



# Z jiných časopisů / From other journals

Připravuje: **Alexandr Mikyska**

e-mail: [mikyska@beerresearch.cz](mailto:mikyska@beerresearch.cz)

## SUROVINY

### Ječmen, slad

G. Cai, L. You, X. Li, D. Wu, J. Lu

#### ROZLIŠENÍ / SEGREGACE ODRŮD U ZÁSTUPCŮ AUSTRÁLSKÉHO SLADOVNICKÉHO JEČMENE POMOCÍ KVANTITATIVNÍ REAL-TIME PCR S POUŽITÍM HORDEINU SEMEN JAKO MARKERU

*Cultivar discrimination/segregation of representative Australian malting barley by quantitative real-time PCR using seed hordein marker*

J. Inst. Brew. 122(2), 2016: 700–705. DOI 10.1002/jib.367. 2 tab., 3 obr., 19 cit.

*odrůda sladovnického ječmene, pivo, hordein, dvojrozměrná elektroforéza, kvantitativní real-time PCR*

V případě sladovnického ječmene odrůda výrazně ovlivňuje kvalitativní rysy sladu, a tím i kvalitu konečného produktu, piva. Pro sladovny jsou proto zapotřebí rychlé citlivé a kvantitativní metody pro zjištění odrůdy ječmene. V této studii bylo pro vývoj nových metod vybráno šest odrůd běžně používaných v čínském pivovarství, australské odrůdy sladovnického ječmene (Gairdner, Baudin, Hindmarsh a Vlammingh) a čínské odrůdy (Supi6 a Kenpi7).

Byl získán dvoudimenzionální elektroforetický profil hordeinu zrna a použit pro výzkum reprezentativních markerů jednotlivých odrůd. Odrůdové gely hordeninových profilů byly vyšetřeny a identifikovány pomocí MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight). Porovnáním hordeinových profilů bylo nalezeno 43 společných bodů a 14 konkrétních míst, specifických pro daný kultivar ječmene. Smíšené vzorky ječmene Gairdner s řadou stupňů čistoty byly získány v laboratoři umělým mísením zrna ječmene Gairdner s ječmeny odrůd Supi6 a Kenpi7. Standardní křivky týkající se transkripční úrovně hordeinového markeru BMAL-1 pro celou řadu úrovní čistoty ječmene Gairdner byly stanoveny za použití kvantitativní PCR v reálném čase (qRT-PCR).

A konečně, vyvinutá metoda založená na qRT-PCR se ukázala jako přesnější a časově úspornější v porovnání s konvenční metodou SDS-PAGE s dvojítm slepým pokusem.

Na základě byla vyvinuta citlivá a specifická metoda qRT-PCR k diskriminaci a kvantifikaci ječmene Gairdner, který byl hlavním do Číny dováženým Austrálským sladovnickým ječmenem od domácích odrůd ječmene Supi6 a Kenpi7. K ověření této metody je ještě zapotřebí větší množství kultivarů ječmene.

Na základě výsledků získaných v této studii metodou qRT-PCR se získají rychlejší a přesnější výsledky ve srovnání s konvenčním způsobem na základě SDS-PAGE. Současně je metoda qRT-PCR robustní a vhodná pro odlišení velkého počtu vzorků ječmene. Vyvinutá metoda založená na qRT-PCR má potenciál pro použití v screeningu ječmene.

S. N. Daneri-Castro, T. H. Roberts

#### IZOLACE ŽIVOTASCHOPNÝCH PROTOPLASTŮ Z ALEURONOVÝCH VRSTEV KOMERČNÍCH ODRŮD SLADOVNICKÉHO JEČMENE

*Isolation of viable protoplasts from the aleurone layers of commercial barley malting varieties*

J. Inst. Brew. 122(2), 2016: 693–699. DOI 10.1002/jib.365. 2 tab., 3 obr., 17 cit.

*aleuronová vrstva, ječmen, klíčení, sladování, protoplast*

Použití protoplastů z aleuronové vrstvy jako modelového systému pro výzkum klíčení ječmene nabízí několik výhod oproti práci s celou tkání, včetně schopnosti přesněji kontrolovat úroveň expozice hormonu během pokusů a snadněji provést studie buněčné biologie pomocí mikroskopie. Protoplasty z odrůdy Himalaya dominovaly těmito studiím, pravděpodobně kvůli dostupnosti vhodného izolačního protokolu přizpůsobenému tomuto bezpluchému zrnu.

Ve statí je popsán vývoj protokolu k izolaci protoplastů z aleuronové vrstvy z komerčních odrůd sladovnického ječmene. Implementací protokolu byly izolovány protoplasty ze tří komerčních australských odrůd a hodnoceny jejich odpovědi na inkubaci s kyselinou gibberelovou. Jsou demonstrovány klíčové vlastnosti protoplastů, které je činí dobrým modelem pro aleuronovou vrstvu. Bylo prokázáno, že rozpustný proteom izolovaných protoplastů je velmi podobný proteomu intaktní tkáně.

Letální reakce protoplastů na ošetření kyselinou gibberelovou, která zahrnuje zvýšenou vakuolizaci, byla po vizualizaci protoplastů pod mikroskopem transparentnější. Použití izolovaných protoplastů nabízí několik aplikací s velkým potenciálem pro další porozumění chování aleuronové vrstvy v průběhu klíčení a tím i během sladovnického procesu.

Tak byl nakonec vyvinut postup pro izolaci protoplastů z aleuronových vrstev komerčních sladovnických odrůd ječmene. Protokol byl úspěšně použit k izolaci protoplastů ze tří australských odrůd sladovnického ječmene, Buloke, Commander a Gairdner. Elektroforeogram z analýzy rozpustných proteinů z protoplastů v aleuronové vrstvě dvourozměrnou elektroforézou byl velmi podobný výsledku analýzy vzorku z neporušené tkáně.

U tří komerčních odrůd byly hodnoceny fenotypové změny v kyselinou gibberelovou indukovanému programovanému usmrcení buněk z protoplastů. Byly pozorovány jasné rozdíly mezi protoplasty inkubovanými s přídavkem nebo bez přídavku kyseliny gibberelové. Životaschopnost protoplastů byla hodnocena pomocí fluorescenčních barviv a rozsah buněčné smrti může být kvantifikován v dalších studiích analýzou velkého počtu obrazů protoplastů v Petriho miskách nebo za použití hemocytometru.

R. C. Agu, B. N. Okolo, P. M. Okoro, V. Goodfellow, J. H. Bryce

#### OPTIMALIZACE PODMÍNEK SLADOVÁNÍ KRAJOVÉ ODRŮDY ŠESTIŘADÉHO ARUPO S JEČMENE ADAPTOVANÉHO NA RŮST V TROPICKÉ NIGÉRII

*Optimizing the Malting Conditions of Landrace Six-Row Arupo S Barley Adapted to Grow in Tropical Nigeria*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(3), 2016: 206–211. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-3476-01. 3 tab., 7 obr., 31 cit.

*ječmen Arupo S, optimalizace, sladování, krajová odrůda, aminodusík, aminokyseliny, redukující cukry*

Hlavní klimatická omezení spojená s produkcí ječmene v tropech jsou teplota, vlhkost, a půda. Arupo S je šestiřadá krajová odrůda ječmene úspěšně pěstovaná v Nigérii, kde jsou často nepříznivé podmínky. Arupo S je polovysoká, středně raná odrůda s velmi vysokým výnosovým potenciálem za příznivých podmínek. Má vynikající odolnost proti poléhání a dobrou úroveň odolnosti vůči většině onemocnění, například, rzi travní, rzi, a tak dále. Má dobrou sladovnickou kvalitu.

Ječmen Arupo S sladovaný v širokém rozmezí teplot (16 až 25 °C) produkoval slady, které splňují požadavky na slady pro pivovarské účely. Výsledky této studie ukázaly, že vegetační podmínky ječmene Arupo S zahrnující zavlažování (zaplavování) neměly žádný pozorovatelný negativní dopad na kvalitu sladu vyrobeného z tohoto ječmene. Arupo S máčený a klíčený v rozmezí teplot 16 až 25 °C vytvořil dobrou úroveň amylolytických enzymů ( $\alpha$ -amylasy a  $\beta$ -amylasy) a produkoval dobré extrakty horkou vodou (HWE), obsah volného aminodusíku (FAN), aminokyselin a redukujících cukrů.

Přestože slad vyrobený při teplotě 25 °C vytvořil nejmenší množství amylolytických enzymů a aminodusíku, měl nejvyšší úroveň extraktu a redukujících cukrů (glukosa a maltosa). Naopak slad Arupo S sladovaný při teplotě 18 °C, měl vyšší úroveň amylolytických enzymů, ale poskytl nižší množství extraktu, a to zejména ve čtvrtém dnu klíčení. Pokud jde o distribuci aminokyselin ve sladině ze sladu ječmene Arupo S, vedením sladování při nižších teplotách 16 a 18 °C se získá větší množství volných aminokyselin. Slad vyrobený při vyšších teplotách také produkoval přiměřené množství volných aminokyselin.

Tyto výsledky ukazují obtíže s použitím pouze několika parametrů při posuzování kvality sladu, což znamená, že je zapotřebí komplexní přístup při posuzování kvality ječmene a sladu. Kromě toho tato studie ukázala, že použití vyšší teploty sladování k výrobě sladu z Arupo S v horkých zemích, kde je teplota sladování obtížně regulovatelná, nebude mít velký nepříznivý vliv na kvalitu vyráběného sladu. Jedná se o výhodu, protože použití chlazení v průběhu sladování by bylo v těchto krajinách nákladné.

## Chmel

D.C. Sharp, I.Y. Qian, J. Clawson and T.H. Shellhammer  
**EXPLORAČNÍ STUDIE K POPISU CHMELOVÉHO AROMA V PIVU PROVEDENÁ S AMERICKÝMI A EVROPSKÝMI KULTIVARY CHMELE**

*An exploratory study toward describing hop aroma in beer made with American and European Hop Cultivars*  
Brewing Science 68(11/12), 2016: 112-122, 4 tab., 9 obr., 29 cit.

*SBSE GC-MS, deskriptivní analýza, chmelové aroma, analýza hlavních komponent, generalizovaná procrustes analýza*

Mezi americkými a tradičními evropskými odrůdami chmele existují významné rozdíly, pokud jde o druhy aroma, kterými přispívají k pivu. Sládcí mají tendenci popisovat první jmenované charakterem citrusové, ovocné a v některých případech květinové vůně, zatímco druhé odrůdy jsou často popisovány jako přispívající bylinnými, tabákovými, dřevitými a kořeněnými tóny. Varní pokusy s várkami chmelenými jedním chmelem byly prováděny s odrůdami Cascade, Chinook, Centennial, Citra, Simcoe, East Kent Goldings, Hallertau Mittelfrueh a Žatecký červeňák s cílem identifikovat rozdíly mezi charakteristikami těkavých látek odvozených z chmele a vlastnostmi amerického a evropského chmelového aroma v pivu.

