různými technologickými postupy. Velmi rozšířená je výroba chmelových pelet T90 a T45. Dále se lze setkat s chmelovými extrakty, isoextrakty nebo extrakty chmelových silic. (Basařová et al., 2021)

2.1.4 Pivovarské kvasinky

Kvasinky jsou heterofermentativní mikroorganismy s eukaryotickým typem buňky. Taxonomicky náleží do říše fungi (houby). (Bendová a Kahler, 1981) Z technologického hlediska se pivovarské kvasinky rozdělují na svrchní a spodní. Svrchní kvasnice (*Saccharomyces cerevisiae*) se využívají při výrobě piv typu Ale, stout aj. Spodní kvasnice (*Saccharomyces pastorianus*) se využívají při výrobě piv typu ležák. Dodávají se v tekuté nebo sušené formě. (Basařová et al., 2021)

2.2 Výroba sladu

2.2.1 Máčení zrna

Zrno potřebuje ke klíčení a enzymovým reakcím dostatek vody. Surový ječmen obsahuje 8–10 % w/w vody. Aby došlo k nastartování vegetativních procesů v zrně musí se obsah vody zvýšit na 42–46 % w/w. Obsah vody v zrně je charakterizován tzv. stupněm

domočení. Jedná se o obsah vody v zrně. Máčení se provádí v kombinaci se vzduchovými pauzami. (Moštek, 1975; Basařová a Čepička, 1985)

2.2.2 Klíčení

Klíčení zrna je výrobní fáze, při které dochází k aktivaci enzymatické výbavy zrna a jeho fyziologickým změnám. Vnějšími projevy klíčení je tvorba kořínku a stříšky. Uvnitř zrna dochází během klíčení k biochemickým změnám důležitých pro vznik enzymů uplatňujících při rmutování na varně. Dochází k syntéze sladových enzymů, které pomalu štěpí endosperm na nízkomolekulární látky. Kromě pomalého štěpení endospermu dochází také k degradaci neškrobových polysacharidů v aleuronové vrstvě a ke změně tuků nebo bílkovin. Míra degradace endospermu zrna se nazývá rozluštění zrna a probíhá od povrchových vrstev do vnitřní části zrna. (Basařová, 2015; Moštek, 1975)

2.2.3 Hvozďení

Zelený slad se suší na zařízeních zvané hvozdy. Cílem je snížit obsah vody v zrně, umožnit vznik sensoricky aktivních látek (Miliardovy reakce, karamelizace sacharidů, reakce neenzymového hnědnutí), stabilizovat slad zastavením vegetativních procesů, redukovat enzymovou aktivitu aj. V technologickém procesu rozlišujeme dvě stádia hvozďení. Nejdříve se slad šetrně předsouší nižší teplotou (klesá obsah vody) a následně se vyšší teplotou dosouší. V prvním stádiu ještě dochází k vegetativnímu růstu v zrně. Během druhé dosoušení fáze dojde k zastavení vegetačních procesů a při vyšší teplotě i enzymovým procesům. (Moštek, 1975; Basařová, 2015)

2.2.4 Konečné úpravy sladu

Odhvozďený slad se rychle ochladí a odstraní se klíčky (sladový květ). Ty obsahují větší množství lipidů, které mohou mít špatný vliv na sensorickou stránku piva. Hotový slad se nechá před použitím odležet. (Basařová, 2015)

2.3 Výroba piva

2.3.1 Šrotování

Během šrotování dochází k dezintegraci sladového zrna, a tím lepšímu přístupu vody pro zdárný průběh fyzikálně-chemických a enzymových reakcí. Snahou je co nejméně poškodit obalové vrstvy (pluchy). Mletím se získává sladový šrot o různém poměru pluch,

krupice a mouky. Ve šrotu by se neměly vyskytovat celá zrna. (Basařová et al., 2021; Hlaváček a Lhotský, 1972)

2.3.2 Vystírání

Během vystírání se sladový šrot smíchá s hlavním nálevem a vzniká rmut. Poměr mezi vystírací vodou a sladovým šrotem je různý. Rmut při vaření světlého piva se volí řidší, tmavého pak hustší. Zařízení na vystírání se nazývá vystěradlo. Zde se sladový šrot smíchá s vodou a vede do vystírací kádě. Využívají se různé teploty vystírání vzhledem k použité technologii. S vystíráním souvisí další technologický krok, a to zapárka, kdy se různými postupy zvýší teplota rmutu na 50–52 °C. (Basařová et al., 2021)

2.3.3 Rmutování

Hlavním cílem rmutování je extrakce látek ze sladu. Během toho dochází k hydrolýze škrobu, proteolýze bílkovin, kyselinotvorných a oxidačně–redukčních reakcích. Klíčové jsou pro tyto reakce sladové enzymy, které umožňují jejich průběh. Teplota rmutu se ve varném procesu mění, aby byly vytvořeny optimální podmínky pro činnost sladových enzymů. Nejdůležitější jsou reakce způsobené amylolytickými enzymy. Podstatné z nich jsou enzymy α -amyláza a β -amyláza štěpící škrob. Štěpení škrobu má tři fáze: bobtnání a zmazovatění škrobu, ztekucení škrobu a zcukření škrobu. (Basařová a Čepička, 1985)

Základní postup rmutování je rozdělen na dekokční a infuzní. Světlý ležák plzeňského typu se tradičně vyrábí dekokčním způsobem rmutování. Část rmutu (1/3) se odděluje do zvláštní nádoby tzv. rmutovací pánve (několikrát se může opakovat). Zde je rmut vystaven optimálním teplotám pro působení sladových enzymů. (Hlaváček a Lhotský, 1972) Při infuzním rmutování dochází k postupnému ohřevu celého rmutu na stanovenou teplotu. Dřív se tento postup využíval především pro piva svrchně kvašená (Ale, IPA, aj.), dnes nachází uplatnění i při vaření spodně kvašených piv. (Basařová a Čepička, 1985)

2.3.4 Scezování

Během scezování se separuje sladina (tekutá část) od mláta (pevná část), které slouží jako filtr. Po přečerpání rmutu se zařazuje krátký odpočinek. Nejdříve se scezuje předek, který vytéká z rmutu samovolně. Po stečení předku zůstává v mlátu extrakt, aby se získala i tato část, prolévá se mláto vyslazovací vodou o teplotě 75–78 °C. Ze scezovací kádě vytékají výstřelky, které spolu s předkem tvoří sladinu. (Basařová et al., 2021)

2.3.5 Chmelovar

Během chmelovaru se vaří sladina s chmelem (chmelovými produkty). Chmelovar má mnoho funkcí: do piva přechází chmelové látky, sladina se sterilizuje, inaktivují se enzymy, odpařuje se přebytečná voda a těkavé látky, upraví se barva, proběhnou Maillardovy reakce aj. Sladina se zahřívá na teplotu varu a v několika dávkách se přidává chmel či chmelové produkty. Na první dávku se volí chmel s vyšším obsahem hořkých látek, na poslední části chmelovaru zase chmel s vyšším obsahem aromatických látek. (Basařová et al., 2021; Hlaváček a Lhotský, 1972)

2.3.6 Chlazení mladiny

Na konci chmelovaru se od mladiny odděluje chmelové mláto. Odstraňují se spolu s kaly na vířivé kádi. (Hlaváček a Lhotský, 1972) Do ní je mladina za horka přečerpána a roztočena. Během této fáze dojde k vysrážení kalů (tzv. lom mladiny). Ty lze rozdělit na kaly hrubé a jemné lišící se teplotu koagulace. (Basařová a Čepička, 1985; Basařová et al., 2021)

Po této fázi se pivo spílá do kvasných nádob přes chladičí systém. Velmi rozšířené jsou deskové chladiče. Mladina se před zakvašením provzdušňuje, aby bylo přítomno dostatečné množství kyslíku pro životní děje kvasinek. Obsah kyslíku ve studené mladině má být 5–7 mg/l. Obsah extraktu získaného ze sladu před zakvašením je charakterizován extraktem původní mladiny (EPM). (Basařová et al., 2021)

2.3.7 Hlavní kvašení

Během hlavního kvašení dochází k přeměně extraktu na metabolity za pomoci pivovarských kvasnic. Nejdůležitější reakcí je přeměna zkvasitelných sacharidů na etanol, oxid uhličitý, teplo a další produkty. Hlavní živinou kvasinek pro získání energie jsou cukry. Sladový cukr maltóza je rozštěpen na dvě glukózy. Metabolismus kvasinek přeměňuje glukózu na dvě molekuly pyrohroznové kyseliny. Z nich anaerobní cestou vzniká etanol, oxid uhličitý, teplo a vedlejší produkty. Zdrojem dusíku pro kvasinky jsou látky označené jako FAN (Free Amino Nitrogen). Ty tvoří volné aminokyseliny, nižší peptidy, dipeptidy, a tripeptidy. Kvasinky tento dusík využívají ke stavbě buněk a enzymů. Jedná se o klíčový parametr pro růst kvasinek. (Basařová et al., 2021)

Kvašení probíhá ve spilkách nebo cylindrokonických kvasných tancích (CKT). Dávka kvasnic pro zakvašení je přiváděna z propagační nebo úschovné stanice a jsou smíseny

s ochlazenou mladinou. Podle stádia se rozlišují čtyři fáze hlavního kvašení: zaprašování, kroužkování, vysoké hnědě kroužky a propadnutí deky. Hlavní kvašení trvá 7–14 dní dle obsahu extraktu původní mladiny, dávky kvasničné kultury a teploty. (Hlaváček a Lhotský, 1972)

2.3.8 Zrání piva

Cílem zrání piva je dokvašení zbylého extraktu, nasycení piva oxidem uhličitým, odbourání nežádoucích látek, vyčiření a zajištění organoleptických vlastností hotového piva. Ležení probíhá při teplotě 0–2 °C. Pivo zraje v tancích, které mohou být postaveny horizontálně nebo vertikálně. Důležitým procesem během ležení je fixace oxidu uhličitého. V dnešní době je běžné pivo sytit externě dodaným oxidem uhličitým přes hradící ventil. Doba ležení je různá podle zvyku pivovaru. Obecně se udává 21 až 90 dnů v závislosti na typu piva. (Basařová et al., 2021)

2.3.9 Filtrace a pasterizace

Filtrací piva se rozumí odstranění zákalotvorných částic a mikroorganismů z piva za použití filtračních materiálů (např. křemelina). Pasterací se usmrcují mikroorganismy, které se podílí na kažení piva a tím se prodlouží trvanlivost. Teplota a výdrž pasterizace piva se obecně volí 60 °C po dobu 15–20 minut. (Hlaváček a Lhotský, 1972; Basařová a Čepička, 1985)

2.3.10 Stáčení piva

Vyrobené pivo se na stáčecí lince stáčí do spotřebitelských obalů. Stáčení probíhá pod ochranou atmosférou (dusík nebo oxid uhličitý). Mezi oblíbené spotřebitelské obaly na pivo patří skleněné láhve, plastové láhve, nerezové sudy (KEG) a plechovky. (Basařová et al., 2021)

3 VÝROBA BEZLEPKOVÉHO PIVA

Existuje několik způsobů výroby bezlepkového piva, které lze rozdělit do třech skupin:

- Výroba z ječného sladu
- Výroba z přirozeně bezlepkových surovin
- Výroba nahrazením sladu (surogace)

3.1 Výroba z ječného sladu

Při výrobě ječného sladu dochází během klíčení k působení proteáz, které částečně degradují prolaminu na netoxické frakce. (Hartmann, Koehler a Wieser, 2006) Během klíčení tedy dochází k úbytku lepkových bílkovin a v hotovém sladu je jejich obsah nižší než ve vstupní surovině. I přes to je obsah stále nadlimitní. V některých studiích se ke snížení obsahu lepku použil enzym prolyl endopeptidáza izolován z mikroskopické houby *Aspergillus niger*. (Hager et al., 2014) Tento postup se převedl do praxe a průmyslově se začal vyrábět přípravek Clarity Ferm, který obsahuje enzymový přípravek Brewers Clarex®. Přípravek vyrábí firma White Labs a původně byl vytvořen pro eliminaci chladového zákalu piva a zkrácení doby ležení. Jako jeho vedlejší účinek je uváděn eliminace lepkových frakcí v pivech z ječmene a pšenice. (White Labs, 2020)

Další možností je využití sladových enzymů (peptidáz) získaných z ječných sladů se speciálním klíčováním schématem. Studie Knorr, Wiser a Koehler (2016) se zabývala srovnáním technologie výroby bezlepkového piva z ječného sladu za použití sladových enzymů a enzymů získaných z mikroskopické houby *A. niger*. Extrahované sladové enzymy byly do mladiny přidány před kvašením a působily 24 hodin při teplotě 50 °C. Enzymy z *A. niger* byly přidány před začátkem a na konci primárního kvašení. Výsledky studie dokázaly, že oběma způsoby lze vyrobit bezlepkové pivo z ječného sladu, které splňuje platnou legislativu (obsah lepku < 20 mg/kg). Pivo vyrobené za použití sladového extraktu ovšem vykazovalo méně stabilní pěnu. (Knorr, Wieser a Koehler, 2016)

Některé výzkumy se zabývají šlechtěním nových odrůd ječmene s velmi nízkým obsahem hordeinu tzv. ULG (ultra-low gluten). (Tanner et al., 2016) Lze také používat již vyšlechtěné odrůdy s nízkým obsahem tohoto prolaminu.

3.2 Výroba z přirozeně bezlepkových surovin

Bezlepkové pivo lze vyrábět nahrazením ječného sladu za slad z přirozeně bezlepkových obilovin jako jsou čirok, proso, kukuřice nebo rýže. Dále se používají pseudocereálie jako jsou pohanka, quinoa nebo amarant.

Většina bezlepkových obilovin a pseudocereálií má jiné vlastnosti než v pivovarství tradičně užívaný ječmen. Mezi největší rozdíl je nižší obsah zcukřovacích enzymů α -amylázy a β -amylázy. (Phiarais a Arendt, 2008) Vlivem toho se některé obiloviny špatně zcukřují a vyžadují dodání externích enzymů. Vhodnými enzymy jsou externí α -amyláza a amyloglukosidáza. Na trhu jsou dostupné pod různými komerčními názvy. Jistou nevýhodou těchto přípravků je, že hlavním produktem zcukření je glukóza a nižší množství složitějších sacharidů. Výsledné pivo má vysoké prokvašení, vyšší obsah etanolu a nízký obsah zbytkového extraktu. To může mít negativní vliv na plnost piva.

Bylo zjištěno, že v některých případech může přídavek NaOH v nízké koncentraci (0,5 % w/w) do máčecí vody během sladování zlepšit některé parametry mladiny. Zabraňuje taky plesnivění, které se při sladování některých bezlepkových surovin může vyskytnout častěji. (Meo et al., 2011)

3.2.1 Čirok

Čirok je rod obilovin z čeledi lipnicovitých trav. Významný zástupce je čirok dvoubarevný (*Sorghum bicolor* L.). Hospodářské využití našel především v Africe a Asii. Zde se využívá jako příloha k jídlu, k výrobě pečiva nebo alkoholických nápojů. Přednostně se využívají odrůdy s bílou obilkou. Nedílnou součástí jídelníčku dětí jsou čirokové kaše, které v rozvojových zemích zajišťují až 40 % denního příjmu aminokyseliny lysin. (Prugar, 2008) Vhodné je zmínit výrobu tradičního alkoholického nápoje, podobného pivu, v některých státech Afriky (ikigage ve Rwandě, pito v Ghaně). (Konfo et al., 2015) Čirok obsahuje asi 70 % w/w škrobu, obsah bílkovin se pohybuje okolo 8–16 % w/w a oproti jiným obilovinám jsou hůře stravitelné. (Wrigley, Corke a Walker, 2004) Má vyšší obsah aminokyseliny lysin. Obsah tuku je 3,3 % w/w. (Burešová a Lorencová, 2013)

Čirok je vhodná surovina na vaření bezlepkového piva. Oproti ječmeni má ovšem velmi malou aktivitu β -amylázy a především vyšší teplotu mazovatění (64–73 °C). Některé odrůdy mají obsah amylopektinu až 95 % čímž u nich dochází lepšímu mazovatění škrobu.

(Hager et al., 2014) V již proběhlém výzkumu byly stanoveny optimální podmínky pro skladování čiroku (Tabulka 2).

