

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

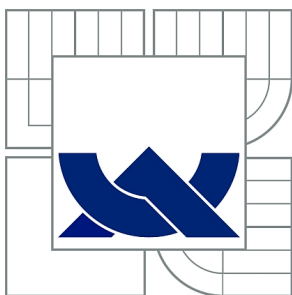
ZDRAVOTNÍ ÚČINKY ČESKÉHO PIVA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

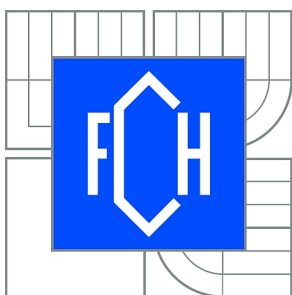
JITKA BOKROVÁ

BRNO 2012



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ZDRAVOTNÍ ÚČINKY ČESKÉHO PIVA

HEALTH EFFECTS OF CZECH BEER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

JITKA BOKROVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. RNDr. IVANA MÁROVÁ, CSc.

BRNO 2012



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0641/2011	Akademický rok: 2011/2012
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Jitka Bokrová	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí práce	doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.	
Konzultanti:	Ing. Andrea Hároniková	

Název bakalářské práce:

Zdravotní účinky českého piva

Zadání bakalářské práce:

1. Rešerše - charakterizace "Českého piva", obsahových složek a potenciálních fyziologických účinků.
2. Analýza pufrovací kapacity vybraných druhů piva s využitím simulovaných fyziologických podmínek.
3. Analýza vybraných vitaminů v pivu.
4. Vyhodnocení a zpracování výsledků

Termín odevzdání bakalářské práce: 4.5.2012

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Jitka Bokrová
Student(ka)

doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2012

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá studiem fyziologického účinku různých značek světlých piv typu ležák se zaměřením na porovnání rozdílů mezi pivy českými a zahraničními.

Teoretická část obsahuje charakterizaci „českého piva“ a obsahových složek s potenciálními fyziologickými účinky.

V analytické části byla kvantifikace polyfenolů, flavonoidů, celkové antioxidační aktivity a hořkých látek provedena s využitím fotometrických metod. Obsah vitamínu C byl stanoven vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií se spektrofotometrickou detekcí. Analýza pufrovací kapacity piva byla provedena měřením změn pH v umělé žaludeční a střevní šťávě. Sledování fyziologického účinku bylo doplněno měřením aktivity proteolytických trávicích enzymů.

Z celkového počtu 22 vzorků bylo 16 českých a 6 zahraničních piv. Srovnání zjištěných skupinových parametrů piv a pufrovací kapacity bylo provedeno jak mezi vzorky českými a zahraničními, tak i mezi pivy vícečetnými a nealkoholickými. Experimentálně bylo potvrzeno, že konzumace „českého piva“ (zejména typu ležák) pozitivně ovlivňuje proces trávení a aktivitu trávicích enzymů.

ABSTRACT

The aim of this bachelor thesis was to study physiological effect of various kinds of lager beer and to compare these effects in Czech beer and several beers produced in foreign countries.

In theoretical part Czech beer characteristics and biologically active compounds in beer are described.

Quantification of total phenolics, total flavonoids, antioxidant activity and bitter substances was performed photometrically. The quantity of vitamin C was determined by high performance liquid chromatography with spectrophotometrical detection. Beer buffering capacity was analyzed by pH measurement in artificial stomach and intestinal liquid, respectively. Analysis of physiological effect was accomplished by analysis of proteolytic enzyme activity.

The total of 22 samples (16 Czech and 6 foreign lager beers) was studied. In these samples levels of basic technological characteristics and buffering capacity were compared. Alcoholic and non-alcoholic beers were compared too. According to experimental data it was confirmed that consumption of Czech beer (mainly lager beer) positively influences digestion process and activity of digestive proteolytic enzymes.

KLÍČOVÁ SLOVA

pivo, zdravotní účinky, pufrovací kapacita, české pivo

KEY WORDS

beer, health effects, buffering capacity, Czech beer

BOKROVÁ, J. *Zdravotní účinky českého piva*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 58 s. Vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje byly správně a úplně citovány. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. RNDr. Ivaně Márové, CSc. za odborné vedení a řadu cenných rad. Velké díky patří Ing. Andree Háronikové za pomoc s prací v laboratoři, ochotu a věnovaný čas. Dále děkuji všem, kteří se mnou sdíleli své zkušenosti a pomohli tak vzniku této práce.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Charakterizace českého piva.....	9
2.1.1	Suroviny pro výrobu českého piva.....	9
2.1.2	Chráněné označení „České pivo“	10
2.1.3	Senzorický profil českého piva	11
2.2	Charakterizace obsahových složek	11
2.2.1	Obecná charakteristika českého ležáckého piva	12
2.2.2	Sacharidy.....	13
2.2.3	Proteiny	13
2.2.4	Alkohol.....	13
2.2.5	Oxid uhličitý.....	14
2.2.6	Minerály	14
2.2.7	Vitaminy.....	14
2.2.8	Antioxidační látky	15
2.2.9	Hořké látky	16
2.3	Trávicí systém člověka	18
2.3.1	Stavba trávicího systému.....	18
2.3.2	Tekutiny trávicího traktu.....	18
3	CÍL PRÁCE	20
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	21
4.1	Použité chemikálie, přístroje a pomůcky	21
4.1.1	Chemikálie	21
4.1.2	Přístroje, pomůcky	21
4.2	Analyzované vzorky piva	22
4.2.1	Zpracování vzorků pro analýzu.....	22
4.2.2	Stanovení antioxidačních látek	23
4.2.3	Stanovení technologických parametrů	23
4.2.4	Stanovení pufrovací kapacity	24
4.2.5	Stanovení aktivity trávicích proteolytických enzymů.....	24
4.2.6	Stanovení vitamínu C	25
	VÝSLEDKY A DISKUZE	26
4.3	Stanovení antioxidačních látek	26
4.3.1	Celkové polyfenoly	26
4.3.2	Celkové flavonoidy	26
4.3.3	Antioxidační aktivita.....	28

4.4 Stanovení technologických parametrů	29
4.4.1 Hořké látky	29
4.5 Měření pH	31
4.6 Měření aktivity trávicích proteolytických enzymů	36
4.7 Stanovení vitamínu C	39
5 ZÁVĚRY	42
6 LITERATURA	44
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	47
8 SEZNAM PŘÍLOH	48
9 PŘÍLOHY	49

1 ÚVOD

Pivo patří k nejstarším známým potravinám. První zmínky o konzumaci piva jsou staré více než 8000 let. Pro své složení, které zahrnuje přesně to, co lidské tělo potřebuje – vodu, sacharidy, bílkoviny, vitamíny a minerály bylo pivo významnou součástí výživy v mnohých kulturách. Pivo bylo vždy také jedním z nejzdravějších nápojů, jaké mohl člověk konzumovat. V časech, kdy kvalita vody nemohla být zaručena a kávu a čaj ještě neznali, bylo pivo jediným bezpečným nápojem. Proces vaření, přítomnost ethanolu i antibakteriální účinky chmele zajišťovaly skutečně zdravé občerstvení [1,2].

Odnepaměti bylo vaření piva spjato s přípravou pivních chlebů, jak dokazují zmínky ze starověkých kolébek výroby piva – Mezopotámie a Egypta. Řekové a Římané převzali od Egypťanů umění vaření piva, avšak v antické kultuře pivo nemělo takové postavení jako na Středním východě. Ve Středozeří bylo nejrozšířenějším nápojem víno a pivo se přestěhovalo na sever. Keltové znali a připravovali nespočet druhů piv, z pšenice i z ječmene, piva s různou chutí i vůní. Právě Keltové nejspíš podnítili výrobu piva v celé oblasti střední a západní Evropy včetně Britských ostrovů [1,3].

Počátky výroby piva na českém území, pomineme-li zmíněnou keltskou tradici, nemůžeme přesně datovat. První písemná zmínka o vaření piva v Čechách pochází z nadační listiny Vratislava II. pro vyšehradskou kapitulou vydanou v roce 1088. V této listině jsou uvedena jména prvních známých sladovníků a je zde vymezen i desátek chmele pro potřebu vaření piva. Nelze však hovořit o počátku pivovarnictví v Čechách, pivo se totiž vařilo vesměs doma. Teprve když první královská města obdržela privilegium práva várečného, tedy povolení měšťanstvu vařit si vlastní pivo, došlo ke skutečnému vzniku obrovské tradice trvající až do dnešní doby.

Se zmíněným privilegiem souviselo i právo mílové, zakazující v dosahu jedné míle od města vařit pivo jinou osobou. Královská města se tak stala prvními monopolními výrobci piva v Čechách. V 16. století bylo králem Ludvíkem Jagellonským uděleno šlechtě povolení ke zřizování vlastních pivovarů. Tak nastal rozmach malých panských pivovarů, jichž se v polovině 16. století uvádí více než tisíc, v 19. století patnáct set. Největší rozmach českého pivovarnictví se datuje právě do 19. století, kdy se české země dostaly v pivovarnické výrobě na první místo v celém Rakousku-Uhersku. Kvalita a úroveň piva byla v této době na vrcholu [3,4].

Výstavby nových moderních pivovarů, které patří k dnešním pilířům českého pivovarnictví, přivodily postupný zánik menších pivovarů, z nichž mnohé byly historicky velice cenné. Znakem nových pivovarů byly nižší náklady na výrobu a tudíž levnější piva, což přineslo úpadek produkce malých pivovarů.

V posledních letech se trend malých pivovarů v Čechách opět prosazuje. Zatímco nejmocnější pivovary dodávají do sítí klasické výrobky, produkci malých pivovarů tvoří především zvláštní typy piva. Mimo typických českých piv výčepních a ležáckých tak v obchodech nalézáme výrobky se sníženým obsahem alkoholu, se sníženým energetickým obsahem, kvasnicová piva s vyloučením filtrace, speciální piva nad 12,5 % a také piva s příchutí [3,4].

Pivu byly často přisuzovány nejen léčitelské, ale doslova zázračné účinky. Již ve starověké Mezopotámii se pivo používalo k přípravě řady léčivých nápojů a mastí, léčila se jím i otrava způsobená bodnutím štíra. Ve středověku bylo pivo spolu s bylinami používáno při léčení mnoha nemocí, například proti nadýmání, proti choleře a silnému krvácení, proti ledvinovým kamenům a jako protilék při otravách. I v dobách novověkých se zdůrazňovaly pozitivní účinky piva na trávení a vyměšování, používalo se též k povzbuzení apetitu a k celkovému posílení organismu.

Se stále rostoucí spotřebou piva ve světě se rozšířil i zájem o jeho vliv na lidský organismus. V posledních letech bylo prokázáno, že pivo skutečně má při střídme konzumaci blahodárné účinky na zdraví, krásu a životní pohodu. Příznivě ovlivňuje trávení, zlepšuje chuť k jídlu a má pozitivní vliv i na cévní systém [3,5].

Cílem bakalářské práce je analýza fyziologického účinku českého ležáckého piva ve srovnání s pivy zahraničními. Účinky piva na zdraví populace jsou v současnosti velmi diskutovaným tématem. Informace o složení a potenciálních zdravotních účincích na spotřebitele mohou být přínosné jak pro výrobce, tak pro širokou veřejnost.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Charakterizace českého piva

2.1.1 Suroviny pro výrobu českého piva

České pivo patří odedávna ke světové špičce nejen díky umu českých sladařů, jejichž technologické postupy se předávají z generace na generaci, ale také díky prvotřídním surovinám pro výrobu piva. Na českém území vládou velmi příznivé podmínky pro pěstování základních surovin k výrobě sladu a piva – sladovnického ječmene a chmelu. Také voda používaná pro výrobu piva ovlivňuje kvalitu i charakter určité značky [4].

2.1.1.1 Voda

Spotřeba vody sladařským a pivovarnickým průmyslem patří bezesporu k největším v českém potravinářství. Voda tvoří až 95 hmotnostních dílů nápoje, další množství vody je potřebné na provoz pivovarského zařízení, na mytí, čištění, máčení ječmene atd.

Na výrobu českých piv se používá zásadně voda měkká až středně tvrdá. Hodnota pH vstupující vody je velmi důležitá, protože optimální průběh některých technologických kroků při výrobě piva je závislý na příznivé hodnotě pH.

Voda pro sladovny a pivovary je odebírána z veřejné vodovodní sítě nebo z místních pramenitých či povrchových zdrojů, zde je však nutné vodu před použitím upravit. Moderní technická zařízení umožňují získat vodu s přesně stanoveným obsahem plynů, solí i kovových iontů. Takto upravená voda je nezbytná zejména při výrobě nealkoholických piv [1,4].

2.1.1.2 Ječmen

Přední postavení v celosvětové produkci sladovnického ječmene drží evropské země, Česká republika se v rámci EU udržuje na pátém místě. Hlavním důvodem vysoké produkce kvalitní obiloviny je příznivé klima z hlediska teplot i průměrných srážek. Česká republika patří mezi země s dlouholetou tradicí pěstování a šlechtění kvalitního sladovnického ječmene. V současné době je ječmen šlechtěn ve třech firmách (Limagrain Central Europe Cereals, s. r. o. /Hrubčice/, Selgen a.s. /Stupice/, Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž s.r.o. /Kroměříž/).

Nové sladovnické odrůdy vykazují velmi dobré technologické znaky a po získání chráněného zeměpisného označení se stále více na českých polích rozšiřují i přes silný tlak zahraničních odrůd [4].

2.1.1.3 Chmel

Chmel je pro výrobu piva zcela nenahraditelnou surovinou, dává tomuto nápoji typickou hořkost a chmelové aroma. Chmel byl do piva tradičně přidáván i kvůli jeho konzervačním účinkům.

Z technologického hlediska jsou nejzajímavějšími složkami chmelových hlávek hořké látky, silice a polyfenolové sloučeniny. Hořké látky, tzv. chmelové pryskyřice, dodávají pivu charakteristickou hořkou chuť, silice zajišťují chmelové aroma a polyfenoly mají vliv na plnost chuti piva.

Na území Čech a Moravy se tradičně pěstují polorané červeňáky. Jejich rostliny mají načervenalé zbarvení oproti zeleným odrůdám kvůli vyššímu obsahu polyfenolů.

Specifické vlastnosti českého chmele jsou určeny jeho chemickým složením. Chmelové pryskyřice jsou nositeli hořké chuti. Nejdůležitějšími zástupci těchto látek jsou α - a β -hořké kyseliny. České chmele charakterizuje nižší obsah α -hořkých kyselin a také nižší poměr α -hořkých kyselin vzhledem k β -hořkým kyselinám. Tento fakt zapříčiňuje jemnější charakter hořkosti českých piv v porovnání se zahraničními.

Chmelové pryskyřice zajišťují lepší stravitelnost, stálost a bakteriostatický účinek mladiny i z ní vyrobeného piva.

Další specifickou vlastností českých chmelů je jemné ušlechtilé aroma a buket, způsobené chmelovými silicemi. Chmelové silice jsou směsicí několika stovek látek převážně terpenického charakteru. Český chmel je charakterizován vysokým podílem farnesenu, čímž se liší od ostatních odrůd. Vyšší obsah farnesenu v rámci éterických olejů přispívá k dosažení jemnější chuti a vůně piva.

Rozdílný je i v obsahu třetí důležité skupiny látek. Polyfenoly se rovněž se podílejí na kvalitě a chuti piva. Jejich jedinečnou vlastností je antioxidační aktivita [4,6].

Tabulka 1: Průměrné zastoupení technologicky důležitých látek v suchých chmelových hlávkách [4]

voda	10 %
chmelové pryskyřice	15 %
silice	4 %
polyfenolové látky	0,5 %

Na českém území se nacházejí tři hlavní pěstitelské oblasti chmele – Žatecko, Úštěcko a Tršicko. Žatecko se může pochlubit největší sklizňovou plochou, Tršicko má nejvyšší výnos na hektar oseté půdy.

V současnosti jsou v Chmelařském institutu šlechtěny nové odrůdy chmele, dominantní postavení však stále drží „Žatecký červeňák“. Exkluzivitu Žateckého chmele potvrzuje i to, že byl Evropskou komisí v roce 2007 zapsán do Rejstříku chráněných označení původu. Ochrannou známkou „Žatecký chmel“ mohou být označeny pouze registrované klony odrůdy „Žatecký poloraný červeňák“ vypěstované v Žatecké chmelařské oblasti [1,4].



Obrázek 1: Ochranná známka Žateckého chmele [7]

2.1.2 Chráněné označení „České pivo“

V roce 2008 bylo Evropskou komisí uděleno výrobkům českých a moravských pivovarů chráněné zeměpisné označení „České pivo“. Účelem bylo zachování dobrého jména a kvality českého piva. Označení platí pro piva s typickými analytickými a organoleptickými

vlastnostmi vyráběná na území Čech a Moravy. Specifikace Českého piva uvádí mimo jiné technologický způsob výroby výhradně z domácích surovin a druh kvasinek zajišťující technologii spodního kvašení. Logo je uváděno na zadních etiketách lahví.

Chráněné zeměpisné označení se nevztahuje na licenční piva, dále na piva, která mají hodnotu koncentrace extraktu původní mladiny vyšší než 13 % hmotnostních a méně než 2,6 % objemových alkoholu. Rovněž nechrání nealkoholická piva, i když jsou vyrobena na území České republiky a tradičním postupem.

Vlastní chráněná zeměpisná označení dostaly od Evropské unie i některé samostatné pivovary, mezi nimi například Rodinný pivovar Chodovar, pivovar Černá hora, dále „Znojemské pivo“, „Starobrněnské pivo“ a další. Vůbec první chráněné zeměpisné označení získalo „Českobudějovické pivo“, a to již 1. 5. 2004. Kvůli sporům o známku "Budweiser" mezi Budějovickým Budvarem a firmou Anheuser-Busch se sídlem ve Spojených Státech byla ochrana "Českobudějovického piva" kvůli své důležitosti zakotvena přímo do textu Přístupové dohody, kterou Česká republika vstoupila do Evropské unie. Tato skutečnost nemá v dějinách rozšiřování unie obdoby a vyjadřuje světovou pozici a pověst kvalitního českého piva [4].



Obrázek 2: Ochranná známka Českého piva [8]

2.1.3 Senzorický profil českého piva

Nejdůležitějším kritériem jakosti piva je jeho sensorický charakter. Právě ten dělá české pivo tak jedinečným. V minulosti český pivovarský průmysl zkoncipoval tzv. český typ piva. Tento pojem zahrnuje skupinu sensoricky vzájemně velmi příbuzných piv.

Prvním představitelem této kategorie bylo 12° plzeňské pivo, světlý ležák z Měšťanského pivovaru v Plzni. Po vzoru tohoto nápoje s vysoce vyhraněným charakterem se postupně na českém území vyprofilovaly další značky piv s podobnými vlastnostmi. Typickým zástupcem těchto piv je světlý ležák s nízkou, ale kompaktní intenzitou vůně, silným řízem a plností. Intenzita hořkosti má být střední až silná, s rovnováhou v intenzitě a charakteru. Důležitou vlastností těchto piv je nepřítomnost ovocných, esterových a parfémových složek vůně a chuti. Dalším charakteristickým rysem je zlatavá barva, jiskrná činnost a vysoká pěnivost. České pivo podněcuje k dalšímu napití [4,9].

2.2 Charakterizace obsahových složek

Pivo je fyziologicky mimořádně vyrovnaným nápojem, má vysokou energetickou i nutriční hodnotu. Obsahuje významné množství sacharidů, bílkoviny, hořké chmelové látky, množství antioxidantů, alkohol, oxid uhličitý, vitamíny a minerální látky. Snadná stravitelnost extraktivních složek a celková fyziologická vyváženost piva způsobuje, že se látky obsažené v pivu zužitkují v lidském organismu snadno, rychle a bez vedlejších přeměn [2,4].

2.2.1 Obecná charakteristika českého ležáckého piva

Technologie pivovarství ležáků vznikla v 19. století v klášterních pivovarech v Bavorsku. Z německého slovesa „lagern“, tedy skladovat, vzniklo mezinárodně hojně používané označení tohoto typu piva. Prototypem světlého ležáku se v roce 1842 stalo plzeňské pivo Prazdroj, na jehož zrození se podíleli sládci Měšťanského pivovaru v Plzni [1,4].

Ležáky jsou piva z ječných sladů s obsahem extraktu původní mladiny 11-12 % hmotnostních. Po hlavním procesu kvašení je nutné několikátýdenní zrání v nízkých teplotách. Během této doby dochází k sekundárnímu kvašení, které vylepšuje chuť a kvalitu produktu [10].

