

Sledování obsahu biogenních aminů během výroby piva

Lucia Blšáková

Diplomová práce
2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Lucia Blšáková**
Osobní číslo: **T17230**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Sledování obsahu biogenních aminů během výroby piva**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Biogenní aminy – charakterizace, vlastnosti a význam
2. Výskyt biogenních aminů v surovinách pro výrobu piva a během technologie výroby piva

II. Praktická část

1. HPLC stanovení obsahu biogenních aminů v surovinách pro výrobu piva a během procesu výroby piva
2. Vyhodnocení výsledků a formulace závěrů práce

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

Seznam doporučené literatury:

[1] RUIZ-CAPILLAS, Claudia a Ana HERRERO. Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. Foods. 2019, 8(2). DOI: 10.3390/foods8020062. ISSN 2304-8158.

[2] Vědecké zdroje uvedené v databázích Web of Science, SCOPUS.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Pavel Pleva, PhD.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **17. února 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Biogenní aminy jsou přítomny v různých potravinách. Nejčastěji se vyskytují ve fermentovaných produktech, mezi které patří i pivo. Vysoká hladina těchto látek může být pro určitou skupinu lidí nebezpečná. Teoretická část práce začíná popisem piva jako potraviny, popisem mikroorganismů vyskytujících se v něm a krátkým postupem výroby. Následně se zaměřuje na vznik a přítomnost biogenních aminů v surovině a během celé technologické výroby piva. Na přítomnost biogenních aminů bylo vybráno 10 piv, u kterých byly během celého procesu odebírány vzorky, které byly později analyzovány pomocí metody HPLC. Ve všech vzorcích byla zaznamenána aktivita biogenních aminů v různých koncentracích. Nejvyšší hladiny byly detekovány u spermidinu a putrescinu. Výsledky práce zaznamenaly i piva s vyššími hladinami tyraminu a histaminu, které mohou u citlivých jedinců způsobovat zdravotní problémy.

Klíčová slova: biogenní aminy; pivo; HPLC; suroviny; výrobní postup

ABSTRACT

Biogenic amines are present in various foods most often found in fermented products, including beer. High levels of these substances can be dangerous for a certain group of people. The theoretical part of the thesis begins with a description of a beer as a food, microorganisms occurring in it and a short production process. Subsequently, it focuses on the formation and presence of biogenic amines in the raw material and throughout the technological production of beer. For the presence of biogenic amines, 10 beers were selected and sampled throughout the process, which were later analyzed by HPLC. The activity of biogenic amines at various concentrations was recorded in all samples. The highest levels were detected for spermidine and putrescine. The results of the work also recorded beers with higher levels of tyramine and histamine which can cause health problems in sensitive individuals.

Keywords: biogenic amines; beer; HPLC; raw materials; technological process

Ďakujem vedúcemu práce Ing. Pavlovi Plevovi PhD. za jeho cenné rady, pomoc a trpezlivosť pri spracovaní výsledkov diplomovej práce. Rovnako ďakujem Ing. et. Ing. Ludmile Zálešákovej za jej ochotu a pomoc pri derivatizácii vzoriek. Ďalej sa chcem poďakovať môjmu priateľovi Ing. Matejovi Mešťánkovi, rodičom, ktorí ma nielen finančne ale morálne podporovali, sestrám a priateľom, ktorí stáli pri mne.

„Náboženství se střídají, pivo a víno zůstávají“

Harvey Allen

OBSAH

ÚVOD	7
I TEORETICKÁ ČÁST	8
1 PIVO	9
1.1 MIKROORGANIZMY VYSKYTUJÚCE SA V PIVE.....	10
1.1.1 Kvasinky.....	11
1.1.2 Divoké kvasinky.....	12
1.1.3 Baktérie.....	14
1.1.4 Plesne.....	16
1.2 ROZDELENIE PIVA (PIVNÉ ŠTÝLY).....	16
1.3 SUROVINY POUŽITÉ NA VÝROBU PIVA.....	19
1.3.1 Voda.....	19
1.3.2 Slad.....	20
1.3.3 Chmeľ.....	21
1.3.4 Kvasinky.....	21
1.4 TECHNOLÓGIA VÝROBY PIVA.....	22
2 BIOGÉNNE AMÍNY	25
2.1 VZNIK.....	25
2.2 VLASTNOSTI.....	26
2.3 TOXIKOLOGICKÉ ÚČINKY BIOGÉNNYCH AMÍNOV.....	27
2.4 LEGISLATÍVNE LIMITY BIOGÉNNYCH AMÍNOV.....	28
2.5 PRODUCENTI BIOGÉNNYCH AMÍNOV V PIVE.....	29
2.6 DEKARBOXYLÁZOVÁ AKTIVITA POČAS VÝROBY PIVA.....	31
2.7 ROZDIELNOSŤ OBSAHU BA PRI JEDNOTLIVÝCH PIVNÝCH ŠTÝLOCH.....	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
3 CIEĽ PRÁCE	36
4 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE	37
4.1 POUŽITÉ VZORKY.....	37
4.2 POSTUP ANALÝZY BIOGÉNNYCH AMÍNOV.....	39
4.3 CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENIE BIOGÉNNYCH AMÍNOV.....	40
5 VÝSLEDKY A DISKUSIA	42
5.1 OBSAH BIOGÉNNYCH AMÍNOV V SUROVINÁCH.....	42
5.2 OBSAH BIOGÉNNYCH AMÍNOV V TECHNOLOGICKÝCH PROCESOCH.....	51
ZÁVER	59
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	61
ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK	70
ZOZNAM OBRÁZKOV	71
ZOZNAM TABULIEK	72
ZOZNAM PRÍLOH	73

ÚVOD

Pivovarníctvo je jednou z najstarších a najkomplexnejších technológií pri spracovaní potravín a nápojov. Pivo je známe už po tisíce rokov (Novotný, 2019). Je to nápoj s nízkym obsahom alkoholu známy svojou zlatistou farbou a horkou chuťou. Mok, ktorý spájal a spája každú zábavu, ukončuje prácu, zaháňa smútok či prispieva k lepšej chuti do jedla.

V poslednej dobe sa zvýšila popularita piva a trh sa postupne presúva z masovo vyrábaných ležiakových značiek na bohatšiu chuť, nepredvídateľné ingrediencie a výraznú estetiku remeselných pív, ktoré sa vyznačujú jedinečnou arómou a chuťou. Pivo pravidelne konzumuje veľa ľudí po celom svete. Stal sa jedným z najviac konzumovaných nápojov v Európskej únii, kde priemerná spotreba v roku 2016 bola 71 litrov na obyvateľa (Bertuzzi *et al.*, 2020).

Zloženie piva je určené zložkami prítomnými v surovinách použitých na jeho výrobu. Obsahuje mnoho prospešných látok pre naše zdravie. Patria medzi ne vitamíny, minerály, antioxidanty (fenolové zlúčeniny a melanoíny) ale aj dusíkaté zlúčeniny, uhľohydráty či vlákna (Bertuzzi *et al.*, 2020).

Okrem svojich pozitívnych bioaktívnych vlastností môže pivo obsahovať aj látky, ktoré môžu negatívne ovplyvniť zdravie spotrebiteľa a ohroziť bezpečnosť potravín prítomnosťou nežiadúcich mikroorganizmov alebo produktov ich metabolizmu. Medzi takéto metabolity sa radia aj biogénne amíny. Vyskytujú sa v mnohých potravinách, ktoré obsahujú určité množstvo voľných aminokyselín alebo proteínov podliehajúcich mikrobiálnemu rozkladu. V niektorých potravinách sa biogénne amíny vyskytujú prirodzene, v iných dochádza k ich vzniku v procese výroby pomocou mikroorganizmov, ktoré disponujú enzýmom s dekarboxylázovou aktivitou (Aymerich, *et al.*, 2006).

Hoci biogénne amíny sú zlúčeninami s fyziologickými aktivitami, ich konzumácia vo vysokých koncentráciách môže ohroziť ľudské zdravie. Riziko negatívneho účinku sa zvyšuje konzumáciou alkoholických nápojov, pretože etanol inhibuje aktivitu enzýmov zodpovedných za metabolizmus biogénnych amínov. Z tohto dôvodu sa problematika týkajúca biogénnych amínov stala celosvetovým problémom a vynakladá sa úsilie znížiť ich výskyt vo fermentovaných výrobkoch, predovšetkým vo víne a pive, ktoré patria medzi obľúbené nápoje po celom svete a zvýšiť kvalitu a bezpečnosť týchto produktov (Angulo *et al.*, 2020). Avšak v rámci EÚ nie sú v nápojoch stanovené pre tieto látky legislatívne limity.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 PIVO

Prvé písomné zmienky o výrobe piva siahajú už 4000 rokov pred n.l., kedy Sumeri vyrábali kvasené nápoje z obilia, ktoré uskladňovali v hlinených nádobách. Je teda pravdepodobné, že vznik piva bola náhoda, pretože do niektorých nádob natiekla voda a o zbytok sa postarali prítomné kvasinky. Výroba piva sa pre staroveké civilizácie stala možnosťou ako vyrobiť nápoj z vody, ktorý je zdravotne nezávadný a s netradičnou chuťou. Pivo vyrábané v minulosti bolo veľmi vzdialené pivo, ktoré konzumujeme dnes. Medzi jeden z dôvodov rozdielnosti, patrí aj absencia chmeľu, a teda je zrejmé, že pivo bolo sladkastej chuti. Rozmach prídavku chmeľu do piva sa datuje od 13. storočia n.l., kedy sa začal čoraz viac pridávať k zvýrazneniu horkosti piva. Až koncom 20. storočia bolo možné zaznamenať boom amerických remeselných pivovarov, ktorý odštartoval celosvetový trend v rozmachu a znovuobjavovania rozmanitosti pivných štýlov. Na tento trend nadväzujú aj české minipivovary a rozvoj pivovarníctva naďalej pokračuje a pozitívne sa rozvíja (Novotný, 2019).

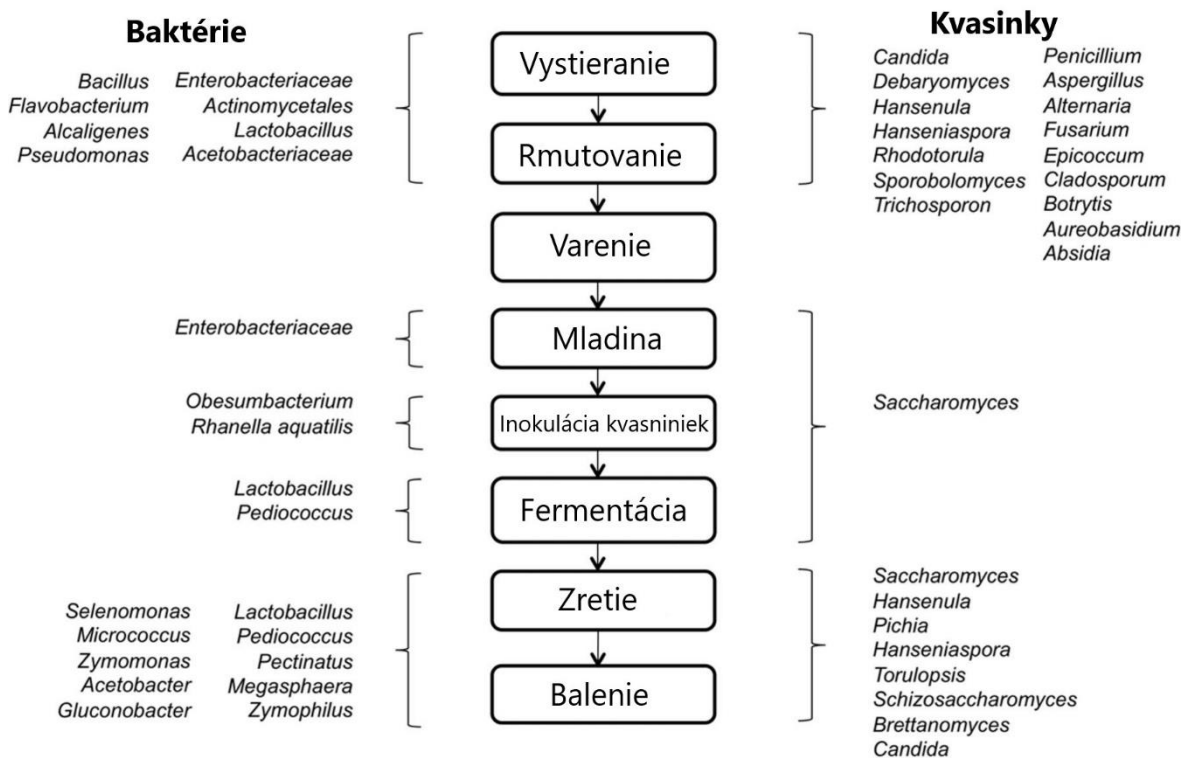
Pivo ako aj iné nápoje boli a sú zaznamenané v zákonoch, ktoré chránia ich výrobný proces či spotrebiteľa. Najstarší dochovaný zákonník na svete, Chamurapiho, obsahuje mnoho pasáží, týkajúcich sa piva, medzi ktoré patrí aj časť, kedy mohol byť človek za primiešanie vody do piva postihnutý až trestom smrti. V roku 1516 vznikol Reinheitsgebot – nemecký zákon o čistote piva, podľa ktorého sa pivo môže vyrábať len z vody, sladu a chmeľu. V tomto období ešte nebola písomná zmienka o kvasinkách. Tá nastala až v roku 1876, kedy Louis Pasteur vo svojej publikácii *Études sur la Bière* tvrdil, že kvasinky sú zodpovedné za kvasný proces v pive (Novotný, 2019).

V Českej republike je pivo definované podľa vyhlášky č. 248/2018 Sb., o požiadavkách na nápoje, kvasný ocot a droždie, ktorou sa prevádza zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabakových výrobkoch ako penivý nápoj vyrobený skvasením mladiny pripravenej zo sladu, vody, neupraveného chmeľu alebo chmeľového výrobku, ktorý vedľa kvasného procesu vzniknutého etanolu a oxidu uhličitého obsahuje aj určité množstvo neprekvaseného extraktu; slad je možné do výšky jednej tretiny hmotnosti celkového extraktu pôvodnej mladiny nahradiť extraktom predovšetkým cukru, obilného škrobu, nesladových obilnín alebo ryže; u pív ochutených môže byť obsah alkoholu zvýšený prídavkom liehovín alebo ostatných alkoholických nápojov (Vyhláška č. 248/2018 Sb., o požiadavkách na nápoje, kvasný ocot a droždí).

1.1 Mikroorganizmy vyskytujúce sa v pive

Pivo je výsledkom tradičnej fermentácie potravín. Mikrobiálna aktivita sa zúčastňuje v každom kroku jeho výroby a definuje mnohé sensorické vlastnosti, ktoré prispievajú ku kvalite. Okrem kvasenia cereálnych extraktov je dôležité sledovať aj iné mikroorganizmy, ktoré môžu predstavovať riziko poškodenia mikrobiálnej stability konečného produktu (prepeňovanie, tvorba mykotoxínov, nitrosaminov a pod.). Je dôležité ich pravidelne kontrolovať prostredníctvom prepracovaného riadenia či pri pravidelnej práci v sladovni a pivovare (Bokulich a Barmhof, 2013).

Medzi najznámejšie mikroorganizmy vyskytujúce sa v pive patria plesne, kvasinky a baktérie. Zvyčajne sa uvádza, že jedno pozbierané zrnko obsahuje približne 10^3 až 10^5 mikroorganizmov. Zmeny množstva mikróbov nastávajú pri máčaní, klíčení, sušení sladu a pri skladovaní zrna. Počet mikroorganizmov výrazne narastá pri máčaní jačmeňa, a to na dvojnásobne až dvestonásobne. Vysušenie jačmeňa na 12% celkovej hmotnosti zabraňuje pomnožovaniu mikroorganizmov, záleží však na jeho druhu a teplote. (Basařová *et al.*, 2010).



Obrázok 1. Prehľad najčastejších mikroorganizmov pivovarníctve (prepracované podľa Bokulich a Bamforth, 2013).

1.1.1 Kvasinky

Kvasinky sú jednou z najdôležitejších zložiek pri výrobe piva, ktoré sú zodpovedné za metabolické procesy, pri ktorých vzniká etanol, oxid uhličitý a celá rada vedľajších produktov, ktoré prispievajú k chuti a kvalite piva. Dnes je možné nájsť na trhu stovky druhov kvasiniek. V praxi sú kmene kvasiniek zaraďované do kategórii typu Ale a ležiak (Goldammer, 2008).

„Ale“ kvasinky, sú kmeňmi *Saccharomyces cerevisiae*, ktoré boli izolované v rôznych častiach sveta. Takéto kvasinky sú často označované aj ako kvasinky používané na vrchné kvasenie, pretože v tradičných fermentoroch stúpajú na povrch nádoby a tvoria hustú vrstvu, čo uľahčuje ich zber (Bokulich a Bamforth, 2013). Sú geneticky odlišné od kvasiniek ležiackého typu tým, že sú tvorené len druhom *Saccharomyces cerevisiae*, kým kvasinky ležiackého typu vznikli krížením dvoch blízkyh druhov rodu *Saccharomyces*. Teplota fermentácie Ale kvasiniek sa pohybuje v teplotách od 18 °C do 24 °C. Pri týchto teplotách dochádza k produkcii esterových tónov, ktoré vedú k ovocnej, sladovníckej až komplexnej chuti a aróme. Na trhu je možné nájsť veľké množstvo kvasiniek s rôznymi aromatickými profilmi. Sú používané pri výrobe piva typu Brew pale, tmavý Ale, pšeničných pív, Belgických pív a mnoho ďalších (Dunn, 2013).

Pôvod vzniku typu piva Ale siaha do 16. storočia, v Anglicku, kedy sa pôvodne tieto pivá vyrábali výhradne len z vody, sladu a kvasiniek a bez použitia chmelu. Pomenovanie Ale piva pre vrchne kvasené pivá sa ale začalo až v roku 1980 v Nemecku. Dnes je tento štýl najviac rozšírený predovšetkým vo Veľkej Británii, Írsku, Belgicku a Nemecku. V USA a v Kanade došlo k veľkému rozmachu tzv. craftových pivovarov či minipivovarov, ktorých myšlienkou je výroba pív so špecifickou farbou, vôňou, chuťou či technológiou. Tento trend sa postupne rozširuje do celého sveta (Jones, 2013).

Bokulich a Bamforth (2013) tvrdia, že pre pivo **ležiackeho typu** sú typické kvasinky typu *Saccharomyces pastorianus*, ktoré sa vyznačujú „spodným kvasením“ (kvasinky pred ukončením fermentácie klesajú na dno nádoby a nestúpajú na povrch za žiadnych podmienok). Vznikli hybridizáciou dvoch druhov kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces bayanus*, ktoré spolu úzko súvisia. Kvasinky ležiackeho typu sú zložitejším organizmom než kvasinky typu **Ale**, a nie sú tak ľahko izolovateľné z prírody. *Saccharomyces bayanus* sa zároveň vyznačuje vyššou odolnosťou voči nízkym teplotám, než *Saccharomyces cerevi-*

siae. Predpokladá sa, že vznikli ako reakcia selektívneho napätia spôsobeného nízkymi teplotami pri varení. Prítomnosť týchto dvoch genómov v *Saccharomyces pastorianus* mohla viesť k jeho schopnosti vykonávať fermentáciu lepšie pri nižších teplotách než samotný *Saccharomyces cerevisiae*. Je možné sa domnievať, že táto hybridizácia vyplýva z bavorského zákona zo 16. storočia, ktorý zakazoval varenie piva počas letných mesiacov z dôvodu nižšej kvality letných pív. Posledné štúdie preukázali, že všetky dnes používané kvasinky ležiackeho typu pochádzajú z hybridizácie medzi *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces bayanus* (Taylor, 2013).

Matoulková a Šavel (2007) uvádzajú, že súčasný platný názov pre spodné pivovarské kvasinky je *Saccharomyces pastorianus*. Ako neplatné názvy sa uvádzajú *Saccharomyces carlsbergensis* a *Saccharomyces monacensis*. Keďže problematika nomenklatúry nie je stále jasne doriešená, je možné, že pomenovanie *Saccharomyces pastorianus*, je stále nahradený pomenovaním zaučeného a tradičného pomenovania *Saccharomyces carlsbergensis*, ktoré je zrozumiteľné pre všetkých pivovarníkov a potravinárskych technológov. Označenie by sa mohlo používať v odbornej literatúre do doby zmeny legislatívy dosiaľ platného označenia pivovarských kvasiniek, ktoré sa uvádza v zákone č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobkoch a o zmene a doplnení niektorých súvisiacich zákonov. Teplota fermentácie typická pre kvasinky ležiackeho typu sa pohybuje v rozmedzí od 7 °C do 1 °C. Sú schopné skvasiť viac cukru než kvasinky typu Ale čo vedie ku vzniku ostrej chuti („crisper taste“). Produkujú vyššie množstvo sirovodíka a ďalšie sírne zlúčeniny (Goldammer, 2008).

1.1.2 Divoké kvasinky

Divoké kvasinky sú všetky kvasinky, ktoré nie sú používané ako zákvasová kultúra. Je možné ich izolovať vo všetkých fázach varenia piva zo suroviny, sladiny, fermentujúceho piva až po dávkovací systém či balenie (Preedy a Watson, 2005). Môže dochádzať ku tzv. kvasničnej kontaminácii, ktorá je spôsobená kvasničnými bunkami a vytvára negatívne prejavy v rôznych miestach výroby (fermentácia–spomalenie alebo zastavenie kvasenia, hlbšie prekvasenie hotového piva, zlá filtrovateľnosť piva, zákal). Kmene kultúrnych kvasiniek spôsobujú nežiadúce technologické vlastnosti, zároveň dochádza aj k vzniku respiračných deficitných mutantov, spôsobujúcich vysokú sedimentačnú rýchlosť či tvorbou biacetylu (Basařová *et al.*, 2010; Matoulková, Kopecká a Kubizniaková, 2013). Zároveň produkujú nechcené príchuť a aromatické látky, z dôvodu rozdielnosti produkcie sirovodíkov, esterov, kyselín, mastných kyselín, fenolických zlúčeniny (Preedy a Watson, 2005). Basařová *et*

al., (2010) tvrdia, že niektoré kmene kvasiniek môžu produkovať toxíny (tzv. killer–kmene) usmrcujúce senzitivné kmene kvasiniek. Gény pre produkciu týchto látok je možné preniesť do kultúrnych kvasiniek, ktoré potom prirodzene potlačujú rast cudzích baktérii. Výskumy prevedené Bendovou a Kahlerom *et al.*, (1981) ale ukázali, že v praxi nedošlo k zabráneniu pomnoženia ďalších kontaminujúcich mikroorganizmov a to ani kvasiniek, ani baktérii. Kvasinky sa v pivovarníctve často zaradzujú do tried *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* a *Deuteromycetes*. Medzi rod *Zygomycetes* patria hlavne plesne (Basařová *et al.*, 2010).

Divoké kvasinky sa rozdeľujú do dvoch skupín: Kvasinky rodu *Saccharomyces* (*S. logos*, *S. uvarum*, *S. pastorianus*, *S. diastaticus*, *S. willianus*, *S. ellipsoideus*, *S. turbidans*) a kvasinky non–*Saccharomyces* (*Brettanomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Filobasidium*, *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulasporea*, *Zygosaccharomyces*). Divoké kvasinky rodu *Saccharomyces* sú schopné rásť v anaeróbných podmienkach a tvoriť konkurenciu kultúrnym kvasinkám pri fermentácii cukrov obsiahnutých v mladine a tvoriť nežiadúce aromatické látky. Spolu s amylolitickými kvasinkami (schopné štiepiť dextríny) sú schopné tvoriť fenolické látky dekarboxyláciou fenolických kyselín mladiny. Obsahujú funkčný gén POF (phenolic off–flavor; fenolické chuťové vady, pachute) a sú niekedy označované ako POF⁺ (POF–pozitívne). (Matoulková, Kopecká a Kubizniaková, 2013). POF je spôsobená dekarboxyláciou kyseliny p–kumarovej a kyseliny ferulovej (škoricovej) na 4–vinylfenol a 4–vinylguaiacol. Tieto zlúčeniny dodávajú pivu nezvyčajné aromatické vnemy ako napríklad pikantnú vôňu klinčekov, ktorou sa vyznačujú predovšetkým nemecké pšeničné piva a niektoré belgické (Bokulich a Bamforth, 2013).

Non–*saccharomycetné* kvasinky nie je možné z piva odstrániť žiadnym tepelným záhrevom (pasterácia, sterilná filtrácia), ale ich prítomnosť pivo nepoškodzuje. Obsah v pive je často ukazovateľom nízkej hygienickej úrovne prevádzky (Matoulková, Kopecká a Kubizniaková, 2013).

V pivovarskej praxi sa najčastejšie vyskytujú divoké kmene kvasiniek rodu *Candida* a *Pichia*, ktoré sú považované za menej rizikové než *Saccharomyces*, pokiaľ sa jedná o kazenie piva z dôvodu nízkej schopnosti rozmnožovať sa v anaeróbných podmienkach a fermentovať sacharidy (Matoulková, Kopecká a Kubizniaková, 2013).

Medzi veľmi významný rod divokých kvasiniek patrí *Brettanomyces* (*Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces custersii* a *Brettanomyces anomalus*). Sú škodlivými kontaminantmi väčšiny pív a iných alkoholických nápojov. Vyznačujú sa výraznou vôňou pripo-

mínajúcu kónskú stajňu, seno, obväz, pot a podobne. Tieto kvasinky kazia pivo tvorbou prchavých fenolových zlúčenín 4-etylguaiacol a 4-etylfenol či acetátu v prítomnosti kyslíka alebo vytvárajú arómy a chute pre ne typické. Napriek svojim negatívnym vlastnostiam sú v niektorých krajinách či v typoch piva žiadané a vytvárajú ich jedinečnosť. Najčastejšie sa vyskytujú v pivných štýloch typu Lamber, ktorý je typický pre Belgicko či v ovocných pivách, v ktorých β -glykozidázová aktivita zvyšuje ovocnú arómu. V minulosti sa kvasinky *Brettanomyces* považovali za dôležitý prvok anglických pív (Bokulich a Bamforth, 2013).

Tabuľka 1. Divoké kvasinky, popísané v pivovarníctve (prepracované podľa Šavel, 1980).

Rod	Druh
<i>Brettanomyces</i>	<i>anomalus, bruxellensis, claussenii</i>
<i>Candida</i>	<i>krusei, intermedia, vini, valida, guilliermondii, silvae, lambica, infens, utilis, sake, mesenterica, parapsilosis, humicola, melinii, catenulata, solani</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>infirmitus, albidus var. diffluens, laurentii</i>
<i>Debaromyces</i>	<i>hansenii</i>
<i>Dekkera</i>	<i>intermedia</i>
<i>Endomycopsis</i>	<i>burtonii</i>
<i>Hansenula</i>	<i>anomala, subpelliculosa, californica</i>
<i>Kloeckera</i>	<i>apiculata</i>
<i>Pichia</i>	<i>membranaefaciens, fermentans, farinosa,</i>
<i>Rhodotorula</i>	<i>rubra, minuta</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae, bayanus, exiguus, rouxii, delbrueckii, uvarum, italicus, rosei, heterogenicus, inusitatus, microellipsoides, diastaticus</i>
<i>Torulopsis</i>	<i>candida, norvegica, glabrata, dattila, pinus, versatilis, stellata, inconspicua, gropengiesseri, colliculosa, holmii</i>
<i>Trichosporon</i>	<i>cutaneum, capitatum</i>

1.1.3 Baktérie

Baktérie sú klasifikované podľa tvaru, bičíka, farbenia podľa Grama a ďalších morfológických, fyziologických znakov a biochemických vlastností či analýzy genomu (Hough *et al.*, 1982).

Tabuľka 2. Baktérie vyskytujúce sa najčastejšie v pivovarníctve (Basařová et al., 2010).

Skupina	Rod /druh
octové baktérie	<i>Acetobacter, Gluconobacter</i>
mliečne baktérie	<i>Lactobacillus</i> (<i>L. brevis, L. lindneri, L. curvatus, L. casei, L. buchneri, L. coryneformis, L. plantarum, L. brevisimilis, L. malefermentans a L. parabuchneri</i>)
	<i>Pediococcus</i> (<i>P. damnosus, P. inopinatus a P. dextrinicus</i>)
„mladinové“ baktérie	Domáce pívá: <i>Enterobacter, Escherichia, Serratia, Klebsiella, Citrobacter, Hafnia, Obesumbacterium, Rahnella aquatilis</i>
	Zahraničné pívá: <i>Pectinatus, Megasphaera, Bacillus, Micrococcus, Acinetobacter, Pseudomonas a Zymomonas</i>
Iné	<i>Kocuria kristinae</i>

Medzi najvýznamnejšie baktérie vyskytujúce sa v pive a spôsobujúce nežiadúce reakcie patria grampozitívne baktérie mliečneho kvasenia rodu *Lactobacillus* a *Pediococcus*. Zodpovedajú za približne 70% mikrobiálnych väd v pive a sú považované za jedny z najnebezpečnejších baktérií pre pivo. Ďalšou skupinou, ktorá negatívne ovplyvňuje pivo patria gramnegatívne baktérie rodu *Pectinatus* a *Megasphaera*. Vplyv týchto anaerobných baktérií nastal zmenou technologických procesov, ktorá viedla k zamedzeniu kyslíku vo finálnych výrobkoch (Sakamoto a Konings, 2003). Vďaka zlepšeniu výrobných postupov spracovania piva sa význam aeróbných baktérií znížil. Tento fakt platí aj pre gramnegatívne baktérie *Hafnia protea* a *Enterobacter Cloacae*, ktoré sú schopné prežiť fermentačné procesy (Jespersen a Jakobsen, 1996). Basařová et al. (2010) tvrdia, že termofilné baktérie rodu *Bacillus* produkujú dusitany, ktoré už v priebehu rmutovania zvyšujú obsah netekavých nitrosaminov. Obsah tekavých nitrosaminov sa znižuje pri hvozdení sladu sírením (Basařová et al., 2010).