Tabulka 2: Sladovací schéma čiroku (Meo et al., 2011)

Operace	Čas
Máčení ve vodě	10 h
Vzduchová pauza	4 h
Máčení ve vodě	10 h
Vzduchová pauza	7 h
Máčení ve vodě	15 h
Vzduchová pauza	4 h
Klíčení	6 d při 27 °C
Sušení	24 h při 50 °C

Byl sledován vliv inokulace plísni *Aspergillus oryzae* (houba Koji) na některé parametry čirokového sladu a piva. Při výrobě čirokového sladu bylo zjištěno, že čirok inokulovaný plísní *A. oryzae* obsahoval po 54 hodinách klíčení vyšší obsah volného aminodusíku (FAN) než samostatný čirok. Mladina vyrobená ze sladu naočkovaného čiroku vykazovala vyšší výtěžnost. Lze to přisoudit vlivu proteolytických a amylolytických enzymů *A. oryzae*. Čirokové pivo vyrobené z takto upraveného sladu mělo srovnatelnou výtěžnost a obsah alkoholu jako pivo z ječného sladu. Rozdílné bylo po stránce senzorycké (barva a aromatické látky). (Rubio-Flores et al., 2020) Máčení čiroku v roztoku NaOH (0,1–0,6 % w/w) mělo pozitivní vliv na diastatickou mohutnost sladu, zvýšený obsah extraktu a vyšší obsah volného aminodusíku. (Owuama, 2020)

První odrůdou čiroku, vyšlechtěnou na území České republiky, je odrůda Ruzrok. Vyšlechtil ji Ing. Jiří Hermuth ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby. Hlavní předností této odrůdy je rychlost růstu a vysoká tvorba biomasy během období růstu. Tato odrůda je citlivá na nízké teploty a sadba je vhodná až v době, kdy teploty neklesají pod bod mrazu ideálně 12–15 °C. Požadavky na pěstování jsou podobné kukuřici ovšem čirok odrůdy Ruzrok vykazuje dobrý růst i v oblastech, kde se kukuřici nedaří. Tato odrůda se také

porovnávala s jinými odrůdami čiroku pěstovaného na našem území. (Hermuth a Kosová, 2017) V praktické části této bakalářské práce byl k výrobě použit čirok odrůdy Ruzrok.

3.2.2 Proso

Proso (*Panicum*) patří do skupiny lipnicovitých trav. Jedná se o jednoletou plodinu, jejímž plodům se říká lata. Od starověku až do 18. století byl na našem území hojně pěstován a využíval se především k přípravě kaší a chlebových placek. (Prugar, 2008) V dnešní době je stále využíván především v Indii a Africe. Nejčastěji je k dostání ve formě obroušených zrn tzv. jáhel. Obsah sacharidů se pohybuje mezi 68–78 % w/w, bílkovin 12,0–13,4 % w/w, vlákniny 6,3–9,9 % w/w a vyšší je obsah tuku 3,8–6,7 % w/w. (Burešová a Lorencová, 2013) Proso se hodí na výrobu bezlepkového piva. Ovšem je třeba dávat pozor na vyšší obsah tuku, který může mít neblahý vliv na stabilitu pěny.

V Africe se pěstuje perlová forma prosa a využívá se k výrobě nízkoalkoholických piv. Bylo zjištěno, že prosný slad vykazoval velmi dobrou diastatickou mohutnost při 5 dnech klíčení a teplotě 25 °C. Aktivita α -amylázy byla nejvyšší při 5 dnech klíčení a teplotě 25 °C. Aktivita β -amylázy byla nejvyšší při 5 dnech klíčení a teplotě 35 °C. Je ovšem důležité zmínit, že velkou roli hraje taky zvolená odrůda. Prosný slad je velmi podobný sladu z čiroku a lze jim při vaření bezlepkového piva dosáhnout podobných výsledků. (Pelembé, Dewar a Taylor, 2002)

3.2.3 Kukuřice

Kukuřice je hospodářsky významná plodina, u níž je známo její využití již před 12 tisíci lety. Původ této obiloviny jsou teplé oblastní Jižní a Střední Ameriky, kde ji využívali místní domorodé národy. O tehdejší významu této suroviny svědčí i uctívání aztéckého boha kukuřice (Centeotl). (Prugar, 2008) Dnes je hojně pěstována po celém světě, a to k výrobě mlýnských obilných výrobků, škrobu, cukru nebo sirupu. Pěstuje se druh kukuřice setá (*Zea mays*) u níž se rozlišují další varianty podle technologického využití. (Burešová a Lorencová, 2013)

V Jižní Americe je tradičním alkoholickým nápojem kukuřičné pivo chicha. Vyrábí se jak ze světlé, tak z fialové kukuřice. Právě fialová varianta díky svému obsahu antokyanu může pozitivně ovlivňovat lidské zdraví. (Spessoto et al., 2020)

Zrno kukuřice obsahuje 71–74 % w/w škrobu, 9–11 % w/w bílkovin a 0,8–1,3 % w/w tuku. Teplota mazovatení kukuřice se pohybuje mezi 62–75 °C. Před použitím je vhodné

odstranit klíček kvůli vyššímu obsahu tuku, který může negativně ovlivnit pěnovost. (Basařová, 2015)

V pivovarnictví nachází kukuřice využití především jako částečná náhrada ječného sladu. Delší fáze klíčení může způsobit napadnutí zeleného sladu plísněmi. Sušení kukuřičného sladu musí být pozvolné a ve fázi předsušení by teplota neměla přestoupit 40 °C. Výsledný slad má nízký obsah α i β amylázy vlivem toho se nedokáže sám zcukřit. (Moštek, 1975)

3.2.4 Rýže

Rýže (*Oryza sativa* L.) je vodomilná tráva z čeledi lipnicovité. Hojně se pěstuje v Asii, Americe a Africe. Jedná se o nejrozšířenější obilovinu pro přímou konzumaci. Dělí se dle druhu nebo tvaru zrna. Kromě přímé konzumace se využívá k výrobě mlýnských obilných výrobků, alkoholu, škrobu, sirupu nebo extrudovaných výrobků. (Burešová a Lorencová, 2013)

Rýže obsahuje 57–88 % w/w škrobu, 6–9 % w/w bílkovin a 0,2–0,7 % w/w tuku. Teplota mazovatení je 61–78 °C. Během varného procesu může zvyšovat viskozitu celého díla a tím zapříčinit připalování. Rýže může sloužit jako částečná náhrada sladu v celkovém sypání. (Basařová, 2015)

V dřívějších výzkumech se analyzoval postup sladování a vaření piva z rýže. Bylo zjištěno, že rýže může být vhodnou náhradou ječného sladu. Piva takto vyrobená byla sensoricky hodnocena a obstála. Vytýkáno bylo jen nižší tělo, což může být způsobeno nízkým obsahem volného aminodusíku. (Ceppi a Brenna, 2010) V pivovarnictví se běžně využívají obalové vrstvy z rýže (pluchy) ku zlepšení scezování sladiny.

3.2.5 Teff

Méně známou obilovinou je teff jinak taky milička haběšská (*Eragrostis tef*). Pochází z Afriky a dnes se pěstuje po celém světě. Obilka se podobá prosu nebo čiroku. Průměrný obsah škrobu je 80 % w/w, bílkovin 11 % w/w, tuku 3 % w/w a různě zastoupených minerálních látek. (Burešová a Lorencová, 2013)

Studie Di Ghionno et al. (2017) zkoumala vliv použitého teffu na kvalitu piva. Byl použit surový teff k jehož zcukření autoři využili komerční enzymy a proti tomu použili sladovaný teff. Sladovací proces probíhal podle schématu: 3 hodiny máčení ve vodě, 2 hodiny vzduchová pauza, 2 hodiny máčení, při 24 °C. Klíčení 6 dnů při 24 °C. Sušení 30 °C/ 20 hodin, 60 °C/2 hodiny, 65 °C/ 3 hodiny. Výsledky naznačují, že obě uvařená piva

jsou vhodnou alternativou pro lidi dodržující bezlepkovou dietu. Nesladovaný teff vykazoval nižší obsah volného aminodusíku, volných aminokyselin a rozpustného dusíku. To nejspíš souvisí z obejití procesu sladování. V závěru se autoři shodli na tom, že v rámci úspory energie a nákladu lze obejít sladovací proces teffu, bez vlivu na kvalitu hotového výrobku. (Di Ghionno et al., 2017)

3.2.6 Oves

Oves (*Avena sativa*) lze použít na vaření bezlepkového piva za předpokladu, že se zamezí kontaminaci s obilovinami obsahující lepek. (Janatuinen, 2000) Slad z ovsa má vyšší obsah α -amylázy a nižší obsah β -amylázy než slad ječný. Nevýhodou je jeho horší scezování. V tradičním pivovarnictví se používá na zlepšení plnosti do některých typů speciálních piv (stout), přírůstek asi 5 %. (Moštek, 1975) Doposud nebylo jednoznačně určeno, zda a v jakém množství je oves vhodný pro bezlepkovou dietu.

3.2.7 Pohanka

Stále více populární pseudocerealie pohanka setá (*Fagopyrum esculentum* Moench.) nepatří, jako výše zmíněně, do čeledi lipnicovité (*Poaceae*) nýbrž náleží do čeledi rdesnovité (*Polygonaceae*). Plodem je nážka. Na území České republiky se dostala patrně z východní části světa spolu se slovanskými národy nebo spolu s vojsky Osmanské říše. V 18. století začalo pěstování upadat a její návrat pozorujeme v posledních 30 letech. (Prugar, 2008)

Pohanka má vysokou nutriční hodnotu. Obsahuje průměrně 55 % w/w škrobu, 12 % w/w bílkovin, 1,5–3 % w/w tuku a 2–2,5 % w/w minerálních látek v sušině nažky. Bílkoviny mají velmi dobrou skladbu aminokyselin a pozitivní je také obsah fyziologických aktivních sterolů, které ovlivňují vstřebávání cholesterolu. V pohance jsou přítomny přírodní antioxidanty, nejvýznamněji z nich je rutin. Pohanka je využívána nejčastěji v loupané formě na výrobu kaší, mouky, pečiva nebo jako příloha. (Burešová a Lorencová, 2013) Pohankové slupky jsou bohaté na rutin.

V pivovarnictví se pohanka dlouhodobě využívá. Teplota mazovatení je od 59 °C do 72 °C. Některé studie popsaly optimální podmínky pro sladování a vaření z pohanky. Charakteristické je pro pohanku velmi obtížné scezování a filtrace. I přes to lze z pohanky uvařit pivo srovnatelné s pivem pšeničným ve sledovaných parametrech

(fermentovatelnost, přítomnost volného aminodusíku). Rozdíl lze nalézt v nižším extraktu. (Hager et al., 2014)

Velmi dobrých výsledku se dosáhlo při máčecím schématu: 3 hodiny máčení ve vodě, 2 hodiny vzduchová pauza, 2 hodiny máčení ve vodě, 1 hodina vzduchová pauza, 1 hodina máčení ve vodě, 1 hodina vzduchová pauza. Vše při teplotě 15 °C. Klíčení probíhalo při 15 °C po dobu 4 dnů a sušení dle schématu: 40 °C/5 hodin, 50 °C/3 hodiny, 60 °C/3 hodiny. (Meo et al., 2011)

První bezlepkové pivo uvařené komerčním pivovarem v České republice bylo uvařeno z pohanky, a to v „Zámeckém minipivovaru v Ostravě–Zábřehu“ v roce 2008. (NAŠE PRAHA, 2009) Přidáním pohanky k jiným bezlepkovým sladům můžeme zlepšit pěnivost, díky vyššímu obsahu bílkovin v pohance.

3.2.8 Quinoa

Merlík chilský (*Chenopodium quinoa Willd.*) neboli quinoa je rostlina patřící do čeledi laskavcovité (*Amaranthaceae*) má svůj původ v Jižní Americe, kde byl využíván již 3500 let p.n.l. V 16. století merlík dostal do Evropy, kdy na popularitě dosahoval v dobách hladomoru a mezistátních konfliktů. (Prugar, 2008) Jeho popularita v posledních letech roste. Semena merlíku obsahují 60 % w/w škrobu, 16 % w/w bílkovin, 6 % w/w tuku, 3,5 % w/w vlákniny, 2,2 % w/w minerálních látek Složení bílkovin je bohaté na esenciální aminokyseliny, především lysin a methionin. Významný je obsah vlákniny, minerálních látek (fosforu, draslíku, vápníku, hořčíku aj.) a některých vitaminů (β -karotenu, niacinu, vitaminu C aj.). (Burešová a Lorencová, 2013)

Teplota mazovatění merlíku je podobná ječmeni a to 52–64 °C. Nevýhodou je velmi malá velikost zrna, která může vést ke ztrátám během sladování. Bylo zjištěno, že z merlíku lze při správném sladovacím a varném postupu vyrobit bezlepkové pivo. Jeden z možných sladovacích postupů je: 3 hodiny máčení ve vodě, 3 hodiny vzduchová pauza, 3 hodiny máčení ve vodě, vše při teplotě 15 °C. Máčené zrna poté klíčí 5 dnů při 15 °C. Schéma sušení je 50 °C/16 hodin, 60 °C/1 hodina, 74 °C/5 hodin. (Hager et al., 2014)

3.2.9 Amarant

Amarant neboli laskavec (*Amaranthus*) je rod z čeledi laskavcovité (*Amaranthaceae*). Hospodářský význam má hned několik druhů. Původ této pseudocereálile se nachází v Jižní a Střední Americe, kde se pěstoval již před 5000 lety p.n.l. Dodnes zde zůstává

v horských oblastech jednou z hlavních složek jídelníčku. (Prugar, 2008) Semena amarantu se vzhledově podobají semenům merlíku. Obsah škrobu je 62 % w/w, bílkovin 16 % w/w, tuku 7,5 % w/w a 0,5 % w/w minerálních látek (fosfor, draslík, železo, vápník, hořčík). Obsahuje větší množství vitamínu C. (Burešová a Lorencová, 2013)

Pro pivovarnictví je zajímavé složení škrobu, kdy je z 92 % složen z amylopektinu a 8 % amylozy. Amarant by tak mohl snadněji mazovatět. (Prugar, 2008) V dřívějších studiích bylo vyrobené pivo z amarantu. Vyznačovalo se kalným vzhledem, hořkou chutí a nestabilní pěnou. Slad z amarantu obsahoval velmi málo amylozy. (Hager et al., 2014) V jiných studiích lze nalézt sladovací postup pro přípravu sladu z amarantu: 5 hodin máčení ve vodě, 8 hodin vzduchová pauza, 8 hodin máčení ve vodě, 12 hodin vzduchová pauza, vše při 8 °C. Klíčení probíhalo 7 dní při 8 °C a 3 dny při 15 °C. Sušení probíhalo dle programu: 50 °C/16 hodin, 60 °C/1 hodina, 65 °C/5 hodin. (Meo et al., 2011)

4 BEZLEPKOVÉ PIVA V TUZEMSKÉ TRŽNÍ SÍTI

Od uvedení prvního bezlepkového piva „Celia“ na český trh v roce 2010 podíl bezlepkových piv stoupá. Níže prezentována piva jsou běžně dostupná v české tržní síti. Charakteristika je popsána dle popisu výrobce nebo vlastních poznatků autora.