Průměrné složení dvanáctistupňového světlého ležáku, tradičního českého piva, je uvedeno v následující tabulce.

Tabulka č. 2: Průměrné složení světlého ležáckého piva [5]

původní extrakt % hmot. (g/100g) (tj. extrakt mladiny před prokvašením)	11,8
alkohol % hmot. (g/100g roztoku)	3,9
alkohol % objem. (ml/100ml)	5,0
skutečný extrakt % hmot. (g/100g) (tj. zbytkový extrakt po prokvašení)	3,7
obsah vody (g/l)	920
hořké látky chmele (mg/1000ml)	27
oxid uhličitý % hmot. (g/1000ml)	5
pH	4,5
energetický obsah (kJ/1000 ml) (kcal/1000 ml)	1820 440
sacharidy celkové (g/1000 ml)	30
dextriny (g/1000 ml)	25
zkvasitelné cukry (g/1000 ml)	5
beta-glukany (mg/1000 ml)	250
pentosany (mg/1000 ml)	200
bílkoviny (g/1000 ml)	4,3
aminokyseliny (mg/1000 ml)	140
nukleové kyseliny (mg/1000 ml)	1
polyfenoly (mg/1000 ml)	185
antioxidační kapacita (mmol/l)	3,3
organické kyseliny, celkem (mg/1000 ml) (octová, citronová, glukonová, mléčná, malonová, pyrohroznová)	450

vitamíny (µg/1000 ml)	
thiamin	70
riboflavin	250
niacin	5000
kys. pantotenová	1200
pyridoxin	300
kyselina listová	200
kobalamin	2
estrogeny	40
minerály (mg/1000 ml)	
draslík	360
sodík	60
vápník	35
hořčík	85
fosfor	500
vedlejší produkty kvašení (mg/1000ml)	
glycerol	1500
alifatické a aromatické alkoholy	100
estery	25
celkový SO ₂	5

2.2.2 Sacharidy

Sacharidy představují převážnou část extraktivních složek piva. Nejdůležitější jsou nezkvasitelné štěpné produkty škrobu dextriny, v menším množství jsou zastoupeny i zkvasitelné cukry, především maltosa a maltotriosa. Pivo obsahuje i balastní látky napomáhající trávení, jsou to z chmelu pocházející pektiny. Celkový obsah sacharidů činí z piva velmi hodnotný zdroj energie [2,11].

2.2.3 Proteiny

Pivo obsahuje jen malé množství bílkovin a nepokryje doporučenou denní dávku aminokyselin. Důležitá je však přítomnost esenciálních aminokyselin, především fenylalaninu, valinu a argininu.

Bílkoviny také kladně ovlivňují tvorbu a stabilitu pивní pěny [11].

2.2.4 Alkohol

Obsah ethylalkoholu v pivu je oproti jiným alkoholickým nápojům podstatně nižší. Rozumná konzumace může snižovat riziko kardiovaskulárních onemocnění, alkohol podporuje krevní oběh, snižuje krevní tlak a příznivě ovlivňuje srážlivost krve [12].

Ethanol mění poměr HDL a LDL lipoproteinů, působí na zvýšení HDL frakce, čímž zabraňuje ukládání tuků na stěnách cév. Navíc podporuje vstřebávání dalších látek, které bojují proti ateroskleróze, především antioxidantů [2,4].

Pivo obsahuje i určité množství vyšších alkoholů. Typickými představiteli jsou 3-methylbutanol a 2-methylbutanol. Tyto těkavé látky spolu s aldehydy, ketony, estery

a organickými kyselinami pocházejí z metabolismu kvasinek a hrají klíčovou roli v senzorigickém profilu hotového piva [1].

2.2.5 Oxid uhličitý

Oxid uhličitý je z nutričního hlediska bezcennou látkou, avšak má vliv na senzorigické vlastnosti piva, trvanlivost a správný říz. Z fyziologického hlediska oxid uhličitý prokrvuje ústní sliznici, podporuje tvorbu slin a povzbuzuje produkci HCl v žaludku.

Oxid uhličitý se v pivu vytváří během procesu kvašení [4].

2.2.6 Minerály

V pivu je obsaženo značné množství minerálů, proto bývá označováno za iontový nápoj. Zdrojem anorganických solí je především voda a slad, z nichž je pivo vyrobeno. Spotřeba jednoho litru piva se podílí na krytí doporučených denních dávek stopových prvků a minerálů.

Minerální prvky ve výživě se podílí na výstavbě tělesných tkání, účastní se přenosu nervových vzruchů. Jiné pomáhají udržovat acidobazickou rovnováhu a osmotický tlak. Řada z nich je navíc součástí bílkovin, hormonů nebo enzymů [13].

Mezi nejvýznamnější přítomné kladné ionty patří kationty vápenaté, hořečnaté, sodné a draselné. Pivo je bohaté na obsah chloridových, síranových, dusičnanových a fosforečnanových aniontů [1].

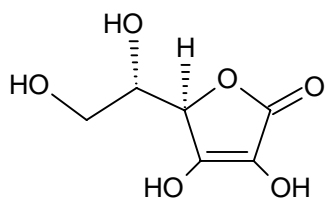
Navíc pivo představuje významný zdroj biologicky využitelného křemíku. Křemičité ionty brzdí absorpci hliníku v těle. Vyšší obsah hliníku bývá spojován s Alzheimerovou chorobou. Pivo obsahuje asi 30-80 mg využitelné formy křemíku, která hraje důležitou roli při vylučování hliníku z organismu [4].

2.2.7 Vitaminy [11,13]

S pivem se vnáší do organismu celá řada vitaminů rozpustných ve vodě. Vitaminy rozpustné v tucích jsou z piva odstraněny v průběhu výroby s dalšími nerozpustnými složkami. Zdrojem vitaminů je ječmen, především aleuronová vrstva ječmenného zrna.

Vitaminy jsou katalyzátory reakcí látkové přeměny. Pivo je bohaté především obsahem vitaminů skupiny B, v malém množství obsahuje i vitamin C.

Kyselina L-askorbová je silným redukčním činidlem, je prokazatelně esenciální pro biologické oxidační pochody. Zvyšuje odolnost organismu a zpomaluje nežádoucí oxidační děje. Ze surovin využívaných na výrobu piva má největší obsah vitamínu C ječmen. Kyselina askorbová je do piva i uměle přidávána, a to kvůli svým antioxidačním účinkům.



Obrázek 3: Kyselina L-askorbová

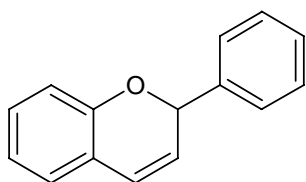
2.2.8 Antioxidační látky [14, 15, 16, 17, 18, 19]

Za antioxidanty se považují látky, které zpomalují nebo potlačují nežádoucí oxidační děje. Antioxidační vlastnosti vykazuje celá řada látek, podle struktury rozeznáváme antioxidanty

- A. fenolové: struktura odvozená od fenolu, např. flavonoidy
- B. endioly: látky s hydroxylovou skupinou na obou uhlících dvojně vazby, např. kyselina askorbová
- C. jiné látky: např. některé dusíkaté látky, amidy, alkaloidy.

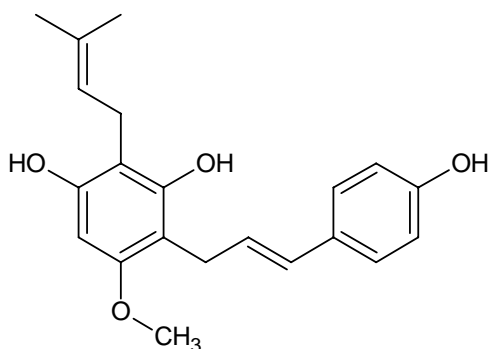
Nejvíce zastoupenou skupinu antioxidantů v pivu představují polyfenolové sloučeniny. Jedná se o látky fenolické povahy s vysokou antioxidační aktivitou, která závisí na počtu hydroxylových skupin v molekule. Polyfenoly se podílí na chemicko-fyzikální stabilitě piva, na formování pěny, mají vliv na sensorické vlastnosti piva i jeho celkovou trvanlivost. Některé z těchto látek navíc vykazují silné antikarcinogenní, protimikrobiální, protitrombózní a další pozitivní účinky na lidské zdraví.

Nejpočetnější skupinou polyfenolových sloučenin piva jsou flavonoidy. Struktura těchto látek je odvozena od heterocyklického flavanu.

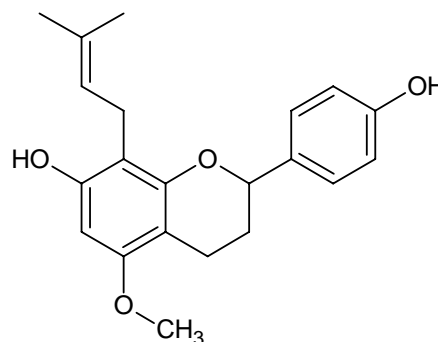


Obrázek č 4: Flavan

Chmelové flavonoidy se nejčastěji dělí do čtyř hlavních skupin na chalkony, flavanoly, flavonoly a anthokyanidiny. Majoritními složkami chmele jsou katechin, epikatechin a jejich polymery proanthokyanidiny; dále rutin, kvercetin a kempferol. Nejsledovanějším flavonoidem z hlediska lidského zdraví se v poslední době stal polyfenol chalkonové řady xanthohumol a jeho isomer isoxanthohumol. Oba řadíme mezi tzv. prenylflavonoidy. Xanthohumol, isoxanthohumol a ostatní prenylované flavonoidy chmele jsou schopné inhibovat oxidaci LDL, která hraje roli při vzniku aterosklerózy a může vést k cévním chorobám. Tyto látky mají prokázané protinádorové účinky na buňky lidského karcinomu prsu, tlustého střeva a vaječníků. Preparát obsahující účinné látky xanthohumol a humulon byl ve Spojených státech patentován jako lék při osteoporóze. Zajímavá je fytoestrogenní aktivita některých prenylflavonoidů. Snižují riziko výskytu různých typů rakoviny, pomáhají při klimakterických potížích, poruchách menstruace a obecně při bolestech hlavy a únavě.

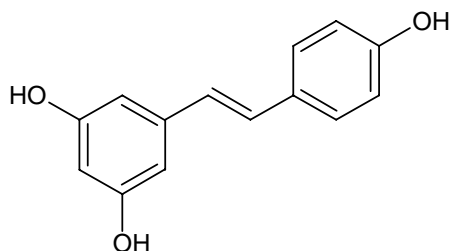


Obrázek 5: Xanthohumol



Obrázek 6: Isoxanthohumol

Dalším významným polyfenolem piva je *trans-resveratrol*. Poslední studie oceňují zejména jeho chemoprotektivní účinky při kardiovaskulárních a nádorových onemocněních.



Obrázek 7: *Trans-resveratrol*

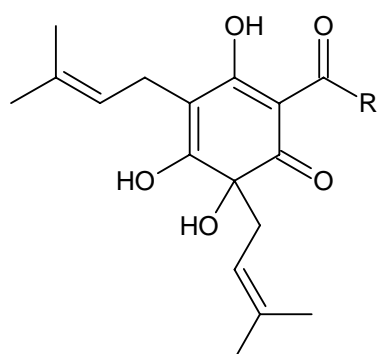
Polyfenolické látky v pivu patří mezi přírodní antioxidanty a pocházejí z chmele a ječmenného sladu. Vykazují množství pozitivních účinků na lidské zdraví. Mají prokazatelné antikarcinogenní, antisklerotické, antioxidační a protizánětlivé schopnosti. Moderovaná konzumace piva je výbornou možností získání těchto látek.

2.2.9 Hořké látky [20, 21, 22, 23]

Charakteristickou vlastností piva je jeho hořkost. Hořkou chuť způsobuje v potravinách celá řada nejrůznějších organických sloučenin, jako některé aminokyseliny, aminy, amidy, ketony, dusíkaté heterocykly včetně alkaloidů i další látky. Hořkost piva je způsobena přítomností hořkých kyselin pocházejících z chmele. Jedná se o deriváty 1,3,5 – benzotriolu (floroglucinolu) mající jako substituenty aromatického jádra karboxylovou kyselinu (acyl) a dva až tři prenylové postranní řetězce. Hořké chmelové kyseliny dělíme na dvě skupiny:

- A. α -hořké kyseliny (homology humulonů)
- B. β -hořké kyseliny (homology lupulonů).

Dominantní homology humulonů jsou kohumulon, adhumulon, prehumulon a posthumulon. Podobně tvoří základní homology lupulonů kolupulon, adlupulon, prelupulon a postlupulon. Struktury jednotlivých homologů se liší pouze strukturou postranního acylového řetězce.

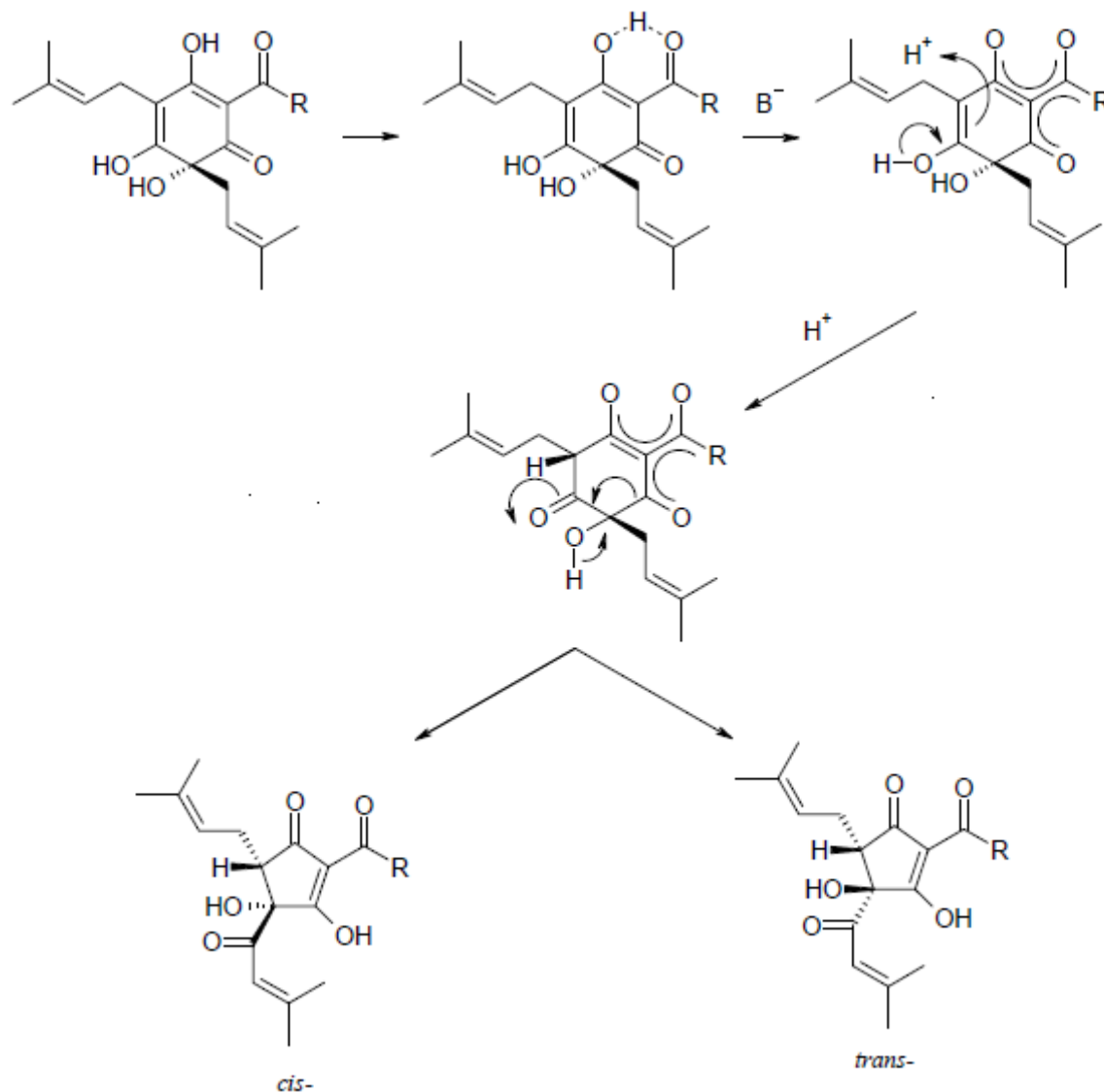


$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	humulon
$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	kohumulon
$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_3$	adhumulon
$-\text{CH}_2\text{CH}_3$	posthumulon
$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	prehumulon

Obrázek 8: Homology humulonů

α -hořké kyseliny se v průběhu zahřívání mladiny transformují na *iso- α* -kyseliny, které jsou zodpovědné za 70 % hořké chuti piva. Tato isomerace totiž způsobuje až čtyřicetnásobné zvýšení rozpustnosti isomerovaných hořkých kyselin a tím i vyšší organoleptickou hořkost.

Výsledkem reakce jsou dva geometrické isomery od každé iso- α -kyseliny. Ani tyto látky však nejsou konečnými produkty zahřívání, v průběhu chmelovaru vznikají další, zatím nepopsané sloučeniny.



Obrázek 9: Mechanismus isomerace humulonů [21]

Analogicky probíhá isomerace i u lupulonů. Produkty této isomerace a další chmelové hořké látky však vykazují oproti iso- α -kyselinám menší intenzitu hořké chuti. Iso- α -hořké kyseliny jsou tak nejdůležitějšími hořkými látkami piva z hlediska chuťových účinků i bakteriostatických vlastností.

Hořká chuť v ústech vyvolává zvýšenou sekreci trávicích šťáv a tím i chuť k přijímání potravy. Nejcitlivější pro vnímání hořkosti je oblast zadní třetiny jazyka, která reflexně ovládá sekreci příušních slinných žláz. Na základě podnětů vycházejících z receptorů chuti lze rovněž vyvolat zvýšené vylučování žaludečních šťáv a žlučových kyselin. Hořké látky v pivu tedy mohou příznivě ovlivňovat trávení.

2.3 Trávicí systém člověka [24, 25, 26]

Odnepaměti se traduje příznivý vliv piva na trávení. V procesu zpracování potravy nastává mnoho příležitostí pro interakci piva s trávicími tekutinami člověka.

2.3.1 Stavba trávicího systému

Trávicí soustava má za úkol příjem a zpracování potravy (trávení, vstřebání využitelných látek a vyloučení nestrávených a nestravitelných zbytků z těla). Základní proces, který umožňuje trávení a vstřebávání, je transport obsahu trávicí trubici. Potrava se sune celou délkou trávicího traktu a je postupně rozkládána na jednoduché látky, které je tělo schopné vstřebat.

Trávicí soustava člověka se skládá z dutiny ústní a jejích derivátů (zuby, slinné žlázy, jazyk), hltanu, jícnu, žaludku, tenkého a tlustého střeva. Každá část trávicího traktu je uzpůsobena účelu, jemuž slouží. Na trávicí trubici jsou vázány četné velké žlázy – slinné žlázy, játra s vývodními cestami žlučovými a slinivka břišní.

2.3.2 Tekutiny trávicího traktu

2.3.2.1 Sliny

Sekreci trávicích šťáv na úrovni dutiny ústní zajišťují slinné žlázy podčelistní, podjazykové a příušní. Tvorba slin probíhá neustále na bazální úrovni, zvýšená sekrece je vyvolána podmíněným nebo nepodmíněným reflexem. Denně se vytvoří 1-2 litry slin o pH přibližně 5,8-7,8. Dominantní složkou je voda, která tvoří 99 % celkového objemu. Sliny dále obsahují anorganické soli, mucin, enzymy α -amylázu a lysozym. Význam slin spočívá ve zvlhčení potravy a usnadnění polykání. V ústní dutině začíná díky přítomnosti enzymu štěpení cukrů.

2.3.2.2 Žaludeční šťáva

Ve sliznici žaludku je umístěno množství žláz produkujících žaludeční šťávu. Žlázy jsou tvořeny třemi typy buněk. Buňky hlenové produkcí mucinu chrání před patogenními mikroorganismy a působením HCl. Ta je uvolňována buňkami krycími. Hlavní buňky produkují pepsinogen, proenzym pepsinu. K aktivaci enzymu štěpícího bílkoviny dochází působením kyseliny chlorovodíkové. Její význam spočívá i v likvidaci choroboplodných zárodků, navíc denaturuje bílkoviny, čímž usnadňuje trávení a pomáhá vstřebávání některých živin. Kyselina chlorovodíková také zabraňuje předčasné inaktivaci vitaminů B₁, B₂ a C.

