

Vývoj obsahu biogenních aminů v procesu výroby piva

Bc. Ladislav Štěpánek

Diplomová práce
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Ladislav Štěpánek**

Osobní číslo: **T16242**

Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie potravin**

Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Vývoj obsahu biogenních aminů v procesu výroby piva**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Biogenní aminy a jejich fyziologická aktivita.
2. Zdroje biogenních aminů v pivu (vliv surovin, technologie a jiných faktorů).
3. Zmapování obsahu biogenních aminů v různých druzích piv.

II. Praktická část

1. Detekce biogenních aminů v surovinách, meziproduktech výroby piva, v pivu mladém, zralém a skladovaném s využitím metody RP-HPLC s UV detekcí.
2. Zpracování výsledků, konstatování závěrů.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] BUGLASS, J., ALAN. Handbook of Alcoholic Beverages. Wiley. 2011. Vyd. 1, s. 1 167. ISBN 978-0-470-51202.

[2] HUI, Y. H. Handbook of Food Science, Technology, and Engineering. Taylor and Francis. 2006. Vyd. 1, s. 3 618. ISBN 1-57444-551-0.

[3] LINARES, M. D., C. MARTÍN, V. LADERO, A. M. ALVAREZ a M. FERNÁNDEZ. Biogenic Amines in Dairy Products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2011, roč. 51, s. 691-703. ISSN 1040-8398.

[4] LORENCOVÁ, E., L. BUŇKOVÁ, D. MATOULKOVÁ, V. DRÁB, P. PLEVA, V. KUBÁŇ a F. BUŇKA. Production of Biogenic Amines by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria Isolated from Dairy Products and Beer. International Journal of Food Science and Technology. 2012, roč. 47, s. 6. ISSN 1365-2621.

[5] SAHU, L., S. K. PANDA, S. PARAMITHIOTIS, N. ZDOLEC a R. C. RAY. Fermented Foods, Part I. Biochemistry and Biotechnology. Biogenic Amines in Fermented Foods: Overview. CRC Press. 2015. Vyd. 1, s. 303-317. ISBN 978-1-4987-4081-4.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Richardos Nikolaos Salek, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

2. února 2018

Termín odevzdání diplomové práce:

25. dubna 2018

Ve Zlíně dne 2. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ŠTEPÁNEK LADISLAV

Obor: TECHNOLOGIE
POTRAVIN

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 25.4.2018



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývala vývojem obsahu biogenních aminů (dále jen BA) v procesu výroby piva a faktory, které mohou ovlivnit celkový obsah BA v konečném produktu. Stanovení obsahu BA byly podrobeny jednotlivé tradiční i netradiční suroviny, které byly použity při výrobě testovaných vzorků a vybrané meziprodukty výroby 4 druhů piva. Cílem praktické části diplomové práce bylo změřit a stanovit vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (dále jen HPLC) zastoupení jednotlivých BA a jejich celkový obsah v surovinách, ve vzorcích ze 4 druhů piv ze tří šarží, a to nejen ve finálním výrobku, ale také ve vybraných mezikrocích a tyto získané výsledky porovnat mezi sebou za účelem vyhodnocení působení zmiňovaných faktorů na konečný produkt. Bylo zjištěno, že jednoznačně obsah putrescinu převyšoval nad ostatními BA v surovinách a dosahoval nejvyšších hodnot bez rozdílu, zda se jednalo o slady, chmele nebo Rooibos (od 47 do 166 mg/l). U mezikroků výroby piva byl nejčastěji detekován putrescin. Celkový obsah BA u hotového piva se pohyboval od 9 do 25 mg/l.

Klíčová slova: biogenní aminy, polyaminy, pivo, suroviny

ABSTRACT

The current master thesis was focused on the development of biogenic amines (BA) during the production of beer and on the factors which could affect the total content of BA in the end-product. The determination of BA content was done in traditional and untraditional beer-making raw materials, which were applied during the production of the tested samples and selected byproducts. The aim of the practical part of the master thesis was to evaluate through high pressure liquid chromatography (HPLC) the presence of individual BA and their total content in the raw materials, in 4 beer samples (produced in three batches) and in selected byproducts. It was found that the amount of the detected putrescine was higher (from 47 up to 166 mg/l) in comparison to the other BA which were detected in the examined raw materials. In case of byproducts the most abundant BA was also putrescine. The total amount of BA in the end-product was in the range of 9 – 25 mg/l.

Keywords: biogenic amines, polyamines, beer, raw materials

Poděkování:

Děkuji všem, kteří mě inspirovali a pomáhali mi při tvorbě této práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně 25. 4. 2018

Bc. Ladislav Štěpánek

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST.....	13
1 BIOGENNÍ AMINY A JEJICH FYZIOLOGICKÁ AKTIVITA	14
1.1 VZNIK A STRUKTURA BIOGENNÍCH AMINŮ.....	17
1.2 VYBRANÍ ZÁSTUPCI BIOGENNÍCH AMINŮ A JEJICH FYZIOLOGICKÁ AKTIVITA	18
1.2.1 Histamin	19
1.2.2 Tryptamin.....	20
1.2.3 Tyramin	20
1.2.4 Fenyletylamin.....	22
1.2.5 Kadaverin a putrescin.....	22
1.2.6 Spermin a spermidin	23
1.2.7 Agmatin.....	24
1.3 FAKTORY, KTERÉ OVLIVŇUJÍ MNOŽSTVÍ BIOGENNÍCH AMINŮ VE VÝROBKU	26
2 ZDROJE BIOGENNÍCH AMINŮ V PIVU.....	27
2.1 SUROVINY	27
2.1.1 Varní voda.....	27
2.1.2 Slad.....	27
2.1.3 Chmel	28
2.1.4 Pivovarské kvasinky.....	29
2.2 VLIV TECHNOLOGIÍ	29
2.2.1 Výroba mladiny.....	30
2.2.2 Hlavní kvašení a dokvašování piva.....	30
2.2.3 Zajištění mikrobiologické jakosti piva při stáčení	31
3 ZMAPOVÁNÍ BIOGENNÍCH AMINŮ V RŮZNÝCH DRUZÍCH PIV.....	35
3.1 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V PIVECH Z ČESKÉ REPUBLIKY	35
3.2 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V PIVECH VE SVĚTĚ	37
II PRAKTICKÁ ČÁST	39
4 CÍL PRÁCE	40
5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	41
5.1 VZORKY	41
5.1.1 Suroviny	41
5.1.2 Vzorek A – pivo plzeňského typu.....	43
5.1.3 Vzorek B – pšeničné pivo	43
5.1.4 Vzorek C – tmavý speciál	44
5.1.5 Vzorek D- SPIA (Irský Ale)	44
5.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	44
5.3 POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	45
6 METODIKA	46
6.1 EXTRAKCE PEVNÝCH VZORKŮ.....	46
6.2 DERIVATIZACE VZORKŮ A STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	46
7 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	48

7.1	SUROVINY	48
7.2	VZORKY PIV	53
7.2.1	Vzorek A – pivo plzeňského typu	53
7.2.2	Vzorek B- pšeničné pivo	58
7.2.3	Vzorek C- tmavý speciál	61
7.2.4	Vzorek D- SPIA (Írský Ale)	64
7.2.5	Všechny vzorky	67
ZÁVĚR		69
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		70
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		81
SEZNAM OBRÁZKŮ		83
SEZNAM TABULEK		85
SEZNAM PŘÍLOH		86

ÚVOD

BA a polyaminy jsou nízkomolekulární dusíkaté látky, které se nachází přirozeně v každé živé buňce, kde jsou nepostradatelnou složkou. BA mají vysokou biologickou aktivitu. Podílejí se na metabolických a fyziologických funkcích. Na druhou stranu mohou být produkovány i kontaminující mikroflórou, která má dekarboxylázovou aktivitu. V takovém případě mohou být koncentrace naakumulovaných BA v potravině velice nebezpečnou záležitostí, zvláště pro citlivé jedince, a může dojít až k závažným zdravotním problémům, jakými mohou být vysoký krevní tlak, srdeční arytmie, bolesti hlavy a mnoho dalších [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 17].

Významným zdrojem BA jsou především fermentované potraviny živočišného původu (fermentované masné výrobky, fermentované rybí výrobky, sýry, fermentované mléčné nápoje, aj.) a rostlinného původu (pivo, víno, fermentovaná zelenina, fermentované nápoje, aj.). Avšak existuje řada nefermentovaných potravin, které mohou být určitým zdrojem BA (ryby, maso, vejce, zelenina, ovoce, aj.). Kromě ryb, u kterých je stanoven legislativní limit koncentrace histaminu, se v těchto surovinách mnohdy jedná o přirozeně se vyskytující složku [10, 11, 13, 14, 15, 24, 25, 33, 39, 40].

Konzumací potravin je příjem BA zcela každodenní záležitostí. Díky detoxikačnímu metabolismu BA v lidském těle dochází k jejich odbourávání a běžný příjem BA za normálních podmínek v potravinách nijak neohrozí zdraví jedince. Avšak schopnost odbourávání BA může být u každého jedince jiná a může být ovlivněna mnoha faktory. Může se jednat o aktivitu enzymů monoaminoxidáza, diaminoxidáza nebo polyaminoxidáza, které mají přímo na starosti odbourávání BA a polyaminů. Dále tento fakt mohou ovlivňovat zdravotní stav, věk a konzumace látek snižujících schopnost odbourávání BA. Právě jednou z takových látek je i alkohol, který zásadním způsobem ovlivňuje detoxikační systém BA u člověka. Při konzumaci alkoholu jsou proto navrženy kritické limity koncentrace BA, které již mohou ohrožovat jedince na zdraví. Tyto navržené koncentrace jsou výrazně nižší oproti koncentracím BA při konzumování potravin neobsahujících alkohol [2, 3, 5, 9, 11, 13, 14].

Pivo je fermentovaný alkoholický nápoj, který je vyráběn z varní vody, sladu, chmelu a pivovarských kvasnic. Ve výrobě piva lze použít i netradičních surovin nebo surrogátů. Všechny použité suroviny mohou obsahovat BA ať již v přirozeném stavu jako svojí složku nebo jako produkt kontaminující mikroflóry. Výroba piva je velice náročná na

hygienu provozu. Produktu hrozí vysoké riziko kontaminace dekarboxyláza aktivní mikroflórou. Z toho důvodu je zapotřebí dodržovat velmi přísně vysokou hygienickou úroveň během výroby a skladování piva, aby již během výroby nebo v konečném produktu ne-
vznikaly BA, popřípadě jiné nežádoucí látky [22, 46, 53, 55, 56, 57, 58, 62, 69, 70, 71, 73, 74, 75, 76].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOGENNÍ AMINY A JEJICH FYZIOLOGICKÁ AKTIVITA

BA jsou nízkomolekulární organické dusíkaté látky. V potravinách jsou přirozeně, nebo vznikají z aminokyselin (dále jen AMK) působením některých mikroorganismů (dále jen MO) s dekarboxylázovou aktivitou. Mohou také vznikat transaminací aldehydů a ketonů za katalýzy enzymu transaminázy [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9]. Nacházejí se v širokém spektru potravin rostlinného a živočišného původu [10].

BA mají vysokou biologickou aktivitu. Podílí se na důležitých metabolických a fyziologických funkcích [2, 3, 5, 9, 11]. Dále slouží jako prekuzory pro tvorbu hormonů, AMK, bílkovin a u rostlin pro tvorbu alkaloidů [12]. Důležitou roli hrají i při tvorbě buněk [2].

BA jsou pro člověka nepostradatelné, nicméně překročí-li jejich příjem bezpečnou koncentraci, mohou BA způsobovat citlivým jedincům značné zdravotní problémy [2, 3, 5, 9, 11].

Stanovení přesné toxické koncentrace BA je velmi obtížné. Rizikové hodnoty se v různých studiích odlišují. Závisí totiž na detoxikačním metabolismu každého člověka a to v závislosti na jeho zdravotním stavu, věku, konzumaci látek snižujících detoxikační systém BA (alkohol, léky), synergického působení BA, celkové spotřeby BA, aj. [2, 3, 5, 9, 11, 13, 14].

Například ve studii Glória [2005] byly navrženy limity pro toxicitu BA v potravinách, kdy může nastat zdravotní riziko na následující koncentrace: 10 mg histaminu, 10 mg tyraminu nebo 3 mg fenyletylaminu ve 100 g potravin. U alkoholických nápojů jsou navrženy limitní koncentrace BA ohrožující zdravotní stav konzumenta nižší (2 – 8 mg histaminu a 8 mg tyraminu na litr nápoje). Alkohol totiž negativně ovlivňuje detoxikační metabolismus člověka. Při požití alkoholického nápoje již s 6 mg/l tyraminu se může u jedince projevit migréna. V případě vyšších koncentrací v rozmezí 10 – 25 mg/l nápoje je pak typickým projevem intoxikace hypertenze [11].

Ve studii Brink et al. [1990] jsou zmíněny toxické hodnoty pro histamin 8 – 20 mg/l, 25 – 40 mg/l pro tyramin a 2 – 3 mg/l pro fenyletylamin u alkoholického piva [13].

Tab. 1 Ukázkové koncentrace BA v ovoci, zelenině a pivu typu ležák [11, 13, 14]

Název BA	Výskyt a množství přirozeně v ovoci a zelenině (w/w)	Výskyt v pivu typu ležák (w/v)
Tyramin	Obecně nízký v ovoci a zelenině ~ 0,1 mg/ 100 g Banánová buničina a maliny ~ 4,8 mg/ 100 g Švestky, avokádo 0,6 – 2,3 mg/ 100 g	0,30 – 3,10 mg/ l
Histamin	Obecně velmi nízké koncentrace v ovoci a zelenině, čerstvá rajčata a kukuřice 0,4 mg/ 100 g Špenát a lilek, pečením se obsah snižuje 3 – 6 mg/ 100 g	0 – 0,90 mg/ l
Fenyletylamin	V čerstvé zelenině a ovoci, obecně obsah pod 1 mg/ 100 g	0 – 0,70 mg/ l
Tryptamin	V čerstvé zelenině a ovoci, obecně méně než 0,5 mg/ 100 g	0 – 0,80 mg/ l
Spermidin	Širší rozptyl v ovoci a zelenině 0,30 – 30 mg/ 100 g Cizrna čerstvá a naklíčená 30,70 mg a 1,84 mg/ 100 g	0 – 6 mg/ l
Spermin	Obecně velmi nízký obsah v ovoci a zelenině 0,12 – 2,57 mg/100 g Fazol 2,28 – 2,57 mg/ 100 g	0 – 1,41 mg/ l
Agmatin	Obecně velmi nízký obsah v ovoci a zelenině 0,04 – 1,89 mg/ 100 g	2,10 – 46,80 mg/ l
Kadaverin	Obecně velmi nízký obsah v ovoci a zelenině 0,06 – 2,87 mg/ 100 g	0,15 – 2,60 mg/ l
Putrescin	Obecně velmi nízký obsah v ovoci a zelenině 0,3 – 5,9 mg/ 100 g	0,85 – 9,80 mg/ l

Fermentované potraviny/nápoje a potraviny vykazující kažení jsou všeobecně považovány za největší zdroje BA v lidské výživě. Ve fermentovaných potravinách se můžeme setkat s takovými koncentracemi BA, které mohou mít negativní vliv na zdraví člověka.

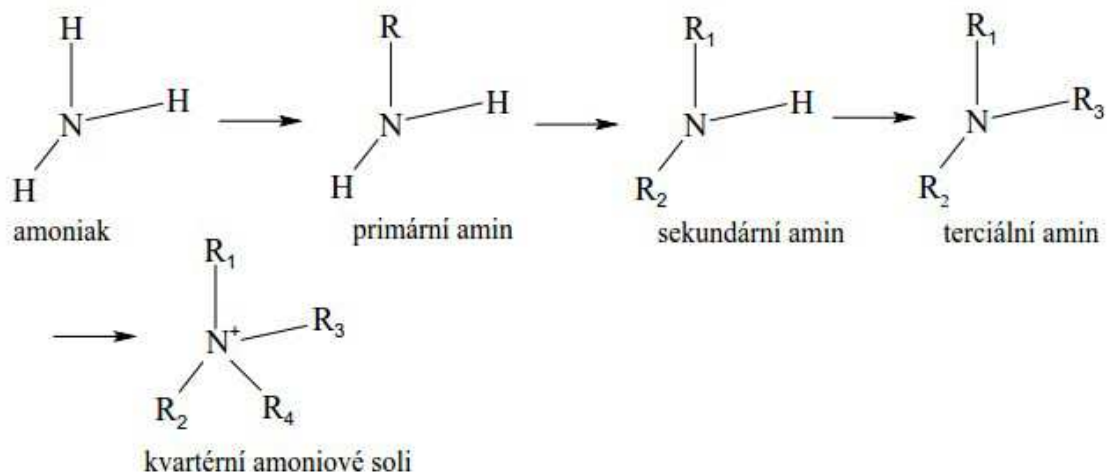
V potravinách mohou navíc vznikat BA působením sekundární kontaminace. Z těchto důvodů je potřeba dodržovat přísnou hygienickou praxi během výroby a správné podmínky skladování [9, 11, 15].

Jak již bylo zmíněno výše, přítomnost BA je v pletivech a tkáních přirozená. Výskyt BA v rostlinných a živočišných materiálech je ovlivněn mnohými faktory, jako jsou např. stupeň vývoje, druh, odrůda, druh tkáně/pletiva, podmínky skladování, aj.). Z těchto důvodů je možné akceptovat poměrně široký rozptyl hodnot (viz. Tab. 1) [11, 13, 14].

Potraviny, které se kazí (hnijí), vykazují vysoké koncentrace BA v závislosti na stupni rozkladu. Typickými BA, které se vyskytují např. při kažení masa, jsou kadaverin a putrescin. Ve studii Bobba et al. [2015] jsou uvedeny orientační hodnoty koncentrací BA, které mohou způsobovat těžké zdravotní potíže (histamin 50 mg/100 g, putrescin 200 mg/100 g, spermin 60 mg/100 g, spermidin 60 mg/100 g, tyramin 200 mg/100 g, kadaverin 200 mg/100 g v mase) [16]. Konzumace takových potravin může vyvolat zdravotní potíže, jako jsou např. srdeční arytmie, bolest hlavy, dýchavičnost, hypo/hypertenze aj. Tyto projevy mohou být častěji pozorovány u nemocných či citlivých jedinců v závislosti na přítomnosti jednotlivých BA [1, 3, 15, 17].

1.1 Vznik a struktura biogenních aminů

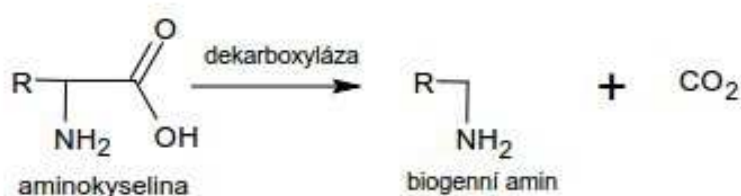
BA jsou deriváty amoniaku, v jejichž struktuře jsou alkylové skupiny nahrazeny atomy vodíku [9]. Při výměně jednoho, dvou nebo tří atomů vodíku vznikají primární, sekundární nebo terciální BA. Přidá-li se ještě jedna alkylová skupina, vznikají kvartérní amoniové soli. Schéma vzniku BA je znázorněno na obrázku 1 [11].



Obr. 1 Struktura aminů. Upraveno podle ELUC [18].

BA vznikají dekarboxylací z volných alifatických, aromatických nebo heterocyklických bazických AMK působením enzymů dekarboxyláz, které se vyskytují u některých MO [9]. Na základě jejich chemické struktury je lze i takto rozdělovat [2, 19].

Podstatou vzniku BA je tedy chemická reakce, kdy dochází k dekarboxylaci volné AMK a k odštěpení α -karboxylové skupiny za současného vzniku daného aminu a vedlejšího produktu oxidu uhličitého. Celý mechanismus vzniku BA dekarboxylací je zobrazen na obrázku 2 [10].



Obr. 2 Mechanismus vývoje BA dekarboxylací. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].

Názvy BA jsou většinou odvozeny od jejich prekurzorové AMK. Název histamin je odvozen od histidinu, tryptamin od tryptofanu, tyramin od tyrozinu. Na druhou stranu existují i názvy jako putrescin (*z angl. Putrefaction*), což znamená hniloba. Názvy spermin a spermidin byly odvozeny od semenných tekutin, kde se přirozeně vyskytují [9, 11].

BA můžeme členit do dvou kategorií. První kategorie je tvorba BA z prekurzorových AMK působením MO. Lze sem zařadit tyramin, fenyletylamin, histamin, tryptamin, kada-verin, putrescin a agmatin, které pocházejí z dekarboxylace tyrozinu, fenylalaninu, histidinu, tryptofanu, lyzinu, ornitinu a argininu. Pro vznik těchto BA je zapotřebí přítomnosti daných MO s dekarboxylázovou aktivitou a určitých podmínek, aby se mohly BA indukovat v dané potravíně (pH, teplota) [1].

Do druhé kategorie lze zařadit endogenní, neboli přirozeně přítomné aminy [2, 16]. Tyto BA vznikají díky intramolekulárnímu metabolismu živočichů, rostlin a MO. Patří sem například alifatické polyaminy spermin, spermidin, které jsou nejdůležitější ve své kategorii [21].

Podmínky pro tvorbu BA v potravinách jsou ovlivněny technologií výroby potravin, podmínkami skladování (pH, teplota, vlhkost, čas), přítomností volných AMK a MO, které mají enzym dekarboxylázu. V neposlední řadě ovlivňuje tvorbu BA kvalita surovin a celkový stav potraviny [9, 22, 23, 24, 27].

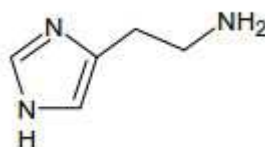
Typickými zástupci MO s dekarboxylázovou aktivitou jsou bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*) [28]. Dále to mohou být bakterie mléčného kvašení (dále jen BMK) (laktobacily, pediokoky, enterokoky) [3, 6, 29] nebo některé druhy kvasinek (*Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Pichia jadinii* nebo *Geotrichum candidum*, aj.), které jsou spojovány s potenciální produkcí BA [30, 31]. Bližší informace budou popsány u jednotlivých BA v dalších kapitolách.

1.2 Vybraní zástupci biogenních aminů a jejich fyziologická aktivita

Následující text se blíže věnuje vlastnostem konkrétních BA vyskytujících se nejčastěji v potravinách a těmi, které mají mnohdy ve vysokých koncentracích fatální následky na kvalitu potravin a zdraví člověka [16, 35].

1.2.1 Histamin

Histamin je heterocyklický BA, který vzniká dekarboxylací z histidinu za pomoci enzymu histidindekarboxyláza. Histamin je imidazolamin a je ho možné zařadit mezi diaminy (dělení podle počtu AMK). Chemická struktura histaminu je znázorněna na obrázku 3 [5, 15, 23, 32]. Histamin se vyskytuje v široké škále fermentovaných potravin. Jeho zdroji jsou pivo, víno, salámy, kde vzniká při různých technologických operacích [5, 33].



Obr. 3 Histamin. Upraveno podle Glória et al [2005] [11].

Za přítomnost histaminu v mnohých potravinách jsou zodpovědné jak gramnegativní, tak grampozitivní bakterie. Největšími producenty histaminu jsou *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, dále *Morganella psychrotolerans* a *Photobacterium phosphoreum*. Ve fermentovaných potravinách to jsou například BMK (*Oenococcus oeni*, *Pediococcus parvulus*, *Pediococcus damnosus*, *Tetragenococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactobacillus saerimneri*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus buchneri* a *Lactobacillus curvatus*. Ve vinařství byly zjištěny jako kontaminující bakterie starterových kultur *Lactobacillus rossiae* a *Lactobacillus parabuchneri*, které produkují histamin [24, 25].

Za běžných podmínek a okolností má histamin řadu důležitých funkcí v těle člověka [5, 33]. Konkrétně histamin plní funkci neurotransmiteru. Uplatňuje se i při růstové regulaci. Nachází se i v cytokinové síti při zánětech. Histamin je v lidském těle odbouráván enzymem diaminoxidáza. U některých jedinců tento enzym chybí a tento jev je nazýván histaminová intolerance. U těchto jedinců je třeba dbát na antihistaminovou dietu, kdy je vyloučena konzumace fermentovaných výrobků jak rostlinného, tak živočišného původu [5, 34]. Na druhou stranu jeho znesnadněné odbourávání může být také ovlivněno přítomností etanolu či některými léky [1, 35].

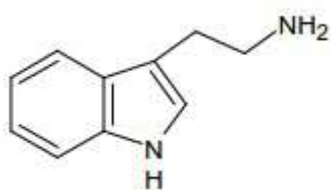
Histamin je jediný BA, který má v evropských legislativních předpisech stanoveno nejvyšší přípustné množství, které dosahuje 100 mg/kg v rybách a rybích výrobcích [36]. Společně s tyraminem se jedná pro člověka o nejvíce toxické BA [3, 37]. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (dále jen EFSA) uvádí, na základě dostupných informací, koncent-

raci 25 – 50 mg histaminu na osobu na jedno jídlo, kdy nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky u zdravých jedinců. Tato hladina koncentrace může být občasně překročena [24]. Při příjmu více než 500 mg histaminu na kilogram potravin může působit projímavě, způsobovat bolesti hlavy, astmatické sípání, problematické dýchání nosem, hypotenzi, kopřivku, arytmii a jiné zdravotní komplikace [16, 35].

1.2.2 Tryptamin

Tryptamin je heterocyklický BA, který je řazen mezi diaminy. Znázorněn je na obrázku 4 [10]. Jedná se o indolový derivát, jehož prekurzorem je tryptofan [23]. Také tryptamin je nepostradatelnou složkou pro důležité fyziologické funkce u lidí i zvířat [38]. Tryptamin slouží jako prekurzor pro serotonin, což je neurotransmitter, který má úlohu v centrální nervové soustavě (dále jen CNS) a v gastrointestinálním traktu [39].

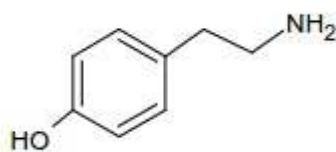
Může vznikat mikrobiální dekarboxylací nebo aminací a transaminací z aldehydů a ketonů. Vzniklý tryptamin je velice těžko odstranitelný vařením či pasterizací, proto je také jedním z ukazatelů kvality surovin. Tryptamin je znám napříč spektrem potravin (vybrané ovoce a zelenina, maso, sýry, vejce, alkoholické nápoje, fermentované nápoje, aj.) [39]. V pivu se tvoří během fermentace [40]. Jeho obsah v potravinách je dán přítomností specifické AMK (tryptofan) a dekarboxyláza pozitivních MO, konkrétně BMK a vhodnými podmínkami pro jeho tvorbu (teplota, dostupnost volných AMK, aj.) [39].



Obr. 4 Tryptamin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].

1.2.3 Tyramin

Tyramin je aromatický monoamin, který vzniká dekarboxylací tyrozinu pomocí enzymu tyrozindekarboxylázy. Jeho vzorec je znázorněn na obrázku 5 [11, 15, 41]. Tyramin při vysokých koncentracích (200 mg/100 g) může ovlivňovat krevní tlak, způsobuje bolesti hlavy, kontrakce hladkého svalstva a dýchavičnost [15, 20, 42].



Obr. 5 Tyramin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].

Podle EFSA je přípustná koncentrace 600 mg na osobu na jednu porci jídla, kdy nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky. Tato koncentrace platí pro lidi, kteří neužívají léky s inhibitory monoaminoxidázy (dále jen MAOI). Lidé, kteří užívají klasické MAOI léky mohou přijmout maximálně 6 mg na osobu a porci jídla, avšak tato koncentrace se může lehce překročit konzumací fermentovaných potravin. Na druhou stranu lidé užívající léky MAOI třetí generace mohou konzumovat potraviny s příjmem až 50 mg tyraminu na osobu a porci jídla [24].

Tyramin společně s putrescinem, kadaverinem a fenyletylaminem patří mezi tzv. vasoaktivní aminy [16]. V lidském těle ovlivňují uvolňování noradrenalinu, čímž nepřímo zvyšuje tlak krve [11]. Tyramin společně s fenyletylaminem jsou endogenní součástí některých tkání, včetně mozku. Oba dva mohou přecházet mezi hematoencefalickou bariérou. Při nadměrném příjmu z potravin se mohou dostat do centrální nervové soustavy (dále jen CNS) a negativně ovlivňovat psychiku člověka [16]. Vysoký obsah tyraminu v mozku je spojován s depresemi, schizofrenií, Parkinsonovou chorobou či Reyovým syndromem. Lze tedy tyramin řadit i jako psychoaktivní [30]. Velmi závažnou intoxikací způsobenou tyraminem je tzv. cheese reaction. Příznaky jsou podobné histaminové intoxikaci [16].

Sýry nejsou pouze jediným zdrojem tyraminu. Dalšími bohatými zdroji mohou být extrakty z kvasnic, klobásy, fermentované alkoholické nápoje, nakládané fazole, kuřecí játra, pivo aj. [11, 15, 23].

