



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**BIOFLAVOURING PIV POMOCÍ NOVÝCH ČESKÝCH  
ODRŮD CHMELE**

BIOFLAVOURING OF BEER USING NEW CZECH HOP VARIETIES

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

Bc. Petr Ondruch

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

**BRNO 2022**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1714/2021 Akademický rok: 2021/22  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Bc. Petr Ondruch**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Bioflavouring piv pomocí nových českých odrůd chmele

### Zadání diplomové práce:

Cílem této diplomové práce je vyhodnotit dopad chmelení piva plzeňského typu pomocí nových, doposud neregistrovaných odrůd chmele na aromatický a chuťový charakter.

V rámci diplomové práce budou řešeny tyto dílčí úlohy:

1. Výroba modelového piva plzeňského typu.
2. Selektce a základní charakterizace chmelového materiálu.
3. Aplikace nových odrůd českých chmelů do finální fáze chmelovaru.
4. Aplikace nových odrůd českých chmelů do fáze ležení (studené chmelení).
5. Analýza vzorků z hlediska obsahu hořkých látek, fenolických látek a vybraných aromatických silic.
6. Senzorická analýza vyrobených vzorků piva.
7. Zpracování experimentálních dat.
8. Definování závěrů práce.

### Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

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

---

Bc. Petr Ondruch  
student

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.  
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

---

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce je zaměřena na bioflavouring pív prostřednictvím studeného chmelení novými odrůdami chmele. Studené chmelení je jev, který přispívá k atraktivitě a rozmanitosti piva a v současné době nabírá na popularitě. Cílem práce bylo zaznamenat vliv studeného chmelení na sensorické a analytické parametry pív studeně chmelených českými odrůdami chmele. U těchto pív proběhla sensorická analýza a byly stanoveny základní charakteristiky a chemické složení piva (fenolické látky, flavonoidy a vybrané organické kyseliny a prvky). Z chemického hlediska bylo zjištěno, že studeně chmelená piva ve srovnání s referenčním pivem vykazovala vyšší hořkost, vyšší koncentraci flavonoidů a antioxidační aktivitu. Byl zaznamenán nárůst koncentrací draslíku, manganu, mědi, vápníku a kyseliny jablečné. Hodnota pH studeným chmelením ovlivněna nebyla. Výsledky sensorické analýzy ukázaly, že studené chmelení mělo pozitivní vliv na celkový dojem z piva, který byl dán zejména vyšším chmelovým aroma a intenzivnější hořkostí. Z výsledků lze usoudit, že studené chmelení novými českými odrůdami chmele má na výslednou kvalitu piva pozitivní vliv a tyto odrůdy jsou vhodné pro další využití v pivovarnictví.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Pivo, chmel, bioflavouring, studené chmelení, hořkost, aroma, sensorická analýza, chemická analýza, blues, jazz, kazbek, mimosa

## **ABSTRACT**

This diploma thesis focuses on bioflavouring of beer using new czech hop varieties. Dry hopping is a phenomem, that contributes to the attractiveness and diversity of beer and is nowadays gaining in popularity. The aim of this work was to determine the effect of dry hopping on sensory profile and analytical parametrs of dry-hopped beers using czech hop varieties. Sensory evaluation and chemical analysis of these beers were taken. The chemical analysis included determination of the basic beer characteristics, total phenolic a flavonoid content, antioxidant activity and the concentration of selected organic acids and chemical elements. It was found out that dry-hopped beers compared to the reference beer presented higher bitterness, antioxidant activity and contained higher amount of flavonoids. Also an increase in pottasium, manganese, copper, calcium and malic acid levels was reported. The pH of beer samples was not affected by dry hopping. Sensory evaluation showed that dry hopping had a positive influence on the overall enjoyment of the beer, which was mainly determined by the higher aroma and more intense bitterness. By summaring all the data, it is obvious that dry hopping of beer using new czech hop varieties has a positive effect on the quality of the final beer and these hop varities are suitable for further use in the beer industry.

## **KEY WORD**

Beer, hop, bioflavouring, dry-hopping, bitterness, aroma, sensory analysis, chemical analysis, blues, jazz, kazbek, mimosa

ONDRUCH, Petr. *Bioflavouring piv pomocí nových českých odrůd chmele*. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139175>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Jaromír Pořízka.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu své práce Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. a Ing. Lence Punčochářové za odborné vedení, konzultace výsledků a jejich ochotu a trpělivost. Mé díky patří také Josefu Salátovi.

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
2.1	TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA.....	10
2.1.1	Šrotování .....	10
2.1.2	Vystírání .....	10
2.1.3	Rmutování .....	10
2.1.4	Scezování a vyslazování.....	11
2.1.5	Chmelovar .....	12
2.1.6	Hlavní kvašení.....	12
2.1.7	Dokvašování.....	14
2.2	SUROVINY PRO VÝROBU PIVA.....	14
2.2.1	Voda .....	14
2.2.2	Slad.....	15
2.2.3	Kvasinky.....	16
2.2.4	Chmel .....	16
2.2.5	Vybrané české odrůdy chmele .....	20
2.2.6	Nově vyšlechtěné české odrůdy chmele.....	23
2.3	BIOFLAVOURING PIV .....	27
2.4	SENZORICKÁ ANALÝZA .....	29
2.4.1	Vzhled .....	29
2.4.2	Pocit v ústech .....	30
2.4.3	Chuť a vůně .....	30
2.5	ANALYTICKÉ METODY .....	32
2.5.1	Chromatografie.....	32
2.5.2	Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem .....	33
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>35</b>
3.1	MATERIÁL.....	35
3.1.1	Chemikálie a roztoky .....	35
3.1.2	Přístroje a pomůcky.....	37
3.2	PRACOVNÍ POSTUPY .....	38
3.2.1	Technologie výroby piva.....	38

3.2.2	Analytické metody .....	39
3.2.3	Senzorická analýza .....	43
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>44</b>
4.1	VLIV STUDENÉHO CHMELENÍ NA ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKY PIVA .....	44
4.1.1	Barva .....	44
4.1.2	Hořkost .....	45
4.2	VLIV STUDENÉHO CHMELENÍ NA CHEMICKÉ SLOŽENÍ PIVA .....	47
4.2.1	Vliv studeného chmelení na fenolické látky, flavonoidy a antioxidační aktivita piva.....	47
4.2.2	Vliv studeného chmelení na koncentraci vybraných organických kyselin ....	48
4.2.3	Vliv studeného chmelení na prvkové složení piva.....	50
4.3	VLIV STUDENÉHO CHMELENÍ NA ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI PIVA .....	52
4.4	VLIV STUDENÉHO CHMELENÍ NA ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI PIVA Z POHLEDU VÍCEROZMĚRNÉ STATISTICKÉ ANALÝZY .....	55
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>57</b>
<b>6</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</b>	<b>58</b>
<b>7</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ .....</b>	<b>65</b>
<b>8</b>	<b>PŘÍLOHY .....</b>	<b>66</b>
8.1	DOTAZNÍK K SENZORICKÉ ANALÝZE PIVA .....	66





# 1 ÚVOD

Pivo a pivovarství neodmyslitelně patří k české kultuře a historii. Tradičně se již po staletí u nás vaří spodně kvašené ležáky plzeňského typu, které se řadí svou kvalitou mezi celosvětovou špičku. V posledních letech ovšem nastal boom minipivovarů hledajících své místo na trhu cestou nových pivních stylů s pestrou škálou chutí a vůní. Jednou z variant, jak dosáhnout sensoricky atraktivního piva, je studené chmelení neboli dry hopping.

Chmel se při přípravě piva tradičně používá během chmelovaru. Principem studeného chmelení je aplikace chmele až při fermentaci nebo dozrávání piva. Tím je kompenzována ztráta aromatických látek, které během chmelovaru z piva vytékají. Studené chmelení má pozitivní efekt na chuťový a aromatický profil piva a dává vyniknout konkrétním vlastnostem použitého chmele.

Studené chmelení tedy dává příležitost vyniknout aromatickým odrudám chmele. Ty disponují vysokým obsahem aromatických látek, které díky nízkým teplotám během chmelení za studena nedegradují a zůstávají v pivu.

Pěstování chmele má v naší zemi dlouholetou historii a v Chmelařském Institutu v Žatci se v posledních dekádách vyšlechtilo mnoho aromatických odrud s potenciálem využití v pivovarství. Jednou z nich je již dnes rozšířená odruda Kazbek nebo nedávno registrované a málo prostudované odrůdy Blues, Jazz a Mimosa.

Tyto vybrané odrůdy a jejich potenciál při studeném chmelení byly předmětem předkládané diplomové práce. Hlavním cílem bylo připravit pivo, provést studené chmelení tohoto piva vybranými odrudami chmele během dokvašování a zaznamenat vliv studeného chmelení na sensorické a analytické parametry připravených piv v porovnání s nechmelenou referencí.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Technologie výroby piva

Výroba piva se skládá ze tří základních částí – přípravy mladiny, hlavního kvašení a dokvašování – a následně závěrečných úprav piva. Jednotlivé technologické postupy výroby piva budou podrobněji popsány v následujících podkapitolách.

#### 2.1.1 Šrotování

První fáze výroby mladiny začíná šrotováním sladu. Šrotování je mechanický proces, jehož cílem je narušení obilky za zachování co největší celistvosti pluch. Oddělení a zpřístupnění endospermu ze sladového zrna je nezbytné pro následné fyzikálně-chemické a enzymatické procesy při rmutování a získání základního podílu extraktu mladiny. Našrotovaný slad by neměl obsahovat celá zrna [1]. Dostatečné rozemletí endospermu je důležité pro vysoký varní výtěžek při rmutování, ale při větším poškození pluch se snižuje porozita mláta, která negativně ovlivňuje chuť piva a zpomaluje scezování a vyslazování [2].

#### 2.1.2 Vystírání

Při vystírání dochází ke smíchání rozemletého sladu a hlavního nálevu varní vody. Varní voda má obvykle teplotu 35 až 38 °C. Cílem vystírání je dokonalé smísení šrotu s vodou a převedení co největšího množství látek rozpustných ve vodě (především cukry, neškrobové polysacharidy o nízké molekulární hmotnosti, dusíkaté látky a sladové enzymy) do sladiny. Extrakce těchto látek závisí na sypaní a objemu vody hlavního nálevu. U světlých piv se volí spíše řidší rmut (větší objem nálevu), kdy je urychlena činnost amylolytických enzymů a zcukření sladiny a mladina má vyšší stupeň možného prokvašení. U tmavých piv se aplikuje menší objem nálevu, a tudíž hustší rmut. Aktivita proteolytických enzymů je delší, dochází ke karamelizaci cukrů a zvýšení barvy [1].

#### 2.1.3 Rmutování

Po vystírání dochází k tzv. rmutování. Jedná se o proces, při kterém probíhají mechanické, chemické, fyzikální, a hlavně enzymatické reakce za účelem převodu optimálního podílu extraktu sladu do roztoku [1].

Část extraktu je rozpustná ve vodě pouhým mícháním a zvyšováním teploty. Dále je stěžejní činnost sladových enzymů, které realizují přenos zbylého extraktu. Složení konečného extraktu je určeno výběrem teplot a délkou zdržení se na dané teplotě (teplotním programem) [1].

Nejvýznamnější je aktivita amylolytických enzymů, zejména  $\alpha$ -amylasy a  $\beta$ -amylasy, které štěpí nezkvasitelné cukry (škrob) na zkvasitelné (glukosa, maltosa, maltotriosa) [1].

Škrob je štěpen ve třech stupních. Nejdříve probíhá bobtnání a zmazovatění škrobu, což je děj fyzikálně-chemický. To je závislé zejména na rychlosti a teplotě ohřívání. Teplota se pohybuje okolo 50–57 °C v závislosti na druhu ječmene a oblasti jeho pěstování. Další fáze – ztekucení – je již katalyzována enzymaticky. Zde působením amylolytických enzymů dochází k postupnému zkracování molekul škrobu (amylosy a amylopektinu) až do zcukření. V této fázi by již v roztoku měly být přítomny pouze štěpné produkty škrobu (možno

ověřit jodovou zkouškou). Mezi další významné enzymy se řadí enzymy proteolytické (způsobují nárůst celkového množství rozpuštěného dusíku v pivu), kyselinotvorné a oxidačně-redukční, které mají vliv na výsledný charakter a chuť piva [1].

Pro správné působení enzymů v průběhu rmutování je důležité dodržovat technologické teploty, které určují (in)aktivace těchto enzymů. Tyto teploty jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1 Technologické teploty rmutování a jejich efekt [1]

Kyselinotvorná teplota 35–38 °C	podpora rozpouštění sladových látek a zpřístupnění působení sladových enzymů
Peptonizační teplota 45–50 °C	podpora proteolýzy, štěpení fosforečnanů a neškrobových polysacharidů v obalech škrobových zrn
Nižší cukrotvorná teplota 60–65 °C	optimální teplota pro aktivaci amylolytických enzymů $\beta$ -amyláz
Vyšší cukrotvorná teplota 70–75 °C	optimální teplota pro aktivaci amylolytických enzymů $\alpha$ -amyláz
Odrmutování teplota 76–78 °C	celková inaktivace enzymů ve sladince

Rozlišují se dva základní způsoby rmutování, a to rmutování infuzní a dekokční. Infuzní způsob je technologicky jednodušší, nedochází během něj k povaření rmutu, celý objem várky se postupně zahřívá. Je používán zejména při výrobě svrchně kvašených piv a u dobře rozluštěných sladů. Naopak dekokční způsob rmutování je technologicky složitější. Během dekokce dochází k povaření části rmutu a jeho navrácení k hlavnímu objemu vstříčky. Postupy se dělí na jedno-, dvou-, a třírmutové podle počtu opakování dekokce. Nejčastější jsou postupy dvourmutové. Pivo uvařené dekokčním způsobem vykazuje větší plnost a vyšší barvu. Používá se při výrobě tradičního ležáku pšenešského typu a při přípravě tmavých piv [1, 2].

#### 2.1.4 Scezování a vyslazování

Příprava mladiny pokračuje scezováním, v zásadě se jedná o filtraci, při které dojde k oddělení sladiny (roztok s extrahovanými látkami ze sladu) a mláta (pevný podíl sladového šrotu tvořený z endospermu a pluch). Scezování probíhá ve dvou krocích, nejdříve je získán tzv. předek. Poté dochází k vyslazování, kdy se mláto prolévá horkou vodou a získávají se výstřelky, které po sloučení s předkem tvoří celkový objem získané sladiny. Výsledná sladina by měla být čirá a obsahovat maximum extraktu ze vstředních surovin [1].

Scezování je časově náročný proces a je ovlivněn především kvalitou použitého sladu, správným našrotováním sladu, způsobem rmutování a teplotními podmínkami scezování. Vyslazovací teplota by se měla pohybovat v rozmezí 70–80 °C. Vyšší teplota by podpořila vyluhování taninů z pluch, což je nežádoucí. Naopak se snižující se teplotou díla dochází ke

zvyšování viskozity roztoku a scezování je poté problematičtější [1, 2]. Pro scezování se nejčastěji používá scezovací souprava složená ze scezovací kádě s falešným (dvojitým) dnem [2].

### 2.1.5 Chmelovar

Při chmelovaru dochází k povaření sladiny s přidaným chmelem. Cílem chmelovaru je primárně izomerace hořkých látek v chmelu a odpaření nadbytečné vody k dosažení požadované koncentrace výsledné mladiny. Další význam chmelovaru spočívá v mikrobiální sterilaci mladiny, inaktivaci zbylých enzymů, vysrážení bílkovin, snížení pH mladiny, nárůst barvy nebo odpaření nežádoucích těkavých látek [2].

Hořké chmelové látky, které chmel obsahuje, dodávají pivu specifickou hořkost a charakter. Mezi nejvýznamnější z nich se řadí  $\alpha$ - a  $\beta$ -hořké kyseliny, které se v mladině částečně rozpouštějí. Jejich rozpouštění je ovlivněno hodnotou pH, kdy s klesajícím pH rozpustnost těchto látek stoupá [1].

Hořkost pivu dodávají primárně  $\alpha$ -hořké kyseliny, které mají v mladině lepší rozpustnost než  $\beta$ -hořké kyseliny. Po rozpouštění izomerizují na iso- $\alpha$ -hořké kyseliny, které jsou již rozpustné i ve studené mladině. Míra izomerace roste s teplotou a dobou chmelovaru [1]. Mezi  $\alpha$ -hořké kyseliny se řadí humulon, kohumulon a adhumulon, ze kterých má největší zastoupení kohumulon, a tedy i největší vliv na výslednou hořkost piva [1]. Celková výtěžnost hořkých látek, které se dostanou do výsledného piva, je maximálně 35 %. Zbývající podíl hořkých látek zůstane v chmelovém mlátě, v kalech po chmelovaru a část je zachycena kvasinkami a v kvasné dece při kvašení [2].

Obecně se chmelí v několika dávkách (obvykle dvou či třech). Na začátku chmelovaru se chmelí „na hořkost“ s využitím chmelů s vysokým obsahem hořkých látek, druhá dávka se může přidat asi v polovině chmelovaru na podpoření charakteru chmele. Poslední dávka chmele se přidává na vyniknutí aromatu. Konkrétní časy přídávků se liší podle použitého receptu [2].

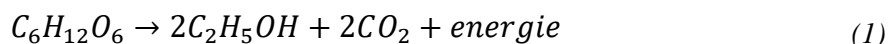
Původci aroma piva jsou zejména chmelové silice, z nichž nejvýznamnější jsou myrcen a linalool. Tyto látky se uvolňují do mladiny, kde mohou být oxidovány. Vzhledem k těkavosti těchto látek se chmelí na aroma co nejpozději během chmelovaru nebo může být použito chmelení za studena, tzv. dry hopping, během primární či sekundární fermentace [2]. Po ukončení chmelovaru je nutné mladinu zchladit na zákvasnou teplotu, zbavit zbytků chmele a kalů a provzdušnit [1].

### 2.1.6 Hlavní kvašení

Po zchlazení a provzdušnění mladiny dochází k zakvašení pomocí kvasničného zákvasu. Cílem hlavního kvašení je přeměna mladiny s cukerným extraktem na zelené pivo za produkce ethanolu, oxidu uhličitého a řady vedlejších produktů [1, 2].

Během anaerobní fermentace probíhá transport sacharidů do buněk kvasinek, kde jsou štěpeny na fruktosu-6-fosfát, který vstupuje do metabolické dráhy zvaná glykolýza za účelem získání energie v podobě ATP. Jedním z meziproductů při glykolýze je pyruvát, který může být

v anaerobním prostředí pomocí pivovarských kvasinek přeměněn přes acetaldehyd na ethanol dle Gay-Lussacovy rovnice [2]:



Kvašení může probíhat svrchně či spodně v závislosti na výběru kmene kvasinek, od kterého se také odvíjí provozní teplota a délka kvašení. Spodní kvašení probíhá obvykle při teplotě 7–15 °C, délka kvašení bývá obvykle 7–12 dnů. Svrchní kvašení je bouřlivější, zpravidla trvá 3–8 dny a teplota je zde v rozmezí 14–25 °C [2].

Hlavní kvašení je podle vzhledu hladiny kvasící mladiny a kvasné deky děleno technologicky na několik stádií:

**1. Zaprašování**, během kterého dochází k tvorbě pěny na hladině vznikajícím oxidem uhličitým. Zaprašování lze obvykle pozorovat po 12 až 24 hodinách od zakvašení mladiny. Kvasinky se nachází ve fázi lag-fáze a přizpůsobují se novému prostředí. Začíná klesat pH a obsah extraktu a mírně stoupá teplota [1].

**2. Nízké až vysoké bílé kroužky** se vyznačují hustou bílou pěnou na hladině, tato fáze začíná přibližně mezi 24. až 40. hodinou kvašení. Kvasinky jsou v exponenciální fázi růstu, během této fáze dochází k nejvyšší produkci oxidu uhličitého, klesá pH z 5,2–5,6 na 4,7–4,9, za den se obsah extraktu sníží o 0,8–1,2 % teplota stoupá v průměru o 0,5–0,8 °C [1].

**3. Vysoké hnědé kroužky** vznikají během třetího až pátého dne kvašení. Kvasinky se nachází ve stacionární fázi a vynáší na hladinu kaly, které zabarvují pěnu do hněda. Hodnota pH dále klesá až na 4,4, stejně tak obsah extraktu (1,0–1,8 % za den) a teplota dosahuje maxima [1].

**4. Propadání deky** je poslední fází hlavního kvašení, při které se kroužky propadají a tmavá pěna na hladině (tzv. deka) dosahuje výšky 2–3 cm. Dochází k aglutinaci a sedimentaci kvasnic. Hodnota pH se nemění a obsah extraktu klesá velmi pomalu. Dochází ke sbírání deky, která by jinak nepříznivě ovlivnila hořkost mladého i hotového piva [1].



Obrázek 1 Bouřlivá fáze vysokých bílých kroužků

### 2.1.7 Dokvašování

Během dokvašování piva ustávají kvasné procesy za nízké teploty (0–5 °C), cílem je pomalé zkvašení sacharidů, fixace CO<sub>2</sub>, vyčeření piva, zpracování sekundárních metabolitů a zrání piva. Pivo postupně získává přirozenou koloidní stabilitu. Během pozdější fáze zrání dochází k odstranění nepříjemné hořkosti a kvasničné chuti, pivo získává buket a zralost. Dokvašování u piv ležáckého typu probíhá až 70 dní [1].

## 2.2 Suroviny pro výrobu piva

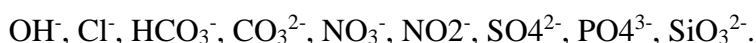
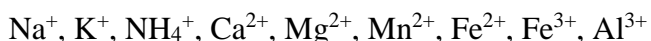
Mezi základní suroviny v pivovarnictví patří voda, slad, chmel a pivovarské kvasnice rodu *Saccharomyces*. Popisu těchto základních surovin jsou věnovány následující podkapitoly.

### 2.2.1 Voda

Voda tvoří přibližně 94 % piva. Má významný vliv na jeho výslednou kvalitu a chuť. Spotřeba vody na výrobu 1 litru piva činí až 12 litrů, varní voda tvoří asi čtvrtinu, zbytek tvoří voda spotřebovaná na mytí a sterilaci a provozní voda použitá např. na chlazení [2]. Varní voda musí splňovat podmínky pitné vody. Mnohé pivovary si upravují složení varní vody a koncentraci jednotlivých iontů podle svých potřeb [1].

Pivovary mohou získávat vodu ze spodní nebo povrchové vody. Spodní vody se čerpají ze studní, vrtů či pramenů a povrchové vody pocházejí z řek, jezer či přehrad. Při vzájemném porovnání obsahují spodní vody obvykle méně organických látek a mikroorganismů a obsahují více iontových příměsí. U povrchových vod je také horší čistota a zvýšená náchylnost k sezónním změnám [1, 2].

Ve vodě z běžných zdrojů najdeme tyto základní kationty a anionty:



Z hlediska tvrdosti vody mají z kovů alkalických zemin největší význam vápenaté a hořečnaté kationty. Jejich součet vyjadřuje hodnotu tvrdosti vody. Tvrdost vody je rozlišována na přechodnou (uhličitanovou) a stálou (neuhličitanovou). Rozdíl mezi nimi je ve stálosti při varu. Uhličitanová tvrdost vody je tvořena hydrogenuhličitanu vápníku a hořčíku. Během varu přecházejí za odštěpení oxidu uhličitého na částečně rozpustné uhličitanu a ovlivňují tím vápenato-uhličitanovou rovnováhu. Stálá tvrdost vody je tvořena vápenatými a hořečnatými sírany, které jsou během varu stálé a nerozpouští se [1].

