

winter wheat. *European Journal of Agronomy*, 2006, vol. 24, no. 4, s. 357–366. ISSN: 1161-0301.

KLEM, K. – VÁŇOVÁ, M. – HAJŠLOVÁ, J. – LANCOVÁ, K. – SEHNALOVÁ, M. A neural network model for prediction of deoxynivalenol content in wheat grain based on weather data and preceding crop. *Plant Soil Environment*, 2007, vol. 53, no. 10, s. 421–429. ISSN: 1214-1178.

PARIKKA, P. The effect of tillage on *Fusarium* infection and mycotoxins on barley and oats. In *The BCPC International Congress – Crop Sci. and Technology*, 2005, P5B-5.

PEREYRA, S. A. – DILL-MACKY, R. – SIMS, A. L. Survival and inoculum potential of *Fusarium graminearum* in wheat residues. (Paper presented at the 1999 National Fusarium Head Blight Forum), 1999.

POLIŠENSKÁ, I. – JIRSA, O. – SALAVA, J. Fuzáriové mykotoxiny a patogeny rodu *Fusarium* v obilovinách sklizně 2008. *Obilnářské listy*, 2009, roč. 17, č. 1, s. 3–6. ISSN: 1212-138X.

SCHAAFSMA, A. W. – HOOKER, D. C. – MILLER, J. D. Progress and limitations with respect to pre-harvest forecasting of *Fusarium* toxins in grains. *Phytopathology*, 2005, vol. 95, S123. ISSN: 0031-949X.

VÁŇOVÁ, M. – KLEM, K. – MATUŠINSKY, P. – TRNKA, M. Prediction model for deoxynivalenol in wheat grain based on weather conditions. *Plant Protection Science*, 2009 (v tisku). ISSN: 1212-2580.

ZIMOLKA, J. A KOL. *Kukuřice*. 1. vyd. Praha: Profi Press, s.r.o., 2008. 200 s. ISBN: 978-80-86726-31-1.



Fuzária na klase pšenice

## Hodnocení gushingu piva u vybraných odrůd jarního sladovnického ječmene po očkování houbou *Fusarium culmorum*

(*Evaluation of beer gushing in chosen cultivars of spring malting barley after inoculation of *Fusarium culmorum**)

Zdeněk Nesvadba<sup>1</sup>, Simona Horáčková<sup>1</sup>, Jiří Šusta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž

<sup>2</sup>Sladovna Bernard Slad, Palackého 135, 664 61 Rajhrad

### Souhrn

Gushing piva je závažným problémem pivovarského průmyslu v celosvětovém měřítku. V současné době je gushing výraznou hrozbou i pro kvalitu českého piva a sladu. Gushing je považován za komplex vzájemných vztahů mezi pivovarskými surovinami (slad) a potenciálně mnohými jinými technologickými parametry. Za nejvýznamnější faktor ovlivňující gushing je považováno napadení sladovnického ječmene toxinogenními houbami. Pro analýzy byly použity vzorky odrůd a linií jarního sladovnického ječmene vypěstované na lokalitě Kroměříž a z nich vyrobené slady ve sladovně Bernard Slad Rajhrad. V rámci těchto hodnocení byly provedeny modifikace experimentů vzhledem k volbě odrůdy po očkování houbou *Fusarium culmorum*, analýzy obsahu deoxynivalenolu (DON). Stanovení gushingu se provádělo metodou podle Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Brně.

**Klíčová slova:** jarní ječmen, *Fusarium culmorum*, deoxynivalenol, slad, pivo, gushing

### Summary

Beer gushing is a serious problem in the brewing industry worldwide. At present, gushing is a considerable threat to the quality of Czech beer and malt. Gushing is a complex of interrelationships between brewing raw materials (malt) and potentially many other technological parameters. Infection of barley by toxigenic fungi is considered the most important factor influencing gushing. Analyses were performed on samples of spring malting barley cultivars and lines grown at location Kroměříž and on malts produced from them in the Malthouse Bernard at Rajhrad. The experiments were modified with regard to the selection of a cultivar, inoculation with *Fusarium culmorum*, analysis of deoxynivalenol (DON) content. Gushing was assessed using the method according to the Research Institute of Brewing and Malting Brno.