Osm pív bylo vyhodnoceno s použitím jak senzorických, tak instrumentálních analýz. Senzorická analýza identifikovala Centennial jako odrůdu s nejvyšší intenzitou aroma borovice a zeleného chmele, zatímco Citra a Simcoe byly charakterizovány jako chmele s velmi intenzivním aroma ovocným, citrusovým a po tropickém ovoci (zejména Citra). Hallertau Mittelfrueh byl podobný East Kent Goldings, a tyto dva chmele byly charakteristické intenzivnějším květinovým a růžovým aroma, než vzorek Žateckého poloraného červeňáku s větším aroma po melounu, než bylo u amerických kultivarů.

Analýza těkavých látek u vzorků piva byla provedena pomocí sorpční extrakce na míchané tyčince (SBSE) ze vzorků piva s následnou kvantifikací pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Analýzou hlavních komponent instrumentálních dat byly zjištěny výrazné rozdíly mezi jednotlivými „citrusovými“ americkými odrůdami (Centennial, Chinook a Citra) a „necitrusovými“ evropskými kultivary (East Kent Goldings, Hallertau Mittelfrueh a Saaz).

Mapování smyslových dat s instrumentálními daty prostřednictvím generalizované procrustes analýzy ukázala vzájemné vztahy mezi deskriptory aroma a těkavými látkami stanovenými plynovou chromatografií.

K. Takoi, Y. Itoga, J. Takayanagi, I. Matsumoto and Y. Nakayama  
**ŘÍZENÍ DOJMU CHMELOVÉHO AROMA V PIVU S VYUŽITÍM SMĚSNÉHO CHMELENÍ CHMELEM BOHATÝM NA GERANIOL A NOVÁ HYPOTÉZA SYNERGIE MEZI AROMATICKÝMI LÁTKAMI ODVOZENÝMI Z CHMELE**

*Control of Hop Aroma Impression of Beer with Blend-Hopping using Geraniol-rich Hop and New Hypothesis of Synergy among Hop-derived Flavour Compounds*  
Brewing Science 68(11/12), 2016: 85-93, 2 tab., 7 obr., 53 cit.

*pivo, chmel, chuť, monoterpenické alkoholy, biotransformace, linalool, geraniol, β-citronellol, těkavé thiole, 4-methyl-4-sulfanylpentan-2-on, aditivní účinek, synergie*

V předchozích studiích jsme zjistili, že koncentrace geraniolu a β-citronellolu v hotovém pivu by mohla být zvýšena v závislosti na počátečním obsahu geraniolu v mladině, jako výsledek jedno-odrůdových pivovarských varních testů s odrůdami chmele s vysokým obsahem geraniolu. V této studii jsme se snažili potvrdit účinek směsného chmelení s použitím chmelové odrůdy Bravo bohaté na geraniol na koncentraci monoterpenických alkoholů během kvašení. Výsledky ukázaly, že přidáním chmele Bravo v dávce pouhých 0,4 g chmele na 1 litr se může zvýšit ve směsně chmelených pivech obsah geraniolu o cca 20 µg/l a β-citronellolu o více než 15 µg/l ve směsích-chmelené pivo ve srovnání s kontrolním pivem chmeleným jedním chmelem.

Také jsme již dříve prokázali v modelovém roztoku (karbonizovaný 5 % v/v ethanol), že koexistence linaloolu, geraniolu, a β-citronellolu by mohla zvýšit průměrné skóre citrusového aroma. V této studii jsme poprvé v chmelených pivech pozorovali stejný efekt zvýšení monoterpenických alkoholů a vliv na změnu charakteru aroma.

Dále jsme zjistili, že může existovat aditivní účinek mezi těkavým thiolem (4-methyl-4-sulfanylpentan-2-on (4MSP)) a monoterpenickými alkoholy (linalolem a geraniolem), a že pouhých 1,2 ng/l 4MSP postačovalo pro projevení tohoto efektu. Kromě toho bylo rovněž v důsledku vypracovaného modelu senzorického hodnocení zjištěno, že „tropický“ charakter by mohl být maximalizován koexistencí 4MSP a tří monoterpenických alkoholů (linaloolu, geraniolu, a β-citronellolu). Předpokládali jsme, že synergie mezi těkavými thiole a monoterpenickými alkoholy by mohla přispět k takovým aromátům v pivech vyrobených z některých „flavour hops“ odrůd chmele, které obsahují obě skupiny sloučenin.

Tento výsledek je také užitečný pro stanovení receptury směsného chmelení na základě složení aromatických sloučenin každé odrůdy chmele.

K. Koie, Y. Itoga, N. Suda, K. Ogushi  
**KONSTRUKCE A DEMONSTRACE STANDARDIZOVANÉ METODY EXTRAKCE CHMELE VROUCÍ VODOU A JEJÍ VYUŽITÍ PRO SYSTÉM SENZORICKÉHO HODNOCENÍ CHARAKTERISTIK CHMELOVÝCH VŮNÍ**  
*Construction and Demonstration of a Standardized Hop Boiled Water Extraction Method and Its Application for a Sensory Evaluation System of Hop Aroma Characteristics*  
J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(3), 2016: 183–190. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-3664-01. 9 tab., 4 obr., 26 cit.

*extrakce, aroma, chmel, teplá voda, senzorické hodnocení*

Chmel dodává pivu charakteristické aroma. Klíčové sloučeniny chmele, které přispívají k chuti piva, byly intenzivně studovány a identifikovány. Nicméně pro vyhodnocení chmelového aroma zůstává nezbytné smyslové hodnocení. Vysoce výkonné hodnocení je velmi důležité, zejména pro předběžný výběr sazenic chmele ve šlechtitelských programech. Většina těkavých silic chmele se ve významné míře odpaří v průběhu chmelovaru po nadávkování chmele. Kromě toho, složení silic ve vařené sladině je oproti původnímu složení ve chmelu změněno v důsledku chemických a fyzikálních vlastností těkavých aromatických složek, jakými jsou například hydrofobnost a těkavost.

Takzvaná metoda chmelového čaje je prováděna s cílem usnadnit šlechtění chmele, ale nebyla dosud vědecky diskutována. V této studii navrhujeme senzorický systém hodnocení chmelových vůní na základě standardizované extrakční metody chmele vroucí vodou (HBW), ve které jsou chmele dávkovány na úroveň α-kyselin 0,5 g/l v destilované vodě do skleněných baněk a autoklávovány. Pro vzorky HBW bylo použito deskriptivní senzorické hodnocení. Pro hodnocení HBW byl vytvořen systém s devíti deskriptory. Výsledky ukázaly, že extrakce HBW poskytuje dobrou simulaci pozdního chmelení v procesu chmelovaru. Aromatické vlastnosti chmelové odrůdy, a to i když chmele byly sklizeny v různých letech, mohou být charakterizovány navrženým systémem senzorického hodnocení.

Navíc byly odrůdy chmele „flavor hops“ odlišeny od ostatních kategorií odrůd chmele (aromatického chmele a hořkých chmelů). V důsledku toho tato metoda HBW a systém senzorického hodnocení navržený v této zprávě umožňují vyhodnocení vzorků hlávek chmele s vysokou propustností a jsou vhodné pro výběr nových chmelů kategorie „flavor hops“.

## PIVO

## Technologie

B. M. Alcantara, D. R. Marques, M. M. Chinellato, L. B. Marchi, S. C. da Costa, A. R. Giriboni Monteiro

### POSOUZENÍ KVALITY A PROCESU VÝROBY NEALKOHOLICKÉHO PIVA STOUT REVERZNÍ OSMÓZOU

*Assessment of quality and production process of a non-alcoholic stout beer using reverse osmosis*

J. Inst. Brew. 122(2), 2016: 714–718. DOI 10.1002/jib.368. 4 tab., 2 obr., 36 cit.

*nealkoholická tmavá piva, membrána, obsah alkoholu*

Trh piva s nízkým obsahem alkoholu a nealkoholického piva roste v důsledku faktorů, jako jsou zdravotní problémy, obsah kalorií, zpřísnění dopravních předpisů a náboženství a dalších. Pivo má některé dobré nutriční vlastnosti, jako je obsah komplexu B-vitaminů, antioxidantů, minerálních látek, vlákniny, bílkovin a sacharidů. Dostupnost nealkoholických výrobků je v Brazílii a po celém světě stále velmi nízká.

V této studii byly vyvinuty čtyři vzorky tmavého nealkoholického piva vyrobeného ze zahraničního stylu piva Extra Stout s 6,6 % obj. alkoholu procesem reverzní osmózy. Filtrační membránové procesy ukázaly, že koeficient rychlosti znečištění se zvyšuje s časem a postupujícím objemem, zatímco průtok klesá. Když se proces reverzní osmózy prováděl ve zředěném vzorku při teplotě 20 °C, byly udrženy hodnoty barvy, hořkosti, pH, fenolických sloučenin a antioxidační aktivity téměř na parametrech standardního piva (srovnávací vzorek).

Tato studie prokázala možnost výroby tmavého nealkoholického piva dobré kvality procesem reverzní osmózy. Výsledky ukázaly, že pro co možno nejlepší zachování barvy, hořkosti, pH a antioxidantů v pivu, je nejlepší provozní teplota 20 °C a ředění piva.

Jsou však nezbytné další studie pro stanovení optimální teploty a ředění v tomto procesu. Je také zapotřebí další výzkum, pro stanovení úrovní použitého tlaku, nižších teplot, nižší míry zanášení membrány a lepší zachování barvy a hořkosti. Pro úspěch výroby bude nezbytná i senzorická analýza vyškolenými posuzovateli nebo typickými konzumenty piva.

P. Domizio, F. House, C. M. L. Joseph, L. F. Bisson, C.W. Bamforth  
**LACHANCEA THERMOTOLERANS JAKO ALTERNATIVNÍ KVASINKY PRO VÝROBU PIVA**

*Lachancea thermotolerans as an alternative yeast for the production of beer*

J. Inst. Brew. 122(2), 2016: 599–604. DOI 10.1002/jib.362. 5 tab., 4 obr., 28 cit.

*Lachancea thermotolerans, kyselé pivo, pivovarství, kvasinky*

Byla zkoumána schopnost kmenů *Lachancea thermotolerans* kvasit pivovarskou mladinu. Počáteční fermentace se třemi kmeny *L. thermotolerans* porovnávaly použití maltosy a maltotriose, stejně jako produkci glycerolu a mléčné kyseliny a vývoj průběhu hodnoty pH během fermentace. Nejslibnější kmen byl následně testován na další vlastnosti důležité pro výrobu piva, včetně rychlosti kvašení, generační kapacity, stability pěny, tolerance chmelových látek, tvorby vicinálních diketonů, požadavků na kyslík a flokulaci. Tyto testy ukazují, že *L. thermotolerans* může být dobrou volbou pro výrobu kyselého piva v jediném kroku fermentace a bez použití bakterií mléčného kvašení.