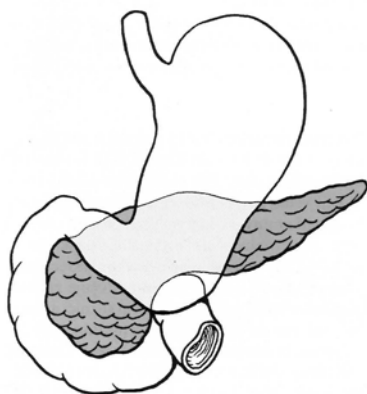
Žaludeční šťáva je bledě žlutá tekutina o pH asi 1-2, její denní produkce činí 2-3 litry. Kromě výše zmíněných složek obsahuje velké množství vody, anorganické soli a některé další enzymy.

2.3.2.3 Střevní šťáva

Tenké střevo se skládá ze tří oddílů, dvanáctníku (duodenum), lačnicku (jejunum) a kyčelníku (ileum). Jeho sliznice je bohatě zřasená, s jemnými výběžky – klky. Mezi klky jsou ve sliznici trubicovité žlázy střevní, které produkují slabě zásaditou střevní šťávu. Tato tekutina tvoří rozpouštědlo pro vstřebávané živiny, obsažený hlen chrání sliznice a přítomné peptidázy, lipázy a amylázy se podílejí na rozkladu živin.

2.3.2.4 Pankreatická šťáva

Slinivka břišní je žláza s dvojitou sekrecí – exokrinní a endokrinní. Exokrinní oddíl je považován za součást trávicího systému, je to tuboalveolární žláza, která denně odvádí do duodena 1-2 litry pankreatické šťávy. Pankreatická šťáva, v Československém lékopise označovaná jako duodenální, je zásaditá tekutina o pH asi 8,5, tvořená především vodou a HCO_3^- ionty. Součástí jsou enzymy proteinázy (trypsin, chymotrypsin), pankreatická α -amyláza, pankreatická lipáza a další. Pankreatická šťáva se významným způsobem podílí na trávení potravy.



Obrázek 10: Vztah žaludku a duodena k pankreatu [24]

2.3.2.5 Žluč

Žluč vzniká v jaterních buňkách, obsahuje soli žlučových kyselin, žlučová barviva, cholesterol a další látky. Jedná se o tekutinu žlutozelené barvy, která je z jater odváděna žlučovými cestami do žlučníku. Denně vzniká asi 0,5-1 litr žluči, která se ve žlučníku zahušťuje a podle potřeby se vydává do duodena. Společný vývod žlučníku a vývodu jaterního ústí do dvanáctníku v těsné blízkosti vývodu slinivky břišní. V duodenu se žluč podílí na emulgaci tukových složek tráveniny, čímž usnadňuje činnost lipáz.

3 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo stanovit fyziologický účinek českého vícestupňového piva. V rámci práce byly řešeny následující dílčí úkoly:

- rešerše zaměřená na charakterizaci českého piva a jeho obsahových složek
- kvantifikace polyfenolů, flavonoidů, hořkých látek a celkové antioxidační aktivity u 22 vzorků piv
- stanovení obsahu vitamínu C v jednotlivých vzorcích
- analýza pufrovací kapacity piva a měření aktivity proteolytických trávicích enzymů
- srovnání výsledků mezi vzorky českými a zahraničními a mezi pivy vícestupňovými a nealkoholickými

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky

4.1.1 Chemikálie

Kyselina gallová, standard (Sigma-Aldrich, GER)
Katechin, standard (Sigma-Aldrich, GER)
Kyselina L-askorbová, standard (Sigma-Aldrich, GER)
Pepsin from porcine gastric mucosa (Sigma-Aldrich, GER)
Pancreatin (Sigma-Aldrich, GER)
Azocasein (Sigma-Aldrich, GER)
Azoalbumin (Sigma-Aldrich, GER)
Ethylalkohol pro UV spektroskopii (Lach-Ner, CZE)
Acetonitril HPLC Super Gradient (Lach-Ner, CZE)
Peroxodisíran draselný (Sigma-Aldrich, GER)
ABTS - 2,2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazolin sulfonát) (Sigma-Aldrich, GER)
Trolox – 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-dikarboxylová kyselina (Sigma-Aldrich, GER)

Ostatní použité chemikálie byly čistoty p.a. a byly získány od běžných dodavatelů.

4.1.2 Přístroje, pomůcky

Analytické váhy Boeco (GER)
UV/VIS spektrofotometr Thermo Spectronic Helios δ (GB)
UV/VIS spektrofotometr Unicam Helios α (GB)
Ultrazvuk PS02000 Ultrasonic Compact Cleaner 1,25L Powersonic (SVK)
Vortex Techno Kartell TK3S (AUS)
Třepačka Yellowline RS 10 basic (SVK)
pH metr Eutech Instruments WP pH Tester 30 (NED)
pH papírky Selective Indicator papers pH 1,0 – 2,3 Lach-Ner (CZE)
pH papírky Universal Indikatorpapier Lachema (CZE)
Mikrocentrifuga Hettich Zentrifugen Mikro 200 (GER)
Vodní lázeň Unimed Kavalier EL-20D (CZE)
Mikropipety HTL Discovery Autoclavable (GER)
Mikropipety Biohit Proline (FIN)
Stříkačkové filtry Biotechlab Ltd. Simplepure NY 0,4 μm (BGR)
Sestava HPLC (ECOM, CZE)
 vysokotlaké čerpadlo LCP 4020
 termostat Column Oven LCO 101
 detektor spektrofotometrický LCD 2084
 kolona Supelco silTM (C₁₈-NH₂ 250 x 4,6 mm, 5 μm)

4.2 Analyzované vzorky piva

Pro analýzu bylo vybráno celkem 22 vzorků piva, z nichž 17 bylo alkoholických a 5 piv nealkoholických. Mezi vzorky se nacházelo 16 piv českých a 6 zahraničních. Kromě tří vzorků v plechovce byla všechna piva balena ve skleněných lahvích.

Tabulka 3: Seznam piv použitých pro analýzu

značka	místo výroby	vlastník	minimální trvanlivost	alkohol [%]
piva česká				
Bernard Sváteční ležák	Humpolec	Rodinný pivovar Bernard a. s.	20. 7. 2012	5,0 %
Bernard nealko	Humpolec	Rodinný pivovar Bernard a. s.	5. 4. 2012	0,5 %
Braník	Praha-Smíchov	Pivovary Staropramen	23. 4. 2012	5,0 %
Březňák	Vyškov	Jihomoravské pivovary a. s.	21. 3. 2012	5,2 %
Budweiser Budvar	České Budějovice	Budweiser Budvar	20. 4. 2012	5,0 %
Budweiser Budvar nealko	České Budějovice	Budweiser Budvar	5. 7. 2012	0,5 %
Gambrinus	Nošovice	Plzeňský Prazdroj a. s.	2. 5. 2012	4,1 %
Gambrinus	Plzeň	Plzeňský Prazdroj a. s.	2. 5. 2012	4,1 %
Gambrinus	Velké Popovice	Plzeňský Prazdroj a. s.	1. 5. 2012	4,1 %
Velkopopovický Kozel Premium	Velké Popovice	Plzeňský Prazdroj a. s.	17. 6. 2012	4,8 %
Krušovice	Krušovice	Heineken	23. 7. 2012	5,0 %
Lobkowicz nealko	Protivín	Brewery Trade	23. 5. 2012	0,49 %
Pilsner Urquell	Plzeň	Plzeňský Prazdroj a. s.	29. 3. 2012	4,4 %
Starobrno	Brno	Heineken	24. 6. 2012	5,0 %
Starobrno Fríí	Krušovice	Heineken	19. 8. 2012	0,5 %
Staropramen nealko	Praha-Smíchov	Pivovary Staropramen	19. 6. 2012	0,5 %
piva zahraniční				
Corona	Mexico City	Modelo	8. 3. 2012	4,6 %
Duff Beer	Eschwege	Eschweger Klosterbrauerei	12. 7. 2012	4,7 %
Heineken	Amsterdam	Heineken	10. 4. 2012	5,0 %
Sapporo Kaitakushi Premium Beer	Sapporo	Sapporo Breweries Limited	12. 6. 2012	5,5 %
Sapporo Black Label Tohoku Hop	Sapporo	Sapporo Breweries Limited	12. 6. 2012	5,0 %
Zlatý Bažant	Brno	Heineken	22. 5. 2012	5,0 %

4.2.1 Zpracování vzorků pro analýzu

Pro stanovení antioxidační aktivity, obsahu vitaminů a měření proteolytické aktivity byly vzorky piva sonikovány za účelem odstranění oxidu uhličitého. Pivo bylo dále ředěno dle postupu metody.

4.2.2 Stanovení antioxidačních látek [27, 28]

V rámci všech metod stanovení antioxidačních látek byl každý vzorek analyzován třikrát a výsledky byly vyhodnoceny jako průměr ze tří stanovení. Výsledky byly statisticky zpracovány, SD byla vyhodnocena pomocí programu MS Excel.

4.2.2.1 Stanovení celkových polyfenolů

K 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla zředěnému vodou v poměru 1:9 byl přidán 1 ml vody a 50 μ l vzorku piva. Vzorek byl promíchán a po 5 minutách bylo přidáno 1,5 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Po promíchání a 15 minutovém stání byla měřena absorbance při 750 nm. Jako kalibrační roztok byla použita kyselina gallová v koncentračním rozmezí 0,1-0,7 mg/ml.

4.2.2.2 Stanovení celkových flavonoidů

Byly připraveny roztoky 5% dusitanu sodného, 10% chloridu hlinitého a hydroxidu sodného o koncentraci 1 mol/dm³ ve vodě. K 0,5 ml piva bylo přidáno 0,2 ml NaNO₂ a 1,5 ml vody a vzorek byl promíchán. Po 5 minutách bylo přidáno 1,5 ml AlCl₃ a 1 ml vody. Po promíchání a 15-ti minutovém odstátí byla měřena absorbance při 510 nm. Kalibračním roztokem byl katechin v koncentracích 0,05-0,3 mg/ml.

4.2.2.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

ABTS bylo rozpuštěno ve vodě na koncentraci 7 mol/dm³. Radikálový kation ABTS byl získán reakcí s 2,45 mmol/dm³ peroxodisíranem draselným. Roztok se ponechal stát po dobu nejméně 12 hodin ve tmě při pokojové teplotě. Před použitím byl zředěn ethanolem na absorbanci 0,700 \pm 0,02 při 734 nm, měřeno proti ethanolu. Do zúžené kyvety byl napipetován 1 ml ABTS, bylo přidáno 10 μ l vzorku a pokles absorbance byl zaznamenán v 10. minutě. Hodnota, od které byl pokles absorbance odečítán byla proměřena pro 1 ml ABTS a 10 μ l vody. Jako kalibrační roztok byl použit roztok Troloxu v 60% ethanolu v koncentracích 50 – 400 μ l/ml.

4.2.3 Stanovení technologických parametrů

Pro stanovení obsahu celkových hořkých látek i isosloučenin byl každý vzorek analyzován třikrát, výsledky byly vyhodnoceny jako průměr a SD byla stanovena v programu MS Excel.

4.2.3.1 Stanovení celkových hořkých látek

Ke vzorku o objemu 10 ml bylo po 20 minutách sonikace přidáno 0,5 ml HCl o koncentraci 6 mol/dm³, 20 ml isooktanu a několik skleněných kuliček. Směs byla třepána 15 min na třepačce. Absorbance isooktanového extraktu vzorku byla měřena proti čistému isooktanu při 275 nm.

$$\text{Jednotky hořkosti} = 50 \cdot A$$

4.2.3.2 Stanovení isosloučenin

Vzorek o objemu 10 ml byl sonikací (20 minut) zbaven CO₂. Poté byl přidán 1 ml HCl o koncentraci 3 mol/dm³ a 20 ml isooktanu, směs byla třepána na třepačce. Po uplynutí 5 minut byla změřena absorbance isooktanové vrstvy při 275 nm proti isooktanu.

$$\text{Isosloučeniny} = 57,2 \cdot A - 5,9$$

4.2.4 Stanovení pufrovací kapacity

4.2.4.1 Příprava simulovaných fyziologických podmínek

Dle Československého lékopisu z roku 1987 byly připraveny modely roztoků žaludeční a duodenální šťávy. Pro žaludeční šťávu bylo 0,25 g pepsinu rozpuštěno ve 100 ml vody s 1,0 g koncentrované HCl. Duodenální šťáva byla připravena rozpuštěním 0,25 g pankreatinu a 1,5 g hydrogenuhličitanu sodného ve 100 ml vody [29].

4.2.4.2 Měření pH

K 10 ml tělní tekutiny bylo postupně přidáváno pivo v objemu 1 ml až do celkového přidaného množství piva 20 ml. V každém kroku byla zaznamenána změna pH pomocí pH metru i indikátorových papírků. Poté bylo ke směsi přidáno další pivo v množství 10 ml až do celkových objemů 30, 40 a 50 ml piva. Po každém přidavku byla opět změřena změna pH. Analýza všech vzorků byla provedena dvakrát a výsledky jsou uvedeny jako průměr ze dvou stanovení.

4.2.5 Stanovení aktivity trávicích proteolytických enzymů [30, 31]

4.2.5.1 Stanovení proteázové aktivity v žaludeční šťávě

Jako substrát byl připraven roztok azoalbuminu v žaludeční šťávě bez pepsinu o koncentraci 5 mg/ml. Roztok enzymu byl vytvořen smícháním žaludeční šťávy obsahující enzym s pivem v poměrech 2:1, 1:1 a 1:2. Pro měření bylo smícháno 100 µl enzymu a 100 µl substrátu, vzorek byl inkubován 15 minut v 37 °C. Potom bylo přidáno 410 µl 10% trichloroctové kyseliny. Po 1-2 minutách byla vzniklá sraženina odstředěna, 500 µl supernatantu bylo napipetováno do kyvety a po přidání 700 µl 1 M NaOH byla měřena absorbance při 440 nm. Jako blank se použila stejná reakční směs, jen trichloroctová kyselina se přidala ještě před inkubací. Pro každý vzorek byla provedena tři měření, výsledky byly vyhodnoceny jako průměr. Výsledné hodnoty byly statisticky zpracovány, SD byla stanovena v programu MS Excel.

4.2.5.2 Stanovení proteázové aktivity v duodenální šťávě

Proteázová aktivita v duodenální šťávě byla stanovena shodným způsobem, jako v žaludeční šťávě. Jako substrát byl použit roztok azocaseinu v 50 mM Tris pufru pH 8 o koncentraci 5 mg/ml. Každý vzorek byl analyzován třikrát, výsledky byly vyhodnoceny jako průměr ze tří stanovení a SD byla stanovena s použitím programu MS Excel.

4.2.6 Stanovení vitamínu C

Vzorek piva sonikovaný po dobu 20 minut byl smíchán s 2% kyselinou metafosforečnou v poměru 1:19 a zfiltrován přes mikrofiltr. Takto připravený vzorek byl analyzován metodou kapalinové chromatografie. Detekce vzorků byla provedena spektrofotometricky při vlnové délce 275 nm. Mobilní fází byla směs octanu sodného o koncentraci 0,05 mol/dm³ a acetonitrilu v poměru 95:5, rychlost průtoku byla nastavena na 0,6 ml/min, teplota pro separaci na 30 °C. Chromatogramy byly zpracovány pomocí software Clarity. Kvantitativní analýza askorbátu v pivu byla provedena pomocí externí kalibrace s využitím kalibračního standardu kyseliny askorbové v rozmezí koncentrací 5-50 mg/l ze souběžně prováděné diplomové práce. Analýza byla provedena dvakrát, výsledky jsou uvedeny jako průměrné hodnoty ze dvou měření.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Práce se zabývá studiem biologicky aktivních látek v českém pivu a jeho fyziologickými účinky. Ve jednotlivých vzorcích byly kvantifikovány antioxidační látky a základní pivovarské charakteristiky. Pomocí simulovaných fyziologických podmínek byla analyzována pufrovací kapacita českého vícestupňového piva. Naměřená data jsou porovnávána z hlediska fyziologického účinku analyzovaných piv českých a zahraničních, alkoholických i nealkoholických.

4.3 Stanovení antioxidačních látek

4.3.1 Celkové polyfenoly

Ke stanovení celkových polyfenolů byla použita spektrofotometrická metoda založená na barevné reakci vzorku s Folin Ciocalteuovým činidlem popsaná v kapitole 4.2.2.1. Jako standardní roztok byla použita kyselina gallová. Každý vzorek analyzován třikrát a výsledky byly vyhodnoceny jako průměr ze tří stanovení. Výsledky byly statisticky zpracovány, SD byla vyhodnocena pomocí programu MS Excel.

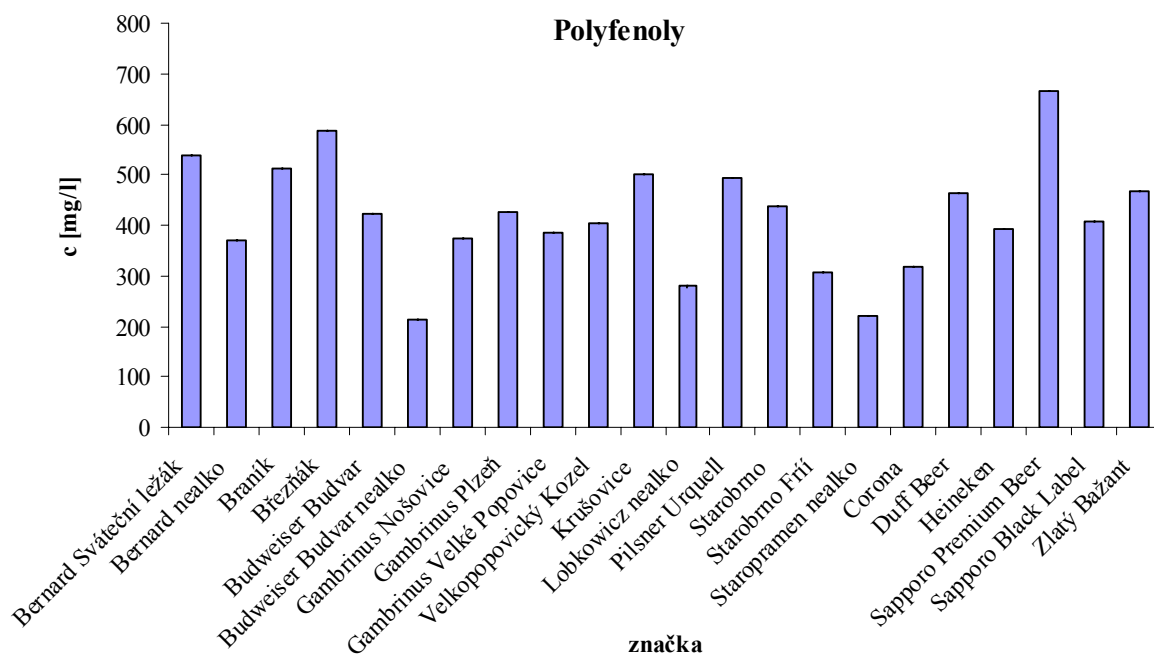
4.3.2 Celkové flavonoidy

Celkové flavonoidy byly analyzovány pomocí fotometrické metody uvedené v kapitole 4.2.2.2. Standardním roztokem byl roztok katechinu. Analýza byla provedena třikrát, výsledky jsou uvedeny jako průměr ze tří hodnot. V tabulce je pro každý vzorek uveden i podíl flavonoidů z celkových polyfenolů.