**Keywords:** spring barley, *Fusarium culmorum*, deoxynivalenol, malt, beer, gushing

## Úvod

Termín gushing pochází z anglického slova „gush“, což znamená vzkypět, přetéci, vyřinout. V pivovarské praxi se tento termín používá k popsání samovolného přepěňování piva, ke kterému dojde po otevření láhve nebo plechovky. Po otevření obalu dochází k náhlému samovolnému uvolňování oxidu uhličitého doprovázeného tvorbou velkého množství krátce trvajících bublinek v celém obsahu nápoje, což vede k rychlé expanzi s prudkým výronem vzpěněného nápoje z obalu. Toto prudké, samovolné a nadměrné vzpěnění piva zpravidla ustává po několika sekundách. Gushing se vyskytuje u všech druhů piv, bez jakékoliv pravidelnosti, sporadicky, nejčastěji však po extrémně vlhkých létech a objevuje se u jednotlivých lahví určité výrobní a plnicí šarže.

Za nejvýznamnější faktor, ovlivňující gushing, je považováno napadení sladovnického ječmene toxigenními houbami, především rodu *Fusarium*, které mají vliv nejen na jejich kontaminaci mykotoxiny, ale i na technologickou jakost zrna. Cílem práce bylo hodnocení gushingu piva po umělé infekci *Fusarium culmorum* u vybraných odrůd jarního sladovnického ječmene a ověření závislosti mezi gushingem a obsahem DON.

## Materiál a metody

### 1) Polní experimenty

Pokusy s vybranými odrůdami a liniemi jarního sladovnického ječmene byly založeny a vedeny metodou znárodněných dílců na lokalitě Kroměříž v roce 2008 po předplodině řepce ozimé. Výsev byl proveden dne 4. dubna. Každá varianta byla tvořena dvěma opakováními o rozměrech parcely 2,5 m<sup>2</sup>. Parcely byly v době plného kvetení – DC 65 (v termínu od 5.6. do 11.6.2008) očkované suspenzí konidií *Fusarium culmorum* (izolát FC-417/02). Koncentrace inokula byla 6 milionů konidií na 1 ml.

### 2) Stanovení deoxynivalenolu

Pro určení obsahu DON byla použita kvantitativní imunoenzymatická metoda ELISA. Byly používány kity RIDASCREEN FAST DON (R-Biopharm GmbH, Darmstadt, SRN), které jsou schváleny AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Měření bylo prováděno na spektrofotometru MRX II (Dynex, USA), pro zpracování dat byl použit program Revelation (Dynex, USA).

### 3) Gushing

Stanovení gushingu bylo prováděno metodou podle VÚPS v laboratoři Sladovny Bernard Slad v Rajhradě. Sto gramů zrna ječmene (sladu) bylo mixováno po dobu 1 minuty ve 400 ml destilované vody při laboratorní teplotě a maximální rychlosti otáček

