



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**VLIV ZPŮSOBU STUDENÉHO CHMELENÍ NA
SENZOMICKÝ A SENZORICKÝ PROFIL SVRCHNĚ
KVAŠENÉHO PIVA**

THE INFLUENCE OF TYPE OF DRY HOPPING ON THE SENZOMIC AND SENSORY PROFILE OF TOP
FERMENTED BEER

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Alena Bečková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Jana Olšovská, Ph.D.

BRNO 2018

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1244/2017
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Alena Bečková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **RNDr. Jana Olšovská, Ph.D.**
Akademický rok: 2017/18

Název diplomové práce:

Vliv způsobu studeného chmelení na senzomický a sensorický profil svrchně kvašeného piva

Zadání diplomové práce:

1. Zpracovat literární rešerši k zadanému tématu.
2. Pomocí studeného chmelení upravit kmenovou várku svrchně kvašeného piva.
3. Optimalizovat metodu stanovení chmelových silic v pivu.
4. Analyzovat senzomicky a sensoricky vzorky hotového a dva měsíce starého piva.
5. Statisticky vyhodnotit výsledky a porovnat je s dostupnou literaturou.

Termín odevzdání diplomové práce: 7.5.2018

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Alena Bečková
student(ka)

RNDr. Jana Olšovská, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na vliv studeného chmelení na senzomický a senzorický profil svrchně kvašeného piva. Cílem práce bylo studeným chmelením upravit vzorky svrchně kvašeného piva, analyzovat je senzomicky a senzoricky a výsledky porovnat s dostupnou literaturou.

V teoretické části je rozebrána problematika použitých surovin a analyzovaných látek, dále technologických a analytických metod. Praktická část je sestavena z technologické přípravy vzorků a analytické části připravených vzorků. Byl použit komerční produkt typu American Indian Pale Ale, do kterého byl přidán studeným chmelením chmel Cascade. V čerstvém pivu a dva měsíce starém pivu byly provedeny základní analýzy stupňovitosti piva, a prokvašení. V pivu i ve chmelu byly stanoveny vybrané silice, karbonylové sloučeniny a hořké kyseliny, vybrané kovové kontaminanty a dusičnany. Vzorky piva byly ve shodném dvouměsíčním odstupu hodnoceny senzoricky.

Bylo zjištěno, že vlivem studeného chmelení vzrostlo pH piva. Ve vzorcích byl stanoven profil silic a srovnán se senzorickým hodnocením. Výsledky mohou být využity jako podklad k dalšímu zkoumání, část výsledků je aplikovatelná v průmyslové praxi.

KLÍČOVÁ SLOVA

svrchně kvašené pivo, American IPA, AIPA, studené chmelení, Cascade, senzorická analýza piva, senzomika piva, chmelové silice, α -hořké kyseliny, pH piva

ABSTRACT

The diploma thesis is focused on the effect of dry hopping on beer senzomy and sensory profile of the top-fermented beer. The goal of this work was to modify samples of the top-fermented beer by dry hopping, to analyze them by senzomy and sensory way and to compare the results to the available literature.

The problematics of the used raw materials, analyzed substances, technological and analytical methods are discussed in the theoretical part. The practical part is composed of technological preparation of the samples and their analysis. There was used a commercial product of the type of American Indian Pale Ale. There was added a Cascade hop by dry hopping into the commercial product. The basic analysis of gravity and attenuation of the beer were done on the fresh beer and the two months old beer. The selected essential oils, carbonyl compounds, bitter acids, selected metal contaminant and nitrates were established in the beer and in the hop. The samples of the beer were sensory evaluated in the same two-month interval.

It was determined that the dry hopping influenced the increased pH of the beer. There was established the quantity of essentials oils in the samples and it was compared to the sensorial results. These results can be used as a base for the next exploration, some parts of the results are applicable in the brewing industry.