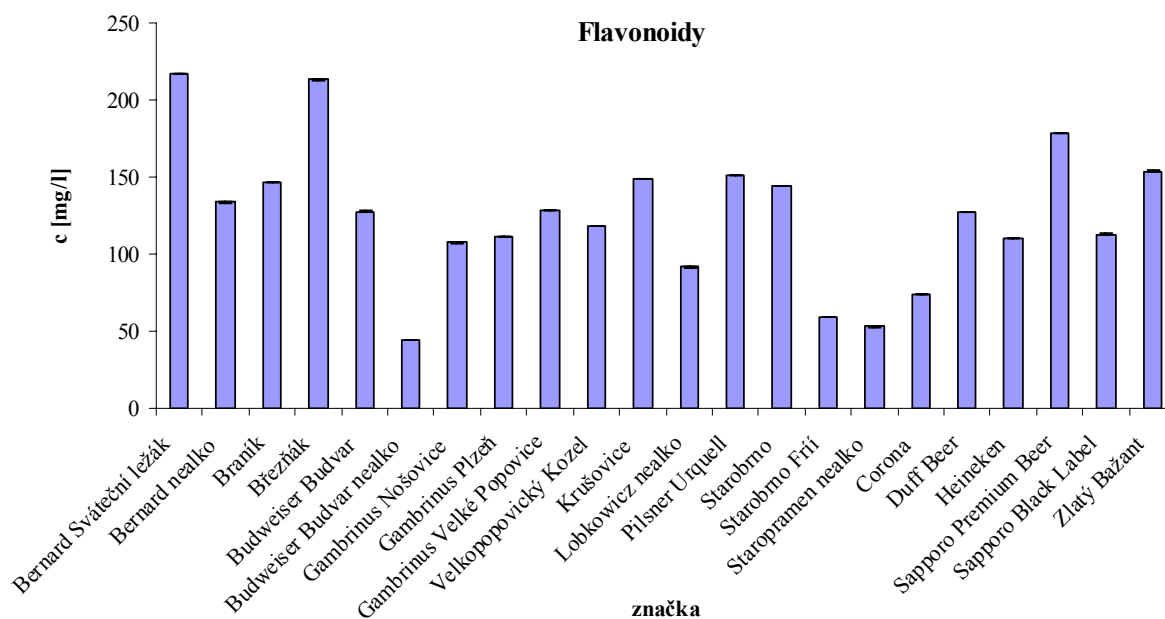
Tabulka 4: Výsledky obsahu fenolických látek ve vzorcích piv

značka piva	polyfenoly c [mg/l]	flavonoidy c [mg/l]	% flavonoidů z polyfenolů
piva česká			
Bernard Sváteční ležák	539,17 ± 0,30	217,23 ± 0,16	40,29
Bernard nealko	368,78 ± 0,04	133,57 ± 0,26	36,22
Braník	513,38 ± 0,41	146,75 ± 0,17	28,58
Březňák	588,19 ± 0,31	213,07 ± 0,09	36,22
Budweiser Budvar	420,63 ± 0,04	127,57 ± 0,32	30,33
Budweiser Budvar nealko	213,22 ± 0,04	44,72 ± 0,10	20,97
Gambrinus Nošovice	375,10 ± 0,32	107,46 ± 0,17	28,65
Gambrinus Plzeň	425,41 ± 0,13	111,62 ± 0,11	26,24
Gambrinus Velké Popovice	385,42 ± 0,33	128,49 ± 0,09	33,34
Velkopopovický Kozel	404,25 ± 0,63	118,55 ± 0,14	29,33
Krušovice	501,25 ± 0,37	148,83 ± 0,20	29,69
Lobkowicz nealko	278,62 ± 0,31	91,51 ± 0,20	32,85
Pilsner Urquell	492,22 ± 0,23	150,67 ± 0,09	30,61
Starobrno	436,50 ± 0,38	143,97 ± 0,14	32,98
Starobrno Fríí	305,32 ± 0,12	58,93 ± 0,07	19,30
Staropramen nealko	221,86 ± 0,13	52,92 ± 0,12	23,85

piva zahraniční			
Corona	317,70 ± 0,81	73,72 ± 0,07	23,20
Duff Beer	462,04 ± 0,31	126,87 ± 0,07	27,46
Heineken	392,77 ± 0,43	110,20 ± 0,00	28,06
Sapporo Premium Beer	667,13 ± 0,08	178,18 ± 0,07	26,71
Sapporo Black Label	407,86 ± 0,23	113,01 ± 0,07	27,71
Zlatý Bažant	467,71 ± 0,41	153,91 ± 0,26	32,91



Graf 1: Obsah celkových polyfenolů ve vzorcích pív



Graf 2: Obsah flavonoidů ve vzorcích pív

Nejvyšší obsah polyfenolů i flavonoidů mezi tuzemskými pivy byl zjištěn u piva Březňák a u nepasterovaného Bernarda. Mezi zahraničními pivy vyniká Sapporo Premium Beer, obsahem polyfenolů výrazně převyšuje zjištěné hodnoty všech českých piv. Obsah antioxidantů u nealkoholických piv je významně nižší, než u ležáků. Výjimku tvoří nealkoholický Bernard, který dosahuje hodnot vícečetných piv.

4.3.3 Antioxidační aktivita

Metoda využívá schopnost antioxidantů zhaset barevný radikálový kation ABTS⁺ (2,2' - azinobis(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfonát). Ke generaci kationtu byl použit peroxodisíran draselný, jak je uvedeno v kapitole 4.2.2.3. Odbarvení roztoku bylo měřeno spektrofotometricky při 734 nm. Úbytek absorbance byl pomocí kalibrační křivky přepočten na ekvivalentní množství Troloxu. Analýza byla provedena třikrát, výsledky jsou uvedeny jako průměr ze tří stanovení. SD byla vypočtena v programu MS Excel.

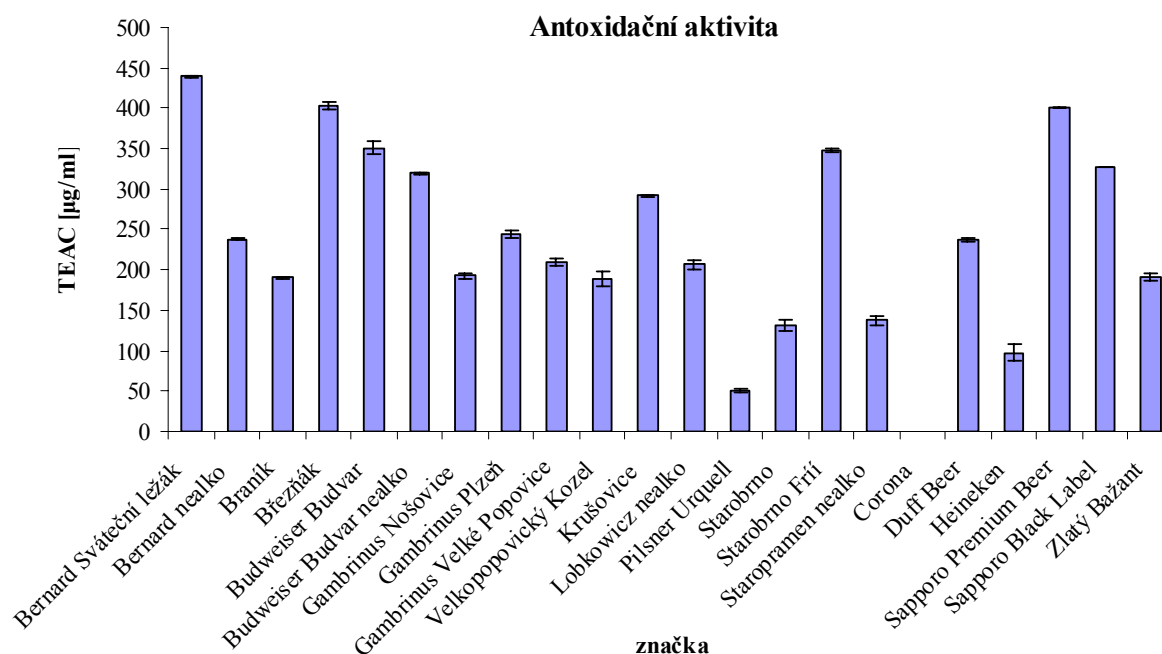
Tabulka 5: Výsledky celkové antioxidační aktivity

značka piva	TEAC [$\mu\text{g/ml}$]
piva česká	
Bernard Sváteční ležák	438,98 \pm 0,67
Bernard nealko	238,03 \pm 0,67
Braník	190,16 \pm 1,35
Březňák	403,24 \pm 4,28
Budweiser Budvar	351,31 \pm 7,00
Budweiser Budvar nealko	319,62 \pm 1,35
Gambrinus Nošovice	192,85 \pm 4,05
Gambrinus Plzeň	244,10 \pm 4,05
Gambrinus Velké Popovice	209,71 \pm 4,72
Velkopopovický Kozel	189,48 \pm 8,77
Krušovice	291,98 \pm 0,67
Lobkowicz nealko	207,01 \pm 6,00
Pilsner Urquell	51,25 \pm 2,70
Starobrno	131,49 \pm 6,07
Starobrno Fríí	347,94 \pm 1,35
Staropramen nealko	138,01 \pm 5,67
piva zahraniční	
Corona	-
Duff Beer	237,36 \pm 2,70
Heineken	97,77 \pm 2,70
Sapporo Premium Beer	401,21 \pm 0,67
Sapporo Black Label	327,04 \pm 0,67
Zlatý Bažant	192,18 \pm 0,67

Velmi vysoká hodnota antioxidační aktivity byla zjištěna u japonských piv Sapporo Premium Beer a Sapporo Black Label. Z tuzemských vzorků vykazují největší antioxidační

aktivitu piva Březňák, Bernard Sváteční ležák, Starobrno Fríí a Budweiser Budvar v alkoholické i nealkoholické variantě.

U piva Corona nebyla antioxidační aktivita naměřena, spektrofotometrická metoda vykazovala záporné hodnoty.



Graf 3: Celková antioxidační aktivita

4.4 Stanovení technologických parametrů

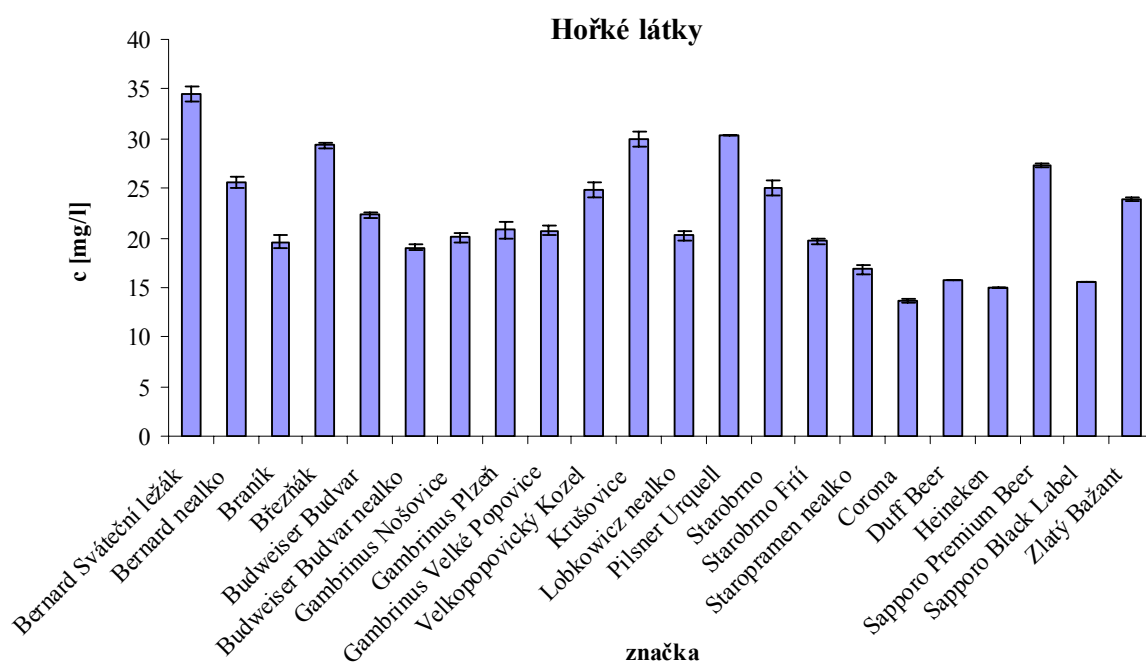
4.4.1 Hořké látky

Hořkost piva byla stanovena měřením absorbance isooktanového extraktu při 275 nm. Výsledek se vyjadřuje v jednotkách EBU, kdy 1 j. EBU odpovídá koncentraci 1 mg/l hořkých látek. V tabulce je uvedeno množství hořkých látek v jednotlivých vzorcích, a procentuální zastoupení isosloučenin z celkového počtu hořkých látek. Každý vzorek byl analyzován třikrát, výsledky jsou uvedeny jako průměr ze tří stanovení.

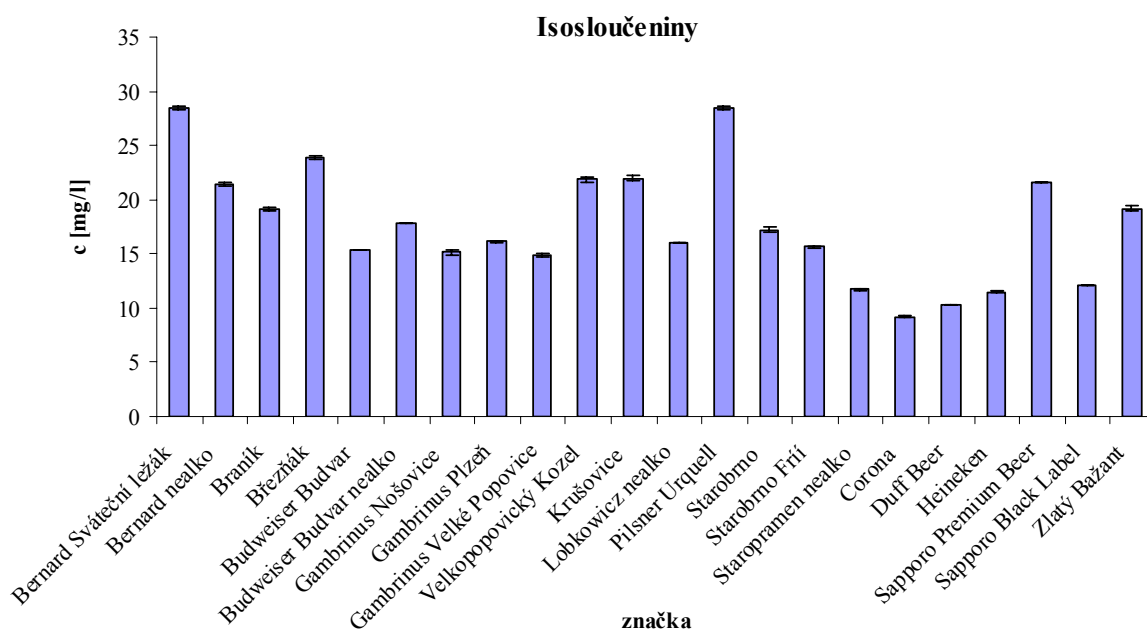
Tabulka 6: Výsledky obsahu hořkých látek a isosloučenin ve vzorcích piv

značka piva	hořké látky c [mg/l]	isosloučeniny c [mg/l]	% isosloučenin z hořkých l.
piva česká			
Bernard Sváteční ležák	34,52 ± 0,94	28,44 ± 0,12	82,39
Bernard nealko	25,60 ± 0,71	21,38 ± 0,19	83,53
Braník	19,61 ± 0,80	19,17 ± 0,12	97,73
Březňák	29,33 ± 0,25	23,93 ± 0,14	81,60
Budweiser Budvar	22,28 ± 0,25	15,38 ± 0,06	69,04
Budweiser Budvar nealko	19,03 ± 0,25	17,87 ± 0,03	93,91

Gambrinus Nošovice	20,03 ± 0,62	15,17 ± 0,24	75,72
Gambrinus Plzeň	20,82 ± 0,94	16,18 ± 0,08	77,72
Gambrinus Velké Popovice	20,73 ± 0,62	14,88 ± 0,19	71,78
Velkopopovický Kozel	24,88 ± 0,85	21,84 ± 0,19	87,78
Krušovice	29,88 ± 0,85	21,99 ± 0,24	73,60
Lobkowicz nealko	20,20 ± 0,41	15,95 ± 0,00	78,96
Pilsner Urquell	30,28 ± 0,00	28,45 ± 0,14	93,96
Starobrno	25,07 ± 0,99	17,21 ± 0,21	68,65
Starobrno Fríí	19,63 ± 0,25	15,64 ± 0,03	79,67
Staropramen nealko	16,78 ± 0,62	11,72 ± 0,05	69,82
piva zahraniční			
Corona	13,68 ± 0,25	9,20 ± 0,06	67,28
Duff Beer	15,75 ± 0,00	10,29 ± 0,00	65,32
Heineken	14,90 ± 0,00	11,49 ± 0,06	77,11
Sapporo Premium Beer	27,28 ± 0,25	21,67 ± 0,00	79,45
Sapporo Black Label	15,55 ± 0,00	12,15 ± 0,03	78,11
Zlatý Bažant	23,87 ± 0,24	19,15 ± 0,23	80,25



Graf 4: Obsah hořkých látek ve vzorcích piv



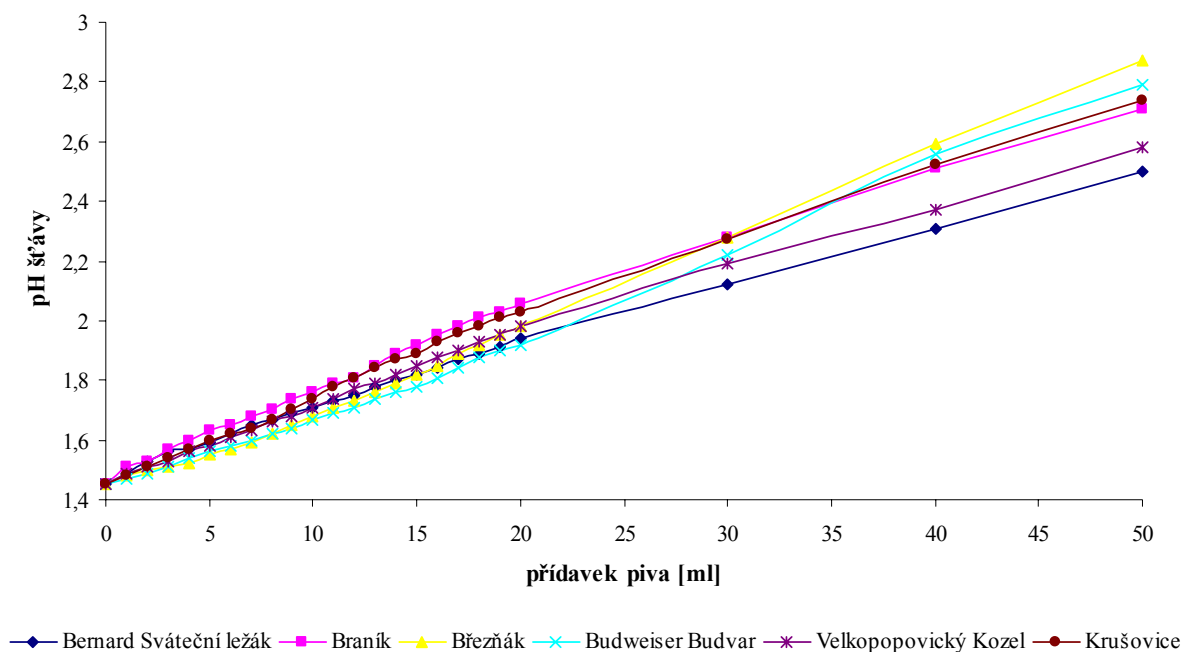
Graf 5: Obsah isoslovenin ve vzorcích piv

Analýza prokázala nejvyšší obsah hořkých látek v pivu Bernard Sváteční ležák a Pilsner Urquell. Vysoké hodnoty vykazují i piva Břežňák, Velkopopovický Kozel a Krušovice. Ze zahraničních vzorků pak Sapporo Premium Beer a slovenský Zlatý Bažant.