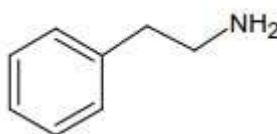
Hlavními producenty tyraminu v sýrech a klobásách jsou BMK (*Enterococcus faecium* a *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. a *Carnobacterium* spp. U fermentovaných nápojů mohou být producenti tyraminu *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc* spp. a *Pediococcus* spp. [24, 43].

1.2.4 Fenyletylamin

Fenyletylamin je aromatický BA, který vzniká dekarboxylací z fenylalaninu [10, 30, 45]. Společně s tyraminem jsou brány jako vazoaktivní a psychoaktivní látky. Jsou přímo spojované s bolestmi hlavy, zvýšeným krevním tlakem, pocením, závratěmi, zvracením, aj. [10, 15].

Jak již bylo zmíněno, fenyletylamin společně s tyraminem se nachází v mnoha tkáních a při vyšších koncentracích v potravinách spolu mohou negativně ovlivňovat CNS. Fenyletylamin lze najít v pivu, sýrech nebo také v čokoládě [11, 15, 44].

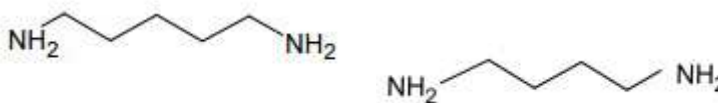
Vznik fenyletylaminu je většinou spojován s přítomností BMK (*Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc paramesenteroides*), dále s Grampozitivními bakteriemi (*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus piscifermentans*, aj.). Spolu s fenyletylaminem je obvykle produkován i tyramin [11, 24, 25].



Obr. 6 Fenyletylamin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].

1.2.5 Kadaverin a putrescin

Kadaverin vzniká stejně jako putrescin dekarboxylací lyzinu [7]. Oba dva se řadí mezi diaminy. Jejich vzorce jsou uvedeny na obrázku 7 [15]. Společně s putrescinem a histaminem mohou vznikat v postmortálním stavu. Jsou považovány za indikátory nežádoucí přeměny bílkovin [17]. Z toho důvodu je často kadaverin nazýván tzv. mrtvolným jedem [23].



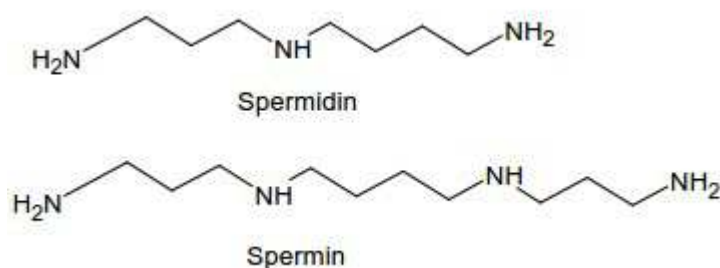
Obr. 7 Kadaverin a putrescin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].

Příjem vysokých dávek kadaverinu může způsobit hypotenzi, bradykardii, dyspnoe, záněty nebo částečné ochrnutí končetin. Oproti ostatním BA nevykazuje příliš vysokou toxicitu, ale uplatňuje se jako podpurný faktor toxicity například tyraminu a histaminu a tím zvyšuje jejich toxicitu [11].

Produkce putrescinu a kadaverinu je zejména spojována s gramnegativními bakteriemi. Jedná se o čeledi *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* a *Shewanellaceae*. Z čeledi *Enterobacteriaceae* to jsou rody *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* a *Shigella*, které jsou spojovány s přítomností v potravinách. Putrescin je také jedním z nejvíce se vyskytujících BA ve fermentovaných potravinách, protože je produkován i BMK (převážně laktobacily) a dále stafylokoky [24]. V pivu je přítomnost putrescinu dána i tím, že se přirozeně nachází ve sladu [46].

1.2.6 Spermin a spermidin

Spermin a spermidin jsou alifatické polyaminy. Jejich vzorce jsou uvedeny na obrázku 8. Jejich prekurzorem je arginin. Přirozeně se vyskytují v různých potravinách [11, 16, 17, 47]. Tyto biogenní polyaminy mají i jiné dráhy syntéz, než je vznik pouhou dekarboxylací. Jedná se o komplexní sled reakcí, který zahrnuje počáteční dekarboxylaci s tvorbou putrescinu a následné zabudování aminoskupin z metioninu za vzniku sperminu a spermidinu [15, 47].



Obr. 8 Spermidin a spermin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].

Polyaminy jsou přítomné ve všech živých buňkách. Mají důležitou fyziologickou roli zejména při dělení buněk, organogenezi, reakci na stres a slouží jako antioxidant (inhibice oxidace lipidů). Regulují a stimulují syntézu DNA a RNA a bílkovin [15, 47, 48].

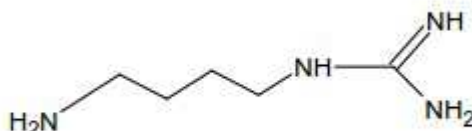
Spermin a spermidin lze například běžně detekovat v čerstvém mase (vepřové, hovězí, aj.), samozřejmě koncentrace jsou podstatně nižší, než kdyby tyto polyaminy vznikly za

přítomnosti MO [10]. Tyto polyaminy lze detekovat také v pivu, neboť se přirozeně vyskytují ve sladu, chmelu či pivovarských kvasnicích [44].

1.2.7 Agmatin

Agmatin je alifatický polyamin, který vzniká dekarboxylací z argininu. Za katalýzy enzymu agmatináza vzniká z agmatinu putrescin. V potravinách může být přítomen endogenně. Také může vznikat i mikrobiálně [10, 15]. Jedná se především o potraviny rostlinného původu (ovoce, zelenina), ale zcela běžně je detekován také ve sladu nebo ve chmelu [11].

V těle člověka má důležité fyziologické úlohy a to především působení jako neuro-modulátor, který reguluje nespočet neurotransmiterů a signalizačních cest v CNS [49].



Obr. 9 Agmatin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].

V tabulce 2 jsou uvedeny vybrané informace o zmíněných BA. Především jsou zde uvedeny heterocyklické aminy (histamin a tryptofan), aromatické aminy (tyramin a fenyletylamin), alifatické diaminy (kadaverin a putrescin) a alifatické polyaminy (agmatin, spermin a spermidin) [10].

Tab. 2 Vybrané informace o BA a polyaminech [5, 12,7, 10, 27, 32, 34, 38, 40, 44, 48]

Biogenní amin	Prekurzor	Výskyt v potravinách	Fyziologická aktivita
Histamin	Histidin	Fermentované potraviny, ryby a rybí výrobky	Neurotransmitér, regulátor růstového hormonu, při zánětech v cytokinové síti Vysoké koncentrace: průjem, bolesti hlavy, astmatické sípání,

			hypotenze, arytmie, kopřivka
Tryptamin	Tryptofan	Vybrané ovoce a zelenina, maso, sýry, vejce, alkoholické nápoje, fermentované nápoje	Prekurzor pro serotonin Vysoké koncentrace: migréna, vysoký tlak
Tyramin	Tyrozín	Fermentované alkoholické nápoje, kuřecí játra, klobásy, sýry, nakládané fazole, aj.	Uvolňování neurotransmiterů, Vysoké koncentrace: působení na psychiku člověka, vliv na krevní tlak, bolení hlavy, kontrakce hladkého svalstva
Fenyletylamin	Fenylalanin	Pivo, sýry nebo ho lze také nalézt v čokoládě	Vysoké koncentrace: bolesti hlavy, zvýšený krevní tlak, pocení, závratě, zvracení, ovlivnění psychiky
Kadaverin a putrescin	Ornitin a lyzin	Maso a masné výrobky, fermentované potraviny (živočišný i rostlinný původ)	hypotenze, bradykardie, dyspnoe, záněty a částečné ochrnutí končetin
Agmatin	Arginin	Potraviny rostlinného původu, pivo (slad, chmel)	Neuromodulátor
Spermin a spermidin	Arginin	Čerstvé maso, pivo, potraviny rostlinného původu	Dělení buněk, organogeneze, reakce na stres, antioxidant (inhibice oxidace lipidů), regulace a stimulace syntézy DNA a RNA a bílkovin.

1.3 Faktory, které ovlivňují množství biogenních aminů ve výrobku

MO s dekarboxylázovou aktivitou jsou hlavní činitelé, kteří produkují BA v potravinách. Růst těchto MO je ovlivněn především vnějším prostředím (abiotické faktory) jako jsou pH, teplota, dostupnost AMK, koncentrace cukru a soli, vodní aktivita, přístup kyslíku, aj. Ovlivnění produkce BA mohou ovlivnit i biotické faktory (kondice starterových kultur, symbiotické působení různých MO, aj.). Dále může ovlivňovat růst MO s dekarboxylázovou aktivitou přímo technologie výroby (doba fermentace, doba zrání, zařazení pasteračního zařízení do výroby, hygienická úroveň provozu, aj.) [55, 67, 68, 69, 70, 71, 72].

Primárně je zapotřebí omezit růst nežádoucí mikroflóry ve výrobku a zabránění její enzymatické aktivity. Z toho důvodu hraje důležitou roli hygiena v celém technologickém procesu výroby [55, 73, 74].

Jedním z nejhlavnějších producentů BA jsou BMK. Na jedné straně ve výrobě piva BMK působí velmi negativně a taková kontaminace může značně ovlivnit kvalitu celkového výrobku a následně i celkový obsah BA. Na druhé straně jsou využívány jako starterové kultury u vybraných produktů (fermentované salámy, sýry, aj.), kdy je zapotřebí použít takové kmeny bakterií, které nemají nebo mají velmi nízkou dekarboxylázovou aktivitu a pokud je to možné, zajistit pro ně příznivé podmínky maximálně v nezbytně potřebné době [3, 6, 9, 22, 23, 24, 25, 27, 29].

Koncentrace překračující bezpečné limity BA v potravinách jsou rizikové pro zdraví člověka. Z tohoto důvodu je aktuálním tématem zamezení jejich tvorby, anebo snížení obsahu. Například jednou z možností snižování obsahu histaminu je použití MO bez dekarboxylázové aktivity, ovlivnění podmínek jejich působení v potravině či zamezení kontaminace jinými MO během celého procesu výroby piva [1, 10, 32].

Další metodou snižování histaminu je aplikace diaminooxidázy degradující histamin. Taková aplikace enzymu je složitá a poměrně finančně náročná [50]. Obsah histaminu lze však snižovat i úpravou teploty, pH, koncentrací NaCl a celkově dobou působení těchto faktorů, což ovlivňuje činnost mikroflóry produkující histamin [51].

Aplikací proteolytických enzymů trypsin a chymotrypsin lze ovlivňovat obsah kadeverinu a tyraminu v potravině [52].

2 ZDROJE BIOGENNÍCH AMINŮ V PIVU

BA v pivu se nachází v různých koncentracích v závislosti na použitých surovinách, jejich kvalitě a správné výrobní a hygienické praxe provozu [22, 53]. Výskyt BA za normálních podmínek v pivu lze rozdělit do tří skupin. První z nich jsou přirozeně se vyskytující BA v surovinách (spermin, spermidin, putrescin a agmatin). Další skupina zahrnuje BA, které mohou vznikat během rmutování a chmelovaru (tyramin, agmatin a kadaverin). Třetí skupinou jsou BA, které mohou vznikat během fermentace (tyramin a tryptamin) [54]. Pozornost v tomto textu bude směřována na popsání surovin, technologických kroků ve výrobě piva a jejich vlivu na obsah BA ve výrobku [22, 53].

2.1 Suroviny

Obsah BA v potravinách je ovlivněn výběrem kvalitních surovin. Primárně lze tedy říci, že čím kvalitnější suroviny, tím nižší obsah BA, ale neplatí to vždy. Některé BA (například polyaminy) se nachází v surovinách přirozeně a plní důležité fyziologické funkce. Polyaminy jsou přítomny ve sladu, chmelu, ale obsahují je i pivovarské kvasinky. Dále je důležité kontrolovat mikrobiální kontaminaci surovin během celého procesu výroby piva. BA jsou termostabilní, takže je obtížné již vzniklé BA během běžného technologického procesu odstranit. Z tohoto důvodu je velmi důležité používat kvalitní suroviny bez případných kontaminací MO [22, 53, 55, 56].

2.1.1 Varní voda

Varní voda by měla být prostá BA [22]. Varní voda musí mít charakter pitné vody a musí splňovat daná kritéria vyhláškou č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody [57].

2.1.2 Slad

Slad je jedním z možných zdrojů BA v pivu. Agmatin, putrescin, spermin a spermidin se nachází ve sladu přirozeně. Obsah přirozených BA v tomto případě záleží na odrůdě ječmene a jiných aspektech. Pokud se nachází koncentrace těchto BA na přijatelné úrovni,

lze je do jisté míry brát jako přirozenou složku v pivu. Obsah jiných BA (histamin, tyramin, kadaverin aj.) může ukazovat mikrobiální kontaminaci. Například obsah histaminu ve sladu je spolehlivým indikátorem kvality ječmene a hygienických podmínek během skladování ječmene, procesu sladování a následných manipulací se sladem [22, 46, 53, 56, 58]. Protože ječmen jako takový neobsahuje histidin [26].

U sladu mohou představovat riziko dvě skupiny MO. První skupinou je tzv. původní mikroflóra při sklizni ječmene, od které se odvíjí kvalita suroviny pro slad. Z tohoto důvodu je třeba dbát na kvalitní výběr suroviny. Lze sem zařadit divoké kvasinky (např. *Erwinia herbicola*) [59], bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter*, *Escherichia coli*), *Flavobacterium*, *Pseudomonas* nebo BMK rodu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, aj. [60].

Druhá skupina je možná mikroflóra sladu vzniklá při samotném sladování. Patří sem například BMK, bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, bakterie rodu *Pseudomonas*, divoké kvasinky, aj. [60].

BMK jsou producenti tyraminu a histaminu a představují jedno z největších rizik kontaminace u piva. Kadaverin a putrescin produkují například *Escherichia coli* a *Enterobacter*. Správnou technologií sladování a správnou hygienickou praxí lze minimalizovat riziko rozvoje kontaminující mikroflóry s dekarboxylázovou aktivitou [22, 46, 53, 56, 58]. Jedním z možných opatření je pravidelná výměna máčecího roztoku v kroku máčení během vzduchové přestávky, kontrola teploty během máčení, kdy je vhodnější udržovat nižší teploty [61].

Sladu je při výrobě piva použito mnohonásobně větší množství, než chmelu a pivovarských kvasnic. Z toho důvodu je slad největším možným zdrojem BA v pivu, proto je třeba klást důraz na jeho kvalitu [62].

2.1.3 Chmel

Chmel je stejně jako slad a pivovarské kvasnice zdrojem přirozeně se vyskytujících polyaminů a diaminů. Oproti sladu je obsah polyaminů a diaminů ve chmelu nižší. Navíc vzhledem k jeho množství aplikovaného ve výrobě je obsah BA v celkovém měřítku zanedbatelný. Chmel obsahuje polyfenolické látky, silice a pryskyřice. Pryskyřice a některé silice působí antimikrobiálně. Z tohoto hlediska nehrozí téměř žádné riziko mikrobiální

kontaminace a následná produkce BA ve chmelu za pomoci MO. Chmelové pryskyřice a silice jsou velmi nestálé látky, které snadno oxidují, a proto je zapotřebí skladovat chmel a chmelové produkty [vlhkost okolo 11 % (v/w)] v suchých, chladných a temných místech (okolo 0 °C), což má sekundárně negativní vliv na rozvoj kontaminující mikroflóry [55, 62]. Díky těmto látkám chmel do jisté míry stabilizuje mikrobiálně pivo. Bylo však zjištěno, že některé BMK jsou odolné vůči hořkým kyselinám obsaženým v chmelu. U *Lactobacillus brevis* byly identifikovány dva rezistentní geny *HorA* a *HorD* [63]. Ve studii M. Izquierdo-Pulido et al. [1994] bylo zjištěno, že chmel obsahoval koncentrace tyraminu a fenyletylaminu pouze do 20 mg/kg [64].

2.1.4 Pivovarské kvasinky

Pro výrobu piva jsou používány dva základní druhy kvasinek. Pro piva typu spodně kvašená *Saccharomyces pastorianus* a pro svrchně kvašená piva *Saccharomyces cerevisiae* [55, 65]. Ve velmi nízkých koncentracích obsahují pivovarské kvasinky polyaminy, které mají různě důležité role v buňkách. Takový obsah je zanedbatelný a nemá vliv na celkový obsah BA v konečném produktu [22, 66]. Navíc tyto kulturní druhy neprodukují BA [26].

2.2 Vliv technologií

Během rmutování mohou vznikat tyramin a agmatin z jejich prekurzorových AMK (tyrozin a arginin) tepelnou dekarboxylací [64]. Tyramin a tryptamin mohou vznikat během fermentace [54].

Obsah BA v pivu je především chemickým ukazatelem hygienické čistoty výrobního zařízení v pivovaru. K předcházení tvorby BA v pivu je důležité dbát na přísnou hygienickou praxi od ukončení chmelovaru až po samotné stáčení do spotřebitelského obalu. Rizikem je jakákoliv sebemenší kontaminace MO, která by vedla k produkci metabolitů (BA) v konečném výrobku [55, 67, 68].

2.2.1 Výroba mladiny

Ve studii Halász et al. [1999] je uvedeno, že během rmutování může docházet ke změně celkového složení obsahu BA. Konkrétně se jednalo o zvýšení obsahu agmatinu a putrescinu a snížení sperminu a spermidinu. Tento jev lze vysvětlit postupnou aktivací proteolytických enzymů během rmutování, které vedou ke štěpení bílkovin a tím se připravuje substrát pro deaminázy a kyselé dekarboxylázy. Ideálními podmínkami pro vznik AMK hydrolyzou z bílkovin je teplota okolo 45 až 50 °C a úprava pH z běžných 5,5 – 5,6 na 5,2 – 5,3. Tyto podmínky se využívají u špatně rozluštěných sladů (peptonizační teplota) [46, 55]. Část BA se nevylohuje do sladiny a zůstane v mlátu, které je při scezování odvedeno pryč [62].

2.2.2 Hlavní kvašení a dokvašování piva

Hlavní kvašení je velmi problematickým technologickým krokem, který je vhodný pro tvorbu BA. Hrozí největší riziko mikrobiální kontaminace. Kvasinky mohou být kontaminovány divokou formou kvasinek či bakteriemi, které pak mohou následně kontaminovat i samotné mladé pivo [69, 70].

Divoké kvasinky jsou také příčinou tvorby sensoricky aktivních látek negativně ovlivňujících chuť piva. Některé z druhů jsou schopné dekarboxylace a produkce BA (*Candida*, *Debaryomyces*) [69, 70]. Největší hrozbou v rozsahu produkce BA jsou však jednoznačně BMK (např. *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus claussenii*). Některé BMK, jako jsou *Lactobacillus coryniformis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, jsou velmi málo rezistentní vůči chmelovým hořkým látkám, a proto kazí většinou piva málo chmelená [71].

Důležitá je také kondice ušlechtilých kvasinek. Kvasinky mohou mutovat a jejich kondiční stav se tak zhoršuje. Autolýzou během fermentace pak zvyšují množství AMK dostupných k dekarboxylacím [55, 72].

Dalším faktorem, který ovlivní obsah BA, může být teplota a doba kvašení [67, 68]. Například u spodně kvašených piv, kde je optimální teplota kvašení 8 – 12 °C, lze zvýšenou teplotou kvašení zkrátit dobu potřebnou pro prokvašení mladiny. Na druhou stranu hrozí zvýšená produkce BA a jiných vedlejších metabolitů zhoršujících kvalitu piva.

Ovšem pokud je násada kvasinek ve výborné fyziologické kondici, lze i této nežádoucí produkci částečně předejít [72].

Při dokvašování (zrání) piva v ležáckých tancích dochází k ucelení chuti piva, čiření, sycení oxidem uhličitým a ztrátě chuti mladého piva. Přestože není toto prostředí pro bakterie ideální, může v daném prostředí docházet k růstu např. *Pediococcus damnosus*, který snáší i velmi nízké teploty (-2 až 3 °C) [55, 71].

2.2.3 Zajištění mikrobiologické jakosti piva při stáčení

Posledním krokem výroby piva je jeho stáčení do spotřebitelského balení. Tato závěrečná fáze je velmi důležitá na hygienu zařízení v pivovaru a celkovou hygienickou úroveň této technologické operace. Jestliže se nacházejí v pivu na konci zrání BA v nepřijatelných limitech, jedná se většinou o nevratný stav [55, 73].

Existují však možnosti, jak snížit BA ve výrobku (např. enzymy, úpravy podmínek procesu výroby). Jednou z možností snížení obsahu histaminu je aplikace diaminooxidázy. Enzymy lze aplikovat i na jiné BA. Například byla provedena studie Sahin-Ercas et al. [2016] na redukci kadaverinu a tyraminu za využití nových metod pomocí proteolytických enzymů trypsin a chymotrypsin. Kadaverin i tyramin byly v této studii vystaveny za modelových podmínek působení v různých provedeních těmto enzymům. Bylo zjištěno, že tyramin byl redukován pomocí trypsinu a chymotrypsinu o 57,2 a 52,1 %. Kadaverin byl redukován trypsinem a chymotrypsinem o 80,4 a 83,0 % [50, 52].

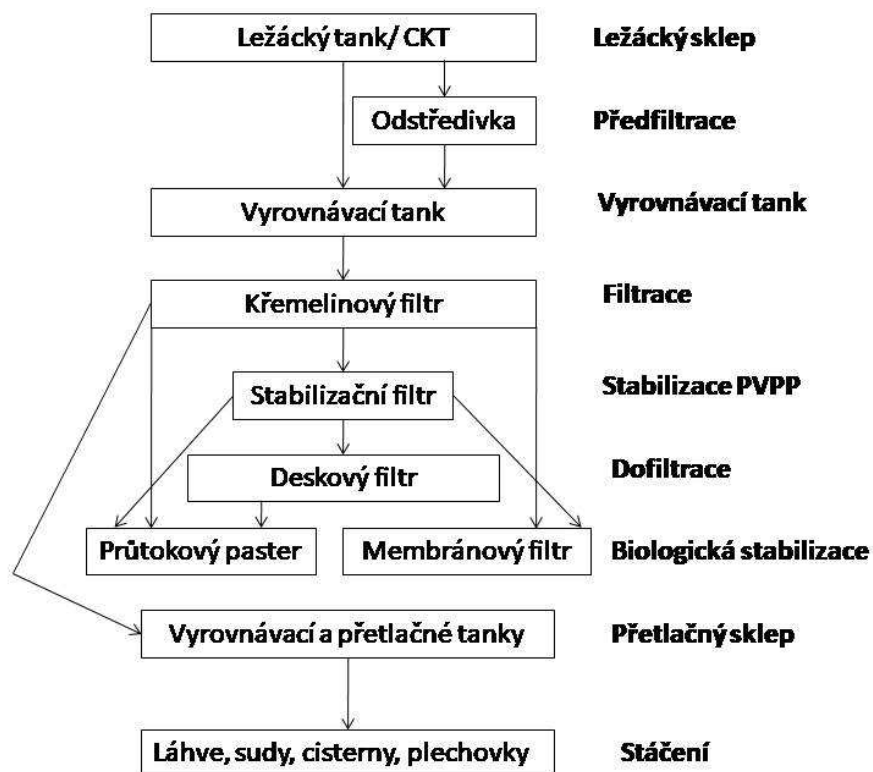
Ve studii Jiang et al. [2017] byl proveden výzkum, jaký vliv má pH, teplota, doba působení, koncentrace NaCl, počáteční koncentrace glukózy, počáteční koncentrace histaminu na celkovou redukci histaminu v potravině. Bylo zjištěno, že za vhodných reakčních podmínek snižuje glukóza/histamin Maillardova reakce jak samotný obsah histaminu, tak i jeho cytotoxicitu. Díky této metodě bude možné do budoucna do jisté míry ovlivňovat obsah histaminu v potravinách [51].

Při výrobě jakéhokoliv výrobku se musí ale brát na vědomí také ekonomická stránka produkce. Tedy zda se vyplatí tyto kroky podnikat, nebo raději výrobek zlikvidovat. Z toho důvodu musí být kladen důraz na hygienickou čistotu od začátku výroby a na kvalitu surovin. Dále kroky vedoucí z ležáckých tanků ke spotřebitelskému balení musí zajistit vyso-

kou mikrobiologickou jakost piva, ve kterém se již dále nebudou vyskytovat MO, které by mohly produkovat další BA při skladování [50, 73].

Pivo je ve spotřebitelských obalech většinou skladováno při vyšších teplotách, než je teplota ležáckých tanků a rozvoj případné kontaminující mikroflóry je o to rychlejší [50, 52, 55, 73].

Před balením piva do spotřebitelských obalů je podrobena několika krokům zajišťujícím mikrobiologickou, koloidní, chemickou a chuťovou stabilitu. Jedná se o komplexní záležitost. Pivo obsahuje jak zbytky kvasinek nebo popřípadě bakterie, tak i zbytky bílkovin a polyfenolických látek, které mohou negativně ovlivňovat konečný produkt. Tyto kroky jsou závislé na filtračním zařízení a velikosti částic. Na obrázku 10 je uvedeno schéma, které ukazuje, jakým způsobem může probíhat konečná úprava piva před stáčením a zajištění jeho další stabilizace [73, 74].



Obr. 10 Schéma úpravy piva. Upraveno dle Kosař et al. [2000] [55]

K mikrobiologické stabilizaci a zamezení možného rozvoje kontaminující mikroflóry je využívána pasterace, nebo membránová filtrace. Dnešní trend výroby piva se snaží

upouštět od pasterace, kvůli tepelné zátěži piva (možné zhoršení organoleptických vlastností – vařivá chuť) a většinou je použita právě zmíněná membránová filtrace, která má stejný efekt jako pasterace. Většinou pasteraci provádějí velké pivovary a membránovou filtraci menší pivovary [55, 73, 74].

Při membránové filtraci dochází k odstranění všech MO beze změny teploty piva a za aseptických podmínek probíhá plnění do spotřebitelských obalů. Bohužel i při membránové filtraci může být pivo zbaveno pozitivních charakteristik piv (hořkost, barva, pocit plnosti v ústech, aj.). Pokud má být pivo zbaveno MO pomocí membránových filtrů, je zapotřebí provést několik předoperačních kroků a pivo zbavit od nejhrubších částic až po ty nejjemnější, aby se nezanášely jemné filtry [73, 74].

V pivovarech jsou nejčastěji využívány pomocné filtry (křemelina). Tyto pomocné filtry jsou aplikovány přímo do piva a jsou naplavovány na filtrační přepážku. Křemeliny je několik velikostí a je používána dle potřeby (různá velikost částic). Tato filtrace právě předchází samotné membránové filtraci (mikrofiltraci) zajišťující mikrobiální stabilitu [73, 74].

Jestliže je úzkostlivě dodržována hygiena v celém provozu pivovaru, tak je zapotřebí klást ještě větší důraz na hygienickou čistotu během stáčení a na samotné spotřebitelské balení, aby v posledním kroku nedošlo ke kontaminaci výrobku a k případnému zvyšování koncentrací BA během skladování výrobku [73].

Dnešní linky na stáčení jsou většinou automatické, řízené patřičnými softwary a stáčení probíhá za aseptických podmínek při CO₂ ochranné atmosféře. Čištění vratných spotřebitelských obalů je zařazeno do plnicí linky a musí být zajištěna sterilita těchto obalů [75, 76].

Například kontrola správně čištěných lahvových obalů a nepoškozených lahví a je prováděna většinou vizuální kontrolou, která je automaticky řízena výpočetními technologiemi. Konkrétně se jedná o rychlé CCD (*z angl. Charged-Coupled Device*) průmyslové kamery. Tyto kamery nahrazují lidské oko a celá kontrola přechází do automatického systému. Pořízené snímky zpracovává příslušný software, který je vyhodnotí a na tomto základě lahve nepustí dále (defekt lahve, cizí předmět v lahvi), vrací zpět do mycího zařízení (zbytkové nečistoty) nebo je pouští do další části stáčecí linky [75, 76].

Ve většině pivovarů je kontrola spotřebitelských obalů označena jako kritický kontrolní bod v systému HACCP (*z angl. Hazard Analysis Critical Control Point*). Toto opat-

ření je spíše z důvodu kontroly, aby se do oběhu nedostala lahev, sud nebo plechovka se zbytky louhu, popřípadě s defektem hrdla, těla lahve nebo lahev s cizími předměty, aj. [55, 73, 77].