KEY WORDS

top fermented beer, American IPA, AIPA, dry hopping, Cascade, beer sensory evaluation, beer senzomy, hop essential oils, α -bitter acids, beer pH

Bibliografická citace

BEČKOVÁ, A. *Vliv způsobu studeného chmelení na senzomický a senzorický profil svrchně kvašeného piva*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 94 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Jana Olšovská, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

Podpis studentky

Poděkování

Nejlaskavější poděkování chci vyjádřit paní RNDr. Janě Olšovské, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce, vedoucí Analytické zkušební laboratoře Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Praze, za vedení práce a za umožnění realizace analytické části v akreditované laboratoři na Výzkumném ústavu, neméně také za četné konzultace a množství nabytých zkušeností v průběhu práce. Za konzultace v průběhu zpracování výsledků děkuji panu Ing. Karlovi Štěrbovi, Ph.D., taktéž z Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Praze. Ústavu chemie potravin a biotechnologií, Fakulty chemické, Vysokého učení technického v Brně děkuji za část materiálové podpory, paní prof. RNDr. Ivaně Márové, CSc, vedoucí ústavu, a paní Ing. Evě Vítové, Ph.D., za konzultance. Neobyčejně si cením také technologických konzultací v oblasti pivovarnictví a další části materiálové podpory, velmi milé a vstřícné spolupráce s panem Ing. Janem Grmelou, vrchním sládkem a spolumajitelem pivovaru Lucky Bastard. Vážím si velkého množství trpělivosti a zkušeností z akademické i průmyslové sféry, které mi po dobu celého magisterského studia věnoval pan Ing. Vítězslav Frank, Ph.D., M.B.A. Poděkování patří také mým nejbližším a všem ostatním, se kterými jsem měla možnost práci v průběhu konzultovat.

OBSAH

1	ÚVOD	9
TEORETICKÁ ČÁST		10
1.1	DEFINICE PIVA	10
1.2	SUROVINY	10
1.2.1	SLAD	10
1.2.1.1	Vybrané typy sladů	10
1.2.2	VODA	11
1.2.2.1	Tvrdost vody	11
1.2.2.2	Ionty obsažené v přírodních vodách	12
1.2.2.3	Plyny	12
1.2.2.4	Organické látky	12
1.2.2.5	Mikroorganismy	12
1.2.3	CHMEL	13
1.2.3.1	Chmelové výrobky	13
1.2.3.2	Analytické složky chmele	14
1.2.3.3	Chmelové pryskyřice	14
1.2.3.4	Chmelové silice	15
1.2.3.5	Minerální látky	17
1.2.3.6	Vybraní zástupci chmelů	18
1.2.4	KVASINKY	19
1.2.4.1	Vybraný typ kvasinek kmen US-05	19
1.3	VÝROBA PIVA	19
1.3.1	PŘÍPRAVA MLADINY	19
1.3.2	TECHNOLOGIE STUDENÉHO CHMELENÍ	20
1.3.3	KONZERVACE PIVA	21
1.4	ANALYTICKÉ SLOŽENÍ PIVA	21
1.4.1	ANORGANICKÉ LÁTKY	21
1.4.1.1	Vybrané biogenní prvky – železo a měď	22
1.4.1.2	Toxické prvky	22
1.4.1.3	Dusičnany	23
1.4.2	ORGANICKÉ LÁTKY	23
1.4.2.1	Karbonyly	24
1.4.2.2	Hořké kyseliny, silice	24
1.4.2.3	Stárnutí piva	24
1.5	SENZORICKÁ ANALÝZA	24
1.5.1	SPECIFIKA SENZORICKÉ ANALÝZY PIVA	25
1.5.2	VLIV SUROVIN NA SENZORICKÝ PROFIL PIVA	25
1.5.2.1	Slad	25
1.5.2.2	Voda	25
1.5.2.3	Kvasinky	25
1.5.2.4	Chmel	25