Není možné definovat „správnou“ tvrdost vody. Na základě iontového složení a poměru některých iontů se v pivovarství rozlišuje několik druhů varních vod, jež jsou vhodné pro jiný pivní styl [1, 2].

Plzeňská voda je z hlediska tvrdosti vody měkká s nízkým obsahem anorganických složek, je vhodná pro silně chmelená spodně kvašená piva. Mnichovská voda je středně tvrdá s vyšším obsahem uhličitanů a vápníku. Dortmundská voda je velmi tvrdá, převažuje u ní přechodná tvrdost, zatímco u vody Vídeňské převládá tvrdost stálá, je vhodná pro polotmavá piva. Dalším druhem je voda Burton on Trent, která je protipólem plzeňské vody, jedná se o velmi tvrdou

vodu s vysokým obsahem síranů (stálá tvrdost) a používá se na výrobu světlých svrchně kvašených piv typu ale [1].

Během rmutování a chmelovaru přechází do mladiny velké množství látek ze surovin a dochází k interakcím s ionty vody. Kationty vápníku snižují pH sladiny a mladiny, reagují s kyselinou šťavelovou za vzniku šťavelanu vápenatého, který způsobuje přepěňování. Hořčík a mangan působí jako kofaktory proteolytických enzymů [1, 2].

Problémem může být příliš železitá voda. Železnaté a železité ionty ve vyšší koncentraci negativně ovlivňují zcukření a způsobují menší plnost piva nebo nižší hořkost. Sodík a draslík ve vyšších koncentracích zapříčiňuje slanou chuť piva. Z aniontů jsou důležité hydrogenuhličitaný sodný a draselný, které zvyšují pH mladiny. Dalšími důležitými anionty jsou sírany a chloridy. Při vysokých koncentracích způsobují trpkou chuť. Sírany podporují chmelový charakter a zvyšují hořkost piva, naopak chloridy dávají vyniknout sladovému charakteru a plnosti piva, tudíž jejich vzájemným poměrem je možné upravovat chuť piva. Dále jsou mnohé mikroelementy esenciální pro život kvasinek [1].

### 2.2.2 Slad

Slad je naklíčené a usušené obilné zrnó. Vyrábí se sladováním nejčastěji z ječmene (může být i z pšenice a jiných obilovin), a to ječmene dvouřadého. Ječná obilka se skládá ze tří částí: obalu (pluchy, plušky, oplodí a osemení), zárodku (klíčku) a endospermu [2].

Z chemického složení zaujímají nejpodstatnější část sacharidy. Škrob tvoří více než 65 % hmotnosti zrna, dalších asi 10 % jsou polysacharidy buněčné stěny (celulosa, lignin,  $\beta$ -glukany) [1].

Škrob je složený z amylosy (22–26 %) a amylopektinu (74–78 %). Amylosa je složena z dlouhých řetězců glukosových jednotek spojených  $\alpha$ -1,4 glykosidovými vazbami. Amylopektin tvoří molekuly glukosy s glykosidovými vazbami  $\alpha$ -1,4 a  $\alpha$ -1,6. Vazba  $\alpha$ -1,6 umožňuje rozvětvenou strukturu amylopektinu [1].

Dále se v zrnó nachází lipidy (2–3 %), z nichž nejvýznamnější jsou mastné kyseliny. Největší podíl z nich tvoří kyselina linolová. Lipidy mají pozitivní vliv na metabolismus kvasinek [2].

Z dusíkatých látek mají významné zastoupení bílkoviny – albuminy, globuliny, prolaminy a gluteliny. Optimální zastoupení pro sladovnický ječmen se pohybuje v rozmezí 10–11,5 % [2].

Další významnou složkou sladu jsou enzymy, především amylolytické, tzv. amylasy.

$\alpha$ -Amylasa je endoenzym štěpící amylosu a amylopektin uvnitř řetězce a hydrolyzuje náhodně vazby  $\alpha$ -1,4. Produktem jsou dextriny, které se při delším působení enzymu štěpí na maltotriosu, maltosu a glukosu.  $\beta$ -Amylasa, exoenzym, působí na neredukující konec polysacharidového řetězce a odštěpuje vždy po jedné molekule maltosy [2].

### 2.2.3 Kvasinky

Pivovarské kvasinky jsou jednobuněčné organismy rodu *Saccharomyces* spadající do říše hub. Z pivovarského hlediska tkví podstata kvasinek v přeměně zkvasitelných cukrů na ethanol a oxid uhličitý. Metabolismus kvasinek produkuje také řadu vedlejších produktů a je ovlivněn složením mladiny a podmínkami kvašení. Mimo zkvasitelné cukry je pro výživu kvasinek důležitá řada dalších látek jako aminokyseliny, proteiny, lipidy, vitaminy nebo některé ionty [2].

Pivovarské kvasinky se dělí na spodní (*Saccharomyces uvarum*) a svrchní (*Saccharomyces cerevisiae*). Spodní kvasinky mají optimální teplotní rozmezí při 7–15 °C, při kvašení postupně sedimentují na dně kvasné nádoby, délka kvašení se vlivem nižší teploty prodlužuje a vzniká více siřičitanů. Svrchní kvasinky naopak preferují vyšší teplotu v rozmezí 15–25 °C, doba kvašení se pohybuje okolo 3–8 dnů, kvasinky jsou více vynášeny do deky a dochází k významnější tvorbě aromatických látek. Spodní kvasinky jsou využívány pro výrobu ležáku, svrchní kvasinky se používají na výrobu pivních stylů typu ale, pšeničných piv, stout apod. [1, 2].

### 2.2.4 Chmel

Chmel poskytuje pivu pro něj tak typickou hořkou chuť a charakteristické aroma. Botanicky se chmel řadí do čeledi konopovitých. Pro pivovarnictví je zajímavý zejména chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) a jeho poddruh chmel evropský, ostatní druhy se mohou používat pro případné křížení a šlechtění nových odrůd chmele [1].



Obrázek 2 Chmelnice [18]

Chmelová rostlina je tvořena kořenovou soustavou, révou s pazochy, listy a květenstvím, ze kterého se poté vyvine chmelová hlávka. Chmel je dvoudomá rostlina, k pivovarským účelům



se pěstují pouze rostliny samičí, samčí rostliny jsou využívány pouze při šlechtění odrůd. Chmelové hlávky jsou tvořeny ze stopky, věténka, pravých a krycích listů [1].

Chmelové odrůdy se rozlišují na varianty červeňák a zeleňák podle zabarvení révy. Česká republika, Německo či Polsko jsou země typické pro pěstování odrůd červeňáků, v Anglii a USA se pěstují převážně zeleňáky [1].

Důležitým rozdělovacím znakem chmelových odrůd je obsah chmelových pryskyřic a silic. Podle toho se chmely dělí na:

- **jemné aromatické** jsou odrůdy s nižším obsahem pryskyřic ( $\alpha$ -hořké kyseliny představují 3–4 % hmotnosti s podílem kohumulonu 25–30 %), řadí se mezi ně např. Žatecký poloraný červeňák.
- **aromatické odrůdy** obsahují 3,5–6,5 %  $\alpha$ -hořkých kyselin, podíl kohumulonu tvoří 20–40 %, řadí se mezi ně např. česká odrůda Sládek nebo bavorský Hallertauer.
- **hořké odrůdy** s obsahem  $\alpha$ -hořkých kyselin až 8 % a podílem kohumulonu 30 % se často označují jako semiaromatické, jelikož mají relativně vysoký obsah hořkých látek a příznivé aroma, např. odrůda Premiant.
- **vysokoobsažné odrůdy**, mezi které patří převážně vyšlechtěné odrůdy s vysokým podílem  $\alpha$ -hořkých kyselin, ale nižším aroma jako jsou např. odrůda Magnum či Target [2].

Jako další kategorii můžeme zařadit chmely označované termínem „super alfa“. Jedná se o vyšlechtěné chmely s obsahem  $\alpha$ -hořkých kyselin více než 15 %, např. odrůda Hercules [1].

#### 2.2.4.1 Chemické složení chmele

Chemické složení chmele se odvíjí od odrůdy, ročníku, místa pěstování nebo posklizňových úprav. Hlavní technologicky významné složky chmele jsou polyfenoly, silice a chmelové pryskyřice [1]. V tabulce 2 je uvedeno průměrné chemické složení zralých chmelových látek.

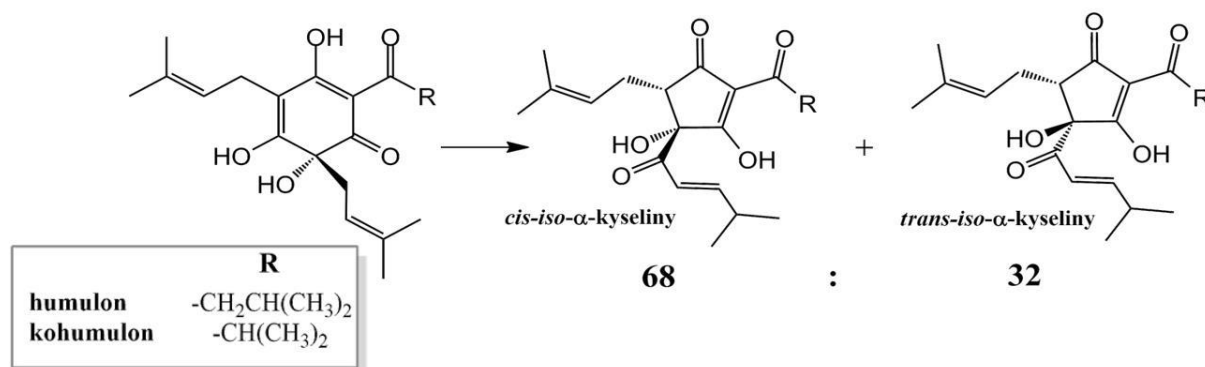
Tabulka 2 Chemické složení chmele [1, 4]

Složka	Obsah složky [% hm.]
Voda	8–12
Celkové pryskyřice	15–25
$\alpha$ -hořké kyseliny	2–17
$\beta$ -hořké kyseliny	2–10
Silice	0,5–3
Fenolické látky	3–6
Aminokyseliny	0,1
Celulosa a lignin	40–50
Monosacharidy	2
Pektiny	2
Proteiny	15
Popel	10
Lipidy a vosky	1–5

**Chmelové pryskyřice** mohou tvořit až 30 % celkové hmotnosti chmele a chmelových výrobků. Jsou odpovědné za intenzitu a charakter hořkosti piva. Jakožto deriváty floroglucinolu jsou nepolární a citlivé na oxidační změny. Podle rozpustnosti v různých rozpouštědlech se dělí na pryskyřice měkké a tvrdé. Mezi měkké pryskyřice se řadí zejména  $\alpha$ - a  $\beta$ -hořké kyseliny [1].

$\alpha$ -Hořké kyseliny tvoří několik analogů humulonů (doposud známých je sedm), z nichž nejvyšší zastoupení má humulon (35–70 %), kohumulon (20–55 %), prehumulon (1–10 %) a posthumulon (1–5 %). Analogy se liší pouze acylovým zbytkem [1]. Jsou to slabé kyseliny, kvůli nepolárnímu charakteru jsou špatně rozpustné ve vodě a nevykazují vysokou hořkost. Jsou ale také chemicky nestálé a snadno podléhají oxidacím či izomeracím postranních isoprenoidních řetězců [5].

Při varu v slabě kyselém prostředí  $\alpha$ -hořké kyseliny izomerizují za vzniku dvou prostorových konformací *cis*- a *trans*-*iso*- $\alpha$ -hořkých kyselin (v poměru asi 2:1 ve prospěch *cis*-formy) [2, 7]. *Cis*-forma je také více stabilní (s poločasem rozpadu více než pět let) než *trans*-forma (poločas rozpadu asi 1 rok). Poměr těchto dvou forem se v průběhu času neustále mění. *Iso*- $\alpha$ -hořké kyseliny jsou nejdůležitější látky v pivu, které zodpovídají za hlavní podíl (asi 85 %) hořkosti piva. Tyto látky také částečně reagují se zbytkovým cukrem a dodávají pivu příjemnou hořkost. Kromě toho *iso*- $\alpha$ -hořké kyseliny díky tenzioaktivním vlastnostem zvyšují stabilitu pивní pěny a chrání pivo před grampozitivními bakteriemi [1, 5, 6].



Obrázek 3 Izomerace  $\alpha$ -hořkých kyselin

Další složku chmelových pryskyřic tvoří  $\beta$ -hořké kyseliny, jejichž obsah je obvykle mezi 3–5 %. Mezi jejich hlavní zástupce se řadí lupulon (30–55 %), kolupulon (20–55 %) a adlupulon (5–10 %), dalšími zástupci jsou prelupulon a postlupulon, jejichž obsah je velmi malý [1].  $\beta$ -Hořké kyseliny tvoří bezbarvé krystalky, v chemické struktuře pozbývají chirální uhlík a na rozdíl od  $\alpha$ -hořkých kyselin nemohou během chmelovaru izomerovat. Vzhledem k přítomnosti dalšího isoprenylového řetězce mají také hydrofobnější charakter a jsou hůře rozpustné ve vodě, a proto nemají takový význam jako  $\alpha$ -hořké kyseliny [4, 9]. Jejich rozpustnost při teplotě 100 °C a pH 5,6 je 8,5 mg/l, za totožných podmínek mají  $\alpha$ -hořké kyseliny rozpustnost až 250 mg/l [8].  $\beta$ -Hořké kyseliny mohou oxidovat, nejznámějšími produkty jejich oxidace jsou hulupony. Ty vznikají v chmelu během skladování a přirozeného stárnutí chmele na vzduchu [10]. Obsah lupulonů ve chmelu se může pohybovat okolo 0,5 % hm. Hulupony stejně jako další produkty vznikající při chmelovaru vykazují vyšší

hořkost než  $\beta$ -hořké kyseliny [4]. Tyto látky dosahují 50–75 % hořkosti iso- $\alpha$ -hořkých kyselin a vykazují rychleji doznívající a příjemnou hořkost. Tento jev by mohlo vysvětlovat jemnou hořkost u piv chmelených Žateckým poloraným červeňákem, který zpravidla vykazuje vyšší obsah  $\beta$ -hořkých kyselin než  $\alpha$ -hořkých kyselin [2, 11].

Tvrdé pryskyřice se dlouhou dobu v pivovarském průmyslu nepovažovaly za důležité. Nedávné studie ovšem potvrdily pozitivní vliv tvrdých pryskyřic na stabilitu pивní pěny, sensorické vlastnosti piva a byla také zjištěna korelace mezi zvyšující se intenzitou hořkosti a vyšší koncentrací tvrdých pryskyřic [33, 34].

**Chmelové silice** zastupují 0,5–3 % hmotnosti chmele a tvoří aroma chmelu. Jedná se o směs stovek různých látek s rozdílným složením, aroma a fyzikálními vlastnostmi. Podle struktury se dělí do tří skupin na uhlovodíkovou frakci, kyslíkatou frakci a frakci sirných sloučenin [1].

Uhlovodíková frakce tvoří největší podíl (70–80 %) chmelových silic. Patří do ní alifatické uhlovodíky, monoterpeny, sekviterpeny a alkoholy [1]. Nejdůležitější jsou monoterpeny a sekviterpeny. Jejich obsah a vzájemné poměry se odvíjí od odrůdy chmele. Monoterpen myrcen je nositelem drsného štiplavého aroma a nevyrovnané hořkosti. Farnesen,  $\alpha$ -humulen a  $\beta$ -karyofylen a jejich poměr tvoří charakteristické aroma chmelu [1, 2].

Kyslíkatá frakce vzniká během zrání, skladování a zpracování chmele. Tvoří 30 % z celkových silic. Jedná se o směs alkoholů, aldehydů, ketonů, epoxidů, kyselin a esterů. Složky kyslíkaté frakce mají vyšší rozpustnost ve vodném roztoku a vyšší zastoupení v pivu a ovlivňují jeho charakter a aroma. Mezi nejvýznamnější zástupce se řadí linalool, geraniol, neridol (terpenové alkoholy) a dále humulol, farnesol, humulenol (alkoholy a epoxidy), jejichž obsah se v chmelu zvyšuje v průběhu skladování. Nejvíce sensoricky aktivní jsou epoxidy vznikající oxidací karyofylenu a humulenu [1, 2].

Další složkou chmelových silic jsou sirné sloučeniny, jejichž zastoupení je asi 0,1 %. Na chuť a vůni piva mají spíše negativní vliv. Jejich zvýšené množství v chmelu může vzniknout v důsledku ošetření sirnými preparáty proti houbovým chorobám [1].

Značná část silic během chmelovaru vytěká společně s vodní párou, v mladině se silice rozpouštějí minimálně a během kvašení unikají společně s  $\text{CO}_2$  nebo se adsorbují na kvasinky [2]. Tyto vesměs negativní procesy je možné eliminovat použitím jiných technik chmelení, např. chmelením studeným, díky kterému pivo získá více aromatických látek, které se sensorickým profilem blíží použité odrůdě chmele [1].

**Fenolické látky** chmele tvoří asi 20–30 % z celkového množství fenolických látek v pivu, zbylé pocházejí ze sladu. Jedná se o flavonové glykosidy, anthokyanogeny, katechiny a volné fenolové kyseliny. Jsou to látky vesměs dobře rozpustné ve vodě a vodných roztocích, snadno podléhají oxidačně-redukčním reakcím, mají uplatnění při vytváření barvy a koloidní stability piva. Mají také pozitivní vliv na plnost chuti piva, nejspíše se také jedná o přirozené antioxidanty [2]. Jejich zastoupení je závislé na odrůdě chmele. Obecně větší množství fenolů obsahují jemné aromatické odrůdy jako je Žatecký poloraný červeňák [1].

## 2.2.5 Vybrané české odrůdy chmele

### 2.2.5.1 Žatecký poloraný červeňák

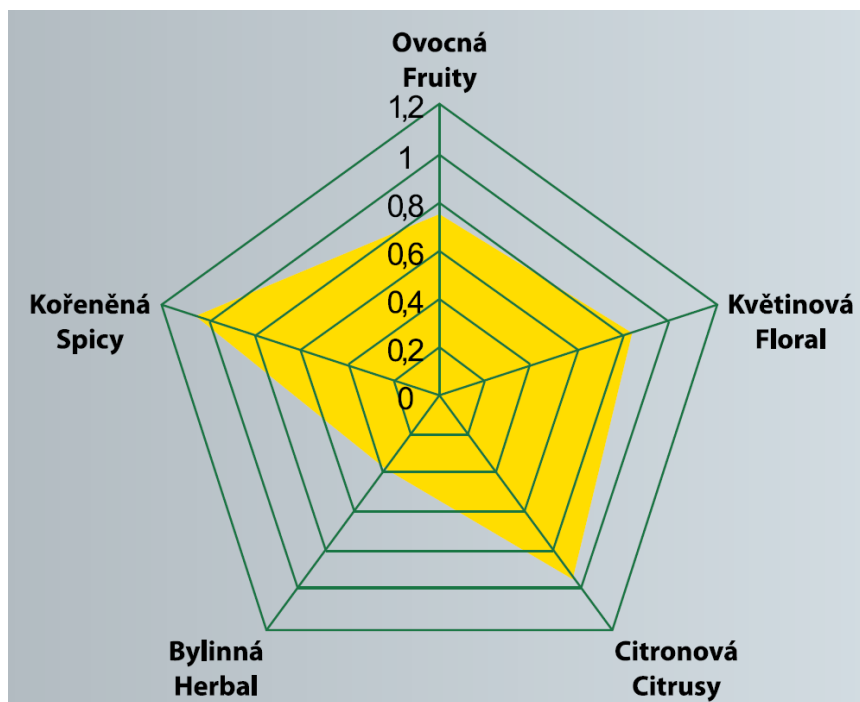
Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ) je nejtypičtější českou odrůdou chmele. Je pokládán za nejstarší odrůdovou skupinu chmele evropského a byl získán klonovou sekvencí z původních porostů v žatecké a ústecké oblasti. Řadí se mezi jemné aromatické odrůdy a ve srovnání se zahraničními chmely stejného typu vykazuje vynikající pivovarské vlastnosti [12, 13].

Jako nejvýznamnější odrůdy jsou označovány Osvaldovy klony 31, 72 a 114, které Karel Osvald registroval v roce 1952 jako výsledek své šlechtitelské práce. V současnosti je těmito klony stále osázena podstatná část produkčních chmelnic v ČR [17].

Označením Žatecký chmel může být označen pouze jemný aromatický chmel Žatecký poloraný červeňák (a všechny jeho registrované klony) vypěstovaný v Žatecké chmelařské oblasti. Mezi tyto klony se řadí Lučan (registrace v roce 1941), Blato (1952), Osvaldův klon 31 (1952), Osvaldův klon 72 (1952), Osvaldův klon 114 (1952), Siřem (1969), Zlatan (1976), Podlešák (1989) a Blšanka (1993). Rozdíl u těchto klonů tkví v odlišném obsahu  $\alpha$ - a  $\beta$ -hořkých kyselin [17,18]. Čistý výnos hlávek ŽPČ je 0,8–1,5 t/ha, což je ve srovnání s jinými odrůdami výnos relativně nízký a bývá příčinou vyšší prodejní ceny tohoto chmele [13].

Obsah celkových pryskyřic je 13–20 % hmotnosti, obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin se pohybuje v rozmezí 2,5–4,5 % hm. a  $\beta$ -hořkých kyselin 4,0–6,0 % hm. Poměr  $\alpha/\beta$  je 0,6–1,0. ŽPČ se vyznačuje vysokým obsahem fenolických látek (5,5–7,0 % hm.). Obsah silic je asi 0,4–0,8 %, z toho významný obsah tvoří  $\beta$ -farnesen (15–20 %), naopak nižší obsah má myrcen a karyofylen [18, 21].

Jedná se o jemnou aromatickou odrůdu, v pivovarství se používá pro druhé a třetí chmelení nebo také pro studené chmelení. Obecně se při testování nových odrůd chmele používá jako standard, se kterým se nové odrůdy chmele a z nich vyrobená piva porovnávají. Z hlediska kvality a výsledků senzorických testů posledních dekád se piva chmelená ŽPČ řadí mezi ty nejlepší [18].