Kvašení piva čistou kulturou *L. thermotolerans* je dosažitelné. Četné kmeny *L. thermotolerans* jsou schopny prokvasit mladinu do vysokého stupně (~ 2,5 % nebo méně) během 2 týdnů, a hodnota pH se snížila více než u piv fermentovaných kvasinkami rodu *Saccharomyces*. Základní kvalitativní rozbor piv vyrobených jedním kmenem ukázaly, že fermentace pomocí *L. thermotolerans* nezpůsobila snížení kvality piva ve srovnání s komerčními pivovarskými kmeny. Kmen 101 dobře fermentoval bez ohledu na rychlost kva-

šení, hořkost, rozpuštěný kyslík nebo generaci. Ukázalo se, že je to robustní kmen pro výrobu piva, a to navzdory tomu, že potřebuje na požadované prokvašení více času než tradiční kmeny pivovarských kvasinek. Fyzikální vlastnosti piva, včetně pěnivosti a čirosti nebyly negativně ovlivněny.

Wietstock, P. C., Kunz, T. and Methner, F.-J.

### VLIV TECHNOLOGIE CHMELENÍ NA OXIDATIVNÍ STABILITU PIVA A KARBONYLY STARÉ CHUTI VE SVĚTLÝCH LEŽÁCÍCH

*Influence of Hopping Technology on Oxidative Stability and Staling-Related Carbonyls in Pale Lager Beer*

Brewing Science 68(11/12), 2016: 73–84, 8 tab., 3 obr., 68 cit.

*dávkování chmele, chmel, stárnutí piva, chmelení rmutu, chmelení předku, kontinuální chmelení, aldehydy, železo*

Skládáním indukované zhoršení chuti piva je hlavním problémem pro mnoho pivovarů a technologická opatření pro snížení senzorického stárnutí jsou omezená. V této studii byl zkoumán účinek různých technologií chmelení na obsah pro-oxidačních iontů železa, souběžně se sledováním stability vůči oxidaci piva a karbonylů staré chuti. V pivovarských studiích v laboratorním měřítku dávkování chmele během vystírky nebo při začátku chmelovaru způsobilo pokles obsahu prooxidativních iontů železa v závislosti na množství dávkovaného CO<sub>2</sub> extraktu chmele.

Bylo zjevné, že účinnost byla jasně limitována „dostupností“ iontů železa. Bylo zjištěno, že množství „volného“ železa je závislé na počátečním obsahu ve sladu, a že účinnost chmele, pokud jde o snižování obsahu železa byla tím vyšší, čím více železa bylo přítomno a čím více CO<sub>2</sub> extraktu chmele byl dávkováno.

Poloprodukt pivovarské pokusy (120 l) byly prováděny dvojmo za použití různých technologií chmelení: chmel dávkovaný pouze na počátku varu (referenční), chmelení rmutu, dělené dávkování chmele, chmelení předku, a kontinuální dávkování chmele. CO<sub>2</sub> extrakt chmel byl jediným použitým chmelovým produktem.

Zatímco standardní parametry kvality piva nebyly chmelením ovlivněny, výtěžky hořkých látek utrpěly při pozdějším dávkování chmele nebo zejména při dávkách chmele během rmutování. Všechny várky s modifikovaným chmelením ukázaly snížení obsahu železa až do přibližně 30 % a zlepšení oxidační stability v porovnání s referenčními várkami s výjimkou várek s chmelením předku, kde byla oxidační stabilita měřená elektronovou spinovou rezonanční spektrometrií horší.

Po skladování (12 týdnů při 28 °C) byly obsahy karbonylů ve starých pivech výrazně rozlišitelné a byly sníženy až o 66,9 % v tom případě, kdy bylo aplikováno upravené chmelení. Senzorická analýza čerstvých a starých piv byla v souladu s analytickými údaji a ukázalo se zlepšení senzorických vlastností piva vyrobeného za použití modifikovaných režimů chmelení s výjimkou chmelení rmutu u várek z druhé série, jejíž senzorické vlastnosti byly hodnoceny hůře.

Tato studie poskytuje nové poznatky o vlivu chmele a chmelení na zpomalení stárnutí piva a uplatnění této charakteristiky v jednoduchých úpravách technologie chmelení.

A. N. Murmann, C. Lunde, M. N. Lund

### VOLBA PROTEÁZY PRO ZVÝŠENÉ ROZPOUŠTĚNÍ THIOLŮ Z BÍLKOVIN BĚHEM RMUTOVÁNÍ S LIMITOVANÝM UVOLNĚNÍM VOLNÝCH AMINOKYSELIN V PIVU

*Selection of Protease for Increased Solubilization of Protein-Derived Thiols During Mashing with Limited Release of Free Amino Acids in Beer*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(3), 2016: 224–230. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-3584-01. 4 tab., 6 obr., 25 cit.

*proteasy, rmutování, proteinové thiole, proteinové složení, antioxidanty, aminokyseliny*

Již dříve bylo prokázáno, že extrakce thiolů z proteinů působením proteasy během rmutování pro zlepšení chuťové stability v pivu vede současně ke zvýšení koncentrace volných aminokyselin a tím zvýšené hladiny nežádoucích Maillardových reakčních produktů v průběhu stárnutí. Předchozí metodika, s přidáváním proteasy v dávce 50 mg enzymu / kg sladu na začátku peptonizační prodlevy během rmutování, vedla ke zvýšení koncentrace aminokyselin ve sladině přibližně o 40 % a zvýšení koncentrace volných thiolů o přibližně 50 % v porovnání s kontrolou bez přídavku proteasy.



Cílem této studie bylo snížení množství aminokyselin v mladině vytvořených působením proteasy, za současného získání významného zvýšení koncentrace thiolů uvolněných z proteinů. V tomto článku ukazujeme, že vynecháním peptonizační prodlevy během rmutování v kombinaci s přidavkem proteasy s vyšším teplotním optimumem v dávce pouze 3 mg enzymu / kg sladu, je možné zvýšení koncentrace thiolů ve sladině o 30 % a jen s maximálním 10 % zvýšením koncentrace aminokyselin ve srovnání s kontrolou.

Pilotní pivovarské pokusy ukázaly, že pivo vyrobené s přidavkem proteasy vedlo k 30 % zvýšení celkové koncentrace thiolů, spolu se snížením, nebo žádným vlivem na koncentraci některých aminokyselin, ale také ke zvýšení koncentrace jiných aminokyselin. Koncentrace siřičitanu byla zvýšena o 37 %, takže nemohl být vyhodnocen vliv zvyšující se koncentrace volných thiolů na stabilitu chuti během skladování.

Celkově byly získány podobné pivovarské a senzorické vlastnosti ve srovnání s kontrolním pivem vařeným bez přidavku proteasy. Stabilita pěny byla ošetřením proteasou snížena, a tvorba zákalu byla působením proteasy snížena.

Použitím přístupu s upraveným programem rmutování, ve kterém byl vynechána proteinová prodleva při 52 °C, v kombinaci s přidavkem nízké dávky proteasy, která byla aktivní při vysokých teplotách (70–75 °C), bylo dosaženo zvýšení celkové koncentrace thiolů ve vzorcích sladiny o 30 %. Nárůst koncentrace volných aminokyselin ve sladině byl snížen na maximálně 10 % ve srovnání s 40 % zvýšením pozorovaným u metodiky používané v naší předchozí studii.

Zvýšená koncentrace thiolů ve vzorcích sladiny ošetřených proteasou během rmutování je pravděpodobně způsobena zvýšeným rozpouštěním peptidů obsahujících thiol ze sladu, což bylo také zjištěno v naší předchozí studii, ve které se proteasy, které byly aktivní při nižších teplotách, přidávaly ve vyšších dávkách při peptonizační prodlevě během rmutování. Proteasy degradovaly bílkoviny sladiny v různé míře, což bylo také zjištěno v naší předchozí studii. Zkušební pilotní várky ukázaly, že pivo vařené s přidavkem proteasy, která byla aktivní při vysoké teplotě na začátku rmutování (vystírka při teplotě 64 °C) mělo kvalitativní a senzorické vlastnosti srovnatelné s kontrolním pivem bez přidavku proteasy.

Koncentrace celkových thiolů byla zvýšena o 30 %, ale nárůst volných thiolů byl pouze 16 %, a proto nebylo možné vyhodnotit stabilitu chuti piva během skladování vzhledem k rozdílům v koncentraci siřičitanu a celkového zatížení kyslíkem v láhvi. Ošetřením proteasou byla snížena stabilita pěny, zatímco koloidní stabilita testovaná zrychleným stařením piva byla zvýšena.

J. Xu, J. Kang, D. Wang, Q., Qin, G. Liu, Z. Lin, M. Pavlovic, P. Dostalek

**MATEMATICKÝ MODEL PRO HODNOCENÍ FILTRAČNÍHO VÝKONU SLADINY ZALOŽENÝ NA ANALÝZE ZRNITOSTI**  
*Mathematical Model for Assessing Wort Filtration Performance Based on Granularity Analysis*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(3), 2016: 191–199. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-3706-01. 2 tab., 6 obr., 48 cit.

*výkon filtrace sladiny, distribuce zrnitosti, Matlab 7.0, matematický model, filtrace sladiny, procentuální počet částic*

V této studii byl pro filtraci sladiny použit laboratorní filtrační systém vybavený nitrocelulózovou membránou o velikosti pórů 0,80 µm a pro filtraci piva byl systém vybaven mikroporézní membránou 0,45 µm ze směsi esterů celulózy. Kritické distribuce granularity sladiny a piva před a po filtraci byly určeny čítačem Multisizer 3 a analyzátozem velikosti částic Beckman Coulter. Pomocí Matlab 7.0 byl vytvořen matematický model vztahu filtračního výkonu a zrnitosti sladiny, který je použitelný pro predikci a zlepšení výkonnosti scezování, filtrace sladiny.

Distribuce zrnitost a procentní podíly počtu a objemu částic ve sladině před a po filtraci měly velký vliv na výkon filtrace sladiny. Procentní podíly počtu částic a objemu částic byly použity k charakterizaci výkonu filtrace sladiny na základě matematického modelu.

Korelace mezi skutečnými a předpokládanými hodnotami výkonu filtrace sladiny byla velmi silná.  $R^2$ , relativní chyba reálné hodnoty a hodnoty predikce výkonu filtrací sladiny, byla definována jako (předpokládaná hodnota – skutečná hodnota) / reálnou hodnotou. Když jsme použili procentuální podíl částic, byla relativní odchylka  $R^2$  v rozmezí 1,67 a 3,01 %. Když jsme použili procentuální podíl objemu částic, byla relativní odchylka  $R^2$  v rozmezí 2,89 a 3,87 %.