1.5.3	PODMÍNKY SENZORICKÉ ANALÝZY PIVA	26
1.5.3.1	Senzorická laboratoř	26
1.5.3.2	Podávání vzorků	27
1.5.3.3	Degustační komise (Senzorický panel)	28
1.6	PRINCIPY POUŽITÝCH ANALYTICKÝCH METOD	28
1.6.1	CHEMICKÁ ANALÝZA	28
1.6.1.1	Základní analýza piva	28
1.6.1.2	Atomová absorpční spektrometrie, stanovení obsahu vybraných kovů	30
1.6.1.3	HPLC-UV ke stanovení hořkých látek a dusičnanů	31
1.6.1.4	Stanovení silic a karbonylů metodou GC-MS	32
1.6.2	SENZORICKÁ ANALÝZA	34
1.6.2.1	Vybrané základní senzorické charakteristiky piva	35
1.6.2.2	Charakteristika deskriptorů, systém kruhového schéma EBC	36
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	42
3.1	POUŽITÝ MATERIÁL	42
3.1.1	POUŽITÁ ZAŘÍZENÍ	42
3.1.1.1	Technologická příprava vzorků a pomocné přístroje	42
3.1.1.2	Analytické přístroje a programy zpracující data	42
3.1.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A SUROVINY	42
3.1.2.1	Technologická příprava vzorku	42
3.1.2.2	Chemikálie k senzorní analýze	43
3.1.3	DALŠÍ POMŮCKY	44
3.1.3.1	Technologická příprava vzorku	44
3.1.3.2	Chemická analýza vzorku	44
3.1.4	SENZORICKÁ ANALÝZA	44
3.2	INSTRUMENTACE A POUŽITÉ POSTUPY	44
3.2.1	PŘÍPRAVA VZORKŮ PIVA	44
3.2.1.1	Pivečka Cascade IPA	44
3.2.1.2	Studené chmelení	45
3.2.2	CHEMICKÁ ANALÝZA	45
3.2.2.1	Stanovení extraktu zdánlivého a skutečného, relativní hustoty, alkoholu, prokvašení zdánlivého, skutečného a původního extraktu piva metodou denzitometrickou a NIR. Stanovení energetické hodnoty výpočtem z naměřených hodnot.	45
3.2.2.2	Potenciometrické stanovení pH	45
3.2.2.3	Stanovení vybraných kontaminujících kovů pomocí atomové absorpční spektrofotometrie	46
3.2.2.4	Dusičnany	46
3.2.2.5	Stanovení karbonylových sloučenin metodou GC-MS	46
3.2.2.6	Hořkost	47
3.2.2.7	Stanovení silic plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometrem	47
3.2.2.8	Statistické vyhodnocení výsledků	48
3.2.3	SENZORICKÁ ANALÝZA	48

3.2.3.1	Statistické hodnocení výsledků	49
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	51
4.1	CHEMICKÁ ANALÝZA	51
4.1.1	STANOVENÍ EXTRAKTU, ALKOHOLU, STUPNĚ PROKVAŠENÍ	52
4.1.2	STANOVENÍ pH	54
4.1.3	KONTAMINUJÍCÍ KOVY	54
4.1.3.1	Železo	55
4.1.3.2	Měď	55
4.1.3.3	Olovo	56
4.1.3.4	Kadmium	56
4.1.3.5	Rtuť	56
4.1.4	DUSIČNANY	57
4.1.4.1	Legislativní dopad zvýšené hodnoty dusičnanů v pivu	57
4.1.5	KARBONYLY	58
4.1.6	HOŘKÉ LÁTKY	59
4.1.6.1	Stanovení hořkých látek metodou EBC 9,8	59
4.1.6.2	Stanovení vybraných α - a iso- α -hořkých kyselin HPLC-UV	60
4.1.7	STANOVENÍ SILIC V PIVU I CHMELU	62
4.1.7.1	Dalších látky s obdobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi	66
4.2	SENZORICKÁ ANALÝZA, VYBRANÉ VZTAHY SENZORICKÉ ANALÝZY K VÝSLEDKŮM CHEMICKÉ ANALÝZY	67
4.2.1	ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKY PIVA	67
4.2.1.1	Povinné parametry	67
4.2.1.2	Nepovinné parametry	71
4.2.2	VÝVOJ HOŘKOSTI	74
4.2.3	CHARAKTER HOŘKOSTI	75
4.2.3.1	Vztah hořkosti a kyselosti	75
4.2.4	CHARAKTERISTIKA CHUTÍ A VŮNÍ CHMELOVÝCH SILIC	75
4.2.4.1	Hvězdicový graf	75
4.2.4.2	Vyobrazení výsledků jednotlivých chutí a vůní	77
4.2.4.3	Porovnání výsledků senzomického a senzorického stanovení	79
5	ZÁVĚR	80
6	LITERATURA	82
7	PŘÍLOHY	89
7.1	CHEMICKÁ ANALÝZA	89
7.2	SENZORICKÁ ANALÝZA	91