3 ZMAPOVÁNÍ BIOGENNÍCH AMINŮ V RŮZNÝCH DRUZÍCH PIV

Tato kapitola znázorňuje sortiment pív, který je rozdělen dle svého místa původu a procesu výroby. Celý svět produkuje piva, která jsou charakteristická pro jeho část nebo danou zemi. Pro Českou republiku jsou typická piva spodního kvašení, konkrétně ležáky, piva plzeňského typu). Belgie, Nizozemí a Francie se vyznačují výrobou spontánně kvašených pív a názvy Lambic, Geuze, Kriek, Frambozen nebo Faro [78, 79]. Svrchně kvašená pšeničná piva dominují v Belgii a v Německu. Piva typu Stout a Porter vévodí Velké Británii [80]. Svrchně kvašená piva typu Ale jsou produkována především v západní Evropě a v Americe. Piva typu Ale lze rozdělit i do několika podkategorií. Například Amber je speciální pivo typu Ale pocházející z Belgie nebo Ameriky. Mild Ale se vyrábí v Anglii. Belgický Ale, jak již název vypovídá, pochází z Belgie. V Belgii se nadále vyrábí i pivo typu Saison nebo klášterní pivo Trapista [81, 82].

Na jiných kontinentech, jako je americký kontinent, se můžeme setkat i s kukuřičnými pivy, nebo v Africe například s čirokovým pivem. V asijských zemích mohou být piva vyráběna z rýže. Toto je malý výčet různorodosti pív ve světě [83, 84].

Jedno mají však společné a to je kvašení za pomoci různých MO [83, 84].

Z tohoto důvodu je naprosto diametrální rozdíl kvantitativního i kvalitativního podílu BA v těchto pivech. Právě rozdílné technologické kroky, suroviny, použité MO, technické vybavení pivovarů jednotlivých zemí a jiné aspekty mohou ovlivnit obsahy BA v pivě [55].

V České republice se v posledních letech rozvíjí nový trend minipivovarů, které nabízí o mnoho širší základnu nabízeného sortimentu pív (především speciály) oproti klasickým konvenčním velkým pivovarům. I z tohoto důvodu je velmi zajímavější pohled na obsah BA v českých pivech, které nabývají na velké rozmanitosti typově i kvalitativně [85].

3.1 Obsah biogenních aminů v pivech z České republiky

V České republice mají největší zastoupení spodně kvašená piva. V roce 2016 bylo v České republice vyrobeno nejvíce piva v historii (20,5 milionu hektolitřů). Především

vzrostl export do zahraničí o 4,5 %. Změnil se poměr piva ve spotřebitelských baleních. Snížila se konzumace sudového piva, která v roce 2016 činila 37 % celkového výstavu pivovarů. Spotřeba plechovkového piva se zvýšila na 6 % celkového výstavu v ČR. Lahvové pivo zaujímalo 42 % a pivo tankové zaujímalo 3 % celkového trhu. Celkově připadala 143 litrů roční spotřeba na hlavu obyvatele v roce 2016 [86].

Studie Buňka et al. [2012] zkoumala 114 vzorků tuzemských lahvových piv z 28 různých pivovarů. Devadesát osm vzorků piv zastupovalo pivo alkoholické a 16 vzorků bylo nealkoholických. Ve vzorcích bylo zastoupeno 94 světlých piv, 12 tmavých, šest polotmavých a dvě řezaná piva. U alkoholických piv bylo zastoupeno 31 piv výčepních, 52 ležáků a 15 piv bylo klasifikováno jako pivní speciály. Z každého vzorku byly použity čtyři lahve, přičemž dvě byly změřeny ihned po zakoupení a dvě na konci minimální trvanlivosti, která se lišila v závislosti na typu piva (38 – 173 dnů). Cílem této studie bylo zmapovat obsah BA a polyaminů ve vzorcích a dále vývoj BA a polyaminů při zakoupení vzorků a na konci jejich minimální trvanlivosti. Vzorky byly skladovány při 8 ± 1 °C. Výsledkem této studie byla zpracovaná data, která ukazovala vzestupný trend vývoje obsahu BA a polyaminů v pivech od zakoupení vzorků po konec jejich minimální trvanlivosti. Za povšimnutí stojí tyramin, jehož hladina koncentrace v pěti vzorcích překročila hodnotu 100 mg/l, která může být již nebezpečná pro zdraví konzumenta. Takto vysoká hodnota tyraminu ve vzorcích mohla být způsobena přítomností *Lactobacillus*, *Enterococcus* a *Pediococcus* [11, 87].

Ve studii Kalač et al. [1997] bylo zkoumáno 78 lahvových piv z 32 pivovarů v České republice. Vzorky byly tmavá a světlá spodně kvašená piva s obsahem extraktu původní mladiny (dále jen EPM) 10 a 12 %. Piva byla pořízena v tuzemských supermarketech. Dále byly podrobeny výzkumu vzorky tří šarží piva z jednoho pivovaru, který využívá tradičních technologií, za účelem zjištění změny obsahu BA u meziproductů během procesu výroby piva. Cílem této práce bylo zjistit obsahy BA ve všech vzorcích. Průměrné hodnoty BA byly zjištěny pro histamin ($0,55 \pm 1,08$ mg/l), tryptamin ($1,21 \pm 1,46$ mg/l), tyramin ($6,85 \pm 5,19$ mg/l), putrescin ($8,84 \pm 7,06$ mg/l) a pro kadaverin ($12,9 \pm 12,3$ mg/l). Výsledkem této práce bylo zjištění, že nebyly pozorovány významné rozdíly mezi typy piv (tmavé a světlé pivo, EPM 10 a 12 %). Testování tří šarží vzorků zkoumaných za účelem změny obsahu BA ve výrobě piva ukázalo, že největší nárůst obsahu BA byl zaznamenán během hlavního kvašení [88].

3.2 Obsah biogenních aminů v pivech ve světě

V letech 2013 – 2015 byl proveden výzkum týmem vědců Pradenas et al. [2016], který byl zaměřen na obsah BA v pivech uváděných pro chilský trh. Bylo sledováno 101 vzorků lahvového piva, z nichž 77 vzorků bylo tuzemské produkce. Ze světa byl import 24 vzorků. Celkově bylo reprezentováno 50 značek. Vzorků z minipivovarů bylo 36 (výstav < 3000 litrů za týden) a 65 vzorků z velkých pivovarů. Měřeny byly dva typy piv (63 vzorků ležáky a 38 vzorků piva typu Ale). Byly porovnávány vzorky z velkých pivovarů a minipivovarů. Zajímavostí bylo, že byly porovnávány vzorky z velkých a malých pivovarů, kde se diametrálně lišily výsledky. U minipivovarů se obsah BA pohyboval v intervalu ($19,13 \pm 16,92$ mg/l) a u velkých pivovarů ($9,65 \pm 4,50$ mg/l). Putrescin byl změřen ve všech vzorcích a histamin byl detekován ve dvou vzorcích, nicméně koncentrace byly na nízkých hodnotách, které nijak neohrožují zdraví spotřebitele a byly nižší než hodnoty uváděny EFSA. Každopádně tato piva jsou brána na chilském trhu za bezpečná [24, 44].

Byla provedena studie Deetae et al. [2013] na obsah BA v pivech z asijských zemí (Thajsko, Japonsko, Kambodža, Vietnam, Indonézie, Čína, Indie, Jižní Korea a Laos), která jsou běžně dostupná na francouzském trhu. V práci bylo použito 51 piv 17 asijských pivních značek. Obsahy BA se od sebe lišily značkou piva. Koncentrace všech BA se pohybovaly v rozmezí 6,15 až 47,30 mg/l. Fenyletylamin nebyl detekován v žádném vzorku [89].

Ve studii Choi et al. [2012] bylo zkoumáno z korejských minipivovarů 20 vzorků piv na obsah BA. Konkrétně se jednalo o regiony (Busan, Daegu, Ulsan, Gumi a Yangsa). Bylo zjištěno, že hodnoty BA ve většině případů nepřesahují doporučené limity pro bezpečné potraviny [pro histamin (0,13 – 2,65 mg/100 ml), tyramin (0,10 – 4,96 mg/100 ml) a fenyletylamin (0 – 0,69 mg/100 ml)]. Avšak i přesto některé ze vzorků přesahovaly hodnoty těchto limitů, které ve své práci uvedl Brink et al. [1990] (pro tyramin 25 – 40 mg/l, histamin 8 – 20 mg/l a fenyletylamin 2 – 3 mg/l) [13, 84].

V roce 2009 byl proveden výzkum Tang et al. [2009] na obsah BA v čínských pivech. Bylo zkoumáno 18 vzorků z různých čínských provincií. Piva měla koncentrace alkoholu v rozpětí od 0,5 do 4,7 % (v/v). Obsah BA nepřesahoval doporučené bezpečné limity koncentrací BA v pivech. Nízké koncentrace BA ukazovaly celkovou vysokou úroveň hygieny v pivovarech umístěných v Číně. Některé vzorky nesly značky podléhající

nadnárodním společností (Heineken, Carlsberg, Tiger Beer, Corona Extra, aj.), které si udržují svůj vysoký standard bezpečnosti a kvality [67].

Studie Glória et al. [1999] byla zaměřena na zkoumání obsahu BA v brazilských pivech. Bylo použito 91 vzorků pěti druhů brazilských pív (46 spodně kvašených pív typu ležák, 23 pív typu bock, deset svrchně kvašených pív typu stout, pět pív typu ice (světlý ležák) a sedm nealkoholických pív), která byla zakoupena v brazilské maloobchodní síti. Celkově byl změřen průměrný celkový obsah BA v pivech 19,3 mg/l, což odpovídá standardním hodnotám pro evropská piva [90].

Ve studii Loret et al. [2005] byl zkoumán obsah BA v belgických pivech. Jednalo se o čtyři druhy piva (spodně kvašené, svrchně kvašené pivo typu Ale, svrchně kvašené pivo typu Ale s druhotným kvašením v lahvi a spontánně kvašené pivo), celkem 208 vzorků [43]. V žádném vzorku nebyl detekován spermin a spermidin. Naopak ve všech vzorcích byly naměřeny konstantní koncentrace putrescinu a agmatinu (lze uvažovat o pravděpodobné přírodní složce přiváděné do piva surovinou). Vysoké hodnoty BA byly naměřeny u spontánně kvašených pív, kde se pohybovaly průměrné hodnoty nad 20 mg/l pro tyramin a více než 10 mg/l pro histamin (konkrétně 11,90 mg/l). Střední hodnota koncentrace tyraminu se pohybovala 28,7 mg/l u těchto vzorků. Taková koncentrace je převážně vyšší než uváděná bezpečná koncentrace tyraminu 8 mg/l a histaminu 2 – 8 mg/l [11, 43].

Experimentálně bylo prokázáno, že neexistuje žádný vztah mezi kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* a produkcí tyraminu. Na druhou stranu lze tvrdit, že existuje přímá korelace mezi produkcí tyraminu v pivu a přítomností BMK, zvláště pediokoků, a proto lze tyramin brát jako indikátor mikrobiální kontaminace [24, 43].

Ve studii provedené v roce 2002 polskými vědci Slomkowska a Ambroziak [2002] bylo hodnoceno 27 vzorků polských pív pěti druhů (ležák, pivo typu plzeňského, strong, stout a nealkoholické pivo) na obsah BA. Průměrné hodnoty celkového obsahu BA v polských pivech byly $16,15 \pm 2,89$ mg/l. Ve všech 27 vzorcích vykazoval nejvyšší hodnoty spermin $8,43 \pm 3,61$ mg/l, v 25 vzorcích byl detekován spermidin $3,37 \pm 3,07$ mg/l. Ostatní BA byly detekovány pod 2,0 mg/l [91].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo zmapování výskytu a obsahu koncentrací BA ve všech použitých surovinách (tradičních i netradičních) v pivu a ve vybraných meziproduktech výroby piva.

K dosažení výsledků byla práce rozdělena do několika částí:

- Extrakce pevných vzorků do tekuté formy
- Derivatizace tekutých vzorků
- Detekce derivatizovaných vzorků zařízením HPLC/DAD
- Úprava chromatogramů v programu Clarity Chromatography Station
- Zpracování dat v programu Microsoft Office Excel

Výsledky experimentální práce umožňují pochopení problematiky výskytu BA v pivu zahrnující vstupní suroviny, jednotlivé výrobní kroky a výskyt BA ve finálních vzorcích piv různých parametrů.

5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

5.1 Vzorky

Vzorky pro účely k experimentální části této práce byly dodány z lokálního minipivovaru. Jednalo se o čtyři druhy piv (pšeničné pivo, pivo typu plzeňského, speciál a Irský Ale). Každý typ piva byl k dispozici ve třech šaržích označených specifickým kódem (např. AB, AE, Q, atd.). Vzorky byly umístěny ve zkumavkách (tekutá a pevná forma), kde byly přesně odseparovány jednotlivé suroviny (voda, slady, chmely, pivovarské kvasnice a rooibos) a vzorky piva v mezikrocích výroby (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru, prokvašená mladina, ½ zrání a hotové pivo). Suroviny na výrobu daného typu piva pocházely vždy z jedné šarže.

5.1.1 Suroviny

Slady

Plzeňský slad (dále jen PLZ) je určen pro světlá piva, lehká a speciální piva. Charakteristický je svou silnou enzymatickou aktivitou a dobrým extraktem. Slad vídeňský (dále jen VID) tvoří přechod mezi světlými a tmavými slady. Bavorský slad (dále jen BAV) je používán pro tmavší piva, neboť je charakteristický svou tmavší barvou a intenzivním aroma. Ječmen pro tento slad je luštěn (klíčení) o 1 – 2 dny déle než pro plzeňský při vyšší teplotě a vyšším přidavkem vody. Dotahovací teplota pro podporu tvorby melanoidinů je v tomto případě okolo 105 °C [55, 92]. Slad pšeničný (dále jen PSE) je speciální slad pro výrobu pšeničných piv a vyrábí se z vybraných odrůd jarní pšenice, které jsou pro výrobu sladu vhodné (Alondra, Anabel, Astrid, Dafne, Izzy, KWS Akvilon, Quintus, Seance a mnoho dalších) [93]. Slad Pale Ale (dále jen ALE) je využíván pro výrobu svrchně kvašených piv, ale lze ho použít i pro spodně kvašená. Zatímco předchozí uvedené slady jsou enzymaticky aktivní, karamelový (dále jen KAR) a barvicí slady (dále jen BAR) enzymaticky aktivní nejsou. Karamelový slad je charakteristický vysokým obsahem aromatických a barevných sloučenin a především vysokým obsahem cukrů. Tento slad je využíván pro polotmavá a tmavá piva nebo pivní speciály. Barevný slad je využíván pro výrobu tmavých

piv pro svoji tmavou barvu. Zrno sladu je zuhelnatěno a jeho aroma může připomínat vůni pražených kávovinových zrn [55, 92].

Celkově kvalitu piva ovlivňuje i obsah bílkovin ve sladech [nejlépe okolo 11 % (w/w)] a jejich rozluštění z vysokomolekulárních látek na nízkomolekulární. Právě v závislosti na obsahu volných AMK během rmutování může nastat situace, kdy se může měnit poměrové složení BA ve sladince díky prekurzorovým AMK [55, 92].

Chmely

V tabulce 3 jsou uvedeny údaje o chemickém složení chmelů. Tato data umožňují celkový náhled na profil chmelu, jeho vlastnosti a účel použití. Chmel Žatecký poloraný červeňák (dále jen ŽPČ) je odrůda, která se vyznačuje jemným, typickým, chmelovým aroma, kterého lze využít při 2 a 3 chmelení nebo také chmelení za studena. Chmel Premiánt (dále jen PRE) je hořká odrůda vhodná ke druhému chmelení. Odrůda chmelu Sládek (dále jen SLA) je velice aromatickou odrůdou, která je vhodná pro druhé chmelení [94]. Chmel Bramling Cross (dále jen BRA), který pochází původem z Velké Británie. Tato odrůda je velmi aromatická a její využití připadá na střední a závěrečný chmelovar nebo na pozdní chmelení. Lze i možnost tuto odrůdu využít při studeném chmelení (přídavek do sudů) [95]. Odrůda chmelu Citra (dále jen CIT) pochází z Ameriky a jedná se o velmi hořkou odrůdu s ovocným aroma [96]. Chmel Amarillo (dále jen AMA) pochází z Ameriky. Tato odrůda je zajímavá pro své intenzivní aroma po citrusových plodech. Hořkost je velmi silná [97].

Tab. 3 Chemické složení vybraných chmelů [94, 95, 96, 97]

Název	Pryskyřice % (w/w)		Polyfenoly % (w/w)		Silice % (w/w)
	Celkové	α -hořké k.	Celkem	Xantohumol	
ŽPČ	13 – 20	2,5 – 4,5	5,5 – 7,0	0,3 – 0,5	0,4 – 0,8
Premiánt	19 – 25	7,0 – 10,0	4,0 – 5,0	0,3 – 0,5	1,0 – 2,0
Sládek	17 – 24	4,5 – 8,0	3,5 – 5,0	0,50 – 0,75	1,0 – 2,0
Bramling Cross	–	5,5 – 8,0	–	–	0,7 – 1,0
Citra	–	11 – 13	–	–	–
Amarillo	–	7 – 11	–	–	1,0 – 2,3

* – data nejsou k dispozici

Kvasnice

Kvasnice s označením WB 06 jsou určeny pro pšeničná piva typu svrchního kvašení. Doporučovaná optimální teplota kvašení je 12 – 25 °C. Kvasnice, které jsou označeny H-095 jsou určeny pro piva spodního kvašení, kdy optimální rozmezí teplot pro kvašení je okolo 10 – 14 °C [98]. Kvasnice Windsor jsou kvasnice pro piva typu Ale typická pro Velkou Británií. Optimální doporučovaná teplota je mezi 15 – 22 °C [99].

Rooibos červený a zelený

Rooibos je surovina, která je připraven z listů keře čajovníkovce kapského (*Aspalathus linearis*). Tento keř pochází z jižní Afriky. Červený rooibos prochází oxidací. Díky tomu má typickou červenohnědou barvu. Rooibos zelený oxidací neprošel a listy tak zůstávají nadále „zelené“ [100].

5.1.2 Vzorek A – pivo plzeňského typu

Vzorek A bylo pivo plzeňského typu. Jednalo se o pivo typu spodního kvašení. Doba kvašení na spilce u tohoto piva byla šest dnů a doba zrání byla 21 dnů. EPM byl 11 % (w/v). Způsob výroby mladiny v tomto případě byl proveden infuzním rmutováním. Infuzní rmutování pracuje na jiném principu než dekokční a to tak, že se celé dílo ohřeje na odsmutovací teplotu v jedné nádobě. Odebrání vzorku hotového piva proběhlo 28 dnů od výroby tohoto piva. Suroviny na výrobu tohoto piva byly použity: slad plzeňský, slad vídeňský, chmel Žatecký poloraný červeňák, chmel Premiant, kvasnice H – 095 a varní voda.

5.1.3 Vzorek B – pšeničné pivo

Vzorek B bylo světlé svrchně kvašené pšeničné pivo německého typu. Mladina u tohoto piva byla připravena infuzním rmutováním. Doba kvašení na spilce byla tři dny a doba zrání byla 12 dnů. EPM byla 11 % (w/v). Odebrání vzorku hotového piva proběhlo 16 dnů od výroby tohoto piva. Suroviny na výrobu tohoto piva byly použity: slad pšeničný, slad plzeňský, chmel Žatecký poloraný červeňák, chmel Premiant, kvasnice WB 06 a varní voda.

5.1.4 Vzorek C – tmavý speciál

Vzorek C bylo tmavé spodně kvašené pivo s EPM 17,5 % (w/v). Mladina u tohoto piva byla vyrobena dekokčním způsobem rmutováním. Princip dekokčního rmutování spočívá v postupném ohřívání částí rmutu na důležité technologické teploty. Doba zrání na spilce u tohoto typu piva byla 15 dnů a doba zrání byla 80 dnů. Odebrání vzorku hotového piva proběhlo 96 dnů od výroby tohoto piva. Suroviny na výrobu tohoto piva byly použity: slad plzeňský, slad bavorský, slad vídeňský, slad karamelový, slad barevný, chmel Žatecký poloraný červeňák, chmel Sládek, chmel Premiant, kvasnice H – 095 a varní voda.

5.1.5 Vzorek D- SPIA (Irský Ale)

Vzorek D byl Irský Ale. Jednalo se o světlé pivo svrchního kvašení s EPM 13 % (w/v). Výroba mladiny byla provedena dekokčním způsobem. Doba kvašení byla čtyři dny na spilce a celková doba zrání byla 15 dnů. Vzorek hotového piva byl odebrán 20 dnů po výrobě. Suroviny pro výrobu tohoto piva byly použity: slad Pale Ale, slad vídeňský, slad karamelový, chmel Bramling Cross, chmel Amarillo, chmel Citra, kvasnice Windsor a varní voda.

5.2 Použité chemikálie

- 1,7 – diaminoheptan, Sigma – Aldrich (v koncentraci 500 mg/l)
- Acetonitril, Sigma – Aldrich
- Heptan, Sigma – Aldrich
- Dansylchlorid, Merck (v koncentraci 5 g/l)
- Dusík v tlakové nádobě, Linde
- Hydrogenuhličitan sodný, Merck
- Uhličitan sodný, Merck
- Uhličitan draselný, Merck
- Kyselina chloristá (1,2 M), Merck
- Karbonátový pufr (pH 9,2), (směs hydrogen uhličitan sodný + uhličitan sodný + uhličitan draselný), Merck
- L – prolin, Merck
- Denaturovaný etanol, LachNer

5.3 Pomůcky a přístroje

- Analytické váhy, Sartorius BA 110 S
- Třepačka
- Automatické pipety, Biohit a Nichyrio
- Špičky na pipety
- Derivatizační nádobky/vialky
- Zkumavky
- Lihové fixy
- Ependorfkové zkumavky
- Laboratorní třepačka, LT2
- Držák na vialky
- Laboratorní destička na ependorfkové zkumavky
- Laboratorní odstředivka, , EBA 20, Hettich
- Laboratorní sklo (zkumavky, trychtýře, odměrné válce, kádinky), Simax
- Mrazící zařízení, Elektrolux
- Filtrační papír
- Držák na filtraci
- Systém RP – HPLC (binární pumpa LabAlliance, USA, autosampler LabAlliance, USA, kolona s termostatem, UV/VIS DAD detektor ($\lambda= 254$ nm), degaser 1260 Infinity, Agilent Technologies)
- Vortex, Heidolph, Reax
- Stříkačkový filtr s porozitou 0,22 μm
- pH metr, Voltcraft PHT – 02 ATC

6 METODIKA

6.1 Extrakce pevných vzorků

Pevný vzorek byl navážen na analytických váhách, rozmělněn a přenesen do 15 ml zkumavky. Do zkumavky bylo přidáno 10 ml 0,6 M kyseliny chloristé. Takto připravená směs byla řádně promíchána na vortexu. Poté byla zkumavka dána na laboratorní třepačku po 30 minut. Po třepání byla zkumavka dána do odstředivky při 6 000 ot/min na 20 minut. Kapalná část vzorku byla ze zkumavky přelita do 25 ml baňky. Pevná část ve zkumavce zůstala a zkumavka byla doplněna znovu 7 ml 0,6 M kyselinou chloristou. Tato směs byla promíchána na vortexu a byla dána na třepačku po dobu 20 minut. Poté byla směs ve zkumavce dána na odstředivku při 6 000 ot/min po 20 min. Kapalná část byla přelita k předchozí kapalné části do 25 ml baňky. Znovu bylo přidáno 7 ml 0,6 M kyseliny chloristé k pevnému zbytku ve zkumavce a celý proces se zopakoval. Jakmile byla i poslední kapalná část přelita do 25 ml baňky, baňka byla doplněna po rysku a celý obsah byl zfiltrován přes papírový filtr. Z takto zfiltrovaného vzorku byl odebrán 1 ml do derivatizační nádoby (byly provedeny tři paralelní stanovení).

6.2 Derivatizace vzorků a stanovení biogenních aminů

Kapalné vzorky byly derivatizovány pro stanovení BA na RP – HPLC. Tento postup byl dle Dadáková et al. [2009]. Jednalo se o dvoudenní pracovní postup s použitím vnitřního standardu 1,7 – diaminoheptan a dansylchloridu. Nejdříve bylo ze zásobní zkumavky odpipetováno automatickou pipetou 500 μ l tekutého vzorku do derivatizační nádoby (vialka) a následně bylo přidáno 500 μ l kyseliny chloristé (1,2 M). Poté bylo dávkováno 100 μ l vnitřního standardu 1,7 – diaminoheptanu. Po aplikaci vnitřního standardu bylo zapotřebí přidat karbonátový pufr, kvůli udržení stálého pH, které musí být 9,2. Tento pufr bylo potřeba mít čerstvý. Jeho příprava byla částečně složena ze smíchání hydrogenuhličitanu sodného (NaHCO_3) a uhličitanu sodného (Na_2CO_3). Jakmile byly tyto dvě látky smíchány a pH ustanoveno na 9,2, byl přidán uhličitan draselný (K_2CO_3) a celá směs byla smíchána za pomoci magnetického míchadla do naprosto čirého rozpuštění. Do vialek bylo dávkováno 1,5 ml pufru. Na závěr první den byly přidány 2 ml dansylchloridu, který byl rozpuštěn v acetonu v koncentraci 5 g/l. Vialky byly uzavřeny a byly dány na třepání

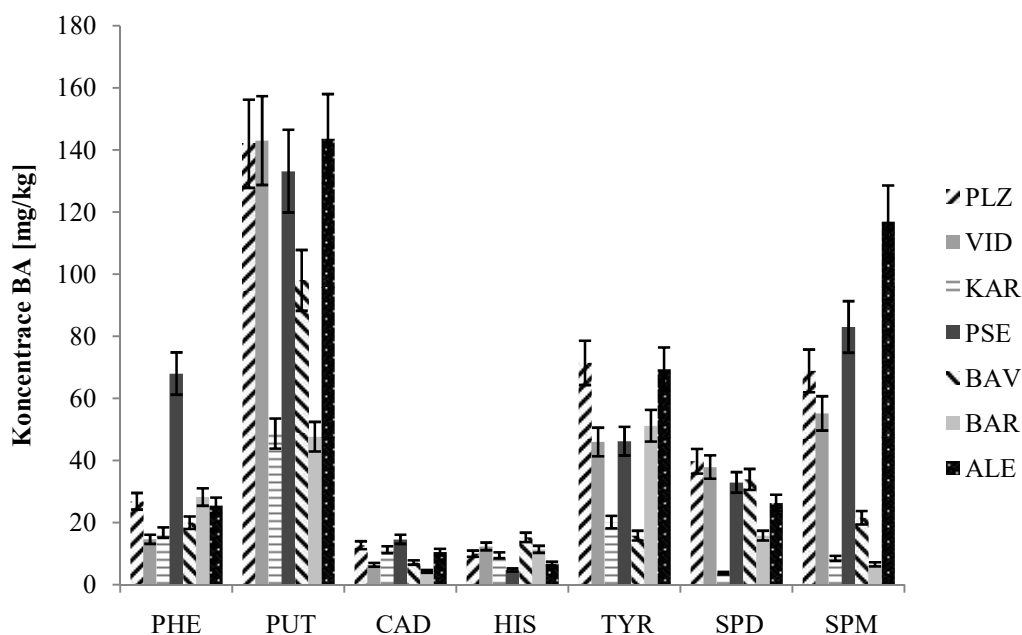
po 20 hodin do temna. Druhý den byly vzorky po 20 hodinách třepání doplněny 200 μ l prolinu a byly dány na jednu hodinu třepat do temna. Po hodině třepání byly vzorky doplněny 3 ml heptanu a tři minuty byly následně intenzivně vialky protřepávány. Poté byl 1 ml heptanu odpipetován do 1,5 ml vialek. Z těchto vialek byl za pomoci umělé atmosféry (dusík) odpařen heptan. Jakmile byl heptan z vialek odpařen, bylo přidáno 1,5 ml acetonitrilu. Připravené vzorky byly uloženy do mrazícího zařízení a byly připraveny na filtrování. K filtraci bezprostředně před analýzou byl použit na vzorky stříkačkový filtr s porozitou 0,22 μ m. Samotná analýza byla provedena na zařízení RP – HPLC s UV/VIS DAD detektorem. Minimální mez detekce byla vzhledem k citlivosti přístroje stanovena na min. 2 mg/l [102]. Chromatogramy byly zpracovány v programu Clarity Chromatography Station a následně v programu Microsoft Office Excel. Tato metodika byla použita pro stanovení obsahu BA ve studii Buňka et al. [2012] [87], Pleva et al. [2012] a jiní [103].

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Byl stanoven obsah BA ve čtyřech druzích pív (plzeňské, pšeničné, tmavý speciál a Irský Ale). Byl zkoumán obsah jednotlivých BA [tryptamin (dále jen TRP), fenyletylamin (dále jen PHE), putrescin (dále jen PUT), kadaverin (dále jen CAD), histamin (dále jen HIS), tyramin (dále jen TYR), spermidin (dále jen SPD) a spermin (dále jen SPM)] v surovinách a vybraných mezikrocích výroby piva. Navzájem byly srovnávány výsledky celkového obsahu BA nebo jednotlivých BA mezi všemi typy zkoumaných pív a byl porovnáván celkový dopad obsahu BA u surovin na konečný produkt.

7.1 Suroviny

Obsah jednotlivých BA byl měřen u všech použitých surovin při výrobě sledovaných vzorků pív. Na obrázku 11 jsou uvedeny výsledky všech sladů, které byly použity ve výrobě pív a byly navzájem porovnávány mezi sebou.

