

Bude znamenat předpokládaná postupující integrace obou německých států ohrožení nebo snížení vývozních šancí čs. podniků v oboru pivo?

Nebude, právě naopak. Musíme zpracovat trh NDR tak, aby se stal stejně významným odběratelem našich piv, jako je dnes trh SRN.

Nyní se říká, že se vlastně všichni budeme muset učit normální tržní nedeformované ekonomice, že se podniky budou muset učit počítat v podmínkách této ekonomiky. Koospol byl ve styku s tržní ekonomikou neustále. Měl byste nám, začínajícím počtářům naznačit, třeba i v určitém rozmezí, kolik lze devizově získat exportem 1 hl piva a kolik z toho činí podíl vývozní společnosti? Za 1 hl piva lze získat 350 až 1000 devizových Kčs (fco čs. hranice) podle značky, kvality, obalu a trhu. Devizový normativ Koospolu činí 0,21 % z devizového inkasa, z kterého hradíme svoji devizovou režii.

Co byste poradil pivovarům, které začínají uvažovat o exportu?

V první řadě věnovat zásadní pozornost tomu, zač se vyrábí. Dosud to často byla otázka až druhořadá. Smyslem úspornosti je, aby v nákladech zbyly také prostředky na podstatně větší podporu prodeje. Pokud pivovar touží po zapojení do exportu, měl by se hned úvodem rozhodnout, do jaké skupiny výrobků se bude snažit své pivo protlačit, zda mezi laciná piva, běžná konzumní piva, prémiová piva nebo i piva superprémiová. Začne-li totiž pivovar vyvážet v nejlevnější kategorii, je takřka

vyloučeno, aby se později prosadil do kategorie vyšší. V druhém okruhu otázek by si měl každý zájemce o vývoz pořádně promyslet otázku značky, její ochrany a budování image. A v třetím okruhu otázek je třeba si reálně uvědomit, co pracovníci podniku zvládnou, v čem se dostatečně vyznají. Pokud mají v zahraničním obchodě zkušenosti, mohou si od profesionální organizace objednat jen jednotlivé služby. Nejvýhodnější pro začínajícího exportéra je rozhodně obrátit se se svým záměrem nebo konkrétním případem na odbornou organizaci, která mu garantuje nejen některý dílčí úsek, ale celkový výsledek.

Některé pivovary možná spojují Koospol s dosavadní ekonomickou politikou státu, která vývozcům dávala k dispozici jen nepatrný podíl z objemu deviz, který tyto vývozci získali. Co byste k tomu řekl?

Koospol nemohl tyto vztahy ovlivňovat. My jsme tuto nízkou devizovou zainteresovanost výrobců nepovažovali za správnou, protože jsme byli v neustálém styku s výrobci závody a viděli jsme, jak exportní a konkurenční schopnost exportních závodů při nedostatečné modernizaci postupně upadá. Po celá léta jsme se snažili v rámci všech legálních možností tuto disproporci alespoň zmírňovat a organizovali jsme různé akce, které měly pomoci exportérům k dodatečným devizovým prostředkům na nákup zařízení.

Děkujeme za rozhovor.

Připravil Dr. Kurz

## Z výzkumu a praxe

### Těravé N-nitrosaminy ve sladu

663.421

#### III. Vliv technologie klíčení ječmene na vznik přirozených prekurzorů N-nitrosodimethylaminu v zeleném sladu a obsah N-nitrosodimethylaminu v hotovém sladu

Ing. JIŘÍ ČULÍK, CSc., Ing. VLADIMÍR KELLNER, CSc., Ing. BOHUMIL ŠPINAR, CSc., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Ing. JOSEF PROKEŠ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský Praha, pracoviště Brno

Prof. GABRIELA BASAROVÁ, DrSc., Vysoká škola chemickotechnologická Praha, katedra kvasné chemie a bioinženýrství

**Klíčová slova:** N-nitrosaminy, N-nitrosodimethylamin, NDMA, prekurzory, dimethylamin, technologie klíčení, slad

#### ÚVOD

V předcházejícím článku [1] jsme se zabývali studiem vlivu základních podmínek hvozdění na množství vznikajícího N-nitrosodimethylaminu (NDMA). Kromě hvozdění ovlivňuje obsah NDMA ve sladu i použití technologie výroby zeleného sladu.