Celia světlý ležák bez lepku

Pivo „Celia“ vzniklo podle chráněného postupu Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského Praha, který ho vinul ve spolupráci s „Žateckým pivovarem“. Složení tvoří ječný slad, žatecký chmel (Žatecký poloraný červeňák, Premiant) a voda. Pivo má nižší hořkost (IBU 24), EPM 11–11,99 % w/w, obsah alkoholu 4,5 % v/v a barvu 11–12 EBC. Obsah lepku je méně než 5 mg/kg. Vůně je chmelová, hořkost nižší, ale příjemná. K dostání je ve všech velkých hypermarketech, v některých supermarketech a ve specializovaných prodejnách zaměřující se na bezlepkové produkty nebo pivní speciály. Pivovar chystá v roce 2022 uzavření stávajícího provozu. Osud bezlepkového piva z tohoto pivovaru je nejistý. (Žatecký Pivovar, 2022) (Obrázek 1)



Obrázek 1: Pivo Celia světlý ležák (Foto: Autor)

Celia organic světlý ležák v BIO kvalitě

Charakteristika a složení tohoto piva je podobná výše zmíněné verzi je ovšem deklarovaná BIO kvalita použitých surovin. Chuťově se mírně liší, a to slabší chmelovou vůní a chutí

podobnou evropským ležákům. Zaměření spíše na zahraniční trh dokládá i slovo EXPORT uvedené na obalu. (Žatecký Pivovar, 2022)

Celia dark tmavé pivo speciální bez lepku

Tmavé pivo „Celia dark“ vzniklo, podobně jako světlé, podle chráněného postupu Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského a.s. Praha. Složení je voda, ječný slad (český, bavorský, karamelový a barvící) a žatecký chmel (Žatecký poloraný červeňák, Sládek). Pivo má hořkost 26 IBU, EPM 14,4–14,6 % w/w, obsah alkoholu 5,7 % v/v a barvu 98 EBC. Obsah lepku je méně než 5 mg/kg. K dostání je v hypermarketech a ve specializovaných prodejnách zaměřující se na bezlepkové produkty nebo pivní speciály. (Žatecký Pivovar, 2022)

Bernard bezlepkový ležák

Bezlepkový ležák od pivovaru „Bernard“ se vyznačuje vyšší hořkostí oproti žateckým pivům (IBU 37), barva piva v jednotkách EBC není uvedena, EPM 12 % w/w a obsah alkoholu 4,9 % v/v. Obsah lepku je max. 20 mg/kg. Složení je pitná voda, ječný slad a chmelové produkty. Vůně je sladová, v chuti dominuje výrazná hořkost. Pivo je nepasterizované. K dostání je ve všech velkých hypermarketech, v některých supermarketech a ve specializovaných prodejnách zaměřující se na bezlepkové produkty nebo pivní speciály. (Rodinný pivovar Bernard, 2022) (Obrázek 2)



Obrázek 2: Bernard světlý ležák (Foto: Autor)

Bezlepkový ležák Premium 12 %

Výrobce tohoto piva je „Pivovar Ferdinand“ v Benešově. Složení je český ječný slad, chmel (Magnum, Premiant, Žatecký poloraný červeňák) a voda. Hořkost piva 30 IBU, barva piva 11–12 EBC, EMP 12 % w/w, obsah alkoholu 5 % v/v. Obsah lepku je méně jak 10 mg/l. Vůně je více chmelová a hořkost příjemná. K dostání je v některých hypermarketech a specializovaných prodejnách. (Pivovar Ferdinand, 2022) (Obrázek 3)



Obrázek 3: Světlý ležák Ferdinand (Foto: Autor)

GLEE 11° Gluten Reduced Ale

Na českém trhu mezi bezlepkovými pivy dominují především spodně kvašená piva. Výjimkou je svrchně kvašený Ale GLEE 11° z pivovaru „Clock“ v Potštejně. Složení je ječný slad, čirok, chmel (Mosaic) a voda. Právě podíl čiroku odrůdy Ruzrok, který je zde použit jako surogát, snižuje obsah lepku pod hranici 10 mg/l. Hořkost piva 30 IBU, barva 9 EBC, EPM 11 % w/w, obsah alkoholu 4,5 % v/v. K dostání ve specializovaných prodejnách. Tento pivovar průběžně vyrábí více bezlepkových speciálů. (Pivovar Clock, 2022)

Birell světlý bez lepku

Nealkoholické bezlepkové pivo z produkce pivovaru „*Plzeňský Prazdroj*“. Složení je ječný slad, chmelové produkty a voda. Výrobce na svých stránkách neuvádí žádné podrobnější informace. Obsah alkoholu je max. 0,5 % v/v. Dostupný je v supermarketech a hypermarketech. (Birell, 2022)

Bezlepkové nealkoholické světlé

Další nealkoholické bezlepkové pivo na trhu je z produkce „*Pivovaru Ferdinand*“ v Benešově. Složení je český ječný slad, chmel (Magnum, Premiant, Žatecký poloraný červeňák), voda. Hořkost je 14 IBU, barva 6–8 EBC, EPM 6 % w/w, obsah alkoholu je max. 0,5 % v/v. Obsah lepku je pod 10 mg/l a pšeničného prolaminu 5 mg/l. Výrobce uvádí, že kvašení probíhá 1 den a ležení 30 dnů. K dostání je v některých hypermarketech. (Pivovar Ferdinand, 2022)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRAKTICKÉ ČÁSTI

Praktická část bakalářské práce byla zaměřena na výrobu čtyř šarží bezlepkového piva z širokového sladu s rozdílným rmutovacím postupem (infuze a dekokce).

- Hlavním cílem praktické části bylo porovnat vliv rmutovacího schématu a přidávaných zcukřovacích enzymů na vybrané fyzikálně–chemické parametry meziproductů a vyrobeného piva.
- Dílčím cílem práce bylo pozorovat vliv rmutovacího schématu na velikost částic, hořkost, barvu, reologické a sensorické vlastnosti piva. Dodržení technologického postupu a hygieny bylo kontrolováno stanovením vybraných biogenních aminů a mikrobiologickým rozborem.

6 METODIKA PRÁCE

6.1 Suroviny

6.1.1 Čirok

Základní surovinou k výrobě sladu byl čirok dvoubarevný (*Sorghum bicolor* L.) české odrůdy Ruzrok vyprodukovaný v BIO kvalitě. Výrobce: PRO-BIO, obchodní společnost s.r.o., Česká republika.

6.1.2 Chmel

Při výrobě piva byly použity dvě chmelové odrůdy: (I) Premiant (ročník 2020, obsah α -hořkých kyselin 5,26 % w/w) a (II) Žatecký poloraný červeňák (ročník 2020, obsah α -hořkých kyselin 3,7 % w/w). Zemí původu byla v obou případech Česká republika a byly použity ve formě chmelových pelet T90. Chmel byl skladován při teplotě 4 ± 2 °C hermeticky uzavřen a bez přístupu světla. Výrobce: PIVOTÉKA s.r.o., Česká republika.

6.1.3 Kvasnice

Použité byly spodní kvasnice (*Saccharomyces pastorianus*) značené SafLager™ S-23. Tento druh kvasnic pochází z okolí Berlína a hodí se pro tvorbu mírně ovocnějších ležáku s malým množstvím esterů. Optimální teplota kvašení je 12–18 °C. Sušené kvasnice byly balené v baleních o hmotnosti 11,5 g a skladované při teplotě 4 ± 2 °C. (Fermentis, 2022) Výrobce: Fermentis, Francie.

6.1.4 Enzymy

Při výrobě dvou šarží byly použity enzymy na zcukřerní obilovin. Jednalo se o enzym TERMAMYL SC DC (α -amyláza) s optimální teplotou působení 80–85 °C a pH 5,2–6. Aktivita tohoto enzymů je 2103,33 U/ml. Druhým použitým enzymem byl SACZYME PLUS (amyloglukosidáza) s optimální teplotou 60–63 °C a pH 4,5. Aktivita tohoto enzymu je ≥ 260 U/ml. (Alkoholesence, 2022) Výrobce: Alkoholesence.cz, Česká republika.

6.1.5 Voda

K výrobě byla použita voda z řadního vodovodu.

6.2 Pomůcky

- Běžné laboratorní vybavení
- BASIC BOX 30 l s víkem (JYSK s.r.o., Česká republika)
- Konvektomat SSC WE 61 (Rational AG, Německo)
- Ruční mlýnek na obilí Corona (Corona, Itálie)
- Bielmeier BHG 403 domácí pivovar (Bielmeier Hausgeräte GmbH, Německo)
- Varný hrnec Brewferm 27 l (Brouwland bv, Belgie)
- Pivovar Klarstein mundschenk 30 l, (Chal-Tec GmbH, Německo)
- Kvasný tank Grainfather 30 l (Grainfather, USA)
- Nerezový sud 19 l (KegLand, Austrálie)
- Protitlaková stáčečka lahví (BAHNIK.cz s.r.o., Česká republika)
- Hadice, spojky, narážeče (BAHNIK.cz s.r.o., Česká republika)
- Zátkovačka stojanová (BROWIN s.r.o., Polsko)
- Tlaková láhev CO₂ (Linde gas a.s., Česká republika)
- Redukční ventil CO₂ (Linde gas a.s., Česká republika)
- Láhev Pivo NRW Eco 0,5 l (BRICOL-M s.r.o., Česká republika)
- Chladicí box (SK Design s.r.o., Česká republika)

6.3 Výroba sladu

Celkem bylo k výrobě sladu použito $23,0 \pm 0,5$ kg surového čiroku. Zrno bylo namáčeno v máčecí nádrži 30 l s vnitřním košem pro snadné oddělení vody. Teplota při máčení byla 22 ± 1 °C. Schéma máčení je uvedeno v Tabulce 3.

Tabulka 3: Máčecí schéma

Operace	Doba prodlevy (h)
Máčení	9,5
Vzduchová pauza	14,0
Máčení	9,5
Vzduchová pauza	14,0

Namočený čirok byl přesunut do klíčících boxu (šířka: 40 cm, délka: 60 cm, výška: 17 cm) Klíčení probíhalo po dobu 5 dnů při teplotě 22 ± 1 °C. Jednou za 24 hodin byla hromada obracena. Zelený slad byl sušen (hvozděn) 24 hodin při teplotě 50 ± 1 °C horkým vzduchem v konvektomatu. Postup výroby čirokového sladu byl modifikován dle Meo et al. (2011). Fotodokumentace z výroby sladu se nachází v Příloze I.

6.4 Výroba piva

Byly připraveny čtyři šarže piva označené INF 1, INF 2, DEK 1, DEK 2. Šarže se od sebe lišily rmutovacím postupem a přidavkem zcukřovacích enzymů. Šarže INF 1 a INF 2 měly stejný rmutovací postup (vícestupňová infuze), ale do INF 2 byly do vystírky přidány zcukřovací enzymy α -amyláza a amyloglukosidáza. Stejně rmutovací schéma (dvourmutová dekokce) měly šarže DEK 1 a DEK 2, ale do šarže DEK 2 byly přidány taktéž zcukřovací enzymy. (Tabulka 4, Tabulka 5)

Na každou šarži se použilo $4,65 \pm 0,15$ kg laboratorně připraveného čirokového sladu. Slad byl našrotován v mlýnku na obilí. Hrubost mletí byla zvolena tak, aby co nejméně slupek zrna bylo poškozeno, ale současně byl dostatečně dezintegrován endosperm. Objem vystírací vody na šarži byl v poměru 3,5 l vody na 1 kg sladu.

Tabulka 4: Rmutovací schéma INF 1 a INF 2

Proces	Teplota (°C)	Doba prodlevy (min)
Vystírání *	38±1	5
	38±1	20
	50±1	10
	63±1	40
	72±1	20
Odrmutováno	75±1	5

* Do INF 2 bylo přidáno 6 ml enzymu Teramyl a 10 ml enzymu Saczyme

Tabulka 5: Rmutovací schéma DEK 1 a DEK 2

Proces	Teplota (°C)	Doba prodlevy (min)
Vystírání *	38±1	5
	38±1	20
	50±1	10
1. rmut (1/3 vystírky)	64±1 °C/30 min. → 72±1 °C/20 min. → 100 °C/10 min.	
Zpět (1.rmut)	62±1	5
2. rmut (1/3 vystírky)	72±1 °C/30 min. → 100 °C/ 10 min.	
Zpět (2. rmut)	75±1	5

* Do DEK 2 bylo přidáno 6 ml enzymu Teramyl a 10 ml enzymu Saczyme

Zcukření bylo kontrolováno jodovou zkouškou, která u všech šarží vykazovala pozitivní reakci. Kontrola probíhala na konci prodlevy při teplotě 72±1 °C.

Na scezování byl použit přístroj Klarstein mundschenk 30 l. Prodleva na sítěch před scezováním byla 15 minut. Vytečený předek měl objem 12 l. Mláto se vyslazovalo vodou o teplotě 75±1 °C. Objem sladiny před chmelovarem byl 25±0,5 l. Chmelovar proběhl ve stejné nádobě a trval 90 minut. Rychlost ohřevu sladiny do varu byla 1 °C/30 s výkonem 2500 W. Přidávky chmele byly u všech šarží stejné. (Tabulka 6)

Tabulka 6: Schéma chmelovaru

Chmel	Hmotnost (g)	Čas do konce (min)
Premiant	20	90
Žatecký poloraný červeňák	40	20

Ihned po dovaření se krouživým pohybem mladina zatočila (vířivá kád') a nechala se 20 minut ustát. Dolní výpustí se mladina spílala do vydezinfikované kvasné nádoby vybavené dvouplášťovým chlazením, kde vychladla na zákvasnou teplotu.

Objem mladiny před kvašením byl $17,5 \pm 0,5$ l. Hlavní kvašení probíhalo v cylindrokoničném kvasném tanku Grainfather. Mladina byla zakvašena pomocí 11,5 g sušených spodních kvasnic SafLager™ S-23. Kvasnice byly před použitím rehydratovány. Čistá skleněná láhev byla naplněna 200 ml převařené vody a do ní byly přidány sušené kvasnice. Po dobu 10 minut se nechaly stát, poté se promíchaly krouživým pohybem láhve. Ke kvasnicím bylo přidáno 100 ml ochlazené mladiny a směs se nechala 30 minut od stát. Takto připravený zákvas se přidal k mladině a rozmíchal. Teplota kvašení byla 10 ± 1 °C a doba kvašení 14 dnů. Poslední 2 dny byla teplota snížena na 4 ± 1 °C.

Mladé pivo bylo sudováno do nerezových sudů (kyvet) o objemu 19 l. Po naplnění byl sud uzavřen víkem a za pomoci oxidu uhličitého byl, z vnitřního prostoru nad pivem, vytlačen vzduch. Sudy s pivem byly umístěny do chlazeného skladu o teplotě 4 ± 2 °C. Po 20 dnech ležení bylo pivo nuceně nasyceno oxidem uhličitým. Celková doba ležení byla 42 dní.

Pivo bylo protitlakovou stáčečkou stočeno do čistých hnědých pivních lahví typu NRW o objemu 0,5 l. Z láhve byl oxidem uhličitým vytlačen vzduch. Po natlakování byl upouštěn tlak z láhve, zatímco do sudu byl přiváděn oxid uhličitý. Tím bylo pivo tlačeno do láhve. Po naplnění a odtlakování byla láhev uzavřena korunkovým uzávěrem. Takto stočené láhve byly uloženy do chlazeného boxu o teplotě 4 ± 2 °C. Fotodokumentace z výroby piva se nachází v Příloze II.

6.5 Měření a analýzy

6.5.1 Stanovení sladovnické ztráty

Sladovnická ztráta zrna je způsobena biochemickými a metabolickými procesy v zrně. Stanovení bylo provedeno zvážením zrna před sladováním (m_1) a po sladování (m_2). Obdobně lze, z hmotnosti klíčku (k_2), stanovit podíl klíčku z hmotnosti usušeného sladu (k_1). (Owuama, 1999)

$$\text{Sladovnická ztráta (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100$$

$$\text{Podíl klíčku (\%)} = \frac{k_1 - k_2}{k_1} * 100$$

6.5.2 Stanovení obsahu vody v zrně

Obsah vody v zrně se stanovil dle metody EBC 4.2. za pomoci rozdílu hmotnosti vzorku před sušením (m_1) a po sušení (m_2). Vzorek byl rozmělněn a smíchán s pískem v sušící misce. Hmotnost vzorku byla $5,0 \pm 0,5$ g. Teplota sušení byla 105 ± 1 °C do konstantní hmotnosti (cca 5 h). (EBC, 2000)

$$\text{Obsah vody (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100$$

6.5.3 Stanovení vybraných fyzikálně–chemických parametrů piva

Specifická hustota a obsah alkoholu v objemových procentech byl měřen pomocí přístroje Anton Paar Density Meter DMA 4500M s modulem Alcoalyzer Beer ME (Anton Paar GmbH, Rakousko). Na základě zjištěných hodnot byly dopočítány další vybrané parametry: obsah alkoholu v hmotnostních procentech, reálný extrakt, zdánlivý extrakt, stupňovitost, reálný extrakt, zdánlivý extrakt a energetická hodnota.

Před každým stanovením byl vzorek odplyněn po dobu 30 minut dle metodiky EBC 9.46. (EBC, 2007) a odstředěn při 6000 ot./min. po dobu 20 minut.

Ke stanovení hodnoty pH byl použit měřicí přístroj pH metr HI 99161 (Hanna instruments, Česká republika) s elektrodou. Měření proběhlo dle Lorencová et al. (2019).

Celkový počet rozpuštěných látek v roztoku (TDS) byl měřen za pomoci konduktometru se sondou CyberScanCON 110 (Eutech Instruments, Thermo Scientific, USA). Vzorek byl umístěn do 100 ml kádinky a do něj byla vložena elektroda. Měřené vzorky měly teplotu 20 ± 1 °C. Měření refraktometrické sušiny probíhalo pomocí digitálního refraktometru Digital refractometer Kern ORF 45BE (Kern & Sohn GmbH, Německo). Na měřicí část refraktometru byl nanesen malý objem vzorku a provedeno měření.