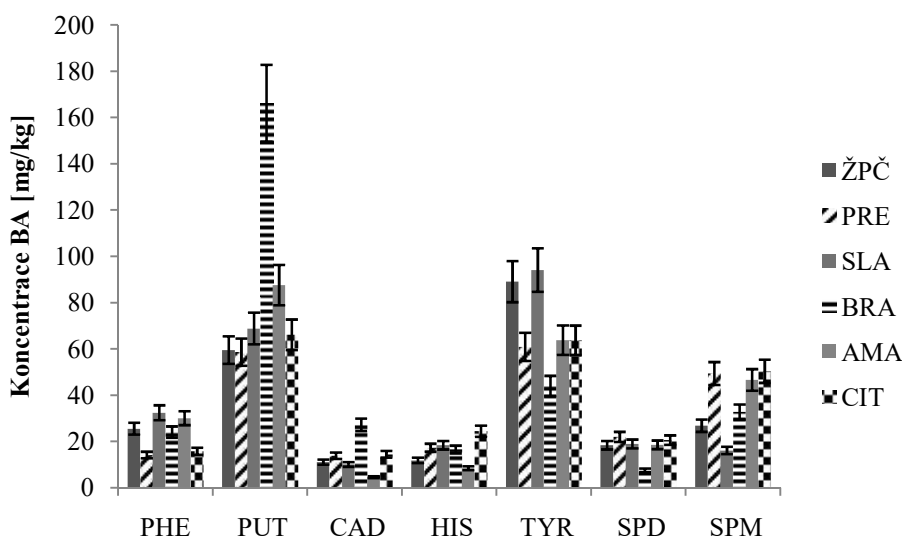


Obr. 11 Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PHE, PUT, CAD, HIS, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných sladech (PLZ, VID, KAR, PSE, BAV, BAR, ALE) použitých pro výrobu vzorků piva A – D.

Z jednotlivých BA dosahoval nejvyšších hodnot mezi ostatními BA putrescin, který měl následující hodnoty: slad Pale Ale (144 ± 8 mg/kg), slad vídeňský (143 ± 14 mg/kg), slad plzeňský (142 ± 14 mg/kg), slad pšeničný (133 ± 13 mg/kg), slad bavorský (98 ± 8 mg/kg), slad karamelový (49 ± 3 mg/kg) a slad barvící (48 mg/kg). Druhých nejvyšších hodnot dosahoval spermin: slad Pale Ale (117 mg/kg), slad pšeničný (83 ± 7 mg/kg), slad plzeňský (93 ± 3 mg/kg), slad vídeňský (29 ± 4 mg/kg), slad bavorský (22 ± 4 mg/kg), slad karamelový (9 ± 1 mg/kg) a slad barvící (7 ± 1 mg/kg). Z výsledků bylo patrné, že slady karamelový a barvící vykazovaly podstatně nižší hodnoty obsahu BA, což by odpovídalo vyšším dotahovacím teplotám při hvozdnění, kdy je navíc inaktivována enzymová aktivita těchto sladů [72]. Výsledky celkového obsahu BA jsou uvedeny v příloze P V: *Celkový obsah BA v surovinách všech typů pív.*

Putrescin, spermin, spermidin jsou přirozenou složkou sladů [44]. Ostatní BA mohou indikovat kontaminaci MO (histamin, tyramin, aj.) [11, 23, 24, 25]. Z výsledků bylo patrné, že hodnoty nevykazovaly příliš vysoká čísla, která by mohla představovat riziko pro zdraví konzumenta. Takové hodnoty mohou být užitečné pro charakterizaci stupně mikrobiologické kvality použitého sladu (zda nedošlo k přílišné kontaminaci), protože část BA je navíc vyloučeno společně s mlátem při scezování a je třeba brát zřetel i na celkové použité množství sladu při výrobě piva a tím se i zabývat, do jaké míry může slad ovlivňovat obsah BA v hotovém pivu [22, 26, 46, 53, 56, 58].

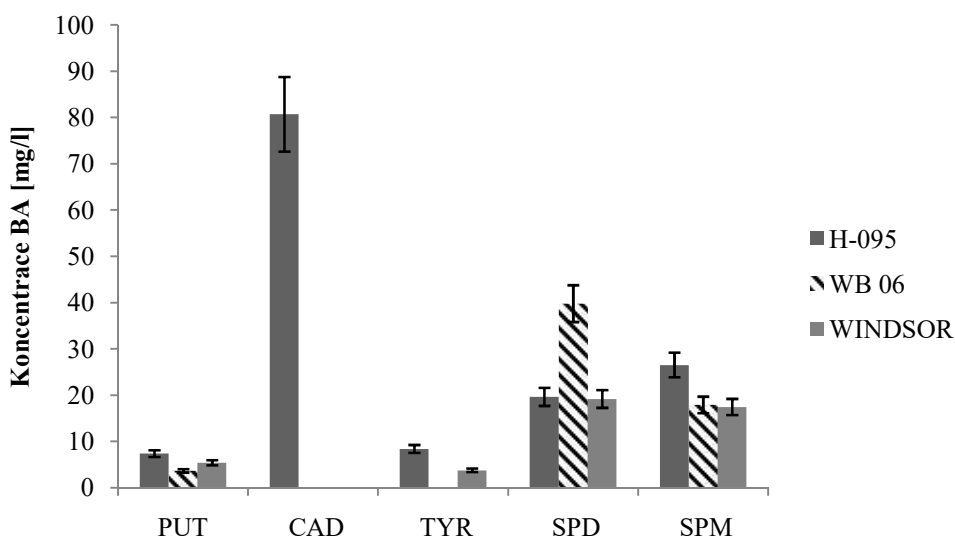
Na obrázku 12 jsou uvedeny výsledky jednotlivých BA obsažených ve všech použitých chmelech ve vzorcích.



Obr. 12 Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PHE, PUT, CAD, HIS, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných chmelech (ŽPČ, PRE, SLA, BRA, AMA, CIT) použitých pro výrobu vzorků piva A – D.

Z výsledků jednotlivých BA bylo patrné, že nejvyšší hodnoty dosahoval putrescin s tyraminem. Pro putrescin hodnoty byly: chmel Bramling Cross (166 ± 5 mg/kg), chmel Amarillo (88 ± 8 mg/kg), chmel Sládek (69 ± 6 mg/kg), chmel Citra (66 ± 6 mg/kg), chmel Žatecký poloraný červeňák (59 ± 5 mg/kg) a chmel Premiant (59 ± 5 mg/kg). Pro tyramin byly hodnoty následující: chmel Sládek (94 ± 7 mg/kg), chmel Žatecký poloraný červeňák (89 ± 8 mg/kg), chmel Amarillo (64 ± 6 mg/kg), chmel Citra (64 ± 6 mg/kg), chmel Premiant (61 ± 4 mg/kg) a chmel Bramling Cross (44 ± 4 mg/kg). Obsah ostatních BA v porovnání všech odrůd chmelu byl vcelku vyrovnaný. Pouze BA putrescin s hodnotou 166 ± 5 mg/kg u chmelu Bramling Cross převyšoval ostatní odrůdy i ostatní BA. Celkový obsah BA chmelů je uveden v příloze P V. Z výsledků nelze prokázat přímou závislost mezi chemickým složením chmelů (Tabulka 3) a celkovým obsahem BA.

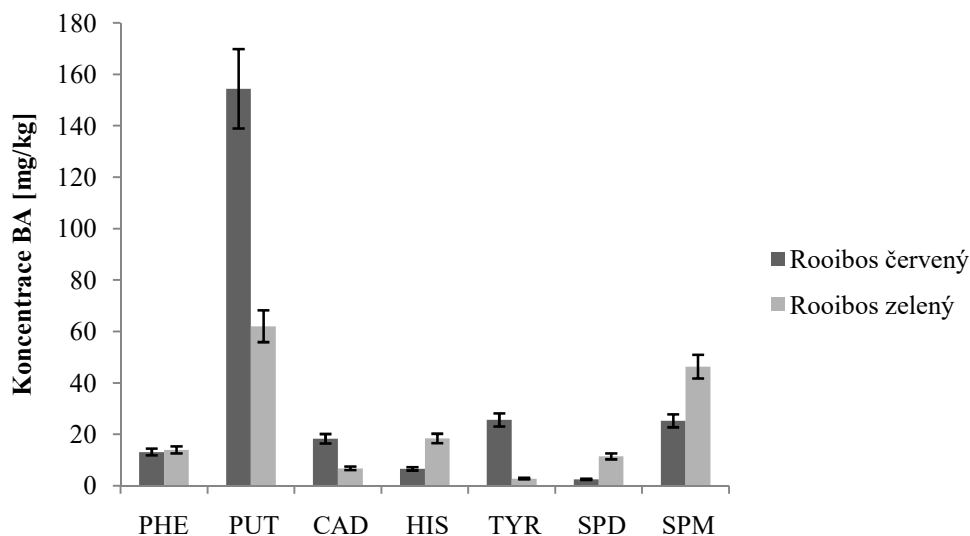
Na obrázku 13 jsou výsledky obsahu jednotlivých BA použitých pivovarských kvasnic.



Obr. 13 Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PUT, CAD, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných pivovarských kvasnicích (H – 095, WB 06 a Windsor) použitých pro výrobu vzorků piva A – D.

Oproti předchozím surovinám se v pivovarských kvasnicích neobjevili všichni zástupci BA. Byly detekovány putrescin, kadaverin, tyramin, spermidin a spermin, přičemž pouze putrescin, spermidin a spermin byly přítomny ve všech zkoumaných vzorcích kvasnic, což je dáno přítomností těchto polyaminů a putrescinu ve všech živých buňkách. V pivovarských kvasnicích H – 095 byl detekován kadaverin, který představoval navíc nejvyšší možnou koncentraci z ostatních BA (81 ± 1 mg/l) obsažených ze všech použitých pivovarských kvasnic. Tak vysoká koncentrace kadaverinu pouze u pivovarských kvasnic H – 095 u dvou typů piv mohla poukazovat například na úroveň vitality nebo viability pivovarských kvasnic. Jinými slovy, je možné, že v době měření byla ve vzorku H – 095 vyšší koncentrace mrtvých kvasinek. Odumřelé buňky být zdrojem volných AMK pro tvorbu kadaverinu. Tuto domněnku však nelze prokázat, neboť nebyly provedeny patřičné mikrobiologické rozbory (vitální testy, např. barvení methylenovou modří) na potvrzení viability přítomných kvasinek. Vitální testy slouží k počítání kolik je mrtvých a kolik je živých buněk ve vzorku na celkové kondice kultury [101]. Celkový obsah BA je uveden v tabulce v příloze P V.

Na obrázku 14 jsou uvedeny hodnoty jednotlivých BA v Rooibos červeném a zeleném, které byly použity při výrobě SPIA (Irský Ale).



Obr. 14 Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PHE, PUT, CAD, HIS, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných rooibos (zelený a červený) použitých pro výrobu vzorku piva D.

Obsah jednotlivých BA byl u rooibos (červený, zelený) a kromě putrescinu byly obsahy BA vyvážené. Putrescin v obou rooibos měl nejvyšší obsah. Obsah putrescinu u červeného rooibos dosahoval 154 ± 13 mg/kg a u zeleného rooibosu 62 ± 6 mg/kg. V příloze P V jsou uvedeny celkové obsahy BA. Obsah celkových BA u červeného rooibos byl 245 ± 2 mg/kg a u zeleného rooibos byl obsah celkových BA 115 ± 10 mg/kg. Je velmi pravděpodobné, že celkový obsah BA a jednotlivé zastoupení BA u vzorků mohly ovlivnit fyziologické pochody v listech jak před zpracováním, tak po zpracování rooibos [100].

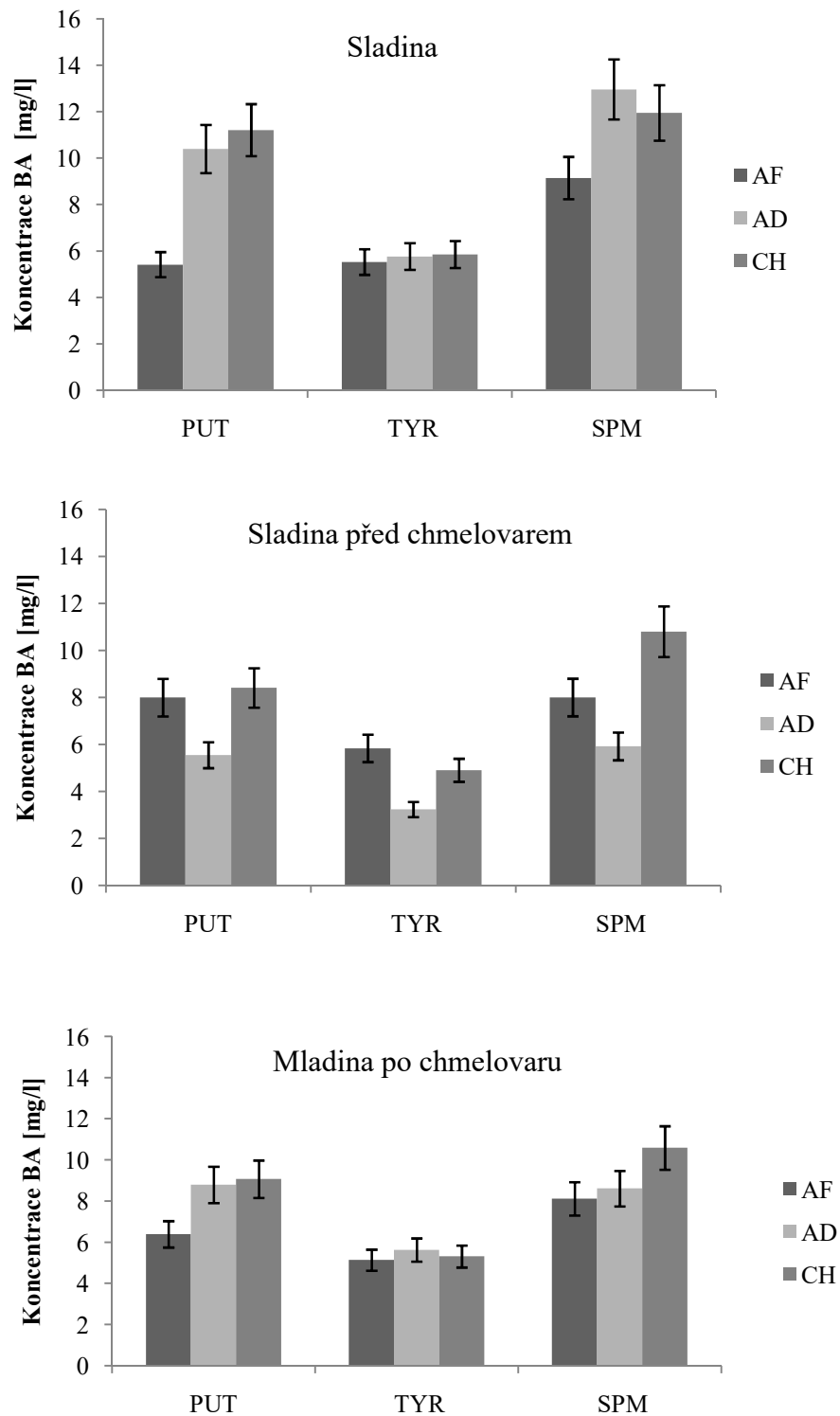
Varní voda byla prostá všech BA a splňovala kritéria pitné vody [57].

7.2 Vzorčky pív

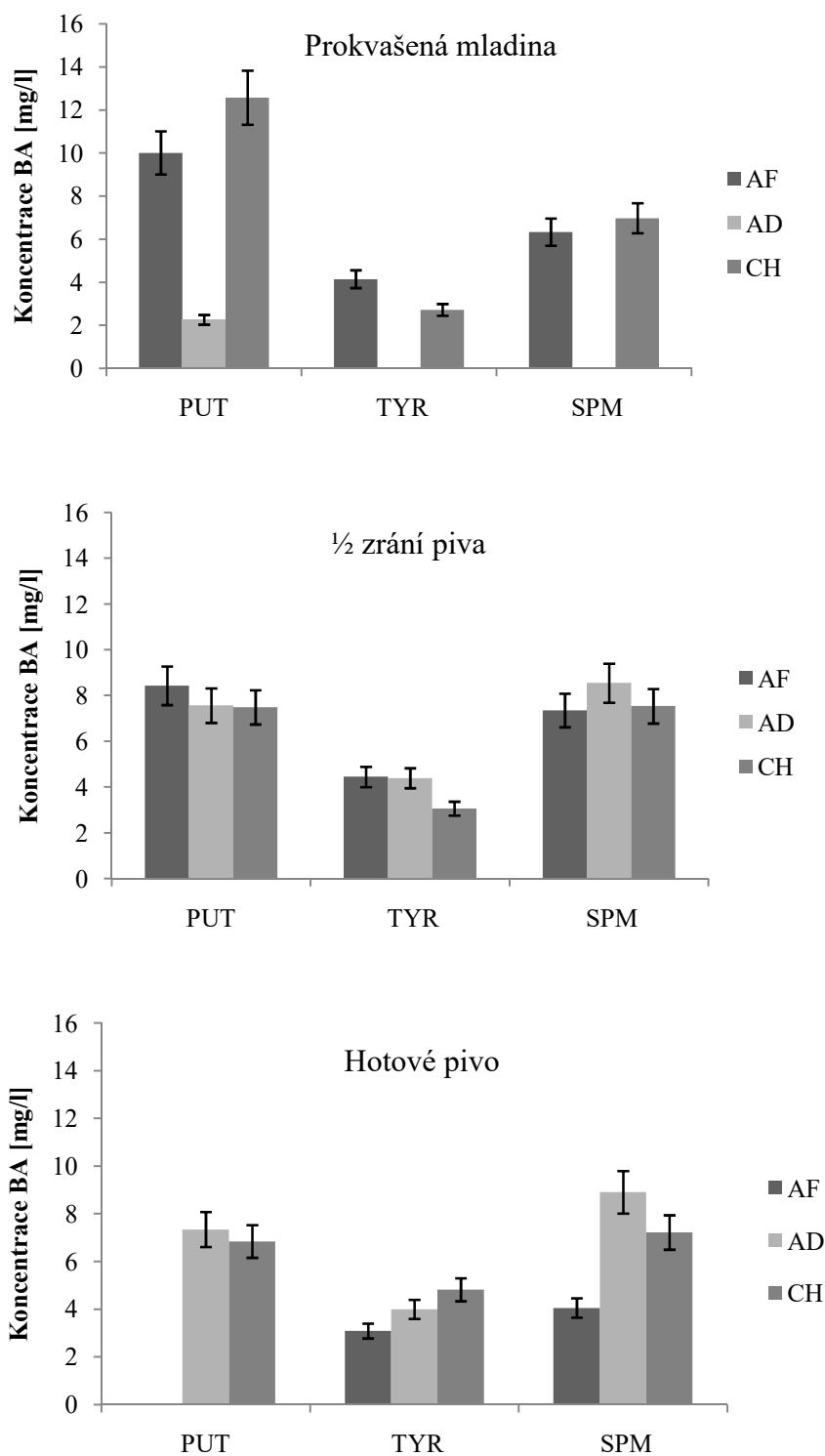
U všech vzorků pív byly stanoveny jednotlivé i celkové BA ve vybraných krocích a surovinách. Celkové BA naměřené v surovinách jsou uvedeny v příloze P V. V přílohách P I – P IV (v závislosti na typu vzorku) jsou uvedeny i jednotlivé BA, které byly naměřeny v surovinách. V následujících podkapitolách jsou uvedeny jednotlivé vzorky.

7.2.1 Vzorek A – pivo plzeňského typu

V uvedených obrázcích jsou jednotlivé BA, které byly naměřeny ve výzkumu. Obrázek 15 a 16 znázorňují jednotlivé BA ve vybraných výrobních mezikrocích. Jednotlivé obsahy BA u surovin jsou uvedeny v příloze P I a celkové BA surovin jsou uvedeny v příloze P V použitých v tomto pivu.

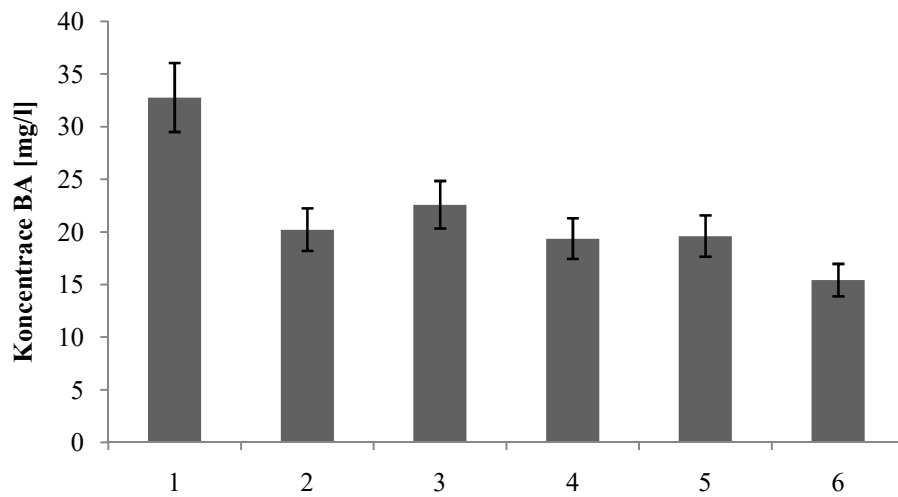


Obr. 15 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem a mladina po chmelovaru) ve vzorku A



Obr. 16 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (prokvašená mladina, 1/2 zrání a hotové pivo) ve vzorku A

Vzorek A byl složen ze tří šarží. Obsah jednotlivých BA u všech tří šarží byl vyrovnán. Byly detekovány pouze tři BA. Jednalo se o putrescin, tyramin a spermin. Tyto BA se vyskytovaly téměř po všechny vybrané mezikroky výroby. Výjimku tvořil mezikrok prokvašená mladina, kdy nebyl detekován tyramin a spermin u jedné šarže (z důvodu meze detekce zařízení min. 2 mg/l). Ze stejného důvodu nebyl detekován u další šarže ani putrescin v hotovém pivu. Na obrázku 16 je vidět, jakým způsobem se měnil obsah jednotlivých BA v závislosti na postupu výroby. V mezikroku sladina (zde se nacházelo ještě mláto) byl obsah BA poněkud vyšší než ve sladině před chmelovarem (již po scezování bez mláta). Taková změna obsahu jednotlivých BA by mohla poukazovat na BA obsažené ve sladu a následné jejich částečné vyloučení společně s mlátem, jak uvádí studie Kalač et al. [2003] [62]. Během chmelovaru došlo k nepatrnému zvýšení obsahu BA, což se shoduje s trzením ve studii Halász et al. [1999], kde je komentována tato skutečnost při výrobě mladiny. V této studii je také popisována změna obsahu BA během kvašení, kdy drastickým způsobem klesla koncentrace putrescinu, což bylo potvrzeno i u výsledků vzorku A [46]. V hotovém pivu byly hodnoty BA vyrovnané. Hodnoty jednotlivých BA u šarží tohoto piva byly: putrescin (nedetekováno a 7 mg/l pro zbylé dvě šarže), tyramin (od 3 do 5 mg/l) a spermin (od 4 do 9 mg/l). Koncentrace tyraminu v tomto případě nepředstavuje riziko pro spotřebitele, protože dle studie Glória et al. [2005] je uvedena koncentrace 6 mg/l, kdy může dojít například k projevům migrény. Celkem koncentrace v tomto vzorku nepředstavovaly pro spotřebitele riziko [11]. Trend vývoje celkových BA u tohoto typu piva měl klesající charakter v jednotlivých vybraných mezikrocích výroby piva, což dokazuje obrázek 17.

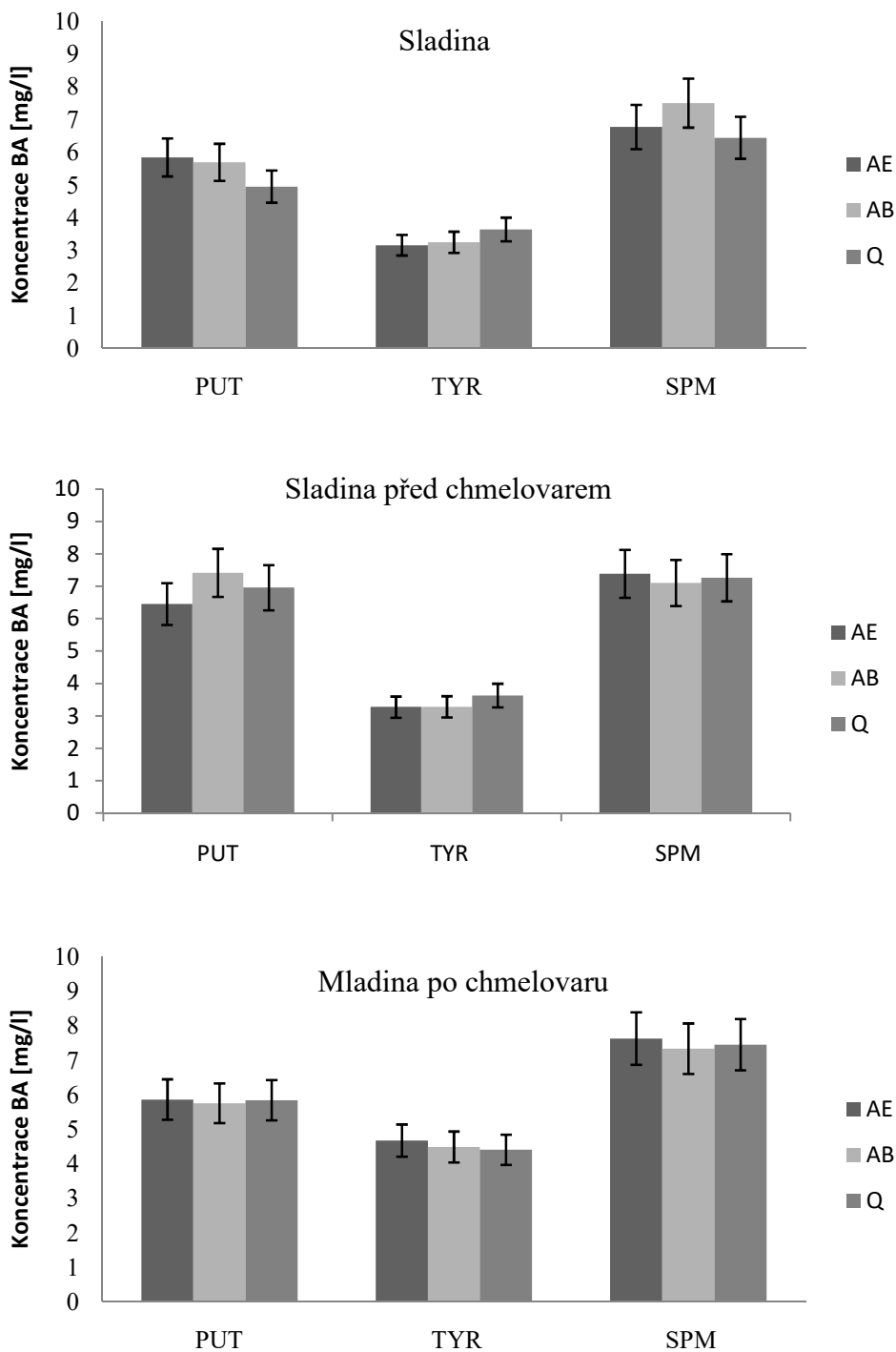


1 – sladina, 2 – sladina před chmelovarem, 3 – mladina po chmelovaru, 4 – prokvašená mladina, 5 – ½ zrání, 6 – hotové pivo

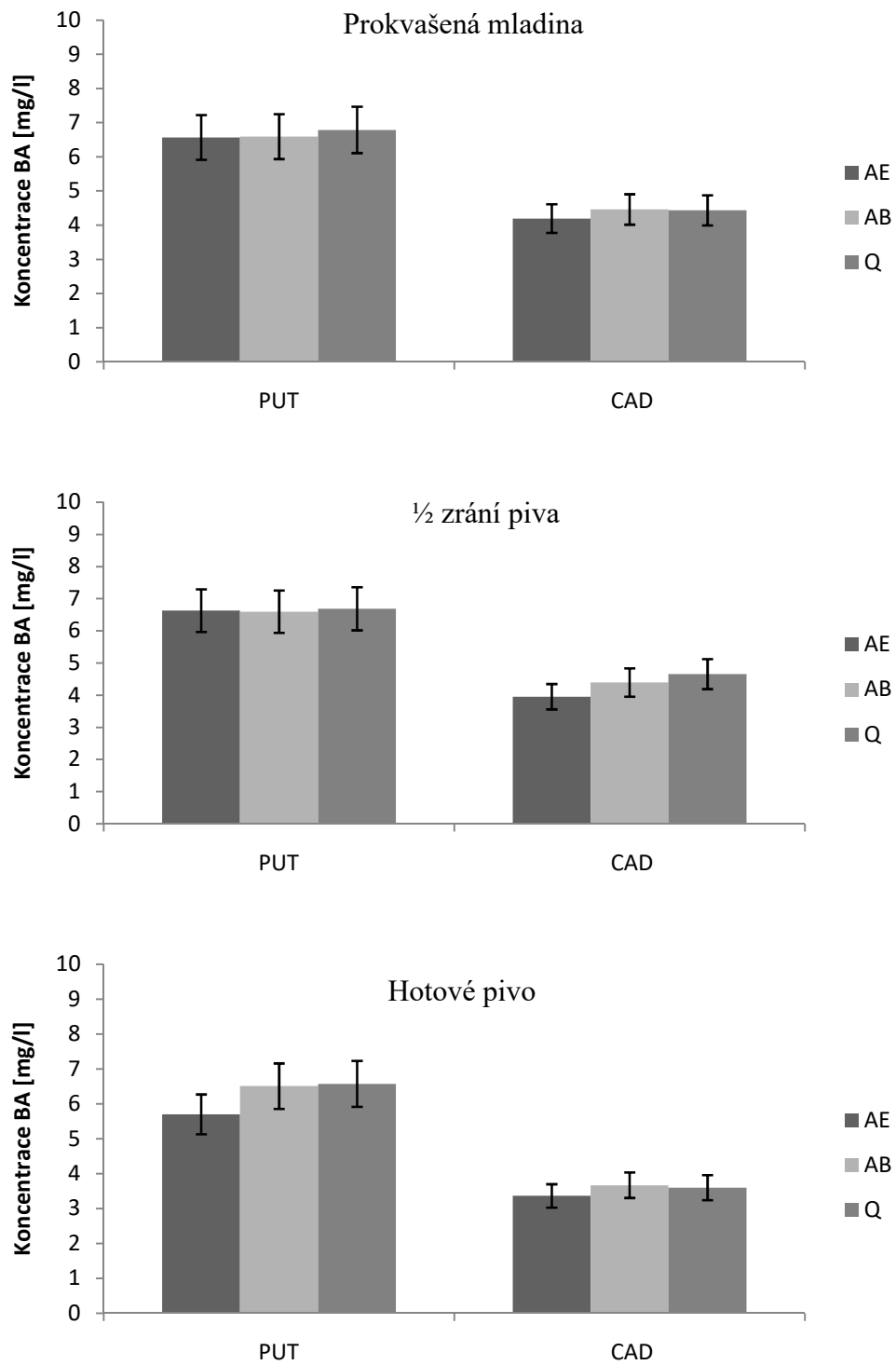
Obr. 17 Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva vzorku A

7.2.2 Vzorek B- pšeničné pivo

Na obrázcích 18 a 19 jsou uvedeny výsledky jednotlivých BA ve vybraných mezikrocích výroby piva. Jednotlivé BA jsou uvedeny v příloze P II a celkový obsah BA v použitéch surovinách v tomto pivu jsou uvedeny v příloze P V.