Smyslem této práce byla snaha objasnit podíl předpokládaných přirozených prekurzorů NDMA, vznikajících právě v této fázi výroby sladu, na vzniku NDMA během hvozdění.

Experimentální varianty byly zvoleny tak, aby umožnily sledovat zejména vliv teploty klíčení a atmosféry obsahující oxid uhličitý na syntézu předpokládaných prekurzorů NDMA a dále vliv zvýšeného obsahu oxidu dusíku ( $\text{NO}_x$ ) v sušícím vzduchu na vznik NDMA z těchto látek. Pozornost byla věnována zejména sledování změn obsahu volného dimethylaminu (DMA), vznikajícího při klíčení, a obsahu NDMA tvořícího se během hvozdění.

Metody přímého stanovení dalších předpokládaných prekurzorů NDMA, a to hordeninu a graminu, resp. jejich reakčních intermediátů jsou velmi náročné na přístrojové vybavení (spojení kapalinového chromatografu s hmotnostním spektrometrem [HPLC-MS]). Navíc způsob izolace některých intermediátů z přírodní matrice nebyl dosud uspokojivě dořešen. Aby bylo možno posoudit podíl těchto předpokládaných prekurzorů na vzniku NDMA,

využili jsme poznatků *Narzisse et al.* [2] týkajících se vlivu změn technologií podmínek klíčení na změnu obsahu hordeninu a graminu v zeleném sladu.

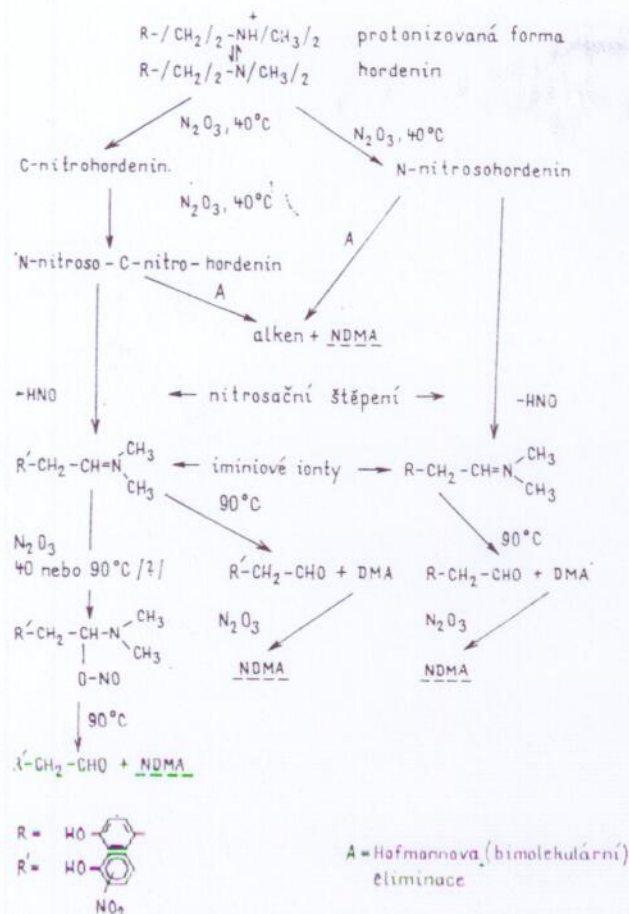
Vzájemným porovnáním množství vznikajícího NDMA s množstvím jeho předpokládaných prekurzorů byly získány poznatky, umožňující posoudit oprávněnost teorie *Sakuma et al.* [3], předpokládající na rozdíl od jiných autorů [4, 5, 6, 7], že hlavním prekurzorem NDMA je volný DMA přítomný v zeleném sladu a nikoli hordenin, resp. gramin. *Sakuma et al.* považují vznikající NDMA za produkt přímé nitrosace volného DMA, zatímco ostatní autoři se přiklánějí k možnosti vzniku průběhu celého komplexu nitrosací reakcí vedoucích ve svém důsledku ke vzniku NDMA z hordeninu (obr. 1), resp. z graminu.

#### EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Klíčení vzorků bylo prováděno výhradně na skříňové mikroskladovně Seeger (rok výroby 1975). Kapacita mikroskladovny činila  $8 \times 8$  kg vzorků. Dílčí technologické úseky jsou umístěny v jednotlivých skříních, s možností automatizovaného nebo ručního provozu. Konstrukční řešení umožňuje nezávislou volbu teploty máčecí vody, teploty klíčení a možnost odsávání oxidu uhličitého.

Hvozdění v atmosféře s nízkým obsahem  $\text{NO}_x$  v sušícím vzduchu bylo prováděno na elektricky vyhřívaném hvozdu této mikroskladovny, zatímco modelové pokusy





Obr. 1. Předpokládané možnosti vzniku NDMA z hordeinu při hvozdění sladu  
? = není přesně stanoveno

týkající se vzniku NDMA působením zvýšené koncentrace  $\text{NO}_x$  v sušicím vzduchu byly prováděny na provozním jednoliskovém hvozdu s přímým otopem [topné médium zemní plyn, průtok sušicího vzduchu hvozdem činil  $3200 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ,  $\text{t}^{-1}$ ].

Zelené slady byly připravovány z ječmene neošetřeného chemickými přípravky, aby byla vyloučena jejich kontaminace reziduí pesticidů.

Klíčení v atmosféře oxidu uhličitého bylo modelováno použitím polyethylenové fólie, pod kterou byl udržován zvýšený obsah oxidu uhličitého. Mačeni ječmene bylo klasické třídenní s intervaly 4-6 h hodin pod vodou. Klíčení probíhalo 5 dní, bez dokrápění a za neustálého větrání. Teploty klíčení dosahovaly dle potřeby 12, 14, resp. 18 °C.

Při hvozďení na elektricky vyhřívaném hvozdu (prům. obsahy  $\text{NO}_x$  činily 0,08 až 0,085  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ ) byly zvoleny dvě varianty simulující přesně průběh teplot sladu v dolní a horní vrstvě nastřehého sladu během hvozďení při technologických pokusech na provozním jednolískovém hvozdu s přímým ohřevem.

Hvozďení na jednorčíslovém hvozdu s přímým ohřevem (prům. obsahy  $\text{NO}_x$  činily 0,7 až 0,8 mg. m<sup>-3</sup>) jsme řídili podle teploty ve spodní vrstvě nastřené sladu, neboť zde neexistovala možnost jemné regulace průběhu teplot v jednotlivých vrstvách nastřené sladu. Výška jednotlivých sledovaných vrstev sladu zde činila 10 cm. Celková výška vrstvy nastřené sladu byla 70 cm.

Množství  $\text{NO}_x$  v suchém vzduchu bylo stanoveno po zachycení v roztoku guajakolu kolorimetricky ve spolupráci se specializovaným pracovníkem Chemoprojektu Praha [8]. Stanovení nižších necyklických aminů metodou plynové adsorpční chromatografie [9] a NDMA pomocí chemiluminiscenční detekce [10] bylo prováděno v oddělení speciálních analýz Výzkumného ústavu pivovarského a sladického v Praze.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Údaje o změnách koncentrace předpokládaného prekurzoru volného DMA ve sladu, hvozdném v atmosféře s nízkou koncentrací  $\text{NO}_x$  v závislosti na stoupající tep-

Tabulka 1. Vliv stoupající teploty klíčení na změny obsahu DMA a NDMA ve sladu (sladovém květu) hvozděném v atmosféře s nízkou koncentrací oxidů dusíku  
Spodní vrstva nastřebeného sladu