6.5.4 Mikrobiologický rozbor

Byl proveden mikrobiologický rozbor širokového piva na konci výroby (pivo stočené v láhvi). Byly připraveny 3 ředění (10^0 ; 10^{-1} ; 10^{-2}) Jednotlivé suspenze byly vytvořeny pomocí desítkového ředění (1 ml vzorku + 9 ml fyziologického roztoku NaCl 0,9 % w/w). Při inokulaci bylo postupováno dle zásad aseptické práce. Ke stanovení byla použita živná média:

Agar pro celkový počet mikroorganismů (CPM) – Půda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů ve vzorku. Suspenze o objemu 1 ml byla inokulována přelivem na živné médium. Kultivace probíhala za aerobních podmínek při teplotě 30 °C a po dobu 72 hodin. Přítomnost mikroorganismu se projeví nárůstem světlých kolonií.

Agar pro *Lactobacillus* podle DeMana, Rogosiho a Sharpeho (MRS) – Selektivní půda pro růst grampozitivních bakterií skupiny *Lactobacillus*. Suspenze byla v objemu 0,2 ml inokulována na médium a rozetřena. Kultivace probíhala za anaerobních (mikroaerofilních) podmínek při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Detekovaný mikroorganismus roste na půdě v koloniích bílé barvy.

Agar s krystalovou violetí, žlučí a laktózou (VRBA) – Selektivní půda pro detekci koliformních bakterií. Suspenze byla v objemu 1 ml inokulována přelivem. Kultivace probíhala za aerobních podmínek při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin. Kolonie mají světlé růžové až fialové zbarvení. Laktóza pozitivní kmeny tvoří růžové (až červené) kolonie a laktóza negativní kmeny světlé průsvitné kolonie.

Acetobacter Agar (AA) – Agar pro kultivaci glukóza pozitivních zástupců rodu *Acetobacter*. Suspenze byla v objemu 1 ml inokulována přelivem. Kultivace probíhala za aerobních podmínek při teplotě 30–35 °C po dobu 48 hodin. Nárůst mikroorganismu se projeví přítomností světlých kolonií.

Sabouraudův dextrózový agar (SAB) – Selektivní půda pro kultivaci plísní a kvasinek. Suspenze byla v objemu 0,1 ml inokulována roztěrem. Kultivace probíhala za aerobních podmínek při 25 °C po dobu 5 dní. Narostlé kolonie mají bílou barvu.

6.5.5 Stanovení biogenních aminů

Stanovení bylo provedeno dle Lorencová et al. (2020). V této práci byl stanoven obsah sedmi biogenních aminů (TYM–tyramin, HIS–histamin, SPM–spermin, TPY–tryptamin, PEA–fenylethylamin, PUT–putrescin, KAD–kadavarin) pomocí kapalinové chromatografie (LabAlliance, State College, USA; Agilent Technologies, Agilent, Paolo Alto, USA). Derivatizace a chromatografická separace byla provedena kolonou (ZORBAX Eclipse Plus C18, 50 mm × 3,0 mm, 1,8 μm, Agilent Technologies) a detekce spektrofotemtricky při vlnové délce ($\lambda = 254$ nm). Vzorky piva byly před analýzou odplyněny a zředěny kyselinou chloristou ($c=1,2$ mol/l) v poměru 1:1 (v/v).

6.5.6 Stanovení barvy piva metodou EBC

Barva piva byla měřena dle metody EBC 8.5. Odplyněný a odstředěný vzorek byl naředěn destilovanou vodou na polovinu, diluční faktor (f) byl 0,5. Byla měřena absorbance takto připraveného vzorku při vlnové délce 430 nm. Barva piva se stanovila pomocí změřené absorbance (A). (EBC, 2000)

$$\text{Barva (EBC jednotky)} = A * f * 25$$

6.5.7 Stanovení barvy piva metodou CIELab

Barvu lze popsat v barevném prostoru CIELab, který je charakterizován třemi osami L^* , b^* a a^* . Tyto parametry jsou specifikovány L^* (světlost barvy, 0–černá, 100–bílá), a^* (zelená až červená), b^* (modrá až žlutá), C^* (sytost barvy) a h (úhel odstínu). K měření byl použit spektrofotometr The HunterLab UltraScan® Pro Color Measurement (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, USA). Parametry byly stanovovány v pořadí L^* , a^* , b^* . K měření byla použita 10 mm skleněná kyveta při osvětlení D65 (denní světlo) a úhel dopadu byl 10 °.

Dále byla stanovena hodnota zákalu pomocí měření rozptylu světla vzorkem v transmisí. Zákal byl stanoven měřením šíření světla ku rozptýlenému světlu vzhledem k celkovému světlu propuštěného vzorkem. Každé měření bylo provedeno třikrát a z něj byla stanovena průměrná hodnota.

6.5.8 Stanovení hořkosti piva

Hořkost piva byla měřena dle metody EBC 9.8. spektrofotometricky při vlnové délce 275 nm. Vzorek byl před analýzou odplyněn a odstředěn. Do plastové zkumavky bylo odměřeno 10 ml piva, 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové o koncentraci 6 mol/l a 20 ml isooktanu. Zkumavka byla 15 minut protřepávána na rotační třepačce. Ze vzorku se extrakcí isooktanem získaly hořké látky. Z vrchní isooktanové vrstvy vzniklé emulze se odebrala část, která se podrobila měření. Z absorbance (A) se stanovila hořkost. (EBC, 2004)

$$\text{Hořkost (EBU)} = 50 * A$$

6.5.9 Stanovení velikosti částic

Velikost distribuce částic byla stanovena na přístroji ZetaPlus (Brookhaven Instruments, USA) pomocí techniky dynamického rozptylu světla. Měření bylo provedeno při parametrech: index lomu částic – 1,400, index lomu rozpouštědla (voda) – 1,3770, dynamická viskozita rozpouštědla 2,04 mPa. S, úhel měření – 90 °, vlnová délka dopadajícího světla 658 nm a teplota 25 °C. Z naměřených hodnot byl stanoven graf distribuce velikosti částic. Měření bylo provedeno dvakrát a byly vzaty průměrné hodnoty.

6.5.10 Reologická analýza

Reologická analýza byla provedena na reometru HAAKE RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific, USA). Každý vzorek měl teplotu 20±1 °C a objem 40 ml. Byl použit systém geometrie válec-válec s průměrem válce 34 mm a šterbiny 7,2 mm. Během procesu měření se využil cyklus vzestupný a sestupný. Vzestupný cyklus byl rozsahu od 0 do 500 s⁻¹ po dobu 120 s a sestupný cyklus od 500 do 0 s⁻¹ také po dobu 120 s. Reologické chování vzorků piva bylo popsáno mocninovým (též Oswald de Waele) modelem:

$$\tau = K \cdot \gamma^n$$

Kde: τ –smykové napětí (Pa), K –součinitel konzistence (Pa.sⁿ), n –index tokového chování (<1–látka pseudoplastická, >1– látka dilatantní), γ –smyková rychlost (s⁻¹)

6.5.11 Senzorická analýza

Senzorická analýza proběhla v laboratoři sensorické analýzy potravin dle Lorencová et al., (2019). Degustace probíhala ve dvou termínech. V prvním byly hodnoceny vzorky INF 1 a DEK 1, ve druhém pak INF 2 a DEK 2. Vzorky piva při degustaci byly vytemperované na

21±1 °C a podávané současně. Množství podávaného vzorku piva bylo 40 ml. Degustační list se nachází v Příloze III. V rámci sensorické analýzy byla u piv hodnocena kritéria (pachut', úroveň sycení CO₂, plnost, hořkost) na stupnici:

1–pouze rozpoznatelné

3–střední

5–velmi silné

Celkové hodnocení piva bylo hodnoceno na stupnici:

1–mimořádně dobrý

2–velmi dobrý

3–dobrý

4–lepší než střední

5–střední

6–horší než střední

7–špatný

8–velmi špatný

9–mimořádně špatný

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Slad

Ztráta hmotnosti zrna během sladování byla $9,77 \pm 1,73$ % w/w. Ztráty zrna jsou způsobena především biochemickými změnami v zrně. (Owuama, 1999) Z celkové hmotnosti usušeného sladu byl obsah klíčku (sladového květu) 1,89 % w/w. Bylo dosaženo významně nižší ztráty než u dříve provedených výzkumu.

Dle práce Agu a Palmer (1996), při které se analyzovala ztráta hmotnosti zrna během klíčení za různých teplot, bylo dosaženo ztrát v rozmezí 21,3–28,5 % w/w. V této ztrátě byla zahrnuta i hodnota klíčku 6,5–10,9 % w/w. Ztráta byla vyšší zvyšující se teplotu a časem klíčení. Tyto ztráty byly vyšší než u odrůdy Ruzrok. Ve zmíněné práci byla analyzována široková odrůda z Nigérie, lze uvažovat, že na rozdílné ztrátě má vliv prostředí a použité agrotechnické parametry. (Agu a Palmer, 1996)

Podobné výsledky byly zjištěny Nnamchi, Okolo a Moneke (2014) v analýze sedmi širokových odrůd z Nigérie. Zde bylo dosaženo nejnižší ztráty 13,77 % w/w, zatímco nejvyšší ztráta byla 31,59 % w/w. Autoři přisuzují ztrátu při sladování čiroku vyšší teplotě sladování, protože výroba širokových sladu je typická pro tropické oblasti. (Nnamchi, Okolo a Moneke, 2014)

Pro kvalitně připravený širokový slad se udává přijatelná ztráta zrna v rozmezí 10–15 % w/w. Takový slad si zachovává dobrou diastatickou mohutnost (tj. schopnost enzymů ze sladu „zcukřit“ škrob). (Owuama, 1999) Ztráta hmotnosti zrna je výrazně ovlivněna použitou odrůdou čiroku. (Rodríguez, Aguilar a Almeida e Silva, 2018) Nejvhodnější doba klíčení čiroku, vzhledem k optimálnímu obsahu enzymů a sladové ztráty, byla stanovena na 96 hodin při teplotách 25–30 °C. (Owuama, 2020)

Během výroby sladu byl měřen obsah vody v zrně (Tabulka 7). Po namáčení byl stanoven stupeň domočení, který byl vyšší, než se uvádí ve studii Meo et al., (2011), kde byl 38,35 % w/w. Optimální stupeň domočení, pro efektivnější enzymatickou aktivitu širokého sladu, byl již dříve stanoven v rozmezí 44–48 % w/w. (Owuama, 1999) Zvýšení obsahu vody nad optimální hranici může mít negativní vliv na množství extraktu a diastatickou mohutnost sladu. (Owuama, 1997)

Obsah vody byl vyšší než optimum uváděné ve vědecké literatuře. Lze usoudit, že to bylo způsobeno delší máčecí pauzou. (Basařová, 2015) Vyrobený čirokový slad byl ve vůni mírně pražený a křehký. Po rozkousnutí v ústech byl nasládlý.

Tabulka 7: Obsah vody v procesu výroby sladu

Vzorek	Obsah vody (% w/w)
Surový čirok	9,48 ± 0,01
Čirok po namáčení (stupeň domočení)	62,30 ± 0,08
Zelený čirokový slad	22,16 ± 0,06
Usušený čirokový slad	2,97 ± 0,05

7.2 Mladina

Hodnoty pro vybrané parametry mladiny jsou uvedeny v Tabulce 8. Hodnoty pH mladiny se u všech vzorků pohybovaly v rozmezí 5,90–5,98. Nejvyšší pH bylo naměřeno u šarže DEK 2 a naopak nejnižší u DEK 1, ovšem rozdíly byly velmi malé. Výsledné hodnoty zjištěné touto prací se výrazně nelišily od dříve publikovaných studií čirokové mladiny (sladiny). Hodnota pH je důležitá pro činnost amylolytických enzymů. Enzym α -amyláza má optimální působení při pH 5,6–5,8 a enzym β -amyláza při pH 5,4–5,6. (Basařová et al., 2021) V budoucích studiích by bylo vhodné zvážit úpravu pH již při rmutování, aby bylo dosaženo optimálních hodnot pro činnost enzymů.

Tabulka 8: Měřené parametry mladiny

	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
pH	5,93	5,95	5,90	5,98
Brix (%)	8,5	8,5	10,0	9,4
Hustota (g/cm³)	1,0333	1,0333	1,0395	1,0369
TDS (ppt)	2,37	2,73	2,60	2,64

V rámci studie Meo et al. (2011) byl zkoumán vliv některých faktorů (alkalické máčení, rmutovací postup) na kvalitu sladu a sladiny. Čirokový slad byl vyroben dvěma postupy, kdy u každého byla část zrn máčena ve slabém roztoku NaOH (0,2 % w/w). Klíčení probíhalo při teplotě 25 °C. Zjištěné hodnoty pH byly nižší než v této práci. Použitím vícestupňového infuzního rmutování bylo, u sladu s alkalickým máčením, dosaženo hodnoty pH sladiny 5,66. Bez použití NaOH v máčecí vodě pak při stejném rmutovacím postupu bylo stanoveno pH 5,57–5,70. Autoři použili též modifikovaný postup rmutování (podobný dekokci), kde bylo za cíl dosáhnout vyšší teploty před zcukřením pro snadnější zmazovatění škrobu. Hodnota pH byla bez alkalického máčení zrna 5,47, v případě alkalického máčení zrna 5,62. (Meo et al., 2011)

Ve studii Odibo, Nwankwo a Agu (2002) bylo pH měřeno ve mladínách vyrobených z nesladovaného čiroku za pomoci zkoumaných enzymů (mj. Termamyl- α -amyláza; amyloglukosidáza). V rmutovacím schématu bylo zařazeno povaření rmutu před zcukřením. Hodnota pH vyrobené mladiny byla 6,2–6,3. Dále byl touto studií zjišťován vliv odpaření vody a za koncentrování sušiny. U takto vyrobeného čirokového sladového koncentrátu (obsah vody 22 % w/w) bylo pH sníženo na 5,6. (Odibo, Nwankwo a Agu, 2002)

Studie Holmes, Casey a Cook (2017) s nesladovanými čiroky získaných z různých míst světa zkoumala mj. pH. Zvolené rmutovací schéma bylo infuzní a modifikovaná dekokce. V tomto případě sice bylo pH vystírky upraveno na 5,5, ale samotné pH scezené sladiny se pohybovalo v rozmezí 5,63–5,88. (Holmes, Casey a Cook, 2017)

Dle Cela et al. (2022) byl zkoumán vliv 40 % w/w přídavku nesladovaného čiroku (i jiných surovin) k ječnému sladu s přidanými zcukřovacími enzymy na začátku. Byla zjištěna hodnota pH takto připravené mladiny 5,34 a mladiny kontrolní z ječného sladu 5,31. Tyto hodnoty jsou nižší, než byly zjištěné v této práci při vaření piva pouze z čirokového sladu. (Cela et al., 2022)

Ve předešlých zmíněných studiích byla analyzovaná sladina. V rámci této práce bylo pH měřeno v mladině před zakvašením. Obecně se uvádí snížení pH mezi sladinou a mladinou o 0,1 až 0,2 vlivem chmelovaru, během nějž hořké kyseliny a kyselé produkty Maillardových reakcí srážejí alkalické fosforečnany. Podíl na tomto poklesu mají také vápenaté a hořečnaté ionty. (Basařová et al., 2021) Závěrem lze říct, že hodnota pH mladiny stanovené touto prací byla jen mírně odlišná, od pH zjištěných v dřívějších výzkumech zabývajících se čirokem.

Obsah refraktometrické sušiny byl u šarží různý dle použitého schématu rmutování. U šarží INF 1 a INF 2 byly naměřeny nižší hodnoty než u dekokčních DEK 1 a DEK 2. Podobné výsledky byly naměřeny také při stanovení specifické hustoty mladiny. Stejná hodnota byla u šarží INF 1 a INF 2 ($1,0333 \text{ g/cm}^3$) a mírně se lišila u šarží DEK 1 a DEK 2 ($1,0395 \text{ g/cm}^3$; $1,0369 \text{ g/cm}^3$).