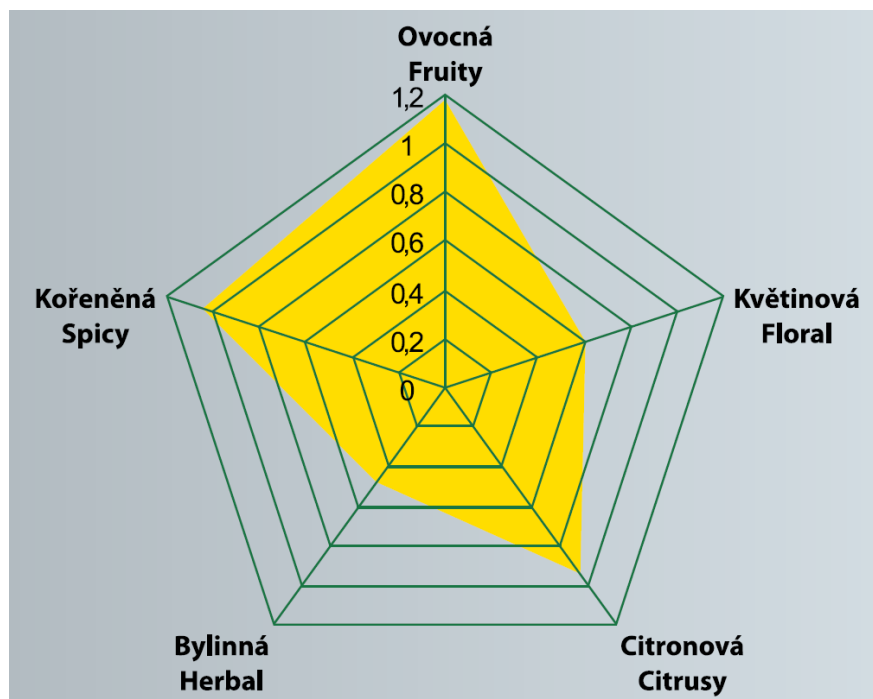
Obrázek 4 Charakter chmelového aroma odrůdy ŽPČ [13]

### 2.2.5.2 Sládek

Sládek je vyšlechtěný chmel, jedná se o hybridní potomstvo anglické odrůdy Northern Brewer a českého ŽPČ. V roce 1987 byl registrován pod názvem VÚCH 71 a od roku 1994 je již označován jako Sládek. Sládek se řadí mezi pozdní odrůdy a řadí se mezi nejvýnosnější odrůdy na území ČR, jeho výnos je 1,8–2,5 t/ha [13, 22].

Obsah celkových pryskyřic je u této odrůdy asi 17–24 % hm., obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin je v rozmezí 4,5–8,0 % hm. a  $\beta$ -hořkých kyselin 4,5–8,0 % hm. Obvyklý poměr  $\alpha/\beta$  je 0,7–1,3. Z celkových  $\alpha$ -hořkých kyselin je zastoupení kohumulonu v rozsahu 23–30 % a kolupulonu 44–50 %. Obsah silic je asi 1,0–2,0 %. Oproti jiným českým odrůdám se vyznačuje nadprůměrným množstvím karyofylenu (13 %) a myrcenu (30 %) a velmi nízkým obsahem  $\beta$ -farnesenu (méně než 1 %) [13, 23, 24].

Svémi vlastnostmi a jakostí se řadí mezi tradiční světové aromatické odrůdy. Název Sládek si zasloužil především pro svou vyváženou hořkost a jemné chmelové aroma. Při výrobě ležáku se obvykle používá na druhé a třetí chmelení a výsledné pivo si zachovává jemný charakter hořkosti. Ve spojení s ŽPČ se používá na výrobu kvalitních ležáků [17, 18].



Obrázek 5 Charakter chmelového aroma odrůdy Sládek [13]

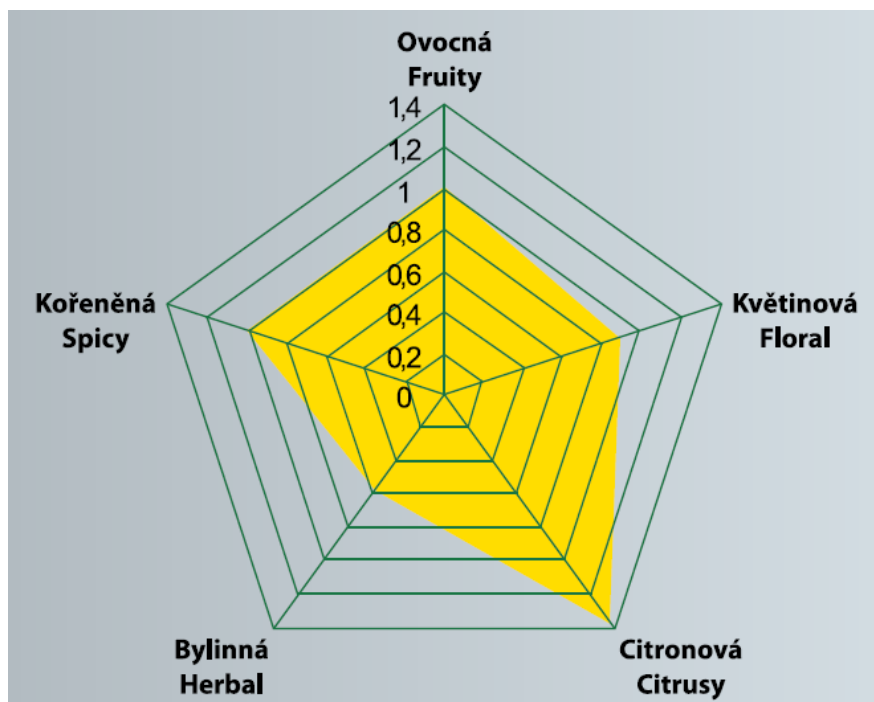
### 2.2.5.3 Kazbek

Kazbek je hybridní odrůda získaná selekcí z potomstva ruského divokého chmele zkříženého s odrůdou Bor. Odrůda Kazbek byla registrována v roce 2008 [13]. Výťažnost této odrůdy je vysoká, více jak 2,6 t/ha [23].

Obsah celkových pryskyřic činí 17–22 % hmotnosti, obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin se pohybuje v rozmezí 5,0–8,0 % hm. a  $\beta$ -hořkých kyselin 4,0–6,0 % hm. Poměr  $\alpha/\beta$  je 0,9–1,5 [18].

Pro Kazbek je na rozdíl od českých odrůd typický velmi vysoký obsah kohumulonu (35–40 % rel.) a kolupulonu (55–60 % rel.) [25]. Obsah fenolů bývá v rozsahu 3,5–4,5 % hm. Obsah silic je asi 0,9–1,8 %, z nichž nejzastoupenější složkou je myrcen (40–55 % rel.), vyšší obsah také tvoří humulen (20–35 % rel.). Obsah farnesenu je nízký [18, 26].

Kazbek se geneticky řadí mezi americké hořké chmely, je vhodný na druhé chmelení, potažmo studené chmelení [17, 26]. Podle Krofity et al. (2019) byly při studeném chmelení za pomoci chmelu Kazbek s různými navážkami chmele senzoričky nejlépe hodnoceny várky s dávkováním 2,5 a 4,0 g·l<sup>-1</sup> a délkou extrakce 3 dny [26]. Vyšší dávkování nebo delší čas studeného chmelení způsobuje svíravou a ulpívající hořkost v důsledku extrakce fenolických látek z chmele [27].



Obrázek 6 Charakter chmelového aroma odrůdy Kazbek [13]

### 2.2.6 Nově vyšlechtěné české odrůdy chmele

Souhrnné vlastnosti vybraných nových českých odrůd jsou pro přehlednost uvedené níže v tabulkách 3 a 4.

Tabulka 3 Vlastnosti nových odrůd Blues, Jazz a Mimosa – pryskyřice [18]

Odrůda	Registrace	$\alpha$ -kys. [% hm.]	$\beta$ -kys. [% hm.]	Výnos [t/ha]	Kohumulon [% rel.]	Kolupulon [% rel.]
Blues	2019	5,0–8,5	3,0–4,5	1,1–1,7	18–27	35–48
Jazz	2018	2,5–6,0	2,0–4,0	1,7	22–35	40–60
Mimosa	2019	1,5–2,5	5,0–7,0	1,3–2,2	23–33	50–59

Tabulka 4 Vlastnosti nových odrůd Blues, Jazz a Mimosa – silice [18]

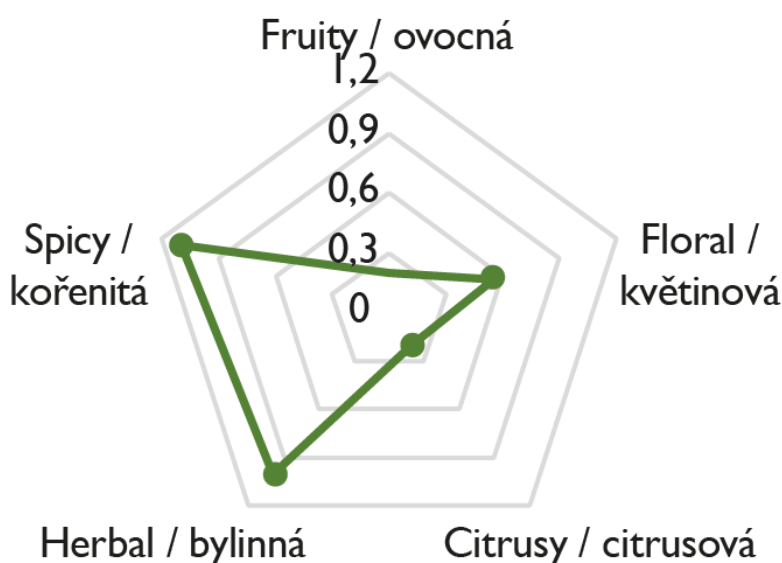
Odrůda	Silice [g/100 g]	Myrcen [% rel.]	Karyofylen [% rel.]	Humulen [% rel.]	Farnesen [% rel.]
Blues	0,6–1,5	15–35	7–17	20–33	<2
Jazz	0,4–1,5	20–40	6–10	7–20	<1
Mimosa	0,5–1,2	20–35	5–8	2–10	<3

Kromě pěstování chmele má v České republice tradici i jeho šlechtění, které probíhá v Chmelařském institutu v Žatci. Šlechtění je realizováno výhradně metodou křížení a je zaměřeno na několik vybraných cílů. Hlavními z nich je získání aromatických či vysokoobsažných chmelů. Záměr šlechtění vysokoobsažných chmelů je plně soustředěn na produkci chmelů s vysokým obsahem  $\alpha$ -hořkých kyselin, jedním z těchto chmelů je například odrůda Agnus s obsahem  $\alpha$ -hořkých kyselin 13–17 %. Více rozšířené je ovšem šlechtění aromatických odrůd. Mezi nedávno registrovanými aromatickými odrůdami jsou i odrůdy Blues, Jazz a Mimosa [18, 81].

### 2.2.6.1 Jazz a Blues

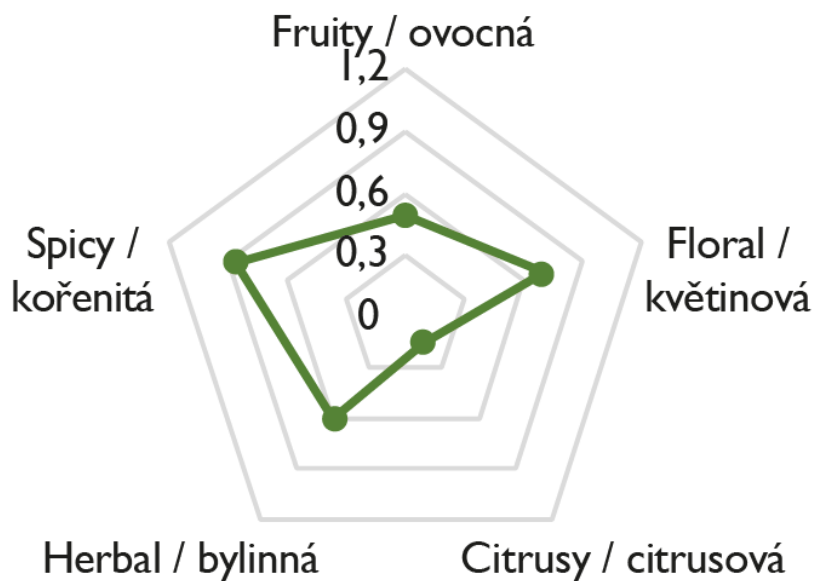
Odrůdy Jazz a Blues (registrace 2018 a 2019) jsou novými odrůdami s intenzivní vůní. Názvy Jazz a Blues mají být analogií k hudebním stylům s obdobnými jmény právě na základě jejich vůně, která se skládá z široké palety „tónů“. Jsou to odrůdy zatím málo prostudované a vyzkoušené. První pivovar, který tyto odrůdy začal testovat, byl Rodinný pivovar Kronl z Mariánských Lázní a odrůda Blues se od roku 2020 testuje v řadě dalších pivovarů [18].

Doporučené pivovarské využití je na druhé a třetí chmelení a také na studené chmelení. Aroma odrůdy Jazz je spíše kořenité, dřevité a květinové, odrůda Blues by měla mít více chmelové a kořenité aroma [18].



Obrázek 7 Charakter chmelového aroma odrůdy Blues [18]



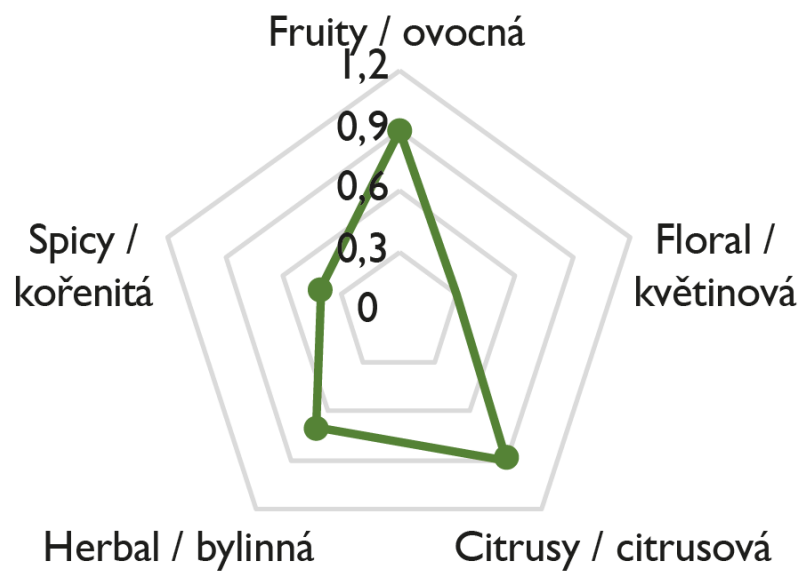


Obrázek 8 Charakter chmelového aroma odrůdy Jazz [18]

### 2.2.6.2 Mimosa

Odrůda Mimosa registrovaná v roce 2019 byla získána šlechtěním zahájeným v roce 1997, které zahrnovalo 72 křížení a testování 20 470 rostlin. Výsledkem byla postupná selekce a registrace 4 nových aromatických odrůd, z nichž jedna je právě Mimosa. Odrůda je potomkem křížení českého a jihoafrického chmelu. Jedná se tedy o velmi atypickou odrůdu a je pro ni charakteristický nízký obsah  $\alpha$ -hořkých kyselin a neobvykle vysoký obsah  $\beta$ -hořkých kyselin [18]. V pivovaru Budvar v roce 2019 uvařili právě z této odrůdy ležák *Sedm spolčených*. Tuto odrůdu, včetně dalších, testuje také několik minipivovarů, mezi které patří např. Pioneer Beer, Moravia a Lucky Bastard Brno, Máša Řevničov, Cobolis, Nomád Děčín, Zichovec, Parovar Rudná, Perštejn, Kraslice, Mariánské Lázně, Pivovar Loď. Od roku 2019 se tato odrůda rozšířila i mezi domovarníky [18].

Chmel může být použit pro svrchně i spodně kvašená piva, největší potenciál má u studeného chmelení. Díky nízkému obsahu  $\alpha$ -hořkých kyselin by u studeného chmelení odrůdou Mimosa nemělo docházet k výraznějšímu zvýšení hořkosti a jeho charakteru. Chmelové hlávky mají jemnou ovocnou a citrusovou vůni s jemnými tóny černého rybízu [18].



Obrázek 9 Charakter chmelového aroma odrůdy Mimosa [18]

## 2.3 Bioflavouring pív

Pojem bioflavouring lze definovat jako příchut' získanou z přírodního zdroje, a to přirozenou cestou (např. éterický olej, bílkovinný hydrolyzát, ovocné a zeleninové šťávy, rostlinný materiál atd.). Hlavní funkcí bioflavouringu je aromatizace dané potraviny. Za přírodní ochucovadla jsou považovány také produkty reakcí enzymů nebo mikroorganismů (např. kvasinek v pivu), pokud se tyto produkty vyskytují volně v přírodě [14].

Chuť a aroma piva je ovlivněna primárně výběrem sladu, kvasinek a chmele. Může být také proveden cílený bioflavouring piva např. pomocí specifických rodů kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* nebo nekonvenčních druhů kvasinek, kdy je cílem vytvářet nebo zvýšit určité aromatické vlastnosti piva [20]. Bioflavouringu pív je možné docílit také zráním piva v dřevěných sudech, přidáním rostlinného materiálu (byliny, ovoce) během chmelovaru či kvašení. Dalším způsobem je zařazení speciálních procesů v technologii výroby piva, a to například studeným chmelením. Piva studeně chmelená se stávají u zákazníků velmi oblíbená a do své produkce je začínají zařazovat i velké nadnárodní pivovary [3].

### 2.3.1.1 Studené chmelení

Studené chmelení (z angl. dry hopping) je v současnosti populární metoda při výrobě piva. Jedná se o technologický proces, při kterém dochází k extrakci těkavých i netěkavých sloučenin, zejména silic, z chmele do piva. Dochází k podpoře chuťové a mikrobiální stability piva. V současnosti je to jediná metoda, s jejíž pomocí je možné připravit pivo, které má sensorický profil co nejbližší aromatickému profilu použité chmelové odrůdy [15, 16].

Studené chmelení se provádí přidáním dávky chmele buď do piva během primární fermentace, nebo během dokvašování či zrání piva. Oproti klasickému postupu přidávání chmele do mladiny během chmelovaru nedochází u studeného chmelení k izomeraci  $\alpha$ -hořkých kyselin, což není zásadní, jelikož zvyšování hořkosti piva není podstatou této techniky. Hlavními důvody je zvýšení extrakce esenciálních olejů a aromatických látek z chmelového materiálu do piva. Studené chmelení probíhá za relativně nízkých teplot, čímž se výrazně snižuje tepelná degradace extrahovaných sloučenin a jejich koncentrace je tedy ve výsledném pivu vyšší. Získané chmelové aroma závisí na vlastnostech použitého chmelu a pivo může dodávat různé aromatické tóny, např. citrusové, květinové, kořeněné apod. Vlivem chmelového aroma se u výsledného piva také může zesílit dojem hořkosti. Samotnou hořkost piva může zvýšit také extrakce fenolických látek a dalších sloučenin. Tuto extrakci umožňuje alkohol, který je již v této fázi výroby piva obsažený v zeleném či mladém pivu [28].

### Metody studeného chmelení

Metody studeného chmelení se dělí na statické a dynamické. Jejich základní rozdíl tkví v odlišném způsobu a rychlosti extrakce silic z chmelového materiálu do piva. Podle technologického úseku, při kterém dochází k přidání chmelového materiálu se rozlišuje studené chmelení během hlavního kvašení, dokvašování a zrání [15].

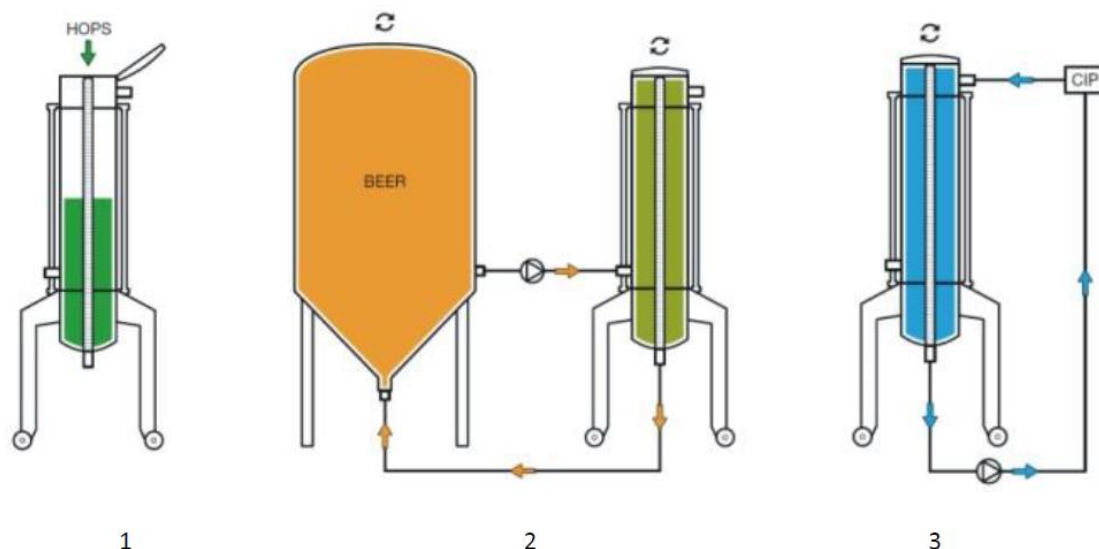
U **statických metod** studeného chmelení je chmelový materiál pouze vložen do nádoby s pivem a dochází k jeho maceraci, obvykle po celou dobu kvašení či zrání piva. Další možností je vložení chmelu do už hotového piva, které je uloženo například v sudu. Chmelové silice

při kontaktu se vzdušným kyslíkem rychle oxidují a ztrácí aromatické vlastnosti. Proto je vhodné nádobu určenou na studené chmelení před naplněním evakuovat inertním plynem a až poté přidat pivo a chmelový materiál [15]. Chmelový materiál (pelety či hlávky) se přidává v uzavíratelných propustných obalech nebo tzv. na volno. Když je chmel vložen do piva volně, chmelové zbytky sedimentují na dno nádoby a mohou ucpávat potrubí, zpomalit filtraci či negativně ovlivnit regeneraci kvasinek. Proto se od této metody upouští [64, 65]. Tyto technologické problémy u použití permeabilních obalů nejsou. Nevýhoda, která plyne z použití těchto obalů je malý kontakt chmelového materiálu s pivem, a tedy nižší extrakce chmelových sloučenin [28]. Vzhledem k nepolárnímu charakteru chmelových silic a nízké teplotě studeného chmelení je extrakce těchto látek do piva velmi pomalá, obecně v řádu dnů až měsíců v závislosti na technologickém úseku, během kterého je studené chmelení realizováno [15].

Výhodou studeného chmelení při hlavním kvašení je velmi nízká koncentrace kyslíku v mladině (ten je spotřebováván kvasinkami). Ovšem kvasinkami vyprodukovaný oxid uhličitý, který uniká z mladého piva s sebou strhává velké množství aromatických látek extrahovaných studeným chmelením. Při chmelení za studena během zrání piva dochází ke stripování aromatických látek CO<sub>2</sub> minimálně a extrakce silic je podpořena i obsahem přítomného alkoholu [15]. Technologicky jsou statické metody studeného chmelení nenáročné a s minimálními náklady, ale doba kontaktu piva s chmelovým materiálem se musí pohybovat v řádu dnů až týdnů nebo dokonce měsíců.

V posledních letech stále roste zájem o **dynamické metody**, při kterých dochází k čerpání piva skrz vrstvu chmele. Mezi výhody této metody patří doba extrakce, která je výrazně nižší (v řádu minut až hodin). Vlivem cirkulace piva, které je v kontaktu s chmelovým materiálem dochází k lepšímu a rychlejšímu přestupu aromatických látek. Vlivem smykových sil dochází také k rychlejšímu rozpadu pelet chmele a zvětšuje se jejich extrakční plocha. Díky tomu se při dynamických metodách v porovnání se statickými spotřebuje značně méně chmelového materiálu. Účinnost dynamických metod je dána především rychlostí proudění kapaliny (mladiny, piva), charakteristikou toku, velikostí smykových sil, délkou styku chmele s kapalinou, teplotou a také vlastnostmi piva a použitého chmelové materiálu [15].