1 ÚVOD

Technologie studeného chmelení je v současné době založena z velké části na praktických zkušenostech. Pivo je po chemické stránce velmi složitá potravina a zkoumání některých typů látek, jako jsou například silice, bylo ve větší míře umožněno až s rozvojem moderních chromatografických metod.

Senzomika je nový vědní obor z řady „-omikových“ věd, která se zabývá chemickým popisem chutí a vůní pomocí chemického profilu senzoričky aktivních látek potraviny nebo nápoje. [1] [2]

Senzorická analýza je vědecká disciplína používaná k vyvolání, měření, analyzování reakcí těch charakteristik potravin a dalších materiálů, které jsou vnímány zrakovým, čichovým, sluchovým a hmatovým smyslem. [2]

Svrchně kvašené pivo je pivo, které je vyrobeno kvasinkami pro svrchní kvašení. Používají se vyšlechtěné kmeny kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*.

Pivní styl American Indian Pale Ale (AIPA) je charakteristický vyšším obsahem alkoholu a pivo je silněji chmelené. Jsou použity americké odrůdy chmele, často s velmi výraznými citrusovými, květinovými nebo ovocnými tóny. Do našich krajín se AIPA dostal s rozvojem menších řemeslných pivovarů a stal se oblíbeným speciálním pivem.

Studené chmelení je technologický proces, který upravuje aroma piva. Chmel je přidán do mladiny až po chmelovaru za teploty ležení. Přidání téhož množství chmele oproti chmelovaru způsobí menší míru izomerace hořkých kyselin a zároveň je v mladině zachováno výrazně více těkavých látek, které mají zásadní vliv na aroma piva.

V teoretické části je rozebrána problematika použitých surovin a analyzovaných látek, dále technologických a analytických metod. Praktická část je sestavena z technologické přípravy vzorků a analytické části připravených vzorků a analýz senzomického profilu čerstvého a dva měsíce starého piva.

TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Definice piva

„Pivo je pěnivý nápoj vyrobený zkvašením mladiny připravené ze sladu, vody a neupraveného či upraveného chmele nebo chmelových produktů. Kvasným procesem vzniká alkohol, oxid uhličitý a řada vedlejších produktů, v pivu zůstává i určité množství neprokvašeného extraktu. Slad může být z části nahrazen jinými surovinami.“ [3] Definici v úplném znění uvádí Vyhláška č. 335/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí v §11 odstavci a). [4]

1.2 Suroviny

1.2.1 Slad

Slad je technologicky upravené obilné zrnو. Naprostou většinu produkce zaujímá slad ječný, v menší míře se používá pšeničný. Speciální piva mohou využívat dalších sacharidických substrátů. Technologický proces sladování probíhá v provozu sladovny. Zrno se nejprve čistí, třídí a máčí, dále 5-6 dní klíčí na humnech. V dalším kroku probíhá proudem teplého vzduchu hvozdnění, tedy vysušování. Suché naklíčené zrno se v posledním kroku zbaví klíčků a do pivovarů se zaváží v 50kg pytlech. [5]