4.5 Měření pH

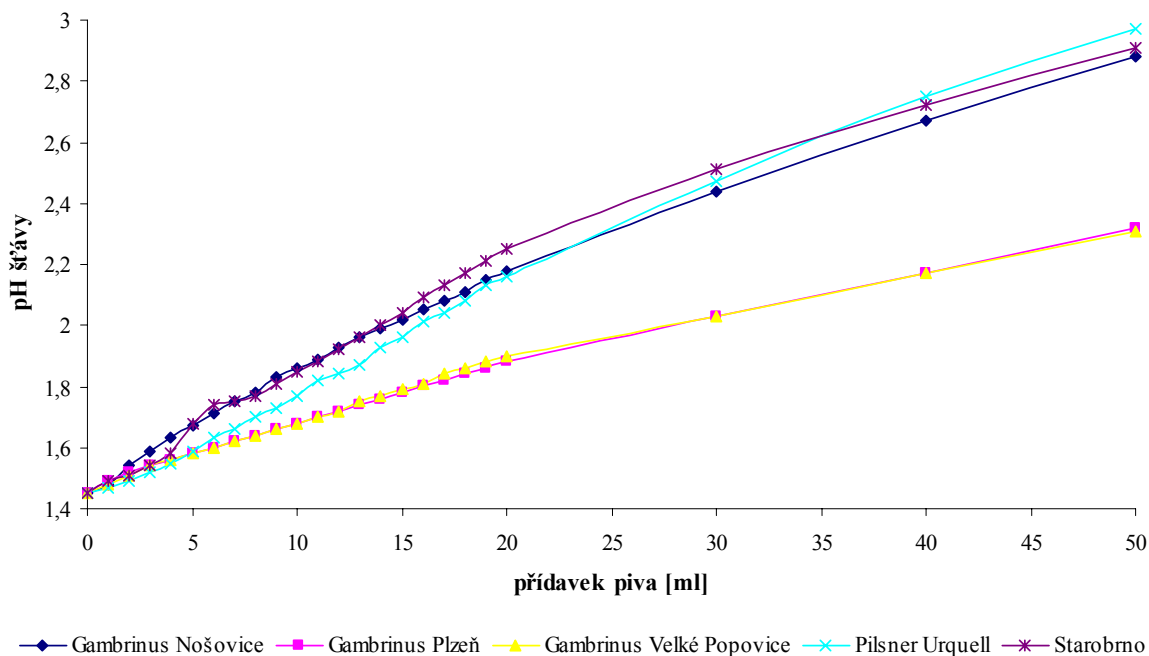
Změny pH žaludeční a duodenální šťávy byly měřeny pH metrem po každém jednom přidavku malého objemu piva, jak je uvedeno v kapitole 4.2.4.2. Pro orientační kontrolu bylo při každém kroku měřeno pH i pomocí indikátorových papírků. Analýza byla pro všechny vzorky provedena dvakrát, výsledky jsou uvedeny jako průměr ze dvou měření. Všechny naměřené hodnoty jsou uvedené v tabulkách v příloze 4. Změny pH po přidavcích jednotlivých piv pro žaludeční i duodenální šťávu zobrazují následující grafy.

Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva



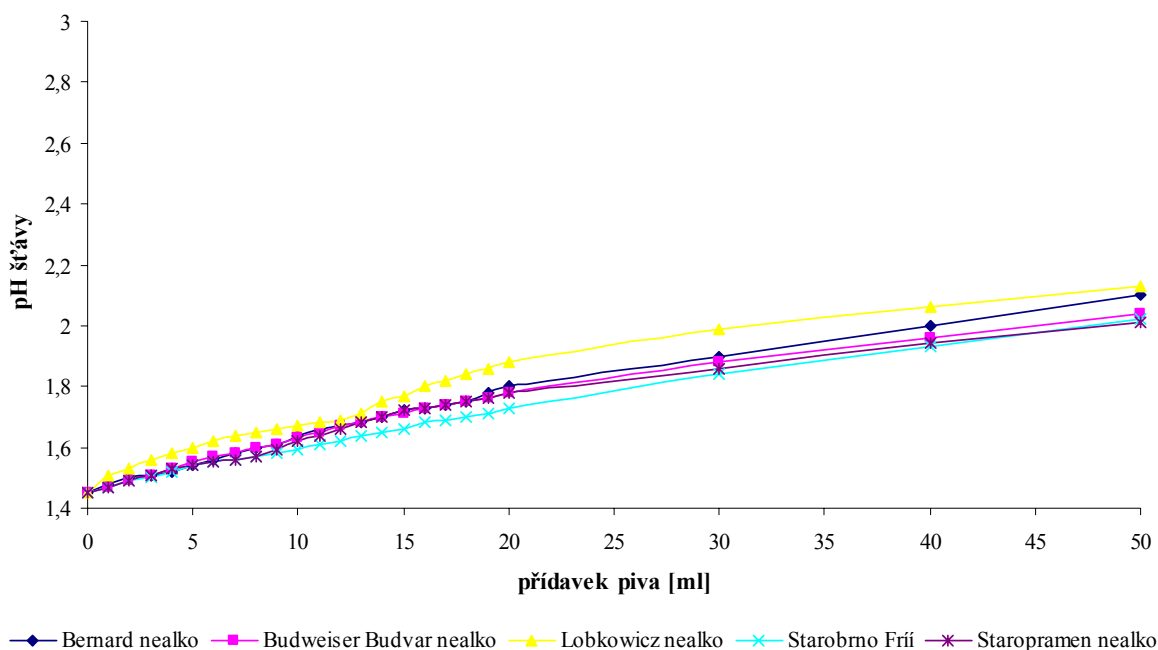
Graf 6: Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva

Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva



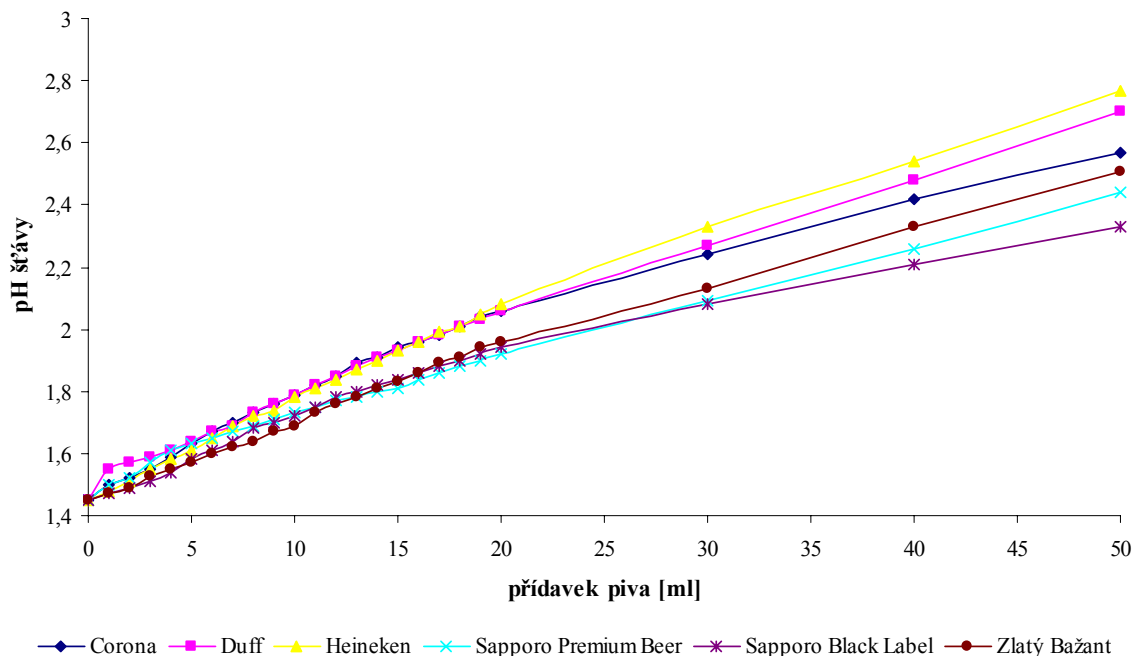
Graf 7: Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva

Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva



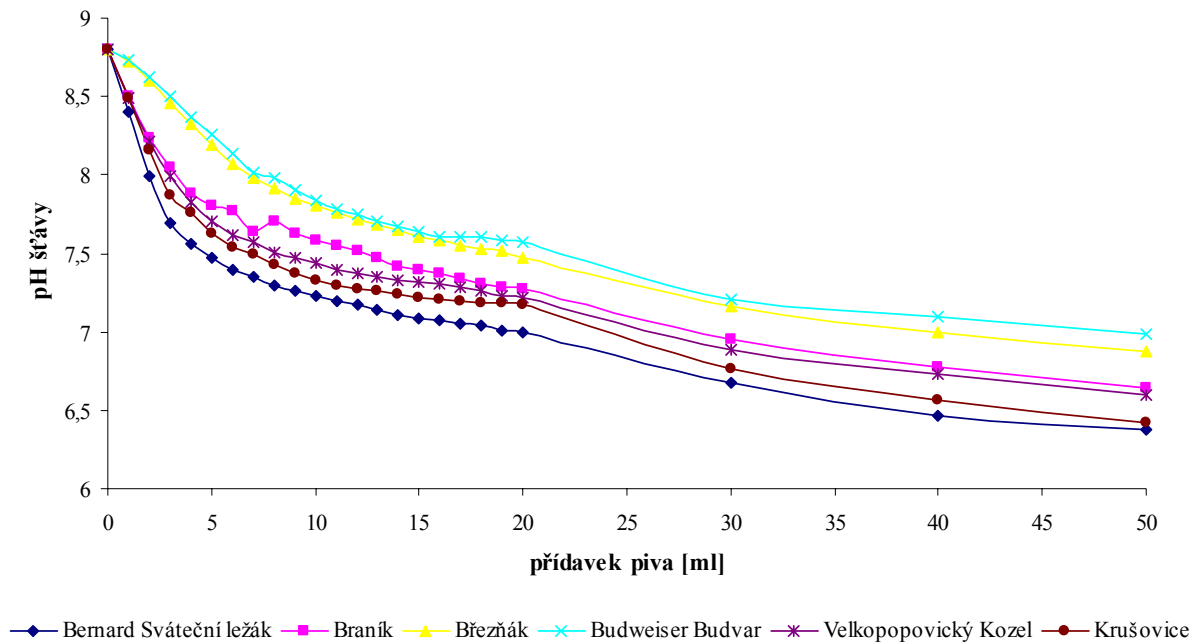
Graf 8: Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva

Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva



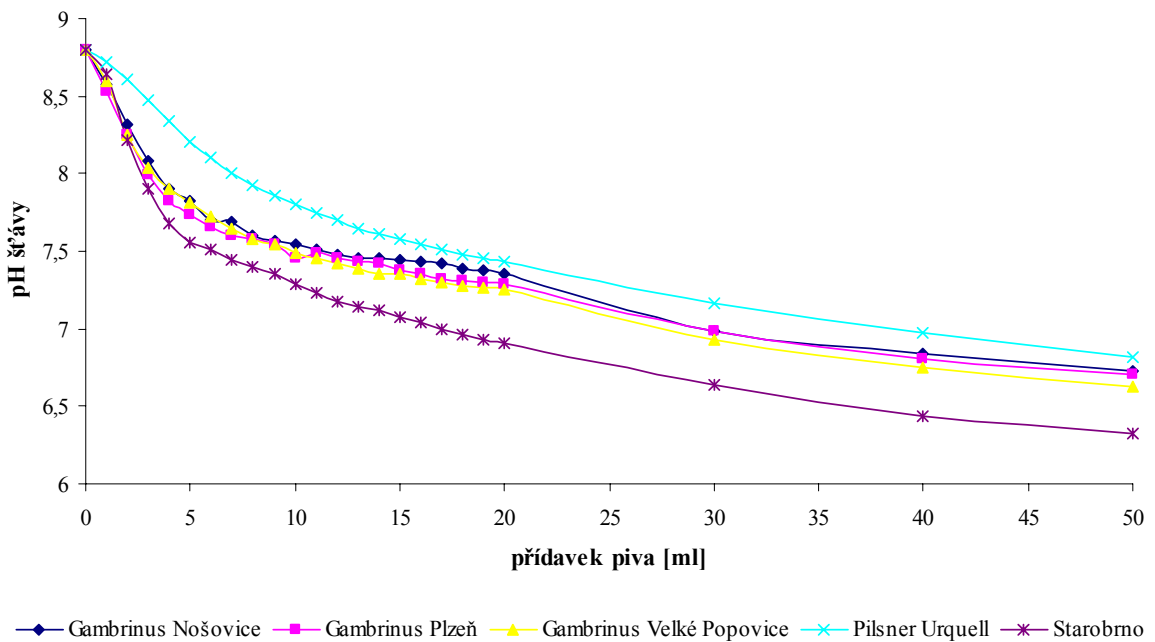
Graf 9: Změna pH žaludeční šťávy po přidavku piva

Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva



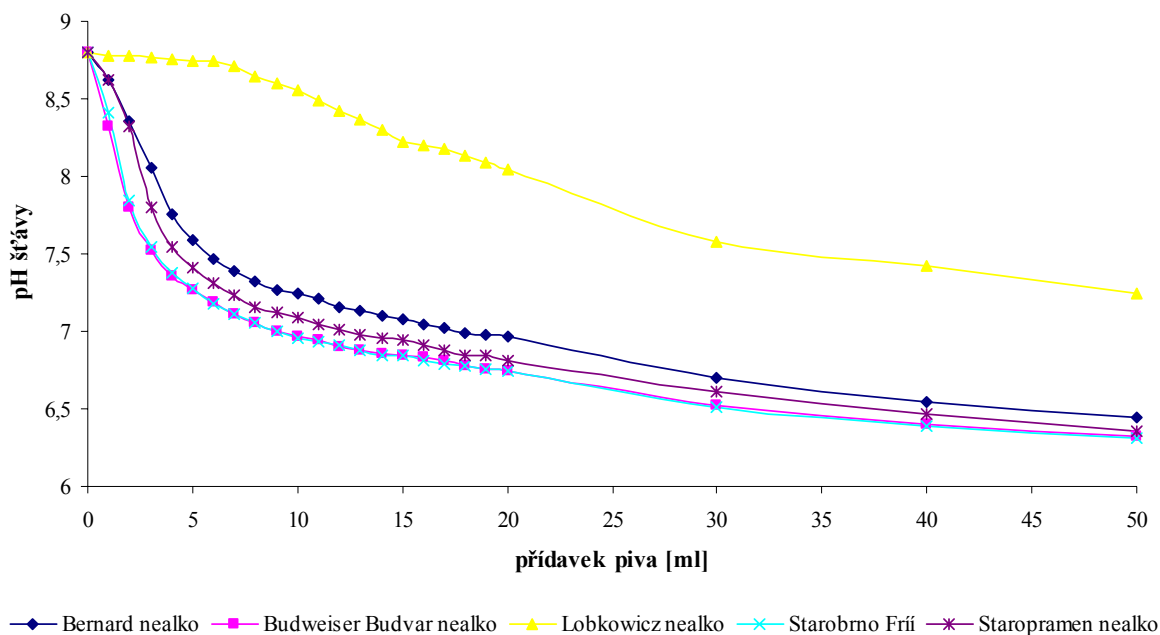
Graf 10: Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva

Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva



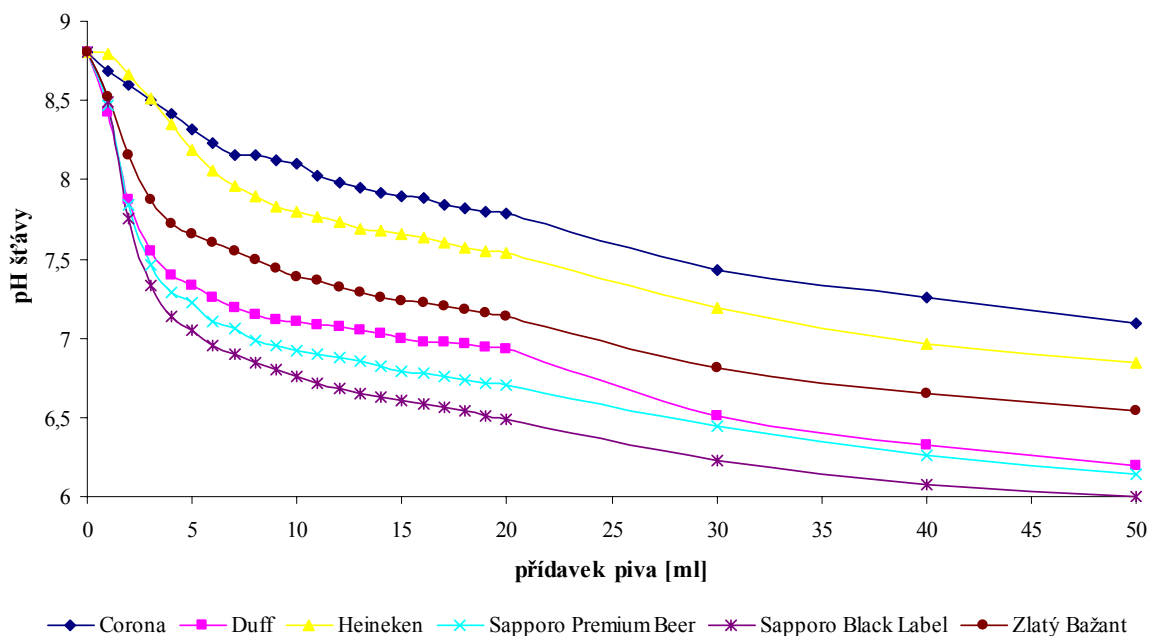
Graf 11: Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva

Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva



Graf 12: Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva

Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva



Graf 13: Změna pH duodenální šťávy po přidavku piva

S každým přídatkem piva docházelo ke změně pH obou trávících šťáv, u žaludeční docházelo ke zvyšování pH, u duodenální naopak ke snižování. Hodnota pH všech vzorků piv se pohybovala v rozmezí 4,00–4,80. Původní hodnota pH žaludeční šťávy činila 1,45; u duodenální pak 8,80.

U všech vzorků českých vícestupňových piv bylo zaznamenáno výrazné zvýšení pH žaludeční šťávy. Přídavek piva Pilsner Urquell vyvolal zvýšení pH téměř na hodnotu 3. Další vysokých hodnot dosáhla i piva Starobrno a Březňák. Tato piva se vyznačují i vysokým obsahem hořkých látek. Naopak poměrně malé zvýšení, pouze k hodnotě 2, bylo naměřeno u všech vzorků nealkoholických piv, jež průměrně obsahují méně hořkých látek, než piva alkoholická. Zahraniční vzorky vykazovaly výraznější zvýšení pH žaludeční šťávy než nealkoholická piva, avšak nedosahovaly hodnot českých ležáků.

U duodenální šťávy došlo po přídatku všech českých vícestupňových piv ke snížení přibližně na hodnotu 7. Průběh poklesu pH byl u všech piv velmi podobný. Nealkoholická piva vykazovala výraznější pokles pH duodenální šťávy, přibližně k hodnotě 6,5. Výjimku tvořilo pouze nealkoholické pivo Lobkowicz, u kterého byla změna jen nepatrná. Výsledky zahraničních vzorků byly velmi rozdílné. K nejrapidnějšímu poklesu pH došlo u japonských piv. Tento výsledek byl zároveň nevýraznější ze všech měřených vzorků.

4.6 Měření aktivity trávících proteolytických enzymů

Enzymová aktivita byla stanovena spektrofotometricky podle postupu uvedeného v kapitolách 4.2.5.1 a 4.2.5.2. Aktivita byla zjišťována v žaludeční i duodenální šťávě samotné, v čistých vzorcích piva i ve směsích trávících šťáv s pivem v různých poměrech. Z naměřených hodnot absorbance byla vypočtena proteázová aktivita v $\mu\text{mol/ml.min}$. Každý vzorek byl analyzován třikrát a výsledky byly vyhodnoceny jako průměr ze tří stanovení. Výsledky byly statisticky zpracovány, SD byla stanovena pomocí programu MS Excel.