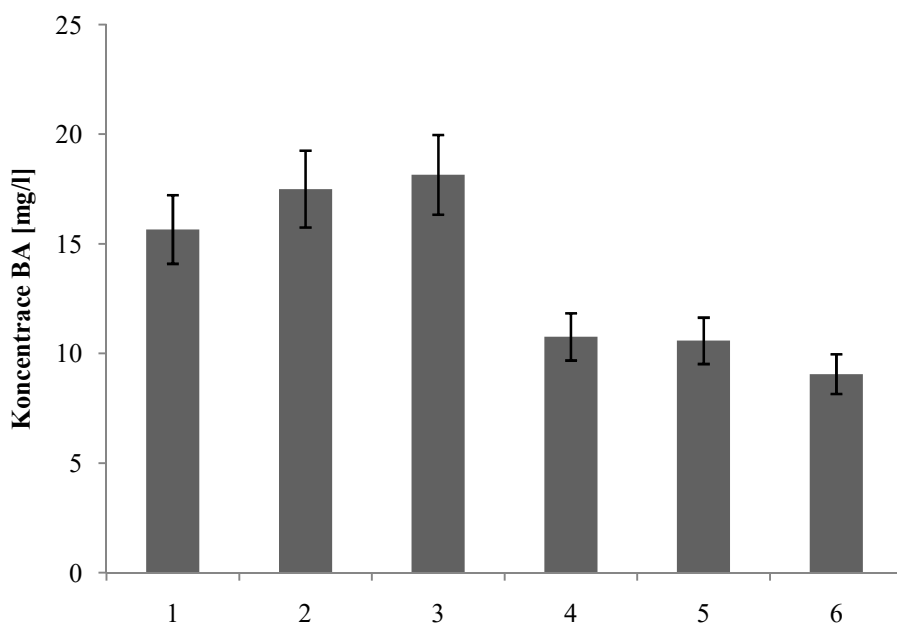
Obr. 18 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku B



Obr. 19 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (prokvašená mladina, 1/2 zrní a hotové pivo) ve vzorku B

Ve vzorku B byly naměřeny jednotlivé BA stejně jako u vzorku A (putrescin, tyramin a spermin) ve sladince, sladince před chmelovarem a mladince po chmelovaru. Oproti předešlému vzorku byly naměřeny BA pouze dva BA (putrescin a kadaverin) u prokvašené mladiny, ½ zrání piva a v hotovém pivu. Obsah těchto BA byl u jednotlivých šarží: pro putrescin (od 6 do 7 mg/l) a kadaverin (od 3 do 4 mg/l). Celkový obsah BA byl 10 mg/l. Takové koncentrace nejsou rizikové pro konzumenta.

Zatímco na obrázku 19 vzorek B vykazoval podobný trend jako u vzorku A (pouze zvýšení obsahu BA u sladiny před chmelovarem oproti vzorku A), tak na obrázku 20 bylo složení BA odlišné. Zde byl přítomen pouze putrescin a kadaverin. Obsah BA v tomto případě vykazoval klesající trend. Taková změna zastoupení jednotlivých BA může být způsobena například kmenem kvasinek WB 06 a jejich kondicí nebo stářím, protože během autolýzy může být zaznamenán nárůst kadaverinu, jak je popsáno ve studii Halász et al. [1999] [46]. Na obrázku 20 je znázorněn celkový obsah BA, který vykazoval rostoucí trend v mezikrocích sladina, sladina před chmelovarem a mladina po chmelovaru, naopak prokvašená mladina, ½ zrání a hotové pivo vykazovaly trend klesající.

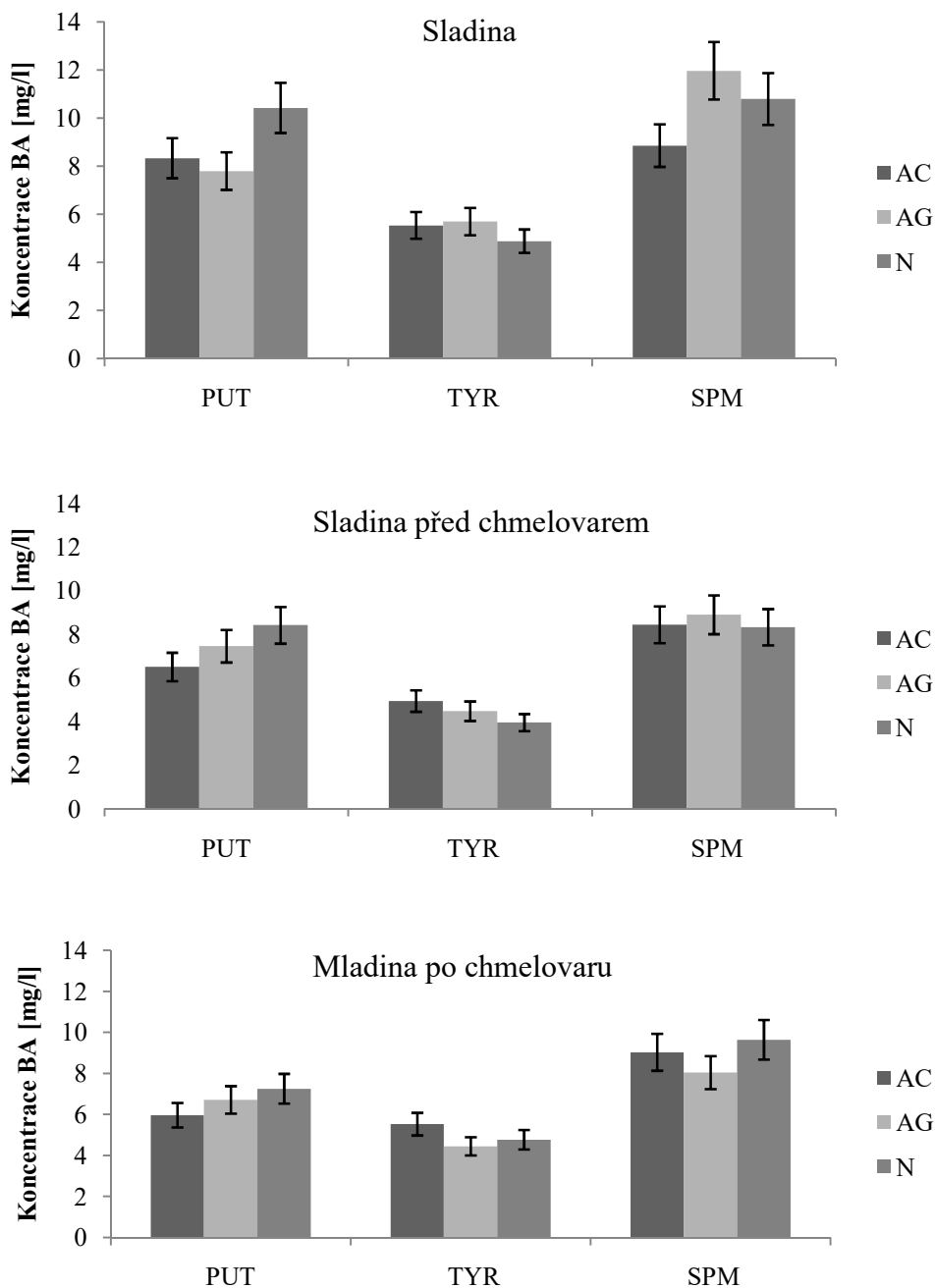


1 – sladina, 2 – sladina před chmelovarem, 3 – mladina po chmelovaru, 4 – prokvašená mladina, 5 – ½ zrání piva, 6 – hotové pivo

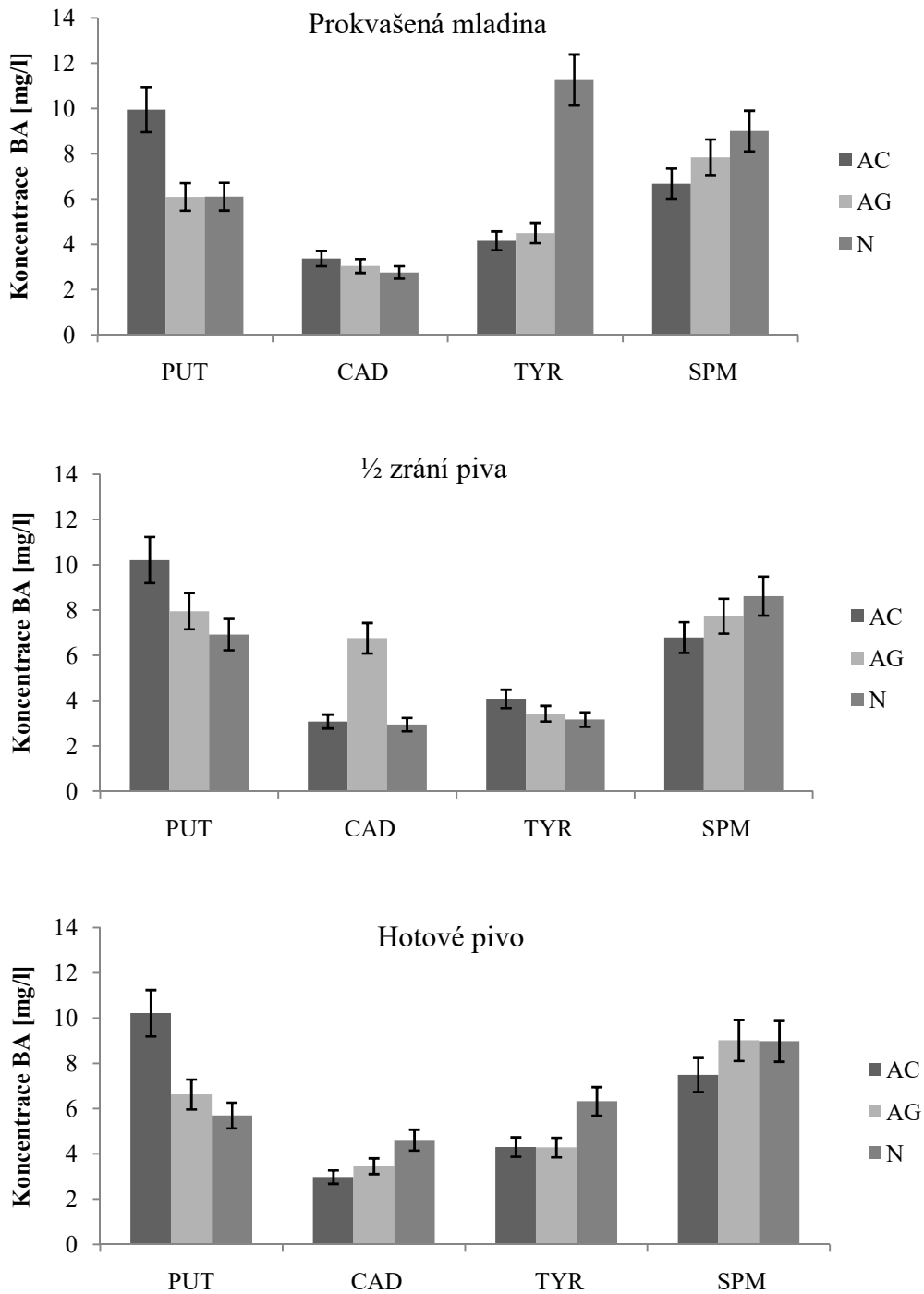
Obr. 20 Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva vzorku B

7.2.3 Vzorek C- tmavý speciál

Na obrázcích 21 a 22 jsou uvedeny výsledky jednotlivých BA ve vybraných mezikrocích výroby piva vzorku C (tmavý speciál). Jednotlivé BA jsou uvedeny v příloze P III a celkový obsah BA v použitých surovinách v tomto pivu jsou uvedeny v příloze P V.



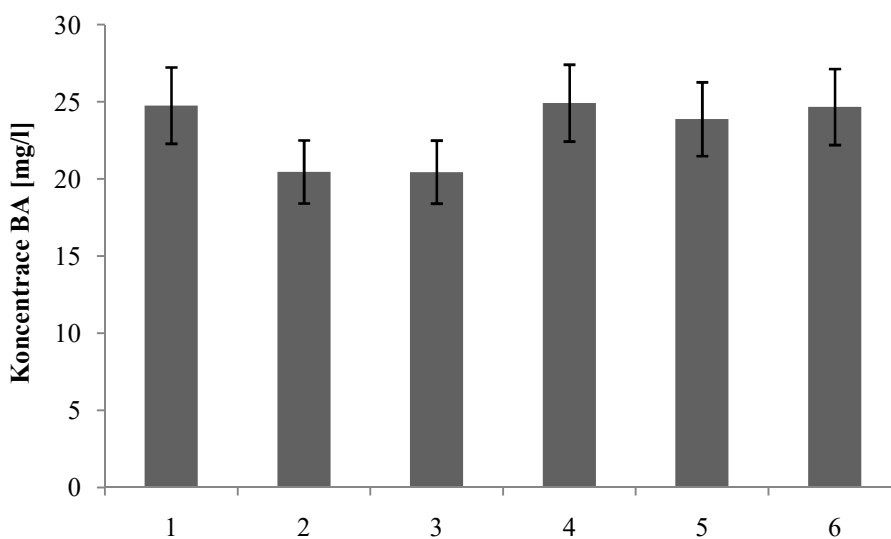
Obr. 21 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku C



Obr. 22 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (prokvašená mladina, 1/2 zrání, hotové pivo) ve vzorku C

Obsah jednotlivých BA vzorku C byl změřen a znázorněn na obrázku 21. Byly zde detekovány putrescin, tyramin a spermin, jako u předešlých dvou vzorků. Na druhou stranu na obrázku 22 jsou uvedeny výsledky jednotlivých BA u mezikroků (prokvašená mladina, ½ zrání piva a hotové pivo), kde byly detekovány putrescin, kadaverin, tyramin a spermin. Obsah BA byl v jednotlivých šaržích pro: putrescin (od 6 do 10 mg/l), kadaverin (od 3 do 5 mg/l), tyramin (od 4 do 6 mg/l) a spermin (od 7 do 9 mg/l). Celkový obsah BA v hotovém pivu byl 25 mg/l. Obsah tyraminu v tomto případě se pohyboval na hraniční hodnotě 6 mg/l, která byla uvedena ve studii Glória et al. [2005] a mohou se při konzumaci alkoholického nápoje již projevovat příznaky migrény. Avšak ve studii Brink et al. [1990] je uvedena toxická koncentrace pro tyramin 25 – 40 mg/l [11, 13]. Aby se projevila toxicita tyraminu v této koncentraci, závisí to především na detoxikačním metabolismu daného jedince. V přítomnosti tyraminu mohl jako podpůrný faktor působit kadaverin a zvýšit tak celkovou toxicitu tyraminu [2, 11, 13].

Na obrázku 23 je uveden celkový obsah BA a jejich vývoj v průběhu výroby piva. U vzorku C byl trend vývoje BA podobný jako ve vzorku A.

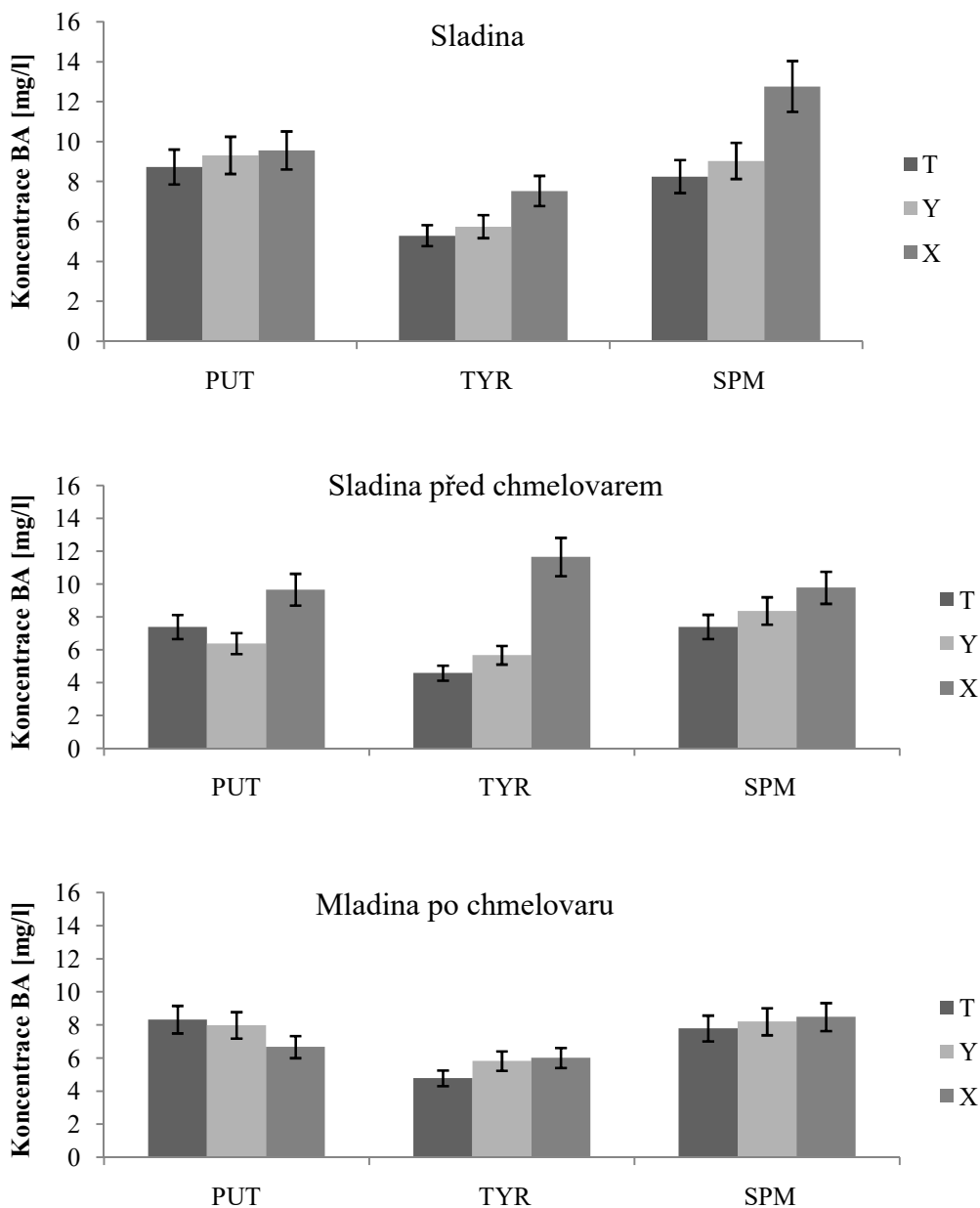


1 – sladina, 2 – sladina před chmelovarem, 3 – mladina po chmelovaru, 4 – prokvašená mladina, 5 – ½ zrání piva, 6 – hotové pivo

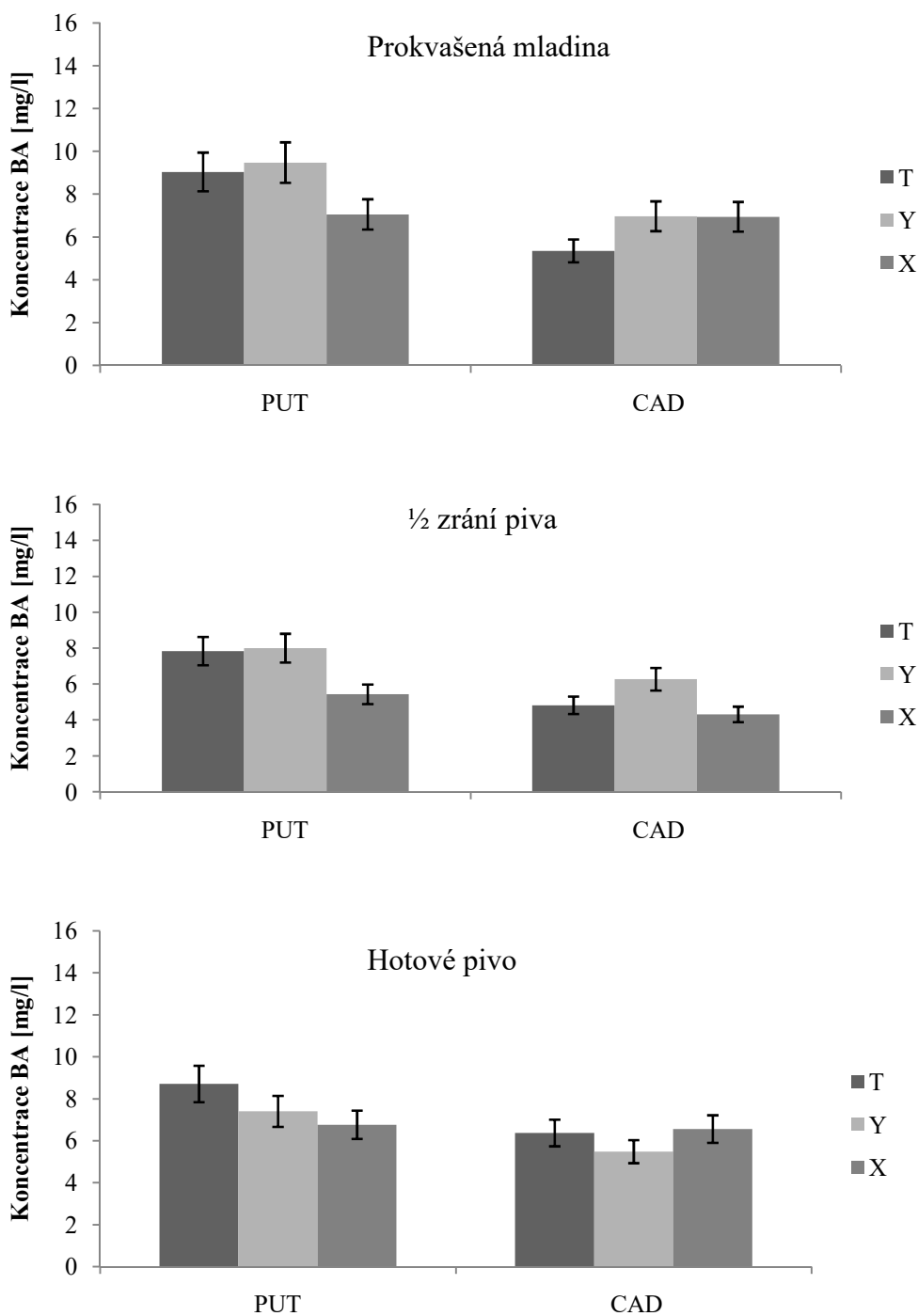
Obr. 23 Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva u vzorku C

7.2.4 Vzorek D- SPIA (Irský Ale)

Vzorek D je odlišný vzorek od ostatních vzorků především v použití surovin, které nejsou v českých pivech obvyklé. Na obrázcích 24 a 25 jsou uvedeny výsledky obsahu BA ve výrobě tohoto piva.



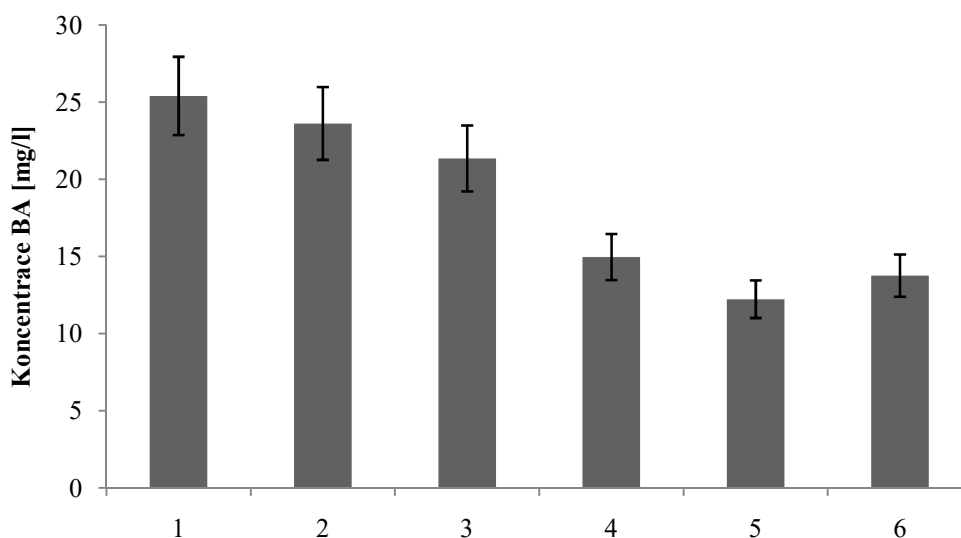
Obr. 24 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku D



Obr. 25 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku D

Na obrázku 24 jsou uvedeny výsledky obsahu jednotlivých BA. Zde byly detekovány putrescin, tyramin a spermin, jako v předešlých vzorcích. Výsledný obsah jednotlivých BA byl vyrovnaný a rozdíl výsledků u tohoto piva byl nevýrazný oproti předchozím vzorkům.

Na obrázku 25 jsou uvedeny mezikroky po zakvašení (prokvašená mladina, ½ zrání piva, hotové pivo), kde byl zjištěn stejný trend, jako u předešlých vzorků. Zde byl detekován putrescin a kadaverin. Obrázek 26 znázorňuje celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva vzorku D. Ve vybraných mezikrocích výroby piva byl zjevný klesající trend v obsahu BA stejně jako u předchozích vzorků. V hotovém pivu byly zastoupeny putrescin a kadaverin, kde v jednotlivých šaržích piva tohoto typu byly koncentrace vyrovnané: kadaverin (od 5 do 7 mg/l) a putrescin (od 7 do 9 mg/l). Celkový obsah BA v jednotlivých šaržích byl od 13 do 15 mg/l. Takový obsah BA, dle dostupných informací, neohrožuje konzumenta na zdraví. Dle studie Bobba et al. [2015] je nebezpečná koncentrace kadaverinu a putrescinu 2 000 mg/l pro běžná jídla. Pokud je konzumován alkohol, obecně jsou uváděny bezpečné hraniční koncentrace nižší, ale které jsou zvláště důležité pro histamin, fenyletylamin a tyramin [13, 16]. Navíc, putrescin obsahuje slad a jeho přítomnost ve vzorku je přirozená. Kadaverin může vznikat nežádoucí přeměnou bílkovin, ale jeho toxicita není příliš vysoká [17]. V přítomnosti histaminu nebo tyraminu působí kadaverin jako podpurný faktor a zesiluje jejich toxicitu, proto v tomto případě jeho nízký obsah ve vzorcích nepřináší žádné nebezpečí [11].