1.1.4 Plesne

Pri pestovaní jačmeňa je možné zaznamenať plesne v zrne, kde tvoria jeho prirodzenú súčasť. Na rozmnožovanie plesní, ale aj baktérii má výrazný vplyv teplota a vlhkosť skladovania, poprípade nežiadúci hmyz a škodcovia (Basařová *et al.*, 2010).

Medzi najznámejšie mykotoxíny vyskytujúce sa v pive zaradujeme fusariové toxíny, predovšetkým trichoteceny (deoxynivalenon, nivalenon, fusarenon X, a pod.). Za najvýznamnejšie ochorenie jačmeňa spôsobené plesňou *Fusarium* sa považuje fusariové vädnutie klasu. Naopak najčastejšie sa vyskytujúca závada spôsobená týmto toxínom je gushing (búrlivé prepeňovanie). Okrem prítomnosti plesne *Fusarium*, sa uvádzajú aj iné druhy, ktoré sa podieľajú na prepeňovaní piva ako napríklad *Alternaria*, *Nigrospora*, *Stemphylium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* a *Penicillium*. Vznik gushingu súvisí nielen od prítomnosti plesňových toxínov a mykotoxínov ale aj od druhu a kmeňu plesní, teploty a vodnej aktivity či stupňa kontaminácie (Basařová *et al.*, 2010).

Pre zníženie obsahu mykotoxínov je dôležitá pravidelná kontrola sladu a jeho chemické ošetrovanie (ozón, chlór, chlórnan sodný, peroxid vodíka pri máčaní jačmeňa) v obdobiach, kedy ich obsah výrazne narastá v závislosti od počasia. Činnosť plesní je možné zamedziť aj prídavkom mliečnych baktérii zámerne použitých pri výrobe sladu (Basařová *et al.*, 2010).

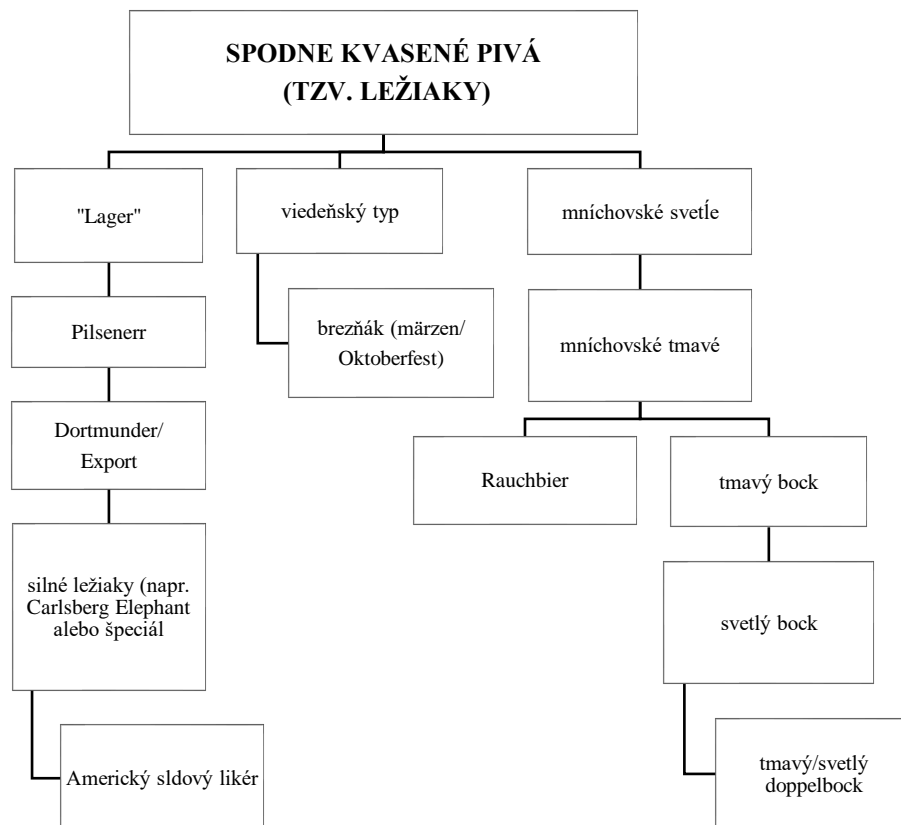
Obsah mykotoxínov v jačmeni, slade či pive sa výrazne líši. Zistené hodnoty závisia aj od metódy stanovenia. Rozsah sa pohybuje v rozmedzí od jednotiek až stoviek $\mu\text{g}/\text{kg}$ jačmeňa a sladu. Pre stanovenie a dôkaz plesní a kvasiniek sa používajú rôzne médiá. Na obmedzenie obsahu plesní, či baktérii sa pridávajú antibiotiká (chloramfenikol, chlortetracyklin, gentamycín, oxytetracyklin, streptomycín). Pre potlačenie rýchlo rastúcich plazivých plesní sa naopak dáva bengálska červeň a dichloran (Basařová *et al.*, 2010).

1.2 Rozdelenie piva (pivné štýly)

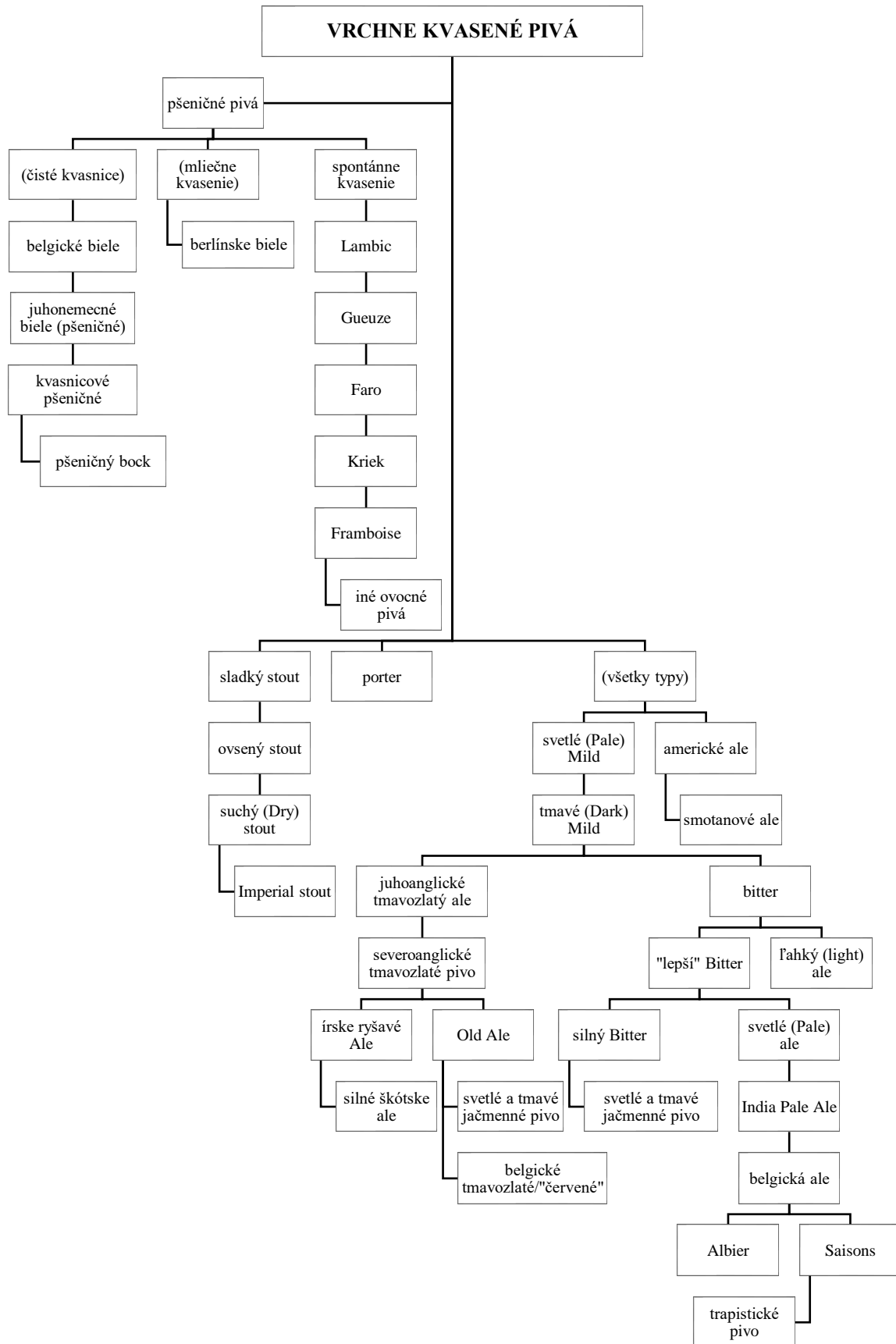
Na svete existuje množstvo pivných štýlov, ktoré sa od seba odlišujú chuťovými charakteristikami, technologickými postupmi výroby, spôsobom kvasenia mladiny, obsahom alkoholu či farbou piva ale aj typom použitej suroviny či krajiny. Prispôsobenie sa štýlu znamená, že skúmané pivo má vlastnosti, ktoré sa zhodujú s charakteristikami očakávanými pre daný štýl. Je známa široká škála pivných štýlov, ktoré sa vyskytujú na trhu (Mosher a Trantham, 2017).

Základné rozdelenie pív sa odvíja od spôsobu kvasenia mladiny a to na vrchné kvasené pívá typu *Ale* a spodne kvasené pívá typu ležiak. Pre vrchne kvasené pívá sú typické pšeničné, tmavé pívá typu *porter*, pívá s ovocnou arómou či silné kvasinkové. Naopak pívá s typickým spodným kvasením sú ležiaky svetlého, polotmavého či tmavého odtieňu, horké i sladké pívá s menším či vyšším podielom alkoholu. Na trhu sa vyskytujú tiež druhy, ktoré kombinujú spodné kvasinky k výrobe vrchne kvasených pív a naopak (Basařová *et al.*, 2010).

Popisom rôznych druhov pív sa zaoberal Beer Judge Certification Program's 2015, ktorý je pravidelne aktualizovaný, aby zohľadňoval nové klasifikácie štýlov či združenie amerických sládkov, ktorí v roku 2006 vydali sprievodcu pív sveta a každoročne ho obnovujú, aby sa odražali zmeny v podrobnostiach klasifikácie (Mosher a Trantham, 2017; Basařová *et al.*, 2010).



Obrázok 2. Prehľad druhov spodne kvasených pív (prepracované podľa Basařová *et al.*, 2011)



Obrázok 3. Prehľad druhov vrchne kvasených pív (prepracované podľa Basařová et al., 2010)

1.3 Suroviny použité na výrobu piva

Pivo a pивné nápoje môžu byť vyrábané zo surových obilných zŕn, sladových obilných zŕn, alternatívnych náhrad (raž, ovos a pod.), z chleba, ktorý sa používal v minulosti (Briggs *et al.*, 2004). V obdobiach hospodárskych kríz, vojny či po nej boli často používané cukornaté a škrobnaté náhrady sladu, ktoré sa používajú dodnes, predovšetkým kvôli nízkym výrobným nákladom. Medzi základné suroviny používané pri výrobe piva patrí voda, obilný slad a chmeľ za účasti mikroorganizmov–pivovarských kvasiniek (Basařová *et al.*, 2010).

1.3.1 Voda

Voda je v pivovarníctve považovaná za jednu z surovín, ktorá dodáva pivu špecifickú chuť (Verhoef, 1999). Tvorí viac ako 90 % produktu. Môže byť vhodná na pitie, no nevhodná na výrobu piva, preto je dôležité ošetriť vodu tak aby spĺňala štandardné požiadavky na tvrdosť vody u vybraných pivných štýlov. Dostupnosť vody sa stáva čoraz častejšie veľmi dôležitým kritériom pre umiestnenie pivovaru (Eumann, 2006). Zdroje pitnej vody sa získavajú buď z povrchových tokov z jazier, riek, umelých nádrží a priehrad alebo z podzemných tokov cez studne alebo vrty. Voda preto nie je konštantná, pokiaľ ide o kvalitu a množstvo, pretože sezónne zmeny a výskyt dažďa budú mať vplyv na teplotu a zloženie (Taylor *et al.*, 2017)

Tabuľka 3. Parametre vody vhodnej k vareniu piva (prepracované podľa Eumann 2006)

		Rozsah		Smerné číslo
		Min.	Max.	
pH		5	9,5	
Ca	mg/l	70	90	80
Mg	mg/l	0	10	
Na	mg/l	0	20	
HCO ₃	mg/l CaCO ₃	10	50	25
Cl	mg/l	30	80	50
SO ₄	mg/l	30	150	100
NO ₃	mg/l	0	25	
SiO ₂	mg/l	0	25	
Zvyšková zásaditosť	mg/l CaCO ₃		20	<0
THM	mg/l	0	10	
Fe	mg/l	0	0,1	
Mn	mg/l	0	0,05	
NH ₄	mg/l	0	0,5	
NO ₂	mg/l	0	0,1	
BrO ₃	mg/l	0	0,01	
H ₂ S	μg/l	0	5	
Turbidita	NTU	0	0,5	

V porovnaní s podzemnou vodou povrchová voda obvykle obsahuje iba malé množstvo minerálov a je náchylná na organické zaťaženie, ako aj na mikrobiologickú kontamináciu (Taylor *et al.*, 2017). Vyskytuje sa v rôznej tvrdosti či s rôznymi prísadami (minerály, soli).

Zloženie vody môže ovplyvniť proces výroby piva a spôsobiť, že pivo môže byť jemnejšie, tvrdšie či naopak sladšie (Verhoef, 1999). Voda môže obsahovať chlór, chlórámíny, rozpustené plyny či organické zlúčeniny, ktoré môžu nepriaznivo ovplyvniť chuť piva (Palmer a Kaminski, 2013).

1.3.2 Slad

Slad je prírodný potravinový produkt vyrobený naklíčením a vysušením zrn. Medzi najznámejšiu a najviac používanú surovinu patrí jačmeň, nie len kvôli jeho vysokému obsahu škrobu ale aj enzýmov, ktoré sa podieľajú na jeho odbúrání (Verhoef, 1999). Jačmenné slady sa používajú nielen na výrobu piva, ale ich využitie našlo uplatnenie aj v liehovarníctve, octárstve, v pekárskom odvetí či pri výrobe raňajkových cereálií. V niektorých častiach sveta sa na výrobu piva používajú aj iné alternatívne náhrady, ktorými sú napríklad raž, ovos, pšenica či tritikale (Edney a Izydorczyk, 2003). Sladový jačmeň dodáva pivu škrob, resp. cukry, ktoré sú premieňané na alkohol a oxid uhličitý a dodávajú pivu jemnú sladkastú chuť. (Verhoef, 1999). Mal by poskytovať vysoké výnosy a vysokú aktivitu enzýmov, akými sú α -amyláza, β -amyláza, proteázy a β -glukanáza. Z toho dôvodu sa dlhodobým šľachtením jačmeňa vyvinuli kultivary, ktoré pomerne dobre spĺňajú dané požiadavky (Linko *et al.*, 1998). Okrem prístupu mnohých enzýmov je jačmeň dobrým zdrojom aj pre nežiadúce organizmy akými sú napríklad *Fusarium*. Linko *et al.* (1998) vo svojej práci uvádzajú, že štartovacie kultúry kyseliny mliečnej ponúkajú pri sladovaní nové možnosti na kontrolu mikroflóry tým, že bránia rastu škodlivých mikroorganizmov a uprednostňujú tie prospešné. Jednotlivé druhy sa získavajú úpravou technológie máčania a klíčenia, ktorými je možné regulovať biosyntézu a aktivitu sladových enzýmov pôsobiacich na určité zložky extraktu, predovšetkým hlavne na mieru degradácie vysokomolekulárnych látok, redoxného potenciálu či acidity sladu. Mieru tvorby farebných aromatických zlúčenín je možné regulovať ďalšími úpravami pri technologickom postupe hvozdenia sladu pripraveného z jednej odrody jačmeňa alebo len z dvoch odrôd, ale geneticky podobných.

Vo svete sa najčastejšie vyrábajú svetlé slady plzeňského typu pre svetlé piva a tmavé slady mníchovského typu (pšeničné, špeciálne slady) pre tmavé piva. Basařová *et al.* (2010) tvr-

dia, že ďalšie typy špeciálnych sladov slúžia pre zvýraznenie určitých kvalitatívnych a špecifických vlastností základných typov svetlých a tmavých pív či pre výrobu charakteristicky odlišných vlastností.

Pre výrobu piva sa používajú najčastejšie slady z jarných odrôd, pretože ozimné slady môžu spôsobovať technologické problémy. Ozimné slady je možné použiť v kombinácii alebo jednotlivo v prípade, kedy je produkcia jarného sladú nedostatočná. Na zisťovanie kvality jačmeňa sa používa kongresná metóda, ktorá porovnáva jednotlivé slady a je založená na infúznom rmutovaní (Basařová *et al.*, 2010).

1.3.3 Chmeľ

Chmeľ (*Humulus lupulus L.*) patrí do čeľade konopovitých (*Cannabaceae*). Stavba chmeľu pozostáva z koreňovej sústavy (základ babka), révy, postranných pazochov a chmeľových hláv. Podľa genetických znakov je chmeľ delený do troch skupín, a to na chmeľ otáčavý, chmeľ japonský a chmeľ opletavý. Pre výrobu piva sa používajú usušené chmeľové hlávky samičích rastlín chmeľu európskeho (Hřivna, 2015). Samčie chmele sú používané na šľachtenie. Chmeľ bol pôvodne pridávaný do pív počas výroby kvôli zlepšeniu arómy, predĺženiu trvanlivosti piva či kvôli ovplyvneniu technológie a kvalitatívnych parametrov piva. Môže byť používaný vo forme hlávkového chmeľu, chmeľových peliet, chmeľových extraktov, isoextraktov či isopeliet (Mezerová, 2017). Najdôležitejšími zložkami sú polyfenoly, silice a predovšetkým živice a ďalšie zlúčeniny, ktoré sa podieľajú na horkosti chmeľu a výrazne ovplyvňujú horkosť produktmi izomerácie α -horkých kyselín (humulon, adhumulon, kohumulon) a β -horké kyseliny (lupulon, kolupulon, andlupulon) (Basařová *et al.*, 2010).

1.3.4 Kvasinky

Kvasinky patria medzi jeden z najdôležitejších ukazateľov piva, pretože určujú priebeh fermentácie a organoleptické vlastnosti (Iserentant, 2003). Ako pivovarské kvasinky používané v pivovarníctve či pri domácom varení piva sa využívajú kultúrne kvasinky rodu *Saccharomyces*, ktoré sa používajú k produkcii vrchne aj spodne kvasených pív. Rozdiel medzi spodnými kvasinkami (*Saccharomyces pastorianus*) a vrchnými kvasinkami (*Saccharomyces cerevisiae*) spočíva v ich flokulačných vlastnostiach, v genetickej informácii, chemickom rozdiely, zložení bunkovej steny, vyššej maximálnej teplote rastu, produkcie senzoricke aktívnych látok a pod. (Kopecká, Matoulková a Němec, 2014). Kvasinky sa získavajú od známych dodávateľov z celého sveta vo forme sušených a tekutých kvasníc. Zdrojom čistých

produkčných kultúr kvasiniek pre české a zahraničné pivovary je Zbierka pivovarských kvasiniek VÚPS, kde základ tvoria kvasinky spodného kvasenia pochádzajúce z existujúcich aj už zaniklých prevažne európskych pivovarských podnikov, ale aj vrchné a divoké kvasinky izolované ako kontaminanty pivovarskej výroby (Matoulková a Šavel, 2007).

1.4 Technológia výroby piva

Existuje množstvo technologických procesov ako uvariť pivo so špecifickou chuťou, arómou, vzhľadom a celkovým charakterom piva (Priest a Stewart, 2006).

Proces výroby piva začína zbavením sladu prachu a nečistôt. Po očistení zrna nasleduje **šrotovanie**, kde pomocou mechanických síl dochádza k desintegrácii sladového zrna s cieľom dokonalého vymletia endospermu za súčasného zachovania celistvosti plúch (Barth, 2013). Pomer jednotlivých frakcií šrotu ovplyvňuje rýchlosť nasledujúcich procesov (rmutovanie, scedzovanie), ktoré neskôr tvoria scedzovaciu vrstvu (Kadlec *et al.*, 2009).

Po zošrotovaní dochádza k **vystieraniu**. Slad, poprípade sladové náhrady sa zmiešajú s určitým objemom vody, kedy dochádza k premiešaniu tuhých častíc s vodou bez tvorby zhlukov (Barth, 2013). Hranica medzi vystieraním a rmutovaním z hľadiska enzymatických reakcií nie je presne špecifikovaná, pretože prvé enzymatické procesy nastávajú už v priebehu vystierania (Kadlec *et al.*, 2009).

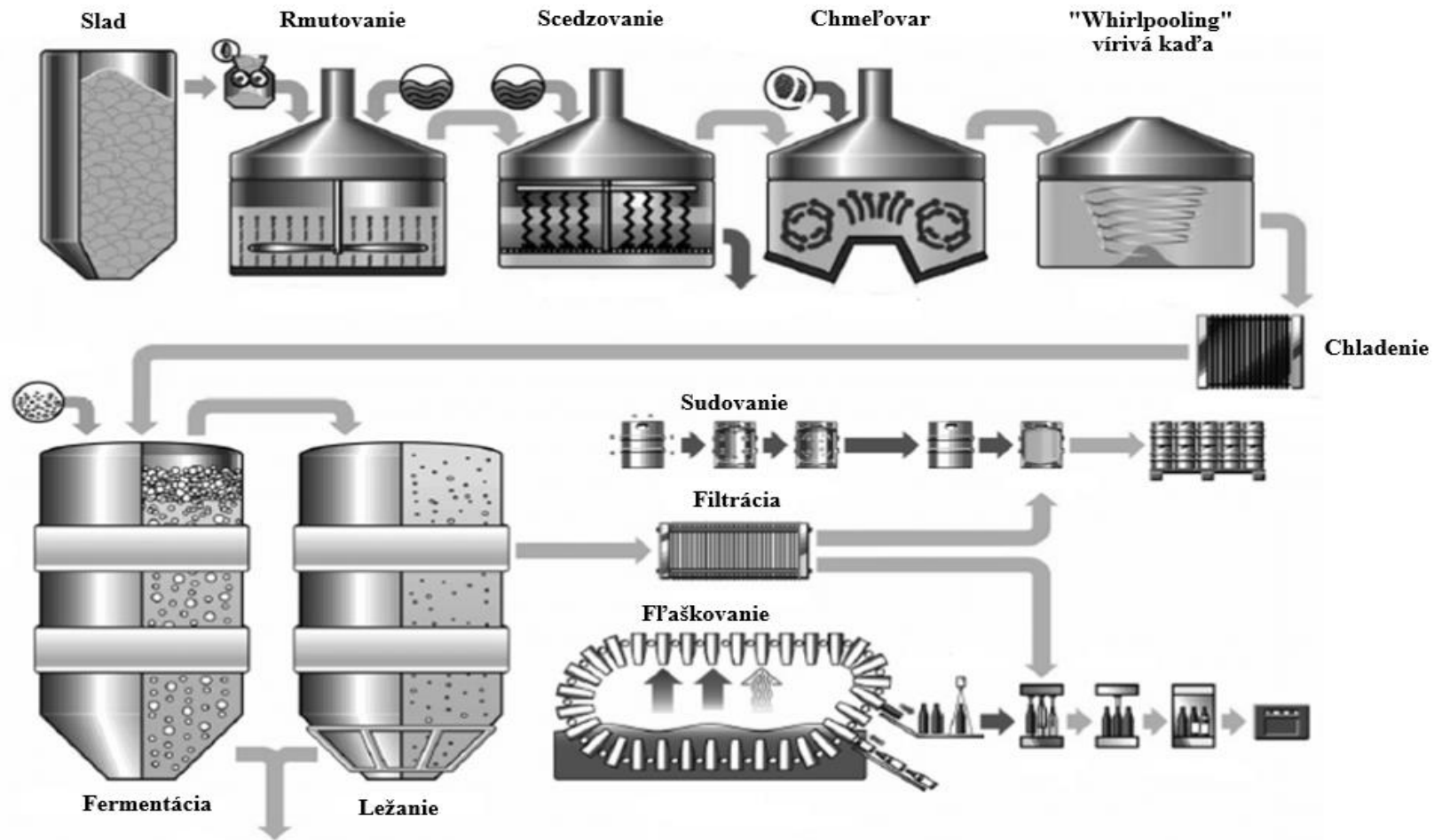
Nasleduje proces **rmutovania**, ktorého cieľom je predovšetkým degradácia škrobu, ktorý sa nachádza v slade, na skvasiteľné cukry (glukóza, maltóza, maltotrióza) a dextríny (nezkvasiteľné) pomocou sladových enzýmov (amylolitické, proteolitické, cytolitické, kyselinotvorné). Boli vyvinuté tri hlavné metódy rmutovania: infúzna, dekokčná a dvojité rmutovanie. Pri infúznom spôsobe rmutovania prechádza celé dielo všetkými technologickými teplotami spolu. Dekokčný spôsob rmutovania pozostáva z postupného zahrievania jednotlivých rmutov (jedno, dvoch alebo troch rmutov). Dvojité rmutovanie sa používa v prípade obilnín ako napríklad kukurica, ryža či pšenica, kde je dôležité predvarenie pred pridaním do hlavného rmutovania (Taylor *et al.*, 2017). Prvá dôležitá teplota je kyselinotvorná (3 až 38 °C), ktorá podporuje rozpustenie látok v extrakte a ich sprístupnenie enzýmom. Následne dochádza k bobtnaniu a mazovateniu škrobu (50 až 57 °C). Pri týchto teplotách nastáva pôsobením enzýmov štiepenie molekuly amylózy a amylopektínu a teda k ztekuteniu škrobu. Ďalšia technologicky významná teplota je 60 až 65 °C, kedy sa v roztoku zvyšuje podiel redukujúcich cukrov. Posledná teplota v procese rmutovania je cukrotvorná (70 až 75 °C).

Pokiaľ sa v roztoku nachádzajú len štiepne produkty škrobu, ktoré už nedávajú farebnú reakciu a s jódovým roztokom, došlo k scukreniu (Basařová *et al.*, 2010; Hřivna, 2015; Barth, 2013).

Ďalším technologickým procesom pri výrobe piva je **scedzovanie**, kde dochádza k oddeleniu sladiny od mláta. Je to dej, kedy sa pomocou pluch zo sladu nachádzajúcich sa v pivovarskom mláte vytvára filtračná vrstva, ktorá napomáha separácii častíc (Basařová *et al.*, 2010). Scedzovanie prebieha v dvoch krokoch. Prvým je oddelenie tzv. predku (roztok extraktu sladu, ktorý sa vytvorí v priebehu rmutovania). Po stečení dochádza k vysladzovaniu mláta. Do mláta je dopúšťaná tzv. vysladzovacia voda, ktorá pojme zvyšky extraktu zachyteného v mláte. Vysladzovacia voda sa pridáva ku sladine zvyčajne dva až trikrát. Do sladiny sa pridáva chmeľ a nasleduje **chmeľovar** (Kadlec *et al.*, 2009).

Chmeľovar prebieha v rozmedzí 90 až 120 min. V priebehu neho dochádza k prevedeniu horkých a aromatických látok z chmeľu do mladiny. Množstvo chmeľu pridávaného do sladiny sa vypočítava podľa obsahu α -horkých kyselín. Chmeľ sa postupne pridáva niekoľkokrát, najčastejšie trikrát v závislosti od štýlu, ktorý chce pivovarník dosiahnuť. Cieľom chmeľovaru je odpariť nadbytočnú vodu a prchavé látky, inaktivovať enzýmy, sterilovať mladinu, inhibovať reziduálnu mikroflóru, vyzrážať dusíkaté látky (lom mladiny). Na konci chmeľovaru dochádza k oddeleniu chmeľového mláta (Basařová *et al.*, 2010).

Ďalším krokom pri výrobe piva je schladenie a prevzdušnenie mladiny a následné zakvasenie kultúrnymi kvasinkami, a to buď spodnými alebo vrchnými pivovarskými kvasinkami. Pri procese **fermentácie** (kvasenia), dochádza k premene skvasiteľných cukrov na oxid uhličitý, etanol a vedľajšie produkty a neúplné skvasenie cukorných látok. Doba kvasenia záleží od typu piva, vitality kvasiniek a pod. a pohybuje sa v rozmedzí okolo jedného týždňa. Po hlavnom kvasení sa pivo prečerpáva do ležiackeho tanku, kde prebieha **dokvášanie a zretie** piva. V priebehu dozrievania sa pivo sýti oxidom uhličitým a číri sa. Pri dozrievaní dochádza k ďalšiemu skvasovaniu cukrov a dozrieva chuť a vôňa piva (Basařová *et al.*, 2010; Olšovská *et al.*, 2017)



Obrázok 4. Schéma výroby piva (prepracované podľa Wunderlich, Zürcher a Back, 2005)

2 BIOGÉNNE AMÍNY

Biogénne amíny sú biologicky aktívne látky s nízkou molekulárnou hmotnosťou vyskytujúce sa vo všetkých organizmoch. Tieto organické neprchavé dusíkaté zlúčeniny sú odvodené od aminokyselín (Simpson *et al.*, 2012). Vznikajú fermentáciou niektorých alkoholických nápojov, rozkladom proteínov či pri rozklade alebo zretí niektorých produktov živočíšneho pôvodu (Campbell–Platt, 2009). Perpetuini *et al.* uvádzajú, že najviac rozšírený BA v pive je agmatín, ktorý spolu s putrescínom môže prispieť k celkovému obsahu amínov v alkoholických nápojoch. Zriedka je možné v týchto produktoch zaznamenať kadaverín, spermidín a spermin (Perpetuini *et al.*, 2019).