1.2.1.1 Vybrané typy sladů

Světlé slady plzeňského typu

Plzeňský slad je vyroben z českých odrůd ječmene, je charakteristický nižší hodnotou barvy po povaření, hodnota se pohybuje kolem 3-6 stupňů jednotky EBC. Slad se používá v libovolném podílu až do 100 %. Proteolytická aktivita sladu je přiměřená. Aktivita amylolytických enzymů umožňuje dokonalé zcukření amylopektinu. Vynikajícím způsobem se hodí na ležáky, piva plzeňského typu a typu Ale. [5] [6] [8]

Vídeňský slad

Tento typ ječného sladu je tmavší než plzeňský, používá se jako přechodný typ mezi světlým a tmavým sladem. Barva na stupnici EBC je dvakrát vyšší než u sladů plzeňského typu. Výrobce Weyermann® uvádí 6-9 stupňů jednotky EBC. Slad je možné použít v libovolném zastoupení nebo samotný. Vídeňský slad je charakteristický plným tělem, zlatavou barvou a jemnou vyhlazenou chutí piva. Vídeňský slad se obvykle používá do piv vídeňského typu a speciálních piv typu „Maerzenbier“, „Mai-Bock“, ležák „Amber“, piva typu Golden Ale, October beer. [5] [7] [8]

CaraBelge slad

CaraBelge® je speciální karamelový slad, jeho výrobce Weyermann® uvádí 30–35 jednotek EBC, doporučený podíl ve směsi sladů je do 30 %. Pivo z tohoto sladu je charakteristické medově zbarveným odstínem, po vůni a chuti jsou cítit jemné tóny karamelu, sušeného ovoce a ořechů. CaraBelge slad najdeme typicky v belgických speciálních pivech, belgických světlých „Blonde“ a tmavých „Bruin“ pivech, dále v belgických pivech typu Amber, Tripel nebo Dubbel. [9] [10]

1.2.2 Voda

Protože je varní voda přímá součást potraviny, musí splňovat všechny charakteristiky pitné vody. Varní voda tvoří 75-80 % hmotnosti piva, dle jeho druhu, a její fyzikální, chemické a biologické složení má vliv na výsledné analytické i senzorické vlastnosti piva. Oproti spodním vodám obsahují povrchové vody více suspendovaných látek, mikroorganismů a organických látek. [11]

Tabulka 1: Vybrané závazné požadavky na pitnou vodu dle Přílohy 1 vyhlášky č. 252/2004 Sb. kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, v platném znění. Číslo ukazatele je údaj, který je ponechán dle vyhlášky. NMH je nejvyšší mezní hodnota, MH mezní hodnota. [12]

Číslo ukazatele	Ukazatel	Symbol	Jednotka	Limit	Typ limitu
34	chrom	Cr	$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	50	NMH
36	kadmium	Cd	$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	5,0	NMH
43	olovo	Pb	$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	10	NMH
40	měď	Cu	$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	1000	NMH
50	rtuť	Hg	$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	1,0	NMH
62	železo	Fe	$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	0,20	MH
30	chlor volný		$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	0,30	MH
23	dusičnany	NO_3^-	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	50	NMH
24	dusitany	NO_2	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	0,50	NMH
46	pesticidní látky		$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	0,10	NMH
47	pesticidní látky celkem		$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	0,50	NMH

K obsahu dusičnanů a dusitanů je v Příloze 1 přiložená poznámka: „Musí být dodržena podmínka, aby součet poměrů zjištěného obsahu dusičnanů v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ děleného 50 a zjištěného obsahu dusitanů v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ děleného 3 byl menší nebo rovný 1. Součet poměrů odpovídá svým významem nejvyšší mezní hodnotě. Obsah dusitanů v pitné vodě na výstupu z úpravy musí být nižší než $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.“ [12] K některým ukazatelům dalším uvádí vyhláška č. 252/2004 Sb. na konci přílohy č. 1 další poznámky.