Teplota kličení	Koncentrace			
	DMA		NDMA	
	(mg . kg <sup>-1</sup> )		(μg . kg <sup>-1</sup> )	
	počátek hvozdění	konec hvozdění	počátek hvozdění	konec hvozdění
14 °C	0,5 (53)	0,7 (88)	0,8	0,9
18 °C	0,6 (100)	1,0 (150)	0,6	1,0

Teplovní režim spodní vrstvy: 0—8 hodina 60 °C

0—8 hodina 60 °C

8-16 hodina	60 až 70 °C
-------------	-------------

14-18 hodina	70 až 80 °C
18 hodina	80 °C

*t<sub>1</sub>* teplotě sušícího vzduchu

Uvedené teploty odpovídají teplotě sušicího vzduchu i teplotě sladu.

Průměrná koncentrace  $\text{NO}_y$  činila  $0,08 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ .

Tabulka 2. Vliv stoupající teploty klíčení na změny obsahu DMA a NDMA ve sladu (sladovém květu) hvozděném v atmosféře s nízkou koncentrací oxidu dusíku  
Horní vrstva nastřebeného sladu

Teplota klicení	Koncentrace			
	DMA		NDMA	
	(mg · kg <sup>-1</sup> )		(μg · kg <sup>-1</sup> )	
	počátek hvozdění	konec hvozdění	počátek hvozdění	konec hvozdění
14 °C	0,6 [75]	1,2 [100]	0,6	0,9
10 °C	1,3 [100]	2,2 [110]	0,9	1,0

Teplotní režim horní vrstvy: 0—12 hodina 25 °C

12—14 hodina	25 až 45 °C
--------------	-------------

14-16 hodina	45 až 70 °C
18-18 hodina	70 až 80 °C

10 hodina 80 °C

ji teplotě suchého vzduchu

Uvedené teploty odpovídají teplotě sušícího vzduchu i teplotě sladu.

Průměrná koncentrace  $\text{NO}_x$  činila  $0,08 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ .

lotě klíčení souběžně s obsahy NDMA jsou uvedeny v tab. 1 a 2. Analyzován byl odklíčený slad i sladový květ. Hodnoty v závorkách odpovídají koncentraci složky ve sladovém květu. Z kapacitních důvodů mikroskladovny byly sledovány u obou variant (tab. 1 a 2) čtyři paralelní vzorky téhož sladu. Z tohoto důvodu nejsou počáteční hodnoty totožné.

**Tabulka 3.** Vliv stoupající teploty klíčení a zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na změny obsahu DMA a NDMA ve sladu hvozdeném v atmosféře s vysokou koncentrací oxidu dusíku

Varianta klíčení	Koncentrace			
	DMA		NDMA	
	(mg . kg <sup>-1</sup> )		(μg . kg <sup>-1</sup> )	
	počátek hvozdění	konec hvozdění	počátek hvozdění	konec hvozdění
Spodní vrstva nastřebeného sladu				
12 °C	0,3	0,6	0,2	6,6
18 °C	0,4	0,7	0,3	8,2
oxid uhličitý	0,4	0,6	0,2	2,6

*Pokračování tab. 3 na str. 164*



Tabulka 3 — pokračování

Střední vrstva nastřebeného sladu				
12 °C	0,3	0,9	0,2	16
18 °C	0,4	0,9	0,3	17
oxid uhličitý	0,4	0,6	0,2	6,7
Horní vrstva nastřebeného sladu				
12 °C	0,3	1,5	0,2	38
18 °C	0,4	2,6	0,3	55
oxid uhličitý	0,4	2,6	0,2	15

Teplota klíčení v atmosféře oxidu uhličitého činila 18 °C.

Průběh teplot sušícího vzduchu byl následující: 0—4 hodina 60 °C  
4—14 hodina 70 °C  
14—18 hodina 80 °C

Průměrná koncentrace  $\text{NO}_x$  v sušícím vzduchu činila  $0,7 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ .

Výsledky sledování obdobné závislosti, avšak při hvozďení v atmosféře s vysokým obsahem  $\text{NO}_x$ , jsou prezentovány v tab. 3.

Účinky stoupajících dotahovacích teplot na obsah DMA při hvozďení v atmosféře s nízkým obsahem  $\text{NO}_x$ , tj. bez nebezpečí následné nitrosace a vzniku NDMA jsou popsány v tab. 4.

Tabulka 4. Vliv zvýšené teploty dotahování na obsah DMA při hvozďení sladu v atmosféře s nízkým obsahem oxidů dusíku

Dotahovací teplota (°C)	Koncentrace DMA
	( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
70 °C	0,5
80 °C	0,3
85 °C	0,3
100 °C	0,3

Průměrná koncentrace  $\text{NO}_x$  v sušícím vzduchu činila  $0,085 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ .

Z výsledků studia vlivu technologie klíčení na vznik DMA a NDMA uvedených v tab. 1 až 4 vyplývá:

- obsah DMA v obilkách zeleného sladu i ve sladovém květu, stoupá v závislosti na zvýšené teplotě klíčení.
- obsah DMA jak u nízké, tak u vysoké koncentrace  $\text{NO}_x$  v sušícím vzduchu po skončení hvozďení vzrostl. Nejvyšší nárůst byl u horní vrstvy sladu hvozďené v atmosféře s vyšším obsahem  $\text{NO}_x$ . Zvýšení teploty klíčení znamenalo zvýšení koncentrace DMA ve finálním sladu. Obsahy DMA ve sladovém květu přesahují koncentraci těchto látek v obilkách,
- hvozďením se příliš neměnil poměr mezi DMA obsahem v zeleném a finálním sladu,
- nebyla zjištěna přímá závislost mezi obsahem volného DMA a koncentrací vznikajícího NDMA. Množství NDMA u porovnávaných vzorků však závisí zejména na koncentraci  $\text{NO}_x$  v sušícím vzduchu a vlastním průběhu sušení,
- zvýšená teplota klíčení znamená při následném hvozďení sladu v atmosféře s vyšší koncentrací  $\text{NO}_x$  nárůst obsahu NDMA v hotovém sladu,
- klíčení v atmosféře oxidu uhličitého přineslo při hvozďení sladu vzduchem se zvýšeným obsahem  $\text{NO}_x$  podstatné snížení koncentrace NDMA v hotovém sladu v porovnání s klíčením při normální nebo zvýšené teplotě.

Ze získaných výsledků vyplývá, že volný DMA, obsažený v zeleném sladu, nelze s největší pravděpodobností považovat za prekursor NDMA. Experimentálně byl sice prokázán nárůst koncentrace NDMA v závislosti na vyšší teplotě klíčení a dále během hvozďení, avšak nebyl uspokojivě potvrzen vzájemný vztah mezi volným DMA a vznikajícím NDMA tak, jak jej uvádějí Sakuma *et al.* [3]. Získané výsledky, týkající se změn obsahu DMA během hvozďení, byly naopak ve shodě s údaji udávanými těmito pracovníky.

Názor některých autorů [11], že se DMA vzhledem ke své značné těkavosti nemůže podílet na vzniku NDMA ve sladu se však zdá být, s ohledem na výše uvedené výsledky v tab. 4 diskutabilní.

Vzhledem k tomu, že byl zjištěn nárůst obsahu DMA v raných fázích hvozďení i v atmosféře s nízkým obsahem  $\text{NO}_x$ , nelze vyloučit ani určitý podíl enzymových systémů zrna na jeho tvorbě. Značná množství DMA přítomného v kořnicích sladu lze s nejvyšší pravděpodobností považovat za produkty metabolismu hordeninu.

Technologické zásahy ovlivňující zvýšenou produkci hordeninu (zvýšená teplota klíčení) nebo naopak snížení jeho obsahu klíčením v atmosféře s oxidem uhličitým [2] vedly k odpovídajícím změnám v obsahu NDMA v hotovém sladu. Za hlavní prekurzory NDMA lze tedy spíše než volný DMA považovat přirozené aminy zeleného sladu hordenin, resp. gramin.