Podľa chemickej štruktúry sa biogénne amíny klasifikujú na (Biji *et al.*, 2016):

- **heterocyklické** (tryptamín, histamín),
- **alifatické** (kadaverin, putrescín, spermidín, spermin),
- **aromatické** (tyramín, fenylalanín).

Na základe ich amínovej skupiny sa rozdeľujú na (Erdag, Merhan a Yildiz, 2019):

- **monoamíny** (fenyletylamín, tyramín, metylamín, etylamín, isopentylamín, a ethanolamín),
- **diamíny** (histamín, tryptamín, serotonín, putrescín, kadaverin),
- **polyamíny** (spermin spermidín, agmatín)).

Erdag, Merhan a Yildiz (2019) rozdeľujú tiež biogénne amíny na základe chemickej štruktúry na aromatické a heterolytické (histamín, tyramín, tryptamín, tyramín, fenyletylamín, serotonín), alifatické di –, tri – a polyamíny (putrescín, kadaverin, spermin, spermidín, agmatín) a alifatické volatilné amíny (etylamín, metylamín, isopentylamín, ethanolamín).

2.1 Vznik

Biogénne amíny nesú svoj názov kvôli ich tvorbe zo živých organizmov. Tvorí sa a degradujú počas normálnych metabolických procesov v živých bunkách, a preto sú všadeprítomné u zvierat, rastlín a mikroorganizmov (Halász *et al.*, 1994). Sú to zlúčeniny, v ktorých je jeden, dva alebo tri atómy vodíka amoniaku nahradené alkylovými alebo arylovými skupinami (Shalaby, 1996). Väčšina biogénnych amínov vzniká z voľných aminokyselín pôsobením enzýmov, kde obsahujú ako kofaktor pyridoxalfosfát, ale môžu vznikáť aj amináciou a transamináciou aldehydov a ketónov (Santos, 1996). Dekarboxylácia je chemický dej, pri ktorom dochádza

k odštiepeniu oxidu uhličitého z karboxylovej skupiny aminokyseliny pôsobením enzýmov dekarboxyláz. Odstránenie α -karboxylovej skupiny z aminokyseliny vedie k tvorbe odpovedajúcich biogénnych amínov (Kohajdová, Karovičová a Greif, 2008).

K dekarboxylácii môže dôjsť pomocou dekarboxyláz, ktoré sa nachádzajú v potravinách alebo dekarboxylázami, ktoré produkujú mikroorganizmy (Feddern *et al.*, 2019).

Dôležité faktory pre vznik biogénnych amínov v potravinách je dostupnosť substrátu ako prekursorov voľných aminokyselín, prítomnosť dekarboxyláza pozitívnych mikroorganizmov a podmienky prostredia umožňujúceho bakteriálny rast (napr. skladovanie a fermentácia) a syntézu dekarboxyláz (Feddern *et al.*, 2019).

Medzi ďalšie faktory, ktoré ovplyvňujú tvorbu biogénnych amínov patrí teplota, kyslosť prostredia (pH), aktivita vody (a_w), teplota skladovania a jej dĺžka, použité štartovacie kultúry, prítomnosťou kyslíka, výrobné postupy, kvalita surovín či obsah solí (Čuboň *et al.*, 2019). Vplyvom vysokej teploty či dlhodobým skladovaním reagujú BA s triacylglycerolmi za vzniku amidov mastných kyselín. Vstupujú rovnako ako ďalšie aminozlúčeniny do reakcií neenzymového hnednutia, kde vznikajú primárne reakčné produkty – príslušné iminy (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Najdôležitejšie BA nachádzajúce sa v potravinách sú histamín, tyramín, putrescín, kadaverín a fenylethylamín, ktoré sa tvoria dekarboxyláciou histidínu, tyrozínu, ornitínu, lyzínu a fenylalanínu. Putrescín sa môže tvoriť tiež enzymatickou premenou agmatínu (Alvarez a Moreno-Arribas, 2014).

2.2 Vlastnosti

Biogénne amíny sú prírodné zlúčeniny, ktoré sa môžu produkovať počas normálneho metabolizmu živých buniek. Podieľajú sa na dôležitých biologických funkciách v ľudskom nervovom a kardiovaskulárnom systéme a zohrávajú tiež významnú úlohu v regulácii telesnej teploty a trávenia (Özogul a Özogul, 2019). Niektoré biogénne amíny (BA) sú stavebnými látkami pri biosyntéze fytohormónov zo skupiny auxínov, alkaloidov a ďalších sekundárnych metabolitov rastlín či patria medzi protoalkaloidy rastlín (hordein, gramin). V živočíšnych tkanivách majú funkciu tkaninových hormónov a sú prekurzormi hormónov nadobličiek (Velíšek a Hajšlová, 2009).

V eukaryotických bunkách sú zdrojom dusíka a vytvárajú prekurzory pre syntézu hormónov, alkaloidov, nukleových kyselín, proteínov a pravdepodobne tiež aj v stabilizácii membrán

(Özogul a Özogul, 2019). Niektoré BA majú dôležitú úlohu ako neurotransmitery, zatiaľ čo iné, napríklad putrescín a spermidín, sú potrebné pre kritické biologické funkcie. V prokaryotických bunkách súvisí fyziologická úloha syntézy BA hlavne s obrannými mechanizmami používanými baktériami na odolávanie kyslému prostrediu. Dekarboxylácia zvyšuje prežitie v podmienkach kyslého stresu prostredníctvom spotreby protónov a vylučovaním amínov a CO₂, čo pomáha obnoviť vnútorné pH. Produkcia biogénnych amínov môže tiež ponúkať spôsob získavania energie: elektrolytická aminokyselina či amínový antiport môžu viesť k vzniku protónovej hnacej sily. Táto funkcia môže byť zvlášť dôležitá pre mikroorganizmy, ktoré nemajú dýchací reťazec na vytváranie vysokých výťažkov adenozítrifosfátu (ATP) (Spano *et al.*, 2010).

2.3 Toxikologické účinky biogénnych amínov

Biogénne amíny hrajú tiež dôležitú úlohu ako ukazovatele kvality či prijateľnosti potravín. Z tohto dôvodu je potrebná kontrola ich obsahu v potravinách pre zabezpečenie vysokej kvality a zdravotnej nezávadnosti (Ruiz–Capillas a Herrero, 2019). Predpokladá sa, že približne 1000 mg/l. vyvoláva toxicitu. Z pohľadu správnej výrobnéj praxe sa za prijateľné hodnoty považujú hladiny 5–100 mg/l histamínu, 100–800 mg/l tyramínu, a 30 mg/l fenyletylamínu či celková hodnota biogénnych amínov v rozsahu 100–200 mg/l (Nout, 1994). Nalazek–Rudnicka a Wasik (2017) tvrdia, že hladiny biogénnych amínov do 50 mg/kg v potrave nie sú pre človeka toxické, no nad túto hodnotu môžu spôsobovať vážne zdravotné problémy.

Konzumácia vysokého obsahu biogénnych amínov v potrave a nápojoch, môže spôsobiť intoxikáciu mikroorganizmu, ktorá spôsobuje symptómy podobajúce sa alergii a často sa vyskytujúce u ľudí v strednom veku akými sú bolesť hlavy, návaly tepla, búšenie srdca, zvýšený alebo znížený krvný tlak, tráviace ťažkosti a pod. (Alvarez a Moreno–Arribas, 2014). Najčastejšie sa tieto príznaky prejavujú u ľudí trpiacich tzv. histamínovou intoleranciou (HIT), pri ktorej v dôsledku nepomeru medzi príjmom histamínu a schopnosťou organizmu ho eliminovať, nastáva nadmerná akumulácia histamínu a vznik príznakov spôsobených nedostatočnou či inhibovanou aktivitou enzýmov diamín oxidáza (DAO) a histamín–N–metyltransferáza (HNMT), ktoré v prirodzených podmienkach chránia pred resorpciou histamínu z prijímanej potravy do krvného systému. U pacientov, trpiacich HIT sa doporučuje obmedziť potraviny obsahujúce vysoké množstvá histamínu a obmedziť látky, ktoré môžu priamo spôsobovať alebo stimulovať uvoľňovanie histamínu a inhibovať aktivitu DAO a

HNMT (alkohol, fajčenie a pod.) (Kovacova–Hanuszkova *et al.*, 2015). Zhoršená aktivita DAO môže byť genetického alebo získaného pôvodu, s niekoľkými príčinami, ktoré sú schopné trvalo alebo včas ohroziť expresiu alebo aktivitu DAO (Comas–basté *et al.*, 2020). Na trhu sú dostupné lieky– antihistaminiká, ktoré znižujú či odstraňujú účinky vyvolané histamínom (Kovacova–Hanuszkova *et al.*, 2015). V minulosti bolo uvažované o použití priemyselne spracovaných aminoroxidáz z *Aspergillus niger* na zníženie BA v potravinách, no v skutočných podmienkach výroby potravín nebol tento jav preukázaný (Alvarez a Moreno–Arribas, 2014). Pre pacientov trpiacich HIT sa neodporúča kombinovať alkoholické nápoje a potraviny obsahujúce biogénne amíny (zrejúce syry, ryby), pretože alkohol v organizme blokuje degradáciu histamínu (Jarisch, 2015).

V pive sa koncentrácia biogénnych amínov pohybuje v rozmedzí od 2,8 mg/l do 13 mg/l (Kohajdová a Karovičová, 2005). Tieto hodnoty sa pohybujú v rozmedzí do 20 mg/kg, kedy nespôsobujú výrazné toxikologické účinky pokiaľ je pivo konzumované v primeranej miere. Štúdie tiež preukázali, že prítomnosť vytvoreného alkoholu v pive a biogénnych amínov v ňom sa zdá byť synergická, pretože spotreba veľkého množstva alkoholu, môže znížiť množstvo monoamin oxidáz (MAO), diamin oxidáza DAO, čím dochádza o obmedzení distribúcie v organizme (Stojanović a Kos, 2020; Nalazek–Rudnicka a Wasik, 2017).

2.4 Legislatívne limity biogénnych amínov

Rozsah toxicity biogénnych amínov a ich prípustné množstvo v potravinách je veľmi ťažko stanoviteľné. V dôsledku toho sa vynakladá úsilie pre kontrolu biogénnych amínov v potravinárskych výrobkoch a snaha o prijatie právnych predpisov pre limity biogénnych amínov vo všetkých krajinách (Ruiz–Capillas, 2019).

Do roku 2004 bola v Českej republike platná vyhláška č. 298/1997– Vyhláška ministerstva zdravotníctva, ktorou sa stanovujú chemické požiadavky na zdravotnú nezávadnosť jednotlivých druhov potravín a potravinových surovín, podmienky jeho použitia, ich označovanie na obaloch, požiadavky na čistotu a identitu prídavných látok a potravinových doplnkov a mikrobiologické požiadavky na potravinové doplnky a látky prídavné, ktorá udávala legislatívne limity vybraných biogénnych amínov v syroch, rybách, pive a víne na prípustné množstvo histamínu 20 mg/kg.

Vplyvom vstupu Českej republiky do Európskej únie došlo k zrušeniu a následnému nahradeniu tejto vyhlášky, platnou vyhláškou MZ č. 305/2004 Sb., ktorá stanovovala druhy kontaminujúcich a toxikologicky významných látok a ich prístupné množstvá v potravinách do roku 2012. Táto vyhláška, ale poukazovala už len na prístupné množstvo histamínu v rybách a produktoch rybolovu na 100 mg/kg.

V súčasnosti v Českej republike zostalo v platnosti len nariadenie komisie (ES) č. 2073/2005, zvyšujúce hladiny histamínu v rybách a ich produktoch na 200 mg/kg a limitné hodnoty pre biogénne amíny v pive a víne stanovené právnymi predpismi boli zrušené a neboli znova zavedené.

V USA stanovil Úrad pre kontrolu potravín a liečiv limit histamínu v potravinách na 50 mg/kg. Tieto právne predpisy sú prepracovanejšie ako v EÚ, pretože sa uplatňujú na všetky potravinárske výrobky (Ruiz–Capillas, 2019). EFSA v roku 2011 vykonala kvalitatívne hodnotenie rizika týkajúce sa biogénnych amínov vo fermentovaných potravinách s použitím údajov z vedeckej literatúry, prieskumov, správ, údajov o spotrebe v rámci Európskej únie, kde uviedli koncentrácie, ktoré by mohli ohroziť zdravie spotrebiteľa (EFSA,2011).

2.5 Producenti biogénnych amínov v pive

Pivo predstavuje fermentovaný produkt, kde v dôsledku interakcie alkoholu s detoxikačným systémom príslušných aminooxidáz dochádza k zníženiu účinnosti daných enzýmov. Biogénne amíny sa tvoria predovšetkým v dôsledku dekarboxylázovej aktivity kontaminujúcich mikroorganizmov (Lorenková *et al.*, 2012). Najlepšia teplota na produkciu biogénnych amínov mikroorganizmami je medzi 20 a 37°C, zatiaľ čo pri teplotách pod 5°C alebo nad 40 °C dochádza k ich zníženiu. Medzi ďalší dôležitý faktor ovplyvňujúci aktivitu aminokyselinovej dekarboxylázy patrí pH. Pri zníženom pH sú mikroorganizmy viac indukované, aby tvorili dekarboxylázu ako súčasť svojho ochranného mechanizmu proti kyslosti. Je však známe, že rýchle, ostré a okamžité zníženie pH minimalizuje rast mikroorganizmov pozitívnych na amíny (Ekici *et al.*, 2020). Produkcia BA v potravinách je charakteristická pre niekoľko skupín mikroorganizmov, ktoré sú schopné dekarboxylovať aminokyseliny, ako sú baktérie *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonasspp.*, *Micrococcaceae*, *Enterococci* a kyselina mliečna (Loret, Deloyer a Dandrifosse, 2005).

Z dôvodu nízkych hodnôt pH, obsahu etanolu, CO₂, O₂, nízkeho obsahu cukru je pivo slabý substrát pre kontaminujúcu mikroflóru. Niektoré mikroorganizmy môžu prežívať aj v takýchto podmienkach, ako napríklad *Lactobacillus*, *Pediococcus*. Tieto baktérie vytvárajú nevratné zmeny v pive (gushing, tvorbu biogénnych amínov, kyslá chuť, zákal, turbidita, mykotoxíny a pod.) (Gupta *et al.*, 2016). Štúdie preukázali, že baktérie mliečneho kvasenia sa najčastejšie podieľajú na tvorbe BA, ale úlohu môžu hrať aj enterobaktérie a niektoré kmene *Saccharomyces* (Bokulich a Bamforth, 2013).

Výskumy, ktoré previedli Lorencová *et al.* (2012) dokázali, že niektoré kmene *Lactobacillus brevis* produkovali tyramín (37–3084 mg.l⁻¹) a v menšej miere tiež kadaverin (okolo 10 mg/l). Ďalšie testované mikroorganizmy izolované z piva (*Lactobacillus casei/paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus* sp. a *Tetragenococcus halophilus*) nepreukázali koncentráciu kadaverínu a koncentrácia tyramínu bola preukázaná v malých množstvách len pri *Pediococcus* sp. Naopak najvyššie koncentrácie tyramínu boli po *Lactobacillus brevis* zaznamenané pri *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracase* a *Lactobacillus plantarum*. Na tvorbe biogénnych amínov sa tiež podieľajú LAB akými sú *Lactobacillus frigidus*, *Lactobacillus brevissimilis* a *Lactobacillus brevis* (Kalač a Křížek, 2003).

Vyššie množstvá tyramínu či ďalších BA môžu byť spôsobené pôvodom kmeňa baktérii či abotickým stresom, ktorý môže ovplyvniť expresiu génu. Tento gén je indukovaný vo fáze oneskoreného rastu etanolom a nízkym pH. Ďalším dôležitým producentom sú baktérie rodu *Enterococcus*, ktoré sa považujú za hlavných producentov BA, najčastejšie tyramínu a histamínu. Halász *et al.* (1994) uvádzajú, že baktérie mliečneho kvasenia (LAB) nedisponujú žiadnou lyzín dekarboxylázou, ktorá môže katalyzovať premenu lyzínu na kadaverin, a preto množstvo kadaverínu, ktoré bolo zistené vo výskume Lorencová *et al.*, (2012), je možné pripisovať existencii génov pre arginínovej, lyzínovej a ornitínovej dekarboxylázy.

Experimentálne postupy preukázali, že kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae* var. *uvarum* neprispievajú k nárastu histamínu ani tyramínu (Gustaw a Waško, 2018). Existuje korelácia medzi produkciou tohto vazoaktívneho amínu (tyramín) a prítomnosťou baktérií mliečneho kvasenia (*Pediococcus* spp.) počas fermentácie piva, takže hladiny tyramínu v pive by sa mohli považovať za spoľahlivý ukazovateľ stupňa kontaminácie *Pediococcus* spp. počas fermentácie piva (Loret *et al.*, 2005). Štúdie uvádzajú, že na zníženie stupňa kontaminácie kmeňov kvasiniek *Pediococcus* spp. a tiež divokých kvasiniek sa odporúča použitie kyseliny fosforečnej na obmedzenie tvorby tyramínu v pive.

Roos *et al.* (2018) skúmali postupný rast špecifických druhov baktérii a kvasiniek. Vo svojej štúdiu tvrdia, že manuálne okyslenie mladiny pomocou kyseliny mliečnej skrátilo enterobakteriálnu fázu a tak udržiavalo tvorbu biogénneho amínu enterobaktériami prítomnými v počiatočných fázach fermentácie na minime. V priebehu alchologickej fermentácie došlo k prechodu nesaccharomycetných rodov kvasiniek *Hanseniaspora* a *Kazachstania* na *Saccharomyces cerevisiae* a neskôr na *Saccharomyces kudriavzevii* v dôsledku meniacich sa environmentálnych parametrov. Okrem toho sa objavili niektoré nové fermentačné charakteristiky počas výroby piva Lambic, ako napríklad výskyt malolaktickej fermentácie počas acidifikácie, kde hlavným producentom tvorby LAB bol *Pediococcus damnosus*, spotreba acetoínu druhmi *Dekkera*, súčasné odbúravanie maltooligosacharidov pravdepodobne kvasinkami a výskyt krátkej enterobakteriálnej fázy napriek manuálnemu okysleniu mladiny kyselinou mliečnou. Tento postup sa používa na zvýšenie mikrobiálnej stability sladiny a na kontrolu produkcie biogénnych amínov enterobaktériami. Údaje z tejto štúdie však ukázali, že aj keď sa touto aplikáciou enterobakteriálna fáza skrátila, biogénne amíny sa stále vyrábali počas nočného chladenia mladiny a počiatočných fáz fermentácie, aj keď vo veľmi nízkych koncentráciách, ktoré nemajú výrazný vplyv.

Navyše k celkovému obsahu biogénnych amínov prispeli aj ďalšie mikrobiálne skupiny, ako LAB. Okyslenie mladiny preto úplne nezabráni produkcii biogénneho amínu, hoci prispieva ku kontrolovateľnosti výroby biogénneho amínu a predovšetkým k procesu výroby lambického piva vo všeobecnosti zvýšením mikrobiálnej stability bez toho, aby obmedzoval proces fermentácie a dozrievania (De Roos, Vandamme a De Vuyst, 2018).

Niekoľko štúdií a patentov preukázalo účinnosť aminoridáz izolovaných z laktobacilov a húb na odstránenie biogénnych amínov v pive, víne a potravin živočíšneho pôvodu. Niektoré tiež tvrdia, že je možné dosiahnuť kontrolu produkcie BA pomocou kvasiniek a to napriek ich významu ako štartérov pri fermentácii piva, vína či mliečnych výrobkoch (Bäumlisberger *et al.*, 2015).

2.6 Dekarboxylázová aktivita počas výroby piva

Biogénne amíny vznikajú v pive hlavne počas fermentácie, ale môžu byť tiež produkované mikroorganizmami v jačmeni, slade, mladine a chmeli a rôznych iných faktoroch akými sú napr. starnutie piva, doba kvasenia, kvalita surovín, mikrobiálna kontaminácia počas kvasenia (hygiena), technológia výroby či podmienok skladovania. Tieto podmienky môžu kvali-

tatívne či kvantitatívne ovplyvniť obsah biogénnych amínov v pive. Tyramín, histamín a kadaverín, ktoré vznikajú pôsobením dekarboxyláz sa považujú za ukazovatele mikrobiálnej kontaminácie počas varenia piva (Daniel *et al.*, 2015; Perpetuini *et al.*, 2019). Rovnako sa za najčastejšie vyskytujúci biogénny amín považuje aj fenyletylamín (Tang *et al.*, 2009).

Suroviny

Niektoré z nich sú prítomné v surovinách (histamín, tyramín, kadaverín, agmatín, spermín a spermidín), a preto tieto BA môžu byť považované za „prírodné“ zložky piva (Perpetuini *et al.*, 2019). Putrescín, spermidín, spermín a agmatín sa nachádzajú v jačmeni, slade a kvasinkách než v chmeli. Ostatné biogénne amíny sa nachádzajú v surovinách v nižšej miere. Bolo zistené, že hladiny histamínu, tyramínu, fenyletylamínu, tyramínu a kadaverínu sa zvyšujú pomaly počas päťdenného klíčenia jačmeňa a pri putrescín, spermidín, spermín a agmatín sa dosiahlo zvýšenie o 3 až 5,5 mg /kg/ deň. Podmienky sladovania, odroda jačmeňa, teplota a pod. môžu mať vplyv na konečnú koncentráciu BA v slade. Naopak BA neboli zaznamenané v ryži, ktorá bola použitá ako doplnková obilnina (Kalač a Křížek, 2003). Vo vode ako ďalšej surovine sa biogénne amíny kvôli jej zloženiu nenachádzajú. Polyamín agmatín derivovaný z arginínu je okrem piva prítomný vo vyšších množstvách v alkoholických nápojoch akými sú napríklad víno či saké (Suzzi a Torriani, 2015). Sú to prírodné zložky piva nachádzajúce sa vo vyšších koncentráciách v slade a kvasinkách ako v chmeli (Galgano *et al.*, 2012).

Vystieranie a zaparovanie

Z dôvodu nárastu teploty počas procesu vystierania a zaparovania dochádza vplyvom tepla k aktivácii exopeptidáz a tým k nárastu koncentrácie voľných aminokyselín a neviazaného dusíka, ktorý sú kvasinky schopné metabolizovať. Z toho dôvodu dochádza k vzniku prekurzorov biogénnych amínov, ktoré môžu byť neskôr využité mikroorganizmami so schopnosťou tvorby biogénnych amínov (Halász, Baráth a Holzapfel, 1999).

Rmutovanie a chmeľovar

Biogénne amíny sa môžu tvoriť počas rmutovania a varenia mladiny. Dochádza k tvorbe prekurzorov, rovnako ako pri procese vysterania. Výskumy preukázali, že pri procese rmutovania došlo k poklesu spermínu, spermidínu, putrescínu a agmatínu (Kalač a Křížek, 2003; Romero *et al.*, 2003). Halász, Baráth a Holzapfel (1999), tiež preukázali zníženie histamínu, čo môže mať za následok nárast teploty a slabú termostabilitu zlúčenín. Preto je obmedzenie

mikrobiálnej aktivity počas sladovania, výroby sladiny najlepšou stratégiou na minimalizáciu tvorby biogénnych amínov (Perpetuini *et al.*, 2019).

Fermentácia

Kvasenie patrí medzi jeden z najdôležitejších technologických procesov pri výrobe piva, ktoré ovplyvňujú tvorbu biogénnych amínov počas primárne a sekundárnej fermentácie z dôvodu prítomnosti kvasiniek či iným mikroorganizmov. V zmiešaných kultúrach a „spontánnych“ fermentáciách je veľa z týchto organizmov rozhodujúcim faktorom fermentácie a z toho dôvodu tieto piva často obsahujú vyššie hladiny BA ako iné (Bokulich a Bamforth, 2013). Vyššie hladiny biogénnych amínov môžu byť ovplyvnené aj kmeňom kvasiniek, ktorý je používaný pri výrobe vrchne či spodne kvasených pív. Bolo zistené, že vrchne kvasené piva zaočkované divokými druhmi kvasiniek obsahovali vyššie koncentrácie biogénnych amínov než v prípade spodne kvasených pív (Pradenas *et al.*, 2016).

Priamy vzťah nebol pozorovaný medzi voľnými hladinami tyrozínu v mladine a tyramínu počas fermentácie. Obsah tejto aminokyseliny neovplyvňuje hodnotu tyramínu ako kritického faktoru pri tvorbe tyramínu (Kalač a Křížek, 2003). Navyše počas fermentácie, kontaminácia mladiny baktériami aminokyselín dekarboxylázy, ako napríklad LAB, môže dôjsť k vzniku BA (Perpetuini *et al.*, 2019).

Stabilizácia a skladovanie

BA sa môžu tvoriť počas skladovania piva vo fľaškách, plechovkách či sudoch používaných na priamu konzumáciu. Sekundárne kvasenie vo fľaši spôsobuje nárast BA, resp. tyramínu a histamínu, avšak väčšina štúdií sa zameriavala na piva, pri ktorých prebehlo tepelné ošetrenie (pasterácia). Tieto BA sú tvorené hlavne lactobacilmi, ktoré prežívajú pri nedostatočnej pasterizácii. Značné zvýšenie BA (tyramín, histamín) bolo pozorované pri pivách, ktoré boli po pasterizácii naočkované kmeňmi *Lactobacillus spp.* alebo *Pediococcus spp.* izolované z kmeňov z pokazených pív a uložené pri teplote 28 °C (Kalač a Křížek, 2003).

Rôzne kmene baktérií mliečneho kvasenia môžu produkovať biogénne amíny v rozdielnej miere tvoriť biogénne amíny. Tento fakt, môže vysvetľovať rozdiely medzi koncentráciou tyramínu a histamínu medzi jednotlivými výrobcami piva, ale aj medzi jednotlivými šaržami (Kalač a Křížek, 2003).

2.7 Rozdielnosť obsahu BA pri jednotlivých pivných štýloch

Pivo sa rozdeľuje na dve základné skupiny, a to spodne kvasené pívá a vrchne kvasené. Ďalej sa rozdeľujú podľa toho či fermentácia prebehla spontánnou cestou, kde fermentácia prebehla rôznymi mikroorganizmami (Lambic, Kriek) alebo za pomoci kvasiniek (*Saccharomyces cerevisiae*, *Brettanomyces bruxelensis*) či nealkoholické pívá (Izquierdo–Pulido *et al.*, 1996).

Vysoká koncentrácia BA v týchto pivách súvisí s faktom, že vo všetkých prípadoch dochádza k mliečnej fermentácii, a preto by sa mohla podieľať na tvorbe amínov. Rôzne štúdie tvrdia, že pívá fermentované spodným kvasením vykazujú podobné hladiny amínov ako pívá fermentované vrchnou cestou.

Vysoký obsah BA sa dá očakávať u niektorých pšeničných pív, kde LAB sú dominantnými zložkami mikrobiotov („Weissbier“). Tieto pívá vykazujú vysokú hladinu tyramínu a kadaverínu. Španielske pívá „Penedés“ vykazujú vysoké hladiny tyramínu a pívá „Gueze“ vysoké hladiny kadaverínu a histamínu. Pívá „Kriek“ a pívá kvasené spontánnou cestou vykazujú najvyššie priemerné hodnoty kadaverínu. Je možné sa domnievať, že vysoká koncentrácia BA v „Kriek“ a pivách fermentovaných spontánnou cestou môže byť spôsobená vysokým podielom nesladovej pšenice a nesladového jačmeňa (Izquierdo–Pulido *et al.*, 1996). Naopak pívá „lager“ a „pils“ obsahujú nižšie koncentrácie tyramínu, histamínu a kadaverínu, no napríklad belgické pívá vykazujú obsah zmienených BA vo vyššej miere. Pri nemeckých pivách boli zaznamenané biogénne amíny ako tyramín a kadaverín (Perpetuini *et al.*, 2019). Pri jednotlivých pivách neboli pozorované vysoké rozdiely v hladinách putrescínu (Izquierdo–Pulido *et al.*, 1996, Perpetuini *et al.*, 2019)

Z toho vyplýva, že rôzne pivné štýly môžu obsahovať rozdielne koncentrácie biogénnych amínov. Tento fakt, môže byť spôsobený nielen technológiou výroby či faktormi (pH, tvrdosť vody a pod.), ale aj prevedením nesprávnej hygienickej praxe počas varenia a celkovej hygieny v pivovare (Perpetuini *et al.*, 2019). Bolo dokázané, že obsah alkoholu nemá vplyv na vznik BA, pretože nealkoholické pívá nemali podstatne nižšie množstvo biogénnych amínov ako ostatné pívá (Buiatti *et al.*, 1995). Rovnako bolo dokázané, že substitúcia sladu inými cereáliami ako je ryža či jačmeň spôsobujú nižšie koncentrácie BA.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 CIEĽ PRÁCE

Cieľom teoretickej časti bolo opísať suroviny a technologický postup výroby piva. Následne charakterizovať vznik, vlastnosti a mikroorganizmy podieľajúce sa na tvorbe dekarboxylázovej aktivity a zamerať sa na vznik biogénnych amínov v surovinách a v závislosti na priebehu technologického procesu.