1.2.2.1 Tvrdost vody

Vhodnost varní vody se v praxi posuzuje podle obsahu rozpuštěných solí v $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Starší termín „Tvrdost“ vody vyjadřuje podíl vápenatých, hořečnatých a barnatých solí nebo podíl dvoj- a vícemocných solí. Existují různé národní jednotky celkové tvrdosti

vody, všechny jsou hodnoceny podle různého zastoupení uhličitanu vápenatého a oxidu vápenatého. [11]

Obsah hydrogenuhlíčanů vápníku a hořčíku je nazýván uhličitanová neboli dle starší literatury přechodná „tvrdost“ vody. Během chmelovaru se mění na uhličitan vápenatý a hořečnatý. Uhličitan vápenatý je nerozpustný a uhličitan hořečnatý se delším varem rozkládá a uvolňuje oxid uhličitý. Neuhličitanová tvrdost vody, dle starší literatury tzv. stálá, je tvořena vápenatými a hořečnatými solemi síranů, chloridů, dusičnanů a jiných aniontů, které varem zůstávají nezměněny. Pro spodně kvašená a silně chmelená piva se hodí měkká voda (do $1,3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). Voda velmi tvrdá (nad $3,8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) s vysokým obsahem síranů se hodí pro vysoce chmelená světlá piva typu ALE. [11]

1.2.2.2 Ionty obsažené v přírodních vodách

Vodní zdroje se liší zastoupením různých iontů. Obsah jednotlivých složek má vliv na proces výroby, kvalitu a charakteristiku piva. Přírodní zdroje vod obsahují nejčastěji kationty vodíkové, sodné, draselné, vápenaté, manganaté, železnaté a železité, hlinité. Mezi anionty jsou nejvíce zastoupeny hydroxylové, chloridové, hydrogenuhlícanové a uhličitanové, dusičnanové a dusitanové, síranové, fosforečné a siřičitanové. [11] [13]

1.2.2.3 Plyny

Nejvíce zastoupenými rozpuštěnými plyny jsou oxid uhličitý, který se ve vodě vyskytuje z většiny jako hydrogenuhlícanový anion, a kyslík, obvykle v koncentraci $3\text{--}8 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Kyslík může v pozdějších fázích výroby piva významně ovlivnit fyzikálně-chemickou stabilitu piva. Volný chlor se vyskytuje ve vodách upravených chlorací. Přebytečný chlor reaguje s fenoly a způsobuje negativní chlorfenolovou příchuť, proto se doporučuje varní vodu s vyšším obsahem chloru převařit nebo alespoň nechat odstát. [11]

1.2.2.4 Organické látky

Z organických látek se ve vodě nejvíce vyskytují huminové látky, zbytky rozkladu rostlinných těl. Mají nažloutlou nebo nahnědlou barvu a negativní chuť. Nepřípustné jsou halogenované uhlovodíky, nežádoucí pak fenoly, které také vykazují negativní senzorické vlastnosti. [11]

1.2.2.5 Mikroorganismy

Z praktického hlediska mají mikroorganismy ve vodě význam kontaminace v průběhu rmutování a scezování. Mikroorganismy přítomné ve varní vodě jsou následně inhibovány v průběhu chmelovaru. [11]

Tabulka 2: Vybrané závazné mikrobiologické požadavky na pitnou vodu dle Přílohy 1 vyhlášky č. 252/2004 Sb. kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, v platném znění. Číslo ukazatele je údaj, který je ponechán dle vyhlášky. KTJ je kolonie tvořící jednotku, NMH je nejvyšší mezní hodnota, MH mezní hodnota. [12]

Číslo ukazatele	Ukazatel		Limit	Jednotka	Typ limitu
1	<i>Clostridium perfringens</i>		0	KTJ·100 ml ⁻¹	MH
2	Intestinální enterokoky		0	KTJ·100 ml ⁻¹	NMH
3	<i>Escherichia coli</i>		0	KTJ·100 ml ⁻¹	NMH
4	koliformní bakterie		0	KTJ·100 ml ⁻¹	MH
6	mikroskopický	počet organismů	50	jedinci·ml ⁻¹	MH
7	obraz	živé organismy	0	jedinci·ml ⁻¹	MH
8	počty kolonií při 22 °C		Bez abnormálních změn	KTJ·ml ⁻¹	MH
			200	KTJ·ml ⁻¹	DH
9	počty kolonií při 36 °C		Bez abnormálních změn	KTJ·ml ⁻¹	MH
			40	KTJ·ml ⁻¹	DH