## Analytika a jakost

P. C. Wietstock, T. Kunz, F. Perreira, F.-J. Methner  
**CHELATAČNÍ CHOVÁNÍ CHMELOVÝCH KYSELIN KE KOVŮM V PUFROVANÝCH MODELOVÝCH SYSTÉMECH**  
*Metal Chelation Behavior of Hop Acids in Buffered Model Systems*

Brewing Science 68(9/10), 2016: 56–63, 2 tab., 4 obr., 48 cit.

*chmelové hořké kyseliny, komplexace, ionty kovů, UV-VIS, ICP-OES*

Jako součást významu kovových iontů pro pivovarský proces a pro pokračující zájem o interakcí chmelových kyselin s kovovými ionty bylo zkoumáno komplexační chování chmelových kyselin vůči různým kovovým iontům. Bylo prokázáno, že chmelové  $\alpha$ -kyseliny jsou schopny tvořit komplexy s ionty  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  a nejevily žádnou schopnost komplexace iontů  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  nebo  $\text{Zn}^{2+}$ . Testy byly provedeny za použití UV-VIS spektroskopie v roztoku o iontové síle 0,1 mol/l a s obsahem 10 % (v/v) ethanolu.

V dalších studiích bylo zjištěno, že ionty  $\text{Fe}^{2+}$  jsou schopny vázat 3 mol  $\alpha$ -kyselin při hodnotě pH 4,3 a pH 5,5, a 2 mol  $\alpha$ -kyselin při hodnotě pH 6,2 a pH 8,2, zatímco obráceně  $\alpha$ -kyseliny byly schopny vázat pouze jeden mol iontů  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  a tyto ionty by mohly být odstraněny z roztoků tvorbou komplexů s chmelovými  $\alpha$ -kyselinami, iso- $\alpha$ -kyselinami a  $\beta$ -kyselinami a následnou filtrací za použití 0,45 µm celulosových membránových filtrů, zatímco ionty  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  nebo  $\text{Zn}^{2+}$  nejsou ovlivněny a zůstávají v roztoku.

Schopnost chmelových kyselin odstraňovat ionty  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  je vyšší při vyšších hodnotách pH a byla v pořadí,  $\alpha$ -kyseliny >  $\beta$ -kyseliny > iso- $\alpha$ -kyseliny s výjimkou  $\text{Fe}^{3+}$  a pH 4,3, kde účinek iso- $\alpha$ -kyselin byl zřetelnější než účinek  $\beta$ -kyselin. Pro  $\text{Fe}^{2+}$  bylo zjištěno pořadí  $\alpha$ -kyseliny > iso- $\alpha$ -kyseliny >  $\beta$ -kyseliny. Směs všech chmelových kyselin měla nejvyšší účinek. Charakteristiku komplexace chmelovými kyselinami lze považovat za přínosnou pro kvalitu mladiny nebo piva, protože nežádoucí ionty kovů jsou ovlivněny, zatímco vitální ionty kovů ovlivněny nejsou, což např. podporuje senzorickou stabilitu piva.

J. De Clippeleer, F. Van Opstaele, F., L. De Cooman and G. Aerts  
**INKLUZNÍ KOMPLEXY TRANS-ISO-ALFA-KYSELIN S BETA-CYKLODEXTRINEM: PŘÍPRAVA VYSOCE OBOHACENÝCH CIS- A TRANS-ISO-ALFA-KYSELIN**  
*Inclusion complexes of trans-iso- $\alpha$ -acids with  $\beta$ -cyclodextrin: preparation of highly enriched cis- and trans-iso- $\alpha$ -acids*  
Brewing Science 68(11/12), 2016: 128–141, 6 tab., 3 obr., 41 cit.

*chmelové hořké kyseliny, isohumulony, cis-iso- $\alpha$ -kyseliny, trans-iso- $\alpha$ -kyseliny, izomerizovaný chmelový extrakt, separace, cyklodextrin, inkluzní komplex, obohacení*

Separace cis-iso- $\alpha$ -kyselin a trans-iso- $\alpha$ -kyselin obsažených v komerčním isomerizovaném chmelovém extraktu byla úspěšně provedena na bázi tvorby komplexů trans-iso- $\alpha$ -kyselin s  $\beta$ -cyclodextrinem. Separace byla provedena v laboratorním měřítku umožňujícím kvantitativní dávkování cis-iso- $\alpha$ -kyselin, resp. trans-iso- $\alpha$ -kyselin do 50 litrů fermentovaného piva, velikost přidavku byla 25 mg/l. Metodika se skládá ze dvou po sobě následujících kroků tvorby komplexů s nasyceným roztokem  $\beta$ -cyclodextrinu ve vodě. Sraženina z prvního kroku tvorby komplexu je obohacená trans-izomery, které lze získat z inkluzních komplexů s  $\beta$ -cyclodextrinem.

Shromážděný první supernatant je již obohacený cis-isomery, ale aby se v této frakci dosáhlo vyššího obohacení cis-isomery, znovu se inkubuje s  $\beta$ -cyclodextrinem pro druhý krok tvorby komplexu. Cis-isomery se potom oddělí z druhého supernatantu extrakcí na pevné fázi. Konečné frakce cis- a trans-izomerů byly vysoce obohacené – cis-iso- $\alpha$ -kyseliny (98 %) a trans-iso- $\alpha$ -kyseliny (90 %), na rozdíl od běžných izomerizovaných chmelových extraktů s typickým poměrem 70 % cis-iso- $\alpha$ -kyselin a 30 % trans-iso- $\alpha$ -kyselin.

Vysoce reprodukovatelná metoda je založena na snadno dostupných zařízeních a není pracovně náročná, vykazuje výtěžky 80 % počátečního obsahu cis-iso- $\alpha$ -kyselin ve většině obohacených frakcí cis-izomerů, a 54,5 % počátečního obsahu trans-iso- $\alpha$ -kyselin ve frakci trans-izomerů.

V souhrnu lze konstatovat, předložená metodika umožňuje přípravu dostatečného množství vysoce obohacených frakcí cis resp.

trans-iso- $\alpha$ -kyselin, které jsou použitelné v reálné pivovarské praxi v pilotním měřítku. To je velmi důležité pro výzkum a vývoj z hlediska budoucích výzkumů otázek spojených s degradací hořkých kyselin a senzorickou stabilitu piva.

Vypracovaná metodika pro izolaci cis-iso- $\alpha$ -kyselin a trans-iso- $\alpha$ -kyselin z komerčního izomerizovaného chmelového extraktu umožňuje velmi pokročilé hořčení piva v poloprovozním měřítku a představuje nový nástroj pro další výzkum specifické degradace jak cis- tak trans – hořkých kyselin v pivu ve vztahu k stabilitě chuti.

A. Gahr, A. Forster and F. Van Opstaele  
**REPRODUKOVATELNOST ZKOUŠKY VE VÝZKUMNÉM PIVOVARU A DOPADY NA VYHODNOCENÍ CHMELOVÝCH LÁTEK V PIVU ČÁST 1: REPRODUKOVATELNOST V ČERSTVÝCH PIVECH**  
*Reproducibility Trials in a Research Brewery and Effects on the Evaluation of Hop Substances in Beer Part 1: Reproducibility in fresh beers*  
Brewing Science 68(11/12), 2016: 103–111, 12 tab., 8 obr., 14 cit.

*reprodukovatelnost pivovarských zkoušek, látky chmelového aroma, hořké látky, vedlejší produkty fermentace, polyfenoly, aldehydy stárnutí piva*

Pivovary, dodavatelé a univerzity mají ke studiu technických otázek nebo otázek souvisejících s pivovarskými surovinami pilotní pivovary s různými velikostmi a různými požadavky na vybavení a proces. Proto musí být věnována stále větší pozornost reprodukovatelnosti pivovarského systému, jakož i analytického hodnocení vzorků z pokusných várek. Tato studie popisuje metodiku a výsledky šetření reprodukovatelnosti v pokusném provozu o velikosti 2 hl se zvláštním zaměřením na chmelové látky ve vyráběných pivech.

Vzhledem k nákladům obvykle varní pokusy ve většině studií zahrnují pouze jednotlivé várky. Náš výzkumný pivovar má údaje reprodukovatelnosti z kompletní výroby piva na základě obecné analýzy piva jako OG, ABV, pH, CO<sub>2</sub>, barvy, IBU a celkových polyfenolů. V současnosti je zanedbávána tvorba vedlejších produktů fermentace a aldehydů stárnutí. Dokonce i pro chmelově-specifické vlastnosti, jako jsou nízkomolekulární polyfenoly a zejména látky chmelových vůní v pivu, které dosud nebyly zvažovány s ohledem na reprodukovatelnost.

Rostoucí význam chmele pro mnoho piv, a to zejména v segmentu řemeslných piv vede k většímu počtu pokusných várek se zaměřením na chmel. Zde je nutno zkoumat spolehlivost návrhu pokusných várek.

Ukázala se dobrá reprodukovatelnost celého procesu výroby piva ve výzkumném pivovaru, a to nejen pro standardní analýzy, ale také pro vedlejší produkty fermentace a aldehydy stárnutí. Žádné nebo jen nepatrné odchylky spojené s výrobou piv nevykazují komplikované analýzy polyfenolů s nízkou molekulární hmotností a komponent chmelového aroma.

Konstrukce výzkumného pivovaru je také vhodná pro posouzení vlivu parametrů chmelení na komponenty piva. Podepřeny touto studií jsou proto pečlivě provedené jednotlivé várky oprávněné k hodnocení parametrů chmelení.

S. Hanke, F. Schüll, E. Seigner and A. Lutz  
**VÝVOJ SYSTÉMU SENZORICKÉHO HODNOCENÍ A NOVÝ SYSTEMATICKÝ HODNOTÍCÍ PROGRAM PRO NOVÉ NĚMECKÉ ŠLECHTITELSKÉ LINIE NA PŘÍKLADU NOVÝCH NĚMECKÝCH ODRŮD CALLISTA (CI) A ARIANA (AN)**  
*Development of a Tasting Scheme and a New Systematic Evaluation Program for new German Breeding Lines by example of the New German varieties Callista (CI) and Ariana (AN)*  
Brewing Science 68(11/12), 2016: 94–102, 5tab., 7 obr., 27 cit.