Nejméně technologicky náročnou variantou dynamického studeného chmelení zahrnuje vložení chmelového materiálu do tanku. Vzduch v tanku je vytěsněn inertním plynem a naplněn pivem, které v tanku cirkuluje [28]. Dynamické chmelení za studena lze provádět také ve speciálním zařízení zvaném chmelový extraktor, tato metoda postupně získává na popularitě. Existuje několik verzí tohoto přístroje, které se liší cenou, velikostí a konstrukcí. Chmelový extraktor je konický, tlakový tank z nerez oceli. Obsahuje filtr pevných částic, který odděluje vegetativní zbytky chmelového materiálu a potrubí pro přívod a odtok piva, dezinfekční prostředky a CO<sub>2</sub>. Může také disponovat míchadlem nebo senzory k monitorování teploty, tlaku, koncentrace plynů, průtoku atd. Stěžejní faktor, který určuje rychlost dynamické extrakce je turbulentní proudění. Turbulentní proudění je uděleno kapalině čerpáním či mícháním a proud piva je nejčastěji usměrněn tangenciálním nátokem. Při samotném procesu dojde nejprve ke vložení chmelového materiálu do extraktoru, naplnění extraktoru inertním plynem a čerpání piva, které cirkuluje extraktorem v řádu minut až hodin. Aby nedošlo ke ztrátě nasycení, pivo systémem obíhá za zvýšeného tlaku [15].



Obrázek 10 Proces studeného chmelení v chmelovém extraktoru: 1 – vložení chmelového materiálu, 2 – studené chmelení, 3 – čištění pomocí CIP stanice [28]

Nespornými výhodami extraktorů jsou mimo kratší doby extrakce také snadná integrace a automatizace výroby. Nicméně cenově jsou velmi náročné a pro pivovar představují významnou investici [15].

## 2.4 Senzorická analýza

Senzorická analýza je metoda hodnocení organoleptických vlastností potraviny pomocí lidských smyslů (zrak, sluch, čich, chuť, hmat), které nabízí rychlý a specifický popis dané potraviny. Analýza by měla probíhat za podmínek, kdy je zajištěna reprodukovatelnost a objektivita měření. U řady potravin hraje senzorická analýza významnou roli, jelikož aromatické a chuťové složky se navzájem ovlivňují a jejich vyhodnocením se získá organoleptický charakter potraviny jako takové. Množství látek v potravinách lze také rozpoznat pomocí senzorické analýzy v řádově nižších koncentracích než s využitím analýz chemických [29].

Senzorická analýza piva je tradiční metoda a je pro ni vypracována spousta postupů. Charakter piva je dán hlavně jeho chutí, vůní, hořkostí, řízem, plností a cizími chutěmi a vůněmi [30].

Profesionální degustátoři se od běžného konzumenta při hodnocení liší tím, že jejich hodnocení je zaměřeno na objektivní popis a vychází ze zvyku, jak by mělo pivo chutnat a jsou schopni vždy danou vlastnost pojmenovat a zhodnotit jejich intenzitu. Naopak běžný konzument, laik, hodnotí pivo spíše na základě subjektivního názoru. Při senzorickém hodnocení piva se hodnotí jeho vzhled, pocit v ústech, chuť a vůně nebo různé atributy hořkosti [29].

### 2.4.1 Vzhled

U vzhledu se hodnotí pěnivost a stabilita pěny, barva a čírost. V současnosti se vizuální hodnocení piva u senzorické analýzy využívá čím dál méně a nemá takový význam, jelikož tyto

atributy je možné s mnohem vyšší přesností změřit pomocí instrumentálních metod. Při profesionálních degustacích se používají neprůhledné sklenice, aby vzhled neovlivnil hodnocení degustátorů [29, 31].

## **2.4.2 Pocit v ústech**

Pocit v ústech (z angl. mouthfeel), vychází z pocitu v celém vnitřním povrchu úst včetně jazyku a zubů a hodnotí se při něm převážně říz, plnost a trpkost [31].

### **2.4.2.1 Říz (*nasyčenost*)**

Říz je první parametr, který se hodnotí po napití a polknutí. Říz je dán rozpuštěným CO<sub>2</sub> v pivu a je vnímán nervovými receptory, které aktivují bublinky CO<sub>2</sub> a vznikající kyselina uhličitá. Říz by měl mít osvěžující dojem a přimět k dalšímu napití. Intenzita nasycení by neměla být příliš vysoká ani nízká. Přesycené pivo způsobuje nepříjemnou bolest v ústech a na jazyku a také nadměrné říhání. Říz jako takový se hodnotí hned u prvního napití, jelikož postupně vyprchává a klesá. Před hodnocením řízu by se tedy se sklenicí se vzorkem nemělo nijak kroužit ani míchat [29, 31].

### **2.4.2.2 Plnost (*tělo*)**

Plnost se hodnotí při druhém napití, není vnímána chuťovými pohárky, ale mechanoreceptory. Na plnost má velký vliv míra prokvašení piva. Piva méně prokvašená vykazují větší plnost, mají vyšší zbytkový extrakt a obsahují tedy více sacharidů. Na plnost má také vliv obsah alkoholu a koloidní dusíkaté látky. Vysoká plnost je označována také jako chlebnatost, naopak piva méně plná jsou označována jako vodnatá a prázdná [29, 31].

### **2.4.2.3 Trpkost**

Trpkost je brána jako spíše negativní vlastnost a často bývá laiky zaměňována za hořkost. Je vnímána v zadní části ústní dutiny a je způsobena především fenolickými látkami, které se uvolnily do sladiny při příliš dlouhém luhování sladových pluch nebo zoxidovaným chmelem [29, 31].

## **2.4.3 Chuť a vůně**

Jako vůně je označováno prosté přičichnutí k pivu, kdy k čichovým receptorům pronikne plynná fáze nad hladinou piva. Při napití se těkavé látky dostanou z úst i do dutiny nosní, dojde ke komplexnímu vjemu čichových i chuťových receptorů a hodnotí se tzv. aroma, tedy kombinace čichového a chuťového vjemu. Základní chutě, které lze objevit v pivu jsou hořká, sladká, kyselá a slaná a mezi základní vůně se řadí chmelová, ovocná, kvasničná a karamelová. Další složky, které jsou v pivu vnímány, jsou aroma vzniklé kombinací základních chutí a vůní [29, 31].

### **2.4.3.1 Hořkost**

Hořkost je považována za charakteristický rys piv a je dána přítomností chmelových hořkých látek, zejména hořkých kyselin. Při senzoričké analýze se hodnotí intenzita, charakter a doznívání hořkosti [29].

Intenzita (jak moc je pivo hořké) se hodnotí 15 s po polknutí, kdy je vnímána nejvýrazněji, poté již začíná odeznívat. Intenzita hořkosti neodpovídá jen množství hořkých chmelových

látek, protože na vnímání intenzity může mít vliv synergie či antagonie s jinými chemickými látkami [29].

Charakter hořkosti se hodnotí po napití. Rozlišuje se jemná hořkost až drsná či drásavá. Hořkost piva by se měla projevit hned po napití a po chvíli odeznít [29].

Doznívání hořkosti se hodnotí 40–45 s po polknutí a posuzuje se, jak moc pivo ulpělo v ústech. Jelikož hořkost může v ústech zůstat až 90 s, je důležité dělat mezi vzorky dostatečnou pauzu, vypláchnout ústa vodou a zajistit neutralizátorem chuti [29].

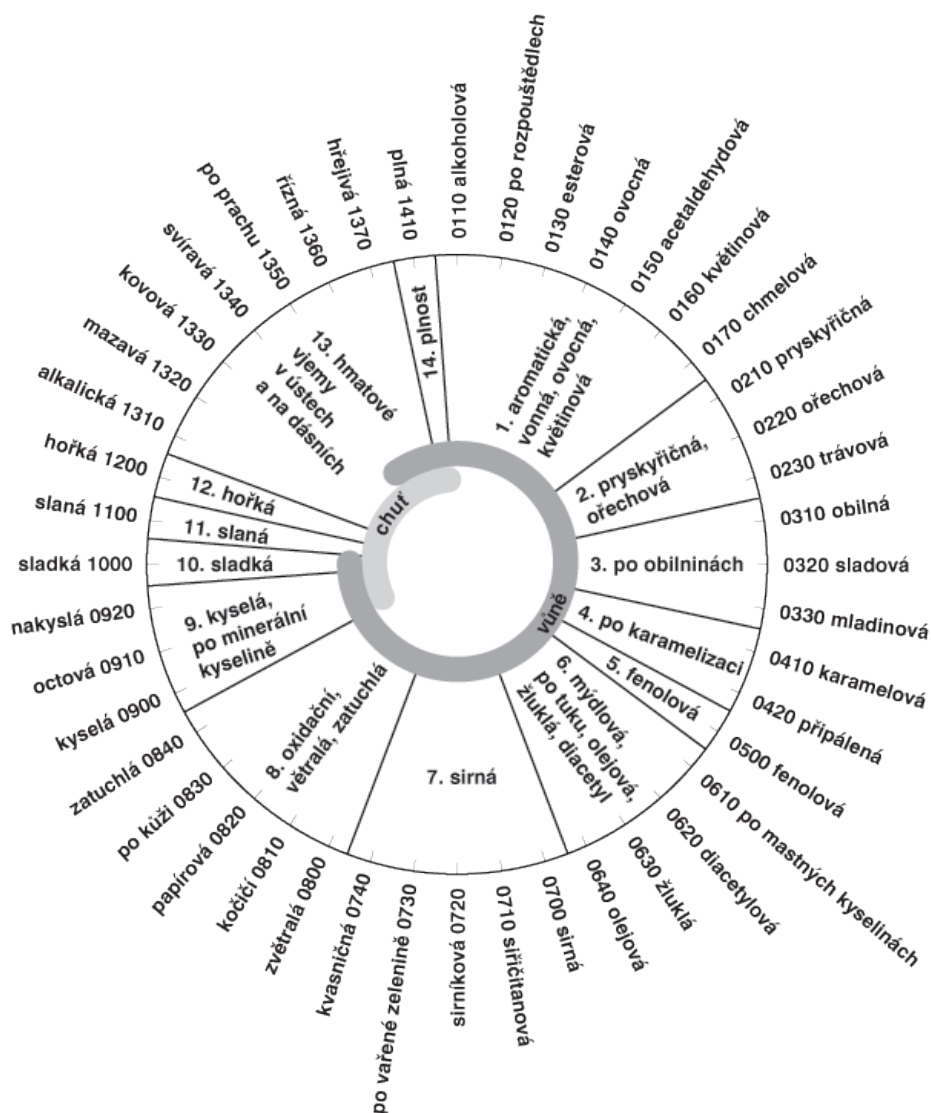
#### **2.4.3.2 Sladkost**

Sladkost v pivu je způsobena zbytkovými nezkrvašenými sacharidy (glukosa, maltosa, maltotriosa). Tmavá a polotmavá piva vykazují oproti světlým pivům vyšší sladkost, která je dána vyšší teplotou při hvozdění, pražením nebo karamelizací sladu. Sladká chuť se v pivu při procesu stárnutí postupně „zakulacuje“ a blíží se k medové chuti [3, 29].

#### **2.4.3.3 Kyselost**

Původci kyselých chutí v pivu jsou převážně jednoduché organické kyseliny, mezi něž patří kyselina citronová, octová, jablečná, jantarová či pyrohroznová. U více prokvašených piv s menší plností je kyselost vnímána intenzivněji [29].

Výrazná kyselá chuť není v pivu žádaná a je známkou technologické chyby nebo mikrobiální kontaminace. Výjimkou jsou kyselá piva (sour ale), u kterých je kyselost vyrobeného piva žádoucí. Na přípravu tohoto pivního stylu se používají speciální kvasinky rodu *Brettanomyces* nebo bakterie druhu *Pediococcus* a *Lactobacillus*, které produkují kyselinu mléčnou [3, 29].



Obrázek 11 Kruhové schéma chutí a vůní piva [66]

## 2.5 Analytické metody

### 2.5.1 Chromatografie

Chromatografie je separační metoda, při které dochází k oddělení složek obsažených ve vzorku na základě jejich rozdílné afinity ke stacionární a mobilní fázi. Tyto fáze jsou navzájem nemísitelné. Stacionární fáze je umístěna v koloně ve formě pevné látky a je nepohyblivá, mobilní fáze je pohyblivá. Vzorek se umístí na začátek stacionární fáze a mobilní fázi je unášen přes chromatografický systém. Složky vzorku mohou být stacionární fází zachycovány, a následkem toho se zdržují. Tímto způsobem se od sebe jednotlivé složky separují a na konec stacionární fáze se dříve dostanou složky, které jsou stacionární fází zdržovány nejméně. Na konci jsou látky detekovány v odlišných retenčních časech (doba od nástřiku po maximum píku). Retenční čas je pro každou separovanou látku specifický a slouží k její identifikaci [32].



### **2.5.1.1 Iontově-výměnná chromatografie**

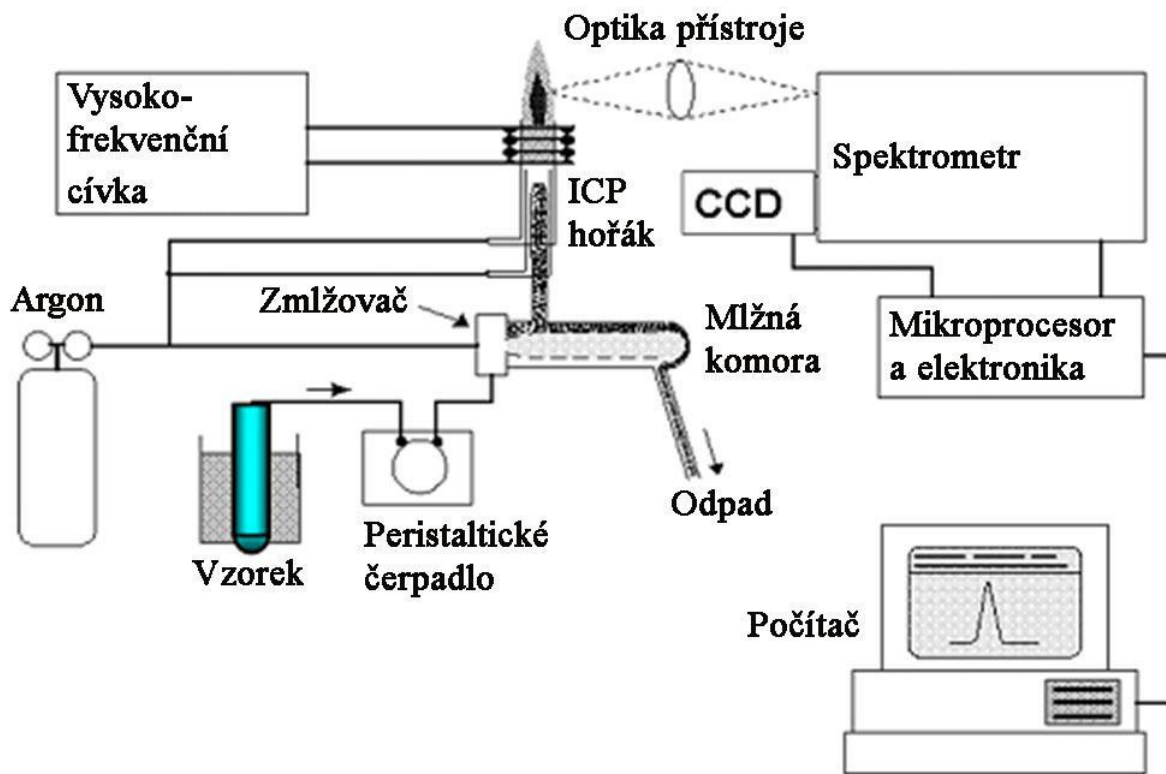
Iontově-výměnná chromatografie je typem iontové chromatografie používané pro separaci a stanovení různě nabitých iontových sloučenin. Principem této metody jsou iontové nebo elektrostatické interakce mezi jednotlivými skupinami analytu s určitým nábojem s iontoměničím stacionární fáze s nábojem opačným [36].

Mobilní fází je vodný pufrový roztok a stacionární fáze je tvořena nejčastěji organickými polymery nebo látkami na bázi polymeru. Na této základní matici stacionární fáze jsou navázány iontověměnné skupiny. Ty se dělí podle náboje na kationtové a aniontové měniče. Kationtové (katexy) měniče obsahují např. karboxylovou, sulfoxylovou či hydroxylovou skupinu mají záporný náboj a přitahují kationty. Naopak aniontové (anexy) měniče mají kladný náboj, obsahují např. tetraalkylamoniovou nebo aminoskupinu a vážou anionty. Síla vazby měniče a iontu analytu se odvíjí od velikosti rozdílu jejich nábojů [36, 37, 38].

### **2.5.2 Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem**

ICP-OES je analytická metoda, která slouží ke stanovení koncentrací jednotlivých prvků v analyzovaném vzorku. Principem ICP-OES je excitace elektronů atomu a jejich návrat na původní hladinu za současné emise světla o určité vlnové délce, která je pro každý prvek charakteristická [39].

Nejprve dojde ke vstříknutí a zmlžení vzorku, který je poté nosným plynem nesen do plazmatového zdroje. Plazma je generováno přiváděním plynného argonu do cívky hořáku a vysokofrekvenčního elektrického proudu do vrcholu pracovní cívky. Vzniklé elektromagnetické pole umožní ionizaci argonu a vznik plazmatu o vysoké elektronové hustotě a teplotě až 10 000 K. Vlivem energie plazmatu dojde k vysušení a odpaření vzorku. A poté i k jeho atomizaci a excitaci na úrovni valenčních elektronů. Během návratu excitovaných elektronů do polohy s nižší energií dojde k uvolnění energie ve formě emisních paprsků o definované délce. Emise záření je poté zaznamenána detektorem. Podle polohy fotonových paprsků se následně vyhodnotí, o jaký prvek jde a intenzita paprsků odpovídá jeho množství [39, 40].



Obrázek 12 Schéma ICP-OES

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Materiál

##### 3.1.1 Chemikálie a roztoky

Tabulka 5 Seznam použitých chemikálií a roztoků

Název	Mr [g·mol <sup>-1</sup> ]	Čistota	Výrobce	Původ	CAS číslo
Dusitan sodný	69,00	p.a.	PENTA, s.r.o.	Česká republika	7632-00-0
Folin-Ciocalteu činidlo	–	–	Sigma- Aldrich	Švýcarsko	–
Hovězí albumin	ca. 67 000	>99,0 %	Serva	Německo	9048-46-8
Hydroxid sodný	40,00	p.a.	PENTA, s.r.o.	Česká republika	1310-73-2
Chlorid hlinitý	133,34	p.a.	PENTA, s.r.o.	Česká republika	7446-70-0
Chlorid sodný	58,44	p.a.	PENTA, s.r.o.	Česká republika	7647-14-5
Isooktan	114,23	p.a.	PENTA, s.r.o.	Česká republika	540-84-1
(+)-Katechin hydrát	290,27	≥98 %	Sigma- Aldrich	USA	225937-10-0
Kyselina gallová	170,12	>97.5 %	Sigma- Aldrich	Německo	149-91-7
Kyselina chlorovodíková	36,46	36 %	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7647-01-0
Lugolův roztok	–	–	–	–	–
Oxid uhličitý potravinářský	44,01	Potravinářský	Linde Gas a.s.	Česká republika	124-38-9
Síran měďnatý pentahydrát	249,68	p.a.	Lach-Ner, s.r.o.	Česká republika	7758-99-8
Uhličitan sodný bezvodý	105,99	p.a.	Lach-Ner, s.r.o.	Česká republika	497-19-8
Vinan draselno- sodný tetrahydrát	282,10	p.a.	Lach-Ner, s.r.o.	Česká republika	6100-16-9

Tabulka 6 Standardy použité pro elementární analýzu pomocí ICP-OES, standardy

Název	Mr [g·mol <sup>-1</sup> ]	Čistota [g·dm <sup>-3</sup> ]	Výrobce	Země původu	CAS číslo
Baryum	137,33	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-39-3
Draslík	39,0983	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-09-7
Vápník	40,078	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-70-2
Fosfor	30,973	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7723-14-0
Hliník	26,98154	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7429-90-5
Hořčík	24,305	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7439-95-4
Křemík	28,0855	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-21-3
Kobalt	58,9332	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-48-4
Mangan	54,93805	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7439-96-5
Nikl	58,6934	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-02-0
Sodík	22,98977	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-23-5
Zinek	65,409	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7440-66-6
Železo	55,845	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	7439-89-6

Tabulka 7 Standardy použité pro stanovení organických kyselin pomocí IC

Název	Mr [g·mol <sup>-1</sup> ]	Čistota [g·dm <sup>-3</sup> ]	Výrobce	Původ	CAS číslo
Kys. citronová	192,124	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	5949-29-1
Kys. jablečná	134,087	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	617-48-1
Kys. jantarová	118,09	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	110-15-6
Kys. octová	60,052	1,000 ± 0,002	Analytika, s.r.o.	Česká republika	64-19-7

### 3.1.2 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy Kern AES 200-4C
- Automatické pipety FinnpiPETTE (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Centrifugační zkumavky (50 ml)
- Centrifuga ROTOFIX 32 A (Hettich, Německo)
- Čerpadlo
- Fermentační nádoby 25 l, Grainfather
- Chladicí zařízení
- Injekční stříkačky, 10 ml
- ICP-OES ULTIMA 2 (Horiba Scientific, Japonsko)
- Inpack 2000 Flasher (Pentair Haffmans, Nizozemsko)
- Inpack 2000 Sampler (Pentair Haffmans, Nizozemsko)
- Iontový chromatograf Metrohm 850 Professional (Metrohm, Švýcarsko)
- Kombinovaný hustoměr a teploměr TILT
- Kvasné zátky
- Kyvety
- Laboratorní třepačka
- Laboratorní sklo
- Mikrofiltry nylonové (velikost pórů 0,45 μm)
- Předvážky
- Pasteurovy pipety
- pH metr
- PET lahve, objem 1 l

- Pivní analyzátor Anton Paar 4500 M (Anton Paar, Rakousko)
- Refraktometr
- Rmutovací a mladinová pánev
- Scezovací kádě
- Šrotovník, dvouválcový
- Špičky Finntip (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Uzávěry PET lahví pro sycení oxidem uhličitým
- Ultrazvuková lázeň PS03000A Powersonic (PowerSonic s r.o., Slovensko)
- UV-VIS Spektrofotometr Specord 50 PLUS (Analytik Jena, Německo)
- Zkumavky plastové, 10 ml

## 3.2 Pracovní postupy

### 3.2.1 Technologie výroby piva

Za účelem studia vlivu studeného chmelení českými aromatickými odrůdami chmele Blues, Jazz, Kazbek a Mimosa bylo připraveno spodně kvašené pivo ležáckého typu. Jako suroviny byl použit slad ze sladovny Bernard v Rajhradě. Během chmelovaru byl použit chmel Sládek ( $\alpha = 4\text{--}8\%$  hm.), mladina byla zakvašena kvasinkami Saflager W-34/70 (Fermentis). Pro studené chmelení byly použity odrůdy Blues, Jazz, Kazbek a Mimosa (Chmelařský institut s.r.o.).

#### 3.2.1.1 Rmutování

Rmutování bylo provedeno víceřadovou infuzí ve rmutovací pánvi. Bylo použito 20 kg plzeňského sladu. Slad byl nejprve našrotován na sestavě dvouválcového šrotovníku. Našrotovaný slad byl poté smíchán se 100 l vody. Podmínky a průběh rmutování jsou uvedeny v tabulce 8.