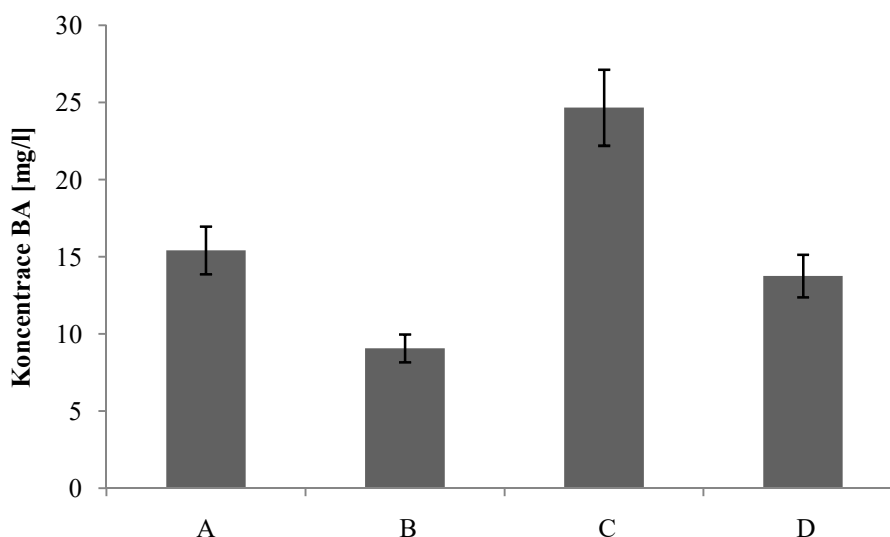
1 – sladina, 2 – sladina před chmelovarem, 3 – mladina po chmelovaru, 4 – prokvašená mladina, 5 – ½ zrání, 6 – hotové pivo

Obr. 26 Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva u vzorku D

V příloze P IV umístěny výsledky jednotlivých BA, které byly změřeny u použitých surovin pro daný typ piva. V příloze P V je uveden celkový obsah BA v surovinách.

7.2.5 Všechny vzorky

Na obrázku 27 jsou uvedeny hodnoty všech vzorků hotového piva. Celkový obsah BA byl změřen pro: vzorek A (15 ± 1 mg/l), vzorek B (9 ± 1 mg/l), vzorek C (25 ± 1 mg/l) a vzorek D (14 ± 1 mg/l). Obsah BA v hotovém pivu byl vyrovnaný u všech vzorků až na vzorek C, kde obsah BA mohl být ovlivněn množstvím sypání [17,5 % (w/v) EPM] a celkově použitými surovinami.



Obr. 27 Celkový obsah BA ve všech vzorcích hotového piva

Výsledky této práce byly porovnány s jinými pracemi. Podobný obsah BA byl zaznamenán společně s výsledky BA polských piv, kde průměrný celkový obsah BA činil $16,15 \pm 2,89$ mg/l [91]. Ve studii Kalač et al. [1997] byl pozorován obsah jednotlivých BA. V této studii byl uveden například obsah histaminu (0,55 mg/l), který se ve finálních vzorcích piv A, B, C a D vůbec nevyskytoval. Ve studii Kalač et al. [1997] byl uveden obsah tyraminu (6,85 mg/l), který byl vyšší než nejvyšší hodnota u vzorku C (6 mg/l). Kadaverin se sice vyskytoval ve vzorcích B, C a D, ale dosahoval poněkud nižších hodnot (od 4 do 7 mg/l) oproti obsahu ve studii Kalač et al. [1997], kde byly uvedeny hodnoty 12,3 mg/l. Naopak ve studii Kalač et al. [1997] nebyl zmíněn obsah sperminu, který byl zaznamenán

v této práci u vzorků A a C. Ve studii Kalač et al. [1997] bylo zmíněno, že naměřené hodnoty celkového obsahu BA by neměly způsobovat žádné problémy konzumentům [89]. Hodnoty v této práci celkového obsahu BA nepřekračovaly zmíněné hodnoty ve studii Kalač et al. [1997], a proto lze tvrdit, že i tyto zkoumané vzorky byly pro spotřebitele bezpečné a nepředstavovaly zdravotní riziko.

ZÁVĚR

Tato práce byla zaměřena na vývoj BA v procesu výroby piva včetně použitých surovin. Nejčastěji se vyskytující BA v hotovém pivu byly putrescin a kadaverin.

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

- Základní surovinou, která představovala největší zdroj BA vzhledem k použitému množství, byl dle výsledků experimentu slad.
- Voda, kvasinky a chmel nebyly vyhodnoceny jako významné zdroje BA. Speciální surovinou byl Rooibos, který v rámci použitého množství nepředstavoval významný zdroj BA.
- Při zpracování surovin docházelo k výrazným změnám obsahu Σ BA, kdy jednotlivé výrobní kroky přímo ovlivňovaly tuto hodnotu.
- Z naměřených dat byla patrná závislost obsahu BA na délce kvašení a zrání piva, kdy s rostoucí délkou těchto kroků, rostl i obsah sumy BA. Naopak rmutování a chmelovar obecně vedly ke snížení obsahu BA.
- Díky různým výchozím surovinám a technologickým postupům bylo možné sledovat odlišné zastoupení BA ve finálních vzorcích.
 - Ve vzorku A byl detekován obsah BA pro jednotlivé šarže: putrescin (jedna šarže nedetekováno, zbylé dvě šarže 7 mg/l), tyramin (od 3 do 5 mg/l) a spermin (od 4 do 9 mg/l).
 - Ve vzorku B byl detekován obsah BA v jednotlivých šaržích pro: putrescin (od 6 do 7 mg/l) a kadaverin (od 3 do 4 mg/l).
 - Ve vzorku C byl detekován obsah BA pro jednotlivé šarže: putrescin (od 6 do 10 mg/l), kadaverin (od 3 do 5 mg/l), tyramin (od 4 do 6 mg/l) a spermin (od 7 do 9 mg/l).
 - Ve vzorku D byl detekován obsah BA v jednotlivých šaržích pro: putrescin (od 7 do 9 mg/l) a kadaverin (od 5 do 7 mg/l).
- Celková množství BA v testovaných vzorcích piv nepředstavovala riziko pro zdravotní stav konzumentů. Celkový obsah BA byl u vzorku A byl 15 mg/l, u vzorku B 9 mg/l, u vzorku C 25 mg/l a u vzorku D 14 mg/l.

Závěrem lze tvrdit, že tato zkoumaná piva nepředstavují pro konečného spotřebitele riziko kvůli vysokým koncentracím BA v hotovém pivu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] LANDETE, J., M., I. PARDO a S. FERRER. Histamine, Histidine, and Growth-Phase Mediated Regulation of the Histidine Decarboxylase Gene in Lactic Acid Bacteria Isolated from Wine. *Federation of European Microbiological Societies. Microbiology Letters*. 2006, roč. 260, č. 1, s. 84 – 90. ISSN 1574-6968.
- [2] CAPILLAS, C. R. a F., JIMÉNEZ-COLMENERO. Biogenic Amines in Seafood Products. Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. *CRC Press*. 2009, s. 833 – 850. ISBN 978-1-4200-4633-5.
- [3] STANDAROVÁ, E., I. BORKOVCOVÁ, M. DUŠKOVÁ a L. VORLOVÁ. Production of Tyramine and Histamine by Bacteria Isolated from Czech-Velned Cheese Niva. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2009, roč. 48, č. 4, s. 189-194. ISSN 2333-1240.
- [4] LINARES, D. M., M. MARTÍN, V. LADERO, M. A. ALVAREZ a M. FERNANDÉZ. Biogenic Amines in Dairy Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2011, roč. 51, č. 7, s. 691 – 703. ISSN 1040-8398.
- [5] FUCHS, M., I. ŠVARCOVÁ, L. MACKOVÁ, H. MYNAŘÍKOVÁ. Histaminová intolerance, snížená aktivita diaminooxidázy. *Alergie*. 2011, roč. 13, s. 229 – 233. ISSN 1212-3536.
- [6] LORENCOVÁ, E., L. BUŇKOVÁ, D. MATOULKOVÁ, V. DRÁB, P. PLEVA, V. KUBÁŇ a F. BUŇKA. Production of Biogenic Amines by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria Isolated from Dairy Products and Beer. *International Journal of Food and Technology*. 2012, roč. 47, s. 1 – 6. ISSN 1365-2621.
- [7] RABIE, A., M., A., O. TOLIBA, A., R. SULIEMAN a F., X. MALCATA. Changes in Biogenic Amine Contents Throughout Storage of Canned Fish Products. *Pakistan Journal of Food Sciences*. 2014, roč. 24, s. 137 – 150. ISSN 2226-5899.
- [8] SAHU, L., S. K. PANDA, S. PARAMITHIOTIS, N. ZDOLEC a R. C. RAY. Fermented Foods, Part I. Biochemistry and Biotechnology. Biogenic Amines in Fermented Foods: Overview. *CRC Press*. 2015. Vyd. 1, s. 303-317. ISBN 978-1-4987-4081-4.
- [9] MADEJSKA, A., M. MICHALSKI a JACEK OSEK. Aminy biogenne w serach podpuszczkowych dojrzewających jako zagrożenie zdrowia konsumentów. *Medycyna Weterynaryjna, Poland*. 2017, roč. 73, s. 214 – 219. ISSN 0025-8628.

- [10] FERNANDES CH. a M. B. A. GLORIA. Bioactive Amines. Handbook of Food Analysis. *CRC Press*. 2015. Vyd. 3, s. 301 – 328. ISBN 978-1-4665-5654-6.
- [11] GLÓRIA, M., B., A. Bioactive Amines. Handbook of Food Science, Technology, Engineering. *CRC Press*. 2005. s. 1 – 38. ISBN 978-0-8493-9847-6.
- [12] SPANO, G., P. RUSSO, A. LONVAUD-FUNEL, P. LUCAS, H. ALEXANDRE, C. GRANDVALET, E. COTON, M. COTON, L. BARNAVON, B. BACH, F. RATTRAY, A. BUNTE, C. MAGNI, V. LADERO, M. ALVAREZ, M. FERNANDÉZ, P. LOPEZ, P. F. DE PALENCIA, A. CORBI, H. TRIP a J. S. LOLKEMA. Biogenic Amines in Fermented Foods. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2010, roč. 64, s. 95 – 100. ISSN 0954 – 3007.
- [13] BRINK, T. B., C. DAMINK, H. M. L. J. JOOSTEN a J. H. J. H. VELD. Occurrence and Formation of Biologically Active Amines in Foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1990, roč. 11, č. 1, s. 73 – 84. ISSN 0168-1605.
- [14] TIL, H. P., H. E. FALKE, M. K. PRINSEN a M. I. WILLEMS. Acute and Subacute Toxicity of Tyramine, Spermidine, Spermine, Putrescine and Cadaverine in Rats. *Food and Chemical Toxicology*. 1997, roč. 35, s. 337 – 348. ISSN 0278-6915.
- [15] VIDAL-CAROU, M. C., M. L. LATORRE-MORATALLA a S. BOVED-CID. Biogenic Amines. Handbook of Processed Meats and Poultry Analysis. *CRC Press*. 2008. s. 665 – 686. ISBN 978-1-4200-4531-4.
- [16] BOBBA M., V. GIANOTTI, F. GOSETTI, M. MANFREDI, E. MARENGO, E. MAZZUCCO a E. ROBOTTI. Handbook of Food Analysis. *CRC Press*. 2015. Vyd. 3, s. 637 – 694. ISBN 978-1-4665-5654-6.
- [17] SMĚLÁ, D., P. PECHOVÁ, T. KOMPRDA, B. KLEJDUS a VLASTIMIL KUBÁŇ. Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chemické listy*. 2004, roč. 98, s. 432 – 437. ISSN 1213-7103.
- [18] ELUC. [online]. [cit. 2017-10-18]. Dostupné z: www.eluc.kr-olomoucky.cz
- [19] BENZI, M., M. BOBBA, M. DEMARTINI, V. GIANOTTI, F. GOSETTI, E. MARENGO, E. MAZZUCCO, E. ROBOTTI a D. ZAMPIERI. Food Analysis by HPLC. *CRC Press*. 2012. Vyd. 3, s. 777 – 892. ISBN 978-1-4398-3084-0.

- [20] MC CABE-SELLERS, B., C. G. STAGGS, M. L. BOGLE. Tyramine in Foods and Monoamine Oxidase Inhibitor Drugs: A Crossroad Where Medicine, Nutrition, Pharmacy, and Food Industry Converge. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006, roč. 19, s. 58-65. ISSN 0889-1575.
- [21] VIDAL-CAROU, M. C., M. L. LATORRE-MORATALLA a S. BOVED-CID. Safety Analysis of Foods of Animal Origin. *CRC Press*. 2010, s. 399 – 420. ISBN 978-1-4398-4817-3.
- [22] KALAČ, P., J. ŠAVEL, M. KRÍŽEK, T. PELIKÁNOVÁ a M. PROKOPOVÁ. Biogenic Amine Formation in Bottled Beer. *Food Chemistry*. 2002, roč. 79, s. 431-434. ISSN 0308-8146.
- [23] FLICK, G. J. L., A. GRANATA. Biogenic Amines in Foods. *Toxins in Food. CRC Press*. 2004. ISBN 978-0-8493-1904-4.
- [24] COLLINS, J. D., B. NOERRUNG, H. BUDKA, O. ANDREOLETTI, S. BUNCIC, J. GRIFFIN, T. HALD, A. HAVELAAR, J. HOPE, G. KLEIN, K. KOUTSOUMANIS, J. MCLAUCHLIN, CH. MULLER-GRAF, CH. NGUYEN-THE, L. PEIXE, M. P. MARADONA, A. RICCI, J. SOFOS, J. THRELFALL, I. VAGSHOLM a E. VANOPDENBOSCH. Scientific Opinion on Risk Based Control of Biogenic Amine Formation in Fermented Foods. *EFSA Journal*. 2011, roč. 9, č. 10, s. 1-93. ISSN 1831-4732.
- [25] MCKAY, M., A. J. BUGLASS a CH. G. LEE. Fermented Beverages: Beers, Ciders, Wines and Related Drinks. *Handbook of Alcoholic Beverages. Willey*. 2011. Vyd. 1, s. 63 – 454. ISBN 978-0-470-51202-9.
- [26] HALÁSZ, A., Á. BARÁTH, L. SIMON-SARKADI a W. HOLZAPFEL. Biogenic Amines and Their Production by Microorganisms in Food. *Trends in Food Science and Technology*. 1994, roč. 5, s. 42-49. ISSN 0924-2244
- [27] LORENZO, C., M. BORDIGA, E. P. PÉREZ-ÁLVAREZ, F. TRAVAGLIA, M. ARLORIO, M. R. SALINAS, J. D. COISSON a T. GARDE-CERDÁN. The Impacts of Temperature, Alcoholic Degree and Amino Acids Content on Biogenic Amines and Their Precursor Amino Acids Content in Red Wine. *Food Research International*. 2017, roč. 99, s. 328-335. ISSN 0963-6696.
- [28] GREIF, G., M. GREIFOVÁ, J. DVORAN, J. KAROVIČOVÁ a V. BUCHTOVÁ. Štúdium rastu a produkcie biogénnych amínov niektorými mikroorganizmami za

- modelových podmienok. *Czech Journal Food Science*. 1999, roč. 17, č. 1, s. 15-21.
- [29] KUČEROVÁ, K., H. SVOBODOVÁ, Š. TŮMA, I. ONDRÁČKOVÁ a M. PLOCKOVÁ. Production of Biogenic Amines by *Enterococci*. *Czech Journal Food Science*. 2009, roč. 27, č. 2, s. 50-55. ISSN 1805-9317.
- [30] ALVAREZ, M. A. a M. V. MORENO-ARRIBAS. The Problem of Biogenic Amines in Fermented Foods and the Use of Potential Biogenic Amine- Degrading Microorganisms as a Solution. *Trends in Food Science and Technology*. 2014, roč. 39, s. 146-155. ISSN 0924-2244.
- [31] ORDÓNEZ, J. L., A. M. TRONCOSO, M. D. C. GARCÍA-PARRILLA a R. M. CALLEJÓN. Recent Trends in the Determination of Biogenic Amines in Fermented Beverages- A Review. *Analytica Chimica Acta*. 2016, roč. 939, s. 10-25. ISSN 0003-2670.
- [32] KORAL, S., B. TUFAN, A. ŠČAVNIČAR, D. KOČAR, M. POMPE a S. KOSE. Investigation of the Contents of Biogenic Amines and Some Food Safety Parameters of Various Commercially Salted Fish Products. *Food Control*. 2013, roč. 78, s. 597-606. ISSN 0956-7135.
- [33] DIČÁKOVÁ, Z. a E. DUDRIKOVÁ. Biogénne amíny ako chemické nebezpečenstvo. *Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach*. Nitra. 2006, s. 66 – 67. ISBN 80-8069-760-4.
- [34] HANUSKOVÁ, E. a J. PLEVKOVÁ. Histamínová intolerancia. *Alergie*. 2013, roč. 15, s. 245 – 252. ISSN 1212-3536.
- [35] MAINTZ, L. a N., NOVAK. Histamine and Histamine Intolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007, roč. 85, č. 5, s. 1185-1196. ISSN 1938-3207.
- [36] Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.[online]. [cit. 2018-1-31]. Dostupné z: www.eurlex.europa.eu
- [37] TSAI, Y., H., H., F. KUNG, Q., L.LIN, J., H. HWANG, S., H. CHENG, CH., I. WEI, D. F. HWANG. Occurrence of Histamine and Histamine-Forming Bacteria in Kimchi Products in Taiwan. *Food Chemistry*. 2005, roč. 90, s. 635-641. ISSN 0308-8146.

- [38] QIU, S., Y. WANG, Y. CHENG, Y. LIU, M. P. YADAV a L. YIN. Reduction of Biogenic Amines in Sufu by Ethanol Addition During Ripening Stage. *Food Chemistry*. 2018, roč. 239, s. 1244-1252. ISSN 0308-8146.
- [39] COSTA, D. J. E., A. M. MARTÍNEZ, W. F. RIBEIRO, K. M. BICHINHO, M. S. D. NEZIO, M. P. PISTONESI a M. C. U. ARAUJO. Determination of Tryptamine in Foods Using Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry. *Talanta*. 2016, roč. 154, s. 134-140. ISSN 0039-9140.
- [40] RAMON-MARQUEZ, T., A. L. MEDINA-CASTILLO, A. FERNANDEZ-GUTIERREZ a J. F. FERNANDEZ-SANCHEZ. Novel Optical Sensing Film Based on a Functional Nonwoven Nanofibre Mat for an Easy, Fast and Highly Selective and Sensitive Detection of Tryptamine in Beer. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016, roč. 79, s. 600-607. ISSN 0956-5663.
- [41] LANDETE, J., M., I. PARDO a S. FERRER. Tyramine and Phenylethylamine Production Among Lactic Acid Bacteria Isolated from Wine. *International Journal of Food Microbiology*. 2007, roč. 115, s. 364-368. ISSN 0168-1605.
- [42] FERNANDÉZ, M., D., M. LINARES, A. RODRÍGUEZ a M., A. ALVAREZ. Factors Affecting Tyramine Production in *Enterococcus durans* IPLA 655. *Applied Microbiology Biotechnology*. 2007, roč. 73, s. 1400-1406. ISSN 1432-0614.
- [43] LORET, S, P. DELOYER a G. DANDRIFOSE. Levels of Biogenic Amines as a Measure of the Quality of the Beer Fermentation Process: Data from Belgian Samples. *Food Chemistry*. 2005, roč. 89, s. 519 – 525. ISSN 0308-8146.
- [44] PRADENAS, J., O. GALARCE-BUSTONS, K. HENRÍQUEZ-AEDO, R. MUNDACA-URIBE a M. ARANDA. Occurrence of Biogenic Amines in Beers from Chilean Market. *Food Control*. 2016, roč. 70, s. 138-145. ISSN 0956-7135.
- [45] ONAL, A., S. E. K. TEKKELI a C. ONAM. A Review of the Liquid Chromatographic Methods for the Determination of Biogenic Amines in Foods. *Food Chemistry*. 2013, roč. 138, s. 509-515. ISSN 0308-8146.
- [46] HALÁSZ, A., Á. BARÁTH a W. H. HOLZAPFEL. The Biogenic Amine Content in Beer; the Effect of Barley, Malting and Brewing on Amine Concentration. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und – Forschung A*. 1999, roč. 208, s. 418-423. ISSN 0044-3026.

- [47] SU, H., L. CHUANG, W. TSENG a CH.LU. Micro-Scale Strategy to Detect Spermine and Spermidine by MALDI-TOF MS in Foods and Identification of Apoptosis-Related Proteins by Nano-Flow UPLC-MS/MS After Treatment with Spermine and Spermidine. *Journal of Chromatography B*. 2015, roč. 978-979, s. 131-137. ISSN 1570-0232.
- [48] CARMO BRITO, B. N., R. C. CHISTÉ, R. S. PENA, M. B. A. GLORIA a A. S. LOPES. Bioactive Amines and Phenolic Compounds in Cocoa Beans are Affected by Fermentation. *Food Chemistry*. 2017, roč. 228, s. 484-490. ISSN 0308-8146.
- [49] NEIS, V. B., P. B. ROSA, G. OLESCOWICZ a A. L. S. RODRIGUES. Therapeutic Potential of Agmatine for CNS Disorders. *Neurochemistry International*, 2017, roč. 108, s. 318-331. ISSN 0197-0186.
- [50] MAINTZ, L., B. BENFADAL, J. P. ALLAM, T. HAGEMANN, R. FIMMERS a N. NOVAK. Evidence for a Reduced Histamine Degradation Capacity in a Subgroup of Patients with Atopic Eczema. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006, roč. 117, č. 5, s. 1106-1112. ISSN 0091-6749.
- [51] JIANG, W., X. HE, H. YANG, X. XIANG, S. HU, S. LI a Y. LIU. Histamine Reduction by Maillard Reaction with Glucose. *Food Control*. 2017, roč. 82, s. 133-144. ISSN 0956-7135.
- [52] SAHIN-ERCAN, S. H. BOZKURT a C. SOYSAL. Reduction of Cadaverine and Tyramine Formation by Proteolytic Enzymes in Model System. *International Journal of Food Properties*. 2016, roč. 19, č. 7, s. 1465-1474. ISSN 1532-2386.
- [53] BERGSVEINSON, J., V. FRIESEN a B. ZOLA. Transcriptome Analysis of Beer-Spoiling *Lactobacillus brevis* BSO 464 During Growth in Degassed and Gassed Beer. *International Journal of Food Microbiology*. 2016, roč. 235, s. 28-35. ISSN 0168-1605.
- [54] ERTAN ANLI, R., N. VURAL, S. DEMIRAY a B. MERT. Biogenic Amine Content of Beers Consumed in Turkey and Influence of Storage Conditions on Biogenic Amine Formation. *Journal of the Institute of Brewing*. 2006, roč. 112, č. 3, s. 267-274. ISSN 2050-0416.
- [55] KOSAŘ, K., PROCHÁZKA, S. et al. Technologie výroby sladu a piva. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. Praha. 2000. Vyd. 1, s. 398. ISBN 80-902658-6-3.

- [56] DE BORBA, B. M. a J. S. ROHRER. Determination of Biogenic Amines in Alcoholic Beverages by Ion Chromatography with Suppressed Conductivity Detection and Integrated Pulsed Amperometric Detection. *Journal of Chromatography A*. 2007, roč. 1155, s. 22-30. ISSN 0021-9673.
- [57] Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. [online].[cit. 2017-10-25]. Dostupné z: www.zakonyprolidi.cz
- [58] OLŠOVSKÁ, J., D. MATOULKOVÁ, P. ČEJKA a M. JURKOVÁ. Pivo a zdraví. *Kvasný průmysl*. 2014, roč. 60, s. 174-181. ISSN 0023-5830.
- [59] PEPPLER, H. J. a D. PERLMAN. Microbial Technology: Fermentation Technology. *Academic Press*. 1979. Vyd. 2, s. 453. ISBN 0-12-551502-2.
- [60] NOOTS, I., J. A. DELCOUR a CH. W. MICHIELS. From Field Barley to Malt: Detection and Specification of Microbial Activity for Quality Aspects. *Critical Reviews in Microbiology*. 1999, roč. 25, s. 121-153. ISSN 1549-7828.
- [61] BOKULICH, A. N. a CH. W. BAMFORTH. The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2013, roč. 77, č. 2, s. 157-172. ISSN 1098-5557.
- [62] KALAČ, P. a M. KRÍŽEK. A Review of Biogenic Amines and Polyamines in Beer. *Journal of the Institute of Brewing*. 2003, roč. 109, č. 2, s. 123-128. ISSN 2050-0416.
- [63] SUZUKI, K., K. LIJIMA, K. SAKAMOTO, M. SAMI a H. YAMASHITA. A Review of Hop Resistance in Beer Spoilage Lactic Acid Bacteria. *Journal of the Institute of Brewing*. 2006, roč. 112, č. 2, s. 173-191. ISSN 2050-0416.
- [64] IZQUIERDO-PULIDO, M., A. MARINÉ-FONT a M. C. VIDAL-CAROU. Biogenic Amines Formation During Malting and Brewing. *Journal of Food Science*. 1994, roč. 59, č. 5, s. 1104-1107. ISSN 2226-5899.
- [65] GONCALVES, M., A. PONTES, P. ALMEIDA, R. BARBOSA, M. SERRA, D. LIBKIND, M. HUTZLER, P. GONCALVES a J. P. SAMPAIO. Distinct Domestication Trajectories in Top-Fermenting Beer Yeasts and Wine Yeasts. *Current Biology*. 2016, roč. 26, č. 20, s. 2750-2761. ISSN 0960-9822.