*šlechtění chmele, Callista, Ariana, senzorický, popis chuti, chmelové aroma, testování chmelové odrůdy*

Se vzestupem segmentu řemeslných piv ve Spojených státech i v Evropě stoupla velmi rychle poptávka po nových odrůdách chmele. Pro tento segment piv hledají pivovary nové chuti k vytvoření individuálních piv. Tak je u nových odrůd chmele vedle agronomických vlastností kladen důraz na jedinečné a odlišné chuťové profily. Pro dosažení tohoto cíle zavedlo Výzkumné centrum pro chmel v německém Hüllu (Hop Research Centre Hüll) novou fázi procesu

hodnocení aromatického potenciálu pro nové chmelové šlechtitelské linie.

Během tohoto procesu hodnocení byly provedeny rozsáhlé pilotní pivovarské zkoušky s cílem získat představu o aromatech udělovacích nejslibnějšími šlechtitelskými liniemi různým stylům piva, což je světově unikátní v procesu šlechtění chmele. Prvními chmely, které prošly tímto procesem, byly nové kultivary Callista a Ariana registrované v dubnu 2016.

Porota složená ze 40 degustátorů piva potvrdila rozdíly v chmelovém aroma v různých oblastech použití těchto nových kultivarů. Zároveň Callista vytváří větší intenzitu vůni a chuti po grapefruitu, mučenke, broskvích a angreštu, Ariana propůjčuje pivům vůně a chuti po pelargonii, borůvkách, citronu a grapefruitu.

Během posledních desetiletí se použití chmele změnilo z pouhého hořčení na víceúčelové použití chmele. Chmelové aroma se dostalo do centra pozornosti řemeslných pivovarů. To znamená, že plný potenciál vůně a chuti se stal součástí šlechtitelských programů ve světě. Šlechtění chmele je časově náročný proces, proto je důležité získat informace relevantní pro pivovary v přiměřeném časovém období.

Předkládaný nový postup vyhodnocení má za cíl získat hluboký vědomostní základ pro šlechtitelské linie před jejich uvedením na trh. Toto know-how pomáhá sládkům při výběru odrůd z velkého počtu možností, a nakonec zefektivňuje vývoj produktu. V důsledku pre-screeningových testů mohou být vyhodnoceny zvláštní tony pro studené chmelené pivo a na základě vyhodnocení chmelové suroviny může být vybrán slibný kandidát a též není zapotřebí tolik času a suroviny k vytvoření tohoto zvláštního chmelového aroma. V následujících poloprovozních várkách jsou hodnoceny kvalita hořkosti stejně jako vlastnosti pozdního a studeného chmelení ve dvou různých stylech piva.

Po absolvování celého čtyřstupňového procesu pro každou linii a data alespoň ze dvou různých sklizní je šlechtitelská linie k dispozici pro testy studeného chmelení. Na základě těchto údajů mohou být identifikovány ročníkové změny šlechtitelské linie.

Všechny tyto informace jsou vytvořeny před registrací odrůdy a slouží jako objektivní a hluboké základy pro rozhodnutí, zda by se šlechtitelská linie měla stát odrůdou. Rozdíly v odrůdách lze detekovat velmi zřetelně deskriptivním senzorickým hodnocením. Nově vypracovaný degustační režim poskytuje dodatečné informace o vlastnostech vůně a chuti v závislosti na dávkovaném množství chmele šlechtitelské linie a také hodnoty, zda existují nějaká omezení pro použití (např. kvalita hořkosti)

T. Praet, F. Van Opstaele, B. De Causmaecker, G. Aerts, L. De Cooman  
**TEPELNĚ INDUKOVANÉ ZMĚNY VE SLOŽENÍ ODRŮDOVÝCH SILIC CHMELE PŘI CHMELOVARU V LABORATORNÍM MĚŘÍTKU**  
*Heat-Induced Changes in the Composition of Varietal Hop Essential Oils via Wort Boiling on a Laboratory Scale*  
J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(3), 2016: 212–223. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-3257-01. 4 tab., 6 obr., 42 cit.

*chmelové silice, chmelovar, oxidační produkty seskviterpenů, oxidované seskviterpenoidy, headspace mikroextrakce na pevné fázi GC-MS, chmelové aroma*

Již dříve jsme prokázali, že vaření chmelových silic ve vodě transformuje seskviterpenové uhlovodíky na oxidační produkty (oxidované seskviterpenoidy), které při přidání do piva dodávají typické kořenité / dřevité vůně související s „chmelovarovým“ chmelovým aroma (kettle hop aroma). V této studii varní experimenty ve vodě, stejně jako v mladině se zvyšující se koncentrací chmelových silic (odrůdy Žatecký červeňák), a následná headspace mikroextrakce na pevné fázi a GC-MS analýza ukázala pozitivní korelaci mezi počáteční přidanou koncentrací silic a tvorbou oxidovaných seskviterpenoidů.

Mezi odrůdové rozdíly (odrůdy Hallertau Magnum, Hallertau Tradition, Hallertau Perle a Žatecký červeňák) byly zkoumány komplexním GC-MS fingerprintingem chmelových těkavých látek v nevařených a vařených chmelových silicích v mladině. Bylo prokázáno, že nevařené silice z evropských aromatických chmelů obsahují významně vyšší hladiny  $\alpha$ -humulenu,  $\beta$ -karyofylenu a seskviterpenových oxidačních produktů ve srovnání s odrůdou Hallertau Magnum.

Změny v profilu těkavých látek po varu v mladině se ukázaly ve velké míře nezávislé na odrůdě (tj., byly tvořeny chemicky identické deriváty  $\alpha$ -humulenu a  $\beta$ -karyofylenu). GC-olfaktometrií bylo dále prokázáno, že některé z těchto derivátů, které vznikají při varu (tj.

6(5→4)-abeokaryofyl-8(13)-en-5-ol, karyofylen oxid, humulene epoxid III, humulenol II, karyofyl-4(12),8(13)-dien-5  $\alpha/\beta$ -ol, 3Z-karyofyl-3,8(13)-dien-5 $\alpha/\beta$ -ol, a 14-hydroxy- $\beta$ -karyofylen) se eluují v senzoricky aktivních zónách.

V závěru jsme prokázali pozitivní korelaci mezi počáteční koncentrací silic a tvorbou seskviterpenových oxidačních produktů při varu, které by mohly najít zajímavé aplikace v pivovarské praxi. Kromě toho jsou kvantitativní změny v třídách sloučenin chmelových silic při varu chmelových silic ve vodě a sladině vysoce srovnatelné.

Většina sloučenin charakterizovaných zvýšením jejich koncentrace (především oxidační produkty  $\alpha$ -humulenu a  $\beta$ -karyofyleny) byly totožné u zkoumaných odrůd chmele (odrůdy Hallertau Magnum, Hallertau tradice, Hallertau Perle a Žatecký poloraný červeňák) (logickou výjimkou byl E-dendrolasin), což naznačuje, že kompozice silic v surových chmelech má zásadní význam pro kvalitativní a kvantitativní profil oxidovaných seskviterpenoidů při varu a tím i pro „chmelovarové“ chmelové aroma.

V senzoricky aktivních zónách po varu chmelových silic odrůdy Žatecký červeňák ve sladině bylo nalezeno asi 20 sloučenin. Vzhledem k tomu, některé z těchto sloučenin byly v průběhu varu tvořeny de novo, mohou hrát důležitou roli ve vytváření chmelového aroma v reálné pivovarské praxi.

J. R. Porter, C. W. Bamforth

#### POZNÁMKA: MANGAN V PIVOVARSKÝCH SUROVINÁCH, DISPOZICE V PRŮBĚHU PIVOVARSKÉHO PROCESU A VLIV NA NESTABILITU CHUTI PIVA (1)

NOTE: *Manganese in Brewing Raw Materials, Disposition During the Brewing Process, and Impact on the Flavor Instability of Beer (1)*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(2), 2016: 87–90. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-2638-01.

pivo, chmel, mangan, stárnutí

Mangan stejně jako železo a měď podporuje stárnutí, zvětrání piva, převedením základního stavu kyslíku na reaktivní formy kyslíku. Mangan byl detekován v pivu na úrovních, které by mohly mít vliv na stárnutí piva. Mangan pochází z materiálů meliva, sladového šrotu a dalších cereálií, ale v ještě vyšších úrovních je přítomen ve chmelu. I když je ve chmelech podstatně více železa než manganu, přechod kovových iontů do piva je mnohem větší pro mangan. Vyplavování manganu do piva je mnohem vyšší než v ekvivalentním množství deionizované vody. Tato studie naznačuje, že je oprávněná další studie na nepříznivý dopad studeného chmelení na chuťovou stabilitu piva.

(1) Část této práce byla prezentována na výročním zasedání Americké společnosti pivovarských chemiků (American Society of Brewing Chemists) v Chicagu v červnu 2014.

C. He, Y. Xie, H. Li, F. Liu and L. Kang

#### JEDNODUCHÁ A PRAKTICKÁ METODA PRO HODNOCENÍ ÚSTOJNÉ KAPACITY MLADINY

Simple and Practical Method for Evaluating the Buffering Capacity of Wort

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(2), 2016: 134–136. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-2215-01, 3 tab., 2 obr., 19 cit.

mladina, ústojná kapacita, pH, pivo, acidita

Cílem této studie bylo vyvinout jednoduchý a praktický způsob pro hodnocení pufrovací kapacity mladiny. Byly zaznamenány hodnoty pH před a po přidání 0,4 ml 1N kyseliny chlorovodíkové do 50 ml mladiny a pufrací kapacita sladiny byla vyjádřena jako logaritmus poměru přidávání vodíkových iontů k nárůstu volných vodíkových iontů. Číselná hodnota pufrovací kapacity určená tímto způsobem měla významnou pozitivní korelaci s obsahem ústojných látek a byla schopná reflektovat skutečnou schopnost mladiny odolávat poklesu hodnoty pH v průběhu kvašení piva. Navržená metoda má dobrou přesnost (pod 0,5 %). Obecně platí, že navržený způsob je jednoduchý, rychlý a praktický, a lze jej použít pro rutinní analýzu.

Je možno shrnout, že v této studii byla vyvinuta a validována metodika stanovení pufrací kapacity mladiny titrací určitého množství mladiny 0,4 ml 1N kyselinou chlorovodíkovou. Navržená metoda nabízí následující výhody: stanovení je velmi jednoduché a vykazuje vynikající přesnost a správnost spolu s nízkými limity detekce a kvantifikace.

Y. Han, J. Wang, Y. Li, H. Li and Qi Li

#### PURIFIKACE A STRUKTURNÍ CHARAKTERIZACE PROTEINU Z4 ZE SLADU

Purification and Structural Characterization of Protein Z4 from Malt

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(2), 2016: 145–153. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-2537-01, 0 tab., 9 obr., 43 cit.

protein Z4, sekundární struktura, kruhový dichroismus, FTIR, pивní pěna

V problematice kvality piva je jako základ pro stabilitu pивní pěny chápána interakce proteinů z chmelových kyselin. Mezi všemi proteiny piva hraje důležitou roli jeden albumin z ječného sladu, protein Z4, který se podílí na stabilizaci pивní pěny. V této studii byl pro další studium purifikován protein Z4 z ječného sladu AC Metcalfe. Sekundární struktura proteinu Z4 byla zkoumána pomocí FTIR a spektrometrie založené na cirkulárním dichroismu (dichrometrie).