V praktickej časti bolo cieľom porovnať vzorky odobrané zo surovín a z jednotlivých stupňov výroby a sledovať vznik dekarboxylázovej aktivity pri jednotlivých štádiách piva vplyvom rozdielnych surovín, technologického postupu a použitia mikroorganizmov. Analýza biogénnych amínov bola meraná pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie. Získané výsledky boli spracované a vyhodnotené.

4 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

4.1 Použité vzorky

Vzorky piva použité v práci boli dodané pivovarom s obchodným názvom 1. selský pivovár so sídlom v Kroměříži. Na rozbor bolo použitých 10 druhov piva, z čoho 6 boli pivá svetlé, 2 polotmavé a 2 tmavé. Pri každom bolo odobraných 12 vzoriek zo surovín (slad, chmeľ) a počas celého technologického procesu (sladina, mladina, prekvaseného piva po hlavnom kvasení, v priebehu dokvášania a zretia, po dokvášaní a zretí). Počas celého experimentu boli vzorky uchované pri teplote 8 ± 2 °C.

Tabuľka 4. Základný popis skúmaných pív.

Označenie vzorky	Začlenenie podľa EPM	Stupňovitosť
1	svetlé	11°
2	svetlé	11°
3	svetlé	11°
4	svetlé	11°
5	svetlé	12°
6	svetlé	12°
7	polotmavé	12°
8	polotmavé	12°
9	tmavé	11°
10	tmavé	11°

Tabuľka 5. Podrobný popis skúmaných pív.

Označenie piva	Dátum varenia	Použitý slad	Použitý chmeľ	Spôsob varenia	Typ kvasenia	Dĺžka zretia	Počet dní v momente odberu
1	06.05.2015	plzeňský viedeňský	žatecký červeňák žatecký premiant				
2	02.06.2015	plzeňský viedeňský	žatecký červeňák žatecký premiant				
3	26.01.2015	plzeňský (95%) mníchovský (5%)	žatecký červeňák (90%) žatecký premiant (8%) chmelový extrakt (2%)	infúzia	spodné	21 dní	28 dní
4	05.05.2015	plzeňský (95%) mníchovský (5%)	žatecký červeňák (90%) žatecký premiant (8%) chmelový extrakt (2%)	infúzia	spodné	21 dní	28 dní
5	07.05.2015	plzeňský mníchovský viedeňský	žatecký červeňák žatecký premiant			25 dní	
6	18.06.2015	plzeňský mníchovský viedeňský	žatecký červeňák žatecký premiant			25 dní	
7	05.02.2015	plzeňský (83%) mníchovský (4%) karamelový (13%)	žatecký červeňák (79%) žatecký premiant (20%) chmelový extrakt (1%)	dekokcia	spodné	25 dní	33 dní
8	06.05.2015	plzeňský (83%) mníchovský (4%) karamelový (13%)	žatecký červeňák (79%) žatecký premiant (20%) chmelový extrakt (1%)	dekokcia	spodné	25 dní	33 dní
9	27.01.2015	plzeňský (60%) mníchovský/karamelový(15%) viedeňský (25%)	žatecký červeňák (60 %) žatecký premiant (18 %)	dekokcia	spodné	21 dní	28 dní
10	02.02.2015	plzeňský (60%) mníchovský/karamelový (15%) viedeňský (25%)	žatecký červeňák (60 %) žatecký premiant (18 %)	dekokcia	spodné	21 dní	28 dní

4.2 Postup analýzy biogénnych amínov

Na úpravu zozbieraných vzoriek bolo použité vybavenie a laboratóriá Ústavu inžinierstva ochrany životného prostredia / technológie potravín Univerzity Tomáše Bati Fakulty technologickej so sídlom v Zlíne.

Zo vzorky piva bolo odobraných 5 ml a obsah bol zriedený s 1,2 M kyselinou chloristou (Sigma–Aldrich, Missouri, USA) v pomere 1:1 a obsah dôkladne premiešaný v eppendorf skúmavke. Vzorky boli uložené do chladničky pri teplote do 5 °C a pripravené na ďalšie spracovanie.

Derivatizácia

Biogénne amíny nejde priamo detekovať v UV/VIS oblasti a ani fluorometricky, preto je potrebné vzorky pred detekcou derivatizovať. Derivatizácia biogénnych amínov v diplomovej práci bola prevedená modifikáciou metódy podľa Smělá *et al.*, 2004 a Dadáková *et al.*, 2009.

Zriedené vzorky boli odobrané z chladničky a ponechané krátky čas pri izbovej teplote. Do derivatizačnej nádoby (16 ml) sa pomocou automatickej pipety odobral 1 ml zriedeného vzorku. Prevádzalo sa 5 paralelných stanovení z dôvodu presnosti výsledku. Následne bolo pridaných k 1 ml vzorky pomocou ručného dávkovača 100 µl vnútorného štandardu (1,7–diaminoheptán $c = 500 \text{ mg/l}$ (Sigma–Aldrich, Missouri, USA) v kyseline chloristej HClO_4 ($c = 0,4 \text{ mol/l}$), 1,5 ml karbonátového pufru (42,001g NaHCO_3 $c = 0,5 \text{ mol/l}$; Merck, Damstadt, Nemecko), v 1000 ml dest.vody; 26,498 mg Na_2CO_3 (Merck, Damstadt, Nemecko; $c = 0,5 \text{ mol/l}$ v 500 ml dest. vody), ktorý bolo potrebné pred každou derivatizáciou nanovo pripraviť a upraviť na pH metri (EUTECH INSTRUMENTS pH 510 – Thermofisher, Waltham, Massachusetts, USA), na $\text{pH} = 11,1\text{--}11,2$ pomocou uhličitanu draselného K_2CO_3 (Merck, Damstadt, Nemecko). Ďalej bolo do derivatizačnej nádoby pridaných 1,6 g čerstvo pripraveného dansylchloridu s $c = 5\text{g/l}$ (Sigma–Aldrich, Missouri, USA) ako derivatizačné činidlo, ktoré bolo rozpustené v 320 ml $\geq 99,8\%$ acetónu pre HPLC (Sigma–Aldrich, Missouri, USA), pretože vo vode ho nemožno rozpustiť. Uzavreté nádoby boli trepané 20 hodín a z dôvodu fotolability dansylchloridu uložené počas celej doby v tme. Po uplynutí času bolo ku vzorkám pomocou ručného dávkovača pridaných 200 µl roztoku prolinu v $c = 0,1\text{g}/100 \text{ ml}$ dest.vody (Merck, Damstadt, Nemecko), kvôli neutralizácii prebytočného derivatizačného činidla (Stroka *et al.*, 2014). Následne bola každá vzorka uzavretá rovnakým

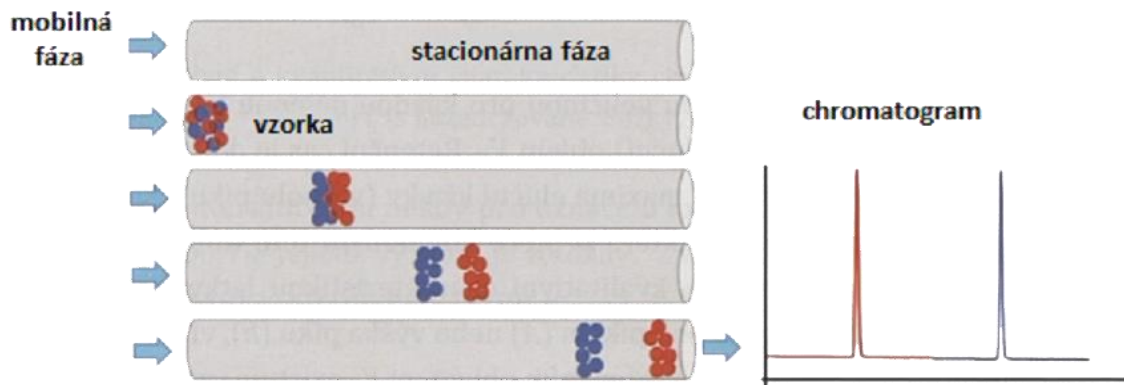
uzáverom a ponechaná hodinu na trepačke v tme. Potom nasledovala extrakcia prídavkom 3 ml heptánu CHROMASOLV pre HPLC $\geq 99\%$ (Sigma–Aldrich, Missouri, USA). Vzorky boli znova dôkladne uzavreté a pomocou mechanických pohybov (ručné pretrepávanie) premiešavané po dobu 5 minút. Po skončení bol pomocou automatickej pipety odpipetovaný 1 ml extrahovanej frakcie – heptánovej vrstvy do vialiek.

Ich obsah bol odparený pri teplote 65 °C dosucha pod prúdom dusíka a suchý odparok bol zriedený 1,5 ml acetonitrilu pre HPLC $\geq 99,9\%$ (Sigma–Aldrich, Missouri, USA), ktorý bol vybraný ako vhodné elučné činidlo z dôvodu lepšieho oddelenia analytov a stability všetkých biogénnych amínov. Túto funkciu je možné pripísať vysokej pevnosti rozpúšťadla a nízkej viskozite (Han *et al.*, 2019). Po naplnení boli vialky zmrazené na –18 °C a uskladnené do doby chromatografickej analýzy.

4.3 Chromatografické stanovenie biogénnych amínov

Chromatografiu je možné všeobecne definovať ako fyzikálne–chemickú separačnú metódu, ktorá je založená na rozdielnej distribúcii delených látok v zmesi medzi dve rôzne nemiesiteľné fázy: stacionárnu (nepohyblivú) a mobilnú (pohyblivú). Stacionárna fáza je tuhá látka alebo kvapalina, ukotvená na tuhom nosiči a umiestnená v chromatografickej kolóne vo forme sorbentu, zatiaľ čo mobilná fáza je výhradne tvorená tekutinou a preteká týmto sorbentom (chromatografické lôžko) (Nováková *et al.*, 2013). Pri systéme vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografii je mobilná fáza privádzaná do systému pomocou čerpadla za vysokého tlaku. Na fázovom rozhraní medzi SF a MF dochádza k opakovanému ustáleniu rovnováhy delených látok medzi mobilnú a stacionárnu fázu. Distribúciu zložiek medzi dve fázy je možné popísať tzv. distribučnou konštantou (Nováková *et al.*, 2013).

V práci bola na identifikáciu biogénnych amínov v pive vybraná vysokoúčinnná kvapalinová chromatografia (HPLC), ktorá využíva stacionárne fázy pozostávajúce z malých častíc, čím sa dosahuje účinnejšie oddelenie ako v konvenčnej kvapalinovej chromatografii (Moreno–Arribas *et al.*, 2003). Pri meraní boli použité chromatografické systémy s reveznými fázami. Pri tejto metóde má stacionárna fáza nepolárny charakter a mobilná fáza polárny. Zvyčajne je mobilná fáza tvorená vodou a organickou zložkou (metanol, acetonitril), pretože samotná voda má nízku elučnú silu. Stacionárna fáza má nepolárny charakter, kedy sa najčastejšie jedná o naviazanie uhlíkatého reťazca na povrchu nosiča (oktadecyl C18 alebo oktyl C8).

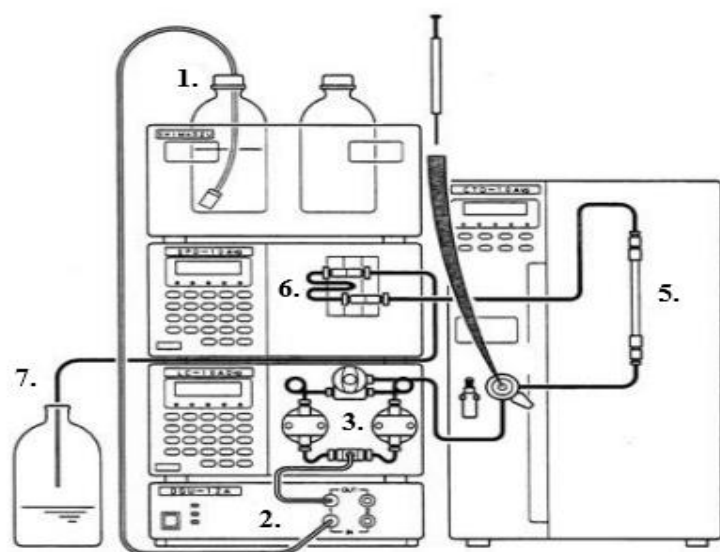


Obrázok 5. Separácia zmesi dvoch látok v chromatografickom systéme (prepracované z Nováková *et al.*, 2013).

Vlastné chromatografické stanovenie

Bezprostredne pred analýzou HPLC boli zderivatizované vzorky spracovávané v práci pre-filtrované cez striekačkový filter. Nasledovala separácia prevedená gradientovou elúciou (voda/acetonitril) na kolóne C18 pri teplote 30 °C. Prietok kolónou bol nastavený na 0,453 ml/min. Chromatografický systém bol tvorený odplyňovacou jednotkou (degasérom), binárnou pumpou, autosamplérom, termostatom kolón a UV/VIS detektor. Detekcia prebiehala pri vlnovej dĺžke 254 nm. Vzniknuté chromatogramy boli zaznamenané vo vyhodnocovacom systéme (PC) a ďalej spracované softwarom (Dadáková *et al.*, 2009).

Bloková schéma HPLC



Obrázok 6. Bloková schéma HPLC (prepracované podľa Komprda, 2007).

5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe stanovených cieľov práce a použitých metodických postupov, bolo analyzovaných 100 vzoriek v 10 druhoch piva (zo surovín a v priebehu jednotlivých technologických fáz). Každá vzorka bola stanovená v piatich paralelných stanoveniach a teda v prepočte bolo celkovo analyzovaných 615 vzoriek. Výsledné vzorky boli štatisticky a graficky spracované a rozdelené do dvoch skupín: a) na obsah biogénnych amínov v surovinách, b) v jednotlivých technologických fázach. Výsledné koncentrácie biogénnych amínov v skúmaných vzorkách piva sú popísané v nasledujúcich kapitolách.

5.1 Obsah biogénnych amínov v surovinách

Meranie koncentrácie siedmich biogénnych amínov (fenyletylamín, putrescín, kadaverín, histamín, tyramín, spermidín, spermin) v surovinách bolo vykonané v slade (plzeňský, mníchovský, viedeňský, karamelový), chmeli (žatecký červeňák, žatecký premiant, chmeľový extrakt) a kvasniciach. V každom pive bol detekovaný obsah jednotlivých biogénnych amínov. Výsledky koncentrácie BA v jednotlivých surovinách boli spísané do tabuliek podľa druhu biogénneho amínu a následne bolo poukázané na významné hodnoty, ktoré boli porovnávané s vedeckou literatúrou a výskumami zaoberajúcimi sa rovnakou problematikou. Na základe získaných informácií z literatúry bola tiež stanovená hypotéza, či existuje rozdiel v obsahu biogénnych amínov medzi jednotlivými sladmi. Následne bola táto úvaha štatisticky vyhodnotená metódou ANOVA a post-hoc Tukey HSD testom a výsledky okomentované.

Obsah fenyletylamínu

Obsah fenyletylamínu (PHE) bol zaznamenaný vo všetkých skúmaných vzorkách v konkrétnych surovinách. Koncentrácie fenyletylamínu sú uvedené v tabuľke 4., v ktorej sú znázornené súhrnné hodnoty vo všetkých surovinách. Najvyššia koncentrácia fenyletylamínu pri porovnaní jednotlivých sladov bola zaznamenaná vo viedeňskom slade vo vzorke piva č.5 a to v koncentrácii $43,7 \pm 1,2$ mg/l. Izquierdo – Pulido *et al.* (1994), uvádzajú obsah fenyletylamínu v maximálnej koncentrácii 4,5 mg/kg. Táto hodnota sa zhoduje s hodnotami vzorky č.9 v karamelovom a vo vzorke č.2 vo viedenskom slade. Zvyšné hodnoty boli výrazne vyššie. Naopak Romero *et al.* (2003), vo svojich vzorkách fenyletylamín nenašli. Galarce *et al.* (2016) zistili obsah fenyletylamínu v slade v koncentrácii 214,56 mg/kg. Na základe zistených výsledkov z výskumov a hodnôt nameraných v našej práci sa môžeme

domnievať, že slady použité pri výrobe týchto pív majú nižšiu schopnosť tvoriť biogénne amíny a tak isto kombinácia použitých sladov v jednotlivých pivách sa používa na výrobu spodne kvasených pív, než vrchne ako je to v prípade výskumu Galarce *et al.* (2016).

Najvyšší obsah fenyletylamínu bol pozorovaný v žateckom chmele premiant v pive č.4 a to v koncentrácii $47,7 \pm 6,5$ mg/l. Pri porovnaní medzi chmeľmi bola najnižšia hodnota detekovaná pri žateckom chmeli premiant v pive č. 1 v koncentrácii $3,7 \pm 1,2$ mg/l. Izquierdo – Pulido *et al.*, (1994) namerali vo svojom výskume hodnotu fenyletylamínu v chmeli max 20 mg/kg. Koncentrácia tohto biogénneho amínu v práci bola dvakrát vyššia ako výsledok, ktorý uvádzajú v práci Izquierdo–Pulido a kolektív. Táto skutočnosť mohla byť spôsobená rozdielnym typom chmeľu, či jeho množstvom použitom pri výrobe piva. Naopak Galarce *et al.* (2016) namerali obsah fenyletylamínu v rozmedzí 150 – 170 mg/l. Táto hodnota je výrazne vyššia než hodnoty fenyletylamínu v chmeli namerané v tejto štúdi. Vysoký nárast koncentrácie fenyletylamínu v práci Galarce *et al.*, je možné prisudzovať štýlu piva, pri ktorom boli využité aromatickejšie chmele používané pre piva kvasené vrchnou cestou a teda je možné usudzovať, že nižšie hodnoty namerané v našej práci sú spôsobené typom chmeľu, ktorý je využívaný na výrobu spodne kvasených pív.

Galarce *et al.* (2016) uvádzajú koncentráciu fenyletylamínu v kvasinkách ako nedetegovateľnú. Toto tvrdenie sa nezhoduje s nameranými hodnotami našej práce, keďže obsah fenyletylamínu v kvasinkách vyšiel v rozmedzí 1,4 – 28,2 mg/l.

Tabuľka 6. Koncentrácia fenyletylamínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Slad mnichovský	NA	NA	$6,4 \pm 0,1$	$27,0 \pm 2,6$	$10,3 \pm 5,0$	$20,7 \pm 2,9$	$25,3 \pm 2,1$	$0,1 \pm 0,1$	$9,4 \pm 4,3$	$14,8 \pm 3,1$
Slad viedeňský	$6,1 \pm 1,0$	$2,1 \pm 2,0$	NA	NA	$43,7 \pm 1,2$	$14,3 \pm 1,7$	NA	NA	$21,4 \pm 2,0$	$12,6 \pm 4,1$
Slad karamelový	NA	NA	NA	NA	NA	NA	$16,3 \pm 2,5$	$13,4 \pm 2,4$	$4,8 \pm 3,0$	$6,4 \pm 1,2$
Slad pžeňský	$10,7 \pm 1,7$	$17,3 \pm 6,4$	$7,7 \pm 0,4$	$12,8 \pm 6,2$	$30,5 \pm 2,3$	$35,8 \pm 2,4$	$41,8 \pm 0,7$	$35,0 \pm 1,1$	$16,8 \pm 0,5$	$7,3 \pm 0,5$
Chmel žatecký červeňák	$21,3 \pm 1,1$	$26,6 \pm 4,1$	$11,6 \pm 1,6$	$20,9 \pm 3,3$	$27,4 \pm 2,4$	$5,7 \pm 0,8$	$29,9 \pm 3,8$	$34,2 \pm 1,5$	$6,8 \pm 1,8$	$10,6 \pm 2,4$
Chmel žatecký premiant	$3,7 \pm 1,2$	$24,5 \pm 13,9$	$7,1 \pm 0,6$	$47,7 \pm 6,5$	$31,5 \pm 1,8$	$34,1 \pm 2,7$	$21,7 \pm 2,7$	$22,9 \pm 4,9$	$18,9 \pm 3,0$	$18,4 \pm 7,2$
Chmelový extrakt	NA	NA	NA	$31,7 \pm 4,2$	NA	NA	$36,3 \pm 1,6$	$26,2 \pm 2,4$	NA	NA
Kvasnice	NA	$18,7 \pm 3,2$	$5,1 \pm 1,5$	$10,5 \pm 4,9$	$11,0 \pm 0,6$	$26,1 \pm 2,2$	$2,6 \pm 1,7$	$28,2 \pm 5,7$	$1,4 \pm 0,6$	$5,2 \pm 2,5$

Legenda: NA– neanalyzované vzorky.

Obsah putrescínu

Obsah putrescínu (PUT) bol detegovaný vo všetkých skúmaných vzorkách v konkrétnych surovinách. Obsah putrescínu je uvedený v tabuľke 5., v ktorej sú znázornené súhrnné hodnoty vo všetkých surovinách. Koncentrácia putrescínu sa v sladoch pohybovala v rozmedzí od 6,1 mg/l do 122,6 mg/l. Izquierdo–Pulidoe *et al.*, (1994) namerali koncentráciu putrescínu v slade v rozmedzí 16,7 mg/l – 49,2 mg/l. Tento rozsah hodnôt spadá do rozsahu koncentrácie, ktoré boli namerané v diplomovej práci v mníchovskom slade vo vzorkách č. 5,8,10 vo viedenskom slade vo vzorkách č. 1, vo vzorke č. 7 v karamelovom slade a v plzeňskom slade vo vzorke č. 8. Výsledky obsahu putrescínu v slade používanom na vrchne kvasené piva v práci Galarce *et al.* (2016) sa pohybovali v rozmedzí 70,66 mg/kg – 90,62 mg/kg. Tieto hodnoty sú zhodné so vzorkami č. 3,6,7,9 pri mníchovskom slade, vo vzorke č. 6 pri viedenskom slade, vo vzorke č. 6 v karamelovom slade a v plzeňskom slade vo vzorkách č. 1,3,6. Halász, Baráth a Holzapfel (1999) zase skúmali obsah putrescínu v plzeňskom a mníchovskom slade a jeho výsledné koncentrácie v plzeňskom slade sa pohybovali v rozsahu 7,63 mg/l – 23,04 mg/l a v mníchovskom v koncentracii 14,69 mg/l. Hodnoty namerané v plzeňskom slade (47,2 mg/l – 110,6 mg/l) a v mníchovskom slade (13,4 mg/l – 122,6 mg/l) v diplomovej práci sa markante odlišujú od výsledkov nameraných Halász, Baráth a Holzapfel. Táto odlišnosť môže byť spôsobená pestovaním jačmeňa na pôdach s nízkym obsahom draslíku či sodíku, alebo vysokým obsahom amoniaku, čo spôsobuje nárast koncentrácie putrescínu v slade (Izquierdo – Pulidoe *et al.*, 1994). Naopak vysoké hodnoty namerané v Galarce *et al.* (2016) sú značne bližšie hodnotám nameraných v tejto štúdii. Z toho je možné usúdiť, že na prípravu pív používaných Galarce *et al.*, (2016) a pív meraných v práci bol použitý veľmi podobný pomer sladov.

Hodnota putrescínu v chmeli sa pri tomto výskume pohybovala v rozsahu 5,1 mg/l až 90,4 mg/l. Galarce *et al.* (2016) namerali obsah koncentrácie PUT v chmeli 17,58 mg/kg – 26,26 mg/kg, naopak Izquierdo–Pulidoe *et al.* (1994) namerali putrescín v maximálnom množstve 20 mg/kg. Koncentrácia putrescínu v diplomovej práci sa zhoduje s hodnotami, ktoré boli namerané zmieňovanými autormi v žateckom chmeli červeňáku vo vzorkách 1,2,3,6,9,10. Rovnako sa zhodujú vzorky č. 1,3,7 v žateckom chmeli premiant a vzorka č. 8 v chmeľovom extrakte. Vzorky č. 4,5,7,8 v žateckom chmeli červeňáku a vo vzorkách č. 2,4,5,6,8,9,10 v žateckom chmeli premiant a vo vzorke č. 4 v chmeľovom extrakte vykazovali výrazný nárast putrescínu, ktorý nekoreluje s hodnotami spomínaných autorov.

Koncentrácia putrescínu v kvasinkách vyšla v tejto práci 39,2 mg/l–100,8 mg/l. Do tohto rozsahu nespádajú koncentrácie PUT (250 mg/kg, 550 mg/kg), ktoré boli namerané Halász, Baráth a Holzapfel (1999) a hodnoty Kalač, Hlavatá a Křížek (1997), ktoré sa pohybovali v nižších koncentráciách (2,14–69,30 mg/kg).

Tabuľka 7. Koncentrácia putrescínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Slad mnichovský	NA	NA	89,4 ± 6,7	122,6 ± 5,7	45,9 ± 2,6	91,9 ± 2,0	74,9 ± 0,1	13,4 ± 0,4	87,2 ± 6,3	47,8 ± 6,7
Slad viedeňský	47,1 ± 6,4	103,6 ± 5,8	NA	NA	103,7 ± 0,2	75,8 ± 6,8	NA	NA	117,1 ± 6,8	92,3 ± 7,5
Slad karamelový	NA	NA	NA	NA	NA	NA	24,9 ± 3,3	6,1 ± 0,4	14,2 ± 1,3	10,9 ± 0,6
Slad plzeňský	72,2 ± 1,9	94,0 ± 1,5	55,6 ± 2,1	110,6 ± 6,8	96,4 ± 7,6	82,1 ± 4,1	95,9 ± 5,5	47,2 ± 2,0	51,2 ± 5,3	67,4 ± 0,5
Chmel žatecký červeňák	20,9 ± 6,2	22,4 ± 7,2	17,5 ± 1,8	51,4 ± 1,6	59,9 ± 0,6	15,0 ± 0,8	68,2 ± 2,3	48,3 ± 5,3	14,9 ± 3,2	17,9 ± 1,7
Chmel žatecký premiant	25,0 ± 2,0	59,7 ± 1,5	28,1 ± 4,0	85,8 ± 6,1	40,4 ± 5,3	90,4 ± 4,5	21,2 ± 5,2	38,6 ± 2,1	35,8 ± 2,9	89,8 ± 0,7
Chmelový extrakt	NA	NA	NA	63,8 ± 2,9	NA	NA	23,4 ± 3,5	5,1 ± 4,5	NA	NA
Kvasnice	NA	74,3 ± 2,7	49,8 ± 2,3	100,8 ± 3,3	44,5 ± 3,4	92,9 ± 5,4	52,6 ± 4,9	66,3 ± 6,1	39,2 ± 0,5	40,4 ± 6,3

Legenda: NA – neanalyzované vzorky.

Obsah kadaverínu

Koncentrácia obsahu kadaverínu (CAD) bola zaznamenaná vo všetkých skúmaných vzorkách v jednotlivých surovinách. Obsah kadaverínu je uvedený v tabuľke 6., v ktorej sú znázornené súhrnné hodnoty vo všetkých surovinách. Koncentrácia kadaverínu v slade bola v porovnaní medzi sladmi navzájom v rozmedzí 0,4–25,6 mg/l. namerali v slade hodnoty 6,4 mg/kg a 8,43 mg/kg. Tieto hodnoty sú blízke hodnotám nameraných vo vzorke č.6,9 vo viedeňskom a vo vzorke č.8,9 v plzeňskom slade. Halász, Baráth a Holzapfel (1999) zistili obsah kadaverínu v plzeňskom slade v rozsahu 0,5–1,6 mg/l. Všetky hodnoty plzeňského sladu u Galarce *et al.* (2016) sú výrazne vyššie. Naopak obsah kadaverínu, ktorý uvádzajú v mníchovskom slade (1,76 mg/l) sa zhoduje so vzorkou č. 8. Výskum Kalača, Hlavatej a Křížka (1997) udávajú hodnoty kadaverínu v slade 5,18 mg/kg, 9,39 mg/kg a 24,2 mg/kg čo sú hodnoty zhodné vo vzorke č.3,4,5,6 v mníchovskom slade, č. 1,6,9 vo viedeňskom slade a blízke hodnoty č. 3,4 v plzeňskom slade.

Celkový obsah kadaverínu v chmeli bol 1,8–42,0 mg/l. Kalač Hlavatá a Křížek (1997) udávajú koncentráciu v chmeli od 0,66–7,81 mg/kg, Romero *et al.*, (2013) v rozmedzí 3,13–14,89 mg/l. Tieto hodnoty sú zhodné s hodnotami väčšiny vzoriek, ktoré boli namerané

v tejto práci. Rovnako Kalač a Křížek (2003), tvrdia, že koncentrácie kadaverínu v chmeli sú veľmi nízke, čo sa v práci vo väčšine vzoriek potvrdilo.

Obsah kadaverínu v kvasinkách bol 2,7–427,8 mg/l. Vo výskume Kalača Hlavatej a Křížka (1997) namerali koncentráciu CAD v rozmedzí 12,5–38,4 mg/kg a Halász, Baráth a Holzapfel (1999) koncentráciu 13,3–28 mg/kg. Tieto hodnoty sa zhodujú so vzorkami č. 2,3,4,8. Vysoké koncentrácie biogénnych amínov v kvasinkách a teda aj kadaverínu namerané v tejto práci sa môžu použiť iba ako aproximácia, z dôvodu rôzneho počtu buniek, vitality kvasiniek, či ich druhu (Kalač, Hlavatá a Křížek (1997).