Tabulka 8 Teplotní a časový program rmutování

Technologické teploty	Teplota [°C]	Čas [min]
Kyselinotvorná teplota	38	10
Peptonizační teplota	52	30
Nižší cukrotrvorná teplota	62	30
Vyšší cukrotrvorná teplota	72	30
Odrmutovací teplota	78	10

Jodovou zkouškou pomocí Lugolova roztoku bylo ověřeno úplné zcukření rmutu. Po negativní jodové zkoušce došlo k odrmutování a přečerpání obsahu do scezovací kádě, kde byl rmut prokypřen a scezován asi 20 minut.

### **3.2.1.2 Chmelovar**

Po scezování byla získaná sladina přečerpána ze scezovací kádě do mladinové pánve a byla zahřáta k varu. Délka chmelovaru byla 90 minut, chmelení bylo provedeno v čase 90 a 45 minut chmelem Sládek. Navážky chmele byly voleny tak, aby bylo IBU výsledného piva rovno 30. Po chmelovaru bylo refraktometricky změřeno EPM mladiny, odpar byl kompenzován vodou tak, aby výsledné EPM bylo 12,5 %. Poté byla mladina ochlazená na kvasnou teplotu a přečerpána do kvasných nádob.

### **3.2.1.3 Kvašení a zrání**

Po zchlazení mladiny na 12 °C došlo k zaočkování kvasinkami Saflager W-34/70. Na litr mladiny připadalo asi 0,9 g sušených kvasnic. Kvašení bylo ukončeno po 10 dnech, kdy se již hustota prokazatelně neměnila a ustálila se na 1,021 g·cm<sup>-3</sup>. Následně se provedl tzv. cold crushing, při kterém bylo pivo v kvasných nádobách podchlazeno na 4 °C a na této teplotě udržováno po dobu 2 dní. Během cold-crushingu došlo k sedimentaci kvasinek a vyčření piva. Dále bylo pivo stočeno do PET lahví o objemu 1 l se sytícím uzávěrem. Pivo bylo přes sytící uzávěr nasyceno pomocí CO<sub>2</sub> na 1,5 baru a vloženo do chladicího boxu o teplotě 7 °C. Dokvašování piva trvalo 30 dní.

### **3.2.1.4 Studené chmelení**

Studené chmelení bylo realizováno přímo do PET lahví při dozrání piva. Na studené chmelení byly použity české aromatické odrůdy Blues, Jazz, Kazbek a Mimosa ve formě chmelových pelet. Navážka chmelů ve všech případech činila 3 g·l<sup>-1</sup>. Chmelový materiál byl vložen do piva v permeabilních sáčcích. Po vložení chmelového materiálu bylo pivo v PET lahvi opět dosyceno na 1,5 bar a studené chmelení probíhalo po dobu 3 dnů při teplotě 7 °C. Poté byl chmelový materiál z lahví vyjmut a pivo bylo dosyceno na 1,5 baru. Jako referenční vzorek bylo použito pivo, u kterého studené chmelení neproběhlo.

## **3.2.2 Analytické metody**

### **3.2.2.1 Stanovení celkové hořkosti piva**

Celková hořkost piva byla stanovena metodou EBC 9.8. Vzorky piv byly protřepány na třepače při 160 ot·min<sup>-1</sup> a odplyňovány na ultrazvuku po dobu 30 minut. Odplyněné vzorky byly přefiltrovány pomocí nylonových mikrofiltrů (velikost pórů 0,45 μm).

Do centrifugační zkumavky o objemu 50 ml bylo napipetováno 10 ml vzorku piva, 1 ml 3M HCl a 20 ml isooktanu. Směs byla následně protřepávána po dobu 5 minut na vortexu při rychlosti 2300 ot·min<sup>-1</sup>. Vzniklá emulze byla 5 minut centrifugována při 5 000 ot·min<sup>-1</sup>, horní organická fáze byla pipetována do křemenné kyvety. Absorbance vzorku byla měřena proti isooktanu při 275 nm. Hodnota IBU byla následně přepočítána z absorbance podle níže uvedeného vztahu:

$$\text{IBU} = A_{275} \cdot 50 \quad (2)$$

### **3.2.2.2 Stanovení celkového obsahu fenolických látek**

Vzorky piva byly protřepány na třepačce při  $160 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  a odplyňovány na ultrazvuku po dobu 30 minut. Odplyněné vzorky byly přefiltrovány pomocí nylonových mikrofiltrů (velikost pórů  $0,45 \mu\text{m}$ ).

Do zkumavky byl napipetován 1 ml 10x zředěného Folin-Ciocalteu činidla, 1 ml deionizované vody a 100  $\mu\text{l}$  vzorku piva. Směs byla promíchána na vortexu a ponechána v klidu po dobu 5 minut. Dále byl do zkumavky napipetován 1 ml 7,5% roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a směs byla ponechána 30 minut v temnu. Po uplynutí této doby byla měřena absorbance při 765 nm. Kalibrační roztok kyseliny galové byl připraven v rozmezí  $0,1\text{--}0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  a výsledek byl vyjádřen jako ekvivalent kyseliny galové.

### **3.2.2.3 Stanovení celkového obsahu flavonoidů**

Vzorky piva byly protřepány na třepačce při  $160 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  a odplyňovány na ultrazvuku po dobu 30 minut. Odplyněné vzorky byly přefiltrovány pomocí nylonových mikrofiltrů (velikost pórů  $0,45 \mu\text{m}$ ).

Do zkumavky bylo pipetováno 100  $\mu\text{l}$  vzorku odplyněného piva a 4 ml deionizované vody. Ke směsi byl přidán 0,3 ml 5 %  $\text{NaNO}_2$  a obsah zkumavky byl ponechán 5 minut v klidu. Následně bylo přidáno 0,3 ml 10 %  $\text{AlCl}_3$  a po 1 minutě byly přidány 2 ml 1M  $\text{NaOH}$ . Do směsi bylo doplněno 3,3 ml deionizované vody a směs byla protřepána. Absorbance byla měřena při 510 nm. Kalibrační roztok Katechinu byl připraven v koncentračním rozmezí  $30\text{--}100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ .

### **3.2.2.4 Stanovení celkové antioxidační aktivity**

Vzorky piva byly protřepány na třepačce při  $160 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  a odplyňovány na ultrazvuku po dobu 30 minut. Odplyněné vzorky byly přefiltrovány pomocí nylonových mikrofiltrů (velikost pórů  $0,45 \mu\text{m}$ ).

Nejprve byl připraven 7mM roztok ABTS obsahující 2,45 mM  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ . Tato směs byla inkubována při teplotě  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 24 hodin. Roztok byl poté zředěn 60% ethanolem na absorbanci 0,7 při 734 nm. Při měření vzorku bylo smícháno 10  $\mu\text{l}$  piva a 1 ml roztoku ABTS. Absorbance této směsi byla 7 minut inkubována v temnu. Absorbance byla změřena při 734 nm. Výsledek byl vyjádřen jako ekvivalent Troloxu.

### **3.2.2.5 Stanovení základních pivních charakteristik**

Vzorky byly před analýzou odplyněny na laboratorní třepačce při  $160 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  po dobu 20 minut. Po odplynění byly vzorky filtrovány přes skládaný filtr s přísadkou křemeliny. Následně byly převedeny do kyvet o objemu 50 ml a vloženy do autosampleru pivního analyzátoru. Sledovanými parametry byl zdánlivý, původní a skutečný extrakt a obsah alkoholu v hmotnostních a objemových procentech.

### **3.2.2.6 Stanovení pH a barvy piva**

Hodnota pH byla změřena pomocí pH metru, pivo pro tuto analýzu nebylo nijak upravováno ani odplyňováno. Při analýze barvy byly vzorky nejprve odplyněny na třepačce při  $160 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  po dobu 20 min a poté přefiltrovány přes skládaný filtrační papír s křemelinou. Barva byla



stanovena spektrofotometricky při 430 nm a přepočítána na jednotky EBC podle následujícího vztahu:

$$\text{Barva EBC} = A_{430} \cdot 25 \quad (3)$$

### 3.2.2.7 Analýza prvkového složení pomocí ICP-OES

Vzorky piv byly protřepány na třepače při 160 ot·min<sup>-1</sup> a odplyňovány na ultrazvuku po dobu 30 minut. Odplyněné vzorky byly přefiltrovány pomocí nylonových mikrofiltrů (velikost pórů 0,45 μm).

Pro stanovení makroprvků (vápník, hořčík, sodík, draslík, fosfor) byly vzorky 25x zředěny deionizovanou vodou. Pro stanovení mikroprvků (baryum, mangan, zinek, křemík, hliník, nikl, kobalt, měď, železo) byly vzorky zředěny 2x taktéž deionizovanou vodou. Byly sestrojeny kalibrační řady pro stanovení těchto prvků. Pro makroprvky byla sestrojena kalibrační řada v rozmezí 25 mg·l<sup>-1</sup>–50 mg·l<sup>-1</sup> v deionizované vodě, pro mikroprvky v rozmezí 0,5 mg·l<sup>-1</sup>–1 mg·l<sup>-1</sup> ve 2 % ethanolu. Podmínky měření jsou uvedeny v tabulce 9 a vlnové délky jednotlivých prvků v tabulce 10.

Tabulka 9 Podmínky měření ICP-OES

-	<b>Makroprvky</b>	<b>Mikroprvky</b>
Výkon [w]	1100	1300
Rychlost otáček čerpadla [ot·min <sup>-1</sup> ]	15	15
Průtok plazmového plynu [dm <sup>3</sup> ·min <sup>-1</sup> ]	13,2	13,2
Průtok pomocného plynu [dm <sup>3</sup> ·min <sup>-1</sup> ]	0,2	0,2
Průtok zmlžovače [ml·min <sup>-1</sup> ]	0,84	0,84
Průtok stínícího plynu [dm <sup>3</sup> ·min <sup>-1</sup> ]	0,59	0,25
Tlak ve zmlžovači [bar]	2,99	2,99
Zmlžovač	Pneumatický dle Meinharda	
Detektor	Fotonásobič	

Tabulka 10 Vlnové délky jednotlivých prvků

Prvek	Vlnová délka [nm]
Vápník	422,673
Draslík	766,490
Hořčík	285,213
Sodík	588,995
Fosfor	214,914
Hliník	396,152
Baryum	230,424
Kobalt	228,616
Měď	327,396
Železo	259,940
Mangan	257,610
Nikl	221,647
Křemík	251,611
Zinek	206,191

### 3.2.2.8 Stanovení organických kyselin pomocí iontové chromatografie

Vzorky pív byly protřepány na třepačce při  $160 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  a odplyňovány na ultrazvuku po dobu 30 minut. Odplyněné vzorky byly přefiltrovány pomocí nylonových mikrofiltrů (velikost pórů  $0,45 \mu\text{m}$ ).

Následně bylo pipetováno 5 ml vzorku a 5 ml deionizované vody. Z organických kyselin byla sledována kyselina citronová, kyselina jablečná, kyselina jantarová a kyselina octová. Retenční čas kyseliny citronové byl 8,12 min, kyseliny jablečné 9,3 min, kyseliny jantarové 10,11 min, a retenční čas kyseliny octové byl 14,47 min. Podmínky měření jsou uvedeny v tabulce 11.

Tabulka 11 Podmínky měření IC

Objem nástřiku	20 $\mu\text{l}$
Průtok mobilní fáze	$0,6 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$
Složení mobilní fáze	$0,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ HClO}_4$
Teplota	$30 \text{ }^\circ\text{C}$
Kolona	Metrosep Organic Acids 250/7,8
Detektor	Vodivostní

### 3.2.3 Senzorická analýza

Při sensorické analýze byl hodnocen rozdíl organoleptických vlastností studeně chmelených piv oproti pivu referenčnímu. Hodnotitelům byly předloženy studeně chmelené vzorky a nechmelené reference (v objemu asi 50 ml), chuťový neutralizátor a dotazník sestavený podle Olšovské (2017) [29]. Byly hodnoceny tyto parametry: celkové aroma, chmelové aroma, říz, plnost, hořkost (intenzita, charakter a doznívání), sladkost, kyselost, cizí chutě a vůně, a nakonec subjektivní dojem ze vzorků piva. Reference sloužila jako střední hodnota k porovnání. Studeně chmelené vzorky byly hodnoceny ve vztahu k referenci na stupnici o rozmezí 0–10, u subjektivního dojmu 1–10. Vzorový formulář je přiložen v příloze, viz. kapitola 8.1.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 4.1 Vliv studeného chmelení na základní charakteristiky piva

Pomocí metod definovaných v kapitole 3.2.2 byly u připravených vzorků stanoveny základní charakteristiky piva, výsledky jsou uvedeny v tabulce 12. Studené chmelení vybranými českými odrůdami chmele nemělo signifikantní vliv na zdánlivý, původní a skutečný extrakt, ani pH a obsah alkoholu. Naopak barva a hořkost piva se po studeném chmelení novými odrůdami měnily oproti referenčnímu vzorku.

Tabulka 12 Základní charakteristiky piva

Vzorek	zdánlivý extrakt [%]	původní extrakt [%]	skutečný extrakt [%]	ethanol [% hm.]	ethanol [% obj.]	barva [EBC]	hořkost [IBU]	pH [-]
Reference	2,45	12,55	4,39	4,22	5,39	10,5	33,0	4,57
Blues	2,53	12,55	4,46	4,19	5,35	12,4	37,1	4,58
Jazz	2,53	12,55	4,46	4,18	5,35	12,8	36,7	4,58
Kazbek	2,53	12,54	4,46	4,18	5,34	12,0	44,6	4,59
Mimosa	2,53	12,52	4,45	4,17	5,33	12,1	36,4	4,58

#### 4.1.1 Barva

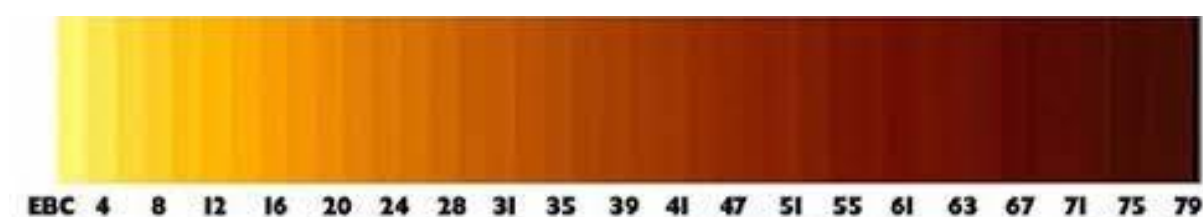
Studené chmelení pomocí nových českých chmelů mělo vliv na výslednou barvu piva. Oproti referenci došlo ke zvýšení barvy u všech studeně chmelených piv o 1–2 body EBC. K nejvyššímu nárůstu barvy došlo u vzorku piva chmeleného odrůdou Jazz (více než dva body EBC). Tento jev může být spojený s nejvyšší naměřenou koncentrací flavonoidů u piv chmelených touto odrůdou (kap. 4.2.1).

Studeným chmelením dochází k extrakci chmelových pryskyřic a polyfenolů z chmele do piva [41]. Podle Kahle et al. (2021) dochází v důsledku polymerací polyfenolů ke tvorbě zákalu, kdy mezi polyfenoly a proteiny vzniká vazba mezi kyslíkem peptidové skupiny a hydroxylovou skupinou polyfenolů [42].

Pokud by příčinou nárůstu absorbance při měření barvy byl zákal, je nutné celkovou hodnotu barvy korigovat. Dle Čejky et al. (1983) je ekvivalent barvy způsobené zákallem a vizuálně vnímanou barvou rovna  $2,15 \text{ EBC} = 1,0 \text{ EBC}$ . Vliv studeného chmelení na barvu by tak byl z hlediska sensorického vnímání barvy nižší než vnímání barvy analytické a vizuální nárůst by

činil asi 0,5–1 EBC [43]. Fakt, že barva mohla být zvýšená zákalem je podpořen i daty z této diplomové práce, jelikož mezi obsahem flavonoidů a barvou piva byla stanovena velmi silná pozitivní korelace ( $r = 0,891$ ).

Dle škály EBC, uvedené na obrázku 13, lze konstatovat, že rozdíl dvou jednotek EBC je již znatelně viditelný lidským okem. Tento jev by mohl být problematický pro pivovary, které se snaží udržet konstantní kvalitu piva včetně barvy. Zvýšení barvy studeným chmelením by mohlo být problematické pro jisté pivní styly jako Blond Ale nebo Kölsch, od kterých se očekává velmi světlá barva. Nárůst barvy by mohl ovlivnit konkrétní pivní styl. Ovšem Carvalho et al. (2017) ve své studii v rámci senzoričké analýzy piv zjistili, že barva piva neměla na rozdíl od atributů jako je chuť a vůně na celkové hodnocení piva vliv a vizuální očekávání od piva byla zanedbatelná [44].



Obrázek 13 Barva piva dle škály EBC [31]

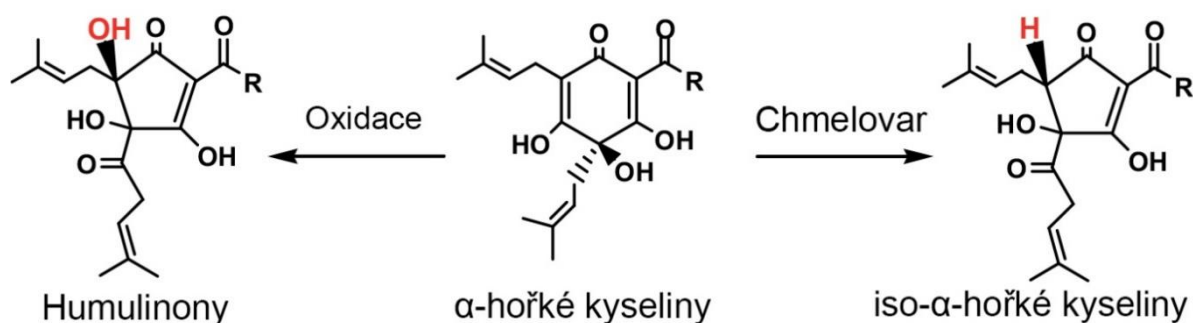
#### 4.1.2 Hořkost

Z výsledků uvedených v tabulce 12 je patrné, že studené chmelení mělo na hořkost vliv a studeně chmelené vzorky vykazovaly vyšší hořkost než reference. U vzorků chmelených odrůdami Blues, Jazz a Mimosa vzrostla hodnota IBU asi o čtyři body, u vzorku chmeleného odrůdou Kazbek došlo k nárůstu o 11,6 IBU. Kvůli variabilitě výroby byl definován statisticky významný nárůst hořkosti oproti referenci pouze u vzorků chmelených odrůdou Kazbek ( $p=0,0049$ ). Pro odrůdu chmele Kazbek je typický vyšší obsah  $\alpha$ - a  $\beta$ -hořkých kyselin ( $\alpha$ -hořké kyseliny 5,0–7,0 %,  $\beta$ -hořké kyseliny 4,0–6,0 %) [18]. Vyšší obsah těchto kyselin, a tím pádem i jejich oxidačních produktů v chmelovém materiálu pravděpodobně zapříčinil výraznější zvýšení hořkosti oproti vzorkům chmeleným za studena odrůdami Blues, Jazz a Mimosa.

Je potvrzené, že během studeného chmelení dochází k extrakci řady látek včetně  $\alpha$ -hořkých kyselin, polyfenolů, humulinonů, huluponů do piva. To jsou látky, které tvoří hlavní podíl na zvýšení hořkosti studeně chmeleného piva [45].

Vliv humulinonů na hořkost piva potvrdil i Oladokun (2017), který je považuje za jednoho z hlavních původců hořkosti dodané studeným chmelením [47], přestože jejich koncentrace je v chmelovém materiálu velmi nízká a odhaduje se na 0,2–0,3 % hmotnosti. Podle Algazzalioho (2016) dosahují humulinony až 66 % hořkosti iso- $\alpha$ -hořkých kyselin [48]. Humulinony jsou oxidační produkty  $\alpha$ -hořkých kyselin. Vznikají přirozeně během skladování a stárnutí chmele. Proto se jejich obsah v chmelovém materiálu může lišit v závislosti na délce doby vystavení oxidačním procesům. Jejich chemická struktura je téměř identická struktuře iso- $\alpha$ -hořkých

kyselin, oproti nim obsahují navíc jednu hydroxylovou skupinu. Díky této skupině mají polárnější charakter, lépe se rozpouští v pivu a dodávají mu hořkost [53].



Obrázek 14 Vznik humulinonů a iso-α-hořkých kyselin [53]

α-Hořké kyseliny extrahované do piva během studeného chmelení neizomerizují. K izomeraci dochází během chmelovaru, kdy teplota mladiny dosahuje 100 °C. Studené chmelení probíhá za nízkých teplot, nedochází tedy k nárůstu koncentrace iso-α-hořkých kyselin, které jsou obecně hlavním zdrojem hořkosti piva [53]. Dle Maye (2016) extrahované α-hořké kyseliny vykazují asi 10 % hořkosti iso-α-hořkých kyselin a podílí se také na hořkosti piva [46]. Extrakci α-hořkých látek potvrdil Oladokun (2017) při studeném chmelení odrůdou Zeus s vysokým obsahem α-hořkých kyselin. Ve výsledných vzorcích piva zaznamenal značný nárůst obsahu těchto kyselin [47].

Zvýšení hořkosti při studeném chmelení může být také spojeno s extrakcí oxidačních produktů β-hořkých kyselin. Oxidace probíhá během stárnutí a skladování chmelového materiálu. Tyto oxidační produkty se nazývají hulupony. Dosahují vyšší hořkosti než původní β-hořké kyseliny a díky přítomnosti hydroxylové skupiny a polárnějšího charakteru jsou i lépe rozpustné v pivu [45]. Názory na jejich hořkost v porovnání s iso-α-hořkými kyselinami se liší. Podle Parkina (2014) se jedná o 50–75 %, Algazzali uvádí 84 %, a Peacock dokonce tvrdí, že jsou dvakrát více hořké než iso-α-hořké kyseliny [45, 48, 49]. Hulupony se v čerstvém chmelu nevyskytují v množstvích vyšších než 0,5 %. V průběhu stárnutí a skladování jejich obsah v chmelu postupně roste. Podle Stevense (1961) může být obsah huluponů v chmelu až 1 % hm. [4, 50], avšak dle Krofity (2013) někteří autoři uvádí až 3 % hm. [58]. Je tedy pravděpodobné, že obsah huluponů přímo souvisí s výchozím obsahem β-hořkých kyselin jakožto hlavním prekurzorem pro jeho syntézu. Koncentrace huluponů v pivu se odhaduje na 1–2 mg/l. Vykazují rychle doznívající, mírnou a jemnou hořkost podobnou hořkosti iso-α-hořkých kyselin a jejich senzoričkový práh hořkosti byl stanoven na 8–15 mmol/l [4].

Kromě huluponů pravděpodobně existují i další produkty oxidace β-hořkých kyselin, což zkoumal tým Haseleu et al. (2009a, 2009b) pomocí využití LC-MS s detektorem TOF. Podrobili frakcionované chmelové extrakty modelovým chmelovarům a objevili sedm zatím neidentifikovaných produktů β-hořkých kyselin, které vykazovaly hořkou chuť [51, 52]. Z toho lze usuzovat, že existuje řada dosud neobjevených či neidentifikovaných látek, které se podílí na hořké chuti piva a mohou se do něj extrahovat během studeného chmelení.