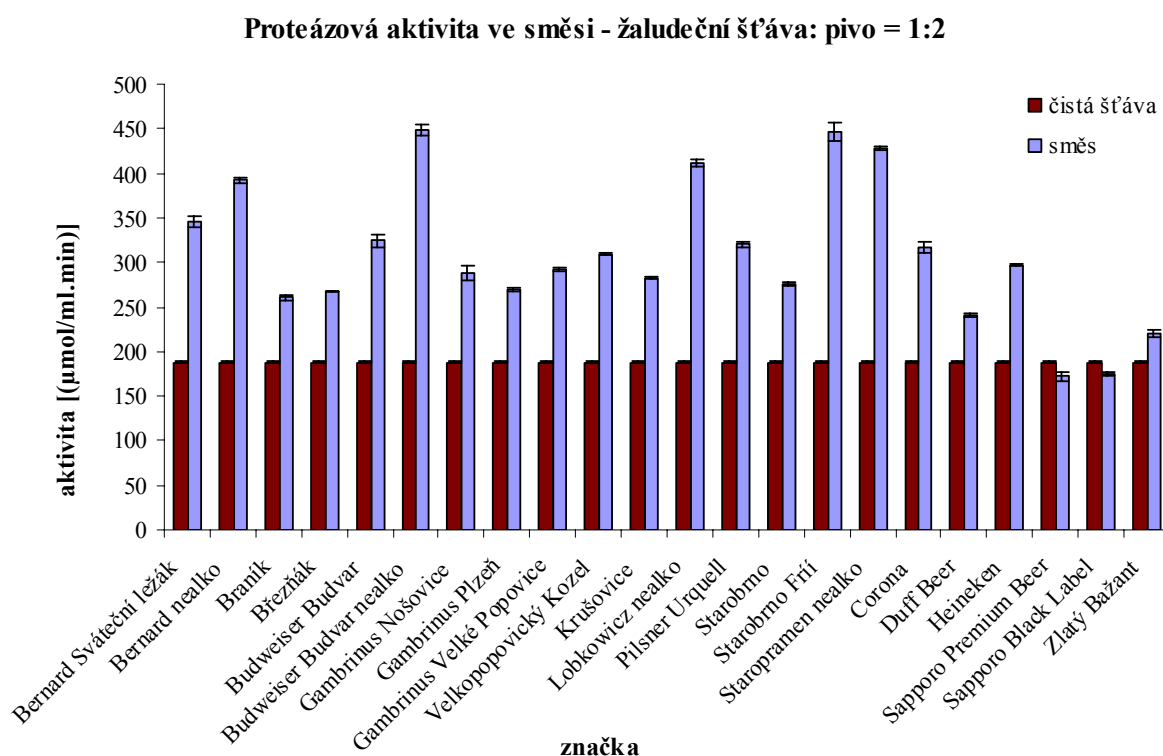
Tabulka 7: Výsledky proteázových aktivit v žaludeční šťávě

značka piva	aktivita [$\mu\text{mol/ml.min}$]				
	čisté pivo	čistá šťáva	šťáva: pivo 2:1	šťáva: pivo 1:1	šťáva: pivo 1:2
piva česká					
Bernard Sváteční ležák	0	188,00 ± 0,94	268,00 ± 2,45	290,00 ± 3,33	346,00 ± 6,00
Bernard nealko	0	188,00 ± 0,94	354,33 ± 1,25	289,78 ± 7,00	392,00 ± 3,27
Braník	0	188,00 ± 0,94	197,00 ± 3,56	201,33 ± 1,33	260,67 ± 2,49
Březňák	0	188,00 ± 0,94	203,33 ± 2,87	213,33 ± 2,67	268,00 ± 0,00
Budweiser Budvar	0	188,00 ± 0,94	224,00 ± 1,00	263,33 ± 0,67	324,67 ± 6,80
Budweiser Budvar nealko	0	188,00 ± 0,94	311,00 ± 0,82	376,00 ± 2,18	448,00 ± 5,89
Gambrinus Nošovice	0	188,00 ± 0,94	217,00 ± 3,56	253,33 ± 5,33	288,67 ± 8,22
Gambrinus Plzeň	0	188,00 ± 0,94	236,67 ± 2,49	264,67 ± 4,67	270,00 ± 2,00
Gambrinus V. Popovice	0	188,00 ± 0,94	222,67 ± 4,11	240,67 ± 0,67	292,00 ± 2,00
Velkopopovický Kozel	0	188,00 ± 0,94	260,00 ± 4,00	274,00 ± 4,67	309,00 ± 1,00
Krušovice	0	188,00 ± 0,94	250,00 ± 0,00	262,67 ± 2,67	282,67 ± 0,94
Lobkowicz nealko	0	188,00 ± 0,94	318,33 ± 1,70	334,00 ± 2,00	411,33 ± 3,40
Pilsner Urquell	0	188,00 ± 0,94	244,50 ± 0,50	236,89 ± 4,12	320,00 ± 3,27

Starobrno	0	188,00 ± 0,94	271,00 ± 3,00	278,00 ± 4,67	276,00 ± 2,00
Starobrno Fríí	0	188,00 ± 0,94	298,33 ± 2,49	330,22 ± 2,27	446,00 ± 9,93
Staropramen nealko	0	188,00 ± 0,94	337,67 ± 2,05	290,00 ± 3,33	346,00 ± 1,63
piva zahraniční					
Corona	0	188,00 ± 0,94	245,67 ± 1,70	357,33 ± 2,88	428,00 ± 6,60
Duff Beer	0	188,00 ± 0,94	162,33 ± 2,05	272,89 ± 2,27	317,33 ± 2,49
Heineken	0	188,00 ± 0,94	230,00 ± 2,16	187,56 ± 2,27	240,67 ± 1,00
Sapporo Premium Beer	0	188,00 ± 0,94	141,33 ± 1,70	264,89 ± 4,40	297,00 ± 4,32
Sapporo Black Label	0	188,00 ± 0,94	147,67 ± 2,05	150,22 ± 7,00	172,00 ± 1,89
Zlatý Bažant	0	188,00 ± 0,94	187,50 ± 2,50	158,67 ± 1,33	174,67 ± 4,00

Analýza prokázala, že smísením žaludeční šťávy s pivem dochází ke zvýšení enzymové aktivity u všech zkoumaných českých piv. Nejvýhodnější variantou byl u většiny vzorků poměr šťáva: pivo = 1:2. Vzorky nealkoholických piv v tomto poměru vykazovaly více než dvojnásobné zvýšení aktivity enzymů. Tomuto poměru odpovídala změna pH o cca 0,4-0,8 jednotek pH u alkoholických piv a o cca 0,4-0,5 jednotek pH u nealkoholických piv, což může znamenat, že pH optimum pepsinu je poněkud vyšší než pH čisté žaludeční šťávy.

Ke snížení enzymové aktivity po přidavku piva došlo pouze u japonských vzorků Sapporo Premium Beer a Sapporo Black Label. U dvou ze tří variant aktivity klesla také po smísení s pivem Duff.



Graf 14: Porovnání proteázové aktivity v čisté žaludeční šťávě a ve směsi žaludeční šťávy s pivem v poměru 1:2

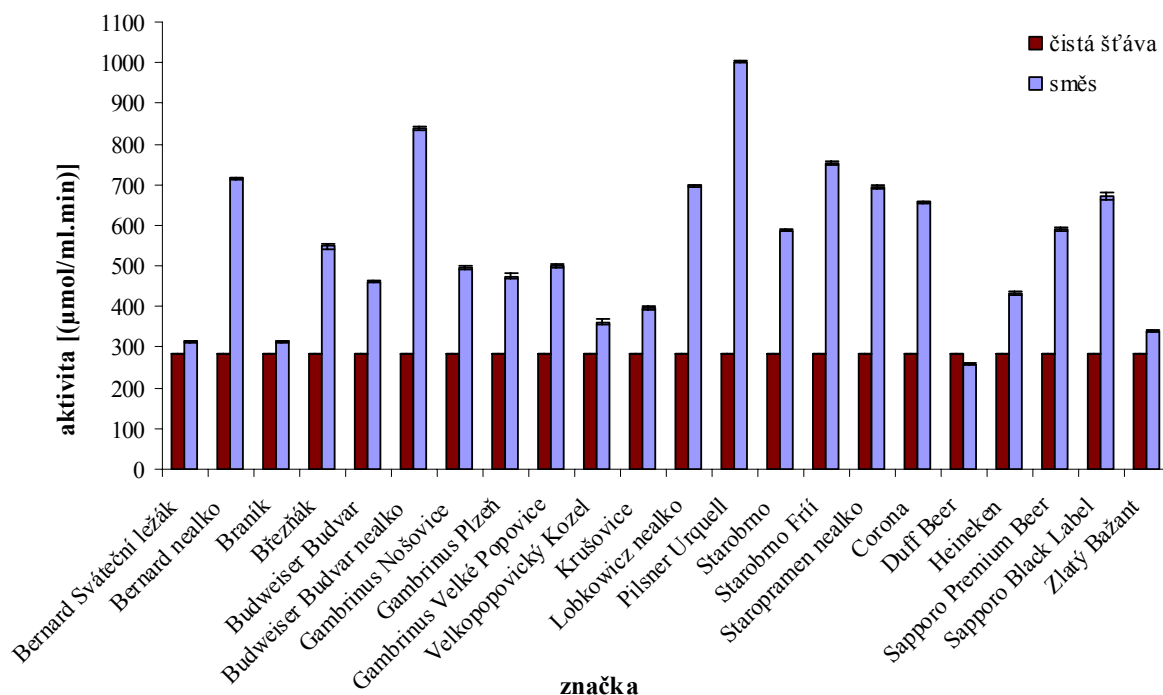
Tabulka 8: Výsledky proteázových aktivit v duodenální šťávě

značka piva	aktivita [$\mu\text{mol/ml.min}$]				
	čisté pivo	čistá šťáva	šťáva: pivo 2:1	šťáva: pivo 1:1	šťáva: pivo 1:2
piva česká					
Bernard Sváteční ležák	0	285,00 \pm 0,83	300,50 \pm 0,50	297,33 \pm 2,67	314,00 \pm 3,27
Bernard nealko	0	285,00 \pm 0,83	533,00 \pm 2,16	601,33 \pm 1,09	714,67 \pm 3,77
Braník	0	285,00 \pm 0,83	295,33 \pm 3,68	289,33 \pm 5,33	314,00 \pm 3,27
Březňák	0	285,00 \pm 0,83	433,00 \pm 2,00	520,67 \pm 4,67	548,00 \pm 8,00
Budweiser Budvar	0	285,00 \pm 0,83	363,00 \pm 2,00	411,33 \pm 2,00	461,00 \pm 3,00
Budweiser Budvar nealko	0	285,00 \pm 0,83	627,00 \pm 2,16	744,89 \pm 3,50	838,67 \pm 3,40
Gambrinus Nošovice	0	285,00 \pm 0,83	389,50 \pm 1,50	386,67 \pm 2,67	497,00 \pm 5,00
Gambrinus Plzeň	0	285,00 \pm 0,83	372,00 \pm 3,00	353,33 \pm 2,67	475,33 \pm 6,80
Gambrinus V. Popovice	0	285,00 \pm 0,83	391,50 \pm 1,50	398,67 \pm 1,33	499,00 \pm 5,00
Velkopopovický Kozel	0	285,00 \pm 0,83	354,50 \pm 1,50	382,67 \pm 5,33	362,00 \pm 5,66
Krušovice	0	285,00 \pm 0,83	351,33 \pm 2,05	341,33 \pm 1,33	398,00 \pm 4,00
Lobkowicz nealko	0	285,00 \pm 0,83	576,00 \pm 0,82	666,22 \pm 1,66	698,00 \pm 1,63
Pilsner Urquell	0	285,00 \pm 0,83	355,00 \pm 3,00	609,78 \pm 5,59	1002,00 \pm 2,00
Starobrno	0	285,00 \pm 0,83	482,50 \pm 2,50	536,44 \pm 2,74	588,00 \pm 4,00
Starobrno Fríí	0	285,00 \pm 0,83	588,00 \pm 1,63	629,78 \pm 3,50	752,00 \pm 5,89
Staropramen nealko	0	285,00 \pm 0,83	571,67 \pm 3,09	639,56 \pm 1,66	695,00 \pm 5,00
piva zahraniční					
Corona	0	285,00 \pm 0,83	503,50 \pm 2,50	565,33 \pm 5,33	656,00 \pm 4,00
Duff Beer	0	285,00 \pm 0,83	234,00 \pm 2,94	275,56 \pm 3,82	258,00 \pm 2,00
Heineken	0	285,00 \pm 0,83	350,50 \pm 0,50	364,67 \pm 3,33	433,00 \pm 3,00
Sapporo Premium Beer	0	285,00 \pm 0,83	594,33 \pm 4,19	595,11 \pm 2,74	590,00 \pm 3,27
Sapporo Black Label	0	285,00 \pm 0,83	540,00 \pm 2,45	654,22 \pm 3,33	672,67 \pm 7,72
Zlatý Bažant	0	285,00 \pm 0,83	324,50 \pm 4,50	317,33 \pm 5,33	340,00 \pm 4,00

Ke zvýšení aktivity enzymů duodenální šťávy došlo po přidavku všech zkoumaných vzorků piv, vyjma zahraničního piva Duff. Nejlepší variantou byl u většiny vzorků rovněž poměr šťáva: pivo = 1:2. V tomto případě se enzymová aktivita po přidavku piva Pilsner Urquell zvýšila více než třikrát. Ke dvojnásobnému zvýšení aktivity došlo u nealkoholických vzorků a u zahraničních piv značky Sapporo a Corona.

U duodenální ani u žaludeční šťávy nebyla pozorována přímá korelace hladiny proteáz s obsahem hořkých látek; lze předpokládat, že na aktivitu enzymů může mít vliv více faktorů než jen změna pH, například obsah alkoholu, obsah neobvyklých příměsí apod.

Proteázová aktivita ve směsi - duodenální šťáva: pivo = 1:2



Graf 15: Porovnání proteázové aktivity v čisté duodenální šťávě a ve směsi duodenální šťávy s pivem v poměru 1:2

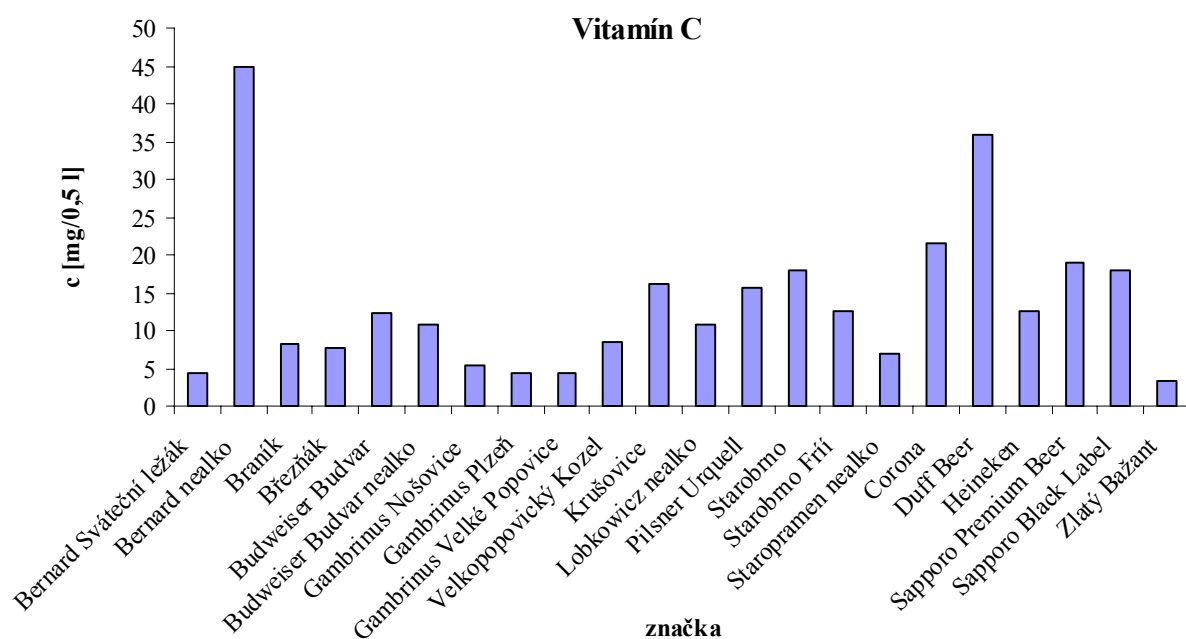
Výsledky potvrzují předpoklad, že látky obsažené v pivu příznivě ovlivňují aktivitu enzymů a tím napomáhají trávení. Z naměřených hodnot vyplývá, že nejpříznivější vliv na aktivitu proteáz žaludeční i duodenální šťávy mají česká nealkoholická piva, v případě střevní šťávy navíc ještě tradiční český ležák Pilsner Urquell. Příčinou může být nízký obsah alkoholu a tedy podstatně nižší denaturační vliv nealko piva na trávicí enzymy žaludeční šťávy. V případě duodenální šťávy je potenciální přímý vliv piva v organismu poněkud obtížněji interpretovatelný, poněvadž nelze odhadnout, jak se změní výsledný charakter tráveniny po průchod žaludkem a dvanáctníkem. V experimentu *in vitro* je pozitivní efekt piva na aktivitu proteáz střevní šťávy nesporný, i když jednotlivé druhy piv se v účinku od sebe liší výrazněji než u žaludeční šťávy.

4.7 Stanovení vitamínu C

Obsah vitamínu C byl stanoven za použití HPLC. Přesný postup je popsán v kapitole 4.2.6. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 9. Analýza byla provedena dvakrát, výsledky jsou uvedeny jako průměr z dvou měření.

Tabulka 9: Výsledky obsahu vitamínu C ve vzorcích piv

značka piva	vitamín C [mg/0,5 l]
piva česká	
Bernard Sváteční ležák	4,47
Bernard nealko	44,92
Braník	8,15
Březňák	7,79
Budweiser Budvar	12,21
Budweiser Budvar nealko	10,65
Gambrinus Nošovice	5,42
Gambrinus Plzeň	4,38
Gambrinus Velké Popovice	4,39
Velkopopovický Kozel	8,43
Krušovice	16,23
Lobkowicz nealko	10,71
Pilsner Urquell	15,70
Starobrnno	18,03
Starobrnno Fríí	12,64
Staropramen nealko	6,97
piva zahraniční	
Corona	21,55
Duff Beer	35,89
Heineken	12,52
Sapporo Premium Beer	18,85
Sapporo Black Label	17,82
Zlatý Bažant	3,25



Graf 16: Výsledky obsahu vitamínu C ve vzorcích piv

Analýzou byl zjištěn poměrně vysoký obsah vitamínu C nealkoholického piva Bernard a zahraničního piva Duff. Další vysoké hodnoty vykazovala japonská piva, mexická Corona a z českých vzorků Krušovice a Starobrno. Ostatní piva neobsahují významné množství vitamínu C. Obecně je množství kyseliny askorbové v pivech poměrně nízké, a to i přesto, že se vyrábí ze surovin na její obsah bohatých. Důvodem je degradace vitamínu C v procesu vaření piva. U vzorků s vysokým naměřeným obsahem vitamínu C lze předpokládat, že vitamin byl přidán do finálního výrobku za účelem zvýšení jeho kvality, což někteří výrobci potvrzují. Obsah vitamínu C lze rovněž považovat za faktor pozitivně ovlivňující řadu fyziologických funkcí lidského organismu.

5 ZÁVĚRY

Předložená bakalářská práce je zaměřena na studium fyziologického účinku českého vícestupňového piva ve srovnání se zahraničními a nealkoholickými pivy. Charakterizace českého piva, jeho obsahových složek a potenciálních účinků na lidské zdraví je uvedena v teoretické části. Pro praktickou část bylo vybráno 11 vzorků českých ležáků, u nichž byl spektrofotometricky kvantifikován obsah polyfenolů a flavonoidů, celková antioxidační aktivita a obsah hořkých látek. Součástí práce bylo i stanovení obsahu vitamínu C kapalinovou chromatografií. U všech vzorků byla analyzována pufrovací kapacita a vliv na aktivitu trávicích enzymů. Pro porovnání bylo do studie zařazeno 6 zahraničních vícestupňových piv a také 5 vzorků českých nealkoholických piv.

Obsah polyfenolických látek je u českých a zahraničních vícestupňových piv srovnatelný. Naměřené hodnoty celkových polyfenolů se pohybovaly v rozmezí od 213,22 do 667,13 mg/l, hodnoty celkových flavonoidů od 44,72 do 217,23 mg/l. Přestože obsah celkových polyfenolů byl u českých piv vyšší než u většiny piv zahraničních, japonské pivo „Sapporo Kaitakushi Premium Beer“ svým obsahem polyfenolů převyšovalo všechna česká piva. Nejvyšší obsah polyfenolických látek u českých vzorků byl zaznamenán u piv Břežňák a Bernard Sváteční ležák. U nealkoholických piv byly zjištěny výrazně nižší hladiny aktivních polyfenolických sloučenin.

Nejvyšší celková antioxidační aktivita byla opět zjištěna u piv Břežňák a Bernard Sváteční ležák. Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 51,25 do 438,98 $\mu\text{g/ml}$. Nejnižší výsledek byl zjištěn u piva Pilsner Urquell. Nealkoholická piva vykazovala srovnatelné výsledky s vícestupňovými vzorky.

Přítomnost vitamínu C byla ve vzorcích zjišťována kapalinovou chromatografií. Většina piv neobsahovala významné množství kyseliny askorbové, výjimku tvořil nealkoholický Bernard a zahraniční pivo Duff, u kterých bylo zaznamenáno 44,92 mg/0,5l a 35,89 mg/0,5l vitamínu C. Toto množství činí až desetinásobek obsahu kyseliny askorbové v ostatních pivech.

Obsah hořkých látek je v českých ležácích obecně vyšší než v zahraničních vzorcích, výjimku tvořilo japonské Premium Beer a slovenský Zlatý Bažant. Nejvyšší hodnota hořkých látek byla zaznamenána u piva Bernard Sváteční ležák (34,52 mg/l). Další vysoké hodnoty vykazovala piva Pilsner Urquell, Břežňák a Krušovice. Obsah hořkých látek se výrazně neliší mezi vzorky alkoholickými a nealkoholickými.