Výsledky ukázaly, že protein Z4 má vysokou strukturální stabilitu. Tyto strukturální znaky proteinů Z4 mohou vysvětlit jeho pozorovanou vysokou tepelnou toleranci a stabilitu při vysokých teplotách a pH v průběhu procesu vaření piva. Relativně vysoká koncentrace ethanolu a modifikace indukované pivovarskými kvasinkami během procesu fermentace mohou ovlivnit strukturu proteinu Z4 pouze částečně. Jako důsledek procesu sladování byla pozorována modifikace sacharidy. Modifikace by mohly zvýšit stabilitu struktury proteinů Z4. Modifikace proteinu Z4 byly také příspěvkem ke zlepšení jeho přínosu pro stabilitu pивní pěny. Tyto výsledky vcelku potvrdily pozitivní vztah mezi proteinem Z4 a stabilitou pивní pěny.

V souhrnu lze konstatovat, že protein Z4 byl charakterizován jako látka s vysokou strukturální stabilitou, která umožňuje tolerovat extrémní prostředí, a strukturální charakteristiky jej chrání před degradací a denaturací. Vysoká strukturální stabilita by mohla poskytnout relativně stabilní vazebná místa, která mají být modifikována a která jsou také prospěšná pro udržení pивní pěny. Kromě toho další lysinové zbytky proteinu Z4 a prostředí polysacharidů měly pozitivní vliv na modifikace, které mohou rovněž přispět ke schopnosti proteinu Z4 stabilizovat pивní pěnu.

## Mikrobiologie

J. Koob, F. Jacob, F.-J. Methner and M. Hutzler

#### PIVOVARSKÝ ISOLÁT *LACTOBACILLUS* SP.: NOVÁ HROZBA PIVOVARSKÉMU PRŮMYSLU?

*Lactobacillus* sp. brewery isolate: A new threat to the brewing industry?

Brewing Science 68(9/10), 2016: 42–49, 8 tab., 3 obr., 59 cit.

bakterie mléčného kvašení, kažení piva, pivovarský izolát

*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus parabrevis*, multifaktorová studie

Je známa pouze omezená skupina bakteriálních druhů, které mají schopnost kazit pivo. Pro udržení dobré mikrobiologické kontroly kvality je důležité vědět, které mikroby jsou pro pivovarství nebezpečné. Tři izoláty *Lactobacillus* (L.), které nemohly být identifikovány komerčním realtime PCR systémem pro detekci a identifikaci pivo kazících bakterií (Foodproof® Beer Screening Kit, Biotecon Diagnostics, Německo), byly získány ze vzorků odebraných v pivovaru. Multifaktorová studie byla provedena na základě fenotypových, genotypových a pivovarských charakteristik.

Tyto testy byly provedeny s ohledem na dva nejpravděpodobnější druhy, *L. brevis* a *L. parabrevis*. Srovnáním genu 16S rRNA a základních genových sekvencí pHEs bylo zjištěno, že tři izoláty patří do jednoho druhu nebo jedné operační taxonomické jednotky (OTU). Kromě toho mohou být neznámé pivovarské izoláty odlišeny od dvou nejpravděpodobnějších druhů srovnáním sekvence genu a hybridizací DNA-DNA.

Vyhodnocení fyziologických charakteristik neznámého pivovarského izolátu nevedlo k jasnému vymezení. Izolát *Lactobacillus* obsahoval dva geny odolnosti proti chmelovým látkám a byl schopen růst ve čtyřech různých typech piva a způsobil podstatné změny koncentrace složek piva.

Bylo zjištěno, že neznámé bakterie nepatří k druhu *L. brevis* nebo *L. parabrevis*, které jsou dvěma nejpravděpodobnějšími druhy z po-



hledu pivovarské mikrobiologie. Souběžně byl popis druhu zaslán do časopisu International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. V něm je dále uvedeno další rozlišení izolované bakterie od geneticky příbuzných druhů (*L. yonginensis*, *L. koreensis*, *L. hammesii*) bez vztahu k pivovarskému sektoru.

J. Bergsveinson, S. Goerzen, A. Redekop, S. Zoerb and B. Ziola  
**GENETICKÁ VARIABILITA HORC GENU TOLERANCE CHMELE U PIVO KAZÍCÍCH BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ**

*Genetic Variability in the Hop-Tolerance horC Gene of Beer-Spoiling Lactic Acid Bacteria*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(3), 2016: 173–182. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-3962-01. 5 tab., 5 obr., 31 cit.

*kažení piva, tolerance chmele, genetická variabilita horC, orthology horC, bakterie mléčného kvašení, Lactobacillus brevis*

Na horC jsou často cíleny rychlé molekulární testy na schopnost bakterií mléčného kvašení (LAB) kazit pivo. Objev 27 bp horC delece v LAB neschopných kazit pivo nás vedly ke zkoumání 27 horC + izolátů dvou rodů LAB a sedmi druhů pro posouzení zachování horC. Devatenáct (70 %) z izolátů mělo mezeru, osm (30 %) navíc obsahovalo mezeru 3 bp poskytující excizi cysteinu a u 14 byly zachovány aminokyselinové substituce, čímž jsou definovány tři horC ortology.

Byly rovněž zjištěny mutace bodu horC specifické pro *Pediococcus*, horC nebylo možné sekvenovat ve čtyřech případech (15 %), což ukazuje na horC paralog (y) nerozeznatelné od původního multiplexu polymerázovou řetězovou reakcí (PCR). Na rozdíl od toho sekvence horB, domnělého regulátoru transkripce horCy byly vždy zachované, což naznačuje, horB je nezbytný pro funkci horC.

Modelování struktury proteinů a vazby chmelových sloučenin odhalilo orthology horC produkující bílkoviny s podobnou funkcí. Transkripční analýza však zjistila, že mezi ortology nebyla exprese horC úměrná přítomnému chmele. Transkripční analýza také zjistila, že horB potlačuje horC v nepřítomnosti chmelu. Proto se dospělo k závěru, že různé horC orthology nejsou jednotně aktivní v reakci na chmel, a cílení krátké genové sekvence při PCR testování LAB potenciálu kazit pivo je problematické.

Prezentované výsledky silně podporují představu, že použití rychlých screeningových metod, které jsou postaveny na jednom nebo několika vybraných genech pro indikaci potenciálu LAB pro kažení piva je problematické, protože zachování sekvence těchto genů a propojení těchto genů s celkovým fenotypem kažení piva není jisté.

To zdůrazňuje potřebu provést podobnou genetickou analýzu variability pro ostatní tradiční markery kažení piva hitA a horA, a je třeba provést podrobnou analýzu genetického přenosu mobilních prvků (plazmidy) v rámci pivovaru, u nichž se předpokládá zapojení do tohoto přenosu.

Nasazení multiplexních PCR testů pro identifikaci známých i dalších domnělých markerů kažení piva LAB by mělo být provedeno s obezřetností, dokud nebude potvrzeno zachování sekvence při stanovení cílového genu (ů), čímž budou eliminovány jak falešné pozitivní, tak falešné negativní výsledky testu.

J. Bergsveinson, A. Redekop, S. Zoerb and B. Ziola  
**ROZPUŠTĚNÝ OXID UHLÍČITÝ SELEKTUJE BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ SCHOPNÉ RŮSTU V BALENÉM PIVU A JEHO KAŽENÍ**

*Dissolved Carbon Dioxide Selects for Lactic Acid Bacteria Able to Grow In and Spoil Packaged Beer*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 73(4), 2015: 331–338. DOI 10.1094/ASBCJ-2015-0726-01, 1 tab., 4 obr., 36 cit.

*pivo kazící organismy, odplyněné pivo, rozpuštěný CO<sub>2</sub>, tolerance ethanolu, tlak v headspace, tolerance chmele, bakterie mléčného kvašení, bakteriální reakce na stres*

Bakterie mléčného kvašení (LAB) jsou často označovány jako organismy kazící pivo (BSOs). Korektně je označení těchto bakterií jako organismů kazících pivo problematické vzhledem k tomu, že existuje jen málo známých genetických markerů, které odlišují pivo kazící LAB od pivo nekazících LAB. V současnosti jsou geny domněle účastné v mechanismech tolerance ke chmelu úzce spojené s dělením LAB izolátů dle potenciálu kazit pivo, přestože tyto geny důsledně nekorelují s kažením piva.

I když přítomnost chmele je jistě významným fyziologickým stresem pro bakterie v pivu, ukážeme zde, že přítomnost rozpuštěného

CO<sub>2</sub> v pivu je silný selektivní tlak na skutečné schopnosti LAB kazit pivo (tj. schopnost růst ve finálním a baleném pivu a zkazit ho). Testovali jsme 20 LAB na schopnost přežít a růst v pivu s oxidem uhličitým při 22 °C a při 30 °C a diskutovali výsledky vzhledem k toleranci ethanolu a chmele.

Srovnání funkčního genu devíti rozpuštěných izolátů sekvenovaných genomů CO<sub>2</sub> tolerantních a netolerantních LAB odhalilo případně metabolické dráhy významné pro další studium, zejména ty, které se týkají buněčné dormance a reakce na stres. Tyto výsledky posunuly naše chápání schopnosti bakterií mléčného kvašení kazit pivo a implikují, jak nejlépe analyzovat tyto bakterie v laboratorních podmínkách a jak testovat tyto bakterie v pivovaru.

Výsledky této studie ukazují, že tlak v prostoru nad kapalinou a výsledná hladina rozpuštěného CO<sub>2</sub> přítomná v baleném pivu jsou selektivní pro růst pivo znehodnocujících LAB bez ohledu na jejich toleranci ethanolu a chmele. LAB izoláty byly obecně schopny vytvořit kultivovatelné buňky po prodloužené inkubaci při konzistentní teplotě v syćeném pivu, rozdíl mezi izoláty v době adaptace naznačuje stupnici genetické specializace ve vztahu k růstovému stresu v syćeném pivu.

Tato tolerance pravděpodobně nebude výsledkem jednoho (nebo dokonce jen několika) ze specifických genetických elementů, ale je pravděpodobně důsledkem hromadění různých genetických adaptací. Genomové srovnání CO<sub>2</sub>-tolerantních a intolerantních LAB izolátů ukazuje, že geny podílející se na drahách membránového transportu a procesů buněčné stěny a kapsulace, reakce na stres a dormance jsou potenciálně vhodné pro definování virulentních, pivo kazících LAB.