Tab 1: Vliv infekce *Fusarium culmorum* na gushing

Linie – odrůda	Gushing (ml)					
	Neinfikovaná varianta			Infikovaná varianta		
	1. měření	2. měření	průměr	1. měření	2. měření	průměr
KM 1220	0	0	0	48,8	0	24,4
KM 2708	0	0	0	0,9	0	0,45
KM 2785	0	0	0	0	0	0
Sebastian	0	0	0	7,4	8	7,7
Scarlett	0	0	0	174,2	17,7	95,95
Prestige	0	0	0	12,5	12,1	12,3
Biatlon	0	0	0	0	2,5	1,25
Class	0	0	0	0	0	0
Diplom	0	0	0	51,5	150,9	101,2
Saloon	0	0	0	11,7	0	5,85
Sabel	0	0	0	52,4	125	88,7
Jersey	28,8	0	14,4	0	0	0
Tolar	0	0	0	0	0	0
Xanadu	0	0	0	0	0	0
Faustina	0	0	0	0	0	0
Ebson	0	0	0	0	0	0
Malz	0	12,5	6,25	0	19,9	9,95
Bojos	0	0	0	45,6	114,7	80,15
Radegast	0	14,1	7,05	0	7	3,5
Breamer	17,2	25,1	21,15	0,7	0	0,35
Kompakt	1,1	47,6	24,35	111,9	*	111,9
Nitran	0,1	0,2	0,15	0,3	70,3	35,3
Westminster	1,4	1,2	1,3	58,5	59,2	58,85
Beatrix	22,3	69,9	46,1	0,2	36,7	18,45
Poet	1,1	0,9	1	90	100,7	95,35
Blaník	23,2	0	11,6	28,6	0,2	14,4
Spilka	36,9	0	18,45	25,9	26,7	26,3
Aksamit	0	0	0	2,5	31,3	16,9
Anabell	0	0	0	16,5	20,5	18,5
Respekt	0	0	0	22,7	28,2	25,45
Průměr			5,06			28,44
Rozdíl mezi skupinami	Rozdíl mezi prům. pořadími	Kritická hodnota	Průkaznost			
Neinfikované – infikované	15,0667	8,8379	Ano			

mixéru. Tato suspenze byla přelita do plastových nádobek a byla odstředována po dobu 5 minut při 4000 otáčkách. Filtrát byl potom odpařen na 200 ml a koagulát byl odstraněn přes papírový filtr. Tento filtrát byl vytemperován na 20 °C a 50 ml bylo vpraveno do lahve chladného (4–10 °C) negushingového piva, ze kterého bylo předtím odebráno 50 ml piva. Proklepáním byl vytěsněn vzduch a ručně byla láhev uzavřena korunkovačkou. Poté bylo pivo pasteurizováno ve vodní lázni 15 minut při 65 °C. Po zchlazení byly lahve třepány horizontálně 3 dny při 70 kmitech za minutu.

Po 3 dnech byly lahve zváženy a postaveny do vertikální polohy na 10 minut. Po uplynutí této doby byly lahve 3x otočeny o 180 stupňů a po 30 sekundách byly otevřeny. Osušené lahve i s korunkou byly opět zváženy a odečtením hmotnosti piva před otevřením a po otevření bylo zjištěno množství vyřinutého piva (gushing) v ml/500 ml.