## ZÁVĚR

Z výsledků modelových čtvrtprovozních a provozních zkoušek týkajících se různých podmínek klíčení vyplývá jejich vliv na změny obsahu DMA v zeleném sladu.

Získané výsledky však neprokázaly dominantní podíl volného DMA, vzniklého při klíčení sladu, na zvýšení obsahu NDMA ve finálním sladu.

Snížení teploty klíčení nebo klíčení v atmosféře s vyšším obsahem oxidu uhličitého vždy vedlo k nižšímu obsahu NDMA v hotovém sladu.

S ohledem na tuto skutečnost a vzhledem k tomu, že nebyl prokázán vztah mezi obsahem volného DMA a vznikajícím NDMA, lze za hlavní prekurzory NDMA ve sladu považovat spíše hordenin, resp. gramin.

Z praktického hlediska lze tudíž doporučit, pokud to kvalita zpracovávaného ječmene umožní, klíčení při nižší teplotě, případně s vyšším obsahem oxidu uhličitého v klíčící hromadě.

## Literatura

- ČULÍK, J., KELLNER, V., ŠPINAR, B., ILČÍK, F., BASAŘOVÁ, G.: Kvas. prům. 35, 1989, s. 353
- NARZISS, L., MÜCK, E., ÜBER, M., REICHENEDER, E.: Mschr. Brauwiss. 9, 1984, s. 390
- SAKUMA, S., OGAWA, Y., TEZUKA, T., KATAYAMA, M.: Rept. Res. Kirin Brewery Co. Ltd. 24, 1981, s. 15
- LADISH, W. J.: MBAA Tech. Quarter. 17, 1981, s. 104
- SLACK, P. T., WAINWRIGHT, T.: J. Inst. Brew. 87, 1981, s. 159
- WAINWRIGHT, T.: J. Inst. Brew. 87, 1981, s. 264
- WAINWRIGHT, T., SLACK, P. T., LONG, D. E.: IARC Sci. Publ. No. 41, 1982, s. 72
- SÄGNER, P., KACELE, L.: Ochrana životního prostředí 15(2), 1983, s. 27
- ČULÍK, J., KELLNER, V., ŠPINAR, B., FRANTIČEK, F.: Kvas. prům. 33, 1987, s. 283
- ČULÍK, J., KELLNER, V., ŠPINAR, B., PROKEŠ, J., BASAŘOVÁ, G.: Kvas. prům. 35, 1989, s. 289
- CHAPPEL, C.: Current Research on Nitrosamines in Beer, Toxicology Forum Arlington, Virginia, USA, 1980

Lektoroval doc. Ing. Jaroslav Čepička, CSc.

Čulík, J. - Kellner, V. - Špinar, B. - Prokeš, J. - Basařová, G.: Těkavé N-nitrosaminy ve sladu. III. Vliv technologie klíčení ječmene na vznik přirozených prekurzorů N-nitrosodimethylaminu v zeleném sladu a obsah N-nitrosodimethylaminu v hotovém sladu. Kvas. prům., 36, 1990, č. 6, s. 162—165.

Formou modelových čtvrtprovozních a provozních zkoušek byl sledován vliv různých podmínek klíčení a hvozďení na změny obsahu volného DMA, jednoho z předpokládaných hlavních prekurzorů NDMA ve sladu. Získané výsledky neprokázaly dominantní podíl volného DMA, přítomného v zeleném sladu na vzniku NDMA. Snížení teploty klíčení a klíčení v atmosféře s vyšším obsahem oxidu uhličitého vždy vedlo k poklesu obsahu NDMA ve finálním sladu.

Чулик, И. - Келлер, В. - Шпинар, Б. - Прокеш, И. - Басаржова, Г.: Летучие N-нитрозамины в солоде. III. Влияние технологии прорастания ячменя на возникно-