- [66] PEGG, A. E. Critical Review: The Function of Spermine. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. 2014, roč. 66, č. 1, s. 8-18. ISSN 1521-6551.
- [67] TANG, T., T. SHI, K. QIAN, P. LI, J. LI a Y. CAO. Determination of Biogenic Amines in Beer with Pre-Column Derivatization by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography B*. 2009, roč. 877, s. 507-512. ISSN 1570-0232
- [68] DANIEL, D., V. B. DOS SANTOS, D. T. R. VIDAL a C. L. DO LAGO. Determination of Biogenic Amines in Beer and Wine by Capillary Electrophoresis-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2015, roč. 1416, str. 121-128. ISSN 0021-9673.
- [69] SUZZI, G. a F. GARDINI. Biogenic Amines in Dry Fermented Sausages: A Review. *International Journal of Food Microbiology*. 2003, roč. 88, s. 41-54. ISSN 0168-1605
- [70] MATOULKOVÁ, D., P. KOPECKÁ a P. KUBIZNIAKOVÁ. Mikrobiologie pivovarské výroby- Divoké kvasinky a metody jejich detekce. *Kvasný průmysl*. 2013, roč. 59, č. 9, s. 246-257. ISSN 0023-5830.
- [71] MATOULKOVÁ, D. a P. KUBIZNIAKOVÁ. Mikrobiologie pivovarské výroby- Bakterie mléčného kvašení a kultivační metody pro jejich detekci- I. část. *Kvasný průmysl*. 2015, roč. 61, č. 8, s. 76-88. ISSN 0023-5830.
- [72] BASAŘOVÁ, G. Vývoj teorie a praxe kvašení a dokvašování piva. *Kvasný průmysl*. 2002, roč. 48, č. 3, s. 61-66. ISSN 0023-5830.
- [73] FREEMAN, G., J. Reducing Microbial Spoilage of Beer Using Filtration. *Brewing Microbiology. Managing Microbes, Ensuring Quality and Valorising Waste*. Elsevier. 2015. Vyd. 3, s. 241 – 251. ISBN 978 – 1- 78242 – 231 – 7.
- [74] HILL., A., E. Microbiological Stability of Beer. *Beer*. Elsevier. 2009. Vyd. 1, s. 163 – 183. ISBN 9780080926094.
- [75] HLOSKA, J. a M. ŠKOPÁN. Plánování a řízení provozu pivovaru s podporou počítačové simulace. *Kvasný průmysl*. 2014, roč. 60, č. 6, s. 146 – 150. ISSN 2570-8619.
- [76] HONEC, J., M. RICHTER, P. VALENTA a J. BRAMBOR. Vizuální kontrola vratných obalů v potravinářských linkách. *Department of Control, Measurement*

- and Instrumentation, Faculty of Electrical Engineering and Communication Technology, Technical University of Brno, Czech Republic.* [online]. [cit. 2018-3-7]. Dostupné z: www.cmm.ensmp.fr
- [77] Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin. [online]. [cit. 2018-2-11]. Dostupné z: www.eur-lex.eu
- [78] SPITAEELS, F., A. D. WIEME, M. JANSSENS, M. AERTS, H. DANIEL, A. V. LANDSCHOOT, L. D. VUYST a P. VANDAMME. The Microbial Diversity of Traditional Spontaneously Fermented Lambic Beer. *Plos One*. 2014, roč. 9, č. 4, s. 1 – 13. ISSN 1932-6203.
- [79] DE ROUCK, G., J. DE CLIPPELEER, F. VAN OPSTAELE, M. DE RIDDER a G. AERTS. Analytical Profiling of Belgian Kriek Beers. Ku Leuven. Belgium. 2014. EBC Symposium on Beer Mix Beverages. Vienna.
- [80] EDDINGS, B. Guide to Stout Styles of Beer. [online]. [2017-3-5]. Dostupné z: www.thespruce.com
- [81] HUTTO, E. What Makes a Saison a Saison? [online]. [2015-10-1]. Dostupné z: www.beerandbrewing.com
- [82] DUCRUET, J., P. RÉBÉNAQUE, S. DISERENS, A. K. CAGNAZZO, I. HÉRITIER a W. ANDLAUER. Amber Ale Beer Enriched with Goji Berries- The Effect on Bioactive Compound Content and Sensorial Properties. *Food Chemistry*. 2017, roč. 226, s. 109-118. ISSN 0308-8146.
- [83] KUHLE, A. A., L. JESPEREN, R. L.K. GLOVER, B. DIAWARA a M. JAKOBSEN. Identification and Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* Strains Isolated from West African Sorghum Beer. *Yeast*. 2001, roč. 18, s. 1069-1079. ISSN 1097-0061.
- [84] CHOI, S., J. I. LEE, S. SHUKLA a M. KIM. Physiochemical Properties and Determination of Biogenic Amines in Korean Microbrewery Beer Products. *Journal of Food Biochemistry*. 2012, roč. 36, s. 766 – 773. ISSN 1745-4514.
- [85] PŘIBÍK, O. Minipivovary u nás zažívají boom. [online]. [2014-12-8]. Dostupné z: zemedelec.cz
- [86] Rekordní výstav piva v roce 2016 podpořen exportem i vyšší spotřebou na tuzemském trhu. [online]. [2017-4-24]. Dostupné z: www.ceske-pivo.cz

- [87] BUŇKA, F., P. BUDINSKÝ, M. ČECHOVÁ, V. DRIENOVSKÝ, V. PACHLOVÁ, D. MATOULKOVÁ, V. KUBÁŇ a L. BUŇKOVÁ. Content of Biogenic Amines and Polyamines in Beers from the Czech Republic. *Journal of The Institute of Brewing*. 2012, roč. 118, s. 213-216. ISSN 2050-0416.
- [88] KALAČ, P., V. HLAVATÁ a M. KRÍŽEK. Concentrations of Five Biogenic Amines in Czech Beers and Factors Affecting Their Formation. *Food Chemistry*. 1997, roč. 58, č. 3, s. 209-214. ISSN 0308-8146.
- [89] DEETAE, P., M. C. PERELLO a G. REVEL. Occurrence of Ochratoxin A and Biogenic Amines in Asian Beers Sold in French Markets. *Journal of The Institute of Brewing*. 2013, roč. 119, s. 57 – 63. ISSN 2050-0416.
- [90] GLÓRIA, M. B. A. a M. IZQUIERDO-PULIDO. Levels and Significance of Biogenic Amines in Brazilian Beers. *Journal of Food Composition and Analysis*. 1999, roč. 12, s. 129-136. ISSN 0889-1575.
- [91] SLOMKOWSKA, A. a W. AMBROZIAK. Biogenic Amine Profile of the Most Popular Polish Beers. *European Food Research and Technology*. 2002, roč. 215, s. 380 – 383. ISSN 1438-2385.
- [92] BENEŠOVÁ, K., S. BĚLÁKOVÁ, R. MIKULÍKOVÁ a Z. SVOBODA. Aktivita proteolytických enzymů v průběhu sladování a výroby piva. *Kvasný průmysl*. 2017, roč. 63, č. 1, s. 2 – 7. ISSN 0023-5830.
- [93] SACHAMBULA, L., V. PSOTA, M. MUSILOVÁ, V. HORÁKOVÁ, A. PŘINOSIL, F. ŠMÍD, K. ADÁMKOVÁ a M. ADAM. Sladovnická kvalita odrůd pšenice jarní. *Kvasný průmysl*. 2017, roč. 63, č. 6, s. 314 – 322. ISSN 0023-5830.
- [94] Atlas českých odrůd chmelu. Chmelařský institut s.r.o. Žatec. Raise. 2012. ISBN 978-80-87357-11-8.
- [95] Hop Products. [online]. [cit. 2018-3-30]. Dostupné z: www.hopproducts.cz
- [96] Craft Beer Academy. [online]. [cit. 2018-3-30]. Dostupné z: www.craftbeeracademy.com
- [97] Ychhops. [online]. [cit. 2018-3-30]. Dostupné z: www.ychhops.com
- [98] Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s. [online]. [cit. 2018-3-31]. Dostupné z: www.beerresearch.cz
- [99] Lallemand Brewing. [online]. [cit. 2018-3-31]. Dostupné z: www.lallemandbrewing.com

- [100] MCKAY, D. a J. BLUMBERG. A Review of the Bioactivity of South African Herbal Teas: Rooibos (*Aspalathus linearis*) and Honeybush (*Cyclopia intermedia*). *Phytotherapy Research*. 2007, roč. 21, s. 1 – 16. ISSN 1099-1573.
- [101] HOLLEROVÁ, I., K. SIGLER, J. KADLECOVÁ a J. ŠROGL. Vitalita a viabilita násadních kvasnic: Metody posuzování a vliv buněčných systémů pro stresovou rezistenci. *Kvasný průmysl*. 2005, roč. 51, č. 1, s. 3 – 4. ISSN 0023-5830.
- [102] DADÁKOVÁ, E., M. KŘÍŽEK a T. PELIKÁNOVÁ. Determination of Biogenic Amines in Foods Using Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC). *Food Chemistry*. 2009, roč. 119, č. 1, s. 365 – 370. ISSN 0308-8146.
- [103] PLEVA, P., L. BUŇKOVÁ, A. LAUKOVÁ, E. LORENCOVÁ, V. KUBÁŇ a F. BUŇKA. Factors Affected Decarboxylation Activity of *Enterococcus Faecium* Isolated from Rabbit. *Potravinářstvo*. 2012, roč. 6, č. 2, s. 46 – 49. ISSN 1337-0960.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AMA	Chmel Amarillo
AMK	Aminokyselina
BA	Biogenní amin
BAR	Slad barvicí
BAV	Slad bavorský
BMK	Bakterie mléčného kvašení
BRA	Chmel Bramling Cross
CAD	Kadaverin
CIT	Chmel Citra
CNS	Centrální nervová soustava
DAD	Detektor v diodovém poli
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EPM	Extrakt původní mladiny
HIS	Histamin
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
KAR	Slad karamelový
MAOI	Monoaminoxidáza
MO	Mikroorganismus
PUT	Putrescin
PHE	Fenyletylamin
PLZ	Slad plzeňský
PRE	Chmel Premiant
PSE	Slad pšeničný
SLA	Chmel Sládek

SPD	Spermidin
SPE	Spermin
TRP	Tryptamin
TYR	Tyramin
UV	Ultrafialové záření
VID	Slad vídeňský
VIS	Viditelné světlo
ŽPČ	Chmel Žatecký poloraný červeňák

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1</i> Struktura aminů. Upraveno podle ELUC [18].	17
<i>Obr. 2</i> Mechanismus vývoje BA dekarboxylací. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].	17
<i>Obr. 3</i> Histamin. Upraveno podle Glória et al [2005] [11].	19
<i>Obr. 4</i> Tryptamin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].	20
<i>Obr. 5</i> Tyramin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].	21
<i>Obr. 6</i> Fenyletylamin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].	22
<i>Obr. 7</i> Kadaverin a putrescin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].	22
<i>Obr. 8</i> Spermidin a spermin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].	23
<i>Obr. 9</i> Agmatin. Upraveno podle Glória et al. [2005] [11].	24
<i>Obr. 10</i> Schéma úpravy piva. Upraveno dle Kosař et al. [2000] [55]	32
<i>Obr. 11</i> Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PHE, PUT, CAD, HIS, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných sladech (PLZ, VID, KAR, PSE, BAV, BAR, ALE) použitých pro výrobu vzorků piva A – D.	48
<i>Obr. 12</i> Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PHE, PUT, CAD, HIS, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných chmelech (ŽPČ, PRE, SLA, BRA, AMA, CIT) použitých pro výrobu vzorků piva A – D.	50
<i>Obr. 13</i> Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PUT, CAD, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných pivovarských kvasnicích (H – 095, WB 06 a Windsor) použitých pro výrobu vzorků piva A – D.	51
<i>Obr. 14</i> Souhrnný graf obsahu vybraných BA (PHE, PUT, CAD, HIS, TYR, SPD, SPM) ve sledovaných rooibos (zelený a červený) použitých pro výrobu vzorku piva D.	52
<i>Obr. 15</i> Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem a mladina po chmelovaru) ve vzorku A	54
<i>Obr. 16</i> Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (prokvašená mladina, ½ zrání a hotové pivo) ve vzorku A	55
<i>Obr. 17</i> Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva vzorku A	57
<i>Obr. 18</i> Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku B	58
<i>Obr. 19</i> Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (prokvašená mladina, ½ zrání a hotové pivo) ve vzorku B	59

<i>Obr. 20 Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva vzorku B</i>	<i>60</i>
<i>Obr. 21 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku C.....</i>	<i>61</i>
<i>Obr. 22 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (prokvašená mladina, ½ zrání, hotové pivo) ve vzorku C</i>	<i>62</i>
<i>Obr. 23 Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva u vzorku C</i>	<i>63</i>
<i>Obr. 24 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku D.....</i>	<i>64</i>
<i>Obr. 25 Obsah jednotlivých BA v mezikrocích (sladina, sladina před chmelovarem, mladina po chmelovaru) ve vzorku D.....</i>	<i>65</i>
<i>Obr. 26 Celkový obsah BA ve vybraných mezikrocích výroby piva u vzorku D.....</i>	<i>66</i>
<i>Obr. 27 Celkový obsah BA ve všech vzorcích hotového piva</i>	<i>67</i>
<i>Obr. 28 Obsah jednotlivých BA u surovin vzorku A</i>	<i>88</i>
<i>Obr. 29 Obsah jednotlivých BA u surovin vzorku B.....</i>	<i>90</i>
<i>Obr. 30 Obsah jednotlivých BA obsažených v surovinách vzorku C.....</i>	<i>93</i>
<i>Obr. 31 Obsah jednotlivých BA obsažených v surovinách vzorku D.....</i>	<i>97</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1 Ukázkové koncentrace BA v ovoci, zelenině a pivu typu ležák [11, 13, 14]</i>	<i>15</i>
<i>Tab. 2 Vybrané informace o BA a polyaminech [5, 12,7, 10, 27, 32, 34, 38, 40, 44, 48].....</i>	<i>24</i>
<i>Tab. 3 Chemické složení vybraných chmelů [94, 95, 96, 97]</i>	<i>42</i>
<i>Tab. 4 Celkový obsah BA v surovinách všech typů piv.....</i>	<i>98</i>

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: Obsah jednotlivých BA ve vzorku A

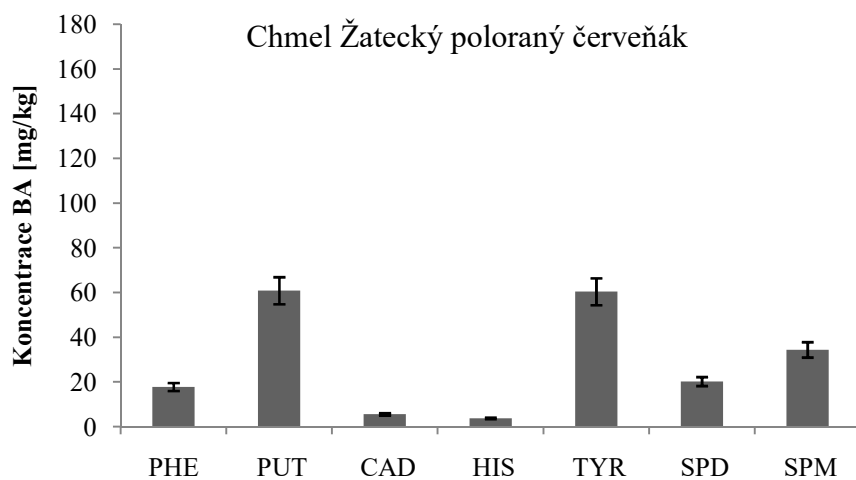
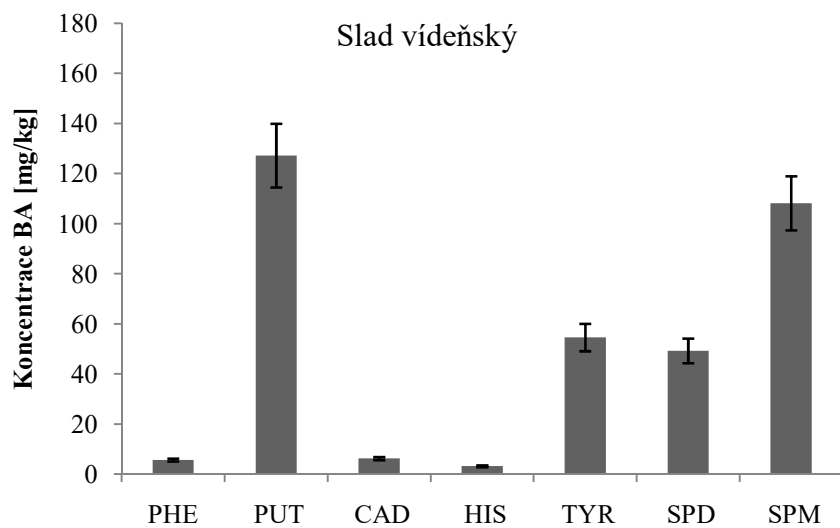
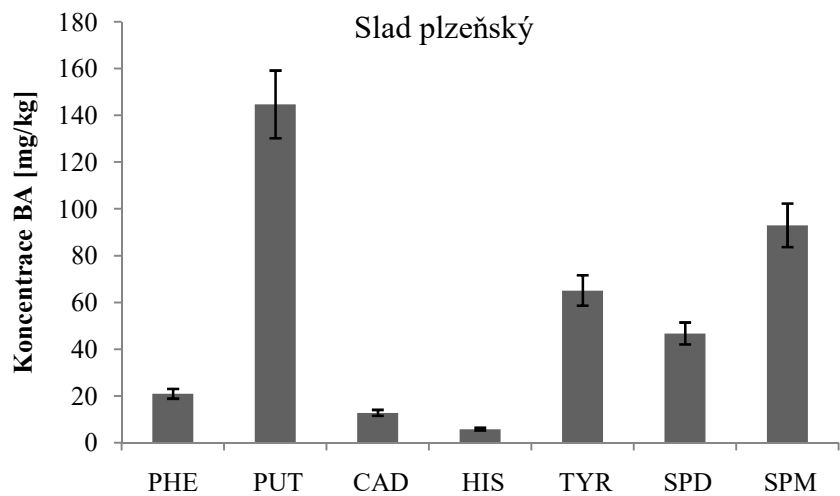
PŘÍLOHA P II: Obsah jednotlivých BA ve vzorku B

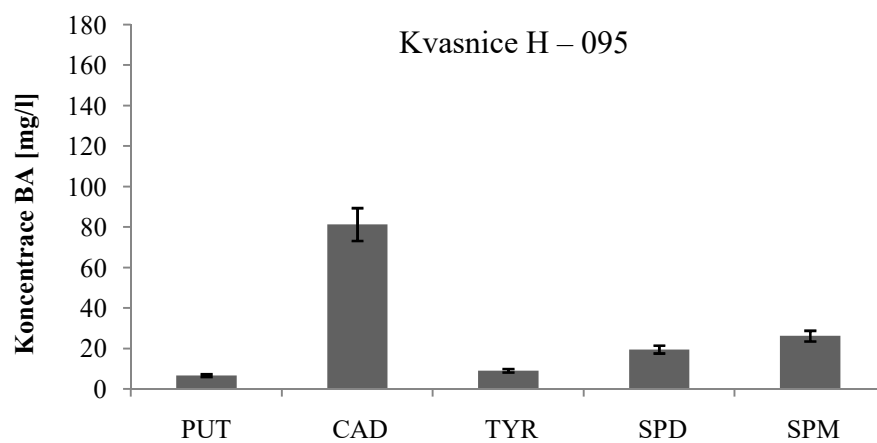
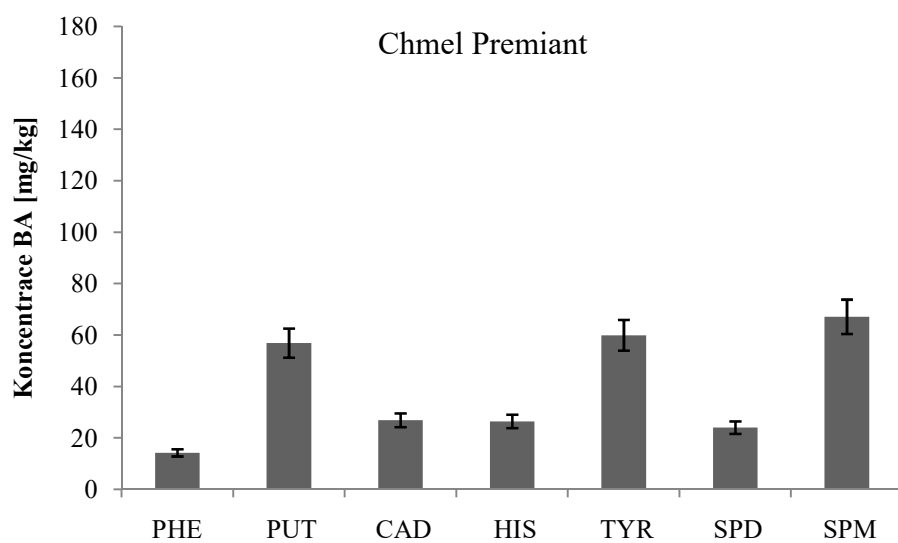
PŘÍLOHA P III: Obsah jednotlivých BA ve vzorku C

PŘÍLOHA P IV: Obsah jednotlivých BA ve vzorku D

PŘÍLOHA P V: Celkový obsah BA v surovinách všech typů piv

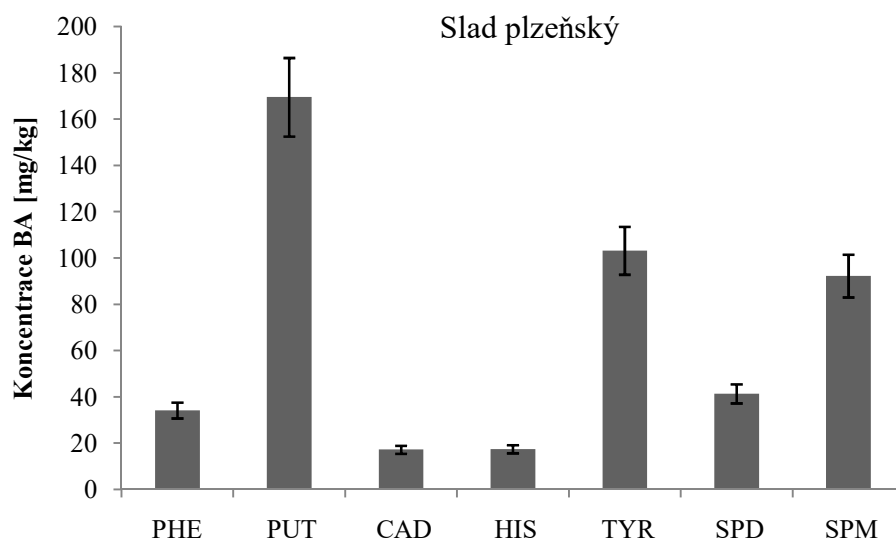
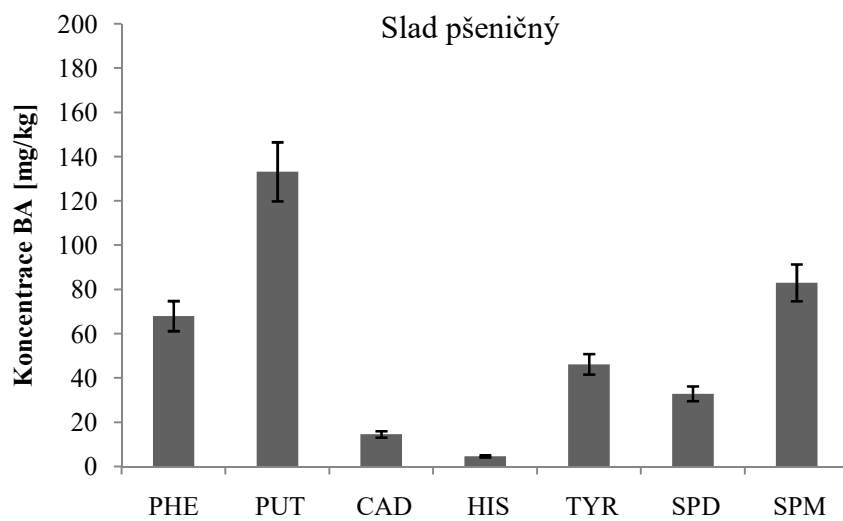
PŘÍLOHA P I: OBSAH JEDNOTLIVÝCH BA VE VZORKU A

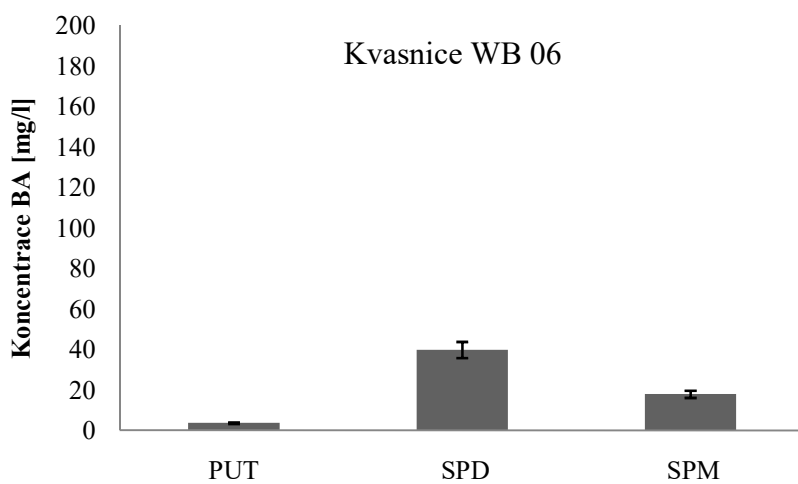
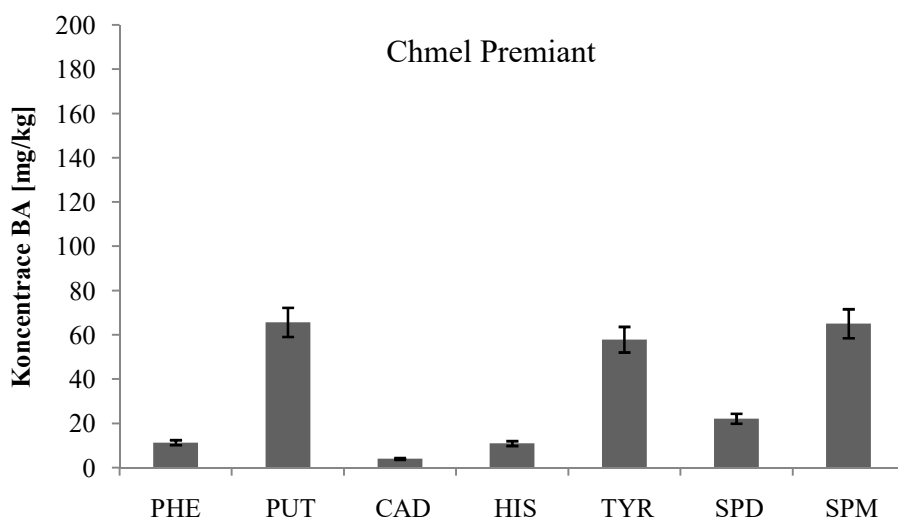
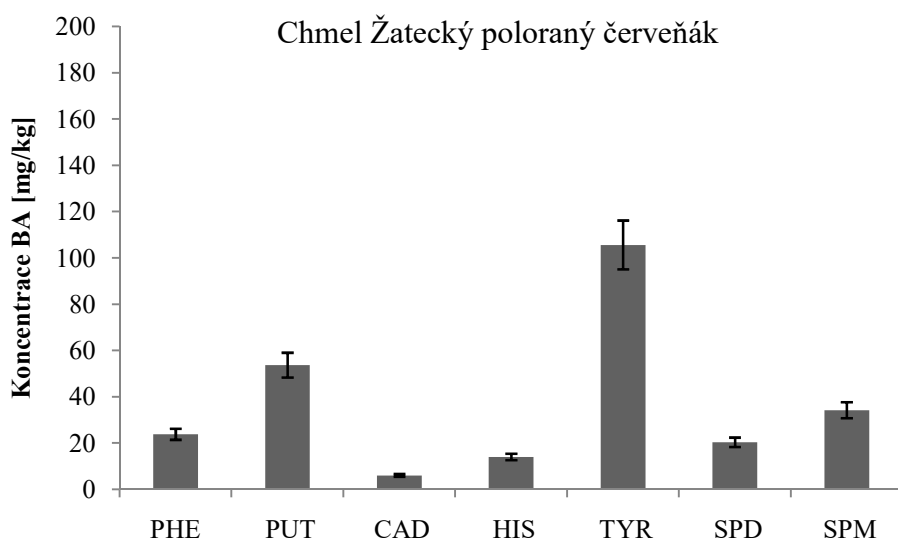




Obr. 28 Obsah jednotlivých BA u surovin vzorku A

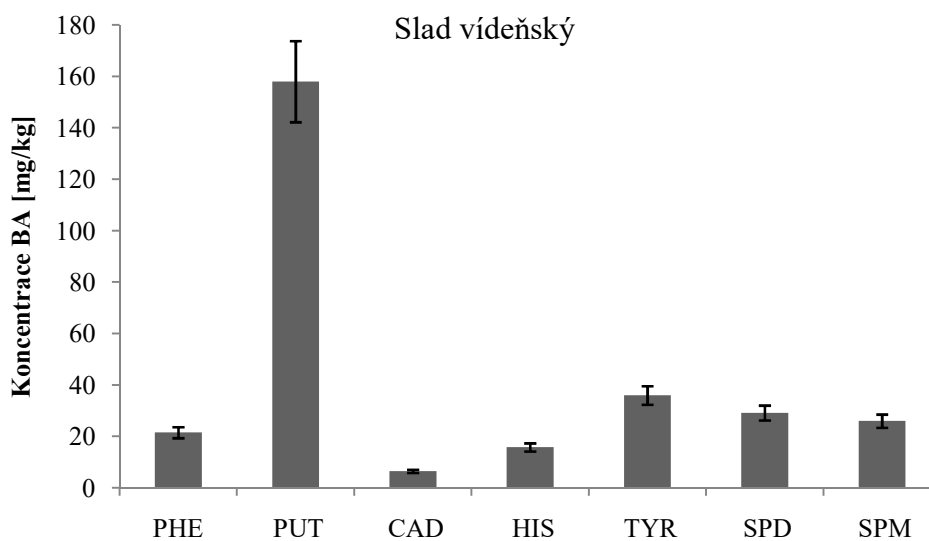
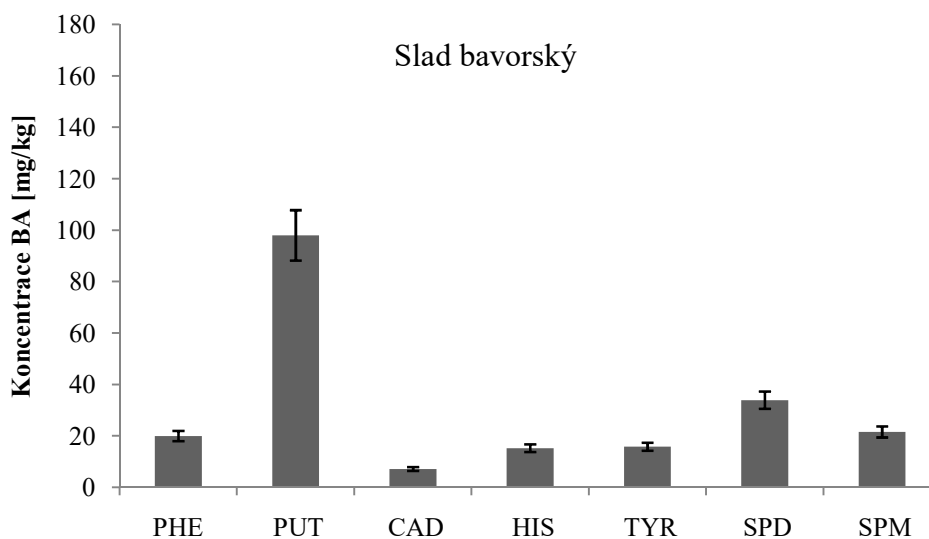
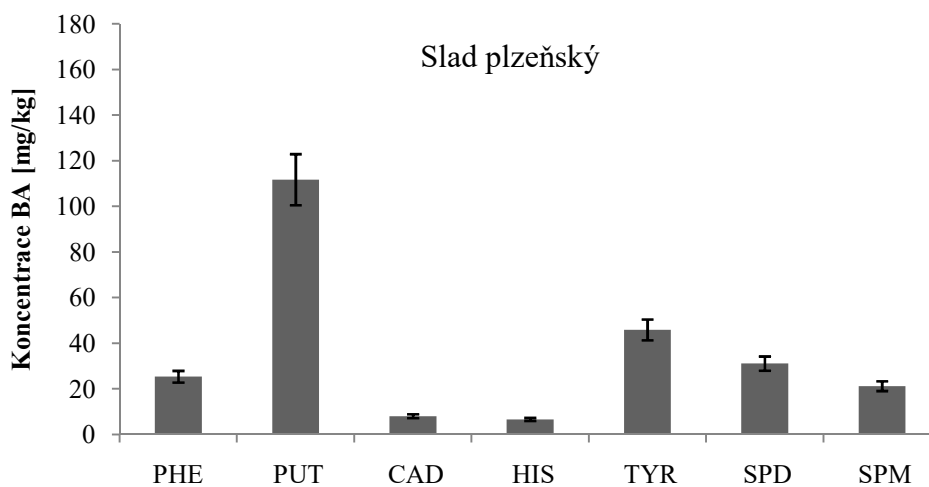
PŘÍLOHA PII: OBSAH JEDNOTLIVÝCH BA VE VZORKU B