Tabuľka 8. Koncentrácia kadaverínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Slad mnichovský	NA	NA	4,8 ± 1,6	25,6 ± 2,3	4,9 ± 1,0	23,6 ± 3,9	12,0 ± 0,8	1,7 ± 0,1	3,1 ± 1,2	2,9 ± 1,1
Slad viedeňský	5,3 ± 0,9	3,7 ± 0,5	NA	NA	11,1 ± 0,5	9,3 ± 2,7	NA	NA	5,0 ± 2,1	2,8 ± 0,9
Slad karamelový	NA	NA	NA	NA	NA	NA	21,8 ± 1,6	1,3 ± 0,5	2,6 ± 0,8	0,4 ± 0,2
Slad pžeňský	14,0 ± 1,2	17,0 ± 2,1	4,4 ± 0,5	4,4 ± 0,3	11,2 ± 1,6	14,3 ± 6,2	16,0 ± 4,3	7,0 ± 0,8	6,3 ± 0,9	3,5 ± 0,2
Chmel žatecký červeňák	6,3 ± 4,0	4,4 ± 1,2	3,6 ± 0,4	13,7 ± 3,9	4,4 ± 0,9	3,0 ± 0,7	17,4 ± 2,7	30,9 ± 4,2	3,4 ± 2,1	1,8 ± 0,8
Chmel žatecký premiant	3,2 ± 0,9	4,2 ± 0,7	2,4 ± 0,6	21,7 ± 4,3	8,1 ± 2,4	42,0 ± 4,7	7,6 ± 1,2	6,9 ± 1,6	2,1 ± 0,5	20,2 ± 2,3
Chmelový extrakt	NA	NA	NA	16,6 ± 1,8	NA	NA	15,2 ± 2,5	3,0 ± 2,1	NA	NA
Kvasnice	NA	38,2 ± 3,5	27,3 ± 1,1	108,2 ± 4,6	18,2 ± 1,5	66,8 ± 6,3	427,8 ± 4,3	15,2 ± 0,8	2,7 ± 0,3	3,1 ± 0,7

Legenda: NA– neanalyzované vzorky

Obsah histamínu

Koncentrácia histamínu bola detegovaná vo všetkých nameraných vzorkách surovín v pive a sú uvedené v tabuľke 7. Obsah tohoto biogénneho amínu v slade sa pohyboval v rozmedzí 0,8–24,6 mg/l. Tieto hodnoty sa zhodujú s výsledkami nameranými Kalača Hlavatej a Křížka (1997) v rozsahu 6,75–17,3 mg/kg, Izquierdo–Pulido *et al.*, (1996) v maximálnom rozmedzí 4,5 mg/kg a Romero *et al.* (2013) 3,18–14,17 mg/l. Tieto hodnoty sú veľmi podobné ako všetky namerané hodnoty a sú zaznamenateľné v rozmedzí, ktoré uvádzajú zmienení autori.

Pri obsahu histamínu v chmeli je jeho obsah v rozsahu 1,2–26,4 mg/l. Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) boli v rozmedzí 3,53–8,15 mg/kg, čo je zhodné s väčšinou vzoriek. Výrazný rozdiel nastal len pri vzorkách č. 4,5 v chmeli žateckom červeňáku a v č. 4,6 v žateckom premiante. Zmienení autori skúmali aj obsah chmelového extraktu. Ich koncentrácia extraktu bola 53,1 mg/kg čo je výrazne nižšia ako koncentrácia v tejto práci. Je možné to pripisovať

druhu extraktu, ktorý bol použitý v tejto práci oproti druhu vo výskume prevedenom uvedenými autormi. Izquierdo–Pulidoe *et al.*, (1994) koncentráciu histamínu v chmeli nezaznamenali. Galarce *et al.* (2016) obsah histamínu v slade ani chmeli nedetegovali, čo je možné tým, že ich výskum bol zameraný na pívá kvasené vrchnou cestou a teda použili slady a chmele určené pre výrobu týchto pív.

Pri obsahu histamínu v kvasinkách bola koncentrácia 0,8–177,8 mg/l. Halász, Baráth a Holzapfel (1999) obsah histamínu nedetegovali a Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) namerali HIS len vo veľmi nízkej koncentrácii (2,06–11,8 mg/kg). Tieto výsledky sú blízke hodnotám vzoriek č. 3,5,8. Ako už bolo uvedené pri koncentrácii kadaverínu, koncentrácia biogénnych amínov v kvasinkách sa môže použiť iba pre približnosť z dôvodu rôzneho počtu buniek alebo druhu kvasiniek (Kalač, Hlavatá a Křížek (1997).

Tabuľka 9. Koncentrácia histamínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Slad mnichovský	NA	NA	1,8 ± 0,5	17,3 ± 0,8	1,5 ± 0,7	6,2 ± 1,4	13,3 ± 2,2	0,8 ± 0,1	1,3 ± 1,0	1,9 ± 0,7
Slad viedeňský	1,9 ± 0,3	1,4 ± 0,4	NA	NA	2,6 ± 0,4	4,0 ± 2,3	NA	NA	4,0 ± 0,6	0,4 ± 0,4
Slad karamelový	NA	NA	NA	NA	NA	NA	20,0 ± 3,4	2,6 ± 0,8	2,1 ± 0,4	0,4 ± 0,3
Slad pľeňský	9,7 ± 0,9	20,9 ± 5,9	1,9 ± 1,1	2,3 ± 0,8	9,4 ± 1,3	14,9 ± 6,0	24,6 ± 2,2	4,0 ± 1,6	4,5 ± 1,8	1,7 ± 0,4
Chmel žatecký červeňák	3,0 ± 2,5	5,8 ± 1,7	2,1 ± 0,2	19,0 ± 3,8	10,9 ± 2,4	5,1 ± 0,6	5,9 ± 1,3	5,8 ± 2,2	3,2 ± 0,9	2,5 ± 0,6
Chmel žatecký premiant	3,5 ± 0,9	4,5 ± 0,8	3,0 ± 0,7	23,2 ± 3,9	8,4 ± 1,0	26,4 ± 3,9	9,9 ± 0,9	7,0 ± 2,0	1,2 ± 1,0	6,3 ± 0,5
Chmelový extrakt	NA	NA	NA	16,0 ± 4,6	NA	NA	21,6 ± 0,9	2,7 ± 0,1	NA	NA
Kvasnice	NA	26,3 ± 3,0	9,5 ± 0,4	0,8 ± 0,5	2,4 ± 0,3	22,2 ± 4,3	1,8 ± 1,6	2,8 ± 0,5	148,3 ± 0,8	177,8 ± 6,0

Legenda: NA – neanalyzované vzorky.

Obsah tyramínu

Koncentrácie tyramínu (TYM) je možné vidieť v tabuľke č. 11. Vo všetkých meraných vzorkách bol obsah TYM zaznamenaný. Celkový obsah tyramínu v sladoch sa pohyboval v rozmedzí 5,4–83,2 mg/l. Izquierdo–Pulidoe *et al.* (1994) zaznamenali hodnoty tyramínu vo veľmi nízkych koncentráciách (max 4,5 mg/kg), než je uvedený rozsah TYM z tabuľky. Halász, Baráth a Holzapfel (1999) namerali obsah tyramínu 15,35 mg/l v pľeňskom slade čo je výrazne nižšia koncentrácia ako pri meraní v tejto práci. V mnichovskom slade bol ich obsah 14,97 mg/l, čo nasvedčuje podobným hodnotám ako pri vzorkách č. 3,5,8 v mnichovskom slade, č.1,2 vo viedenskom. Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) detegovali koncentráciu

TYM 20,1–28,5 mg/kg čo je prijateľný rozsah pre hodnoty vzoriek č. 3,5 v mníchovskom slade, č.2,5 vo viedenskom, č. 8 v karamelovom a č.3 v plzeňskom slade. Galarce *et al.*, (2016) namerali hodnoty TYM (6,95–9,68 mg/kg), ktoré sú zhodné s koncentráciou tyramínu vzorke č. 10 v karamelovom slade.

Obsah tyramínu v chmeli sa pohyboval v rozsahu 16,5 –79,6 mg/l. Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) uvádzajú hodnoty chmeľu 9,55– 15,6 mg/kg a chmeľového extraktu 228,0 mg/kg, Izquierdo–Pulidoe *et al.*, (1994) do 15 mg/kg, čo je výrazný rozdiel oproti zmienčenému rozsahu v tomto výskume. Galarce *et al.* (2016) naopak namerali hodnoty TY v priemere 19,78–86,24 mg/kg. Tieto hodnoty sa zhodujú či minimálne odchyľujú od koncentrácií v tejto práci.

Pri porovnaní koncentrácie tyramínu v kvasinkách je možné si všimnúť výrazný rozsah v koncentrácií TYR pri jednotlivých vzorkách a to 11,8–157,9 mg/l. Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) namerali obsah tyramínu v kvasinkách v rozmedzí 17,40 –24,10 mg/kg. Tieto hodnoty sú nižšie než výsledky uvádzané autorom v tejto práci.

Tabuľka 10. Koncentrácia tyramínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Slad mníchovský	NA	NA	18,9 ± 5,0	73,1 ± 4,9	18,3 ± 4,7	63,0 ± 4,2	53,8 ± 4,8	14,8 ± 0,3	31,4 ± 0,6	22,7 ± 2,4
Slad viedenský	16,0 ± 1,1	19,6 ± 1,6	NA	NA	27,1 ± 2,1	52,1 ± 6,6	NA	NA	42,8 ± 6,7	43,5 ± 4,2
Slad karamelový	NA	NA	NA	NA	NA	NA	83,2 ± 2,5	28,4 ± 2,9	12,3 ± 0,7	5,4 ± 1,0
Slad plzeňský	42,5 ± 4,7	31,2 ± 0,5	21,2 ± 0,8	33,9 ± 2,8	34,8 ± 5,4	66,6 ± 4,1	67,8 ± 8,5	37,8 ± 3,9	36,5 ± 5,8	31,4 ± 1,3
Chmel žatecký červenák	27,3 ± 6,6	40,3 ± 6,8	49,6 ± 3,0	72,2 ± 8,9	36,8 ± 6,9	21,2 ± 0,6	48,3 ± 0,7	59,5 ± 4,1	34,3 ± 3,1	30,6 ± 2,8
Chmel žatecký premiant	29,3 ± 1,6	52,8 ± 4,5	33,2 ± 0,8	79,6 ± 5,2	67,6 ± 4,7	75,1 ± 3,2	42,0 ± 1,0	46,1 ± 2,8	49,0 ± 2,9	37,7 ± 0,9
Chmelový extrakt	NA	NA	NA	38,7 ± 5,6	NA	NA	42,0 ± 1,0	16,5 ± 2,7	NA	NA
Kvasnice	NA	157,9 ± 2,0	11,8 ± 2,0	53,3 ± 2,3	38,6 ± 4,2	79,0 ± 4,1	59,3 ± 6,3	41,2 ± 3,3	31,8 ± 3,2	13,3 ± 1,1

Legenda: NA– neanalyzované vzorky

Obsah spermidínu

Koncentrácia spermidínu (SPD) bola zaznamenaná v slade a chmeli a je uvedená v tabuľke12. Rozsah spermidínu vo všetkých meraných sladoch sa pohyboval v rozmedzí 1,0–44,1 mg/l. Hodnoty vzoriek č.3,4,5,6,7,8,9,10 v mníchovskom slade, č.1,2,5,6,9 vo viedenskom a vo všetkých vzorkách v plzeňskom slade sa zhodujú s koncentráciami, ktoré namerál Izquierdo–Pulidoe *et al.* (1993), kde uvádza maximálnu koncentráciu 16,70 – 49,10 mg/kg.

Galarce *et al.* (2016) zaznamenal obsah SPD 55,58 – 82,09 mg/kg, Romero *et al.* (2013) 42,57 – 98,81 mg/l. Zistená vysoká koncentrácia SPD môže byť spôsobená iným pomerom, rozdielnosťou či zdravotným stavom sladov, ktoré boli stanovované v spomínaných prácach.

Tabuľka 12. poukazuje na koncentráciu SPD v chmeli s maximálnou hodnotou 29,4 mg/l. Izquierdo–Pulido *et al.* (1994) uvádzajú maximálnu koncentráciu 20 mg/kg, ktorá je zhodná či mierne nižšia s koncentraciami spermidínu v chmeli, ktoré sú uvedené v tejto práci. Avšak hodnoty získané vo výskume Galarce *et al.* (2016) boli výrazne vyššie a to 57,65–86,24 mg/kg čo môže byť pripisované rozdielnosti skúmaného chmeľu.

Koncentrácia SPD v kvasinkách sa pohybovala v rozsahu 7,8–314,1 mg/l. Výsledky uvedené v práci Galarce *et al.* (2016) boli markantne vyššie (553,21 – 750 mg/kg) ako výsledky v tejto práci. V porovnaní s výsledkami práce Halász, Baráth a Holzapfel (1999), ktorí uvádzajú obsah spermidínu v rozmedzí 79 –189 mg/100g sa zhodovali s týmto tvrdením vzorky č.2,7.

Tabuľka 11. Koncentrácia spermidínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Slad mnichovský	NA	NA	40,8 ±1,3	26,2 ± 1,0	20,3 ± 1,6	23,8 ± 1,1	28,9 ± 4,7	30,5 ± 0,4	24,7 ± 3,3	37,0 ± 0,7
Slad viedeňský	19,9 ± 3,3	44,1 ± 2,1	NA	NA	16,9 ± 0,7	25,6 ± 1,4	NA	NA	31,4 ± 1,5	55,2 ± 2,4
Slad karamelový	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2,4 ± 0,3	1,0 ± 0,5	2,4 ± 0,1	1,9 ± 0,5
Slad pľeňský	37,0 ± 9,1	40,1 ± 5,7	26,2 ± 1,9	38,5 ± 0,9	35,4 ± 3,0	32,9 ± 0,2	42,4 ± 2,2	43,1 ± 0,6	27,3 ± 0,5	30,7 ± 1,8
Chmel žatecký červeňák	22,0 ± 3,2	19,7 ± 0,2	25,5 ± 0,4	19,1 ± 2,0	21,2 ± 0,8	17,6 ± 0,3	25,8 ± 2,2	24,9 ± 0,7	17,4 ± 2,2	23,6 ± 5,4
Chmel žatecký premiant	29,4 ± 1,6	22,2 ± 1,3	25,1 ± 1,1	19,2 ± 2,0	18,0 ± 0,9	15,4 ± 1,8	24,3 ± 1,6	21,8 ± 0,9	19,5 ± 2,1	22,5 ± 0,8
Chmelový extrakt	NA	NA	NA	0,0 ± 0,0	NA	NA	0,3 ± 0,2	0,0 ± 0,0	NA	NA
Kvasnice	NA	183,4 ± 4,0	314,1 ± 7,9	15,3 ± 0,1	48,6 ± 5,2	84,4 ± 2,2	165,7 ± 6,5	7,8 ± 0,2	227,3 ± 2,7	247,9 ± 4,5

Legenda: NA– neanalyzované vzorky

Obsah spermiínu

V tabuľke č. 13 je vidieť obsah spermiínu (SPM), ktorý bol nameraný vo všetkých použitých vzorkách. Koncentrácia spermiínu v slade sa v diplomovej práci pohybovala rozmedzí 38,2 –249,4 mg/l. Romero *et al.* (2013) namerali vo svojom výskume hodnoty sladu 14,23 mg/kg – 44,53 mg/kg. Rovnako podobné výsledky zaznamenali aj Galarce *et al.* (2016) a to 22,4 mg/kg – 27,68 mg/kg. Rozsah týchto koncentracii sa zhoduje so vzorkami č. 8,9,10, ktoré

sú uvedené pri karamelovom slade. Halász, Baráth a Holzapfel (1999) namerali obsah spermínu (6,29 – 19,58 mg/l) v slade v nižších koncentráciách, než sú uvedené v tejto práci. Ako už bolo zmieňované pri koncentrácii putrescínu je možné usúdiť, že vysoké koncentrácie polyamínov a teda výrazný rozdiel medzi štúdiám spomínanými v tejto časti a výsledkami diplmovej práce, môžu byť spôsobené pestovaním jačmeňa na pôdach s nízkym obsahom draslíka či sodíka alebo vysokým obsahom amoniaku, čo spôsobuje nárast koncentrácie týchto biogénnych amínov v slade (Izquierdo–Pulido *et al.* 1994).

Obsah spermínu sa v chmeli pohyboval 34,3 – 159,6 mg/l. Izquierdo–Pulido *et al.* (1994) zaznamenali koncentráciu spermínu do max < 20 mg/kg, Galarce *et al.* (2016) zase namerali hodnoty 22,44 – 27,68 mg/kg čo predstavuje výrazne nižšie hodnoty ako koncentrácie v tejto práci. Informácie o obsahu amínov v chmeli sú obmedzené. Jasne nehovoria o tom, či vysoká koncentrácia polyamínov sa dá považovať za normálnu. Tieto látky sú považované za rastlinné metabolity alebo by mohli byť dôsledkom chybnnej výroby a skladovania chmeľu (Izquierdo–Pulido *et al.*, 1994).

Galarce *et al.* (2016) namerali obsah spermínu v kvasinkách v koncentrácii 182,28 – 366,54 mg/kg v kvasinkách. Hodnoty spermínu (153,2 – 848,5 mg/l) v diplmovej práci sú podobné koncentráciám, ktoré namerali uvedení autori. Oproti iným, Kalač, Hlavatá a Křížek (1997), ktorí uvádzajú obsah spermidínu v rozmedzí 79 – 189 mg/100g a spermínu (56 mg/100g) je tento obsah markantne vyšší.

Tabuľka 12. Koncentrácia spermínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Slad mnichovský	NA	NA	114,2 ± 2,4	143,4 ± 0,1	129,8 ± 7,5	184,4 ± 7,3	175,7 ± 1,5	123,0 ± 1,2	161,8 ± 4,1	146,6 ± 3,3
Slad viedeňský	122,6 ± 2,9	138,9 ± 5,5	NA	NA	83,4 ± 3,9	227,0 ± 5,8	NA	NA	160,6 ± 4,9	279,4 ± 2,5
Slad karamelový	NA	NA	NA	NA	NA	NA	51,2 ± 0,3	38,2 ± 2,1	41,6 ± 5,5	48,5 ± 3,4
Slad pžeňský	156,9 ± 4,4	213,2 ± 2,3	116,8 ± 3,8	190,2 ± 0,5	133,2 ± 8,9	218,7 ± 4,5	247,7 ± 7,2	184,1 ± 2,2	169,2 ± 0,8	202,4 ± 4,6
Chmel žatecký červeňák	116,4 ± 3,1	110,8 ± 2,1	61,4 ± 2,3	64,7 ± 6,7	81,0 ± 3,4	93,4 ± 2,7	159,6 ± 6,4	120,5 ± 1,5	120,6 ± 1,0	131,3 ± 3,3
Chmel žatecký premiant	75,5 ± 3,0	92,8 ± 3,0	111,5 ± 3,5	126,8 ± 3,0	84,0 ± 1,6	93,0 ± 6,0	85,0 ± 5,2	131,4 ± 4,2	78,6 ± 2,0	144,8 ± 1,0
Chmelový extrakt	NA	NA	NA	34,3 ± 1,6	NA	NA	16,3 ± 0,7	17,1 ± 2,6	NA	NA
Kvasnice	NA	168,5 ± 8,5	357,3 ± 7	239,2 ± 3,0	174,1 ± 0,2	152,3 ± 3,3	848,5 ± 4,1	206,6 ± 6,5	378,6 ± 7,4	375,1 ± 6,4

Legenda: NA – neanalyzované vzorky

Rozdiel koncentrácie biogénnych amínov medzi jednotlivými sladmi

Na hladine významnosti ($p < 0,05$) bolo zisťované, či existuje rozdiel medzi jednotlivými sladmi v závislosti na tvorbe biogénnych amínov. Na základe štatistického vyhodnotenia analýzy rozptylu ANOVA boli zistené veľmi vysoko priekazné štatistické rozdiely v pozorovaných sladoch v koncentrácii fenyletylamínu, putrescínu, histamínu, spermidínu a spermínu, ktoré sú uvedené v prílohe I.

Pomocou post-hoc Tukey HSD testu bolo zistené, že štatistický rozdiel medzi jednotlivými sladmi bol preukázaný pri karamelovom slade v koncentrácii putrescínu, spermidínu a spermínu. Pri plzeňskom slade bol zaznamenaný priekazný rozdiel vo fenyletylamíne a histamíne. Pri koncentrácii tyramínu a kadaverínu voči jednotlivým sladom nebol preukázaný rozdiel.

5.2 Obsah biogénnych amínov v technologických procesoch

Stanovenie obsahu biogénnych amínov (fenyletylamín, putrescín, kadaverín, histamín, tyramín, spermidín, spermín) v jednotlivých technologických postupoch bolo prevedené v sladine, mladine, prekvasenej mladine a v hotovom pive. V každej vzorke piva bola zaznamenaná koncentrácia biogénnych amínov. Následne boli výsledky spracované do prehľadných tabuliek na základe druhu biogénneho amínu. Významné hodnoty boli zvýraznené a porovnávané s výsledkami vedeckých prác a výskumov, ktoré spracovávali rovnakú či podobnú problematiku.

Pre preukázanie rozdielu tvorby biogénnych amínov v jednotlivých vzorkách bola vykonaná štatistická metóda ANOVA a post-hoc Tukey test.

Obsah fenyletylamínu

V tabuľke 15. je možné vidieť namerané hodnoty fenyletylamínu (PHE) v jednotlivých technologických krokoch. Najvyššia koncentrácia PHE v sladine bola štatisticky preukázaná na hladine významnosti ($p < 0,05$) a rovnako aj zaznamenaný priekazný rozdiel vo vzorke č.5 ($61,3 \pm 2,8$ mg/l). Naopak najnižšia bola vo vzorke č. 7 ($3,5 \pm 3,0$ mg/l). V mladine sa hladiny fenyletylamínu pohybovali v rozsahu 2,4–28,7 mg/l. V prekvasenej mladine nastal pokles koncentracii PHE, no v prípade vzorky č. 4 a 7 došlo k miernemu nárastu. Najvyššia hodnota v prekvasenej mladine bola detegovaná a štatisticky preukázaná vo vzorke č.4 ($20,9 \pm 4,9$ mg/l). Pri porovnaní hodnôt prekvasenej mladiny a hotového piva, nastal naopak nárast koncentrácie fenyletylamínu, s výnimkou vzoriek č. 1,2,3 a 4. Romero *et al.* (2003) namerali

v jednom zo svojich skúmaných pív koncentrácie tohto biogénneho amínu až v procese fermentácie mladiny a zretia piva, no pri hotovom pive bol obsah nedetegovateľný. Najvyššie hladiny PHE v tejto práci boli štatisticky preukázané vo vzorke č.5 ($66,1 \pm 2,3$ mg/l) pri hotovom pive. Rovnako Izquierdo–Pulidoe *et al.* (1994), zaznamenali vyššie hladiny fenyletylamínu v mladine oproti koncentrácii PHE v sladine a rovnako aj vyššie hladiny oproti hodnotám v surovine.

Tabuľka 13. Koncentrácia fenyletylamínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sladina	$4,7 \pm 0,9$	$15,9 \pm 4,7$	$7,2 \pm 0,4$	$24,3 \pm 3,4$	$61,3 \pm 2,8$	$42,7 \pm 0,8$	$3,5 \pm 3,0$	$45,6 \pm 2,4$	$14,9 \pm 3,7$	$10,1 \pm 1,7$
Mladina	$3,0 \pm 2,6$	$19,6 \pm 3,6$	$8,2 \pm 0,9$	$6,6 \pm 4,1$	$28,7 \pm 0,4$	$28,0 \pm 0,4$	$2,4 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,9$	$18,7 \pm 5,9$	$14,8 \pm 2,5$
Prekvasená mladina	$1,0 \pm 0,9$	$17,4 \pm 5,0$	$4,1 \pm 0,2$	$20,9 \pm 4,4$	$11,7 \pm 0,5$	$12,6 \pm 1,7$	$2,6 \pm 0,8$	$0,8 \pm 0,5$	$3,8 \pm 1,9$	$6,6 \pm 2,7$
Hotové pivo	$0,1 \pm 0,0$	$16,9 \pm 1,9$	$1,2 \pm 0,7$	$13,5 \pm 3,5$	$66,1 \pm 2,3$	$15,4 \pm 3,5$	$3,3 \pm 0,9$	$4,4 \pm 2,9$	$9,8 \pm 3,4$	$8,9 \pm 2,2$

Obsah putrescínu

Koncentrácie putrescínu (PUT) sú znázornené v tabuľke 16. Obsah sladiny sa v jednotlivých pivách pohyboval od $39,9$ mg/l vo vzorke č.3 do $130,7$ mg/l vo vzorke č. 6. Najvyššia koncentrácia v mladine bola štatisticky preukázaná vo vzorke č.4 ($150,8 \pm 6,0$ mg/l). Rozsah koncentracii v sladine postupne rástol, čo je možné vidieť v mladine vo väčšine vzoriek, okrem č. 2,5,6,9. Tento fakt mohol byť spôsobený pomerom a obsahom chmeľov, ktoré boli použité pri pivách s vyššou koncentráciou a teda obsahovali viac chmeľu než zvyšné vzorky (Izquierdo – Pulidoe *et al.*, 1994). Naopak po fermentácii nastal pokles putrescínu vo väčšine vzoriek, no pri štyroch z nich (3,7,9,10) koncentrácia narastala. Najvyššia koncentrácia v prekvasenej mladine bola štatisticky detekovaná vo vzorke č.4 ($134,8 \pm 1,0$ mg/l) a vo výslednom pive vo vzorke č.3 ($120,2 \pm 6,1$ mg/l). V hotovom pive nastal pokles koncentrácie len pri vo vzorkách č. 4,7,8 a 9. Podobné trendy vývoja putrescínu zaznamenali Galarce *et al.*, (2016), ktorí v jednej zo vzoriek zaznamenali markantný nárast putrescínu už pri rmutovaní a tento trend pokračoval až do procesu fľaškovania. Naopak pri ostatných, bol priebeh podobný ako pri niektorých vzorkách v tejto štúdii. V procese chmeľovaru došlo k poklesu, no pri fáze fermentácie obsah putrescínu opäť narástol a v hotovom pive znova klesol. Významnou odlišnosťou výsledkov Galarce *et al.*, (2016) je podstatne nižšia koncentrácia celkového obsahu putrescínu v technologických úsekoch oproti tým, ktoré boli namerané v tejto práci. Ich hodnoty sa pohybovali v rozmedzí $8,4$ mg/l až $38,8$ mg/l. Rovnako nízke koncentrácie vyšli Halász, Baráth a Holzapfel (1999), ktorí v mladine namerali koncentrácie

PUT v priemere 19,9 mg/l a v prekvasenej mladine približne 10,0 mg/l. Kalač a Křížek (2003) uvádzajú, že obsah potrescínu sa znižuje už pri procese rmutovania, čo dokazujú vzorky č. 5 a 8.

Tabuľka 14. Koncentrácia putrescínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sladina	57,7 ± 3,8	80,5 ± 2,7	39,9 ± 1,7	115,8 ± 7,6	109,7 ± 6,9	130,7 ± 3,3	56,5 ± 1,5	60,9 ± 2,6	50,7 ± 3,4	55,6 ± 3,4
Mladina	77,9 ± 4,3	80,4 ± 7,9	62,3 ± 1,1	150,8 ± 6,0	101,8 ± 1,0	84,2 ± 5,4	87,1 ± 7,8	65,6 ± 3,2	43,07 ± 0,4	60,4 ± 1,8
Prekvasená mladina	75,8 ± 4,9	64,3 ± 4,2	83,4 ± 2,6	134,8 ± 1,0	62,0 ± 4,1	45,9 ± 1,0	106,7 ± 4,2	55,7 ± 0,9	54,0 ± 5,2	63,9 ± 3,2
Hotové pivo	85,8 ± 1,1	118,0 ± 4,4	120,2 ± 6,1	58,2 ± 1,4	96,8 ± 3,2	81,7 ± 6,4	95,6 ± 1,1	6,8 ± 3,9	52,9 ± 4,2	91,0 ± 2,7

Obsah kadaverínu

Koncentrácia kadaverínu (CAD) bola zaznamenaná vo všetkých vzorkách pri technologických postupoch. Najvyššia koncentrácia CAD bola detekovaná a štatisticky preukázaná pri vzorke č.8 v mladine ($138,3 \pm 2,0$ mg/l) naopak najnižšia v hotovom pive vo vzorke č. 7 v prekvasenej mladine ($1,8 \pm 0,4$ mg/l). Obdobné hodnoty udávajú vo svojej práci aj Galarce *et al.*, (2016), ktorí namerali najvyššiu koncentráciu kadaverínu v mladine (130,84 mg/l) a naopak najnižšiu v hotovom pive (0,63 mg/l). Pri ich výskume koncentrácia CAD vo väčšine vzoriek po chmeľovare (0,64–19,27 mg/l) klesala až do obdobia fľaškovania (0,63–20,44 mg/l), kedy bol zaznamenaný nárast, čo koreluje aj so vzorkami č. 1,3,5,6,7,10. Naopak vyskytol sa aj prípad, kedy dochádzalo k postupnému poklesu koncentrácie po chmeľovare ako je to aj pri vzorkách č. 4,8,9. Tento jav nastal v prípade koncentrácie kadaverínu aj v štúdiu Izquierdo–Pulido *et al.*, (1994), keď po fermentácii dochádzalo k nárastu CAD až do konečnej fáze zretia. Naopak pokles koncentrácie CAD po fermentácii potvrdzuje aj Romero *et al.*, (2003). Najvyššia koncentrácia CAD vo fáze po fermentácii bola štatisticky detegovaná vo vzorke č.8 ($80,1 \pm 4,9$ mg/l). Výsledky zaznamenané Halász, Baráth a Holzapfel (1999) v mladine a po fermentácii súhlasia s tvrdením, že po chmeľovare dochádzalo k nárastu koncentrácie kadaverínu, no pri niektorých vzorkách zase k poklesu. V porovnaní s ostatnými autormi sú ale koncentrácie namerané v tejto práci výrazne vyššie. Kým Halász, Baráth a Holzapfel (1999) namerali priemernú koncentráciu kadaverínu v mladine 2,6 mg/l a v prekvasenej mladine (3,6 mg/l), Kalač, Hlavatá a Křížek (1997) max. 28 mg/l.