1.2.3 Chmel

Chmel je další ze čtyř základních surovin piva, z potravinářského hlediska je výjimečný pro svoji specifickou kombinaci hořkosti a směsi rozličných rostlinných aromat. Mnohé z látek chmele mají také konzervační charakter. Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) bývá zařazen do čeledi konopovitých (*Cannabiceae*). Používají se celé sušené zralé hlávky, upravený chmel nebo chmelové extrakty. Z praktického hlediska se chmelové odrůdy dělí do následujících kategorií, ke kterým je uveden typický zástupce: [11]

- Tradiční aromatické chmely (Žatecký chmel)
- Nové aromatické chmely (Cascade)
- Šlechtěné aromatické chmely (Perle)
- Kvalitní hořké chmely (Magnum)
- Hořké chmely (Magnum, Taurus, Target)

1.2.3.1 Chmelové výrobky

Oblíbenou variantou klasických sušených hlávek jsou chmelové prášky a pelety. Pelety mají různý obsah hořkých kyselin. Pelety 100 jsou slisované hlávky, zatímco pelety 30 mají až trojnásobný obsah hořkých kyselin. Balení je zajištěno v inertní atmosféře, aby se vlivem skladování nesnižoval obsah těkavých látek v surovině. Pelety 100 se používají hlavně u svrchně kvašeného piva, neboť jsou v nich nejlépe zachovány těkavé a termolabilní látky. Vyšší hořkost vnáší do produktu chmelové přípravky se sníženým obsahem vlákninné složky produktu, které jsou vyrobené extrakcí

nebo chemickými úpravami, dále syntetické přípravky nebo kombinace uvedených možností. [11]

1.2.3.2 Analytické složky chmele

Chmelové šišťice obsahují oproti běžné biologické metrice více pryskyřic, silic a polyfenolů. [11] Dále budou popsány jen vybrané složky chmele.

Tabulka 3: Chemické složení sušeného chmele [13] [14] [15] [16] [17] [18] [19]

Složka	Obsah složky [hmotnostní %]
Voda	8-12
Celkové pryskyřice	10-25
Alfa-hořké kyseliny	2-12
Beta-hořké kyseliny	1-10
Chmelové silice	0,3-2,0
Lipidy a vosky	0,2-4
Proteiny	10-24
Aminokyseliny	0,1
Polyfenoly	2-14
Celulosa	40-50
Cukry	2-4
Pektiny	1-2
Minerální látky	6-10

1.2.3.3 Chmelové pryskyřice

Chmelové pryskyřice jsou po chemické stránce řazeny mezi isoprenoidní látky. Typičtí zástupci mají 2 isoprenoidní jednotky, postranní řetězec a několik substitucí hydroxylovými a karbonylovými skupinami, další zástupci mají strukturu složitější. Z praktického hlediska jsou chmelové pryskyřice nejvýznamnější látky chmele, až 30 % hmotnosti sušiny. Dělí se na měkké chmelové pryskyřice (α -), specifické měkké (β -) a tvrdé pryskyřice. V průběhu chmelovaru hořké kyseliny isomerizují, čímž se výrazně zvýší hořkost. Nejvyšší hořkost vykazují iso- α hořké kyseliny. [11]