Tato data také silně naznačují, že pivo kazící LAB získané z pivovaru nebo baleného piva by měly být při laboratorní analýze běžně uchovány nebo pasážovány v podmínkách tlakového syćeného piva, aby byl zachován selektivní tlak na genomické a transkripční prvky potřebné pro kažení piva těmito LAB.

C. Heim, M. Rajab, T. Letzel, J. E. Drewes and B. Helmreich  
**OZON III: APLIKACE BORONEM DOPOVANÝCH DIAMANTOVÝCH ELEKTROD PRO DEAKTIVACI MIKROBIÁLNÍCH KONTAMINANTŮ V RŮZNÝCH VODNÍCH MATRICÍCH**

*Ozone III: Application of Boron-Doped Diamond Electrodes for Inactivation of Microbial*

*Contaminants in Different Water Matrices*

Brewing Science 68(3/4), 2016: 21–25, 0 tab., 3 obr., 25 cit.

*dezinfekce, elektrochemické oxidace, Escherichia coli, Enterococcus faecium, odpadní voda, pitná voda*

Prevence mikrobiální kontaminace za účelem zajištění bezpečnosti potravin a vysoké kvality výrobků je hlavním problémem v potravinářském a nápojovém průmyslu. Předchozí výzkum ukázal, že borem dopované diamantové (BDD) elektrody mohou být zavedeny jako adekvátní dezinfekční technologie. Ve vodných roztocích tyto elektrody vytvářejí ozón a jiné reaktivní oxidanty, které mohou následně sloužit jako dezinfekční prostředky.

Práce popisuje inaktivaci typických fekálních indikátorových organismů, *Escherichia coli* a *Enterococcus faecium*, za použití BDD elektrody použité ve vsádkovém reaktoru. V průběhu oxidační reakce byla stanovena zbytková koncentrace ozonu. Oba kmeny bakterií mohou být inaktivovány s vysokou účinností.

Aplikací různých proudových hustot je možné modulovat dezinfekční proces, který silně závisel na množství náboje dodaného do systému. Elektrolýza, která na rozdíl od pitné vody probíhá v matricích odpadních vod, pravděpodobně vede k tvorbě dezinfekčních látek jiných než ozón.

Na základě aktuálních výzkumů je zřejmé, že elektrochemické oxidace za použití borem dopované diamantové elektrody mohou být úspěšně použity pro rychlé odstranění typických bakteriálních znečišťujících látek z vodných roztoků.

Data ukazují, že dezinfekční proces může být ovlivněn a modulován variací parametrů elektrod, jakož i médiem, na které je aplikován. Tvorba vedlejších produktů dezinfekce je stále problémem, a to zejména při práci ve složitých matricích vody.

Další výzkum by měl být zaměřen na optimalizaci potlačení nežádoucích vedlejších produktů dezinfekce a poukázat na ekonomické aspekty této technologie. Pro rozšíření spektra aplikací pro průmyslové procesy je třeba testovat účinnost dezinfekce proti širšímu spektru patogenů.

W. Maça

**UNIKÁTNÍ SYSTÉM PRO PROPAGACI KVASINEK S VYSOKOU FERMENTATIVNÍ KAPACITOU, ROZŠÍŘENÝ O FUNKCE SPRÁVY PROPAGACE KVASNIC***A Unique System for Propagating High Fermentative Capacity Yeast, Enhanced with Yeast Propagation Management Capabilities*

Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am. 52(1), 2015: 13–21, DOI 10.1094/TQ-52-1-0205-01

*fuzzy logika, propagace, návrh systému, kvasinky*

Propagace kvasinek a výsledná kvalita kvasinek z této propagace jsou závislé na řadě faktorů, včetně návrhu a provozu nádoby propagátoru. V tomto dokumentu budou nastíněny prvky, které by měly být brány v úvahu a zahrnuty při navrhování optimálního systému propagace kvasinek. Je diskutován jeden takový systém (Esau a Hueber Flexi-Prop), který zahrnuje to nejlepší z těchto prvků spolu s podrobnostmi o konstrukčních prvcích, a to zejména u aeračního systému Turbojet.

Je představeno vylepšení tohoto systému, které se nazývá Manažer propagace kvasnic. Vylepšený systém zahrnuje laserové refraktometry pro měření úbytku extraktu a sondy pro měření zákalu a pro měření růstu kvasinek ve spojení s fuzzy logikou programování, aby bylo možné řídit časový interval provzdušnění a teplotu propagátoru. To zase umožňuje dosažení cílových hodnot zdánlivého extraktu a požadovaného počtu buněk, parametrů, které mají být dosaženy po předem stanovenou dobu provozu s minimálním zásahem obsluhy. Manažer propagace kvasnic v podstatě funguje jako „virtuální“ operátor.

L. C. Peyer, E. Zannini, F. Jacob, E. K. Arendt

**STUDIE RŮSTU, TVORBY METABOLITŮ A ORGANOLEPTICKÉHO PROFILU U SUBSTRÁTŮ NA BÁZI SLADU FERMENTOVANÝCH BAKTERIEMI MLÉČNÉHO KVAŠENÍ***Growth Study, Metabolite Development, and Organoleptic Profile of a Malt-Based Substrate Fermented by Lactic Acid Bacteria*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 73(4): 303–313, 2015. DOI 10.1094/ASBCJ-2015-0811-01, 5 tab., 3 obr., 83 cit.

*stárnutí, LAB, mléčná fermentace, nové nápoje, senzorka, Streckerovy aldehydy*

Cílem této studie bylo zkoumat kvašení výtažků ze sladovaného ječmene čtyřmi odlišnými druhy bakterií mléčného kvašení (LAB) a analyzovat vliv na biologické, fyzikálně-chemické a organoleptické atributy výsledných nápojů.

Slad a sladina byly analyzovány podle Methodensammlung der Mitteleuropäischen Analysenkommission (MEBAK). Cukry a organické kyseliny byly hodnoceny za použití HPLC, přičemž aromatické sloučeniny a indikátory stárnutí byly kvantifikovány pomocí headspace GC-FID.

Nechmelené sladiny byly schopny podpořit růst všech LAB po celou dobu experimentu (120 h), s počtem buněk zvýšit až na 3,63 řádu logaritmické stupnice. Kmenové specifické preference pro zdroj uhlíku a dusíku vedly ke značným rozdílům v hromadění metabolických vedlejších produktů (tj. organických kyselin a senzorky aktivních sloučenin uvolněných do média).

LAB fermentace snížila množství některých Streckerových aldehydů (2- a 3-methylbutanal a 2-fenylacetaldehydu), nesoucích „sladové“ příchuti a zvýšila množství aromatických sloučenin souvisejících s mléčnými chutěmi, jako je diacetyl a acetoin („máslová“). Fermentované vzorky byly smyslově odlišné a byly popsány senzorkými atributy „chlebová“, „kvasnicová“, „jogurtová“, nebo „medová“. Obecně platí, že LAB fermentace rozšíří komplexnost chuti sladin.

Nucené stárnutí fermentovaných vzorků vedlo k velkému nárůstu indikátorů „zvětralé“ staré chuti, ale fermentované vzorky měly lepší organoleptickou stabilitu ve srovnání s kontrolními nezkaženými vzorky.

T. Imai and M. Mochizuki

**NOVÝ KONCEPT FYZIOLOGICKÉHO POSUZOVÁNÍ KVASNÍČNÝCH BUNĚK***New Concept for Physiological Assessment of Yeast Cells*  
Brewing Science 68(5/6), 2016: 33–41, 3 tab., 14 obr., 37 cit.*kvasinky, vitalita, viabilita, simultánní vyhodnocení, průtoková cytometrie, intracelulární pH, TO-Pro3*

V současné době existují různé metody pro hodnocení viability a vitality kvasinek. Viabilita kvasinek je mírou poměru mrtvých buněk a vitality kvasinek je míra vitality živých buněk. Všechny metody, které vyhodnocují fyziologický stav kvasinek, měří pouze viabilitu nebo vitalitu. V reálných podmínkách, jako jsou skutečné pivovarské provozy však viabilita a vitalita spolu často nesouvisí. V důsledku toho je základním problémem současných metod hodnocení buď vitality nebo viability. Pro přesné vyhodnocení fyziologického stavu kvasinek je nutné současně pozorovat jak procento mrtvých buněk, tak vitalitu živých buněk.

Doposud nebyly vyvinuté žádné metody pro vyřešení tohoto základního problému. V tomto článku je navržena nová metoda pro simultánní posouzení viability a vitality, která je postavena na nedávném pokroku v průtokové cytometrii. Pro hodnocení viability bylo použito barvení pomocí TO-PRO3, pro hodnocení vitality bylo použito měření intracelulárního pH.

Nejprve se měřilo intracelulární pH kvasinkových buněk argonovým laserem a buňka byla identifikována jako mrtvá nebo živá použitím He/Ne laseru. Tato nová metoda byla reprodukovatelná a umožnila posouzení jemných rozdílů ve viabilitě a vitalitě, které ovlivňují průběh kvašení a kvalitu piva.

Tato studie prokázala reprodukovatelnost nové metody a její vhodnost pro hodnocení vzorků kvasinek získaných za skutečných podmínek pivovarského provozu, ve kterém nebyla žádná korelace mezi viabilitou a vitalitou. Tento způsob byl také schopný předpovědět jemné rozdíly ve výkonnosti kvašení a tvorbě metabolitů kvasinek. Kromě toho použitím průtokového cytometru může být hodnoceno za několik minut 30 000 jednotlivých buněk.

Protože tato metoda může snadno a přesně vyhodnotit jak viabilitu, tak vitalitu jednotlivých buněk současně, byly vyřešeny základní problémy se současnými metodami hodnocení. Simultánní hodnocení viability a vitality je nezbytné pro výrobu kvalitního piva.

C. Uhde

**FERMENTAČNÍ VLASTNOSTI SPODNÍCH PIVOVARSKÝCH KVASINEK UŽITÝCH PŘI VAŘENÍ VYSOKOPROCENTNÍCH MLADIN***Fermentation Properties of Bottom-Fermenting Brewers' Yeasts Used in High-Gravity Brewing*

Brauwelt International, 34(3), 2016: 174–178, 0 tab., 7 obr., 14 cit.

*HGB, kmeny kvasinek, fermentace, genetická stabilita*

Cílem výzkumného projektu IGF-16473N bylo nalézt odpovědi na tyto otázky: Jak se kvasnice spodního kvašení chovají při fermentaci mladiny s koncentrací extraktu 18 procent hmotnostních? Jsou geneticky stabilní? Jak může být ověřena jejich homogenita?

Bylo prokázáno, že šest vybraných kmenů kvasinek spodního kvašení se mohlo množit a že mají různé osmotolerance na původní extrakt 18 hmotnostních procent. Alkohol vznikající při kvašení byl limitujícím faktorem pro zastavení utilizace extraktu.