Pri porovnaní hotových vzoriek piva bola najnižšia hodnota kadaverínu vo vzorke č.9 ($2,4 \pm 0,7$ mg/l) a najvyššia štatisticky preukázaná vo vzorke č.6 ($18,6 \pm 3,8$ mg/l). Kalač, Hlavatá

a Křížek (1997) namerali priemernú hodnotu piva 25,1 mg/l, Galarce *et al.*, (2016) priemerne 7,5 mg/l, Glória a Izquierdo–Pulido (1999), koncentráciu 16,9 mg/l v pive štýlu ležiak. Tieto hodnoty sa výrazne nelíšia od tých čo boli namerané v tejto práci.

Tabuľka 15. Koncentrácia kadaverínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sladina	6,6 ± 0,5	6,6 ± 0,7	3,9 ± 0,2	21,8 ± 4,4	14,8 ± 5,6	35,7 ± 2,3	2,6 ± 0,8	16,2 ± 0,5	5,0 ± 1,6	3,9 ± 0,7
Mladina	5,8 ± 0,5	15,0 ± 3,1	5,6 ± 0,4	42,0 ± 4,3	14,8 ± 1,2	19,7 ± 6,8	2,0 ± 0,5	138,3 ± 2,0	4,3 ± 2,0	5,9 ± 1,4
Prekvasená mladina	3,5 ± 0,9	21,2 ± 1,7	2,1 ± 0,1	34,5 ± 2,7	4,2 ± 1,4	1,9 ± 0,2	1,8 ± 0,4	80,1 ± 4,9	3,7 ± 0,5	2,1 ± 0,9
Hotové pivo	4,4 ± 1,6	9,8 ± 2,1	3,0 ± 0,8	7,7 ± 3,1	16,6 ± 3,0	18,6 ± 3,8	4,3 ± 0,7	2,6 ± 0,3	2,4 ± 0,7	5,9 ± 0,3

Obsah histamínu

Koncentrácie histamínu (HIS) boli zaznamenané vo všetkých stanovovaných vzorkách a sú uvedené v tabuľke 18. Najvyššie hladiny HIS v priebehu technologického procesu boli štatisticky preukázané v prekvasenej mladine ($38,4 \pm 0,8$ mg/l) a najnižšie v sladine ($0,2 \pm 0,1$ mg/l). Celkový priebeh histamínu vo vzorkách je nejednotný. Najvyššia štatistická hodnota v mladine bola zaznamenaná vo vzorke č.4 ($27,8 \pm 6,2$ mg/l). Z tabuľky je možné vidieť vo vzorkách č. 4,5,6 nárast koncentrácie až do doby prekvasenia mladiny a v hotovom pive je vidieť pokles hladiny HIS. Izquierdo–Pulido *et al.*, (1994) zaznamenali mierny nárast koncentrácie po procese rmutovania. Galarce *et al.*, (2016) namerali najvyššiu hodnotu histamínu 4,41 mg/l, ktorá následne mierne klesala až do obdobia fľaškovania (4,21 mg/l). Halász, Baráth a Holzapfel (1999) uviedli priemerné hodnoty mladiny (0,5 mg/l) a prekvasenej mladiny (0,4 mg/l). Celkové hodnoty mladiny a prekvasenej mladiny, ktoré udávajú autori sa zhodujú so vzorkami č. 1,3,7,8,9,10. Zvyšné vzorky zaznamenali podstatne vyšší nárast koncentracii, než je uvedené v literatúre. Pri koncentrácii histamínu v hotových pivách bol zaznamenaný najvyšší štatisticky preukázaný nárast $20,6 \pm 5,7$ mg/l vo vzorke č.9 oproti ostatným pivám, ale aj markantný vývin histamínu v priebehu technologických fáz tohto piva. Halász, Baráth a Holzapfel (1999) a Slomkowska a Ambroziak (2002) zaznamenali koncentráciu v hotových pivách v rozsahu 0,18 –0,80 mg/l. Angulo *et al.*, (2020) naopak obsah histamínu nedetekovali. Vyššie množstvá histamínu (2–10 mg/l) boli zaznamenané v jednej tretine vzoriek ležiakového piva vo fľašiach monitorované Tang *et al.*, (2016). Väčšina vzoriek v tejto práci mala maximálne koncentrácie do 12,0 mg/l okrem spomínanej vzorky č. 9.

Na základe dosiahnutých výsledkov a poznatkov je možné usúdiť, že pri výrobe pív, v ktorých bola vyššia koncentrácia histamínu došlo k nedostatočnému dodržaniu hygienických podmienok počas skladovania jačmeňa, sladovníctva a v priebehu výroby piva.

Tabuľka 16. Koncentrácia histamínu (mg/l)

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sladina	1,5 ± 0,2	2,5 ± 1,0	0,2 ± 0,2	20,9 ± 7,8	11,6 ± 5,6	37,5 ± 2,6	0,2 ± 0,1	2,6 ± 0,5	2,1 ± 0,3	1,3 ± 0,7
Mladina	1,5 ± 1,1	12,9 ± 3,4	0,8 ± 0,1	27,8 ± 6,2	11,0 ± 1,8	9,7 ± 5,2	1,5 ± 1,0	0,3 ± 0,2	3,1 ± 2,1	2,9 ± 1,0
Prekvasená mladina	0,3 ± 0,4	23,3 ± 1,1	2,9 ± 0,5	38,4 ± 0,8	3,1 ± 1,7	1,4 ± 0,5	2,4 ± 1,2	3,3 ± 1,2	1,9 ± 0,6	2,1 ± 0,5
Hotové pivo	0,5 ± 0,4	6,9 ± 0,9	3,6 ± 0,8	1,5 ± 1,1	12,0 ± 1,0	6,6 ± 1,0	2,1 ± 0,9	4,8 ± 2,1	20,6 ± 5,7	5,1 ± 0,5

Obsah tyramínu

Hladiny tyramínu (TYM) boli detekované vo všetkých bodoch zadaného technologického procesu a je znázornený v tabuľke 19, kde je vidieť postupný vývoj tohto biogénneho amínu. Obsah tyramínu v skúmaných vzorkách sa pohyboval v rozmedzí 7,0 – 81,6 mg/l. Priebeh hladín TYM priamo nepreukázali jednoznačné trendy vo vývoji tohto amínu počas technologických fáz. Najvyššia hladina nameraná v sladine bola $81,6 \pm 4,9$ mg/l a najnižšia $25,9 \pm 1,6$ mg/l. Naopak po chmeľovare nastal pokles v koncentrácii tyramínu od 18,46 mg/l do štatisticky preukázanej najvyššej koncentrácie v mladine ($63,8 \pm 6,0$ mg/l). Po fermentácii mladiny boli najvyššie hladiny TYM štatisticky preukázané vo vzorke č.2 ($64,5 \pm 1,9$ mg/l). Oproti priemerným koncentráciám nameraným pri predchádzajúcich technologických postupoch, hodnoty TYM zaznamenali výrazný pokles (7,0 – 50,4 mg/l). Galarce *et al.*, (2016) namerali priemerné koncentrácie vo všetkých fázach do 12 mg/l. Vo výskume Romero *et al.* (2003) nastal markantný nárast tyramínu (max 35 mg/l) vo fáze fermentácie a následne mierny pokles hladiny až do fázy hotového piva. Pri porovnaní hladiny hotového piva bola najvyššia koncentrácia štatisticky preukázaná vzorke č. 5 ($50,4 \pm 5,9$ mg/l) a najnižšia vo vzorke č.8 ($7,0 \pm 2,1$ mg/l). Autori zaoberajúci sa touto problematikou (Galarce *et al.*, 2016; Slomkowska a Ambroziak, 2002) uviedli obsah TYM max 2,5 mg/l. Romero *et al.*, (2003) naopak zaznamenali vysoký nárast v ležiakoch (20,39 mg/l) a špeciálnych pivách (20,47 mg/l). Tieto hodnoty sa výrazne líšia od koncentracii nameraných v tejto práci. Tento fakt, môže byť spôsobený rozdielnym pomerom sladov, aktivitou kontaminujúcej mikroflóry v priebehu fermentácie ako uvádza Kalač a Křížek (2003), či vysokou koncentráciou tyramínu už v surovinách. Tak isto sa domnievajú, že vysoká hladina tyramínu je spôsobená

baktériami mliečného kvasenia, respektíve rodmi *Lactobacillus*, *Enterococcus* a *Pediococcus*, ktorí sú hlavnými producentmi tyramínu v pive.

Tabuľka 17. Koncentrácia tyramínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sladina	25,9 ± 1,6	45,4 ± 3,6	16,9 ± 0,86	52,2 ± 3,0	57,0 ± 0,7	81,6 ± 4,9	12,3 ± 1,4	52,7 ± 2,3	31,8 ± 3,2	35,7 ± 2,4
Mladina	23,3 ± 0,6	63,0 ± 6,2	21,0 ± 1,3	18,4 ± 0,5	63,8 ± 8,0	35,0 ± 3,6	19,5 ± 1,4	25,7 ± 3,9	43,0 ± 6,4	51,1 ± 4,1
Prekvasená mladina	8,5 ± 1,1	64,5 ± 1,9	15,3 ± 2,0	27,0 ± 2,4	25,2 ± 3,3	15,5 ± 2,4	17,5 ± 1,7	36,6 ± 3,4	12,8 ± 2,6	13,2 ± 2,9
Hotové pivo	12,4 ± 0,8	40,6 ± 3,6	12,7 ± 1,3	18,3 ± 4,2	50,4 ± 5,9	35,8 ± 4,1	41,5 ± 1,7	7,0 ± 2,1	18,2 ± 2,6	26,3 ± 3,7

Obsah spermidínu

Tabuľka 20. znázorňuje koncentráciu spermidínu (SPD) zaznamenanú vo všetkých technologických postupoch. Najvyššia koncentrácia v priebehu výroby piva bola štatisticky preukázaná v hotovom pive pri vzorke č. 6 ($18,6 \pm 0,6$ mg/l) a najnižšia pri č. 8 ($0,1 \pm 0,1$ mg/l). Trend postupného poklesu koncentrácie spermidínu bol zaznamenaný pro vzorkách č. 3,4,9,10, kde bola hladina SPD v hotovom pive v priemere $0,4 - 2,7$ mg/l. Tento zostup bol badateľný aj pri výsledkoch Galarce *et al.*, (2016), kedy došlo k poklesu koncentrácie z $3,26$ mg/l v sladine na $0,85$ mg/l či až na stav detegovateľnosti. Halász, Baráth a Holzapfel (1999) zaznamenali v dvoch tretinách vzoriek nárast hladiny SPD v prekvasenej mladine (max. $2,8$ mg/l), čo predstavuje rovnakú zmenu aká nastala pri vzorkách č.1 a 5. Izquierdo–Pulido *et al.*, (1994) naopak detegovali výrazný pokles spermidínu v mladine, po rmutovaní, čo súhlasí s výsledným trendom spermidínu v mladine v tejto práci. Najvyššia hodnota zaznamenaná v mladine bola štatisticky preukázaná vo vzorke č. 2 ($10,5 \pm 0,2$ mg/l). V hotových pivách sa výsledná koncentrácia vo väčšine vzoriek pohybovala v rozsahu $0,1 - 3,6$ mg/l. Výnimku tvorila iba vzorka č.6, ktorá zároveň vykazovala aj najvyššiu hladinu spermidínu v celej výrobe piva. Slomkowska a Ambroziak (2002), zaznamenali rovnaké hodnoty (max. $3,64$ mg/l) ako boli vyhodnotené v tejto práci. Naopak Romero *et al.*, (2003) obsah spermidínu určili ako nedetegovateľný.

Tabuľka 18. Koncentrácia spermidínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sladina	11,0 ± 1,4	13,0 ± 0,7	7,3 ± 0,4	9,7 ± 0,3	8,9 ± 1,0	6,4 ± 1,6	3,9 ± 0,4	6,3 ± 0,4	7,8 ± 0,7	11,4 ± 0,6
Mladina	8,3 ± 0,6	10,5 ± 0,2	5,3 ± 0,7	7,2 ± 1,4	5,4 ± 0,7	6,5 ± 0,3	1,1 ± 0,2	7,7 ± 0,5	4,6 ± 0,6	7,2 ± 1,0
Prekvasená mladina	11,7 ± 1,0	3,1 ± 1,0	3,0 ± 0,5	3,1 ± 0,6	7,2 ± 1,2	2,5 ± 0,2	0,9 ± 0,4	2,1 ± 1,5	2,7 ± 0,2	1,8 ± 0,2
Hotové pivo	3,6 ± 0,3	3,6 ± 0,3	2,7 ± 0,6	0,4 ± 0,0	3,0 ± 0,6	18,6 ± 0,6	1,0 ± 0,4	0,1 ± 0,1	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,2

Obsah sperminu

Biogénny amín spermin (SPM) bol zaznamenaný vo všetkých nameraných vzorkách a jeho priebeh je uvedený v tabuľke 21. Koncentrácia SPM v bola v jednotlivých fázach detegovaná v rozsahu 16,8 mg/l – 272 mg/l. Vývoj trendu jednotlivých vzoriek pri SPM je možné rozdeliť do dvoch skupín. Do prvej, kde dochádzalo k postupnému poklesu až do fázy hotového piva (č.4,5,7,10) a do druhej, kde pri postupnom poklese vo fázach sladiny, mladiny a prekvasenej mladiny nastal vo fáze hotového piva markantný nárast (č.1,2,6,9). Pri vzorkách č. 3,8. bol vývoj trendu nejasný. Galarce *et al.*, (2016) uvádza obsah sperminu počas rmutovania v koncentrácii max. 0,65 mg/l, čo pri diplomovej práci bol štatisticky preukázaný najvyšší obsah 292,5 ± 4,5 mg/l. Pri procese chmeľovaru, fermentácie a zretia už hladiny SPM uvádza ako nedetegovateľné. Izquierdo–Pulido *et al.* (1994) zaznamenali pokles sperminu v procese rmutovania, kedy došlo k poklesu, ktorý pokračoval až do procesu fermentácie (2 mg/l). Hodnota zaznamenaná po fermentácii je výrazne vyššia ako bolo štatisticky zaznamenané v tejto práci (172,4 ± 2,4 mg/l). Autori, ktorí sa danou problematikou zaoberali detegovali obsah sperminu v koncentráciách maximálne 10 mg/l, či dokonca jeho obsah nebolo možné detegovať (Angulo *et al.*, 2020; Kalač a Křížek, 2003; Halász, Baráth a Holzapfel 1999). Slomkowska a Ambroziak (2002) zaznamenali vo svojom výskume v hotových pivách najvyšší obsah sperminu oproti iným biogénnym amínom (8,43 mg/l). Naopak Buňka *et al.*, (2012) uviedli, že viac ako 75% vzoriek obsahovali spermidín a sperminu v koncentrácii, ktorá nepresahovala hodnotu 30 mg/l. V tejto práci bola štatisticky preukázaná najvyššia hladina SPM vo výsledných pivách v koncentrácii 121,6 ± 5,7 mg/l. Vysoké hodnoty sperminu môžu súvisieť s ich prítomnosťou v slade a metabolizmom kvasiniek a ich prirodzeným prechodom do piva (Kalač a Křížek, 2003).

Tabuľka 19. Koncentrácia spermínu (mg/l).

Označenie piva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sladina	165,8 ± 4,4	253,7 ± 5,0	94,5 ± 1,0	276,5 ± 1,0	292,5 ± 4,5	195 ± 7,0	109,2 ± 1,1	153,8 ± 5,5	199,8 ± 3,6	199,8 ± 3,6
Mladina	161,0 ± 1,7	179,9 ± 3,8	113,0 ± 2,2	153,9 ± 6,0	272,2 ± 7,4	120,7 ± 4,2	96,9 ± 2,6	105,7 ± 5,3	154,4 ± 8,3	271,9 ± 5,0
Prekvasená mladina	95,2 ± 3,8	77,5 ± 1,0	81,7 ± 2,4	147,7 ± 1,2	172,4 ± 2,6	53,6 ± 2,9	93,4 ± 1,6	115,5 ± 3,4	88,6 ± 2,9	107,3 ± 2,3
Hotové pivo	121,0 ± 1,0	121,6 ± 5,7	67,4 ± 4,4	94,3 ± 2,6	29,4 ± 4,5	85,2 ± 3,6	86,8 ± 1,8	16,8 ± 1,8	101,1 ± 2,0	94,9 ± 0,7

Najvyšší obsah biogénnych amínov v jednotlivých fázach

Na hladine významnosti ($p < 0,05$) bolo štatisticky preukázané, že najvyššia hladina biogénnych amínov v mladine bola zaznamenaná pri vzorke č.5 v produkcii fenyletylamínu ($28,7 \pm 0,4$ mg/l), tyramínu ($63,8 \pm 6,8$ mg/l) a spermínu ($292,5 \pm 4,5$ mg/l) a vzorke č.4 v tvorbe putrescínu ($150,8 \pm 6,0$ mg/l) a histamínu ($27,8 \pm 6,2$ mg/l).

V prekvasenej mladine boli najvyššie koncentrácie štatisticky významné vo vzorke č.4 v produkcii fenyletylamínu ($20,9 \pm 4,4$ mg/l), putrescínu ($134,8 \pm 1,0$ mg/l), histamínu ($38,4 \pm 0,8$ mg/l).

Pri vzorkách v hotovom pive sa najvyššie hladiny prejavili vo vzorkách č.5 v tvorbe fenyletylamínu ($66,1 \pm 2,3$ mg/l) a tyramínu ($50,4 \pm 5,9$ mg/l).

Významné hodnoty boli vyhodnotené aj pri vzorke č.2, ktorá mala najvyššie hladiny v mladine pri spermidíne ($10,5 \pm 0,2$ mg/l), v prekvasenej mladine pri tyramíne ($64,5 \pm 1,9$ mg/l) a pri výslednej vzorke hotového piva v produkcii spermidínu ($121,6 \pm 5,7$ mg/l).

ZÁVER

Diplomová práca bola zameraná na monitoring biogénnych amínov v 10 vzorkách piva, v surovinách, ktoré sú používané pri výrobe piva a počas jednotlivých technologických fáz výroby piva. Teoretická časť sa zaoberala popisom výroby piva a mikroorganizmami, ktoré sa v ňom nachádzajú. Ďalej sa v tejto časti uvádza vznik a vlastnosti biogénnych amínov v pive a ich vývoj počas celého výrobného procesu.

Experimentálna časť sa zaoberala stanovením siedmich biogénnych amínov (fenyletylamín, putrescín, kadaverín, histamín, tyramín, spermidín, spermín) v surovine a v stanovených technologických fázach, pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie s UV detekciou. Výsledky boli interpretované, štatisticky spracované a rozdelené do dvoch skupín podľa biogénnych amínov v surovine a počas výroby.

Z výsledkov analýzy prevedenej v diplomovej práci bol zaznamenaný obsah biogénnych amínov vo všetkých skúmaných vzorkách. Najvyššie hladiny boli detegované v spermíne ($292,5 \pm 4,5$ mg/l) a putrescíne ($150,8 \pm 6,0$ mg/l). Z výsledkov vyplýva, že ich obsah nebol ovplyvnený druhom sladu, pretože vyššie hladiny boli stanovené v svetlých aj tmavých pivách. Tento fakt, môže byť pripisovaný metabolizmu mikroorganizmov, teplote, dĺžke zretia, či prirodzenému obsahu biogénnych amínov v surovine, z dôvodu prítomnosti potravinových polyamínov putrescínu, spermidínu a spermínu. Pri porovnávaní celkového obsahu biogénnych amínov boli najvyššie koncentrácie zaznamenané v svetlom pive vzorka č.5 v produkcii fenyletylamínu, tyramínu a spermidínu. Vysoké hodnoty boli detegované aj v pive č.4 v tvorbe fenyletylamínu, putrescínu a histamínu. Obsah tyramínu a toxického histamínu bol vo všetkých vzorkách zaznamenaný v maximálnej miere 50,4 mg/l, čo predstavuje možné riziko pre ľudí s vyvinutou intoleranciou na tieto biogénne amíny.

Na základe zistených informácií a spracovaných výsledkov je možné usúdiť, že pivovarská technológia a suroviny použité pri jej výrobe majú vplyv na tvorbu biogénnych amínov. Pre zníženie koncentrácie biogénnych amínov sa doporučuje znížiť dobu skladovateľnosti sladov, použiť chmele s nízkou schopnosťou tvorby biogénnych amínov a zamedziť kvaseniu v otvorených tankoch, ktoré môžu mať za následok nárast tvorby mikroorganizmov. Rovnako dôležité je aj brať dôraz na správnu hygienickú prax a kvalitu surovín.

Kedže v Českej republike nie sú legislatívne stanovené limitné hodnoty biogénnych amínov vo fermentovaných nápojoch, bolo by vhodnou alternatívou znovu zaviesť kontrolu biogénnych amínov v týchto nápojoch, pretože prítomnosť alkoholu znižuje aktivitu monoamin oxidázy a diamin oxidázy, ktoré inhibujú biogénne amíny v potrave.

Pre budúci výskum by bolo zaujímavé použiť počas celej doby experimentu rovnaký pomer a druh sladu z jednej marže vo všetkých druhoch piva a sledovať, či dĺžka skladovateľnosti sladu ovplyvňuje produkciu biogénnych amínov.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATURY

ALVAREZ, Miguel A. a Ma Victoria MORENO–ARRIBAS, 2014. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine–degrading microorganisms as a solution. *Trends in Food Science & Technology* [online]. **39**(2), 146–155 [cit. 2020–03–29]. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.07.007. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224414001599>

ANGULO, María Fernanda et al., 2020. Fast and selective method for biogenic amines determination in wines and beers by ultra high–performance liquid chromatography. *Food Chemistry* [online]. **309** [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125689. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619318163>

AYMERICH, T. et al., 2006. Safety properties and molecular strain typing of lactic acid bacteria from slightly fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology* [online]. **100**(1), 40–49 [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1111/j.1365–2672.2005.02772.x. ISSN 1364–5072. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365–2672.2005.02772.x>

BARTH, Roger, c2013. *The chemistry of beer: the science in the suds* [online]. Hoboken: Wiley [cit. 2020–03–23]. ISBN 978–1–118–67497–0. Dostupné z: https://books.google.sk/books/about/The_Chemistry_of_Beer.html?id=cUqaAAAQBAJ&printsec=frontcover&source=kp_read_button&redir_esc=y#v=onepage&q=infusi&f=false

BASAŘOVÁ, Gabriela, 2010. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 9788070807347.

BÄUMLISBERGER, Mathias et al., 2015. The Potential of the Yeast *Debaryomyces hansenii* H525 to Degrade Biogenic Amines in Food. *Microorganisms* [online]. **3**(4), 839–850 [cit. 2020–04–02]. DOI: 10.3390/microorganisms3040839. ISSN 2076–2607. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2076–2607/3/4/839>

BENDO VÁ, Olga a Miroslav KAHLER. *Pivovarské kvasinky*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981.

BERTUZZI, T. et al., 2020. Targeted healthy compounds in small and large–scale brewed beers. *Food Chemistry* [online]. **310** [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125935. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619320746>

BIJI, K. B. et al., 2016. Biogenic amines in seafood: a review. *Journal of Food Science and Technology* [online]. **53**(5), 2210–2218 [cit. 2020–03–24]. DOI: 10.1007/s13197–016–2224–x. ISSN 0022–1155. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197–016–2224–x>

BOKULICH, N. A. a C. W. BAMFORTH, 2013. The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. **77**(2), 157–172 [cit. 2020–02–01]. DOI: 10.1128/MMBR.00060–12. ISSN 1092–2172. Dostupné z: <http://mmbbr.asm.org/cgi/doi/10.1128/MMBR.00060–12>

BUIATTI, Stefano et al., 1995. Determination of biogenic amines in alcoholic and non-alcoholic beers by HPLC. *Food Chemistry* [online]. **52**(2), 199–202 [cit. 2020–04–08]. DOI: 10.1016/0308–8146(94)P4204–S. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0308814694P4204S>

CAMPBELL–PLATT, Geoffrey, ed., 2009. *Food science and technology*. Chichester, West Sussex, UK: Wiley–Blackwell. ISBN 978–0–632–06421–2.

COMAS–BASTÉ, Oriol et al., 2020. Lyophilised legume sprouts as a functional ingredient for diamine oxidase enzyme supplementation in histamine intolerance. *LWT* [online]. **125** [cit. 2020–03–27]. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109201. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643820301894>

ČESKO, Vyhláška č. 305 zo dňa 06.05.2004, ktorou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách. In: Sbíрка zákonů České republiky. 2004, částka 100/2004. část 7, tab 1. Dostupné tiež z: <https://www.zakonyprolidi.cz/print/cs/2004–305/zneni–20040520.htm?sil=1>

ČESKO. Vyhláška č. 298 zo dňa 28.11.1997 ktorou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnosť jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky jejich použití, jejich označování na obalech, požadavky na čistotu a identitu přídatných látek a potravních doplňků a mikrobiologické požadavky na potravní doplňky a látky přídatné. In: Sbíрка zákonů České republiky. 1997, částka 99/1997.část 20, tab 1. Dostupné tiež z: <https://www.zakonyprolidi.cz/print/cs/1997–298/zneni–20000901.htm?sil=1>

ČUBOŇ, Juraj a kol., 2019. Biogénne amíny. *SciCell Magazín – Odborný online magazín* [online]. **2019** [cit. 2019–04–27]. ISSN 2585–9137. Dostupné z: <https://www.scicell.org/2019/01/30/biogenne–aminy/>

DADÁKOVÁ, Eva, Tamara PELIKÁNOVÁ a Pavel KALAČ, 2009. Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. *European Food Research and Technology* [online]. **230**(1), 163–171 [cit. 2020–04–15]. DOI: 10.1007/s00217-009-1148-3. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-009-1148-3>

DANIEL, Daniela et al., 2015. Determination of biogenic amines in beer and wine by capillary electrophoresis–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. **1416**, 121–128 [cit. 2020–03–29]. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.08.065. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967315012625>

DE ROOS, Jonas, Peter VANDAMME a Luc DE VUYST, 2018. Wort Substrate Consumption and Metabolite Production During Lambic Beer Fermentation and Maturation Explain the Successive Growth of Specific Bacterial and Yeast Species. *Frontiers in Microbiology* [online]. **9** [cit. 2020–04–02]. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02763. ISSN 1664–302X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02763/full>

DUNN, Barbara, 2013. *The Oxford Companion to Beer: Ale yeasts* [online]. Oxford: Oxford University Press [cit. 2020–04–20]. DOI: 10.1093/acref/9780195367133.001.0001. ISBN

9780195367133. Dostupné z: https://books.google.sk/books?id=oWQdjnVo2B0C&printsec=frontcover&source=gbg_summary_r&cad=0#v=snippet&q=dunn&f=false

E. BRIGGS, Dennis et al., 2004. An outline of brewing. *Brewing* [online]. England: Woodhead Publishing, s. 1–10 [cit. 2020–01–30]. DOI: 10.1533/9781855739062.1. ISBN 9781855734906.

Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781855734906500015>

EDNEY, M.J. a M.S. IZYDORCZYK, 2003. MALT | Malt Types and Products. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* [online]. Elsevier, s. 3671–3677 [cit. 2020–03–09]. DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/00730-6. ISBN 9780122270550. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B012227055X007306>

EFSA, 2011. Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal* [online]. **9**(10) [cit. 2020–04–21]. DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2393. ISSN 18314732.

Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2011.2393>

EKICI, Kamil et al., 2020. Biogenic amines formation and their importance in fermented foods. *BIO Web of Conferences* [online]. **17** [cit. 2020–04–02]. DOI: 10.1051/bioconf/20201700232. ISSN 2117–4458. Dostupné z: <https://www.bio-conferences.org/10.1051/bioconf/20201700232>

ERDAG, Dincer, Oguz MERHAN a Baris YILDIZ, 2019. Biochemical and Pharmacological Properties of Biogenic Amines. PROESTOS, Charalampos, ed. *Biogenic Amines* [online]. IntechOpen [cit. 2020–03–24]. DOI: 10.5772/intechopen.81569. ISBN 978–1–78984–133–6. Dostupné z: <https://www.intechopen.com/books/biogenic-amines/biochemical-and-pharmacological-properties-of-biogenic-amines>

EUMANN, M., 2006. Water in brewing. *Brewing* [online]. Elsevier, s. 183–207 [cit. 2020–03–09]. DOI: 10.1533/9781845691738.183. ISBN 9781845690038. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781845690038500095>

FEDDERN, V. et al., 2019. A review on biogenic amines in food and feed: toxicological aspects, impact on health and control measures. *Animal Production Science* [online]. **59**(4) [cit. 2020–03–26]. DOI: 10.1071/AN18076. ISSN 1836–0939. Dostupné z: <http://www.publish.csiro.au/?paper=AN18076>

GALARCE, Oscar et al., 2016. A Selective Chromatographic Method to Determine the Dynamic of Biogenic Amines During Brewing Process. *Food Analytical Methods* [online]. **9**(12), 3385–3395 [cit. 2020–05–03]. DOI: 10.1007/s12161–016–0526–2. ISSN 1936–9751. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12161–016–0526–2>

GALGANO, Fernanda et al., 2012. Focused Review: Agmatine in Fermented Foods. *Frontiers in Microbiology* [online]. **3** [cit. 2020–04–05]. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00199. ISSN 1664–302X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00199/abstract>

GLÓRIA, M. Beatriz A. a Maria IZQUIERDO–PULIDO, 1999. Levels and Significance of Biogenic Amines in Brazilian Beers. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. **12**(2), 129–136 [cit. 2020–05–05]. DOI: 10.1006/jfca.1999.0817. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157599908177>

GOLDAMMER, Ted, 2008. Brewers Yeast. *The Brewer's Handbook*. 1. U.S.A.: Apex Publishers, s. 496. ISBN 978–0–9675212–3–7.

GUPTA, Vijai Kumar et al., [2016]. *Microbial applications: recent advancements and future developments*. Boston: de Gruyter. ISBN 978–3110412208.

HALÁSZ, A., Ágnes BARÁTH a Wilhelm H. HOLZAPFEL, 1999. The biogenic amine content of beer; the effect of barley, malting and brewing on amine concentration. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und –Forschung A* [online]. **208**(5–6), 418–423 [cit. 2020–04–21]. DOI: 10.1007/s002170050440. ISSN 1431–4649. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s002170050440>

HALÁSZ, Anna et al., 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science & Technology* [online]. **5**(2), 42–49 [cit. 2020–03–25]. DOI: 10.1016/0924–2244(94)90070–1. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0924224494900701>

HOUGH, J. S. et al., 1982. Microbiological Contamination in Breweries. HOUGH, J. S. et al. *Malting and Brewing Science* [online]. Boston, MA: Springer US, s. 741–775 [cit. 2020–02–22]. DOI: 10.1007/978–1–4615–1799–3_10. ISBN 978–1–4613–5727–8. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978–1–4615–1799–3_10

HŘIVNA, Luďek, 2015. *Technologie výroby sladu a piva: chmel a chmelové výrobky* [online]. [cit. 2020–03–19]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=2447

ISERENTANT, D., 2003. Beers: Recent Technological Innovations in Brewing. LEA, Andrew G. H. a John R. PIGGOTT, ed. *Fermented Beverage Production* [online]. Boston, MA: Springer US, s. 41–58 [cit. 2020–03–20]. DOI: 10.1007/978–1–4615–0187–9_3. ISBN 978–0–306–47706–5. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978–1–4615–0187–9_3

IZQUIERDO–PULIDO, M., A. MARINÉ–FONT a M.C. VIDAL–CAROU, 1994. Biogenic Amines Formation during Malting and Brewing. *Journal of Food Science* [online]. **59**(5), 1104–1107 [cit. 2020–05–05]. DOI: 10.1111/j.1365–2621.1994.tb08201.x. ISSN 0022–1147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365–2621.1994.tb08201.x>

IZQUIERDO–PULIDO, Maria et al., 1996. Biogenic Amines in European Beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **44**(10), 3159–3163 [cit. 2020–04–07]. DOI: 10.1021/jf960155j. ISSN 0021–8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf960155j>

JARISCH, Reinhart, ed., 2015. *Histamine Intolerance* [online]. 1. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1007/978–3–642–55447–6. ISBN 978–

3–642–55446–9. Dostupné z: https://books.google.sk/books?id=CgRNBQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=sk&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

JESPERSEN, L. a M. JAKOBSEN, 1996. Specific spoilage organisms in breweries and laboratory media for their detection. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **33**(1), 139–155 [cit. 2020–02–22]. DOI: 10.1016/0168–1605(96)01154–3. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0168160596011543>

JONES, Nick R., 2013. *Ale: The Oxford Companion to Beer* [online]. Oxford: Oxford University Press [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1093/acref/9780195367133.001.0001. ISBN 9780195367133. Dostupné z: https://books.google.sk/books?id=oWQdjnVo2B0C&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=snippet&q=ale&f=false

KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH, 2009. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: Technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing. Monografie (Key Publishing). ISBN 978–80–7418–051–4.

KALÁČ, Pavel a Martin KŘÍEK, 2003. A Review of Biogenic Amines and Polyamines in Beer. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. **109**(2), 123–128 [cit. 2020–04–05]. DOI: 10.1002/j.2050–0416.2003.tb00141.x. ISSN 00469750.

Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/j.2050–0416.2003.tb00141.x>

KALÁČ, Pavel, Věra HLAVATÁ a Martin KŘÍŽEK, 1997. Concentrations of five biogenic amines in Czech beers and factors affecting their formation. *Food Chemistry* [online]. **58**(3), 209–214 [cit. 2020–05–03]. DOI: 10.1016/S0308–8146(96)00098–2. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814696000982>

KOHAJDOVÁ, Zlatica a Jolana KAROVIČOVÁ, 2005. Biogenic amines in food. *Chemical papers* [online]. de Gruyter, **59**(1), 70–75 [cit. 2019–02–26]. ISSN 1336–9075. Dostupné z: https://www.chempap.org/file_access.php?file=591a70.pdf

KOHAJDOVÁ, Zlatica, Jolana KAROVIČOVÁ a G. GREIF, 2008. Potravinářstvo: Biogénne amíny v potravinách. In: *Potravinářstvo* [online]. **2**(1), s. 30–49 [cit. 2020–03–25]. ISSN 1337–0960. Dostupné z: https://www.potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo_no1_2008.pdf

KOPECKÁ, Jana, Dagmar MATOULKOVÁ a Miroslav NĚMEC, 2014. Surface characteristics and taxonomy of brewing yeasts. *Kvasny Prumysl* [online]. **60**(7), 182–190 [cit. 2020–03–20]. DOI: 10.18832/kp2014018. ISSN 00235830. Dostupné z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2014018.html>

KOVACOVA–HANUSKOVA, E. et al., 2015. Histamine, histamine intoxication and intolerance. *Allergologia et Immunopathologia* [online]. **43**(5), 498–506 [cit. 2020–03–27]. DOI: 10.1016/j.aller.2015.05.001. ISSN 03010546. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301054615000932>

LINKO, Matti et al., 1998. Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology* [online]. **65**(2–3), 85–98 [cit. 2020–03–18]. DOI: 10.1016/S0168–

1656(98)00135–7. ISSN 01681656. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165698001357>

LORENCOVÁ, Eva et al., 2012. Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from dairy products and beer. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. **47**(10), 2086–2091 [cit. 2020–04–01]. DOI: 10.1111/j.1365–2621.2012.03074.x. ISSN 09505423. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365–2621.2012.03074.x>

LORET, S., P. DELOYER a G. DANDRIFOSSE, 2005. Levels of biogenic amines as a measure of the quality of the beer fermentation process: Data from Belgian samples. *Food Chemistry* [online]. **89**(4), 519–525 [cit. 2020–04–03]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.010. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814604002365>

MATOUJKOVÁ, Dagmar a Jan ŠAVEL, 2007. Brewing and the taxonomy of brewer's yeast. *Kvasný Průmysl* [online]. **53**(7), 206–214 [cit. 2020–03–20]. DOI: 10.18832/kp2007012. ISSN 00235830. Dostupné z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2007012.html>

MATOUJKOVÁ, Dagmar, Jana KOPECKÁ a Petra KUBIZNIAKOVÁ, 2013. Brewing microbiology – wild yeasts and methods of their detection. *Kvasný Průmysl* [online]. **59**(9), 246–257 [cit. 2020–02–22]. DOI: 10.18832/kp2013025. ISSN 00235830. Dostupné z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2013025.html>

MEZEROVÁ, Michaela, 2017. *Pivo*. Praha: Sdružení českých spotřebitelů, z.ú., 21 s. Jak poznáme kvalitu? ISBN 978–80–88019–21–3.

MOSHER, Michael a Kenneth TRANTHAM. Beer Styles. MOSHER, Michael a Kenneth TRANTHAM. *Brewing Science: A Multidisciplinary Approach* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2017, 2017–11–15, s. 35–61 [cit. 2020–03–06]. DOI: 10.1007/978–3–319–46394–0_2. ISBN 978–3–319–46393–3. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978–3–319–46394–0_2

NALAZEK–RUDNICKA, Katarzyna a Andrzej WASIK, 2017. Development and validation of an LC–MS/MS method for the determination of biogenic amines in wines and beers. *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly* [online]. **148**(9), 1685–1696 [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1007/s00706–017–1992–y. ISSN 0026–9247. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00706–017–1992–y>

NOUT, M.J.R., 1994. Fermented foods and food safety. *Food Research International* [online]. **27**(3), 291–298 [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1016/0963–9969(94)90097–3. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0963996994900973>

NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA, 2013. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková. ISBN 978–80–260–4243–3.

NOVOTNÝ, Petr, 2019. *Pivařka²: průvodce domácího sládky: teorie, rady, návody, recepty*. V Brně: Jota, 002–003. Populárně naučná. ISBN 9788075655554.

OLŠOVSKÁ, Jana et al., 2017. *Senzorická analýza piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovar-
ský a sladařský. ISBN 978-80-86576-74-9.

ÖZOGUL, Yesim a Fatih ÖZOGUL, 2019. Chapter 1. Biogenic Amines Formation, Toxi-
city, Regulations in Food. SAAD, Bahruddin a Rosanna TOFALO, ed. *Biogenic Amines in
Food* [online]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, s. 1–17 [cit. 2020–03–25]. Food
Chemistry, Function and Analysis. DOI: 10.1039/9781788015813–00001. ISBN 978–1–
78801–436–6. Dostupné z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781788015813–00001>

PALMER, John J. a Colin KAMINSKI, c2013. *Water: a comprehensive guide for brewers*.
Boulder, Colo.: Brewers Publications. ISBN 9780937381991.

PERPETUINI, G. et al., 2019. Chapter 8. Biogenic Amines in Global Beverages. SAAD,
Bahruddin a Rosanna TOFALO, ed. *Biogenic Amines in Food* [online]. Cambridge: Royal
Society of Chemistry, s. 133–156 [cit. 2020–03–29]. Food Chemistry, Function and Analy-
sis. DOI: 10.1039/9781788015813–00133. ISBN 978–1–78801–436–6. Dostupné z:
<http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781788015813–00133>

PRADENAS, Javier et al., 2016. Occurrence of biogenic amines in beers from Chilean mar-
ket. *Food Control* [online]. **70**, 138–144 [cit. 2020–04–21]. DOI: 10.1016/j.food-
cont.2016.05.043. ISSN 09567135. Dostupné z: [https://linkinghub.elsevier.com/re-
trieve/pii/S0956713516302778](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516302778)

PREEDY, Victor R. a Ronald R. WATSON, 2005. *Review in food and nutrition toxicity*. 2.
USA: CRC Press. ISBN 0–8493–2757–1.

PRIEST, F. G. a Graham G. STEWART, 2006. *Handbook of brewing* [online]. 2nd ed. Boca
Raton: CRC/Taylor & Francis [cit. 2020–03–21]. Food science and technology (Taylor &
Francis), 157 ISBN 978–0824726577. Dostupné–z: [https://bo-
oks.google.sk/books?id=Ut3LBQAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary
_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.sk/books?id=Ut3LBQAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

ROMERO, Roberto et al., 2003. The influence of the brewing process on the formation of
biogenic amines in beers. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. **376**(2), 162–167
[cit. 2020–05–03]. DOI: 10.1007/s00216–003–1885–2. ISSN 1618–2642. Dostupné z:
<http://link.springer.com/10.1007/s00216–003–1885–2>

RUIZ–CAPILLAS, Claudia a Ana HERRERO, 2019. Impact of Biogenic Amines on Food
Quality and Safety. *Foods* [online]. **8**(2) [cit. 2020–03–26]. DOI: 10.3390/foods 8020062.
ISSN 2304–8158. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/23048158/8/2/62>

SAKAMOTO, Kanta a Wil N KONINGS, 2003. Beer spoilage bacteria and hop re-
sistance. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **89**(2–3), 105–124 [cit. 2020–
02–22]. DOI: 10.1016/S0168–1605(03)00153–3. ISSN 01681605. Dostupné z: [https://lin-
kinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160503001533](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160503001533)

SANTOS, M.H.Silla, 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **29**(2–3), 213–231 [cit. 2020–03–25]. DOI: 10.1016/0168–1605(95)00032–1. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0168160595000321>

SHALABY, Ali R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International* [online]. **29**(7), 675–690 [cit. 2020–03–25]. DOI: 10.1016/S0963–9969(96)00066–X. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399699600066X>

SIMPSON, Benjamin et al., ed., 2012. *Food biochemistry and food processing*. Second edition. Ames, Iowa, USA: Wiley–Blackwell. ISBN 9781118308035.

SŁOMKOWSKA, Anna a Wojciech AMBROZIAK, 2002. Biogenic amine profile of the most popular Polish beers. *European Food Research and Technology* [online]. **215**(5), 380–383 [cit. 2020–05–05]. DOI: 10.1007/s00217–002–0571–5. ISSN 1438–2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217–002–0571–5>

SMĚLÁ, Dana, PECHOVÁ, Pavla et al., ed., 2004. Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chem. Listy* [online]. Praha, **2004**(98), 432–437 [cit. 2019-04-06]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_07_07.pdf

SPANO, G et al., 2010. Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition* [online]. **64**(S3), S95–S100 [cit. 2020–04–20]. DOI: 10.1038/ejcn.2010.218. ISSN 0954–3007. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/ejcn2010218>

STOJANOVIĆ, Zorica a Jovana KOS, 2020. Detection of Metabolites of Microbial Origin in Beverages With Harmful Effect on Human Health—Biogenic Amines and Mycotoxins. *Safety Issues in Beverage Production* [online]. Elsevier, s. 39–77 [cit. 2020–04–22]. DOI: 10.1016/B978–0–12–816679–6.00002–4. ISBN 9780128166796. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128166796000024>

SUZZI, Giovanna a Sandra TORRIANI, 2015. Editorial: Biogenic amines in foods. *Frontiers in Microbiology* [online]. **6** [cit. 2020–04–05]. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00472. ISSN 1664–302X.

Dostupné z: http://www.frontiersin.org/Food_Microbiology/10.3389/fmicb.2015.00472/full

ŠAVEL, Jan, 1980. *Mikrobiologická kontrola v pivovarech*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury.

TANG, Tao et al., 2009. Determination of biogenic amines in beer with pre-column derivatization by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* [online]. **877**(5–6), 507–512 [cit. 2020–04–21]. DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.12.064. ISSN 15700232. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023208009616>

TAYLOR, Bill, 2013. *The Oxford Companion to Beer: Lager yeasts* [online]. Oxford: Oxford University Press [cit. 2020–04–20]. DOI: 10.1093/acref/9780195367133.001.0001.

ISBN 9780195367133. Dostupné z: https://books.google.sk/books?id=oWQdjnVo2B0C&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=snippet&q=lager%20yeast&f=false

TAYLOR, David G., STEWART, Graham G., Inge RUSSELL a Anne ANSTRUTHER, ed., 2017. *Handbook of Brewing: Water* [online]. 3. CRC Press [cit. 2020–03–17]. DOI: 10.1201/9781351228336. ISBN 9781351228336. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=Lo6DwAAQBAJ&pg=PT158&hl=sk&source=gbs_selected_pages&cad=2#v=onepage&q=water&f=false

VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ, 2009. *Chemie potravin II* [online]. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS [cit. 2020–03–25]. ISBN 978–80–86659–16–9. Dostupné z: http://kramerius4.mendelu.cz/search/i.jsp?pid=uuid:68d8cb10-6a12-11e2-b1160013d398622b&q=potravinny#monograph-page_uuid:222d83e0-6a12-11e2-a9f5-0013d398622b

VERHOEF, Berry, 1999. *Encyklopedie piva: Ingrediencie*. 2. vyd. Čestlice: Rebo Productions. ISBN 8072341162.

Vyhláška č.248/2018 Sb., o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. Česká republika, Sbírka Zakonu CR. Celexové číslo: 7*CZE_268454. Dostupné také z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?qi=1587148560700&uri=CELEX:72009L0106CZE_268454

Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí, 2018. In: *Zákony pro lidi: Ministerstvo zemědělství*, ročník 2018, číslo 248.

WAŠKO, Adam, GUSTAW, Klaudia, 2018. Biogenic amines in alcoholic beverages. STADNIK, Joanna. *Biogenic amines (BA): origins, biological importance and human health implications*. New York: Nova Science Publishers. ISBN 9781536127126. Dostupné také z: https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/24309/1/Elias2018_BA.pdf#page=195

WUNDERLICH, Sascha, Achim ZÜRCHER a Werner BACK, 2005. Enrichment of xanthohumol in the brewing process. *Molecular Nutrition & Food Research* [online]. **49**(9), 874–881 [cit. 2020–05–06]. DOI: 10.1002/mnfr.200500051. ISSN 1613–4125. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.200500051>

Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. Česká republika: Sbírka Zakonu CR. Celkové číslo: 7*CZE_26468. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=NIM%3A26468>

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

ATP	Adenozíntrifosfát	Adenosine triphosphate
BA	Biogénne amíny	Biogenic amines
CAD	Kadaverín	Cadaverine
DAO	Diaminooxidáza	Diamine oxidase
EPM	Extrakt pôvodnej mladiny	Original wort extract
HIS	Histamín	Histamine
HIT	Histamínová intolerancia	Histamine intolerance
HNMT	Histamín–N–metyltransferáza	Histamine–N–methyltransferase
HPLC	Vysokoučinná kvapalinová chromatografia	High Performance Liquid Chromatography
LAB	Baktérie mliečneho kvasenia	Lactic acid bacteria
MAO	Monoaminooxidáza	Monoamine oxidase
NA	Neanalyzované	Not analyzed
PHE	Fenyetylamin	Phenylethylamine
POF	Fenolické chuťové vady	Phenolic off-flavor
PUT	Putrescín	Putrescine
SPD	Spermidín	Spermidine
SPM	Spermín	Spermine
TYM	Tyramín	Tyramine
UV	Ultrafialové	Ultraviolet
VIS	Viditeľné	Visible
ŽPČ	Žatecký poloranný červeňák	

ZOZNAM OBRÁZKOV

<i>Obrázok 1. Prehľad najčastejších mikroorganizmov pivovarníctve (prepracované podľa Bokulich a Bamforth, 2013).</i>	10
<i>Obrázok 2. Prehľad druhov spodne kvasených pív (prepracované podľa Basařová et al., 2011).</i>	17
<i>Obrázok 3. Prehľad druhov vrchne kvasených pív (prepracované podľa Basařová et al., 2010).</i>	18
<i>Obrázok 4. Schéma výroby piva (prepracované podľa Wunderlich, Zürcher a Back, 2005).</i>	24
<i>Obrázok 5. Separácia zmesí dvoch látok v chromatografickom systéme (prepracované z Nováková et al., 2013).</i>	41
<i>Obrázok 6. Bloková schéma HPLC (prepracované podľa Komprda, 2007).</i>	41

ZOZNAM TABULIEK

<i>Tabuľka 1. Divoké kvasinky, popísané v pivovarníctve (prepracované podľa Šavel, 1980).</i>	14
<i>Tabuľka 2. Baktérie vyskytujúce sa najčastejšie v pivovarníctve (Basařová et al., 2010).</i>	15
<i>Tabuľka 4. Parametre vody vhodnej k vareniu piva (prepracované podľa Eumann 2006).</i>	19
<i>Tabuľka 5. Základný popis skúmaných pív.</i>	37
<i>Tabuľka 6. Podrobný popis skúmaných pív.</i>	38
<i>Tabuľka 7. Koncentrácia fenyletylamínu (mg/l).</i>	43
<i>Tabuľka 8. Koncentrácia putrescínu (mg/l).</i>	45
<i>Tabuľka 9. Koncentrácia kadaverínu (mg/l).</i>	46
<i>Tabuľka 10. Koncentrácia histamínu (mg/l).</i>	47
<i>Tabuľka 11. Koncentrácia tyramínu (mg/l).</i>	48
<i>Tabuľka 12. Koncentrácia spermidínu (mg/l).</i>	49
<i>Tabuľka 13. Koncentrácia sperminu (mg/l).</i>	50
<i>Tabuľka 15. Koncentrácia fenyletylamínu (mg/l).</i>	52
<i>Tabuľka 16. Koncentrácia putrescínu (mg/l).</i>	53
<i>Tabuľka 17. Koncentrácia kadaverínu (mg/l).</i>	54
<i>Tabuľka 18. Koncentrácia histamínu (mg/l).</i>	55
<i>Tabuľka 19. Koncentrácia tyramínu (mg/l).</i>	56
<i>Tabuľka 20. Koncentrácia spermidínu (mg/l).</i>	57
<i>Tabuľka 21. Koncentrácia sperminu (mg/l).</i>	58

ZOZNAM PRÍLOH

Príloha P I: ANOVA a post-hoc Tukey test – slad

Príloha P II: ANOVA a post-hoc Tukey test– mladina

Príloha P III: ANOVA a post-hoc Tukey test–prekvasená mladina

PRÍLOHA P I: ANOVA a post-hoc TUKEY test – SLAD

Analýza rozptylu SLADY								
Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < 0,05$								
Proměnná	SČ (efekt)	SV (efekt)	PČ (efekt)	SČ (chyba)	SV (chyba)	PČ (chyba)	F	p
Fenyletylamín [mg/l]	2008,8	4	502,20	9988,7	79	126,440	3,97185	0,005472
putrescín [mg/l]	46332,3	4	11583,08	49362,0	79	624,836	18,53780	0,000000
kadaverín [mg/l]	235,9	4	58,97	4143,5	79	52,449	1,12442	0,351042
histamín [mg/l]	584,0	4	146,00	3809,9	79	48,226	3,02746	0,022353
tyramín [mg/l]	864,7	4	216,18	32949,4	79	417,081	0,51831	0,722486
spermidín [mg/l]	10176,9	4	2544,23	5823,5	79	73,716	34,51407	0,000000
spermín [mg/l]	173973,9	4	43493,48	134864,1	79	1707,141	25,47738	0,000000

Tukeyův HSD test - SLADY ; proměn.:fenyletylamín [mg/l]					
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$					
Slad	{1} (M=20,966)	{2} (M=21,568)	{3} (M=8,2165)	{4} (M=14,263)	{5} (M=10,204)
viedeňský {1}		0,999877	0,166524	0,448509	0,142100
plzeňský {2}	0,999877		0,070283	0,133936	0,032379
viedeňský {3}	0,166524	0,070283		0,763805	0,996659
mníchovský {4}	0,448509	0,133936	0,763805		0,845037
karamelový {5}	0,142100	0,032379	0,996659	0,845037	

Tukeyův HSD test- SLADY ; proměn.:putrescín [mg/l]					
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$					
Slad	{1} (M=90,062)	{2} (M=77,259)	{3} (M=89,714)	{4} (M=71,643)	{5} (M=14,052)
viedeňský {1}		0,565935	1,000000	0,237318	0,000121
plzeňský {2}	0,565935		0,798659	0,923691	0,000121
viedeňský {3}	1,000000	0,798659		0,512129	0,000122
mníchovský {4}	0,237318	0,923691	0,512129		0,000121
karamelový {5}	0,000121	0,000121	0,000122	0,000121	

Tukeyův HSD test- SLADY ; proměn.:kadaverín [mg/l]					
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$					
Slad	{1} (M=6,0703)	{2} (M=9,8302)	{3} (M=6,4921)	{4} (M=9,8105)	{5} (M=6,5199)
viedeňský {1}		0,552837	0,999962	0,590791	0,999891
plzeňský {2}	0,552837		0,840485	1,000000	0,668432
viedeňský {3}	0,999962	0,840485		0,852910	1,000000
mníchovský {4}	0,590791	1,000000	0,852910		0,701089
karamelový {5}	0,999891	0,668432	1,000000	0,701089	

Tukeyův HSD test- SLADY ; proměn.:histamín [mg/l]					
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$					
Slad	{1} (M=2,2495)	{2} (M=9,4030)	{3} (M=2,7132)	{4} (M=5,3631)	{5} (M=6,2654)
viedeňský {1}		0,027738	0,999935	0,711389	0,619052
plzeňský {2}	0,027738		0,208236	0,220297	0,678030
vídeňský {3}	0,999935	0,208236		0,918658	0,844078
mníchovský {4}	0,711389	0,220297	0,918658		0,996100
karamelový {5}	0,619052	0,678030	0,844078	0,996100	

Tukeyův HSD test- SLADY ; proměn.:tyramín [mg/l]					
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$					
Slad	{1} (M=32,365)	{2} (M=40,369)	{3} (M=35,861)	{4} (M=36,981)	{5} (M=32,323)
viedeňský {1}		0,780863	0,997052	0,968157	1,000000
plzeňský {2}	0,780863		0,987814	0,973875	0,777543
vídeňský {3}	0,997052	0,987814		0,999957	0,996912
mníchovský {4}	0,968157	0,973875	0,999957		0,967093
karamelový {5}	1,000000	0,777543	0,996912	0,967093	

Tukeyův HSD test- SLADY ; proměn.:spermidín [mg/l]					
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$					
Slad	{1} (M=30,832)	{2} (M=35,340)	{3} (M=34,867)	{4} (M=29,029)	{5} (M=1,9285)
viedeňský {1}		0,541867	0,880505	0,975677	0,000121
plzeňský {2}	0,541867		0,999953	0,065534	0,000121
vídeňský {3}	0,880505	0,999953		0,572290	0,000121
mníchovský {4}	0,975677	0,065534	0,572290		0,000121
karamelový {5}	0,000121	0,000121	0,000121	0,000121	

Tukeyův HSD test- SLADY ; proměn.:spermín [mg/l]					
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$					
Slad	{1} (M=161,50)	{2} (M=183,23)	{3} (M=182,94)	{4} (M=147,37)	{5} (M=44,886)
viedeňský {1}		0,540280	0,837092	0,868958	0,000121
plzeňský {2}	0,540280		1,000000	0,018090	0,000121
vídeňský {3}	0,837092	1,000000		0,333288	0,000121
mníchovský {4}	0,868958	0,018090	0,333288		0,000121
karamelový {5}	0,000121	0,000121	0,000121	0,000121	

PRÍLOHA P II: ANOVA A POST-HOC TUKEY TEST- MLADINA

Analýza rozptylu - MLADINA								
Označ. efekty jsou významné na hlad. $p < 0,05$								
	SČ (efekt)	SV (efekt)	PČ (efekt)	SČ (chyba)	SV (chyba)	PČ (chyba)	F	p
Biogénne aminy								
Fenyletylamín [mg/l]	2759,9	9	306,66	240,9203	20	12,04601	25,4570	0,000000
putrescín [mg/l]	23424,5	9	2602,72	671,3318	20	33,56659	77,5390	0,000000
kadaverín [mg/l]	46278,6	9	5142,07	258,9497	20	12,94749	397,1479	0,000000
histamín [mg/l]	2000,6	9	222,29	265,6205	20	13,28102	16,7377	0,000000
tyramín [mg/l]	8551,8	9	950,20	575,2879	20	28,76439	33,0340	0,000000
spermidín [mg/l]	172,9	9	19,21	15,5826	20	0,77913	24,6501	0,000000
spermín [mg/l]	108553,0	9	12061,44	783,9911	20	39,19955	307,6934	0,000000

Tukeyův HSD test- MLADINA; proměn.:Fenyletylamín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=3,0082)	{2} (M=19,566)	{3} (M=8,1671)	{4} (M=6,6110)	{5} (M=28,733)	{6} (M=28,010)	{7} (M=2,4022)	{8} (M=3,3693)	{9} (M=18,720)	{10} (M=14,840)
1		0,000488	0,716375	0,949234	0,000179	0,000179	1,000000	1,000000	0,000791	0,013275
2	0,000488		0,018396	0,005674	0,091644	0,147289	0,000368	0,000593	0,999999	0,800287
3	0,716375	0,018396		0,999888	0,000195	0,000203	0,587471	0,787081	0,034421	0,399259
4	0,949234	0,005674	0,999888		0,000188	0,000190	0,882940	0,973136	0,010767	0,168502
5	0,000179	0,091644	0,000195	0,000188		1,000000	0,000179	0,000179	0,050856	0,002808
6	0,000179	0,147289	0,000203	0,000190	1,000000		0,000179	0,000179	0,084342	0,004825
7	1,000000	0,000368	0,587471	0,882940	0,000179	0,000179		0,999998	0,000554	0,008392
8	1,000000	0,000593	0,787081	0,973136	0,000179	0,000179	0,999998		0,001001	0,017428
9	0,000791	0,999999	0,034421	0,010767	0,050856	0,084342	0,000554	0,001001		0,923157
10	0,013275	0,800287	0,399259	0,168502	0,002808	0,004825	0,008392	0,017428	0,923157	