V dřívější studii Igyor, Ogbonna a Palmer (2001), zabývající se rmutovacími podmínkami čirokového sladu, byly srovnávány infuzní a dekokční rmutovací postupy. Byly použity tři různé výroby zahrnující infuzní rmutování, dekokční s prodlevou rmutu na $80 \text{ }^\circ\text{C}$ a dekokční s prodlevou rmutu na $100 \text{ }^\circ\text{C}$. U dekokčního rmutování se nejdříve šrot smíchal s vodou a po prodlevě se odebral enzymaticky aktivní tekutý podíl. Zbytek hustého rmutu se vystavil vyšší teplotě a po ochlazení se celé dílo smíchalo a „zcukřilo“. Autoři prokázali, že výtěžnost infuzního rmutování je ve srovnání s dekokčním výrazně nižší. Hodnota specifické hmotnosti byla přepočítána na hodnotu horkého vodního extraktu (HWE), ale i přesto byl rozdíl patrný. Toto zjištění koresponduje s výsledky této práce, kterou bylo taktéž dokázáno, že povařením části rmutu lze dosáhnout vyššího výtěžku. (Igyor, Ogbonna a Palmer, 2001)

Bylo zjištěno, že přídavek nesladovaného čiroku k ječnému sladu má vliv na množství získaného extraktu. Oproti kontrolnímu pivu z ječného sladu byla hodnota nižší skoro o $2 \text{ }^\circ\text{P}$. Ovšem při vystavení nesladovaných obilovinách vyšším teplotám a varu bylo dosaženo optimálního mazovatění škrobu a získáno vyšší hodnoty extraktu. Autoři konstatovali, že tento proces je časově náročnější. (Cela et al., 2022)

Přidané zcukřovací enzymy neměly významný vliv na specifickou hustotu ani obsah refraktometrické sušiny v mladině u šarží se stejným rmutovacím postupem (tj. INF1, INF 2 a DEK 1, DEK 2). Z toho lze usuzovat, že stejným postupem rmutování, s enzymy či bez nich, lze dosáhnout podobných výsledků. Rozdíl ve sledovaných parametrech, mezi infuzním a dekokčním postupem, byl způsoben povařením části rmutu během výroby, kterým bylo umožněno lepší mazovatění škrobu. (Espinosa-Ramírez, Pérez-Carrillo a Serna-Saldívar, 2014)

Obsah TDS byl nejnižší u šarže INF 1, u níž byl pozorován pomalejší průběh scezování. Nejvyšší obsah TDS byl ve vzorku mladiny INF 2. U šarží DEK 1 a DEK 2 byl obsah TDS srovnatelný.

7.3 Pivo

7.3.1 Fyzikálně-chemické parametry

Jedním ze způsobů kontroly správného průběhu kvašení je měření úbytku extraktu, sledování hodnot pH a tvorby etanolu. (Bokulich a Bamforth, 2013) Hodnoty parametrů mladého piva po vykvašení jsou uvedeny v Tabulce 9. Z naměřených hodnot je patrný vliv přidávaných zcukřovacích enzymů na některé parametry. Hodnota pH mladého piva byla u všech modelových vzorků v rozmezí 4,07–4,85. Pokles hodnoty pH byl značný u šarží s přidávanými zcukřovacími enzymy INF 2 a DEK 2. Pokles pH během kvašení je způsoben činností kvasinek, jež okyselují prostředí syntézou organických kyselin a produkcí oxidu uhličitého. (Basařová et al., 2021)

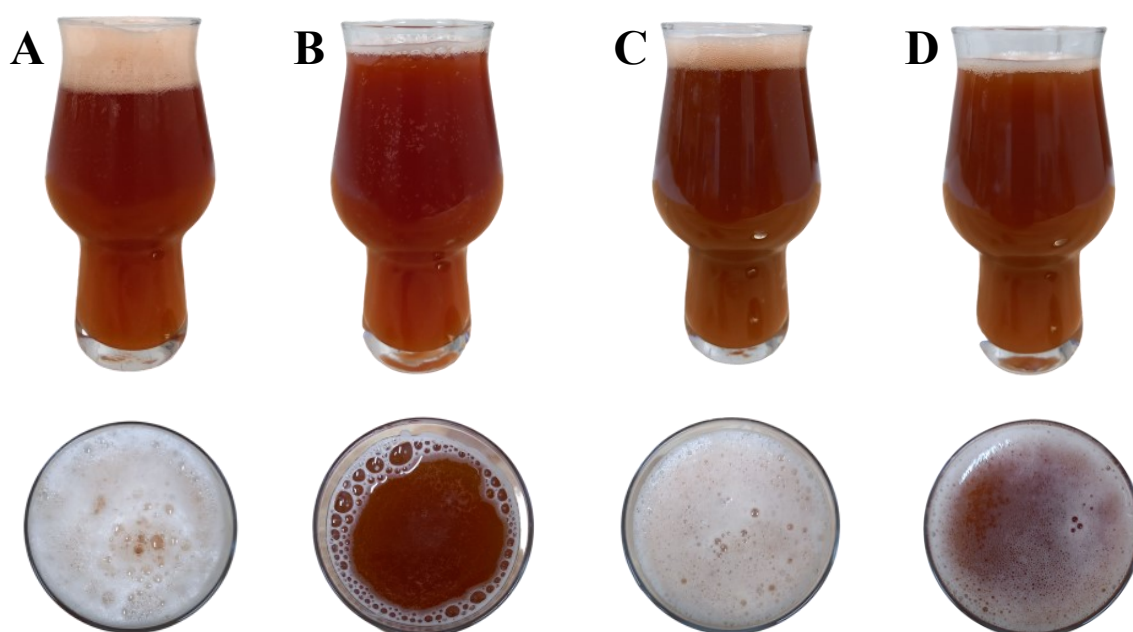
V práci Cela et al. (2022) bylo stanoveno pH piva, s ječným sladem a nesladovaným čirokem, o hodnotě 4,12. Tato hodnota byla srovnatelná s pH po vykvašení u šarží INF 2 a DEK 2. Při srovnání pH mladého čirokového piva s pH mladého ječného piva, bylo dosaženo podobných hodnot (4,57–4,65). (Enge et al., 2005)

Tabulka 9: Měřené parametry mladého piva

	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
pH	4,85	4,07	4,76	4,16
Brix (%)	6,6	4,2	6,9	4,2
Hustota (g/cm³)	1,02132	1,00853	1,02021	1,00629
TDS (ppt)	2,31	2,88	2,12	2,62
Etanol (% v/v)	1,38	2,77	2,27	3,44

Byl zaznamenán pokles hodnoty refraktometrické sušiny i specifické hustoty vlivem spotřebování sacharidů kvasinkami. Vyššího úbytku bylo dosaženo u šarží s dodanými enzymy. Úměrně s těmito parametry koreloval vyšší obsah etanolu u šarží s přidávanými enzymy. Obsah TDS byl shodný nebo mírně odlišný než v původní mladině. Výsledky těchto parametrů jsou diskutovány v následující části.

U hotového piva byly měřeny některé parametry. (Tabulka 10) Na Obrázku 4 jsou zobrazeny fotografie čirokového piva. U šarží INF 1 a DEK 1 byly naměřeno nižší hodnoty pH po ležení než před. Oproti tomu u šarží INF 2 a DEK 2 byly hodnoty mírně vyšší než před ležením. Pravděpodobně to bylo způsobeno větším množstvím oxidu uhličitého, rozpuštěného v mladém pivu, u šarže s větším množstvím zkvasitelného extraktu (INF 2 a DEK 2). Po odstranění plynu, v hotovém pivu, bylo u všech vzorků dosaženo mírně vyšších hodnot pH.



Obrázek 4: Čirokové pivo (A–DEK1, B–INF 1, C–DEK 2, D–INF 2)

Tabulka 10: Měřené parametry hotového piva

	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
pH	4,79	4,24	4,63	4,34
Brix (%)	6,5	4,0	6,9	3,8
Hustota (g/cm³)	1,02100	1,00853	1,02020	1,00629
TDS (ppt)	2,23	2,93	2,07	2,64
Etanol (% v/v)	1,30	2,77	2,19	3,44

Ve studii Odibo, Nwankwo a Agu (2002) byla změřena hodnota pH u vykvašeného piva vyrobeného z nesladovaného čirokového sladu. Pokles pH dosáhl hodnoty 4,5 a 4,7, což je srovnatelné z šarží INF 1 a DEK 1. (Odibo, Nwankwo a Agu, 2002) Některé studie se zabývaly analýzou čirokového piva, ovšem vyrobeného za použití spontánní mikroflóry. Při výrobě tradičních afrických čirokových piv za pomoci spontánní fermentace lze dosáhnout poklesu pH až k 2,41. (Bayoï a Etoa, 2021)

Pro srovnání hodnoty pH šarží INF 2 a DEK 2 lze využít studii Mayer et al. (2016), ve které bylo stanoveného pH piva vyrobeného z rýžového sladu různou metodou rmutování. U třech vzorků rýžového piva byla stanovena hodnota pH mezi 4,21–4,24. Tyto hodnoty byly blízké výsledkům šarží INF 2 a DEK 2 i přes rozdílnou vstupní surovinu. (Mayer et al., 2016)

V rámci studie Di Ghionno et al. (2017) byl sledován vliv, použitého sladu z teffu nebo nesladovaného teffu s enzymy, na vlastnosti piva. U finálního piva byla hodnota pH, při výrobě ze sladovaného teffu, 4,23 a při použití nesladovaného teffu s enzymy, 4,29. Toto zjištění bylo možné srovnat s hodnotami šarží INF 2 a DEK 2, u kterých bylo dosaženo podobných hodnot. (Di Ghionno et al., 2017)

Za dobu ležení byl zaznamenán pokles hodnoty specifické hustoty a refraktometrické sušiny vlivem prokvašení zbytkového extraktu. Největšího poklesu bylo dosaženo u šarží INF 2 a DEK 2 díky vyššímu obsahu zkvasitelného extraktu. Konečnou hodnotu specifické hustoty těchto šarží lze srovnat s Odibo, Nwankwo a Agu, (2002), kde bylo dosaženo 1,003–1,008 g/cm³. (Odibo, Nwankwo a Agu, 2002)

Jak je patrné z Tabulka 10, obsah etanolu byl vyšší u piv s použitými enzymy. Při srovnání šarží, podle typu rmutování, byl prokázán vliv dekokčního rmutování na vyšší obsah etanolu. Toto zjištění odpovídá závěrům Igyor, Ogbonna a Palmer, (2001), kteří zjistili rozdíl mezi obsahem etanolu v pivu vyrobeného infuzí nebo dekokcí. Přičemž nejvyššího obsahu bylo dosaženo při vystavení rmutu teplotám 100 °C v rámci dekokce. (Igyor, Ogbonna a Palmer, 2001) Potvrzuje to dřívější závěry, že škrob v čirokovém zrně má vyšší teplotu mazování, tudíž se při povaření dosahuje vyšších výtěžností, protože se škrob převádí do tekuté formy. (Owuama, 1999; Ogbonna, 2011)

Bylo stanoveno, že čirokové pivo obsahuje zhruba o 1 % v/v alkoholu méně než pivo ječné připravené ze stejného množství sladu. (Owuama, 2020)

V dřívějších výzkumech bylo zjištěno, že obsah etanolu v pivu z ječného sladu je vyšší než u piva z čirokového sladu. Použitím amyloglukosidázy při výrobě čirokového piva ovšem lze dosáhnout srovnatelného obsahu etanolu, jako u piva z ječného sladu. (Espinosa-Ramírez, Pérez-Carrillo a Serna-Saldívar, 2014) Tato informace byla v souladu s poznatky zjištěných touto prací.

Za povšimnutí stojí pokles obsahu etanolu mezi pivem před ležením (měřeno v kvasném tanku) a po ležení (měřeno v láhvi). Způsobeno to bylo pravděpodobně mírným naředěním piva oplachovou vodou ze sudu.

V další části bylo z naměřených hodnot, specifické hustoty a obsahu etanolu v % v/v, stanoven obsah dalších parametrů vypočítané programem přístroje Alcoalyzer. Hodnoty jsou uvedené v Tabulce 11.

Tabulka 11: Přepočítané parametry hotového piva

	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
Etanol (% w/w)	1,003	2,150	1,690	2,700
Reálný extrakt (% w/w)	6,28	3,68	6,41	3,36
Zdánlivý extrakt (% w/w)	5,79	2,65	5,60	2,08
Plato (%)	8,26	7,94	9,74	8,68
Skutečné prokvašení (% w/w)	24,88	54,74	35,36	62,41
Zdánlivé prokvašení (% w/w)	29,87	66,63	42,49	76,04
Energetická hodnota (kJ/100 ml)	125,87	118,57	147,75	129,42

Nejvyšší obsah etanolu v % w/w byl naměřen u vzorku INF 2 a DEK 2 což je v souladu s předchozím tvrzením o obsahu etanolu % v/v. Hodnota reálného a zdánlivého extraktu byla vyšší u šarží bez enzymů (INF 1 a DEK 1). Bylo to způsobeno větším množstvím nezkrasitelného extraktu v původní mladině, který díky malému množství enzymů nemohl být kvasinkami využit.

Vyššího skutečného prokvašení bylo dosaženo u piv s větším množstvím zkvasitelného extraktu (INF 2, DEK 2). Tato hodnota byla v souladu s mírou skutečného prokvašení dané vyhláškou 248/2018 Sb. (min 50 %). (Česká republika, 2018)

Konzumace piva má značný dopad na celkovou hodnotu energetického příjmu. Přispívají k tomu zejména sacharidy, proteiny a alkohol obsaženy v pivu. (Olšovská et al., 2019) U širokového piva byla nejvyšší hodnota energetického příjmu dosažena u šarže DEK 1, naopak nejnižší u INF 2. Výsledky byly v souladu s prací Olšovské et al. (2019), kde byla stanovena energetická hodnota u širokého spektra ječných piv. Všechny vyrobené šarže širokového piva lze zařadit do kategorie světlého ležáku, kde se energetická hodnota dle autorů pohybovala v rozmezí 113–159 kJ/100 ml. Dále bylo zjištěno, že se zvyšující počáteční specifickou hmotností, roste energetická hodnota piva. (Olšovská et al., 2019) Lze předpokládat, že druh použité suroviny nemá na energetickou hodnotu piva významný vliv.

7.3.2 Mikrobiologický rozbor

Mikrobiologie piva má významný vliv na jeho kvalitu a údržnost. Výsledky mikrobiologického rozboru jsou uvedeny v Tabulce 12. Při stanovení nebyl detekován výskyt koliformních bakterií což značí dodržení hygienických postupů během výroby. U všech šarží byl zaznamenán výskyt mikroorganismů v různém množství. Vyšší obsah byl stanoven u šarží vyrobené infuzi.

Výskyt mikroorganismů v širokovém pivu byl způsoben především absencí postupů vedoucích k jejich eliminaci (filtrace, pasterizace).

Tabulka 12: Stanovené počty mikroorganismů (CFU/ml)

Půda	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
CPM – celkový počet mikroorganismu	8,31.10 ²	3,41.10 ²	1,15.10 ²	3,10.10 ¹
MRS – skupina <i>Lactobacillus</i>	8,04.10 ²	3,38.10 ²	1,11.10 ²	2,75.10 ¹
VRBA – koliformní bakterie	0,00	0,00	0,00	0,00
AA – rod <i>Acetobacter</i>	5,55.10 ²	2,73.10 ²	5,95.10 ¹	2,60.10 ¹
SAB – plísňe a kvasinky	4,81.10 ²	9,25.10 ²	1,61.10 ²	4,51.10 ¹

CFU (Colony Forming Units) – kolonie tvořící jednotku

Zástupci skupiny *Lactobacillus* byly nejvíce přítomny v šarži INF 1 a INF 2, kde byl nižší obsah etanolu. Některé druhy mohou být tolerantní k obsahu etanolu, CO₂ a obsahu hořkých látek. Piva s vyšším pH a s vyšším množstvím neprokvašeného extraktu jsou více ohroženy výskytem skupiny *Lactobacillus* především během dokvašování. Negativní působení se projeví tvorbou zákalu, zvýšením kyselosti, tvorbou plynu, a především ovlivněním sensorické kvality (např. diacetyl). (Matoulková a Kubizniaková, 2015) Tento vliv mohl být příčinou rozdílu mezi šaržemi se stejným rmutovacím postupem (INF 1, INF 2; DEK 1, DEK 2) Na růst skupiny *Lactobacillus* v pivu negativně působí také polyfenoly. (Basařová et al., 2021) Z této skupiny mikroorganismů působí negativně především druh *Levilactobacillus brevis*. (Bokulich a Bamforth, 2013)