## Výsledky a diskuze

### 1) Vliv infekce *Fusarium culmorum* na gushing

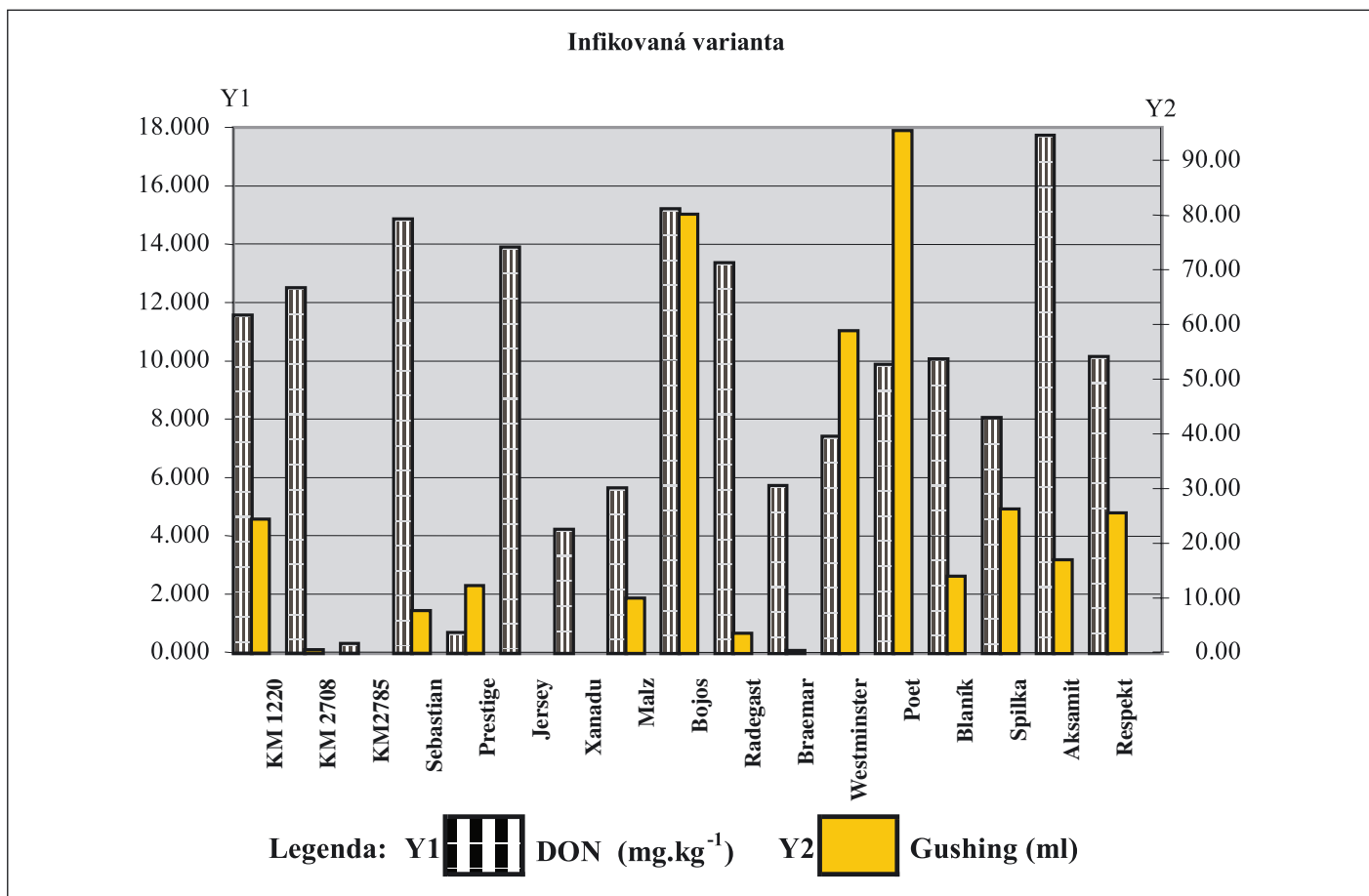
Pro hodnocení vlivu infekce na gushing bylo použito 30 vzorků jarního ječmene infikovaných *Fusarium culmorum* a 30 vzorků jarního ječmene jako neinfikovaná kontrola. U každého vzorku byla provedena dvě měření a z nich vypočten průměr. Ke statistickému vyhodnocení byl použit Kruskal – Walisův test s následným párovým porovnáním. Z výsledků a jejich statistické analýzy (Tab. 1) vyplývá, že mezi infikovanou a neinfikovanou variantou je statisticky průkazný rozdíl.

První zprávy o tom, že spouštěči gushingu jsou houby rodu *Fusarium* pochází z roku 1960. Výzkumy prováděné v německém Weiherstephanu na Fakultě technologie pivovarství však ukázaly, že sladovnický ječmen, který byl masivně napaden fuzárií, nebyl vždy předmětem gushingu (Simon, 1988). Podobné výsledky byly