Analýza pufrovací kapacity piva byla provedena měřením změn pH v umělé žaludeční a duodenální šťávě. Bylo zjištěno, že všechna piva dokáží zásadním způsobem měnit pH trávicích tekutin. U českých vícestupňových piv Pilsner Urquell, Starobrno a Břežňák bylo zaznamenáno zvýšení pH žaludeční šťávy téměř na dvojnásobek původní hodnoty; většina těchto piv se vyznačuje i vysokým obsahem hořkých látek. Zahraniční vzorky vykazovaly výraznější vliv na zvýšení pH žaludeční šťávy než česká nealkoholická piva, avšak nedosahovaly hodnot českých ležáků.

Po přidavku piv do umělé duodenální šťávy hodnota pH klesala, u českých nealkoholických piv výrazněji než u ležáků. Nejmarkantnější pokles byl zaznamenán u japonských vzorků.

Studium fyziologického účinku bylo doplněno měřením aktivity proteolytických trávicích enzymů. Enzymová aktivita byla měřena spektrofotometricky v umělých trávicích tekutinách a následně v jejich směsích s jednotlivými vzorky piv. Bylo zjištěno, že všechna česká piva

mají pozitivní vliv na aktivitu žaludečních proteáz, čímž napomáhají trávení. Nejpříznivějších výsledků bylo dosaženo ve směsích s dvojnásobným objemem piva než trávící šťávy. U enzymů žaludeční šťávy došlo po smísení s pivy Bernard Sváteční ležák, Budweiser Budvar, Pilsner Urquell a všemi nealkoholickými pivy k 1,8 až 2x zvýšení aktivity pepsinu, což může znamenat, že pH optimum pepsinu leží výše než je pH čisté žaludeční šťávy. Naproti tomu zahraniční piva v polovině případů aktivitu enzymů snižovala. Vliv piva na aktivitu trávících enzymů je pravděpodobně komplexní, kromě pozitivního efektu hořkých látek je třeba počítat i s denaturačním účinkem vyššího obsahu ethanolu, případně s efektem dalších více či méně typických látek obsažených v pivu.

Ke zvýšení aktivity enzymů duodenální šťávy došlo po přidavku všech zkoumaných vzorků, vyjma zahraničního piva Duff. Absolutně nejlepší výsledek byl zaznamenán po smísení duodenální šťávy s pivem Pilsner Urquell, kdy se enzymová aktivita zvýšila více než třikrát. Ke dvojnásobnému navýšení aktivity došlo u českých nealkoholických vzorků a u zahraničních piv značky Sapporo a Corona. V případě duodenální šťávy je potenciální přímý vliv piva v organismu poněkud obtížněji odhadnutelný pro reálnou situaci *in vivo*. V experimentu *in vitro* lze pozitivní efekt piva na aktivitu proteáz střešní šťávy považovat za prokazatelný.

Celkově lze konstatovat, že pivo je nápoj, který obsahuje řadu zdraví prospěšných látek, především antioxidantů a hořkých chmelových sloučenin. V práci bylo experimentálně potvrzeno, že konzumace českého piva v porovnání s pivy zahraničními může příznivě ovlivňovat proces trávení a aktivitu trávících enzymů.

6 LITERATURA

- [1] PREEDY, Edited by Victor R. *Beer in health and disease prevention* [online]. [Online-Ausg.]. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2009 [cit. 2012-04-19]. ISBN 978-012-3738-912.
- [2] Kladné účinky piva na zdraví populace. *Chmelařství* [online]. 2000, 9-10 [cit. 2012-04-13]. <Dostupné z: <http://www.beer.cz/chmelar/2000/Chmel-9-10.pdf>>
- [3] DOSTÁL, S. *Velká kniha o pivu aneb Blahodárné přírodní účinky piva*. Praha: I.D.M., 1997, 96 s.
- [4] BASAŘOVÁ, Gabriela. *České pivo*. 3., dopl. vyd. Praha: Havlíček Brain Team, 2011, 309 s. ISBN 978-80-87109-25-0.
- [5] *Pivo a zdraví: "lidstvo zatím lepší nápoj nevymyslelo!"*. Vyd. 1. Plzeň: Nava, 2007. ISBN 978-807-2112-531.
- [6] Žatecký chmel - důležitá surovina při výrobě kvalitních ležáckých piv. *Beer.cz* [online]. 2000 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <<http://www.beer.cz/chmel/tpivo99.htm#i>>
- [7] Žatecký chmel. *Žatecký chmel* [online]. 2007 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <http://www.zateckychmel.eu/index_cz.html>
- [8] Březnický ležák získal ochrannou značku EU. *Gastrotrend* [online]. 2009-10-16 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <<http://www.gastrotrend.cz/7-clanky-rubriky/4-pivo/1242-breznicky-lezak-ziskal-ochrannou-znacku-eu.html>>
- [9] České pivo - každodenní fenomén. *Chemické listy* [online]. 2006, č. 100, s. 730 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006_08_723-732.pdf>
- [10] VERHOEF, Berry. *Kompletní encyklopedie piva: podrobný průvodce světem lahodného pěnivého moku*. Čestlice: Rebo, 2004, 304 s. ISBN 80-723-4116-2.
- [11] KOSAŘ, Karel. *Technologie výroby sladu a piva*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000, 398 s. ISBN 80-902-6586-3.
- [12] BAMFORTH, Charles W. Nutritional aspects of beer - a review. *Nutrition Research* [online]. 2002, č. 22 [cit. 2012-04-29]. Dostupné z: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531701003608>>.
- [13] PÁNEK, Jan. *Základy výživy a výživová politika*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 219 s. ISBN 80-708-0468-8.

- [14] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8.
- [15] STEVENS, Jan F. a Jonathan E. PAGE. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!. *Phytochemistry* [online]. 2004, roč. 65, č. 10 [cit. 2012-04-29]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942204001876>.
- [16] Xanthohumol - chmelová pryskyřice nebo polyfenol?. *Chemické listy* [online]. 2004, č. 98 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_09_01.pdf
- [17] MAROVA, Ivana, Katerina PARILOVA, Zdenek FRIEDL, Stanislav OBRUCA a Katerina DURONOVA. Analysis of Phenolic Compounds in Lager Beers of Different Origin: A Contribution to Potential Determination of the Authenticity of Czech Beer. *Chromatographia*. 2011, roč. 73, S1, s. 83-95. ISSN 0009-5893. DOI: 10.1007/s10337-011-1916-7. Dostupné z: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s10337-011-1916-7>.
- [18] Polyfenolové látky piva - přirozené antioxidanty. *Chemické listy* [online]. 2002, č. 96 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2002_02_03.pdf
- [19] CORNWELL, Teresa, Wendie COHICK a Ilya RASKIN. Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry* [online]. 2004, roč. 65, č. 8 [cit. 2012-04-29]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942204001049>.
- [20] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8.
- [21] Využití chemicky modifikovaných hořkých látek v pivovarství. *Chemické listy* [online]. 2009, č. 103 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_09_721-728.pdf
- [22] Přírodní látky hořké chuti. *Chemické listy* [online]. 2007, č. 101 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007_11_895-906.pdf
- [23] KAPPLER, S., M. KRAHL, C. GEISSINGER, T. BECKER a M. KROTTENTHALER. Degradation of Iso- α -Acids During Wort Boiling. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 2010, č. 116 [cit. 2012-04-29]. Dostupné z: <http://www.scientificsocieties.org/jib/papers/2010/G-2010-1206-117.pdf>.
- [24] GRIM, Miloš a Rastislav DRUGA. *Základy anatomie: 3. Trávicí, dýchací, močopohlavní a endokrinní systém*. 1. vyd. Praha: Galén, 2005, 163 s. ISBN 80-726-2302-8.

- [25] *Atlas lidského těla*. 4. vyd. Čestlice: Rebo, 2009, 164 s. ISBN 978-80-255-0114-6.
- [26] WILHELM, Zdeněk a Peter HEGYI. *Fyziologické poznámky ke gastrointestinálnímu traktu. Praktické lékařství* [online]. 2006, č. 1 [cit. 2012-04-18]. Dostupné z: <<http://praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2006/01/12.pdf>>
- [27] CALLEMIEN, D. a S. COLLIN. Structure, Organoleptic Properties, Quantification Methods, and Stability of Phenolic Compounds in Beer - a review. *Food Reviews International* [online]. 2009-12-31, roč. 26, č. 1, s. 1-84 [cit. 2012-04-29]. ISSN 8755-9129. DOI: 10.1080/87559120903157954. Dostupné z: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559120903157954>>.
- [28] Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. *Chemické listy* [online]. 2009, č. 103 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_03_232-235.pdf>
- [29] *Československý lékopis*. Praha: Avicenum, 1984.
- [30] MORITA, Y., Q. HASAN, T. SAKAGUCHI, Y. MURAKAMI a K. YOKOYAMA. Properties of coldactive protease from psychrotropic *Flavobacterium balustinum* P104. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1998, roč. 50, s. 669-675.
- [31] DENKIN, S. M. a D. R. NELSON. Induction of Protease Activity in *Vibrio anguillarum* by Gastrointestinal Mucus. *Applied and environmental microbiology*. 1999, roč. 65, č. 8, s. 3555-3560.
- [32] BENEŠOVÁ, Pavla. *Charakterizace aktivních látek v různých druzích piva* [online]. Brno, 2010 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=27068>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.
- [33] PAŘILOVÁ, Kateřina. *Studium vybraných aktivních látek v českém pivu*. [online]. Brno, 2009 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=13874>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

HDL	High-density lipoprotein
LDL	Low-density lipoprotein
ABTS	2,2' - azinobis(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfonát)
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
EBU	European Bitter Unit
HPLC	High performance liquid chromatography

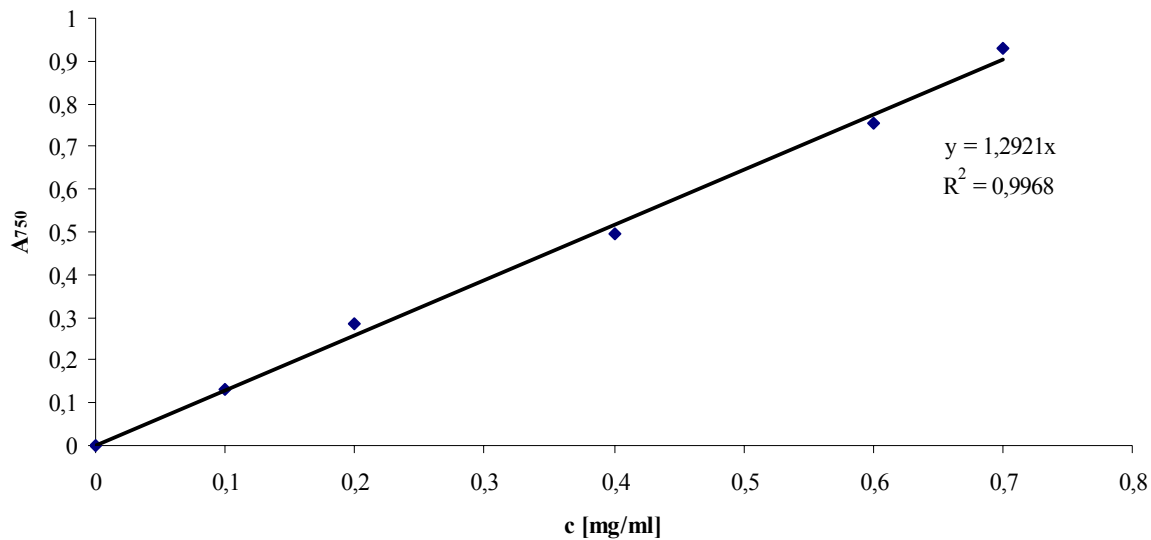
8 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1: Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení celkových polyfenolů
- Příloha 2: Kalibrační křivka katechinu pro stanovení celkových flavonoidů
- Příloha 3: Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení celkové antioxidační aktivity
- Příloha 4: Změny pH trávicích šťáv po přidavku piva
- Příloha 5: Kalibrační křivka vitamínu C
- Příloha 6: Chromatogram vitamínu C ve vzorku Heineken

9 PŘÍLOHY

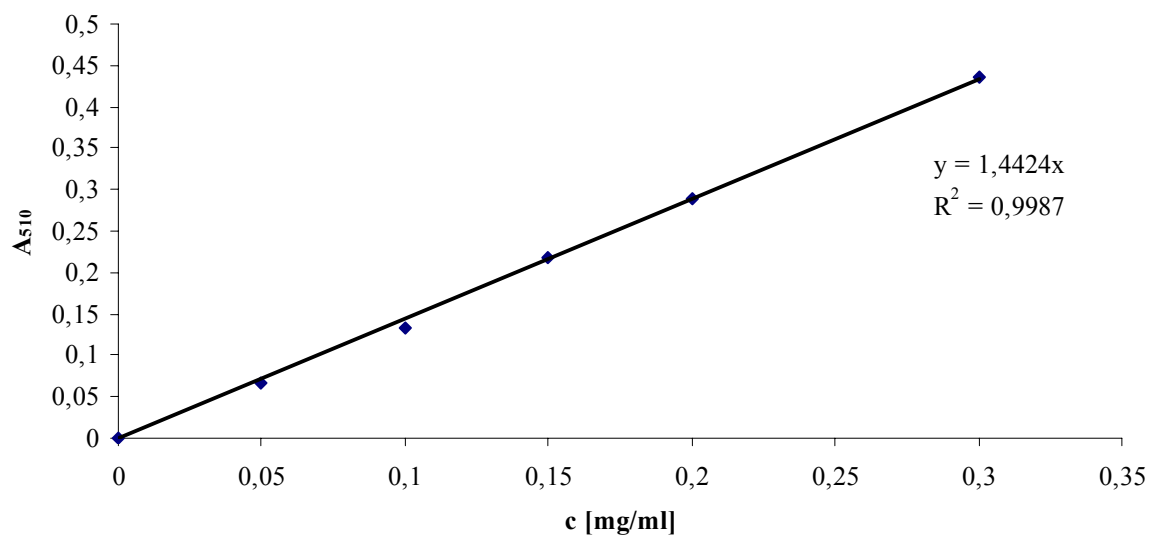
Příloha 1: Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení celkových polyfenolů

Kalibrační křivka kyseliny gallové



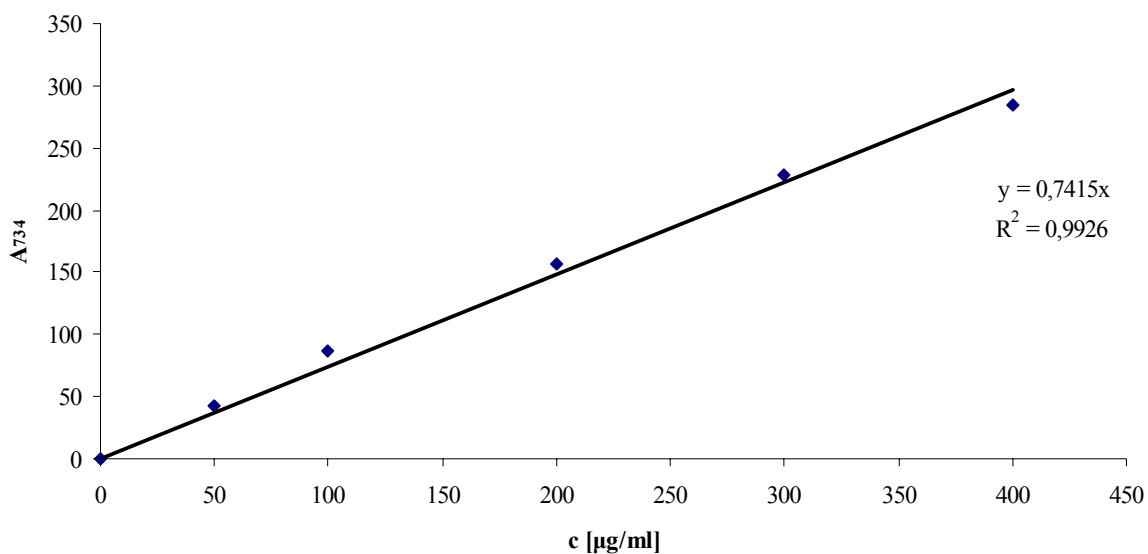
Příloha 2: Kalibrační křivka katechinu pro stanovení celkových flavonoidů

Kalibrační křivka katechinu



Příloha 3: Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení celkové antioxidační aktivity

Kalibrační křivka Troloxu



Příloha 4: Změny pH trávicích šťáv po přidavku piva

přidané pivo (ml)	Bernard Sváteční ležák (pH = 4,45)				Bernard nealko (pH = 4,62)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,49	1,4	8,40	8,0	1,48	1,5	8,62	8,0
2	1,53	1,5	7,99	7,5	1,50	1,5	8,36	8,0
3	1,56	1,5	7,69	7,5	1,51	1,5	8,06	7,5
4	1,57	1,5	7,56	7,5	1,52	1,5	7,76	7,5
5	1,59	1,6	7,47	7,5	1,54	1,5	7,59	7,0
6	1,62	1,6	7,40	7,5	1,56	1,6	7,47	7,0
7	1,65	1,6	7,35	7,0	1,58	1,6	7,39	7,0
8	1,67	1,7	7,30	7,0	1,60	1,6	7,32	7,0
9	1,69	1,8	7,26	7,0	1,61	1,6	7,27	7,0
10	1,71	1,9	7,23	7,0	1,64	1,6	7,24	6,5
11	1,73	1,9	7,20	6,5	1,66	1,7	7,21	6,5
12	1,75	1,9	7,17	6,5	1,67	1,7	7,16	6,5
13	1,78	1,9	7,14	6,5	1,68	1,7	7,13	6,5
14	1,80	1,9	7,11	6,5	1,70	1,7	7,10	6,5
15	1,82	1,9	7,08	6,5	1,72	1,8	7,08	6,5
16	1,84	2,0	7,07	6,5	1,73	1,8	7,05	6,5
17	1,87	2,0	7,05	6,5	1,74	1,8	7,02	6,5
18	1,89	2,0	7,04	6,5	1,75	1,8	6,99	6,5
19	1,91	2,0	7,01	6,5	1,78	1,9	6,98	6,5

20	1,94	2,1	7,00	6,5	1,80	1,9	6,97	6,5
30	2,12	2,1	6,67	6,0	1,90	1,9	6,70	6,5
40	2,31	2,3	6,47	6,0	2,00	2,0	6,54	6,0
50	2,50	2,5	6,38	6,0	2,10	2,5	6,44	6,0

přidané pivo (ml)	Braník (pH = 4,53)				Březňák (pH = 4,68)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,51	1,4	8,50	8,5	1,48	1,1	8,72	8,5
2	1,53	1,4	8,24	8,0	1,50	1,2	8,60	8,5
3	1,57	1,5	8,05	8,0	1,51	1,3	8,46	8,0
4	1,60	1,5	7,88	7,5	1,52	1,4	8,32	8,0
5	1,63	1,6	7,80	7,5	1,55	1,5	8,19	7,5
6	1,65	1,6	7,77	7,5	1,57	1,5	8,07	7,5
7	1,68	1,7	7,64	7,5	1,59	1,6	7,98	7,5
8	1,70	1,7	7,70	7,5	1,62	1,7	7,92	7,5
9	1,74	1,8	7,63	7,5	1,65	1,8	7,85	7,5
10	1,76	1,9	7,58	7,5	1,68	1,9	7,80	7,5
11	1,79	1,9	7,55	7,0	1,71	1,9	7,76	7,5
12	1,81	1,9	7,52	7,0	1,73	1,9	7,72	7,0
13	1,85	1,9	7,47	7,0	1,76	2,0	7,68	7,0
14	1,89	1,9	7,42	7,0	1,79	2,0	7,65	7,0
15	1,92	2,0	7,40	7,0	1,82	2,0	7,61	6,5
16	1,95	2,0	7,37	7,0	1,85	2,0	7,58	6,5
17	1,98	2,0	7,34	7,0	1,89	2,0	7,55	6,5
18	2,01	2,0	7,31	7,0	1,92	2,0	7,53	6,5
19	2,03	2,1	7,28	6,5	1,95	2,0	7,52	6,5
20	2,06	2,1	7,27	6,5	1,98	2,1	7,47	6,5
30	2,28	2,3	6,95	6,0	2,28	2,3	7,16	6,0
40	2,51	2,3	6,77	6,0	2,59	3,0	7,00	6,0
50	2,71	2,5	6,64	6,0	2,87	3,0	6,87	6,0

přidané pivo (ml)	Budweiser Budvar (pH = 4,50)				Budweiser Budvar nealko (pH = 4,46)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,47	1,3	8,73	9,0	1,47	1,5	8,32	7,5
2	1,49	1,4	8,62	8,5	1,49	1,5	7,8	7,5
3	1,51	1,5	8,50	8,5	1,51	1,5	7,52	7,5
4	1,54	1,5	8,37	8,5	1,53	1,5	7,36	7,5
5	1,56	1,5	8,26	8,5	1,55	1,6	7,27	7,0
6	1,58	1,5	8,14	8,5	1,57	1,6	7,19	7,0
7	1,60	1,7	8,02	8,0	1,58	1,6	7,11	7,0
8	1,62	1,7	7,98	7,5	1,60	1,6	7,06	7,0