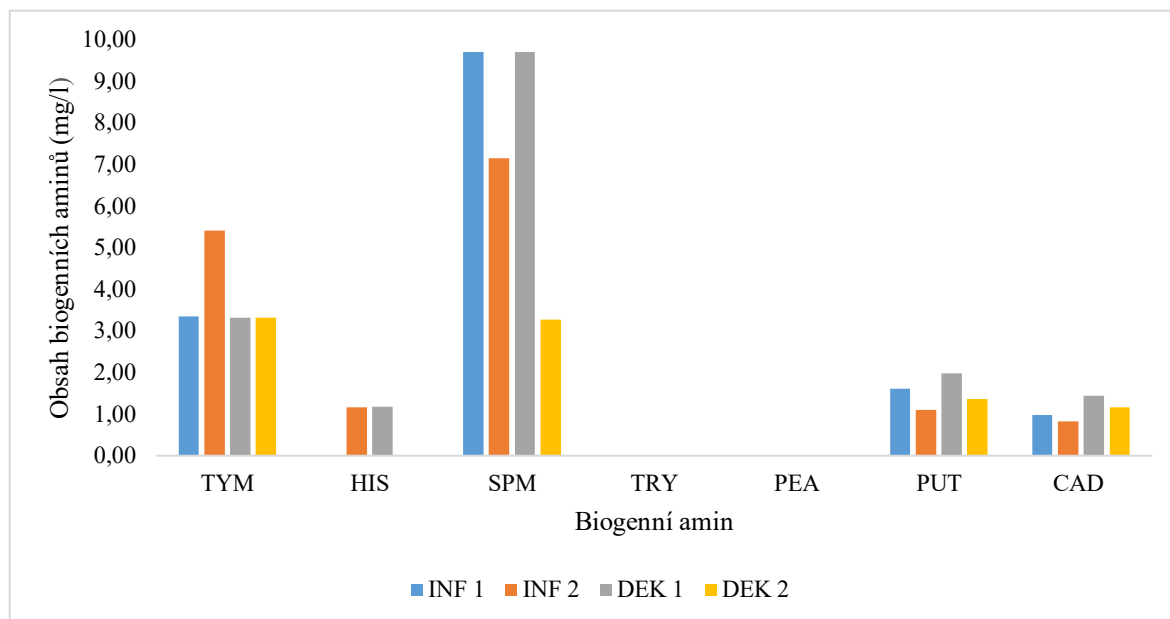
V některých druzích tradičních afrických čirokových piv se uplatňují, ve větším počtu, zástupci skupiny *Lactobacillus*. V těchto druzích nápojů bylo nalezeno široké spektrum druhů cizích bakterií i kvasinek, které se podílí na vytváření rozsáhlého spektra vůní a chutí. (Lyumugabe et al., 2012)

Rod *Acetobacter* byl nejvíc zastoupen u šarží INF 1 a INF 2 o řád méně pak v pivech dekokčních. Na tento rod nemá významný dopad obsah etanolu a nízké pH. Vyžadují ovšem kyslík a v pivu nasyceném CO₂ se nerozmnožují. (Basařová et al., 2021) Při nadměrném kontaktu piva s kyslíkem může v extrémních případech pivo zoctovatět. (Bokulich a Bamforth, 2013)

Buňky kvasinek a plísní byly v největším počtu stanoveny u šarže INF 1 a INF 2, v menší míře poté v dekokčních vzorcích. Kvasinky jsou přirozenou součástí piva a z velké části určují jeho výslednou podobu. Na množství kvasinek má také vliv přítomnost divokých kvasinek vnikajících do piva (mladiny) z okolí. Pro bližší určení by musela být provedena podrobnější klasifikace druhu. (Bokulich a Bamforth, 2013) Výskytem plísní je ohrožena především výroba sladu, kde může docházet k tvorbě nebezpečných mykotoxinů. (Basařová et al., 2021)

7.3.3 Biogenní aminy

Biogenní aminy v pivu vznikají nejčastěji působením dekarboxyláz z volných aminokyselin. Přítomnost dekarboxylázy může značit kontaminaci nežádoucími mikroorganismy, které ve své enzymatické výbavě disponují tímto enzymem. (Fusek et al., 2020) Obsah sedmi stanovovaných biogenních aminů je zobrazen v grafu na Obrázku 5.



Obrázek 5: Obsah biogenních aminů

V šarži INF 1 a DEK 1 byl zjištěn nejvyšší obsah sperminu $9,71 \pm 0,85$ mg/l a $9,71 \pm 1,01$ mg/l, o něco menší obsah pak v šaržích INF 2 a DEK 2. Zjištěný obsah byl podobný s výsledky uváděné v pracích, které se zabývaly stanovením biogenních aminů v pivu. (Buňka et al., 2012; Lorencová et al., 2020) Obsah ostatních stanovovaných biogenních aminů se buď držel okolo 5 mg/l nebo nebyl detekován. V žádné ze šarží nebyl stanoven tryptamin a fenylethylamin. Celkový obsah biogenních aminů ve vzorků INF 1 byl $15,64 \pm 0,43$ mg/l. Ve vzorku INF 2 byl celkový obsah biogenních aminů $15,67 \pm 0,32$ mg/l. Ve vzorku DEK 1 byl celkový obsah biogenních aminů $17,64 \pm 0,84$ mg/l. Ve vzorku DEK 2 byl stanoven celkový obsah biogenních aminů $9,13 \pm 0,20$. Bylo zjištěno, že jisté množství biogenních aminů se vytváří i při výrobě sladu, ale k celkovému množství nejvíce přispívají ty vytvořené během fermentace. (Romero et al., 2003)

U některých zástupců skupiny *Lactobacillus* byla zaznamenána schopnost vytvářet vysoké množství tyraminu, ovšem ne všichni zástupci jsou schopni v prostředí piva přežít. (Lorencová et al., 2012) Množství zástupců skupiny *Lactobacillus* stanovené v čirokovém pivu mohlo mít vliv na celkový obsah tyraminu. Na výskyt biogenních aminů v pivu může mít vliv široké spektrum mikroorganismů nacházejících se v pivu.

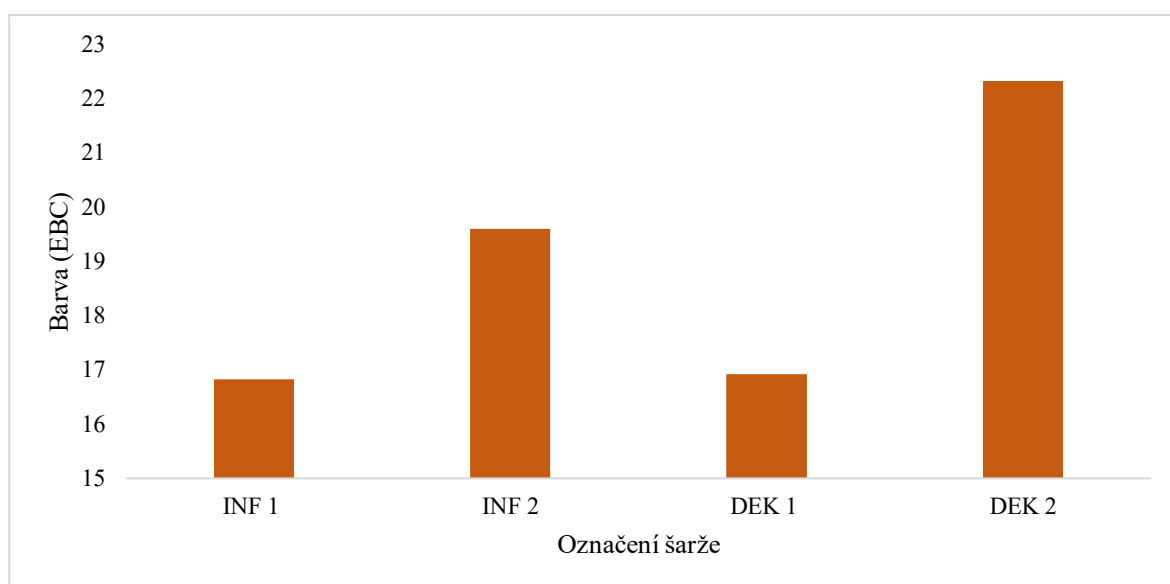
Za celkový obsah biogenních aminů, který je bezpečný pro konzumaci se považuje 100 mg/l. (Fusek et al., 2020) Celkový obsah, zjištěn touto prací, byl považován za bezpečný

pro konzumaci. Nízkými hodnotami biogenních aminů bylo potvrzeno, že při výrobě bylo postupováno dle hygienických pravidel. (Bokulich a Bamforth, 2013)

7.3.4 Instrumentální analýza barvy

Jak je patrné z grafu na Obrázku 6 barva piva byla stanovena mezi 16,5–22,5 EBC. Hodnota barvy šarže INF 1 byla 16,83 EBC, INF 2 19,60, DEK 1 16,93 a DEK 2 22,33. Vizuálně (Obrázek 4) byla barva červenohnědá s patrným zákalem u všech čtyř šarží. Důvodem vyšší barvy byl obsah barvicích látek ve slupkách čiroku.

Metoda EBC není vhodná pro piva červené barvy s obsahem některých látek (např. antokyanů a polyfenolů), protože absorbují světlo při jiné vlnové délce než 430 nm (dáno metodikou EBC). (Castro Marin et al., 2021) Při vaření piv červené barvy z ječného sladu se používají slady karamelové a tmavé u níž je obsah barvicích látek tvořen především produkty Maillardových reakcí. (Basařová, 2015) Čirokové pivo, vyrobené v této práci, bylo zbarveno díky vyššímu obsahu barvicích látek vyskytujících se v obalových vrstvách zrna.



Obrázek 6: Barva piva dle metody EBC

V Tabulce 13 jsou uvedeny stanovené parametry CIELab. Z výsledku bylo patrné, že šarže bez enzymů (INF 1, DEK 1) dosahovaly nižší světlosti (L^*) jak šarže s enzymy. Způsobeno to bude pravděpodobně vyšším zbytkovým extraktem ve výsledném pivu. Parametr a^* byl pro všechny čtyři šarže kladný tudíž se pohyboval v červených oblastech. Toto zjištění odpovídá senzorickému vnímání barvy. Parametr b^* byl mírně odlišný u šarží

bez enzymů, kde dosahoval vyšších hodnot, ovšem i tak všechny čtyři šarže náležely do žluté barvy. Sytost barvy (C^*) byla vyšší u šarží bez přidaných enzymů, způsobeno to bude pravděpodobně větším množstvím neprokvašeného extraktu. Parametr úhlu odstínu (h) byl nižší u šarží s přidanými enzymy.

Tabulka 13: Parametry barevného prostoru CIELab

	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
L*	34,99	18,09	38,89	17,44
a*	36,52	31,52	33,36	31,47
b*	23,31	12,06	25,87	11,64
C*	83,22	55,56	87,28	54,69
h	59,28	40,90	63,87	39,58
Zákal	74,89	91,09	78,42	90,73

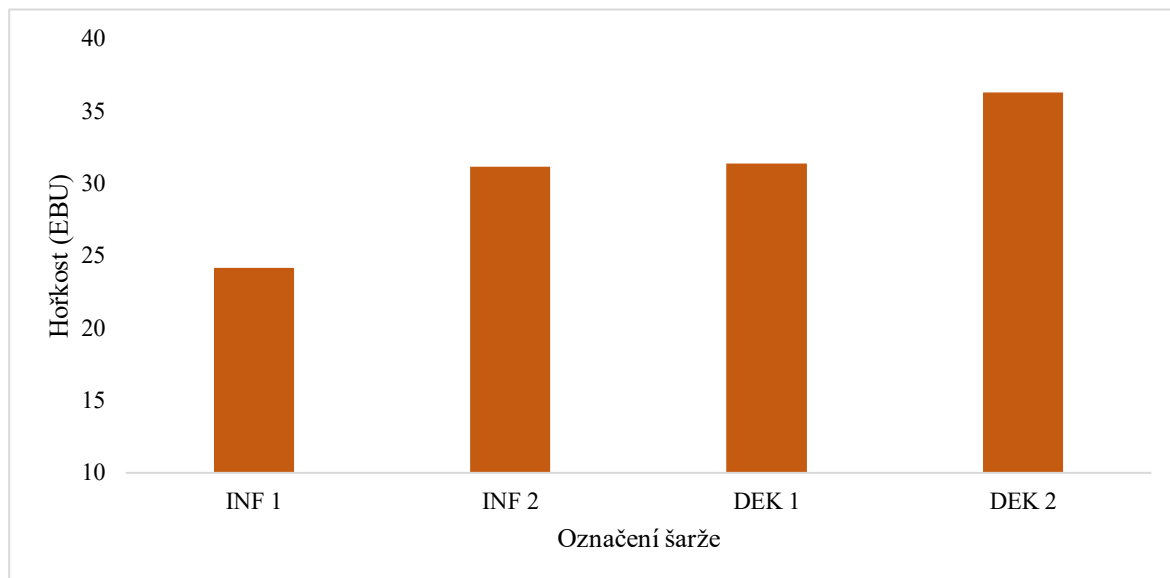
Dále byl stanovován zákal vzorku. Zde bylo dosaženo vyššího zákalu u vzorku s enzymy (INF 2, DEK 2) než u vzorků bez. Pravděpodobně to bylo způsobeno vyšším prokvašením extraktu a tím vyššímu nárůstu kvasinek v pivu, které pak byly přístrojem detekovány jako zákal.

Ve studii Adetunji et al. (2013) byly hodnoceny různé kultivary (14) čiroku se zaměřením jejich použití jako doplněk při vaření ječných piv. Byla vyrobena mladina a ta byla analyzována, mj. také na hodnoty barvy v parametrech L^* , a^* , b^* . Bylo zjištěno, že přítomnost barvicích látek v zrně neovlivnila hodnotu parametru L^* ani b^* , ale vliv mělo na parametr a^* , kde čiroky s absencí barvicích látek (antokyany) vykazovaly nižší hodnoty. (Adetunji et al., 2013)

7.3.5 Hořkost

Hořkost piva je způsobena především vznikem iso- α -hořkých kyselin za varu z α -hořkých kyselin. V menší míře pak produkty izomerací β -hořkých kyselin. Záchytem těchto látek v kalech během odlučování snižuje hořkost mladiny. Během kvašení dochází k vysrážení především α -hořkých kyselin (vlivem nižší rozpustnosti při pH 5) a v menší míře pak i iso- α -hořkých kyselin. (Basařová et al., 2021)

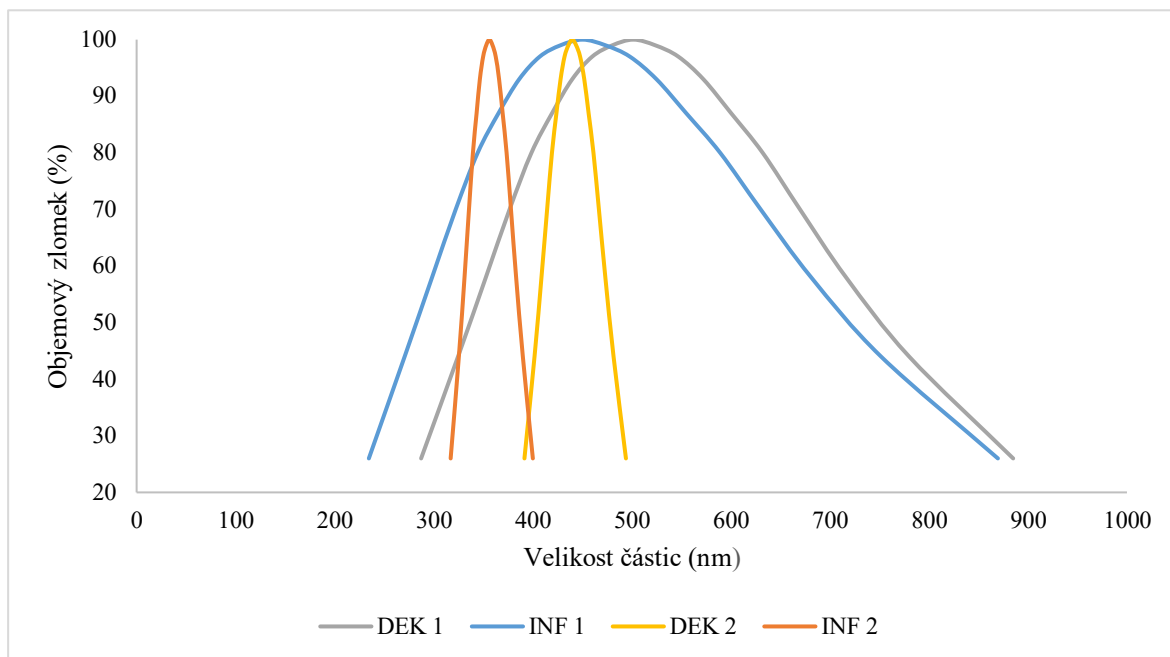
Míra hořkosti byla u jednotlivých šarží značně odlišná (Obrázek 7). U šarže INF 1 byla hodnota jednotek hořkosti (EBU) 24,15; INF 2 – 31,18; DEK 1 – 31,40 a DEK 2 – 36,20. Jelikož byl použit stejný chmel pro výrobu všech šarží, lze předpokládat, že výkyvy hořkosti jsou způsobené vlivem mírných nuancí v procesu výroby. (Basařová et al., 2021)



Obrázek 7: Hořkost piva

7.3.6 Velikost částic

Grafické vyobrazení distribuce velikosti částic je zobrazeno na Obrázku 8. Byl patrný vliv zcukřovacích enzymů na velikost částic v pivu. Větší částice byly stanoveny u šarží bez enzymů (INF 1, DEK 1) ačkoliv při stanovení zákálu, byly vyšší hodnoty naměřeny u šarží s enzymy. Bylo to způsobeno pravděpodobně vyšším obsahem zbytkového neprokvašeného extraktu u šarží bez enzymů. Naopak nejmenší částice byly stanoveny u šarže INF 2. O něco větší pak u dekokční šarže DEK 2. Při porovnání rmutovacích postupů (infuze–dekokce) bylo dosaženo větší velikosti částic u šarží dekokčních. Vliv na to patrně mělo povaření rmutu.