## 4.2 Vliv studeného chmelení na chemické složení piva

### 4.2.1 Vliv studeného chmelení na fenolické látky, flavonoidy a antioxidační aktivita piva

Pomocí spektrometrických metod (kap. 3.2.2) byla stanovena koncentrace celkových fenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivita u referenčního piva a piv studeně chmelených (výsledky uvedeny v tabulce 13). Byl potvrzen pozitivní vliv studeného chmelení použitými odrůdami na obsah fenolických látek (TPC). K nárůstu došlo u všech vzorků chmelených za studena. Nejvíce fenolických látek se během studeného chmelení vyextrahovalo v pivu chmeleného odrůdou Blues a to 20 mg/l. Naopak k nejmenšímu nárůstu došlo u vzorku studeně chmeleného odrůdou Jazz (8 mg/l).

S koncentrací fenolických látek souvisí také koncentrace flavonoidů. Jejich nárůst byl zaznamenán ve srovnání s referencí u všech studeně chmelených vzorků. Statisticky se od reference významně lišily vzorky chmelené odrůdami Jazz a Kazbek. Flavonoidy zásadním způsobem ovlivňují antioxidační vlastnosti piva. Antioxidační aktivita studeným chmelením vzrostla, a to u všech sledovaných vzorků. Mezi obsahem flavonoidů a antioxidační aktivitou studovaných vzorků byla nalezena velmi silná korelace ( $r = 0,992$ ). Největší nárůst jak flavonoidů tak i antioxidační aktivity byl zaznamenán u piv chmelených odrůdou Jazz.

Tabulka 13 Průměrné koncentrace TPC, TFC a AOX

Vzorek	TPC [mg/l]	TFC [mg/l]	AOX [mg/l]
Reference	374 ±11	52±1	209±12
Blues	394±1	56±4	221±8
Jazz	383±8	58±1	227±7
Kazbek	392±1	57±2	221±7
Mimosa	388±16	54±1	216±10

Fenolické látky se přirozeně vyskytují v chmelu, jsou významným činitelem podílejícím se na chemicko-fyzikální stabilitě piva, na tvorbě pěny, zamezování stárnutí a oxidaci piva [67]. Jejich celkové množství u světlých piv se pohybuje v rozmezí 273–545 mg/l [68, 69].

Gribková et al. (2022) zjistili porovnáním studeně chmelených piv a nechmelené reference nárůst fenolických látek ve studeně chmelených vzorcích. Dále také uvádí, že fenolické látky dodané studeným chmelením měly vliv na zjemnění drsné chuti čerstvého piva [70].

Podle Kellnera (2004) se fenolické látky z hlediska hlavních zástupců dělí na několik skupin. Nejvýznamnější a obsahem nejvíce zastoupené jsou flavonoidy [71]. Obsah flavonoidů u světlých piv je 26–208 mg/l [68, 69]. Jako významní zástupci flavonoidů jsou např. katechin, epikatechin, rutin, kvercetin nebo prenylový flavonoid xanthohumol [67].

S množstvím flavonoidů se pojí antioxidační aktivita piva. Její hodnoty se pohybují v rozmezí 0,14–1,8 mmol TE/g (ekvivalent 35–450 mg TE/g) [68, 69, 72].

Paszkot (2021) ve své studii zjistil, že vlivem studeného chmelením dochází jak k signifikantnímu nárůstu flavonoidu xanthohumol, jeho isomeru isoxanthohumol, tak k nárůstu antioxidačních vlastností piva. Největší nárůst antioxidační aktivity zaznamenal u vzorku s nejvyšším zastoupením těchto dvou flavonoidů [72]. Pozitivní vliv prenylflavonoidu xanthohumol potvrzuje i Hofta et al. (2004). Tvrdí, že xanthohumol společně s dalšími prenylflavonoidy slouží jako kvalitní antioxidant v pivu a je to látka prospěšná i pro lidské zdraví [67].

#### 4.2.2 Vliv studeného chmelení na koncentraci vybraných organických kyselin

Pomocí metod uvedených v kapitole 3.2.2.8 byl u studeně chmelených vzorků a reference stanoven obsah vybraných organických kyselin, výsledky jsou uvedeny v tabulce 14. Byl stanoven obsah kyseliny citronové, jablečné, jantarové a octové.

Oproti referenci došlo k nárůstu obsahu kyseliny citronové a jablečné ve všech studeně chmelených vzorcích. Dále došlo k nárůstu kyseliny jantarové u vzorků chmelených odrůdami Jazz a Mimosa a nárůstu kyseliny octové u vzorků Blues a Kazbek. Analýza rozptylu prokázala, že studené chmelení se signifikantně projevilo pouze na nárůstu koncentrace kyseliny jablečné ( $p = 6,5 \cdot 10^{-5}$ ). Oproti referenci se v obsahu kyseliny jablečné lišily všechny studeně chmelené vzorky. Největší nárůst byl u vzorků Blues a Jazz a to o 35 a 36 mg/l. Z hlediska hodnot pH studeně chmelených vzorků, nedošlo vlivem organických kyselin k jeho poklesu oproti pH referenčního vzorku (viz kap. 4.1).

Tabulka 14 Průměrné koncentrace vybraných organických kyselin

Vzorek	Citronová [mg/l]	Jablečná [mg/l]	Jantarová [mg/l]	Octová [mg/l]
Reference	238±7	115±4	111±4	120±31
Blues	250±5	150±0,4	112±10	158±25
Jazz	255±1	151±0,3	125±8	121±25
Kazbek	245±3	135±1	112±9	157±26
Mimosa	248±5	136±2	123±9	122±25

Koncentrace kyseliny jablečné, citronové, jantarové a octové se v běžných pivech vyskytují v rozmezí 14–160 mg/l (jablečná), 50–322 mg/l (citronová), 20–140 mg/l (jantarová), 10–250 mg/l (octová) [59, 60, 61]. Koncentrace těchto kyselin u studeně chmelených vzorků v této diplomové práci tedy odpovídá standardnímu obsahu organických kyselin v pivech. Studeným chmelením nedošlo k výraznému nárůstu organických kyselin a zásadnímu porušení pivního stylu.

Obsah těchto kyselin je v pivu dán primárně jejich koncentrací v mladině a k mírnému nárůstu může dojít také během fermentace [62]. Organické kyseliny mají vliv na hodnotu pH a jejich obsah ovlivňuje výslednou kyselost a aroma piva [56]. U klasických pivních stylů není



vysoká kyselost žádanou vlastností. Avšak existují pivní styly, tzv. kyselá piva s vysokým obsahem kyseliny mléčné či octové vzniklými přítomnými mikroorganismy. Kyselá chuť je pro tento pivní styl specifická [3, 29].

### 4.2.3 Vliv studeného chmelení na prvkové složení piva

Metodou ICP-OES (postup uveden v kapitole 3.2.2.7) byl stanoven obsah vybraných prvků v referenci a studeně chmelených vzorcích. Výsledky koncentrací jednotlivých prvků jsou uvedeny v tabulce 15. Pomocí analýzy rozptylu bylo zjištěno, že statisticky se chmelené vzorky od reference liší v obsahu 4 prvků – draslík ( $p = 0,012$ ), vápník ( $p = 0,018$ ), měď ( $p = 0,001$ ) a mangan ( $p = 0,002$ ). U ostatních prvků nebyl ve srovnání s referencí pozorován signifikantní rozdíl.

Tabulka 15 Koncentrace vybraných mikro a makro prvků

Prvek [ $\mu\text{g/l}$ ]	Reference	Blues	Jazz	Kazbek	Mimosa
Al	130 $\pm$ 20	160 $\pm$ 10	180 $\pm$ 20	160 $\pm$ 0,1	150 $\pm$ 30
Ba	10 $\pm$ 1	10 $\pm$ 04	10 $\pm$ 4	10 $\pm$ 1	10 $\pm$ 0,1
Cu	70 $\pm$ 7	210 $\pm$ 5	140 $\pm$ 4	120 $\pm$ 06	120 $\pm$ 20
Fe	30 $\pm$ 1	20 $\pm$ 10	20 $\pm$ 10	10 $\pm$ 3	10 $\pm$ 0,1
Mn	80 $\pm$ 3	180 $\pm$ 6	150 $\pm$ 6	110 $\pm$ 4	120 $\pm$ 20
Ni	20 $\pm$ 1	10 $\pm$ 5	20 $\pm$ 5	10 $\pm$ 3	10 $\pm$ 2
Prvek [mg/l]	Reference	Blues	Jazz	Kazbek	Mimosa
Si	38 $\pm$ 2	40 $\pm$ 1	40 $\pm$ 1	39 $\pm$ 1	40 $\pm$ 1
Ca	10 $\pm$ 2	25 $\pm$ 4	25 $\pm$ 1	24 $\pm$ 4	19 $\pm$ 4
K	392 $\pm$ 33	501 $\pm$ 19	482 $\pm$ 14	494 $\pm$ 15	483 $\pm$ 7
Mg	71 $\pm$ 2	79 $\pm$ 3	75 $\pm$ 0,004	77 $\pm$ 1	77 $\pm$ 2
Na	23 $\pm$ 1	24 $\pm$ 0,1	24 $\pm$ 3	24 $\pm$ 0,4	23 $\pm$ 0,3
P	196 $\pm$ 7	205 $\pm$ 10	205 $\pm$ 6	208 $\pm$ 6	210 $\pm$ 3

Oproti referenci se v obsahu Ca, Cu, K a Mn signifikantně lišila piva studeně chmelená odrůdami Blues a Jazz. Piva chmelená odrůdou Kazbek se od reference lišila v obsahu vápníku, draslíku a mědi a piva s odrůdou Mimosa vykazovala rozdíl pouze v obsahu draslíku a mědi. K největšímu nárůstu koncentrace těchto prvků došlo ve všech případech u piva studeně chmeleného odrůdou Blues.

#### Draslík

Koncentrace draslíku v chmelovém materiálu dosahuje množství v rozmezí 8 000–44 000 mg/kg [1], ve výsledném pivu se koncentrace draslíku pohybuje okolo 20–1 100 mg/l [73, 74]. Pokud je v pivu draslík přítomen ve formě disiřičitanu draselného, může působit jako antioxidant [75]. Zároveň může mít vliv na sladkost a jemnost piva, ovšem ve velmi vysokých koncentracích způsobuje v pivu slanou chuť [74, 77].

## Vápník

Koncentrace vápníku v chmelovém materiálu je stanovena na 7 000–25 000 mg/kg [1], ve výsledném pivu koncentrace vápníku dosahuje okolo 4–140 mg/l [73, 74]. Vápník je důležitým činitelem podílejícím se na procesu vaření piva, během kterého vápenaté ionty působí na řadu chemických pochodů. Zamezují například rychlé inaktivaci  $\alpha$ -amyláz při procesu rmutování. Podílí se také na propagaci kvasinek, zpomalují jejich degeneraci. Prostřednictvím aktivace lektinového mechanismu jsou vápenaté ionty nezbytné pro schopnost kvasinek flokulovat [74, 76]. Jejich chloridy se mohou během zrání podílet na dodávání plnosti, těla a sladkosti v pivu [74], avšak Kellner (1987) neprokázal zásadní vliv vysoké koncentrace vápníku v pivu na jeho sensorické vlastnosti [78].

## Měď

Koncentrace mědi v chmelovém materiálu dosahuje množství v rozmezí 15–12 000 mg/kg [1], ve výsledném pivu se koncentrace mědi pohybuje okolo 0,008–0,8 mg/l [73, 74]. Měď je důležitá pro účinnost řady sladových enzymů. Jako kofaktory různých enzymatických reakcí se podílí na tvorbě vhodného prostředí pro růst kvasinek, avšak při vyšších koncentracích je pro ně toxická [74]. Měď se podílí na zhoršení koloidní stability piva, jelikož měďnaté ionty katalyzují absorpci kyslíku do piva a tím přispívají k oxidaci polyfenolů. Oxidované polyfenoly reagují s proteiny a vytváří trvalý zákal. Přítomnost mědi ve velmi vysoké koncentraci způsobuje intenzivní kovovou chuť, kvůli které se pivo stává nepitelné [79]. Naopak nízká koncentrace měďnatých iontů ve výsledném pivu přispívá ke zlepšení kvality a chuti piva jako katalyzátor oxidačně redukčních reakcí [74]. Čejka (1989) ve své práci připravil dva paralelní vzorky piva připravené ze stejné mladiny, přičemž do jednoho vzorku před kvašením přidal měďnaté ionty v množství 5 ppm. U tohoto vzorku byla zjištěna vyšší koncentrace dimethylsulfidu, což se projevilo i na sensorických vlastnostech piva [79].

## Mangan

Koncentrace manganu v chmelovém materiálu je stanovena na 40–230 mg/kg [1], ve výsledném pivu koncentrace manganu dosahuje 0,008–1,0 mg/l [73, 74]. Stejně jako měď se podílí na správném fungování kvasinek a pravděpodobně negativně ovlivňuje koloidní stabilitu piva. Příliš vysoké koncentrace manganatých iontů způsobují nepříjemnou chuť a barvu piva [74].

Drtivá většina minerálních látek obsažených v pivu má původ ve sladu a ve varní vodě. Chmel, který se obvykle přidává pouze při chmelovaru, tvoří jen velmi nepatrné množství minerálních látek v pivu, vzhledem k malému dávkování [80].

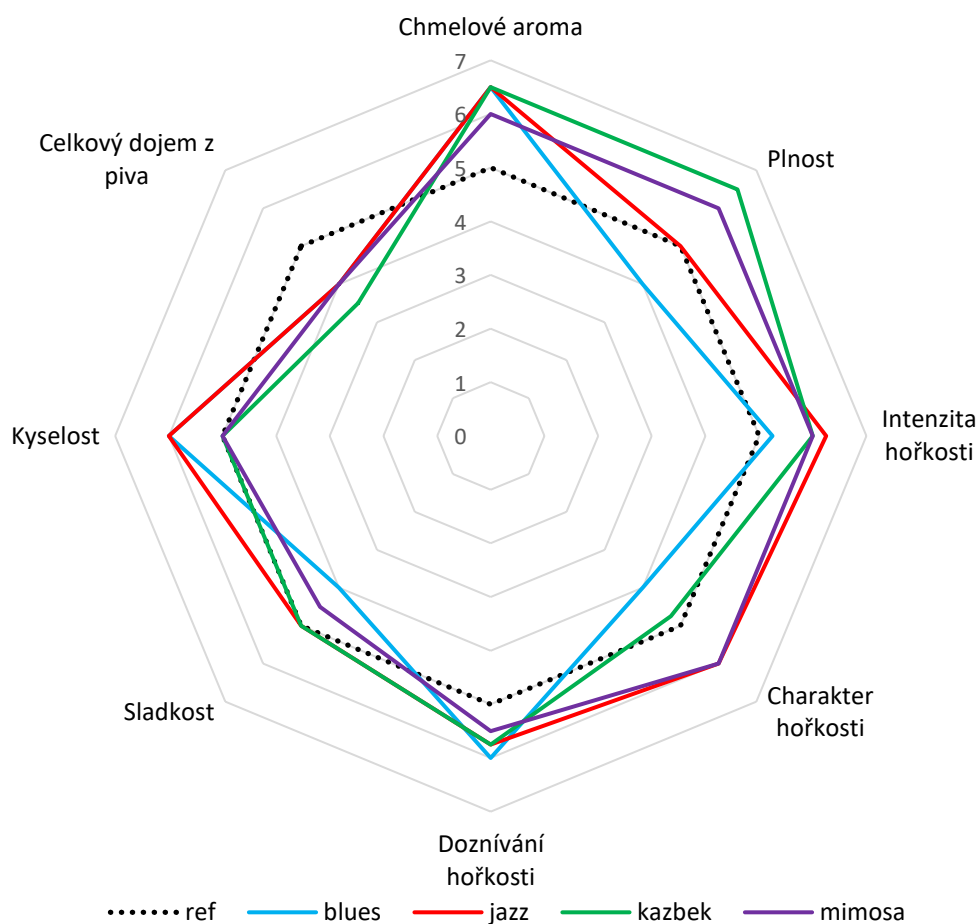
Rodrigo (2017) ve své práci analyzoval prvkové složení řady piv různých stylů. U piv připravených podle pivního stylu IPA, pro který je typické výrazné studené chmelení (jako součást tohoto stylu) zaznamenal u prvků Ca, Cu, K i Mn výrazně vyšší hodnoty jejich koncentrací oproti pivům ležáckého typu, která se zpravidla studeně nechmelí [73].

### 4.3 Vliv studeného chmelení na organoleptické vlastnosti piva

Jedním z cílů této diplomové práce bylo ověřit vliv studeného chmelení nově vyšlechtěnými odrůdami chmele na organoleptické vlastnosti piva. Sensorická analýza vzorků probíhala dle postupu uvedeného v kapitole 3.2.3 a dle sensorického dotazníku (příloha 8.1).

Vzorky chmelené za studena (po dobu tří dnů) byly porovnávány s referencí, která zaujímala středovou hodnotu pro všechny parametry – 5. U vzorků bylo hodnoceno chmelové aroma, plnost, intenzita, charakter a doznívání hořkosti, sladkost, kyselost a celkový dojem z piva. Vzorky byly hodnoceny na stupnici od nuly do desíti, u celkového dojmu od jedné do desíti (jedna – velmi dobré, deset – nepitelné). Dotazník byl sestaven podle Olšovská et al. [75].

Senzorické analýzy se zúčastnilo 18 hodnotitelů, z výsledků byly vypočítány mediány, které jsou prezentovány na paprskovém grafu 1.



Graf 1 Výsledky sensorické analýzy

V rámci sensorické analýzy bylo nejprve hodnoceno **chmelové aroma**. Pro studené chmelení a bioflavouing piva se jedná o stěžejní kritérium. Hodnotitelné všechny vzorky

definovali jako více aromatické než reference, a to o 1 až 1,5 bodu. Rozdíly mezi za studena chmelenými vzorky byly minimální. Tento jev lze spojovat s extrakcí aromaticky aktivních látek, zejména silic, během studeného chmelení [15]. Nejčastější aromaticky aktivní látky v chmelu jsou  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -karyofylen,  $\beta$ -farnesen,  $\alpha$ -humulen, které se vyznačují kořenitým aroma, linalool s intenzivním citrusovým aroma, který ve spojení s geraniolem nabývá aroma květinových tónů. V každé odrůdě chmelu se vyskytují další stovky až tisíce různých aromatických látek, ovšem většina z nich ve velmi nízkých koncentracích [15]. Je prokázáno, že studené chmelení prostřednictvím extrakce aromatických látek zvyšuje aromatickou intenzitu piva [16].

Pro studené chmelení jsou vhodné chmely s vysokým obsahem aromaticky aktivních látek, jsou označovány jako aromatické chmely tzv. *flavor hops*, jako jsou Hallertauer Mittelfrüh, Cascade nebo Citra. Každá odrůda má jiný obsah a poměr aromatických látek a dodá pivu jiný sensorický profil [26]. Tyto odrůdy jsou běžně využívány při bioflavouringu svrchně kvašených piv, zejména stylu IPA, což vytváří unikátní pivní styl s intenzivním chmelovým aroma [15].

K signifikantnímu nárůstu chmelového aroma došlo po aplikaci chmele Kazbek. V současné době narůstá popularita právě této české odrůdy chmelu jako materiálu vhodného pro studené chmelení a stává se tak alternativou k zahraničním aromatickým chmelům. Tato odrůda se vyznačuje především vyšším obsahem humulenu ve formě epoxidů a linaloolu s typickou citrusovou a kořenitou chutí. Krofta (2019) uvádí, že Kazbek je kvalitní aromatický chmel vhodný jak pro použití během chmelovaru, tak během studeného chmelení, kdy dodává pivu příjemné citrusové aroma [26], což se potvrdilo i v této práci.

Odrůdy Jazz a Blues vykazovaly během sensorické analýzy stejný nárůst chmelového aroma jako při chmelení odrůdou Kazbek. Pouze pivo studeně chmelené odrůdou Mimosa bylo hodnoceno jako o půl bodu méně aromatické, což mohlo být způsobeno nižším obsahem humulenu u této odrůdy. Obecně lze zhodnotit, že testované odrůdy chmele pozitivně ovlivnily chmelové aroma.

Dalším významným parametrem souvisejícím se sensorickou kvalitou piva je **hořkost**. Při sensorické analýze se hodnotí její **intenzita, charakter a doznívání**.

Ve všech případech došlo studeným chmelením ve srovnání s referenčním vzorkem k nárůstu **intenzity hořkosti**. Zvýšení hořkosti piva je průvodním jevem studeného chmelení a je způsobené extrakcí hořkých chmelových látek. Zvýšený obsah hořkých látek byl u všech studeně chmelených vzorků potvrzen také chemickou analýzou hořkosti (kap. 4.1.2). Tyto hořké látky se očividně projeví i při sensorické analýze a hodnotitelé vnímali hořkost studeně chmelených piv jako intenzivnější. Jako nejvíce intenzivní bylo hodnoceno pivo studeně chmelené odrůdou Jazz (6,25 bodů). O čtvrt bodu nižší intenzita hořkosti byla zaznamenána u vzorků chmelených odrůdou Kazbek a Mimosa a vzorek Blues vykazoval podobnou intenzitu hořkosti jako referenční pivo (5,25). Obdobné výsledky vnímání intenzity hořkosti při sensorické analýze piv chmelených za studena potvrdila i Štefániková et al. (2020). Porovnála několik vzorků studeně chmelených piv s nechmelenou referencí, z nichž většina (včetně vzorku chmeleného odrůdou Kazbek), vyjma jednoho vzorku, vykazovala vyšší intenzitu hořkosti [54].

Kromě intenzity, která byla u chmelů Kazbek, Jazz a Blues vnímána podobně, se také hodnotil **charakter hořkosti**. Tento parametr se u jednotlivých odrůd lišil. U vzorků Blues a Kazbek byla hořkost posouzena oproti referenci jako jemnější, u vzorků Jazz a Mimosa byla vnímána jako drsnější. Jemnější vnímání hořkosti u vzorků Blues a Kazbek může být způsobeno již výše zmíněnými humulinony, které dodávají hořkosti piva jemnější charakter. Humulinony jsou oxidační produkty  $\alpha$ -hořkých kyselin, které jsou u odrůd Blues a Kazbek zastoupeny ve vyšší koncentraci než u odrůd Jazz a Mimosa [18, 55].

**Doznívání hořkosti** bylo u všech vzorků chmelených za studena hodnoceno jako vyšší než reference. Tento výsledek pravděpodobně souvisí se zvýšeným obsahem hořkých látek, potvrzených chemickou i senzorkou analýzou (v rámci hodnocení intenzity hořkosti).

Z výsledků intenzity, charakteru a doznívání hořkosti lze usoudit, že při studeném chmelení pomocí použitých odrůd budou mít výsledná piva rozdílný senzorký profil a použitím jednotlivých chmelů může být dosaženo jiné hořkosti a jejího odlišného vnímání.

Dalšími hodnocenými parametry piva byla **sladkost a kyselost**. Studeně chmelené vzorky vykazovaly stejnou nebo podobnou sladkost jako reference. Nejvýraznější změna nastala u vzorku studeně chmeleného odrůdou Blues, u kterého došlo k poklesu sladkosti o jeden bod. Tento jev nemusí nutně souviset se zvýšeným obsahem látek přímo ovlivňujících sladkost, ale může se jednat o jev synerge s jinými chutěmi. Podle Stampanoni (1993) kyselost a obsah organických kyselin prokazatelně ovlivňuje vnímání sladkosti nápojů [57] a pokles sladkosti u vzorku Blues mohl být způsoben právě jeho vyšší kyselostí.