Tukeyův HSD test- MLADINA; proměn.:putrescín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
vzorka	{1} (M=77,852)	{2} (M=80,434)	{3} (M=62,270)	{4} (M=150,79)	{5} (M=101,81)	{6} (M=84,242)	{7} (M=87,127)	{8} (M=65,657)	{9} (M=43,076)	{10} (M=60,437)
1		0,999894	0,081810	0,000179	0,002012	0,928596	0,632566	0,288824	0,000193	0,037587
2	0,999894		0,027045	0,000179	0,006361	0,997677	0,908576	0,113084	0,000187	0,011878
3	0,081810	0,027045		0,000179	0,000186	0,004852	0,001370	0,999060	0,017077	0,999994
4	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
5	0,002012	0,006361	0,000186	0,000179		0,035195	0,117478	0,000189	0,000179	0,000179
6	0,928596	0,997677	0,004852	0,000179	0,035195		0,999737	0,022433	0,000179	0,002147
7	0,632566	0,908576	0,001370	0,000179	0,117478	0,999737		0,006088	0,000179	0,000668
8	0,288824	0,113084	0,999060	0,000179	0,000189	0,022433	0,006088		0,003693	0,978632
9	0,000193	0,000187	0,017077	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,003693		0,038488
10	0,037587	0,011878	0,999994	0,000179	0,000179	0,002147	0,000668	0,978632	0,038488	

Tukeyův HSD test-MLADINA; proměn.:kadaverín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=5,8007)	{2} (M=15,017)	{3} (M=5,6294)	{4} (M=42,048)	{5} (M=14,770)	{6} (M=19,740)	{7} (M=2,0325)	{8} (M=138,33)	{9} (M=4,3331)	{10} (M=5,9414)
1		0,110331	1,000000	0,000179	0,129002	0,003926	0,946602	0,000179	0,999949	1,000000
2	0,110331		0,098841	0,000179	1,000000	0,829998	0,007861	0,000179	0,041213	0,120629
3	1,000000	0,098841		0,000179	0,115829	0,003472	0,959313	0,000179	0,999982	1,000000
4	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000189	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
5	0,129002	1,000000	0,115829	0,000179		0,787823	0,009422	0,000179	0,048941	0,140763
6	0,003926	0,829998	0,003472	0,000189	0,787823		0,000381	0,000179	0,001399	0,004345
7	0,946602	0,007861	0,959313	0,000179	0,009422	0,000381		0,000179	0,998111	0,934335
8	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179
9	0,999949	0,041213	0,999982	0,000179	0,048941	0,001399	0,998111	0,000179		0,999891
10	1,000000	0,120629	1,000000	0,000179	0,140763	0,004345	0,934335	0,000179	0,999891	

Tukeyův HSD test-MLADINA; proměn. histamin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=1,4858)	{2} (M=12,942)	{3} (M=,84460)	{4} (M=27,802)	{5} (M=10,978)	{6} (M=9,6822)	{7} (M=1,4770)	{8} (M=,29130)	{9} (M=3,0525)	{10} (M=2,9179)
1		0,026470	1,000000	0,000179	0,099843	0,217634	1,000000	0,999992	0,999921	0,999963
2	0,026470		0,016784	0,002323	0,999504	0,979611	0,026306	0,011279	0,077220	0,070647
3	1,000000	0,016784		0,000179	0,065689	0,149874	1,000000	1,000000	0,998759	0,999239
4	0,000179	0,002323	0,000179		0,000655	0,000354	0,000179	0,000179	0,000186	0,000186
5	0,099843	0,999504	0,065689	0,000655		0,999984	0,099284	0,045193	0,252501	0,234696
6	0,217634	0,979611	0,149874	0,000354	0,999984		0,216564	0,106479	0,470882	0,444646
7	1,000000	0,026306	1,000000	0,000179	0,099284	0,216564		0,999993	0,999917	0,999961
8	0,999992	0,011279	1,000000	0,000179	0,045193	0,106479	0,999993		0,993387	0,995382
9	0,999921	0,077220	0,998759	0,000186	0,252501	0,470882	0,999917	0,993387		1,000000
10	0,999963	0,070647	0,999239	0,000186	0,234696	0,444646	0,999961	0,995382	1,000000	

Tukeyův HSD test-MLADINA; proměn. tyramin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=23,321)	{2} (M=62,981)	{3} (M=20,964)	{4} (M=18,404)	{5} (M=63,783)	{6} (M=35,018)	{7} (M=19,519)	{8} (M=25,667)	{9} (M=42,969)	{10} (M=51,091)
1		0,000179	0,999905	0,976114	0,000179	0,249439	0,995905	0,999909	0,006808	0,000277
2	0,000179		0,000179	0,000179	1,000000	0,000268	0,000179	0,000179	0,005692	0,232183
3	0,999905	0,000179		0,999813	0,000179	0,096249	0,999999	0,982079	0,002180	0,000210
4	0,976114	0,000179	0,999813		0,000179	0,029760	1,000000	0,804843	0,000706	0,000191
5	0,000179	1,000000	0,000179	0,000179		0,000238	0,000179	0,000179	0,003854	0,170148
6	0,249439	0,000268	0,096249	0,029760	0,000238		0,050240	0,525893	0,719208	0,038455
7	0,995905	0,000179	0,999999	1,000000	0,000179	0,050240		0,912159	0,001125	0,000196
8	0,999909	0,000179	0,982079	0,804843	0,000179	0,525893	0,912159		0,021408	0,000515
9	0,006808	0,005692	0,002180	0,000706	0,003854	0,719208	0,001125	0,021408		0,696319
10	0,000277	0,232183	0,000210	0,000191	0,170148	0,038455	0,000196	0,000515	0,696319	

Tukeyův HSD test-MLADINA; proměn. spermidin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=8,2856)	{2} (M=10,524)	{3} (M=5,2347)	{4} (M=7,2088)	{5} (M=5,4324)	{6} (M=6,4999)	{7} (M=1,0723)	{8} (M=7,7145)	{9} (M=4,5823)	{10} (M=7,2270)
1		0,116956	0,011729	0,879405	0,021050	0,335799	0,000179	0,997933	0,001728	0,889208
2	0,116956		0,000193	0,005340	0,000201	0,000739	0,000179	0,023920	0,000186	0,005636
3	0,011729	0,000193		0,223307	1,000000	0,753338	0,000539	0,061252	0,994459	0,214117
4	0,879405	0,005340	0,223307		0,342182	0,990062	0,000179	0,999195	0,040567	1,000000
5	0,021050	0,000201	1,000000	0,342182		0,884479	0,000371	0,104386	0,967517	0,329777
6	0,335799	0,000739	0,753338	0,990062	0,884479		0,000190	0,791133	0,253638	0,988183
7	0,000179	0,000179	0,000539	0,000179	0,000371	0,000190		0,000179	0,003005	0,000179
8	0,997933	0,023920	0,061252	0,999195	0,104386	0,791133	0,000179		0,009209	0,999397
9	0,001728	0,000186	0,994459	0,040567	0,967517	0,253638	0,003005	0,009209		0,038513
10	0,889208	0,005636	0,214117	1,000000	0,329777	0,988183	0,000179	0,999397	0,038513	

Tukeyův HSD test-MLADINA; proměn. spermin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=160,96)	{2} (M=179,87)	{3} (M=113,01)	{4} (M=153,90)	{5} (M=272,20)	{6} (M=120,74)	{7} (M=96,854)	{8} (M=105,69)	{9} (M=154,44)	{10} (M=271,95)
1		0,036261	0,000179	0,919635	0,000179	0,000187	0,000179	0,000179	0,948310	0,000179
2	0,036261		0,000179	0,001950	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,002420	0,000179
3	0,000179	0,000179		0,000187	0,000179	0,872183	0,105614	0,902470	0,000186	0,000179
4	0,919635	0,001950	0,000187		0,000179	0,000250	0,000179	0,000179	1,000000	0,000179
5	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	1,000000
6	0,000187	0,000179	0,872183	0,000250	0,000179		0,004574	0,156845	0,000235	0,000179
7	0,000179	0,000179	0,105614	0,000179	0,000179	0,004574		0,768503	0,000179	0,000179
8	0,000179	0,000179	0,902470	0,000179	0,000179	0,156845	0,768503		0,000179	0,000179
9	0,948310	0,002420	0,000186	1,000000	0,000179	0,000235	0,000179	0,000179		0,000179
10	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	1,000000	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	

PRÍLOHA P III: ANOVA A POST-HOC TUKEY TEST-PREKVAŠENÁ MLADINA

Analýza rozptylu -PREKVAŠENÁ MLADINA								
Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < 0,05$								
Biogénne amíny	SČ (efekt)	SV (efekt)	PČ (efekt)	SČ (chyba)	SV (chyba)	PČ (chyba)	F	p
Fenyletylamín [mg/l]	1370,06	9	152,229	181,1742	20	9,05871	16,8047	0,000000
putrescín [mg/l]	20137,09	9	2237,455	366,6538	20	18,33269	122,0473	0,000000
kadaverín [mg/l]	17129,31	9	1903,257	114,2172	20	5,71086	333,2698	0,000000
histamín [mg/l]	4300,37	9	477,819	26,0981	20	1,30490	366,1718	0,000000
tyramín [mg/l]	7445,38	9	827,265	181,7852	20	9,08926	91,0156	0,000000
spermidín [mg/l]	279,85	9	31,094	19,2345	20	0,96172	32,3315	0,000000
spermin [mg/l]	32687,88	9	3631,987	195,2577	20	9,76289	372,0198	0,000000

Tukeyův HSD test -PREKVAŠENÁ MLADINA; proměn. Fenyletylamín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=1,0133)	{2} (M=17,448)	{3} (M=4,1014)	{4} (M=20,980)	{5} (M=11,719)	{6} (M=12,619)	{7} (M=2,5899)	{8} (M=,82423)	{9} (M=3,8211)	{10} (M=6,6350)
1		0,000225	0,952558	0,000186	0,009006	0,004112	0,999604	1,000000	0,973336	0,436496
2	0,000225		0,000975	0,900841	0,412103	0,629883	0,000372	0,000218	0,000790	0,008199
3	0,952558	0,000975		0,000210	0,118311	0,058247	0,999718	0,933483	1,000000	0,986323
4	0,000186	0,900841	0,000210		0,031383	0,066129	0,000191	0,000186	0,000204	0,000492
5	0,009006	0,412103	0,118311	0,031383		0,999996	0,035092	0,007635	0,095445	0,566445
6	0,004112	0,629883	0,058247	0,066129	0,999996		0,016241	0,003495	0,046260	0,357179
7	0,999604	0,000372	0,999718	0,000191	0,035092	0,016241		0,999033	0,999948	0,811142
8	1,000000	0,000218	0,933483	0,000186	0,007635	0,003495	0,999033		0,960256	0,394031
9	0,973336	0,000790	1,000000	0,000204	0,095445	0,046260	0,999948	0,960256		0,972965
10	0,436496	0,008199	0,986323	0,000492	0,566445	0,357179	0,811142	0,394031	0,972965	

Tukeyův HSD test-PREKVAŠENÁ MLADINA; proměn. putrescín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=75,761)	{2} (M=64,275)	{3} (M=83,396)	{4} (M=134,79)	{5} (M=62,026)	{6} (M=45,889)	{7} (M=106,67)	{8} (M=55,745)	{9} (M=54,006)	{10} (M=63,966)
1		0,083140	0,496805	0,000179	0,022432	0,000179	0,000179	0,000583	0,000308	0,069916
2	0,083140		0,000909	0,000179	0,999595	0,001357	0,000179	0,354536	0,158864	1,000000
3	0,496805	0,000909		0,000179	0,000345	0,000179	0,000228	0,000187	0,000186	0,000772
4	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000187	0,000179	0,000179	0,000179
5	0,022432	0,999595	0,000345	0,000179		0,005158	0,000179	0,729990	0,432853	0,999878
6	0,000179	0,001357	0,000179	0,000179	0,005158		0,000179	0,195228	0,417328	0,001617
7	0,000179	0,000179	0,000228	0,000187	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179
8	0,000583	0,354536	0,000187	0,000179	0,729990	0,195228	0,000179		0,999951	0,400996
9	0,000308	0,158864	0,000186	0,000179	0,432853	0,417328	0,000179	0,999951		0,185521
10	0,069916	1,000000	0,000772	0,000179	0,999878	0,001617	0,000179	0,400996	0,185521	

Tukeyův HSD test- PREKVAŠENÁ MLADINA; proměn. kadaverín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=3,4638)	{2} (M=21,192)	{3} (M=2,0998)	{4} (M=34,545)	{5} (M=4,2331)	{6} (M=1,9386)	{7} (M=1,7918)	{8} (M=80,105)	{9} (M=3,6958)	{10} (M=2,1462)
1		0,000179	0,999219	0,000179	0,999993	0,998137	0,996290	0,000179	1,000000	0,999405
2	0,000179		0,000179	0,000212	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
3	0,999219	0,000179		0,000179	0,979877	1,000000	1,000000	0,000179	0,997376	1,000000
4	0,000179	0,000212	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
5	0,999993	0,000179	0,979877	0,000179		0,968119	0,953751	0,000179	1,000000	0,982557
6	0,998137	0,000179	1,000000	0,000179	0,968119		1,000000	0,000179	0,994667	1,000000
7	0,996290	0,000179	1,000000	0,000179	0,953751	1,000000		0,000179	0,990589	1,000000
8	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179
9	1,000000	0,000179	0,997376	0,000179	1,000000	0,994667	0,990589	0,000179		0,997899
10	0,999405	0,000179	1,000000	0,000179	0,982557	1,000000	1,000000	0,000179	0,997899	

Tukeyův HSD test-PREKVAŠENÁ MLADINA; proměn.histamin [mg/l]										
Označ. rozdílů jsou významné na hlad. p < 0,05										
Vzorka	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
	(M=,31387)	(M=23,308)	(M=2,9255)	(M=38,377)	(M=3,1105)	(M=1,4417)	(M=2,4036)	(M=3,3468)	(M=1,8980)	(M=2,1279)
1		0,000179	0,201621	0,000179	0,142414	0,962227	0,463496	0,088746	0,784241	0,642127
2	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
3	0,201621	0,000179		0,000179	1,000000	0,837693	0,999869	0,999978	0,978849	0,996345
4	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
5	0,142414	0,000179	1,000000	0,000179		0,734335	0,998540	1,000000	0,942338	0,984208
6	0,962227	0,000179	0,837693	0,000179	0,734335		0,986296	0,582415	0,999957	0,998837
7	0,463496	0,000179	0,999869	0,000179	0,998540	0,986296		0,987993	0,999900	0,999999
8	0,088746	0,000179	0,999978	0,000179	1,000000	0,582415	0,987993		0,854688	0,940607
9	0,784241	0,000179	0,978849	0,000179	0,942338	0,999957	0,999900	0,854688		1,000000
10	0,642127	0,000179	0,996345	0,000179	0,984208	0,998837	0,999999	0,940607	1,000000	

Tukeyův HSD test- PREKVAŠENÁ MLADINA; proměn.tyramin [mg/l]										
Označ. rozdílů jsou významné na hlad. p < 0,05										
Vzorka	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
	(M=8,4836)	(M=64,511)	(M=15,344)	(M=27,014)	(M=25,221)	(M=15,459)	(M=17,476)	(M=36,591)	(M=12,774)	(M=13,238)
1		0,000179	0,206194	0,000190	0,000215	0,190456	0,039834	0,000179	0,760191	0,650381
2	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
3	0,206194	0,000179		0,003954	0,018785	1,000000	0,995981	0,000179	0,985154	0,996336
4	0,000190	0,000179	0,003954		0,998923	0,004366	0,025137	0,024327	0,000532	0,000722
5	0,000215	0,000179	0,018785	0,998923		0,020742	0,108460	0,005127	0,002044	0,003019
6	0,190456	0,000179	1,000000	0,004366	0,020742		0,997335	0,000179	0,980205	0,994597
7	0,039834	0,000179	0,995981	0,025137	0,108460	0,997335		0,000188	0,663232	0,771763
8	0,000179	0,000179	0,000179	0,024327	0,005127	0,000179	0,000188		0,000179	0,000179
9	0,760191	0,000179	0,985154	0,000532	0,002044	0,980205	0,663232	0,000179		1,000000
10	0,650381	0,000179	0,996336	0,000722	0,003019	0,994597	0,771763	0,000179	1,000000	

Tukeyův HSD test- PREKVAŠENÁ MLADINA; proměn.spermidin [mg/l]										
Označ. rozdílů jsou významné na hlad. p < 0,05										
Vzorka	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
	(M=11,684)	(M=3,0517)	(M=2,9881)	(M=3,1227)	(M=7,2175)	(M=2,4883)	(M=,95923)	(M=2,1036)	(M=2,7295)	(M=1,8110)
1		0,000179	0,000179	0,000179	0,000746	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
2	0,000179		1,000000	1,000000	0,001518	0,999178	0,273456	0,966746	0,999992	0,856356
3	0,000179	1,000000		1,000000	0,001299	0,999682	0,309049	0,978483	0,999999	0,888763
4	0,000179	1,000000	1,000000		0,001816	0,997935	0,237311	0,948903	0,999956	0,815017
5	0,000746	0,001518	0,001299	0,001816		0,000446	0,000188	0,000268	0,000712	0,000219
6	0,000179	0,999178	0,999682	0,997935	0,000446		0,663560	0,999963	0,999999	0,996627
7	0,000179	0,273456	0,309049	0,237311	0,000188	0,663560		0,903629	0,480907	0,983168
8	0,000179	0,966746	0,978483	0,948903	0,000268	0,999963	0,903629		0,998136	0,999996
9	0,000179	0,999992	0,999999	0,999956	0,000712	0,999999	0,480907	0,998136		0,972652
10	0,000179	0,856356	0,888763	0,815017	0,000219	0,996627	0,983168	0,999996	0,972652	

Tukeyův HSD test-PREKVAŠENÁ MLADINA; proměn.spermin [mg/l]										
Označ. rozdílů jsou významné na hlad. p < 0,05										
Vzorka	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
	(M=95,199)	(M=77,475)	(M=81,709)	(M=147,67)	(M=172,39)	(M=53,556)	(M=93,367)	(M=115,55)	(M=88,625)	(M=107,28)
1		0,000206	0,001284	0,000179	0,000179	0,000179	0,999038	0,000187	0,289300	0,003991
2	0,000206		0,804329	0,000179	0,000179	0,000179	0,000306	0,000179	0,008737	0,000179
3	0,001284	0,804329		0,000179	0,000179	0,000179	0,005696	0,000179	0,233922	0,000179
4	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
5	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
6	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
7	0,999038	0,000306	0,005696	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,693814	0,000934
8	0,000187	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,090890
9	0,289300	0,008737	0,233922	0,000179	0,000179	0,000179	0,693814	0,000179		0,000193
10	0,003991	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000934	0,090890	0,000193	

PŘÍLOHA P IV: ANOVA A POST-HOC TUKEY TEST – HOTOVÉ PIVO

Analýza rozptylu-HOTOVÉ PIVO								
Označ. efekty jsou význ. na hlad. $p < 0,05$								
	SČ (efekt)	SV (efekt)	PČ (efekt)	SČ (chyba)	SV (chyba)	PČ (chyba)	F	p
Biogénne aminy								
Fenyletylamin [mg/l]	9984,69	9	1109,410	177,7889	20	8,88945	124,8008	0,000000
putrescín [mg/l]	30930,59	9	3436,733	455,1830	20	22,75915	151,0044	0,000000
kadaverín [mg/l]	910,73	9	101,192	124,6891	20	6,23445	16,2310	0,000000
histamin [mg/l]	969,39	9	107,710	126,4753	20	6,32377	17,0325	0,000000
tyramín [mg/l]	5957,74	9	661,971	335,9040	20	16,79520	39,4143	0,000000
spermidín [mg/l]	809,27	9	89,919	4,9294	20	0,24647	364,8296	0,000000
spermin [mg/l]	33089,30	9	3676,589	312,4967	20	15,62483	235,3042	0,000000

Tukeyův HSD test- HOTOVÉ PIVO; proměn. fenyletylamin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=13,603)	{2} (M=16,873)	{3} (M=1,1662)	{4} (M=13,540)	{5} (M=66,076)	{6} (M=15,433)	{7} (M=3,3076)	{8} (M=4,4005)	{9} (M=9,8896)	{10} (M=8,9505)
1		0,000210	0,999988	0,000851	0,000179	0,000291	0,941623	0,755397	0,019024	0,042565
2	0,000210		0,000256	0,923085	0,000179	0,999794	0,000753	0,001781	0,179255	0,088273
3	0,999988	0,000256		0,001938	0,000179	0,000475	0,995498	0,934853	0,045945	0,098414
4	0,000851	0,923085	0,001938		0,000179	0,998204	0,012510	0,032329	0,877343	0,678266
5	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
6	0,000291	0,999794	0,000475	0,998204	0,000179		0,002386	0,006174	0,442380	0,252719
7	0,941623	0,000753	0,995498	0,012510	0,000179	0,002386		0,999979	0,236612	0,419469
8	0,755397	0,001781	0,934853	0,032329	0,000179	0,006174	0,999979		0,455206	0,687817
9	0,019024	0,179255	0,045945	0,877343	0,000179	0,442380	0,236612	0,455206		0,999994
10	0,042565	0,088273	0,098414	0,678266	0,000179	0,252719	0,419469	0,687817	0,999994	

Tukeyův HSD test- HOTOVÉ PIVO; proměn. putrescín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=85,763)	{2} (M=118,05)	{3} (M=120,20)	{4} (M=58,179)	{5} (M=96,754)	{6} (M=81,773)	{7} (M=95,583)	{8} (M=6,8030)	{9} (M=52,873)	{10} (M=91,015)
1		0,000186	0,000179	0,000200	0,194339	0,986920	0,314917	0,000179	0,000186	0,929294
2	0,000186		0,999882	0,000179	0,000913	0,000179	0,000546	0,000179	0,000179	0,000206
3	0,000179	0,999882		0,000179	0,000384	0,000179	0,000282	0,000179	0,000179	0,000190
4	0,000200	0,000179	0,000179		0,000179	0,000367	0,000179	0,000179	0,925312	0,000186
5	0,194339	0,000913	0,000384	0,000179		0,026697	0,999999	0,000179	0,000179	0,887495
6	0,986920	0,000179	0,000179	0,000367	0,026697		0,049627	0,000179	0,000191	0,389736
7	0,314917	0,000546	0,000282	0,000179	0,999999	0,049627		0,000179	0,000179	0,968627
8	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179
9	0,000186	0,000179	0,000179	0,925312	0,000179	0,000191	0,000179	0,000179		0,000179
10	0,929294	0,000206	0,000190	0,000186	0,887495	0,389736	0,968627	0,000179	0,000179	

Tukeyův HSD test-HOTOVÉ PIVO; proměn. kadaverín [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=4,4067)	{2} (M=9,7704)	{3} (M=2,9869)	{4} (M=7,6612)	{5} (M=16,562)	{6} (M=18,615)	{7} (M=4,2592)	{8} (M=2,6235)	{9} (M=2,4087)	{10} (M=5,8933)
1		0,265927	0,999242	0,835160	0,000413	0,000205	1,000000	0,995678	0,990305	0,998915
2	0,265927		0,076641	0,986002	0,076027	0,009359	0,236781	0,053780	0,043431	0,668264
3	0,999242	0,076641		0,433569	0,000228	0,000189	0,999683	1,000000	1,000000	0,904864
4	0,835160	0,986002	0,433569		0,008818	0,001087	0,799675	0,339091	0,289529	0,995943
5	0,000413	0,076027	0,000228	0,008818		0,988333	0,000377	0,000212	0,000206	0,001428
6	0,000205	0,009359	0,000189	0,001087	0,988333		0,000201	0,000187	0,000187	0,000303
7	1,000000	0,236781	0,999683	0,799675	0,000377	0,000201		0,997732	0,994354	0,997748
8	0,995678	0,053780	1,000000	0,339091	0,000212	0,000187	0,997732		1,000000	0,831632
9	0,990305	0,043431	1,000000	0,289529	0,000206	0,000187	0,994354	1,000000		0,778519
10	0,998915	0,668264	0,904864	0,995943	0,001428	0,000303	0,997748	0,831632	0,778519	

Tukeyův HSD test- HOTOVÉ PIVO; proměn. histamin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=48150)	{2} (M=6,9381)	{3} (M=3,5518)	{4} (M=1,4602)	{5} (M=11,971)	{6} (M=6,6068)	{7} (M=2,1133)	{8} (M=4,8062)	{9} (M=20,604)	{10} (M=5,1498)
1		0,108789	0,878942	0,999966	0,000723	0,146365	0,997888	0,543519	0,000179	0,444434
2	0,108789		0,809548	0,250730	0,348908	1,000000	0,401992	0,985661	0,000228	0,995810
3	0,878942	0,809548		0,987385	0,015574	0,881881	0,999205	0,999733	0,000186	0,998197
4	0,999966	0,250730	0,987385		0,001797	0,321853	0,999999	0,819264	0,000179	0,729927
5	0,000723	0,348908	0,015574	0,001797		0,273689	0,003483	0,055537	0,012478	0,077410
6	0,146365	1,000000	0,881881	0,321853	0,273689		0,494127	0,995595	0,000214	0,999122
7	0,997888	0,401992	0,999205	0,999999	0,003483	0,494127		0,939389	0,000179	0,885389
8	0,543519	0,985661	0,999733	0,819264	0,055537	0,995595	0,939389		0,000188	1,000000
9	0,000179	0,000228	0,000186	0,000179	0,012478	0,000214	0,000179	0,000188		0,000190
10	0,444434	0,995810	0,998197	0,729927	0,077410	0,999122	0,885389	1,000000	0,000190	

Tukeyův HSD test-HOTOVÉ PIVO; proměn. tyramin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=12,437)	{2} (M=40,649)	{3} (M=12,727)	{4} (M=18,260)	{5} (M=50,399)	{6} (M=35,782)	{7} (M=41,501)	{8} (M=7,0095)	{9} (M=18,232)	{10} (M=26,280)
1		0,000186	1,000000	0,761704	0,000179	0,000204	0,000179	0,823016	0,766260	0,014407
2	0,000186		0,000186	0,000224	0,165652	0,894520	1,000000	0,000179	0,000223	0,010290
3	1,000000	0,000186		0,807426	0,000179	0,000209	0,000179	0,778788	0,811599	0,017341
4	0,761704	0,000224	0,807426		0,000179	0,001419	0,000206	0,071566	1,000000	0,376901
5	0,000179	0,165652	0,000179	0,000179		0,008776	0,254227	0,000179	0,000179	0,000196
6	0,000204	0,894520	0,000209	0,001419	0,008776		0,778603	0,000179	0,001396	0,188468
7	0,000179	1,000000	0,000179	0,000206	0,254227	0,778603		0,000179	0,000205	0,005958
8	0,823016	0,000179	0,778788	0,071566	0,000179	0,000179	0,000179		0,072776	0,000553
9	0,766260	0,000223	0,811599	1,000000	0,000179	0,001396	0,000205	0,072776		0,372540
10	0,014407	0,010290	0,017341	0,376901	0,000196	0,188468	0,005958	0,000553	0,372540	

Tukeyův HSD test- HOTOVÉ PIVO; proměn. spermidin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=3,6187)	{2} (M=3,5928)	{3} (M=2,7145)	{4} (M=,42200)	{5} (M=2,9804)	{6} (M=18,588)	{7} (M=1,0289)	{8} (M=,09007)	{9} (M=,92603)	{10} (M=,78367)
1		1,000000	0,469319	0,000187	0,845191	0,000179	0,000267	0,000179	0,000229	0,000204
2	1,000000		0,506962	0,000188	0,872716	0,000179	0,000281	0,000179	0,000237	0,000207
3	0,469319	0,506962		0,000654	0,999526	0,000179	0,013766	0,000252	0,007990	0,003773
4	0,000187	0,000188	0,000654		0,000284	0,000179	0,878231	0,997355	0,955399	0,995012
5	0,845191	0,872716	0,999526	0,000284		0,000179	0,003387	0,000198	0,001996	0,000997
6	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,000179	0,000179
7	0,000267	0,000281	0,013766	0,878231	0,003387	0,000179		0,420590	1,000000	0,999753
8	0,000179	0,000179	0,000252	0,997355	0,000198	0,000179	0,420590		0,570322	0,777514
9	0,000229	0,000237	0,007990	0,955399	0,001996	0,000179	1,000000	0,570322		0,999997
10	0,000204	0,000207	0,003773	0,995012	0,000997	0,000179	0,999753	0,777514	0,999997	

Tukeyův HSD test-HOTOVÉ PIVO; proměn. spermin [mg/l]										
Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05$										
Vzorka	{1} (M=121,00)	{2} (M=121,59)	{3} (M=67,439)	{4} (M=94,292)	{5} (M=29,433)	{6} (M=85,232)	{7} (M=86,829)	{8} (M=16,814)	{9} (M=101,09)	{10} (M=94,946)
1		1,000000	0,000179	0,000186	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000324	0,000187
2	1,000000		0,000179	0,000186	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,000275	0,000186
3	0,000179	0,000179		0,000186	0,000179	0,000840	0,000390	0,000179	0,000179	0,000179
4	0,000186	0,000186	0,000186		0,000179	0,199140	0,422634	0,000179	0,543888	1,000000
5	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179	0,023350	0,000179	0,000179
6	0,000179	0,000179	0,000840	0,199140	0,000179		0,999953	0,000179	0,002747	0,139487
7	0,000179	0,000179	0,000390	0,422634	0,000179	0,999953		0,000179	0,007889	0,317946
8	0,000179	0,000179	0,000179	0,000179	0,023350	0,000179	0,000179		0,000179	0,000179
9	0,000324	0,000275	0,000179	0,543888	0,000179	0,002747	0,007889	0,000179		0,667424
10	0,000187	0,000186	0,000179	1,000000	0,000179	0,139487	0,317946	0,000179	0,667424	