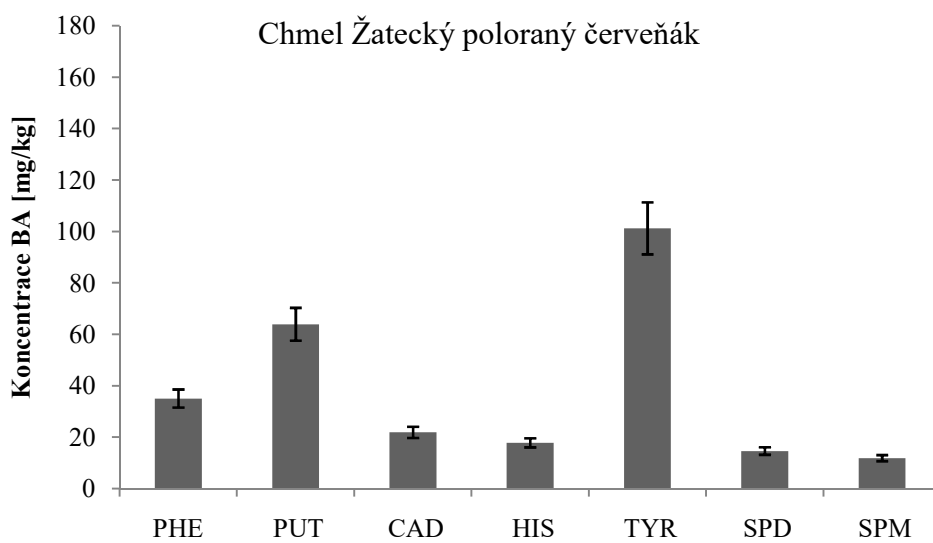
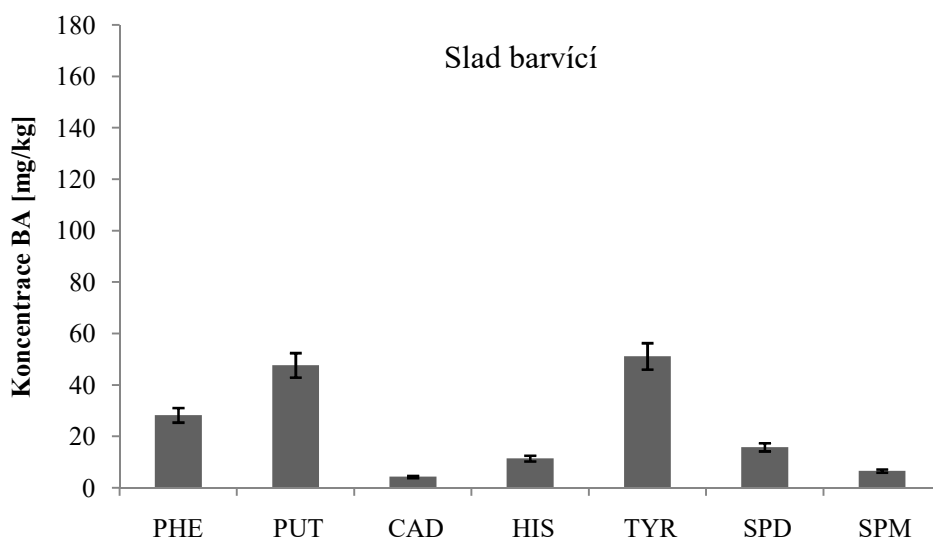
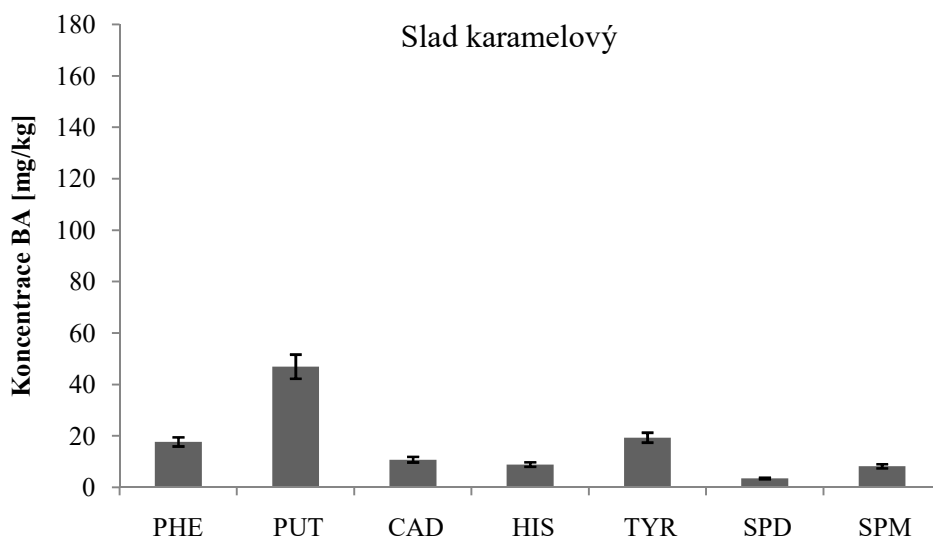


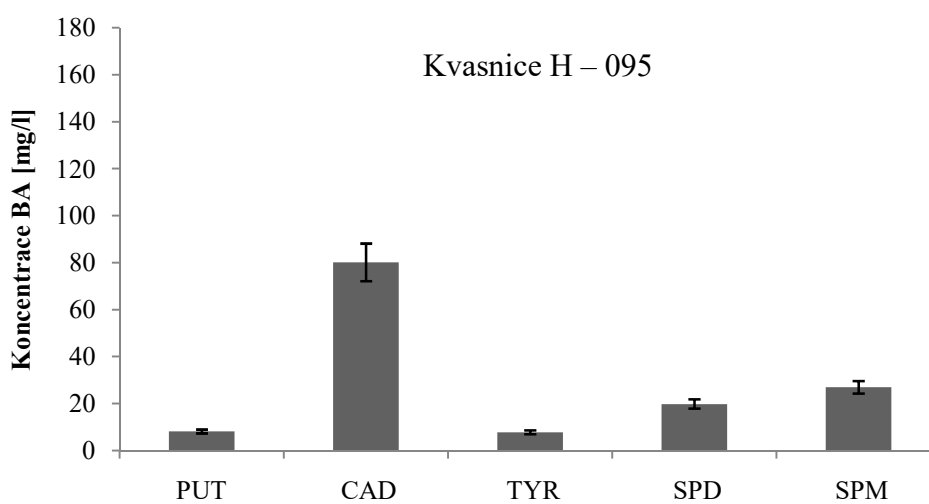
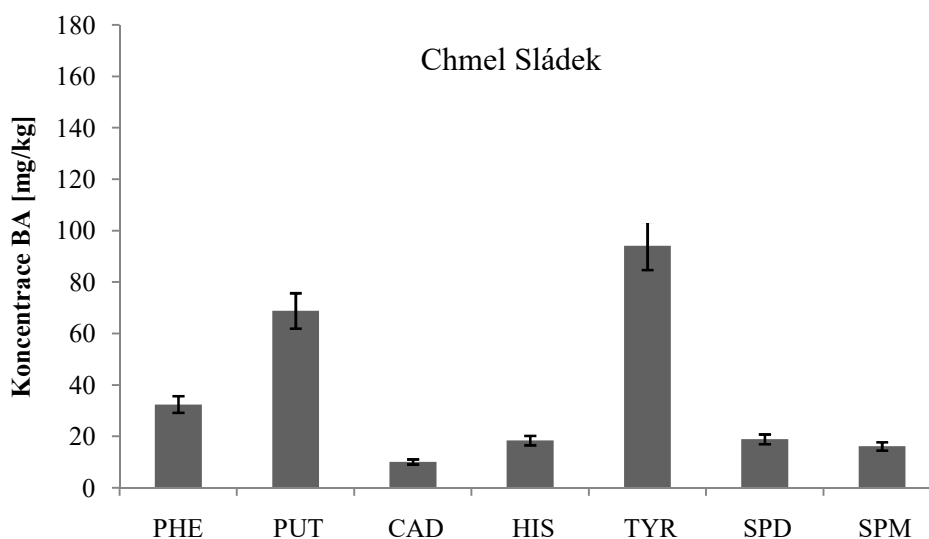
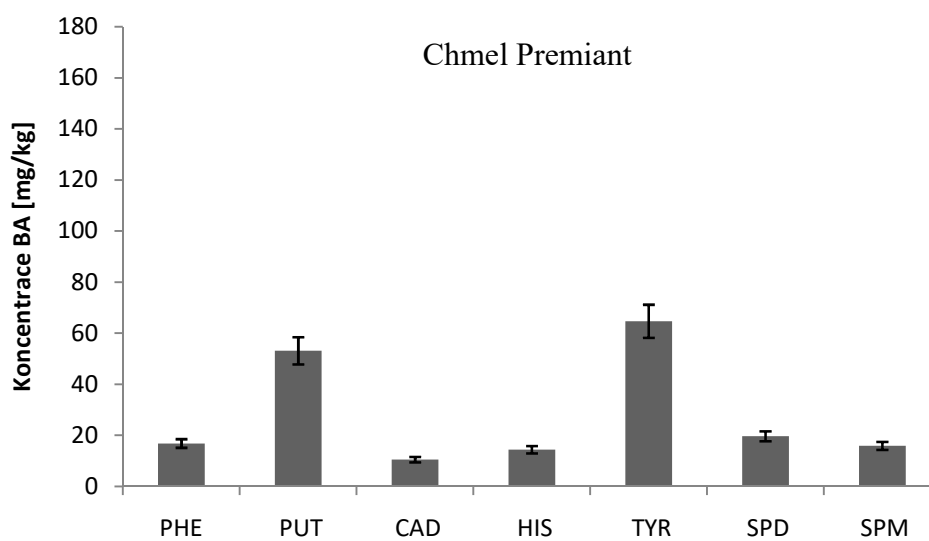


Obr. 29 Obsah jednotlivých BA u surovin vzorku B

PŘÍLOHA P III: OBSAH JEDNOTLIVÝCH BA VE VZORKU C

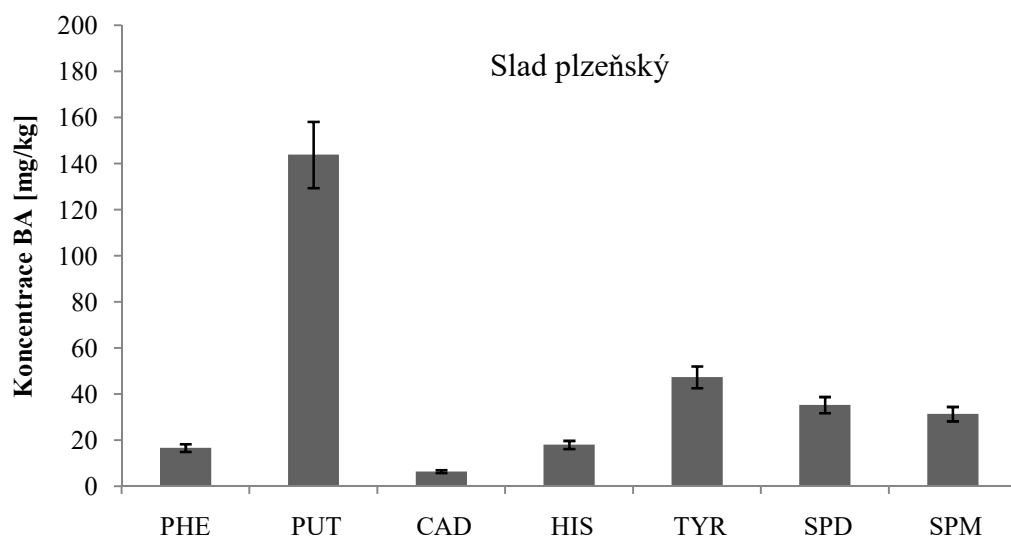
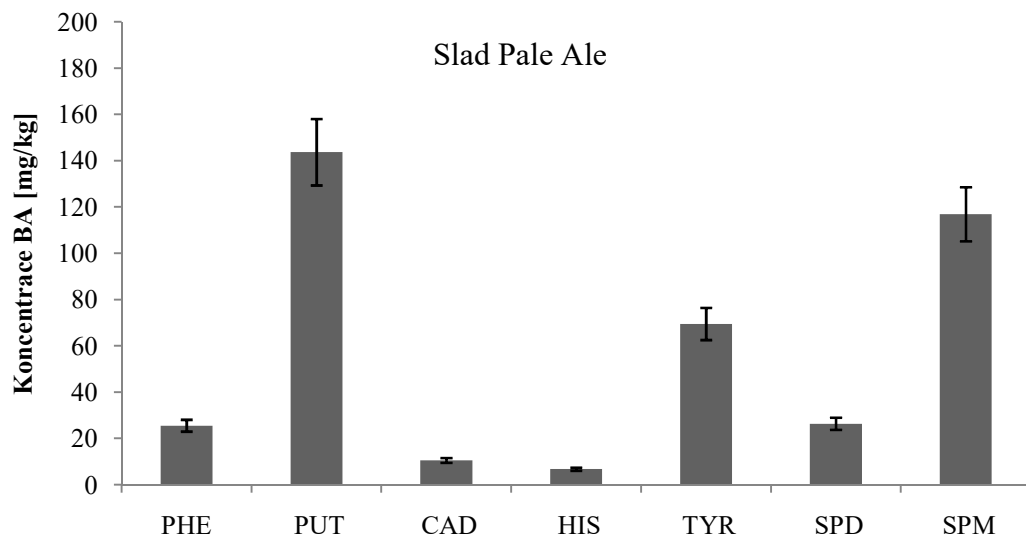


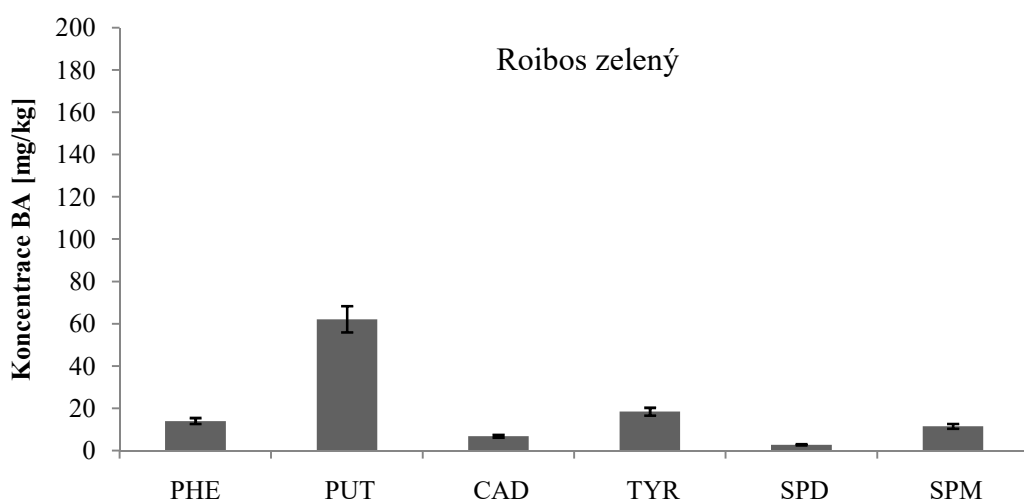
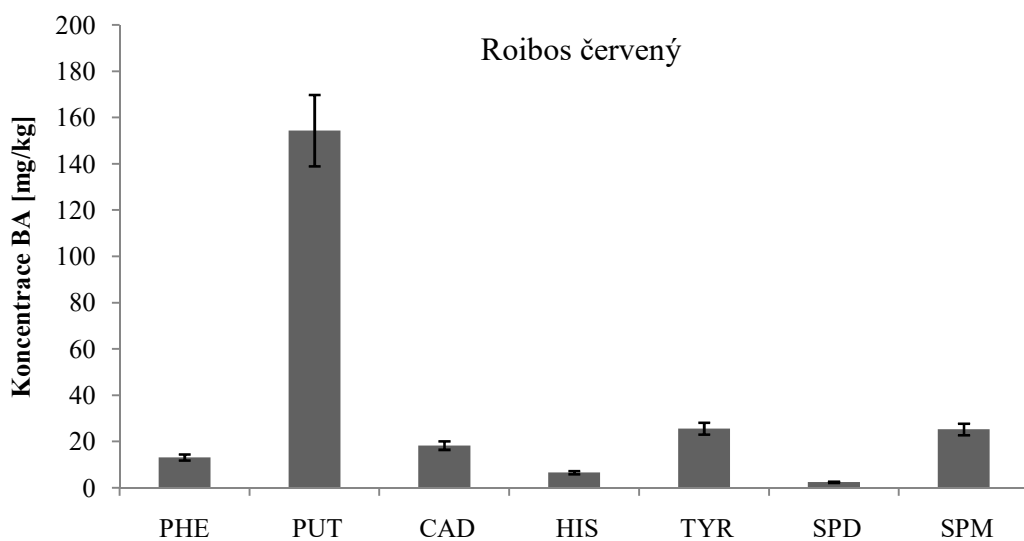
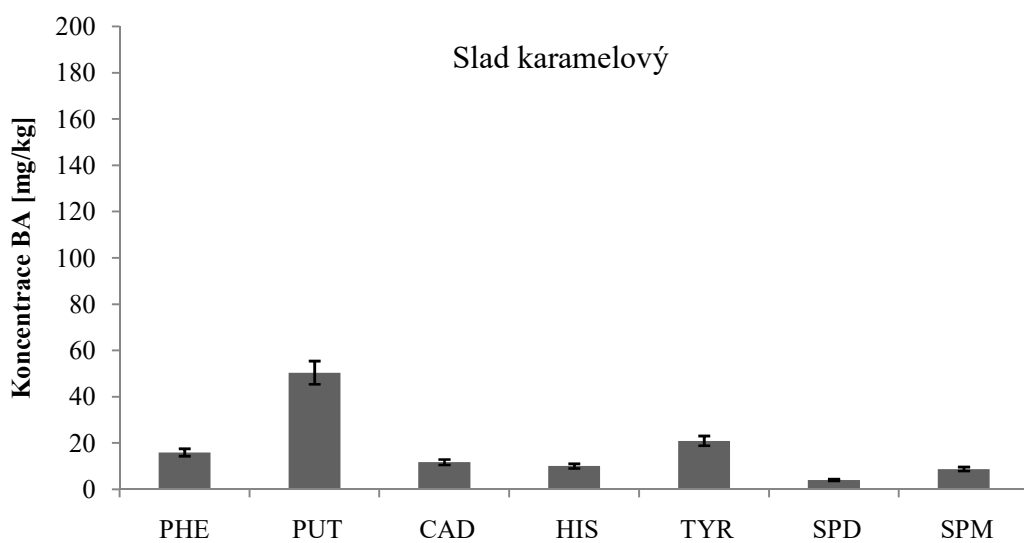


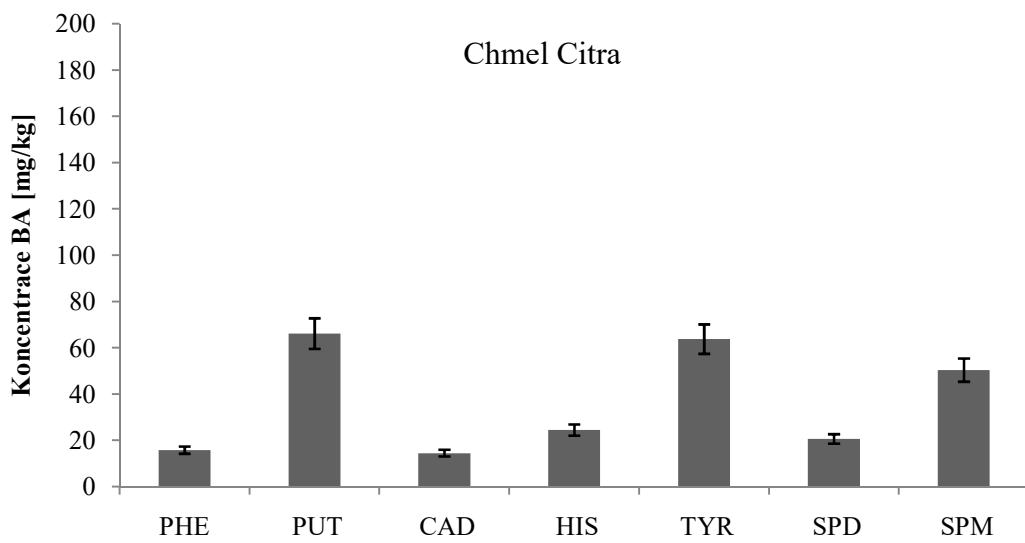
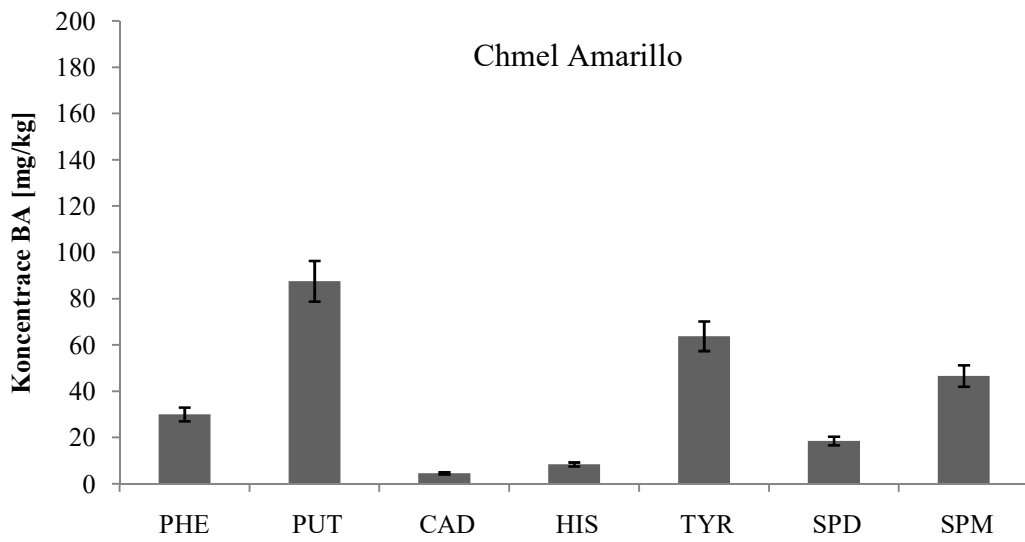
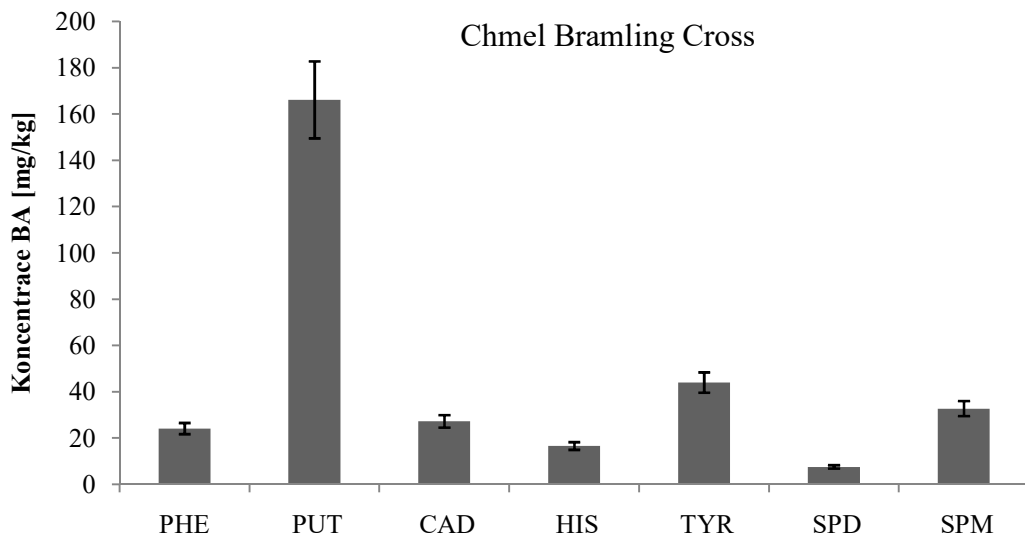


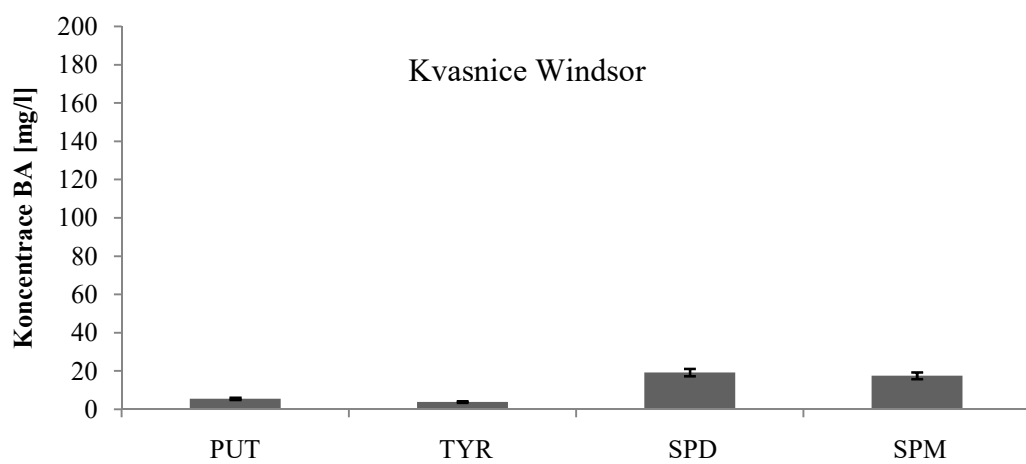
Obr. 30 Obsah jednotlivých BA obsažených v surovinách vzorku C

PŘÍLOHA P IV: OBSAH JEDNOTLIVÝCH BA VE VZORKU D









Obr. 31 Obsah jednotlivých BA obsažených v surovinách vzorku D

PŘÍLOHA P V: CELKOVÝ OBSAH BA V SUROVINÁCH VŠECH TYPŮ PIV

Tab. 4 Celkový obsah BA v surovinách všech typů pív

Název suroviny	Vzorky [mg/kg] nebo [mg/l]			
	A	B	C	D
Slad plzeňský	388 ± 36	475 ± 42	250 ± 24	-
Slad vídeňský	354 ± 30	-	293 ± 28	299 ± 28
Slad pšeničný	-	382 ± 37	-	-
Slad bavorský	-	-	211 ± 20	-
Slad karamelový	-	-	115 ± 11	122 ± 11
Slad barvící	-	-	165 ± 15	-
Slad Pale Ale	-	-	-	399 ± 37
Chmel Žatecký poloraný červeňák	203 ± 19	257 ± 24	266 ± 25	-
Chmel Premiant	275 ± 21	237 ± 22	195 ± 18	-
Chmel Sládek	-	-	259 ± 24	-
Chmel Bramling Cross	-	-	-	318 ± 30
Chmel Amarillo	-	-	-	260 ± 25
Chmel Citra	-	-	-	255 ± 22
Kvasnice H – 095 [mg/l]	143 ± 13	-	143 ± 12	-
Kvasnice WB 06 [mg/l]	-	62 ± 5	-	-
Kvasnice Windsor [mg/l]	-	-	-	46 ± 4
Rooibos červený	-	-	-	246 ± 23
Rooibos zelený	-	-	-	115 ± 11

* výsledky vyjádřeny jako celkový průměr hodnot + směrodatná odchylka, n= 9

A – pivo typu plzeňského; B – pšeničné pivo; C – speciál, tmavý; D – SPIA (Irský Ale)