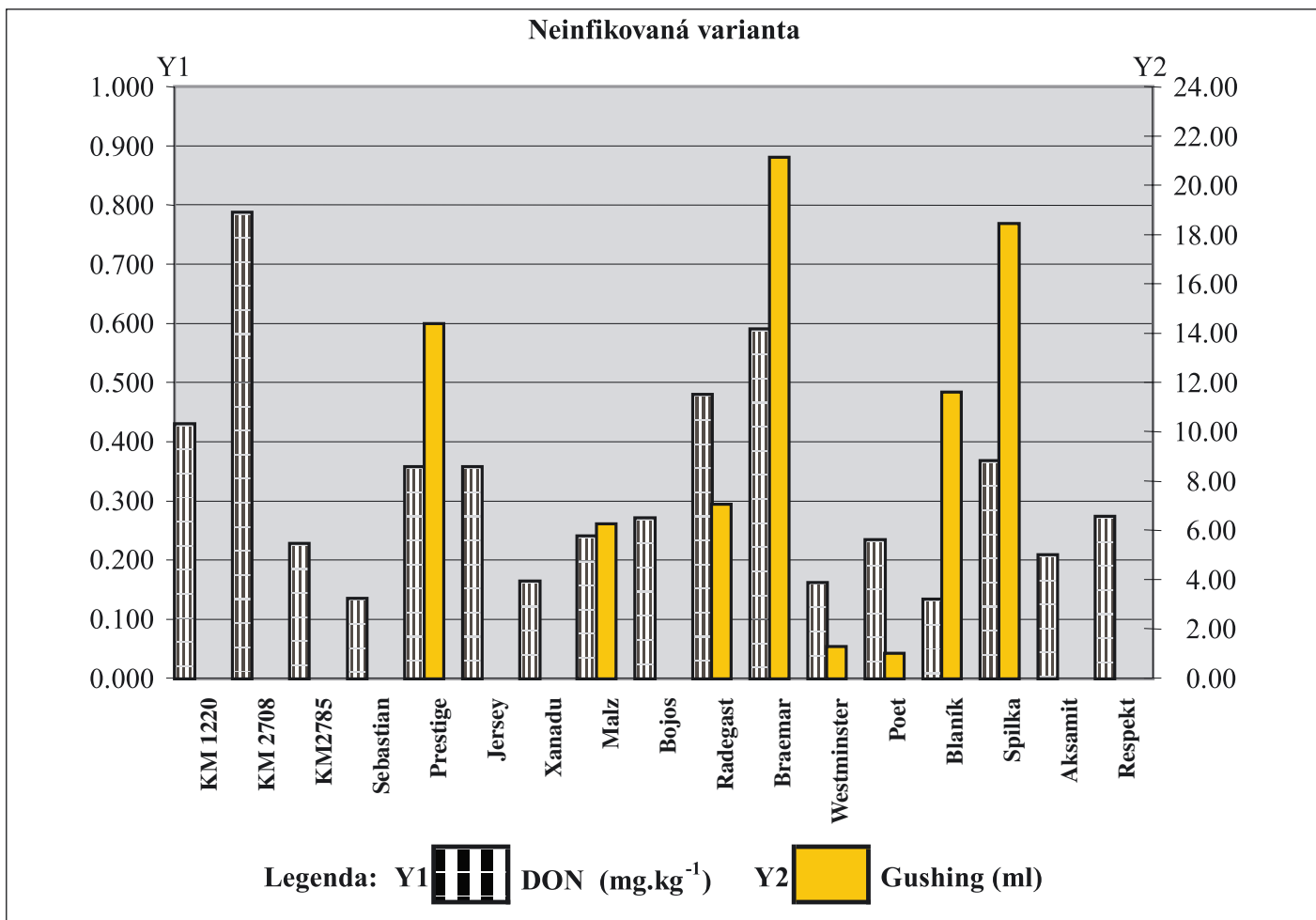
pozorovány i v letech 1993 a 1997, které byly charakterizovány masivním napadením fuzárií. Testy sladování a vaření piva u surovin obsahujícím až 600 zrn napadených fuzárií na 200 g sladového vzorku neukázaly žádný viditelný gushing. Hippeli a Hecht (2008) ve svých pokusech potvrdili vztah mezi obsahem proteinu ns-LTP1, který je dislokován především v aleuronové vrstvě a stupněm infekce fuzárií. Zvýšený obsah proteinu ns-LTP1, který je zodpovědný za primární gushing, je způsoben napadením ječmene fuzariiovými houbami, přičemž se předpokládá, že tento protein slouží jako obrana proti patogenům produkovanými houbami.