Kromě toho byla nalezena metoda k testování homogenity kmenů kvasinek. Pomocí speciálního výběru jednotlivých kmenů kvasinek (z nichž byly odvozeny „subkmény“) je možné získat nové kmeny kvasinek se zlepšenou výkonností fermentace a konzistentním senzorkým profilem. S použitím specifických primerů nebylo možné stanovit zřetelné rozdíly mezi kmeny kvasinek anebo původním kmenem ve srovnání se subkmény. Důkaz genetické stability byl pozitivní.

T. Sattig, A. Huber

**KULTIVAČNÍ MÉDIUM PRO DETEKCI PIVO KAZÍCÍCH BAKTERIÍ NA BÁZI PCR***Culture Medium for PCR Based Detection of Beer Spoiling Bacteria*

Brauwelt International, 34(4), 2016: 246–249, 2 tab., 2 obr., 3 cit.

*pivo kazící bakterie, PCR, kultivační médium, mikrobiologie*

Na výrobu mikrobiologicky perfektního piva aspiruje každý pivovar. Z tohoto důvodu jsou zapotřebí rychlé, bezpečné a jednoduché metody pro zajištění kvality, a to zejména pro stopovou detekci piva kazících bakterií. Ideální řešení připravené k použití nabízí nový Döhler NBB®-PCR bujón v kombinaci se systémem PCR.



NBB®-PCR bujón umožňuje stanovení mikrobiologické stopové kontaminace pivo kazícími bakteriemi za 48 – 72 hodin. Kultivační médium je plně kompatibilní s real-time PCR soupravami a systémy v současné době dostupnými na trhu. Médium je komplexně testováno na kvalitu, připraveno k použití a prošlo testy v pivovarech. Döhler kultivační médium v kombinaci s PCR a real-time PCR systémy optimalizuje efektivitu zabezpečování jakosti pro rychlý a bezpečný výstav piva na trh.

J. B. Layfield, J. D. Sheppard

**CO BY SLÁDKI MĚLI VĚDĚT O VIABILITĚ, VITALITĚ, A CELKOVÉ PIVOVARSKÉ KONDICI: MINI-REVIEW**  
*What Brewers Should Know about Viability, Vitality, and Overall Brewing Fitness: A Mini-Review*

Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am. 52(3), 2015: 132–140, DOI 10.1094/TQ-52-3-0719-01

*viabilita, vitalita, výkonnost kvašení, pivovarství, kvasinky*

Toto mini-review poskytuje aktuální pohled na celou řadu faktorů, které ovlivňují celkovou pivovarskou kondici kmenů pivovarských kvasinek. Kvašení je komplexní interakce mezi složkami prostředí a mikrobiologickými faktory. Faktory prostředí jsou spojeny se surovinami a podmínkami zpracování použitými při výrobě mladiny, mikrobiologické faktory jsou spojené s charakteristikami kvasinek použitých pro kvašení a zrání.

Ve většině pivovarů jsou zavedeny systémy kvality ke kontrole těchto faktorů, a tím i řízení kvašení. Nicméně dovednosti, zkušenosti a informace dostupné sládkovi nakonec určují konečnou kvalitu piva a umožní sládkovi čelit náhlé, nevysvětlitelné změně v chuti, vůni a průběhu fermentace. Složky životního prostředí pro kvasinky jsou obecně pevné a přísně kontrolované. Vznikají však variace v závislosti na kvalitě surovin, které stejně jako většina nezpracovaných zemědělských komodit mohou mít určitou inherentní, nekontrolovanou variabilitu.

Obecně platí, že mikrobiologické komponenty jsou vztaženy ke kmenu kvasinek, čistotě, propagaci a manipulačním podmínkám, počtu nasazení kultury, počtu buněk/základní dávce, viabilitě a vitalitě. Potíž s těmito složkami je, že údaje získané z mnoha metod pro posuzování čistoty, počtu buněk, základní dávky a viability a vitality mohou být problematické. Prezentace dat může být také náročná, protože některá slova a pojmy používané k popisu mikrobiologických vlastností mohou mít různé významy v závislosti na publiku.

Toto mini-review se snaží rozlišovat mezi viabilitou a vitalitou. Pojednává o ovlivňujících faktorech a detailech aktuálních osvědčených metod a prostředků analýzy, vše v souvislosti s pivovarstvím. Rovněž usilujeme o objasnění rozdílů mezi stářím buněk, počtem nasazení kultury kvasinek a účinkem těchto atributů kvasinek na celkovou pivovarskou kondici a výkon fermentace.

Y. Suzuki, M. Kanauchi, S. Kasahara and M. Shimoyamada  
**SCREENING HYDROXYLACE MASTNÝCH KYSELIN POMOCÍ BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ NA BÁŽI LAKTONIZACE HYDROXYLOVANÝCH PRODUKTŮ**  
*Screening the Hydroxylation of Fatty Acids with Lactic Acid Bacteria Based on the Lactonization of the Hydroxylated Products*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(2), 2016: 127–133. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-2007-01, 5 tab., 5 obr., 23 cit.

*bakterie mléčného kvašení, hydroxy-mastné kyseliny, screening, pivovarské kvasinky*

Hydroxylové mastné kyseliny (HFA) se používají pro výrobu umělých aromat určených pro potraviny a alkoholických nápojů. V této studii jsme testovali sérii hydroxylujících bakterií mléčného kvašení (LAB) pomocí rychlé screeningové metody založené na laktonizaci produktů pomocí pivovarských kvasinek.

γ-laktony mají ovocnou vůni s nízkým prahem detekce, což znamená, že mohou být snadno detekovány čichem bez nutnosti detekce GC-MS analýzou. LAB mohou být použity k hydroxylaci mastných kyselin, které mohou být laktonizovány pomocí pivovarských kvasinek s detekcí olfaktorickou, čichací metodou.

Komerční kmeny kvasinek byly kultivovány v přítomnosti HFA a kmeny produkující laktony byly detekovány čichem. Pivovarskými

kvasinkami T-58 se získala nejvyšší úroveň γ-laktonu z ricinolejové kyseliny (> 90 %). Kmeny LAB, schopné konvertovat nenasycené mastné kyseliny na HFA, byly testovány pomocí kvasinek T-58. Kmen Y-20 byl stanoven jako nejlepší LAB a konvertoval olejovou kyselinu na 10-hydroxystearovou kyselinu.

Následně byl identifikován jako *Lactobacillus sakei*. Pozoruhodné je, že tato LAB hydroxylovala více než 90 % olejové kyseliny v médiu při 15 °C za 30–48 hodin. Tyto výsledky tedy ukazují, že kmen Y-20 by mohl být použit k hydroxylaci mastných kyselin pro alkoholické nápoje.

M. Michel, T. Meier-Dörnberg, A. Kleucker, F. Jacob and M. Hutzler  
**NOVÝ PŘÍSTUP K DETEKCI KONTAMINUJÍCÍCH KVASINEK V ČISTÝCH NÁSADNÍCH KULTURÁCH KVASINEK SPODNÍHO KVAŠENÍ A TORULASPORA DELBRUECKII, PROPAGACI KVASINEK A FINÁLNÍM PIVU**

*A New Approach for Detecting Spoilage Yeast in Pure Bottom-Fermenting and Pure Torulaspora delbrueckii Pitching Yeast, Propagation Yeast, and Finished Beer*

J. Am. Soc. Brew. Chem. 74(3), 2016:200-205. DOI 10.1094/ASBCJ-2016-3148-01, 6 tab., 4 obr., 24 cit.

*pivo, pivovarské kvasinky, rychlá detekce, Saccharomyces cerevisiae var. diastaticus, superprokvašení, Torulaspora delbrueckii*

Kvalita piva je vysoce závislá na stavu kvasinek. V důsledku toho by měly pivovary posuzovat kvalitu násadních kvasinek. Kontaminující kvasinky, jako jsou divoké typy *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae* var. *Diastaticus*, a některé non-*Saccharomyces* kvasinky se občas vyskytnou v násadních kvasinách a jako vedlejší kontaminanty v konečném produktu. Tyto divoké kvasinky mají negativní dopad na kvašení a chuť piva.

V této studii jsme použili nový přístroj k měření tlaku v malých kvasných nádobách pro detekci pěti kmenů kvasinek *S. cerevisiae* var. *Diastaticus* kazících pivo v čistých násadních kulturách čtyř kvasničných kmenů pivovarských kvasinek *Torulaspora delbrueckii*. Zkoumali jsme metodu detekce pěti kontaminujících druhů kvasinek v čistých násadních kulturách kvasinek čtyř kmenů *S. pastorianus*.

Násadní kvasinky byly vybrány pro pokus z důvodu vysoké koncentrace buněk, aktivity, adaptability a pro rezistenci proti stresu, a protože by mohly poskytovat falešně pozitivní výsledky u detekčních metod. Kultivace v nádobě při teplotě 37 °C v YM bujónu inhibovala všechny kulturní kvasinky, ale podpořila růst kontaminujících kvasinek.

Real-time polymerasová řetězová reakce potvrdila novou metodu. Byla spolehlivě detekována nízká koncentrace kontaminujících kvasinek 10 buněk/ml u kontaminovaných průmyslových vzorků. Na přípravu vzorku pro detekci kontaminujících kvasinek je zapotřebí minimální čas.

Výsledky času detekce ukazují, že může být dosaženo časového přínosu oproti jiným publikovaným postupům. Při použití agarových desek jsou pro spolehlivé výsledky potřebné minimálně 3 dny. Naše metoda detekce ukázala výsledky po 9–50 hodinách v závislosti na koncentraci kontaminujících kvasinek.

Nejsou potřebné jiné materiály než média, zařízení „Speedy Breedy“, a fermentační testovací zařízení. Tento test může být snadno proveden s minimálním úsilím jako součást denní rutiny pivovaru. Může být použit pro vzorky odebrané z celého pivovaru počínaje zákvasnou kulturou kvasinek, pivem před a po filtraci, sbíraných kvasinek po hlavním kvašení a konče samozřejmě hotovým výrobkem.

Jedná se o efektivní metodu pro kontrolu kvality, pro detekci kvasinek přispívajících ke kažení, a to spolehlivě i při vysokých koncentracích buněk násadních kvasinek. Byly spolehlivě identifikovány kontaminace 0,001 % divokých kvasinek v násadních kvasinách a nízké koncentrace buněk v reálných kontaminovaných průmyslových vzorcích.

Další testy budou probíhat s dalšími pivovarskými kvasinkami, jako je *Saccharomyces ludwigii*. Tento kmen se stává stále důležitější pro výrobu piva s nízkým obsahem alkoholu, ale vzhledem k jeho netoleranci maltosy je zde větší riziko kontaminace divokými kvasinkami. Budou prováděny také další zkoušky s dalšími divokými kvasinkami, které rostou při 37 °C.