Byla také zaznamenána vyšší kyselost vzorků chmelených odrůdou Blues a Jazz, a to o jeden bod oproti referenci. Hong et al. (2015) uvádí, že vyšší obsah organických kyselin má vliv na kyselou chuť piva [56]. Během studeného chmelení dochází k extrakci organických kyselin z chmelové materiálu do piva [16]. Chemická analýza (kap. 4.2.2) potvrdila vyšší obsah několika organických kyselin u studeně chmelených vzorků. U vzorků Blues a Jazz došlo oproti referenci k nejvyššímu nárůstu koncentrace kyseliny citronové a jablečné, což právě mohlo způsobit jejich vyšší kyselost.

Dále byl hodnocen vliv studeného chmelení novými odrůdami chmele na vnímání **plnosti piva**. Piva chmelená odrůdami Kazbek a Mimosa byla charakteristická vyšší plností oproti referenčnímu vzorku. Zlepšení vnímání plnosti může být spojeno se specifickým aroma a sladkostí. Štefániková et al. (2017) zaznamenala výrazný nárůst právě karamelového aroma u vzorků studeně chmelených odrůdou Kazbek [54], což podporuje výsledky z této diplomové práce. Naopak vzorek Blues byl hodnocen se skóre o jednotku nižší než reference. Zhoršení tohoto parametru může být spojeno s vyšší koncentrací organických kyselin, a tedy vyšší kyselostí piva. To bylo potvrzeno jak analýzou organických kyselin, tak i analýzou senzorkou. Plnost je dána primárně zbytkovými neprokvašenými cukry v pivu [75] a vyšší kyselost mohla potlačit sladkost těchto cukrů a s ní i plnost piva.

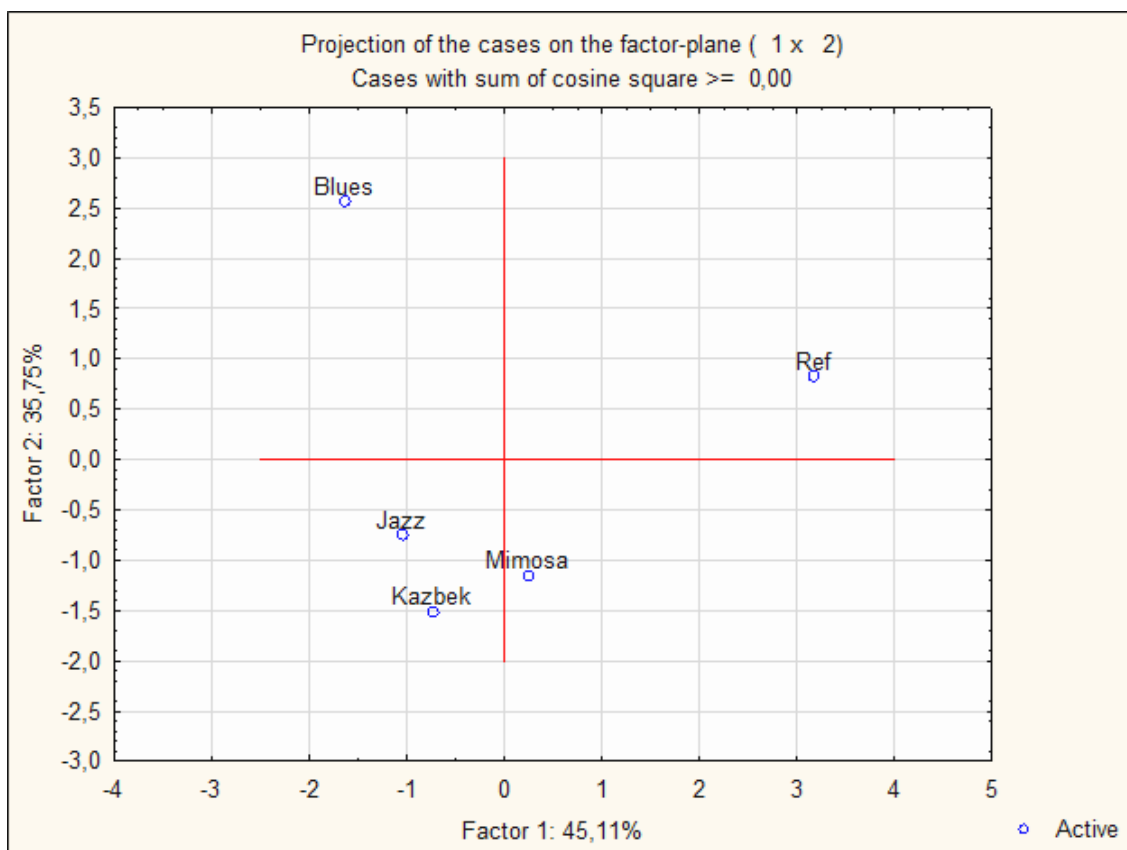
Finálním hodnoceným parametrem byl **celkový dojem piva**, což je soubor všech testovaných vlastností. Tento parametr vypovídá o tom, jak hodnotitelům pivo chutnalo a jaké byly jejich preference. Piva studeně chmelená odrůdami Blues, Jazz a Mimosa byla hodnocena o 1 bod lépe než reference, u odrůdy Kazbek o 1,5 bodu. Tento výsledek koreluje se studií

provedenou Kroftou et al. (2019), kdy byl chmel Kazbek s různými navážkami a časy chmelení použit na studené chmelení. Sensoricky byly nejlépe ohodnoceny vzorky s navážkami 2,5 a 4,0 g /l a dobou studeného chmelení tři dny [26]. V naší práci byla použita podobná dávka chmele (3 g/l) a stejná doba chmelení.

Z výsledků provedené sensorické analýzy lze vyvodit, že nové odrůdy chmele Jazz, Blues, Kazbek a Mimosa jsou vhodné pro studené chmelení a vylepšují celkové hodnocení piva. Statistická (korelační) analýza nepotvrdila žádné signifikantní spojitosti mezi jednotlivými parametry a celkovým hodnocením piva. Lze tedy usoudit, že na něj měl vliv spíše soubor těchto parametrů jako celek.

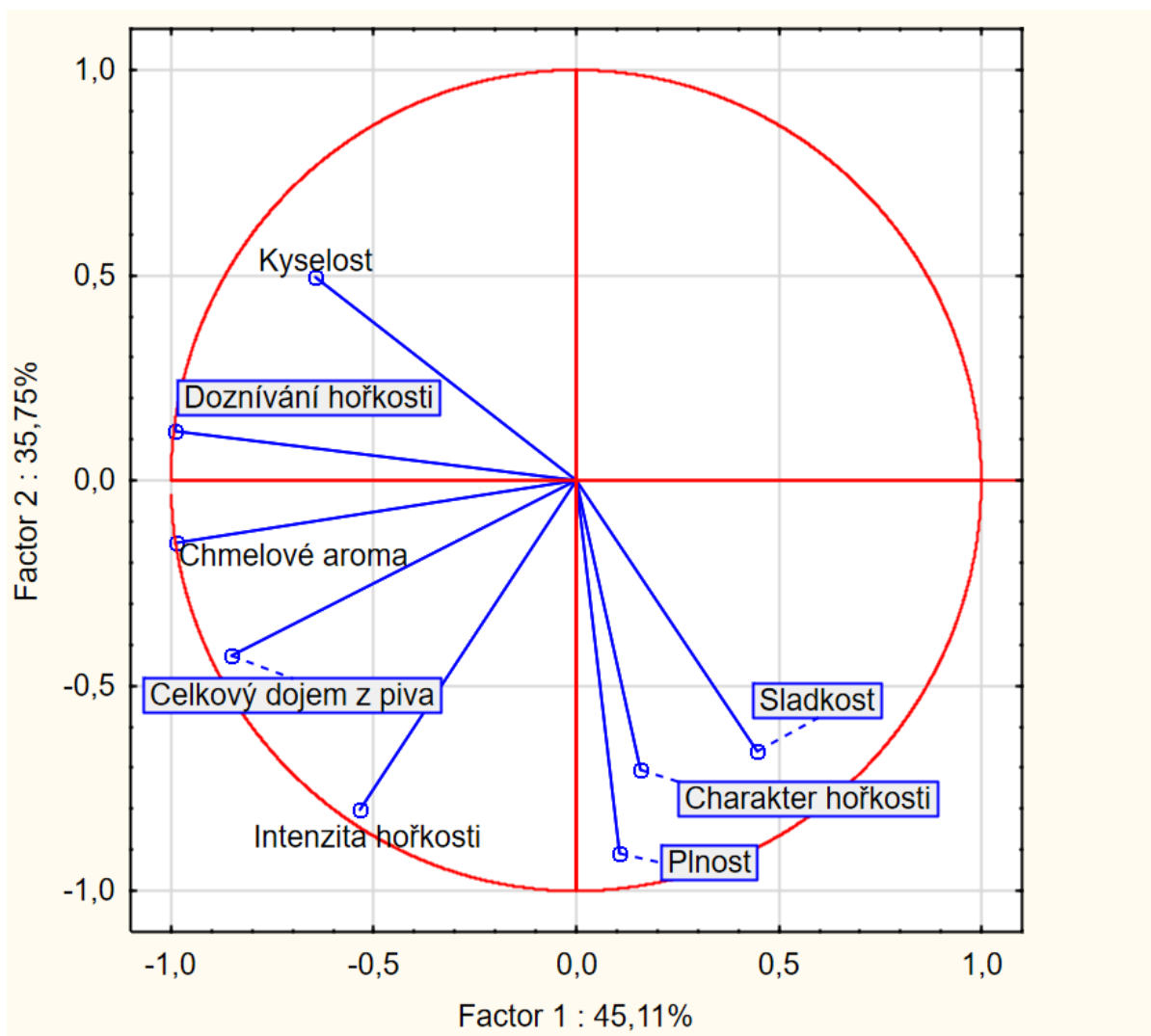
#### 4.4 Vliv studeného chmelení na organoleptické vlastnosti piva z pohledu vícerozměrné statistické analýzy

Výsledky ze sensorické analýzy byly vyhodnoceny také pomocí vícerozměrné analýzy a jsou prezentovány na PCA grafech (obrázky 15 a 16). Z grafů je patrné rozdíly mezi jednotlivými odrůdami chmele v závislosti na jednotlivých sensorických parametrech.



Obrázek 15 Výsledky analýzy hlavních komponent

Došlo k rozdělení vzorků piv do tří skupin a všechny studeně chmelené vzorky se od reference lišily. Referenční pivo se vyprojektovalo do oblasti s pozitivním skóre pro komponentu F1 i F2, pivo chmelené odrůdou Blues vykazovalo záporné skóre komponenty F1 a pozitivní komponenty F2. Piva studeně chmelená odrůdami Jazz, Kazbek a Mimosa vytvořila klastr v negativním sektoru komponenty F2 a byla na rozhraní pozitivních a záporných hodnot komponenty F1.



Obrázek 16 Výsledky analýzy hlavních komponent

Z výsledků sensorické analýzy převedených do faktorové roviny komponent F1 a F2 lze usoudit, že žádný z parametrů nebyl charakteristický pro referenční nechmelený vzorek. Pro vzorek Blues byla charakteristická vyšší kyselost a doznívání hořkosti a těmito parametry se výrazně odlišoval od zbylých studeně chmelených vzorků.

Pro vzorky Jazz, Kazbek a Mimosa, byla příznačná intenzita a charakter hořkosti, plnost a také sladkost a chmelové aroma. Celkový dojem piva se odvíjel především od chmelového aroma a intenzity hořkosti.



## 5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo prostudovat vlastnosti nových českých aromatických odrůd chmele a jejich vliv na bioflavouing pív při studeném chmelení.

Experimentální část byla zaměřena na přípravu referenčního piva a pív studeně chmelených vybranými českými odrůdami chmele. U takto zhotovených pív proběhla senzoričká analýza a byly stanoveny základní charakteristiky a chemické složení z pohledu obsahu fenolických látek, organických kyselin a vybraných chemických prvků.

Bylo zjištěno, že studeným chmelením došlo ke zvýšení hořkosti piva. Tento jev je připisován zejména extrakci humulinonů a huluponů, což jsou oxidační produkty  $\alpha$ - a  $\beta$ -hořkých kyselin. Nejvýraznější nárůst byl zjištěn u piva studeně chmeleného odrůdou Kazbek, která vykazuje z použitých odrůd nejvyšší zastoupení těchto hořkých kyselin. U studeně chmelených vzorků byl zaznamenán také nárůst barvy, který byl pravděpodobně způsoben zákalem. Tento zákal vzniká polymerací fenolických látek, jejichž koncentrace byla u studeně chmelených vzorků také vyšší. Výrazný nárůst byl zjištěn zejména u flavonoidů, které měly pozitivní účinek na antioxidační aktivitu studeně chmelených pív.

Vliv studeného chmelení na koncentraci organických kyselin byl zaznamenán ve vyšší míře pouze u kyseliny jablečné. Hodnota pH studeně chmelených vzorků byla totožná pH nechmelené reference a studené chmelení nezpůsobilo prostřednictvím organických kyselin změny v pH piva.

Bioflavouing pomocí studeného chmelení změnil také prvkové složení zkoumaných pív, výrazněji se to projevilo na koncentraci draslíku, manganu, mědi a vápníku. Draslík ve formě chloridů má vliv na plnost a sladkou chuť piva. Také měď může přispívat ke zlepšení kvality piva, ovšem společně s manganem negativně ovlivňují jeho koloidní stabilitu. Draslík se podílí na antioxidačních vlastnostech a podporuje v pivu sladkou a jemnou chuť.

S chemickým složením je také propojeno senzoričké vnímání piva. Studeně chmelená piva obecně vykazovala vyšší chmelové aroma a vyšší hořkost. Měla také lepší celkový dojem. Nejlépe hodnoceno bylo pivo studeně chmelené odrůdou Kazbek. Toto pivo vykazovalo kromě vysokého chmelového aroma také vyšší plnost a vyrovnanou kyselost a sladkost. Přestože hořkost tohoto piva stoupla o 12 IBU, nebylo hodnoceno jako příliš hořké a charakter jeho hořkosti byl vnímán jako jemnější než u reference.

Z výsledků této práce plyne, že se novými českými odrůdami chmele podařilo připravit piva, která jsou aromaticky a chuťově atraktivní, a tyto nové aromatické odrůdy jsou vhodné pro bioflavouing pív pomocí studeného chmelení.

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] BASAŘOVÁ, Gabriela, 2010. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [2] KOSAŘ, Karel, 2000. *Technologie výroby sladu a piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 80-902-6586-3
- [3] NOVOTNÝ, Petr, 2019. *Pivařka<sup>2</sup>: průvodce domácího sládka: teorie, rady, návody, recepty*. V Brně: Jota. Populárně naučná. ISBN 978-80-7565-555-4.
- [4] KROFTA, Karel a Alexandr MIKYŠKA, 2014. Hop beta acids: Properties, significance and utilization. *Kvasny Prumysl* [online]. 60(4), 96-105 [cit. 2022-05-06]. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2014010
- [5] DE KEUKELEIRE, Denis, 2000. Fundamentals of beer and hop chemistry. *Química Nova*. 23(1), 108-112. ISSN 0100-4042. Dostupné z: doi:10.1590/S0100-40422000000100019
- [6] MEILGAARD, M., 1960. HOP ANALYSIS, COHUMULONE FACTOR AND THE BITTERNESS OF BEER: REVIEW AND CRITICAL EVALUATION. *Journal of the Institute of Brewing*. 66(1), 35-50. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1960.tb01696.x
- [7] JURKOVÁ, Marie, Pavel ČEJKA a Jana OLŠOVSKÁ, 2012. New trends in liquid chromatography and their utilization in analysis of beer and brewery raw materials. Part 3. Comparison of HPLC and UHPLC determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -acids. *Kvasny Prumysl*. 58(6), 166-170. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2012016
- [8] SPETSIG, L. O., 1955: Electrolytic constants and solubilities of humulinic acid, humulone and lupulone. *Acta Chem. Scand.*, 9: 1421–1424.
- [9] ZHANG, Guoqing, Nan ZHANG, Anran YANG, Jingling HUANG, Xueni REN, Mo XIAN a Huibin ZOU. Hop bitter acids: resources, biosynthesis, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-021-11329-4
- [10] TANIGUCHI, Yoshimasa, Yasuko MATSUKURA, Hiromi OZAKI, Koichi NISHIMURA a Kazutoshi SHINDO, 2013. Identification and Quantification of the Oxidation Products Derived from  $\alpha$ -Acids and  $\beta$ -Acids During Storage of Hops (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(12), 3121-3130. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf3047187
- [11] MIKYŠKA, A., JURKOVÁ, M., ČEJKA, P., KROFTA, K., 2012: *Nové poznatky o hořkosti beta kyselin chmele*. Sborník přednášek a plných textů XX. konference technologie a hodnocení výrobků nápojového průmyslu, Plzeň 14. a 15. června 2012. ISBN 978-80-7080-831-3
- [12] NESVADBA, Vladimír, Zdenka POLONČÍKOVÁ a Alena HENYCHOVÁ, 2012. Brewing characteristics of Czech fine aroma hops "Saaz": REVIEW AND CRITICAL EVALUATION. *Kvasny Prumysl*. 58(7-8), 209-214. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2012020
- [13] KROFTA, Karel a kol. *Rajonizace českých odrůd chmele: Metodika pro praxi 4/10*. Zatec: Chmelářský institut, 2010, 76 s. ISBN 978-80-87357-04-0.

- [14] WILLAERT, Ronnie, Hubert VERACHTERT, Karen VAN DEN BREMT, Freddy DELVAUX a Guy DERDELINCKX, 2005. Bioflavouring of Foods and Beverages. *Applications of Cell Immobilisation Biotechnology*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2005, 355-372. Focus on Biotechnology. ISBN 978-1-4020-3229-5. Dostupné z: doi:10.1007/1-4020-3363-X\_21
- [15] JELÍNEK, Lukáš, Jana MÜLLEROVÁ, Marcel KARABÍN, Pavel DOSTÁLEK a Guy DERDELINCKX, 2018. The secret of dry hopped beers - Review. *Kvasny Prumysl*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2005, 64(6), 287-296. Focus on Biotechnology. ISBN 978-1-4020-3229-5. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp201836
- [16] LAFONTAINE, Scott R., Thomas H. SHELLHAMMER, Marcel KARABÍN, Pavel DOSTÁLEK a Guy DERDELINCKX, 2018. Impact of static dry-hopping rate on the sensory and analytical profiles of beer. *Journal of the Institute of Brewing*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2005, 124(4), 434-442. Focus on Biotechnology. ISBN 978-1-4020-3229-5. ISSN 0046-9750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.517
- [17] NESVADBA, Vladimír, Zdeňka POLONČÍKOVÁ, Alena HENYCHOVÁ, Karel KROFTA a Josef PATZAK, 2012. *Czech hop varieties*. 1. Žatec: Chmelářský institut s.r.o. ISBN 978-80-87357-11-8.
- [18] *Český chmel: Czech hops*, [2021] -. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky ve spolupráci se Svazem pěstitelů chmele České republiky. ISBN 978-80-7434-620-0.
- [19] *Český chmel: Czech hops*, [2020]-. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky ve spolupráci se Svazem pěstitelů chmele České republiky. ISBN 978-80-7434-572-2.
- [20] VANDERHAEGEN, B., H. NEVEN, S. COGHE, K. J. VERSTREPEN, G. DERDELINCKX a H. VERACHTERT, 2003. Bioflavoring and beer refermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 62(2-3), 140-150. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-003-1340-5
- [21] NESVADBA, Vladimír, Zdeňka POLONČÍKOVÁ, Alena HENYCHOVÁ, K. J. VERSTREPEN, G. DERDELINCKX a H. VERACHTERT, 2012. Brewing characteristics of Czech fine aroma hops "Saaz." *Kvasny Prumysl*. 58(7-8), 209-214. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2012020
- [22] PLUHÁČKOVÁ, Helena, Jaroslava EHRENBERGEROVÁ, Pavel KRETEK, Blanka KOCOURKOVÁ, G. DERDELINCKX a H. VERACHTERT, 2011. Hop essential oils in the selected varieties from differently old hop yards. *Kvasny Prumysl*. 57(7-8), 266-271. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2011030
- [23] NESVADBA, Vladimír, Jitka CHARVÁTOVÁ, Josef VOSTŘEL, Markéta WERSCHALLOVÁ, G. DERDELINCKX a H. VERACHTERT, 2020. Evaluation of Czech hop cultivars since 2010 till 2019. *Plant, Soil and Environment*. 66(12), 658-663. ISSN 12141178. Dostupné z: doi:10.17221/430/2020-PSE
- [24] JELÍNEK, L., M. ŠNEBERGER, M. KARABÍN a P. DOSTÁLEK, 2010. Comparison of Czech hop cultivars based on their content of secondary metabolites. *Czech Journal of Food Sciences*. 28(4), 309-316. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/65/2010-CJFS
- [25] EYRES, Graham, Jean-Pierre DUFOUR, Josef VOSTŘEL, Markéta WERSCHALLOVÁ, G. DERDELINCKX a H. VERACHTERT, 2009. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2009, 66(12), 239-254. ISBN 9780123738912. ISSN 12141178. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-373891-2.00022-5

- [26] KROFTA, Karel, Josef PATZAK, Tomáš SEDLÁK, Alexandr MIKYŠKA, Karel ŠTĚRBA a Marie JURKOVÁ, 2019. Kazbek – The First Czech Aroma “Flavor Hops” Variety: Characteristics and Utilization. *KVASNY PRUMYSL*. Elsevier, 2009, 65(2), 239-254. ISBN 9780123738912. ISSN 2570-8619. Dostupné z: doi:10.18832/kp2019.65.72
- [27] PARKIN, Ellen, Thomas SHELLHAMMER, Tomáš SEDLÁK, Alexandr MIKYŠKA, Karel ŠTĚRBA a Marie JURKOVÁ, 2017. Toward Understanding the Bitterness of Dry-Hopped Beer: Characteristics and Utilization. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. Elsevier, 2009, 75(4), 363-368. ISBN 9780123738912. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2017-4311-01
- [28] Podeszwa PODESZWA, Tomasz a Joanna HARASYM, 2016. NEW METHODS OF HOPPING (DRYHOPPING) AND THEIR IMPACT ON SENSORY PROPERTIES OF BEER. *Acta Innovations*. Department of Biotechnology and Food Analysis, Faculty of Engineering and Economics, Wroclaw University of Economics, 21, 81-88. ISSN 2300-5599.
- [29] OLŠOVSKÁ, Jana, Pavel ČEJKA, Karel ŠTĚRBA, Martin SLABÝ a František FRANTÍK, 2017. *Senzorická analýza piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 978-80-86576-74-9.
- [30] BASAŘOVÁ, Gabriela, 2011. *České pivo*. 3., dopl. vyd. Praha: Havlíček Brain Team. ISBN 978-80-87109-25-0.
- [31] Degustace piva, 2017. In: *BeerWeb.cz* [online]. Praha: BeerWeb [cit. 2022-05-06]. Dostupné z: <https://beerweb.cz/o-pivu/degustace-piva>
- [32] KLOUDA, Pavel, 2016. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [33] C. ALMAGUER, M. GASTL, E.K. ARENDT, T. BECKER, Contributions of hop hard resins to beer quality, *BrewingScience*, 65 (7-8) (2012) 118-129.
- [34] A. FORSTER, M. BIENDL, C. SCHÖNBERGER, B. ENGELHARD, A. GAHR, A. LUTZ, W. MITTER, R. SCHMIDT, Hops: Their Cultivation, Composition and Usage, Fachverlag Hans Carl 2014.
- [35] ZACHAŘ, P. a D. SÝKORA. Plynová chromatografie. *Vysoká škola chemicko - technologická v Praze* [online]. Praha: VŠCHT, b.r. [cit. 2018-04-24]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>
- [36] BAHADIR, Ozlem, 2013. Ion-Exchange Chromatography and Its Applications. *Column Chromatography*. InTech, 2013-04-10. ISBN 978-953-51-1074-3. Dostupné z: doi:10.5772/55744
- [37] AGUILAR, Marie-Isabel, 2003. HPLC of Peptides and Proteins: Basic Theory and Methodology. *HPLC of Peptides and Proteins*. New Jersey: Humana Press, 3-8. ISBN 1-59259-742-4. Dostupné z: doi:10.1385/1-59259-742-4:3
- [38] ŠTULÍK, Karel, 2004. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0852-9
- [39] GHOSH, Somsubhra, PRASANNA, V.L. SOWJANYA B., SRIVANI, P. ALAGARAJA, M., BANJI, David. (2013). *Inductively coupled plasma - Optical emission spectroscopy: A review*. *Asian J. Pharm. Ana.* 3. 24-33. ISBN 2231-5675
- [40] VONDERHEIDE, Anne P., Baki B.M. SADI, Karen L. SUTTON, Jodi R. SHANN a Joseph A. CARUSO, 2006. Environmental and Clinical Applications of Inductively