### 2) Vliv deoxynivalenolu na gushing

Pro hodnocení bylo použito 34 vzorků jarního ječmene s různým obsahem DON, u kterých byla provedena dvě stanovení gushingu pro každý vzorek (Graf 1). Ke statistickému vyhodnocení byla použita Spearmanova pořadová korelace. Z výsledků a statistické analýzy byla zjištěna průkazná závislost mezi obsahem DON a gushingem. Jak uvádí Sýkorová (2002), přítomnost a množství DON ve vzorcích ječmene a sladu nelze jednoznačně označit za přímý faktor ovlivňující gushing. Podle Ratha (2009) nebyl během pokusů v letech 2006–2007 zjištěn přímý vztah mezi obsahem DON a gushingem. Z výsledků bylo zřejmé, že slady s nízkým DON mohou mít velmi vysoký gushing a naopak s vysokým obsahem DON žádný gushing. Přejít mykotoxinů z ječmene do piva je závislý na jejich rozpustnosti a tepelné stabilitě. Produkce DON v průběhu sladování je velmi různorodá a pravděpodobně závisí na odrůdě ječmene a na technologických podmínkách sladování. Nalezené koncentrace DON ve sladu se obvykle pohybují na nižších hladinách než v zru ječmene (Schwarz, 1995). Ačkoliv DON je rozpustný ve vodě, nedochází k jeho výraznému úbytku pře-



Graf 1a: Vliv obsahu deoxynivalenolu (DON) na gushing



Graf 1b: Vliv obsahu deoxynivalenolu (DON) na gushing

chodem do máčecích vod během máčení ječmene, ale spíše dochází k jeho další tvorbě během máčení a klíčení. DON patří mezi inhibitory proteinové syntézy, a tudíž může potenciálně ovlivnit i proces klíčení sladu (Gutmestad, 2003).

#### Závěr

Mezi infikovanou a neinfikovanou variantou byl vypočten statisticky průkazný rozdíl pro vznik gushingu. Při srovnání vlivu obsahu DON na gushing byla zjištěna statisticky průkazná závislost mezi těmito ukazateli. Z literárních pramenů i z dosažených výsledků plyne, že v případě gushingu piva se jedná o komplexní problém, který nespočívá jen ve zvýšeném napadení ječmene klasovými fuzárii. Prezentovaná studie zahrnuje zatím výsledky pouze jednoho roku. Pro potvrzení vzájemných závislostí mezi jednotlivými parametry a faktory, které je mohou ovlivňovat, je třeba provést dlouhodobější experimenty, kterým bude věnována pozornost v následujícím období.

#### Literatura

- Gutmestad N., Taylor, R., Schwarz, P., 2003: How healthy is your malt? Chat you should know about a disease that could affect your beer. The Brewers Market Guide.
- Hippeli, S., Hecht, D., 2008: Die Rolle von ns-LTP1 und Proteasen bei der Entstehung des primären Gushing. Brauwelt, 148: 900–904.
- Rath, F., 2009: Gushing in 2008 – trialling the “Modified Carlsberg Test”. Brauwelt International, 1: 26–29.
- Schwarz, P. B., Casper, H. H., Beattie, S., 1995: Fate and development of naturally occurring *Fusarium* mycotoxin during malting and brewing. J. Am. Soc. Brew. Chem., 53: 121–127.

Simon, A., 1988: Der Einfluss der Schimmelpilze auf das Gushing – Problem. Diplomarbeit (FH), TUM – Weihenstephan.

Sýkorová, S., 2002: Obsah fusariových mykotoxinů v odrůdách jarního ječmene. Kvasný průmysl, 48: 149–152.

#### Poděkování

Publikované výsledky byly dosaženy v rámci řešení výzkumného záměru MSM 2532885901. Výsledky analýz gushingu piva byly získány v laboratoři Sladovny Bernard Slad v Rajhradě při zpracování diplomové práce Daniela Sychry s názvem „Kontrola sladu ve sladovně Rajhrad z hlediska gushingu u piva“, (MZLU Brno, 2009).

Kontakt: nesvadba.zdenek@vukrom.cz



Fuzária na klasech ječmene