Obrázek 8: Distribuce velikosti částic

Velikost a množství částic má význam na koloidní stabilitu piva. Hlavní vliv na tvorbu zákalu mají vysokomolekulární polyfenoly, které tvoří komplexy s polypeptidy a bílkovinami. Na tvorbě zákalů mají vliv také neškrobové nebo škrobové sacharidy. Tento jev se patrně projevil i při stanovení v této práci. (Basařová et al., 2021)

7.3.7 Reologická analýza

Reologie kapalin zkoumá vnitřní reakci látek na působení vnějších sil. Znalost reologických vlastností kapalin je podstatná pro technickou přípravu výroby potravin. Viskozita je charakterizovaná změnou vnitřního tření v kapalině. Dle viskozity pak kapaliny rozdělujeme na newtonovské (např. voda) a nenwtonovské, do nichž náleží látky pseudoplastické, dilatantní a binghamské. (Holubová, 2014)

V rámci stanovení byla sledovaná změna zdánlivé viskozity a smykového napětí. V Tabulce 14 jsou uvedeny hodnoty reologické analýzy dle modelu Oswald de Waele. Při stanovení všech čtyř šarží bylo zjištěno, že hodnota indexu tokového chování n byla vyšší než 1, tudíž vykazovaly chování podobné kapalinám dilatantním. U takových látek roste zdánlivá viskozita spolu s rostoucím gradientem rychlosti (kapalina houstne). Z grafu na Obrázku 9 je patrné, že se graf podobá grafu pro kapalinu dilatantní, ale jistá podobnost je zde i s grafem lineárním (tedy pro newtonovské kapaliny). Vzorky piva mají vlastnosti podobné obou modelům.

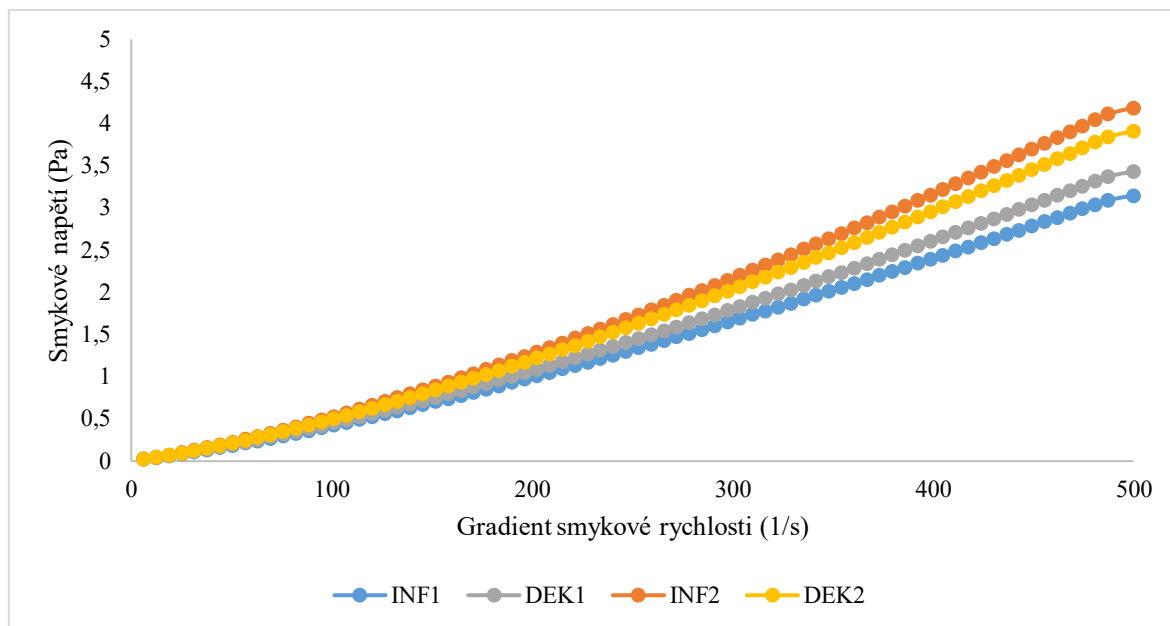
Tabulka 14: Výsledné hodnoty reologické analýzy piva

	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
K– součinitel konzistence (Pa.s)	0,001	0,001	0,001	0,001
n–index tokového chování (-)	1,296	1,310	1,342	1,331
R²	0,9699	0,9729	0,9862	0,9829

Z hodnot indexu tokového napětí bylo patrné, že šarže s vyšší počáteční hustotou (DEK 1, DEK 2) dosahovaly vyššího indexu tokového chování n , než šarže s nižší hustotou. Hodnota konečné hustoty piva po vykvašení na tento parametr neměla významný vliv. Byl ovšem pozorován vliv konečné hustoty na hodnotu smykového napětí. Jak je patrné z grafu na Obrázku 9, smykové napětí bylo nejnižší u vzorku s vyšší konečnou hustotou. U hlouběji prokvašených šarží (INF 2 a DEK 2) bylo dosaženo vyšší hodnot smykového napětí.

Ve studii Trávníčka, Lose a Junga (2015) byly zkoumány reologické vlastnosti sladiny a mladiny. Bylo zjištěno, že při různých teplotách se tyto meziprodukty chovají různě, ale všeobecně vykazují newtonovské chování ($n=1$). Vzorky čirokového piva se blížily spíše ke kapalině dilatantní, protože hodnota n byla větší jak 1.

Dle Rosa a Lannes (2022) byla stanovena viskozita mladiny vyrobené z 80 % w/w ječného sladu a 20 % w/w nesladovaného čiroku. Bylo zjištěno, že index tokového chování se blížil k 1 (0,745) tudíž autoři potvrdili chování blízké newtonskému typu kapaliny. (Rosa a Lannes, 2022) Tento závěr ovšem nelze srovnávat s výsledky čirokového piva, protože větší část sypání byla složena z ječného sladu, který obsahuje vyšší množství amylolytických enzymů a snaž se scezuje. (Basařová et al., 2021)



Obrázek 9: Vývoj smykového napětí vzorků čirokového piva

7.3.8 Senzorická analýza

Průměrně známky udělené hodnotiteli jsou uvedeny v Tabulce 15. Senzorická analýza proběhla ve dvou termínech. Při první degustaci bylo přítomno 10 hodnotitelů (7 žen, 3 muži) s průměrným věkem 38,9 let a byly hodnoceny vzorky INF 1 a DEK 1. Druhé degustace se zúčastnilo 12 hodnotitelů (8 žen, 4 muži) s průměrným věkem 24,6 let a byly při ní hodnoceny vzorky INF 2 a DEK 2. Někteří degustátoři uvedli také slovní hodnocení.

Tabulka 15: Výsledky sensorické analýzy

	INF 1	INF 2	DEK 1	DEK 2
Pachuť	2,80	2,33	2,00	1,67
CO₂	2,60	3,33	3,00	2,67
Plnost	2,60	3,17	3,40	3,67
Hořkost	3,60	3,00	3,10	3,17
Celkový dojem	4,10	4,75	3,60	3,42

Při hodnocení pachuti byla při první degustaci lépe hodnocena šarže DEK 1. Při druhé degustaci vzorků bylo bodové hodnocení celkově lepší. Nejlépe byl hodnocen vzorek DEK 2.

Hodnocením nasycení oxidem uhličitým bylo zjištěno, že hodnotitelé, při první degustaci, vnímali jako více nasycený vzorek DEK 1 i když rozdíl byl velmi malý. Při druhé degustaci byl, dle hodnotitelů, více nasycen vzorek INF 2.

Plnost piva byla při první degustaci vyšší u šarže DEK 1. Při druhé degustaci byla, jako plnější, hodnocena šarže DEK 2. Toto zjištění souvisí s povařením rmutu během výroby a tím ziskem vyššího množství extraktu, který tvoří plnost piva. (Basařová et al., 2021)

Vyšší hořkost byla při první degustaci zjištěna u šarže INF 1. Při druhé degustaci pak u šarže DEK 2, ale rozdíl v hodnocení byl taktéž malý.

Při obou degustacích byly jako lepší hodnoceny šarže, kde byla během výroby použita dekokce. Jak již bylo řečeno, je možné, že to souvisí s větším množstvím extraktu získaného během povaření rmutu.

Ze slovního hodnocení bylo patrné, že u šarží INF 1 byla jedním hodnotitelem zjištěna nepříjemná vůně a velmi silná pachut'. Při hodnocení šarže DEK 1 byl shledán nepříjemný pach, ale vůně byla hodnocena jako v pořádku. Obě šarže byly hodnoceny jako ne moc svěží. U šarže INF 2 byla, jedním hodnotitelem, zjištěna příjemná ovocná chuť a vůně. Jiní uvedli, že vzorek chutná jako odstáté pivo nebo byla popsána středně nepříjemná vůně až pavůně. Při hodnocení šarže DEK 2 bylo shledáno, že vzorek byl lepší než šarže INF 2. Byla popsána lepší harmonická chuť.

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce byla zaměřena na technologii výroby bezlepkového piva. Zvláštní pozornost pak byla věnovaná čiroku, jakožto alternativní surovině k výrobě piva. Teoretická část práce byla zaměřena na charakteristiku bezlepkového piva a důvody jeho konzumace, dále na obecné postupy při výrobě sladu a piva, technologické postupy vedoucí k výrobě bezlepkového piva a představení typů bezlepkových piv v tuzemské tržní síti. V praktické části pak byl laboratorně vyroben čirokový slad z odrůdy Ruzrok a z něj byly připraveny čtyři šarže čirokového piva. Šarže se od sebe lišily rozdílným rmutovacím postupem a přidavkem zcukřovacích enzymů.

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat:

- Čiroková odrůda Ruzrok vykazovala optimální míru sladové ztráty, která byla ve shodě s hodnotu udávanou v odborné literatuře.
- Mladiny připravené dekokčním rmutováním dosahovaly vyšší specifické hmotnosti a obsahu refraktometrické sušiny než ty vyrobené infuzním postupem.
- Nebyl zaznamenán vliv přidavku zcukřovacích enzymů na hodnoty pH, specifické hmotnosti a refraktometrické sušiny mladiny, ale byl pozorován vliv na tyto parametry u vykvašeného piva. Taktéž byl zaznamenán vyšší obsah etanolu u šarží s dodanými enzymy.
- Byl pozorován nízký obsah vybraných biogenních aminů ve všech šarží, tudíž lze říct, že byly dodrženy technologické a hygienické postupy. Taktéž mikrobiologický rozbor potvrdil stejný závěr.
- Barva všech vzorků byla ovlivněna barvicími látkami uvolněných z obalových vrstev čiroku.
- Reologické vlastnosti piva se blížily spíše k dilatantnímu až k newtonovskému chování kapalin. Vyšších hodnot smykového napětí bylo dosaženo u více prokvašených vzorků.
- Částice větší velikosti byly detekovány v pivech bez přidaných zcukřovacích enzymů.
- V senzorické analýze bylo nejlépe hodnocené pivo připravené dekokčním postupem s přidavkem zcukřovacích enzymů.

Ukazuje se, že čirok má potenciál se stát pivovarskou surovinou k výrobě sladu. Čirokové pivo má odlišný charakter, což je třeba brát v úvahu při výrobě a snažit se zvolit vhodný pivní styl. S rozvojem pěstování čiroku může klesat i cena této komodity, a tudíž by byla pro menší producenty sladu a piva dostupnější.

V budoucích studiích je možné zaměřit se a vyvinout optimální podmínky pro sladování odrůdy Ruzrok, při kterém by se braly v úvahu geografické a agronomní podmínky v České republice.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ADETUNJI, Adeoluwa I. et al., 2013. Influence of sorghum grain type on wort physico-chemical and sensory quality in a whole-grain and commercial enzyme mashing process. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. n/a-n/a [cit. 2022-04-26]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.76
2. AGU, R. C. a G. H. PALMER, 1996. ENZYMIC BREAKDOWN OF ENDOSPERM PROTEINS OF SORGHUM AT DIFFERENT MALTING TEMPERATURES. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 102(6), 415-418 [cit. 2022-03-21]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1996.tb00924.x
3. Alkoholesence [online], 2022. [cit. 2022-02-23]. Dostupné z: <https://www.alkholesence.cz/>
4. BASAŘOVÁ, Gabriela a Jaroslav ČEPIČKA, 1985. *Sladařství a pivovarství*. Praha: SNTL.
5. BASAŘOVÁ, Gabriela et al., 2021. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Vydání druhé, přepracované, doplněné a aktualizované. Praha: Havlíček Brain Team. ISBN 978-80-87109-71-7.
6. BASAŘOVÁ, Gabriela, 2015. *Sladařství: teorie a praxe výroby sladu*. Praha: Havlíček Brain Team. ISBN 978-80-87109-47-2.
7. BAYOŮ, James Ronald a François-Xavier ETOA, 2021. Physicochemical Changes Occurring during Long-Time Fermentation of the Indigenous Alcoholic Sorghum-Based Beverages Brewed in Northern Cameroon. *Beverages* [online]. 7(2) [cit. 2022-03-14]. ISSN 2306-5710. Dostupné z: doi:10.3390/beverages7020039
8. Beer Judge Certification Program [online]. [cit. 2022-02-18]. Dostupné z: <https://www.bjcp.org/>
9. BENDOŮVÁ, Olga a Miroslav KAHLER, 1981. *Pivovarské kvasinky*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury.
10. Birell [online], 2022. [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: <https://www.birell.cz/>

11. BOKULICH, Nicholas A. a Charles W. BAMFORTH, 2013. The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. 77(2), 157-172 [cit. 2022-03-15]. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.00060-12
12. BUŇKA, František et al., 2012. Content of biogenic amines and polyamines in beers from the Czech Republic. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 118(2), 213-216 [cit. 2022-03-15]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.31
13. BUREŠOVÁ, Iva a Eva LORENCOVÁ, 2013. *Výroba potravin rostlinného původu: zpracování obilovin*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 978-80-7454-278-7.
14. CASTRO MARIN, Antonio et al., 2021. Physico-Chemical and Sensory Characterization of a Fruit Beer Obtained with the Addition of Cv. Lambrusco Grapes Must. *Beverages* [online]. 7(2) [cit. 2022-04-26]. ISSN 2306-5710. Dostupné z: doi:10.3390/beverages7020034
15. CELA, Nazarena et al., 2022. Assessment of brewing attitude of unmalted cereals and pseudocereals for gluten free beer production. *Food Chemistry* [online]. 384 [cit. 2022-04-23]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.132621
16. CEPPI, E. L. M. a O. V. BRENNNA, 2010. Brewing with Rice Malt - A Gluten-free Alternative. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 116(3), 275-279 [cit. 2022-02-22]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2010.tb00431.x
17. ČESKÁ REPUBLIKA, 2018. Vyhláška č. 248/2018 Sb. o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. In: . 125/2018. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248/zneni-20181201>
18. DI GHIONNO, Lidia et al., 2017. Comparative study on quality attributes of gluten-free beer from malted and unmalted teff [*Eragrostis tef* (zucc.) trotter]. *LWT* [online]. 84, 746-752 [cit. 2022-02-22]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.06.044
19. DOSTÁLEK, P. et al., 2006. Immunochemical determination of gluten in malts and beers. *Food Additives and Contaminants* [online]. 23(11), 1074-1078 [cit. 2022-02-18]. ISSN 0265-203X. Dostupné z: doi:10.1080/02652030600740637
20. DVOŘÁČKOVÁ, Olga, 2020. *Seznam doporučených odrůd 2020*. Brno: Pax agris. ISBN 978-80-7401-187-0.