9	1,64	1,8	7,90	7,5	1,61	1,6	7,00	7,0
10	1,67	1,9	7,84	7,5	1,63	1,6	6,97	6,5
11	1,69	1,9	7,78	7,5	1,65	1,7	6,94	6,5
12	1,71	1,9	7,75	7,5	1,67	1,7	6,9	6,5
13	1,74	2,0	7,71	7,5	1,68	1,7	6,88	6,5
14	1,76	2,0	7,67	7,5	1,70	1,7	6,86	6,5
15	1,78	2,0	7,64	7,0	1,71	1,7	6,84	6,5
16	1,81	2,0	7,61	7,0	1,73	1,7	6,83	6,5
17	1,84	2,0	7,61	7,0	1,74	1,7	6,81	6,5
18	1,88	2,0	7,60	7,0	1,75	1,7	6,78	6,5
19	1,90	2,0	7,58	7,0	1,76	1,7	6,76	6,5
20	1,92	2,0	7,57	7,0	1,78	1,8	6,74	6,5
30	2,22	3,0	7,21	7,0	1,88	1,9	6,52	6,0
40	2,56	3,0	7,10	7,0	1,96	2,0	6,40	6,0
50	2,79	3,0	6,99	6,0	2,04	2,0	6,32	6,0

přidané pivo (ml)	Gambrinus Nošovice (pH = 4,79)				Gambrinus Plzeň (pH = 4,77)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,48	1,5	8,58	8,5	1,49	1,5	8,53	8,5
2	1,54	1,5	8,32	8,5	1,52	1,5	8,25	8,0
3	1,59	1,6	8,08	8,0	1,54	1,5	7,99	8,0
4	1,63	1,6	7,90	8,0	1,56	1,6	7,82	8,0
5	1,67	1,7	7,82	7,5	1,58	1,6	7,73	7,5
6	1,71	1,7	7,70	7,5	1,60	1,6	7,66	7,5
7	1,75	1,7	7,69	7,5	1,62	1,6	7,60	7,5
8	1,78	1,8	7,60	7,5	1,64	1,7	7,58	7,5
9	1,83	1,8	7,57	7,5	1,66	1,7	7,54	7,0
10	1,86	1,9	7,55	7,0	1,68	1,7	7,46	7,0
11	1,89	1,9	7,51	7,0	1,70	1,7	7,49	7,0
12	1,93	1,9	7,48	7,0	1,72	1,7	7,45	7,0
13	1,96	2,0	7,46	7,0	1,74	1,8	7,43	7,0
14	1,99	2,0	7,45	7,0	1,76	1,8	7,42	6,5
15	2,02	2,1	7,44	7,0	1,78	1,8	7,38	6,5
16	2,05	2,1	7,43	6,5	1,80	1,8	7,35	6,5
17	2,08	2,1	7,42	6,5	1,82	1,8	7,32	6,5
18	2,11	2,1	7,39	6,5	1,84	1,9	7,31	6,5
19	2,15	2,2	7,38	6,5	1,86	1,9	7,30	6,5
20	2,18	2,2	7,36	6,5	1,88	1,9	7,29	6,5
30	2,44	2,5	6,99	6,5	2,03	2,0	6,98	6,5
40	2,67	3,0	6,84	6,5	2,17	2,2	6,81	6,5
50	2,88	3,0	6,73	6,0	2,32	2,3	6,71	6,0

přidané pivo (ml)	Gambrinus Velké Popovice (pH = 4,64)				Velkopopovický Kozel (pH = 4,53)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,48	1,5	8,60	8,5	1,49	1,3	8,49	8,5
2	1,51	1,5	8,25	8,0	1,51	1,4	8,21	8,5
3	1,54	1,5	8,04	8,0	1,53	1,5	7,99	8,0
4	1,56	1,6	7,90	7,5	1,56	1,5	7,83	7,5
5	1,58	1,6	7,81	7,5	1,58	1,6	7,70	7,5
6	1,60	1,6	7,72	7,5	1,61	1,6	7,62	7,5
7	1,62	1,6	7,64	7,5	1,63	1,7	7,57	7,5
8	1,64	1,6	7,58	7,0	1,66	1,7	7,51	7,0
9	1,66	1,7	7,54	7,0	1,68	1,8	7,47	7,0
10	1,68	1,7	7,49	7,0	1,71	1,8	7,44	7,0
11	1,70	1,7	7,45	7,0	1,74	1,8	7,39	7,0
12	1,72	1,7	7,42	7,0	1,77	1,9	7,37	7,0
13	1,75	1,8	7,39	6,5	1,79	1,9	7,35	7,0
14	1,77	1,8	7,36	6,5	1,82	2,0	7,33	7,0
15	1,79	1,9	7,35	6,5	1,85	2,0	7,32	7,0
16	1,81	1,9	7,32	6,5	1,88	2,0	7,31	7,0
17	1,84	1,9	7,30	6,5	1,90	2,0	7,28	7,0
18	1,86	1,9	7,28	6,5	1,93	2,1	7,26	7,0
19	1,88	2,0	7,26	6,5	1,95	2,1	7,23	6,5
20	1,90	2,0	7,25	6,5	1,98	2,1	7,22	6,5
30	2,03	2,1	6,93	6,0	2,19	2,2	6,89	6,0
40	2,17	2,2	6,75	6,0	2,37	2,5	6,73	6,0
50	2,31	2,3	6,63	6,0	2,58	2,5	6,60	6,0

přidané pivo (ml)	Krušovice (pH = 4,35)				Lobkowicz nealko (pH = 4,54)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,48	1,4	8,49	8,5	1,51	1,5	8,78	9,0
2	1,51	1,5	8,16	8,0	1,53	1,5	8,78	9,0
3	1,54	1,5	7,87	7,5	1,56	1,6	8,77	9,0
4	1,57	1,6	7,76	7,5	1,58	1,6	8,76	9,0
5	1,60	1,7	7,63	7,5	1,60	1,6	8,75	8,5
6	1,62	1,7	7,54	7,5	1,62	1,6	8,74	8,5
7	1,64	1,7	7,49	7,5	1,64	1,6	8,71	8,5
8	1,67	1,7	7,43	7,5	1,65	1,6	8,64	8,5
9	1,70	1,8	7,37	7,0	1,66	1,6	8,6	8,5
10	1,74	1,9	7,33	7,0	1,67	1,6	8,55	8,5
11	1,78	1,9	7,30	7,0	1,68	1,7	8,49	8,5
12	1,81	1,9	7,27	7,0	1,69	1,7	8,42	8,0
13	1,84	1,9	7,26	7,0	1,71	1,7	8,37	8,0

14	1,87	2,0	7,24	6,5	1,75	1,7	8,3	8,0
15	1,89	2,0	7,22	6,5	1,77	1,7	8,22	8,0
16	1,93	2,0	7,21	6,5	1,80	1,8	8,2	8,0
17	1,96	2,1	7,20	6,5	1,82	1,8	8,18	8,0
18	1,98	2,1	7,19	6,5	1,84	1,8	8,13	8,0
19	2,01	2,1	7,18	6,5	1,86	1,9	8,09	8,0
20	2,03	2,1	7,17	6,5	1,88	1,9	8,04	7,5
30	2,27	2,3	6,76	6,0	1,99	2,0	7,58	7,5
40	2,52	2,5	6,57	6,0	2,06	2,0	7,42	7,0
50	2,74	3,0	6,42	6,0	2,13	2,5	7,25	7,0

přidané pivo (ml)	Pilsner Urquell (pH = 4,70)				Starobrno (pH = 4,47)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,47	1,4	8,72	8,5	1,49	1,3	8,64	8,5
2	1,49	1,4	8,61	8,5	1,51	1,4	8,22	8,0
3	1,52	1,5	8,47	8,0	1,54	1,5	7,90	7,5
4	1,55	1,6	8,34	8,0	1,58	1,6	7,68	7,5
5	1,59	1,7	8,21	7,5	1,68	1,7	7,56	7,5
6	1,63	1,7	8,10	7,5	1,74	1,8	7,51	7,5
7	1,66	1,8	8,00	7,5	1,75	2,0	7,44	7,5
8	1,70	1,8	7,93	7,0	1,77	2,0	7,40	7,0
9	1,73	1,8	7,86	7,0	1,81	2,0	7,36	7,0
10	1,77	1,9	7,80	7,0	1,85	2,0	7,29	7,0
11	1,82	2,0	7,75	7,0	1,88	2,1	7,23	6,5
12	1,84	2,0	7,70	7,0	1,92	2,1	7,18	6,5
13	1,87	2,0	7,65	7,0	1,96	2,1	7,14	6,5
14	1,93	2,0	7,61	7,0	2,00	2,1	7,12	6,5
15	1,96	2,0	7,58	6,5	2,04	2,1	7,08	6,5
16	2,01	2,0	7,54	6,5	2,09	2,1	7,04	6,5
17	2,04	2,1	7,51	6,5	2,13	2,5	7,00	6,5
18	2,08	2,1	7,48	6,5	2,17	2,5	6,96	6,5
19	2,13	2,2	7,46	6,5	2,21	2,5	6,93	6,5
20	2,16	2,2	7,43	6,5	2,25	2,5	6,91	6,5
30	2,47	3,0	7,16	6,0	2,51	3,0	6,64	6,0
40	2,75	3,0	6,97	6,0	2,72	3,0	6,44	6,0
50	2,97	3,0	6,82	6,0	2,91	3,0	6,32	6,0

přidané pivo (ml)	Starobrno Fríí (pH = 4,44)				Staropramen nealko (pH = 4,07)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,47	1,5	8,41	8	1,47	1,5	8,62	8,0
2	1,49	1,5	7,84	7,5	1,49	1,5	8,32	8,0
3	1,50	1,5	7,55	7,5	1,51	1,5	7,80	7,5
4	1,52	1,5	7,38	7,5	1,53	1,5	7,54	7,5
5	1,54	1,5	7,28	7,0	1,54	1,6	7,41	7,0
6	1,55	1,6	7,18	7,0	1,55	1,6	7,31	7,0
7	1,56	1,6	7,11	7,0	1,56	1,6	7,23	7,0
8	1,57	1,6	7,06	7,0	1,57	1,6	7,16	7,0
9	1,58	1,6	7,00	7,0	1,59	1,6	7,12	7,0
10	1,59	1,6	6,96	6,5	1,62	1,6	7,09	6,5
11	1,61	1,7	6,93	6,5	1,64	1,7	7,05	6,5
12	1,62	1,7	6,91	6,5	1,66	1,7	7,01	6,5
13	1,64	1,7	6,88	6,5	1,68	1,7	6,98	6,5
14	1,65	1,7	6,85	6,5	1,70	1,7	6,95	6,5
15	1,66	1,7	6,84	6,5	1,72	1,7	6,94	6,5
16	1,68	1,7	6,81	6,5	1,73	1,7	6,91	6,5
17	1,69	1,7	6,79	6,5	1,74	1,7	6,88	6,5
18	1,70	1,7	6,78	6,5	1,75	1,8	6,85	6,5
19	1,71	1,7	6,76	6,5	1,76	1,8	6,84	6,5
20	1,73	1,8	6,74	6,5	1,78	1,8	6,81	6,5
30	1,84	1,9	6,51	6,0	1,86	1,9	6,61	6,5
40	1,93	2,0	6,39	6,0	1,94	2,0	6,47	6,0
50	2,02	2,0	6,31	6,0	2,01	2,0	6,36	6,0

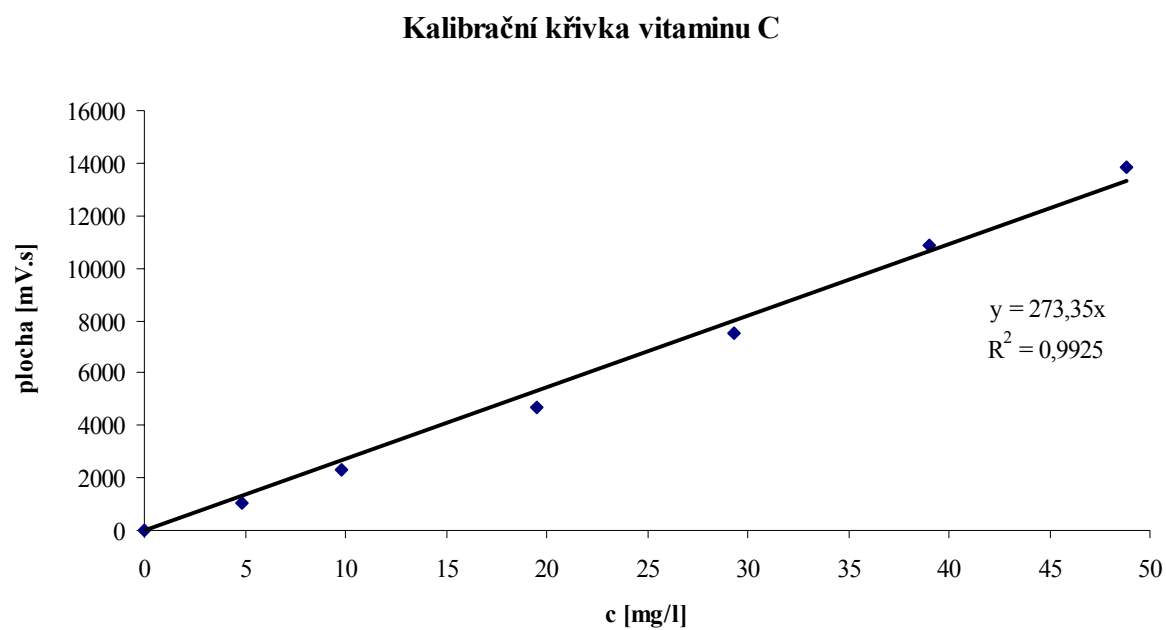
přidané pivo (ml)	Corona (pH = 4,25)				Duff Beer (pH = 4,32)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,50	1,4	8,69	8,5	1,55	1,4	8,43	8,0
2	1,52	1,5	8,60	8,5	1,57	1,4	7,87	7,5
3	1,55	1,5	8,50	8,5	1,59	1,4	7,55	7,5
4	1,59	1,5	8,41	8,0	1,61	1,5	7,40	7,5
5	1,63	1,6	8,32	8,0	1,64	1,6	7,33	7,0
6	1,67	1,7	8,23	8,0	1,67	1,7	7,26	7,0
7	1,70	1,7	8,16	8,0	1,69	1,8	7,19	7,0
8	1,73	1,7	8,15	8,0	1,73	1,9	7,15	7,0
9	1,76	1,8	8,12	7,5	1,76	1,9	7,12	7,0
10	1,79	1,9	8,10	7,5	1,79	2,0	7,10	7,0
11	1,82	1,9	8,03	7,5	1,82	2,0	7,08	7,0
12	1,85	1,9	7,98	7,5	1,85	2,0	7,07	7,0
13	1,89	1,9	7,95	7,0	1,88	2,1	7,05	6,5

14	1,91	2,0	7,92	7,0	1,91	2,1	7,03	6,5
15	1,94	2,0	7,90	7,0	1,93	2,1	7,00	6,5
16	1,96	2,0	7,88	7,0	1,96	2,1	6,98	6,5
17	1,98	2,1	7,84	7,0	1,98	2,1	6,97	6,5
18	2,01	2,1	7,82	7,0	2,01	2,1	6,96	6,5
19	2,04	2,1	7,80	7,0	2,03	2,1	6,94	6,5
20	2,06	2,1	7,79	7,0	2,06	2,1	6,93	6,5
30	2,24	2,5	7,43	7,0	2,27	2,5	6,51	6,0
40	2,42	2,5	7,26	6,5	2,48	2,5	6,32	6,0
50	2,57	3,0	7,09	6,0	2,70	3,0	6,20	6,0

přidané pivo (ml)	Heineken (pH = 4,51)				Sapporo Premium Beer (pH = 4,36)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,48	1,4	8,79	9,0	1,50	1,5	8,47	8,0
2	1,51	1,5	8,66	8,5	1,52	1,5	7,84	7,5
3	1,55	1,5	8,51	8,5	1,57	1,5	7,46	7,5
4	1,58	1,6	8,35	8,0	1,61	1,6	7,29	7,5
5	1,61	1,6	8,19	8,0	1,63	1,6	7,22	7,0
6	1,65	1,6	8,06	8,0	1,65	1,6	7,11	7,0
7	1,69	1,7	7,96	7,5	1,67	1,7	7,06	7,0
8	1,72	1,8	7,89	7,5	1,69	1,7	6,99	7,0
9	1,74	1,8	7,83	7,5	1,71	1,8	6,95	6,5
10	1,78	1,8	7,80	7,5	1,73	1,8	6,92	6,5
11	1,81	1,8	7,76	7,5	1,75	1,8	6,90	6,5
12	1,84	1,9	7,73	7,5	1,77	1,8	6,88	6,5
13	1,87	1,9	7,69	7,5	1,78	1,8	6,86	6,5
14	1,90	2,0	7,68	7,0	1,80	1,9	6,82	6,5
15	1,93	2,0	7,66	7,0	1,81	1,9	6,79	6,5
16	1,96	2,0	7,63	7,0	1,84	1,9	6,78	6,5
17	1,99	2,0	7,60	7,0	1,86	1,9	6,76	6,5
18	2,01	2,1	7,57	7,0	1,88	1,9	6,74	6,5
19	2,05	2,1	7,55	7,0	1,90	2,0	6,72	6,5
20	2,08	2,1	7,54	7,0	1,92	2,0	6,70	6,5
30	2,33	3,0	7,19	6,5	2,09	2,0	6,44	6,0
40	2,54	3,0	6,96	6,5	2,26	2,5	6,26	6,0
50	2,77	3,0	6,85	6,0	2,44	2,5	6,14	6,0

přidané pivo (ml)	Sapporo Black Label (pH = 4,07)				Zlatý Bažant (pH = 4,55)			
	žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)		žaludeční šťáva (pH = 1,45)		duodenální šťáva (pH = 8,80)	
	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek	pH metr	papírek
1	1,47	1,5	8,49	8,0	1,47	1,4	8,52	8,0
2	1,49	1,6	7,75	7,5	1,49	1,5	8,16	8,0
3	1,51	1,6	7,33	7,5	1,53	1,5	7,87	7,5
4	1,54	1,6	7,14	7,5	1,55	1,5	7,72	7,5
5	1,58	1,6	7,05	7,0	1,57	1,5	7,66	7,5
6	1,61	1,6	6,95	7,0	1,60	1,6	7,60	7,5
7	1,64	1,7	6,90	7,0	1,62	1,7	7,55	7,5
8	1,68	1,7	6,84	7,0	1,64	1,7	7,50	7,0
9	1,70	1,7	6,80	7,0	1,67	1,7	7,44	7,0
10	1,72	1,7	6,76	6,5	1,69	1,8	7,39	7,0
11	1,75	1,8	6,72	6,5	1,73	1,8	7,36	7,0
12	1,78	1,8	6,68	6,5	1,76	1,8	7,32	7,0
13	1,80	1,8	6,65	6,5	1,78	1,9	7,29	7,0
14	1,82	1,8	6,63	6,5	1,81	1,9	7,26	6,5
15	1,84	1,9	6,61	6,5	1,83	1,9	7,24	6,5
16	1,86	1,9	6,58	6,5	1,86	1,9	7,22	6,5
17	1,88	1,9	6,56	6,5	1,89	2,0	7,20	6,5
18	1,90	1,9	6,54	6,5	1,91	2,0	7,18	6,5
19	1,92	2,0	6,51	6,5	1,94	2,1	7,16	6,5
20	1,94	2,0	6,49	6,5	1,96	2,1	7,14	6,5
30	2,08	2,0	6,23	6,0	2,13	2,1	6,81	6,0
40	2,21	2,5	6,08	6,0	2,33	2,3	6,65	6,0
50	2,33	2,5	6,00	6,0	2,51	2,5	6,54	6,0

Příloha 5: Kalibrační křivka vitamínu C



Příloha 6: Chromatogram vitamínu C ve vzorku Heineken (podmínky analýzy viz. kapitola 4.2.6)