- Coupled Plasma Spectrometry. *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2007-11-12, 338-386. ISBN 9780470988794. Dostupné z: doi:10.1002/9780470988794.ch10
- [41] SALAMON, Rozália Veronika, Adriana DABIJA, Ágota FERENCZ, György TANKÓ, Marius Eduard CIOCAN a Georgiana Gabriela CODINĂ, 2022. The Effect of Dry Hopping Efficiency on  $\beta$ -Myrcene Dissolution into Beer. *Plants*. 11(8). ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants11081043
- [42] KAHLE, Eva-Maria, Martin ZARNKOW, Fritz JACOB, György TANKÓ, Marius Eduard CIOCAN a Georgiana Gabriela CODINĂ, 2021. Beer Turbidity Part 1: A Review of Factors and Solutions. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 79(2), 99-114. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1080/03610470.2020.1803468
- [43] ČEJKA, P., J. ČEPIČKA, P. ZÍTEK a G. BASAŘOVÁ, 1983. Comparison of subjective and objective methods for a colorimetric measurement of wort. *Kvasny Prumysl*. 29(3), 52-56. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1983009
- [44] CARVALHO, Felipe Reinoso, Pieter MOORS, Johan WAGEMANS a Charles SPENCE, 2017. The Influence of Color on the Consumer's Experience of Beer. *Frontiers in Psychology*. 8(3), 52-56. ISSN 1664-1078. Dostupné z: doi:10.3389/fpsyg.2017.02205
- [45] PARKIN, Ellen Jane, 2014. The Influence of Polyphenols and Humulinones on Bitterness in Dry-Hopped Beer. Master thesis. Oregon State University.
- [46] *Technical Quarterly*, 2016. 8. ISSN 07439407. Dostupné také z: <http://www.mbaa.com/publications/tq/tqPastIssues/2016/Pages/TQ-53-3-0808-01.aspx>
- [47] OLADOKUN, Ola a Trevor COWLEY, 2017. Dry-Hopping: the Effects of Temperature and Hop Variety on the Bittering Profiles and Properties of Resultant Beers. *Brewing science*.
- [48] ALGAZZALI, Victor a Thomas SHELLHAMMER, 2018. Bitterness Intensity of Oxidized Hop Acids: Humulinones and Hulupones. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 74(1), 36-43. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2016-1130-01
- [49] PEACOCK, V. Fundamentals of Hop Chemistry. 35 (1) :4–8 1998.
- [50] STEVENS, R., Wright, D., 1961: Evaluation of hops X. Hulupones and the significance of beta acids in brewing. *J. Inst. Brew.*, 67: 496–501.
- [51] HASELEU, G., INTELMAAN, D., HOFMANN, T., 2009a: Structure determination and sensory evaluation of novel bitter compounds formed from beta-acids of hop (*Humulus lupulus* L.) upon wort boiling. *Food Chem.*, 116: 71–81.
- [52] HASELEU, G., INTELMAAN, D., HOFMANN, T., 2009b: Identification and RP-HPLC-ESI-MS/MS quantitation of bitter-tasting beta-acids transformation products in beer. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 7480–7489
- [53] Dry Hopping and Its Effect on Beer Bitterness, the IBU Test, and pH, 2018. In: *BRAUWELT INTERNATIONAL*. s. 25-29.
- [54] ŠTEFÁNIKOVÁ, Jana, Veronika NAGYOVÁ, Matej HYNŠT, Dominika KUDLÁKOVÁ, Július ÁRVAY a Štefan DRÁB, 2020. A comparison of sensory evaluation and an electronic nose assay in the assessment of aroma in dry hopped beers. In: *KVASNY PRUMYSL*. s. 25-29. ISSN 2570-8619. Dostupné z: doi:10.18832/kp2020.66.224

- [55] *Technical Quarterly*, 2016. ISSN 07439407. Dostupné také z: <http://www.mbaa.com/publications/tq/tqPastIssues/2016/Pages/TQ-53-1-0227-01.aspx>
- [56] LI, Hong a Fang LIU, 2015. The chemistry of sour taste and the strategy to reduce the sour taste of beer. *Food Chemistry*. 185, 200-204. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.135
- [57] STAMPANONI, Chantal R. a Fang LIU, 1993. Influence of acid and sugar content on sweetness, sourness and the flavour profile of beverages and sherbets. *Food Quality and Preference*. 4(3), 169-176. ISSN 09503293. Dostupné z: doi:10.1016/0950-3293(93)90159-4
- [58] KROFTA, Karel, Světlana VRABCOVÁ, Alexandr MIKYŠKA a Marie JURKOVÁ. Vliv oxidačních produktů beta kyselin chmele na hořkost piva. *Kvasný průmysl*. 10-11(53), 1-7.
- [59] MONTANARI, Luigi, Giuseppe PERRETTI, Fausta NATELLA, Alessia GUIDI a Paolo FANTOZZI, 1999. Organic and Phenolic Acids in Beer. *LWT - Food Science and Technology*. 32(8), 535-539. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1006/fstl.1999.0593
- [60] COOTE, N., B. H. KIRSOP, Fausta NATELLA, Alessia GUIDI a Paolo FANTOZZI, 1974. THE CONTENT OF SOME ORGANIC ACIDS IN BEER AND OTHER FERMENTED MEDIA. *Journal of the Institute of Brewing*. 80(5), 474-483. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1974.tb06797.x
- [61] KLOPPER, W. J., S. A. G. F. ANGELINO, B. TUNING, H. A. VERMEIRE a Paolo FANTOZZI, 1986. ORGANIC ACIDS AND GLYCEROL IN BEER. *Journal of the Institute of Brewing*. 92(3), 225-228. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.1986.tb04405.x
- [62] LI, g, Fang LIU, B. TUNING, H. A. VERMEIRE a Paolo FANTOZZI, 2018. Changes in Organic Acids during Beer Fermentation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 73(3), 275-279. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1094/ASBCJ-2015-0509-01
- [63] ABU-REIDAH, Ibrahim M., Fang LIU, B. TUNING, H. A. VERMEIRE a Paolo FANTOZZI, 2020. Carbonated Beverages. *Trends in Non-alcoholic Beverages*. Elsevier, 2020, 73(3), 1-36. ISBN 9780128169384. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816938-4.00001-X
- [64] COCUZZA, S., MITTER, W., 2013: Revival of a process: Dry-hopping - basics and techniques. *Brewing and beverage industry international*, 3: 28–30.
- [65] SCHÖNBERGER, C., BIENDL, M., SCHMIDT, R., MITTER, W., GAHR, A., FORSTER, A., ENGELHARD, B., LUTZ, A., 2015: Hops: Their cultivation, composition and usage. Fachverlag Hans Carl. ISBN 3418009042.
- [66] ČEJKA, Pavel a Ondřej KOUCKÝ. Pivo všemi smysly: Senzorické hodnocení piva. In: *Vesmír.cz* [online]. 2006/09 [cit. 2022-05-11]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2006/cislo-9/pivo-vsemi-smysly.html>
- [67] HOFTA, Pavel, Pavel DOSTÁLEK a Gabriela BASAŘOVÁ, 2004. XANTHOTHUMOL CHMELOVÁ PRYSKY ! ICE NEBO POLYFENOL?. *Chemické listy*. 2004(98), 1-6.
- [68] MITIĆ, Snežana S., Dušan Đ. PAUNOVIĆ, Aleksandra N. PAVLOVIĆ, Snežana B. TOŠIĆ, Milan B. STOJKOVIĆ a Milan N. MITIĆ, 2013. Phenolic Profiles and Total Antioxidant Capacity of Marketed Beers in Serbia. *International Journal of Food*

*Properties.* 17(4), 908-922. ISSN 1094-2912. Dostupné z:  
doi:10.1080/10942912.2012.680223

- [69] NARDINI, Mirella, Maria Stella FODDAI, Aleksandra N. PAVLOVIĆ, Snežana B. TOŠIĆ, Milan B. STOJKOVIĆ a Milan N. MITIĆ, 2020. Phenolics Profile and Antioxidant Activity of Special Beers. *Molecules.* 25(11), 908-922. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25112466
- [70] GRIBKOVA, Irina N., Larisa N. KHARLAMOVA, Irina V. LAZAREVA, Maxim A. ZAKHAROV, Varvara A. ZAKHAROVA a Valery I. KOZLOV, 2022. The Influence of Hop Phenolic Compounds on Dry Hopping Beer Quality. *Molecules.* 27(3), 908-922. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules27030740
- [71] KELLNER, V.; CEJKA, J. Nová moderní metoda stanovení některých fenolických látek. *Kvasný průmysl.* 2004, c. 7, s. 210
- [72] PASZKOT, Justyna, Joanna KAWA-RYGIELSKA, Mirosław ANIOŁ, Maxim A. ZAKHAROV, Varvara A. ZAKHAROVA a Valery I. KOZLOV, 2021. Properties of Dry Hopped Dark Beers with High Xanthohumol Content. *Antioxidants.* 10(5), 908-922. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox10050763
- [73] RODRIGO, S., S. D. YOUNG, M. I. TALAVERANO, M. R. BROADLEY, Varvara A. ZAKHAROVA a Valery I. KOZLOV, 2017. The influence of style and origin on mineral composition of beers retailing in the UK. *European Food Research and Technology.* 243(6), 931-939. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-016-2805-y
- [74] *Beer in Health and Disease Prevention.* 2008. Londonn UK: Academic press. ISBN 978-0-12-373891-2.
- [75] GUIDO, Luis F., 2016. Sulfites in beer: reviewing regulation, analysis and role. *Scientia Agricola.* 73(2), 189-197. ISSN 0103-9016. Dostupné z: doi:10.1590/0103-9016-2015-0290
- [76] DENGIS P.B., NÉLISSEN L.R., ROUXHET P.G. (1995): Mechanism of yeast flocculation: Comparison of top- and bottom-fermenting strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 718-728.].
- [77] STYBURSKI, Daniel, Katarzyna JANDA, Irena BARANOWSKA-BOSIACKA, et al., 2018. Beer as a potential source of macroelements in a diet: the analysis of calcium, chlorine, potassium, and phosphorus content in a popular low-alcoholic drink. *European Food Research and Technology.* 244(10), 1853-1860. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-018-3098-0
- [78] KELLNER, V., P. ČEJKA, F. FRANTÍK, et al., 1987. Calcium significance in brewing: the analysis of calcium, chlorine, potassium, and phosphorus content in a popular low-alcoholic drink. *Kvasny Prumysl.* 33(12), 357-359. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1987070
- [79] ČEJKA, P., V. KELLNER, F. FRANTÍK, et al., 1989. Significance of copper in brewing technology: the analysis of calcium, chlorine, potassium, and phosphorus content in a popular low-alcoholic drink. *Kvasny Prumysl.* 35(5), 131-136. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp1989016

- [80] MONTANARI, Luigi, Heidi MAYER, Ombretta MARCONI, et al., 2009. Minerals in Beer: the analysis of calcium, chlorine, potassium, and phosphorus content in a popular low-alcoholic drink. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2009, 35(5), 359-365. ISBN 9780123738912. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-373891-2.00034-1
- [81] NESVADBA, Vladimír, Zdenka POLONČÍKOVÁ a Alena HENYCHOVÁ, 2012. Hop Breeding in the Czech Republic. *Kvasny Prumysl*. 58(2), 36-39. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2012006



## **7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ**

AOX – Antioxidant capacity

EBC – European Brewery Convention

EPM – Extrakt původní mladiny

IBU – International Bittering Unit

IC – Iontová chromatografie

ICP-OES – Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy

IPA – Indian Pale Ale

TOF – Time of flight

TPC – Total phenolic content

TFC – Total flavonoid content

ŽPČ - Žatecký poloraný červeňák

## 8 PŘÍLOHY

### 8.1 Dotazník k sensorické analýze piva

**Datum:**

**Pohlaví:**

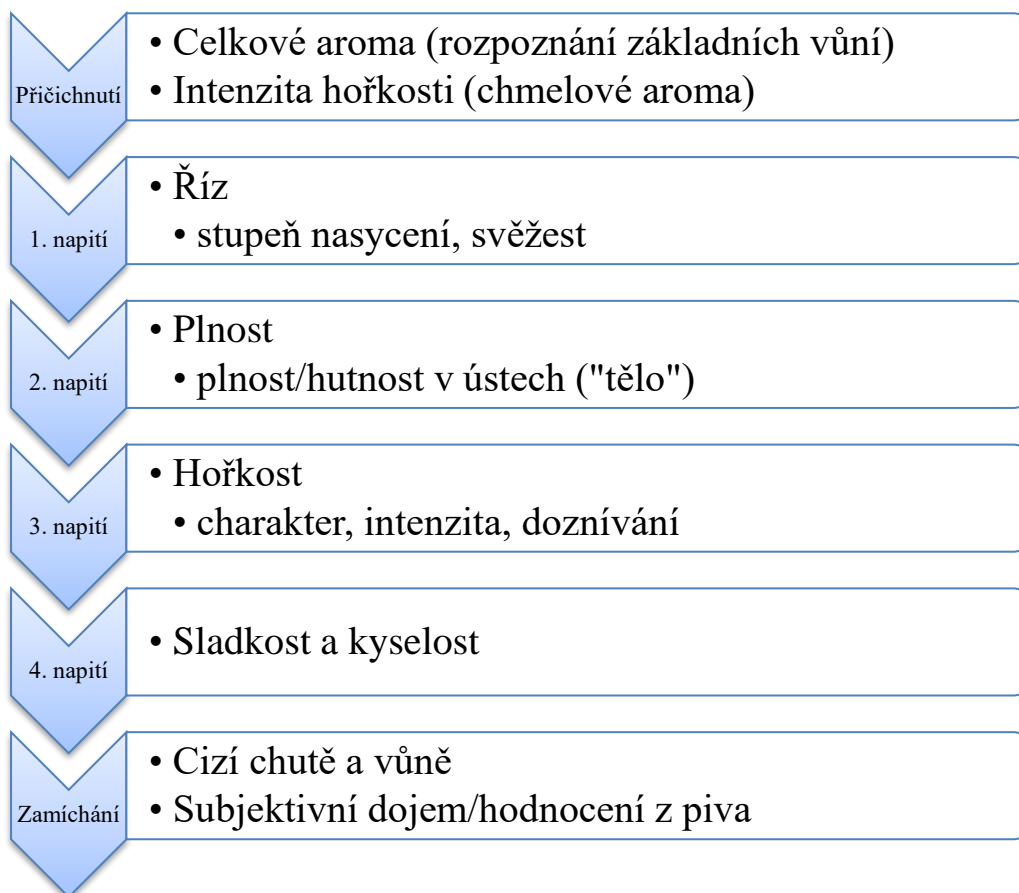
muž x žena

**Konzumuji pivo:**

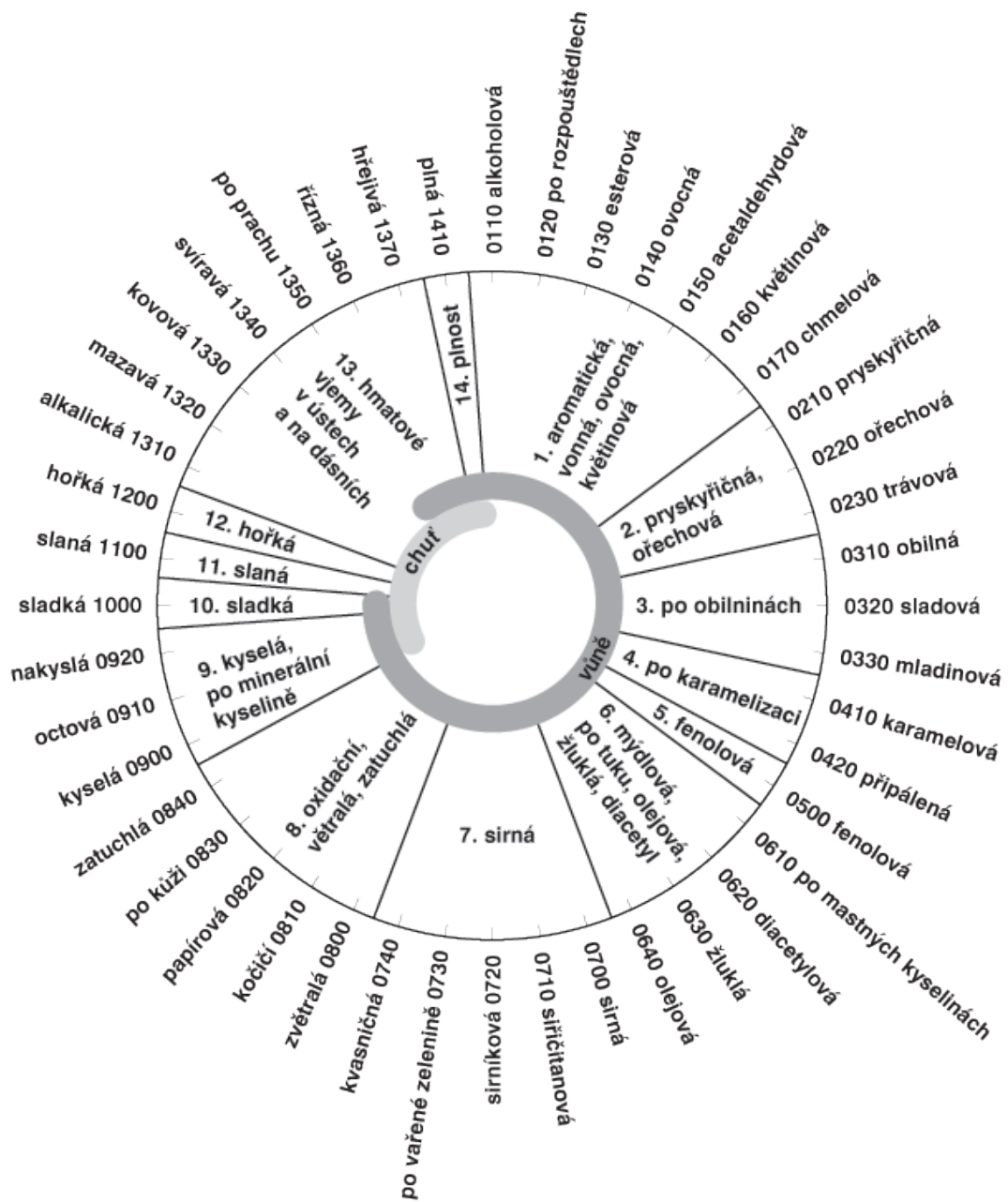
často x občas x výjimečně x nikdy

**Postup degustace vzorku:**

Nejprve Vám bude předložen referenční vzorek – pivo bez studeného chmelení. Tento vzorek se nehodnotí, slouží pouze jako reference – „střední“ hodnota k porovnání. Další vzorky, u kterých bylo provedeno studené chmelení, hodnotíte ve vztahu k referenčnímu pivo (pokud zadání nezní jinak). Všechny vzorky jsou piva ležáckého typu.



# Kruhové schéma vůní a chutí

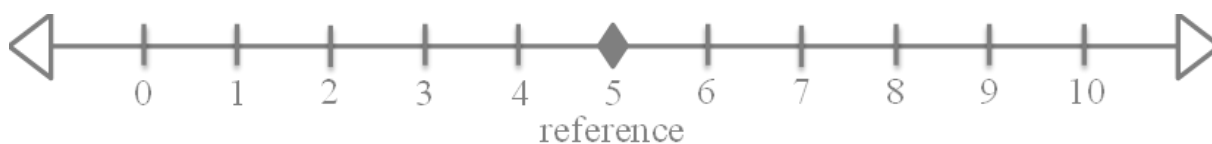


## Příčichnutí

Celkové aroma: slovní hodnocení z kruhového schématu (bez porovnání s referencí)

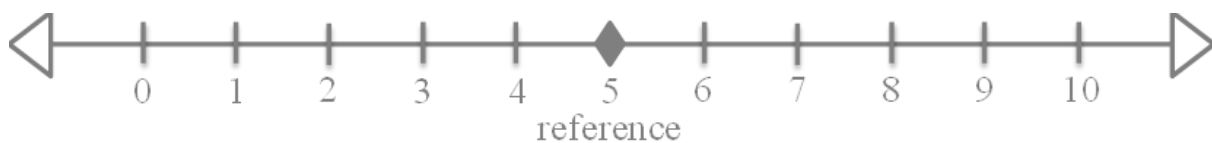
Číslo vzorku				
Hodnocení				

Chmelové aroma: stupnice 0 (žádné) až 10 (velmi intenzivní), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



### 1. napití

Říz: stupnice 0 (žádný říz) až 10 (velmi intenzivní říz), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



### 2. napití

Plnost (tělo): stupnice 0 (lehké) až 10 (velmi plné, hutné), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



### 3. napití

Intenzita hořkosti (cca 10-15 s po polknutí): stupnice 0 (žádná) až 10 (velmi intenzivní), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



Charakter hořkosti: stupnice 0 (jemná hořkost) až 10 (drsňá, drásavá, nepříjemná), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



Doznívání hořkosti (cca 40-45 s po polknutí): stupnice 0 (žádné) až 10 (uplívající), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



#### 4. napití

Sladkost: stupnice 0 (žádná) až 10 (velmi sladké), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



Kyselost: stupnice 0 (žádná) až 10 (velmi kyselé), kde reference zaujímá střední hodnotu 5



#### Zamíchání, přičichnutí, ochutnání

Cizí chutě a vůně (pokud jsou přítomny): slovní hodnocení z kruhového schématu (bez porovnání s referencí)

Číslo vzorku				
Hodnocení				

---

Celkový subjektivní dojem z piva: stupnice 1 (velmi dobré) až 10 (nepitelné)