21. EBC Method 4.2: EBC Method 4.2 Moisture content of malt, 2000. EBC Analytica.
22. EBC Method 8.5: 8.5 COLOUR OF WORT: SPECTROPHOTOMETRIC METHOD (IM), 2000. EBC Analytica.
23. EBC Method 9.46: EBC Method 9.46 Decarbonation of beer, 2007. EBC Analytica.
24. EBC Method 9.8: 9.8 BITTERNESS OF BEER (IM), 2004. EBC Analytic.
25. ENGE, Jan et al., 2005. Technological aspects of infusion and decoction mashing. Kvasny Prumysl [online]. 51(5), 158-165 [cit. 2022-03-09]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2005008
26. ESPINOSA-RAMÍREZ, Johanan, Esther PÉREZ-CARRILLO a Sergio O. SERNASALDÍVAR, 2014. Maltose and glucose utilization during fermentation of barley and sorghum lager beers as affected by β -amylase or amyloglucosidase addition. Journal of Cereal Science [online]. 60(3), 602-609 [cit. 2022-03-09]. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2014.07.008
27. EVROPSKÁ UNIE, 2011. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům. In: . L304. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32011R1169&qid=1645173261351>
28. EVROPSKÁ UNIE, 2014. PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 828/2014 o požadavcích na poskytování informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách spotřebitelům. In: . L228. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32014R0828>
29. Fermentis [online], 2022. [cit. 2022-02-23]. Dostupné z: <https://fermentis.com/en/>
30. FRIČ, Přemysl a Radan KEIL, 2011. Celiakie pro praxi. Medicína pro praxi [online]. 8(9), 354–359 [cit. 2022-02-18]. Dostupné z: https://www.medicinapropraxi.cz/artkey/med-201109-0003_Celiakie_pro_praxi.php
31. FUSEK, Michal et al., 2020. Modelling biogenic amines in fish meat in Central Europe using censored distributions. Chemosphere [online]. 251 [cit. 2022-03-15]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126390

32. Graf - Spotřeba alkoholických nápojů na 1 obyvatele v České republice. Český statistický úřad [online]. [cit. 2022-02-18]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/graf-spotreba-alkoholickych-napoju-na-1-obyvatele-v-ceske-republice>
33. HAGER, Anna-Sophie et al., 2014. Gluten free beer – A review [online]. 36(1), 44-54 [cit. 2022-02-19]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2014.01.001
34. HARTMANN, Georg, Peter KOEHLER a Herbert WIESER, 2006. Rapid degradation of gliadin peptides toxic for coeliac disease patients by proteases from germinating cereals. *Journal of Cereal Science* [online]. 44(3), 368-371 [cit. 2022-02-19]. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2006.10.002
35. HLAVÁČEK, František a Alois LHOTSKÝ, 1972. Pivovarství. 2., přeprac. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury. Řada potravinářské literatury.
36. HOFFMANOVÁ, Iva a Danie SÁNCHEZ, 2015. Neceliakální glutenová senzitivita. *Vnitřní lékařství* [online]. 61(3), 219–227 [cit. 2022-02-22].
37. HOFFMANOVÁ, Iva, 2019. Celiakie. Praha: Mladá fronta. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-5414-0.
38. HOLMES, Calum P., John CASEY a David J. COOK, 2017. Mashing with unmalted sorghum using a novel low temperature enzyme system: Impacts of sorghum grain composition and microstructure. *Food Chemistry* [online]. 221, 324-334 [cit. 2022-03-09]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2016.10.083
39. HOLUBOVÁ, Renata, 2014. Základy reologie a reometrie kapalin. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-4178-8.
40. CHLÁDEK, Ladislav, 2007. Pivovarnictví. Praha: Grada. Řemesla, tradice, technika. ISBN 978-80-247-1616-9.
41. IGYOR, M.A, A.C OGBONNA a G.H PALMER, 2001. Effect of malting temperature and mashing methods on sorghum wort composition and beer flavour. *Process Biochemistry* [online]. 36(11), 1039-1044 [cit. 2022-03-17]. ISSN 13595113. Dostupné z: doi:10.1016/S0032-9592(00)00267-3
42. JANATUINEN, E K, 2000. Lack of cellular and humoral immunological responses to oats in adults with coeliac disease. *Gut* [online]. 46(3), 327-331 [cit. 2022-02-18]. ISSN 00175749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.46.3.327

43. KNORR, Verena, Herbert WIESER a Peter KOEHLER, 2016. Production of gluten-free beer by peptidase treatment. *European Food Research and Technology* [online]. 242(7), 1129-1140 [cit. 2022-02-19]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-015-2617-5
44. KONFO, Christian Tétéde Rodrigue et al., 2015. Improvement of african traditional sorghum beers quality and potential applications of plants extracts for their stabilization: A review: A review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* [online]. 05(02), 190-196 [cit.2022-02-19].ISSN13385178. Dostupné z: doi:10.15414/jmbfs.2015.5.2.190-196
45. LORENCOVÁ, Eva et al., 2012. Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from dairy products and beer [online]. 47(10), 2086-2091 [cit. 2022-05-04]. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03074.x
46. LORENCOVÁ, Eva et al., 2020. Biogenic amines occurrence in beers produced in Czech microbreweries. *Food Control* [online]. 117 [cit. 2022-03-14]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2020.107335
47. LYUMUGABE, François et al., 2012. Characteristics of African traditional beers brewed with sorghum malt: A review. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* [online]. 4(16), 509 - 530 [cit. 2022-05-04].
48. MATOULKOVÁ, Dagmar a Petra KUBIZNIAKOVÁ, 2015. Lactic acid bacteria and cultivation methods of their detection - Part I. *Kvasny Prumysl* [online]. 61(3), 76-88 [cit. 2022-05-03]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2015012
49. MAYER, Heidi et al., 2016. Development of an all rice malt beer: A gluten free alternative. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 67, 67-73 [cit. 2022-03-14]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2015.11.037
50. MEO, B. et al., 2011. Behaviour of Malted Cereals and PseudoCereals for Gluten-Free Beer Production. *Journal of the Institute of Brewing*. 117(4), 541-546. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2011.tb00502.x
51. MIKULÍKOVÁ, Renata et al., 2013. Beer and celiac disease. *Kvasny Prumysl* [online]. 59(10-11), 321-323 [cit. 2022-02-18]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2013035

52. MOŠTEK, Josef, 1975. Sladařství: Biochemie a technologie sladu. Praha: SNTL. Řada potravinářské literatury.
53. NAŠE PRAHA [online], 2009. [cit. 2022-04-06]. Dostupné z: <https://www.nasepraha.cz/zamecky-pivovar-uvaril-bezlepkove-pivo/>
54. NIEWINSKI, Mary M., 2008. Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet. Journal of the American Dietetic Association [online]. 108(4), 661-672 [cit. 2022-02-18]. ISSN 00028223. Dostupné z: doi:10.1016/j.jada.2008.01.011
55. NNAMCHI, Chukwudi I., Bartholomew N. OKOLO a Anene N. MONEKE, 2014. Grain and malt quality properties of some improved Nigerian sorghum varieties. Journal of the Institute of Brewing [online]. n/a-n/a [cit. 2022-03-08]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.164
56. ODIBO, F.J.C, L.N NWANKWO a R.C AGU, 2002. Production of malt extract and beer from Nigerian sorghum varieties. Process Biochemistry [online]. 37(8), 851-855 [cit. 2022-03-17]. ISSN 13595113. Dostupné z: doi:10.1016/S0032-9592(01)00286-2
57. OLŠOVSKÁ, Jana et al., 2019. Nutritional composition and energy value of different types of beer and cider. KVASNY PRUMYSL [online]. 65(1), 32-37 [cit. 2022-03-22]. ISSN 2570-8619. Dostupné z: doi:10.18832/kp2019.65.32
58. OWUAMA, C.I., 1997. Sorghum: A cereal with lager beer brewing potential. World Journal of Microbiology and Biotechnology [online]. 13(3), 253-260 [cit. 2022-04-20]. ISSN 09593993. Dostupné z: doi:10.1023/A:1018566503879
59. OWUAMA, Chikezie I., 1999. Brewing Beer with Sorghum. Journal of the Institute of Brewing [online]. 105(1), 23-34 [cit. 2022-03-21]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1999.tb00002.x
60. OWUAMA, Chikezie I., 2020. Review: Brewing Conventional Beer with Sorghum Cultivars. Global Journal of Medical Research [online]. 20(5) [cit. 2022-04-28]. ISSN 2249-4618.
61. PELEMBE, L. A. M., J. DEWAR a J. R. N. TAYLOR, 2002. Effect of Malting Conditions on Pearl Millet Malt Quality. Journal of the Institute of Brewing [online]. 108(1), 7-12 [cit. 2022-02-19]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2002.tb00113.x

62. PERNICA, Marek et al., 2020. Monitoring of gluten in Czech commercial beers. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 38(4), 255-258 [cit. 2022-02-18]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/61/2020-CJFS
63. PHIARAIS, Blaise P. Nic a Elke K. ARENDT, 2008. Malting and brewing with gluten-free cereals. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages* [online]. Elsevier, 347-372 [cit. 2022-02-22]. ISBN 9780123737397. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012373739-7.50017-4
64. Pivovar CLOCK [online], 2022. [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: <https://www.pivovarclock.cz/>
65. Pivovar Ferdinand [online], 2022. [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: <https://www.pivovarferdinand.cz/>
66. Pro alergiky [online], 2014. [cit. 2022-04-06]. Dostupné z: <https://www.proalergiky.cz/vyzkouseli-jsme-za-vas-ceska-bezlepkova-piva#clanky>
67. PRUGAR, Jaroslav, 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV. ISBN 978-80-86576-28-2.
68. Rodinný pivovar Bernard [online], 2022. [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: <https://www.bernard.cz/>
69. RODRÍGUEZ, Yanet Boffill, Irenia Gallardo AGUILAR a João Batista de ALMEIDA ESILVA, 2018. Utilização do malte de sorgo na produção de cerveja: revisão bibliográfica. *Brazilian Journal of Food Technology* [online]. 21 [cit. 2022-03-08]. ISSN 1981-6723. Dostupné z: doi:10.1590/1981-6723.19817
70. ROMERO, Roberto et al., 2003. The influence of the brewing process on the formation of biogenic amines in beers. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 376(2), 162-167 [cit. 2022-05-04]. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-003-1885-2
71. ROSA, Raul Santiago a Suzana Caetano da Silva LANNES, 2022. Impact of the use of unmalted adjuncts on the rheological properties of beer wort. *Food Science and Technology* [online]. 42 [cit. 2022-04-23]. ISSN 1678-457X. Dostupné z: doi:10.1590/fst.101021

72. RUBIO-FLORES, Monica et al., 2020. Use of *Aspergillus oryzae* during sorghum malting to enhance yield and quality of gluten-free lager beers. *Bioresources and Bioprocessing* [online]. 7(1) [cit. 2022-02-22]. ISSN 2197-4365. Dostupné z: doi:10.1186/s40643-020-00330-w
73. RYSOVÁ, Jana, Eva MAŠKOVÁ a Zuzana ŠMÍDOVÁ, 2019. The gluten content in oat products available on the Czech market. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 37(5), 345-350 [cit. 2022-02-18]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/114/2018-CJFS
74. SCHNEIDERKA, Petr, 2004. Kapitoly z klinické biochemie. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0678-X.
75. SPESSOTO, Fernando Ajala et al., 2020. Determination of anthocyanins content and antioxidant activity of beer from Chicha Morada obtained of the purple corn (*Zea mays* L.). *Journal of Bioenergy and Food Science* [online]. 7(4) [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: doi:10.18067/jbfs.v7i4.304
76. STAREC, Milan, 2011. History of brewing in Moravská Ostrava. Part 4: Ostravian breweries after 1945. *Kvasny Prumysl* [online]. 57(6), 149-154 [cit. 2022-02-18]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2011013
77. STRONG, Gordon a Kristen ENGLAND, 2021. BJCP Beer Style Guidelines – 2021 Edition [online]. [cit. 2022-02-18]. Dostupné z: <https://www.bjcp.org/>
78. TANNER, Gregory J. et al., 2016. Creation of the first ultra-low gluten barley (*Hordeum vulgare* L.) for coeliac and gluten-intolerant populations. *Plant Biotechnology Journal* [online]. 14(4), 1139-1150 [cit. 2022-02-19]. ISSN 1467-7644. Dostupné z: doi:10.1111/pbi.12482
79. TRÁVNÍČEK, Petr, Josef LOS a Petr JUNGA, 2015. Comparison of Rheological Properties of Hopped Wort and Malt Wort. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* [online]. 63(1), 131-136 [cit. 2022-04-22]. ISSN 12118516. Dostupné z: doi:10.11118/actaun201563010131
80. VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ, 2009. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-15-2.

81. WATSON, H.G. et al., 2018. Variation in gluten protein and peptide concentrations in Belgian barley malt beers. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 124(2), 148-157 [cit. 2022-02-18]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.487
82. WHITE LABS, 2020. CLARITY-FERM. White Labs [online]. [cit. 2022-02-19]. Dostupné z: whitelabs.com/public/uploads/ckeditor/602704ba53e851613169850.pdf
83. WRIGLEY, Colin, Harold CORKE a Charles WALKER, 2004. *Encyclopedia of grain science*. Elsevier Academic Press. ISBN 9780127654911.
84. ZAVORAL, Miroslav, Přemysl FRIC a T DVOŘÁKOVÁ, 2013. Choroby způsobené lepem. *Vnitřní lékařství* [online]. 59(5), 376–382 [cit. 2022-02-20].
85. Žatecký Pivovar [online], 2022. [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: <http://www.zateckypivovar.cz/>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CFU	Colony Forming Units; kolonie tvořící jednotku
DEK 1	Dekokční šarže bez zcukřovacích enzymů
DEK 2	Dekokční šarže se zcukřovacími enzymy
EBC	European Brewery Convention (evropské jednotky barvy)
EBU	European Bitterness Units (evropské jednotky hořkosti)
EPM	Extrakt původní mladiny
HIS	Histamin
IBU	International Bitterness Units (mezinárodní jednotky hořkosti)
INF 1	Infuzní šarže bez zcukřovacích enzymů
INF 2	Infuzní šarže se zcukřovacími enzymy
KAD	Kadavarin
PEA	Fenylethylamin
PUT	Putrescin
SPM	Spermin
TDS	Celkový počet rozpuštěných látek v roztoku
TPY	Tryptamin
tTG	Enzym tkáňová transglutamináza
TYM	Tyramin
U/ml	Jednotky enzymové aktivity v ml přípravku

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Pivo Celia světlý ležák (Foto: Autor)	33
Obrázek 2: Bernard světlý ležák (Foto: Autor)	34
Obrázek 3: Světlý ležák Ferdinand (Foto: Autor)	35
Obrázek 4: Čirokové pivo (A–DEK1, B–INF 1, C–DEK 2, D–INF 2).....	54
Obrázek 5: Obsah biogenních aminů.....	59
Obrázek 6: Barva piva dle metody EBC.....	60
Obrázek 7: Hořkost piva	62
Obrázek 8: Distribuce velikosti částic	63
Obrázek 9: Vývoj smykového napětí vzorků čirokového piva	65

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Složení proteinu (% w/w) ve vybraných obilovinách (Velíšek a Hajšlová, 2009).....	14
Tabulka 2: Sladovací schéma čiroku (Meo et al., 2011).....	27
Tabulka 3: Máčecí schéma.....	41
Tabulka 4: Rmutovací schéma INF 1 a INF 2.....	42
Tabulka 5: Rmutovací schéma DEK 1 a DEK 2.....	42
Tabulka 6: Schéma chmelovaru.....	43
Tabulka 7: Obsah vody v procesu výroby sladu.....	50
Tabulka 8: Měřené parametry mladiny.....	50
Tabulka 9: Měřené parametry mladého piva.....	53
Tabulka 10: Měřené parametry hotového piva.....	54
Tabulka 11: Přepočítané parametry hotového piva.....	56
Tabulka 12: Stanovené počty mikroorganismů (CFU/ml).....	57
Tabulka 13: Parametry barevného prostoru CIELab.....	61
Tabulka 14: Výsledné hodnoty reologické analýzy piva.....	64
Tabulka 15: Výsledky senzorické analýzy.....	65

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Fotodokumentace výroby sladu

Příloha II: Fotodokumentace výroby piva

Příloha III: Degustační list

PŘÍLOHA I: FOTODOKUMENTACE VÝROBY SLADU





PŘÍLOHA II: FOTODOKUMENTACE VÝROBY PIVA





PŘÍLOHA III: DEGUSTAČNÍ LIST

DEGUSTAČNÍ LIST

Pohlaví	
Věk	
Datum	
Čas	

Číslo vzorku	
Pachuť	1- pouze rozpoznatelná 3- střední 5- velmi silná
Úroveň sycení CO ₂	1- pouze rozpoznatelná 3- střední 5- velmi silná
Plnost	1- pouze rozpoznatelná 3- střední 5- velmi silná
Hořkost	1- pouze rozpoznatelná 3- střední 5- velmi silná
Celkové hodnocení	1- mimořádně dobrý 2- velmi dobrý 3- dobrý 4- lepší než střední 5- střední 6- horší než střední 7- špatný 8- velmi špatný 9- mimořádně špatný
Poznámky:	