Alfa-hořké kyseliny, humulony

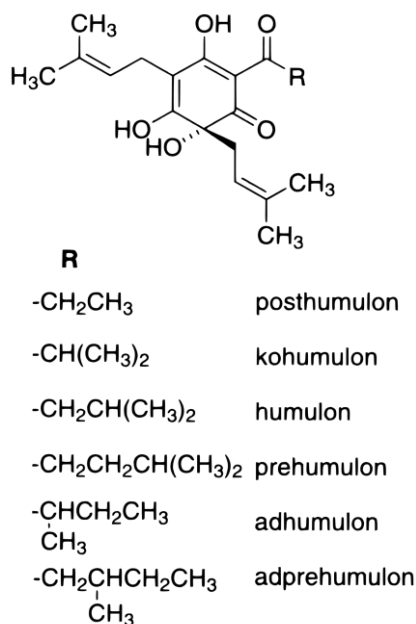
Rozlišujeme 7 dosud známých analogů humulonů. Nejvíce zastoupený je humulon, v nižších koncentracích nalézáme posthumulon a kohumulon méně. Pod 10 % hmotnosti v sušině jsou zastoupeny prehumulon, adhumulon, adprehumulon. Zjištěné hmotnostní procento je odvislé od odrůdy chmele, pěstebních podmínek a stádia zralosti. [11]

Šestičlenný cyklus α -hořkých kyselin se mění na pětičlenný cyklus iso- α -hořkých kyselin. Jsou popsány i další transformační produkty, které také ovlivňují charakter a sílu hořkosti piva. [11].

V kyselém prostředí vykazují lepší rozpustnost iso- α -hořké kyseliny než α -hořké kyseliny. Varem se isomerizuje asi 92 %. Stupeň isomerace kohumulonů je vyšší

než u ostatních hořkých kyselin. [11] Isomerace za skladovacích teplot není dostatečně popsána.

Varem vznikají také *allo*-iso- α -hořké kyseliny, které mají nižší senzorickou hořkost než iso- α -hořké kyseliny. *Anti*-iso- α -hořké kyseliny mají dvojnásobnou hořkost než iso- α -hořké kyseliny a *abeo*-iso- α -hořké kyseliny mají nulovou hořkost, nicméně vykazují pozitivní vliv na stabilitu pěny. Vedle izomerace je u hořkých kyselin významná také oxidace, která je jedním z původců stárnutí chmele. Do této skupiny látek patří tricyklodehydroso- α -hořké kyseliny, humulinony, deoxy- α -hořké kyseliny, ζ -iso- α -hořké kyseliny, humulinové kyseliny a oxyhumulinové kyseliny. [11]



Obrázek 1: α -hořké kyseliny a jejich analogy. [11]

Další typy pryskyřic

β -hořké kyseliny bývají v sušině chmele v 3-5% zastoupení. Transformační produkty lupulonů mají výrazně nižší podíl na hořkosti piva, přesto jsou schopny doplňovat intenzitu a pozitivně ovlivňovat charakter hořkosti. Produkty oxidačních reakcí lupulonů mají mírnou a příjemnou hořkost, dosahují 50-75 % hořkosti iso- α -hořkých kyselin. [11]

Tvrdé pryskyřice mají nižší pivovarský význam, protože se vyskytují v čerstvém chmelu v malém množství. [11]

1.2.3.4 Chmelové silice

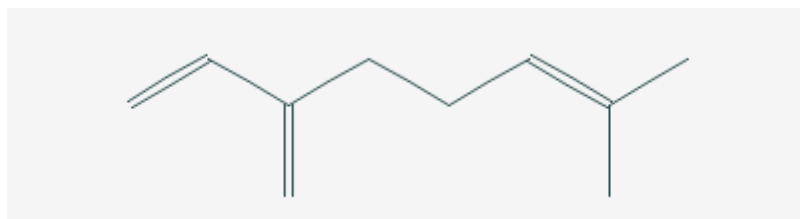
Silice se tvoří hlavně v konečné fázi zrání rostliny. Obsah silic ve chmelu se pohybuje okolo 0,5-3 % sušiny. Pojem silice zahrnuje několik set látek různého chemického složení, fyzikálních vlastností i aroma. Ne všechny však byly dosud identifikovány a popsány. [11] Silice tvoří v aroma chmele charakteristickou vůni v závislosti na skladbě a zastoupení látek v matrici. [20] [11] O rozdělení a identifikaci se zasloužila teprve kapilární GC-MS [20]. K roztržení chmelových silic literatura přistupuje podle chemického složení, nebo podle aroma látek, viz níže v tabulce 4. Dále jsou uvedeni pouze vybraní zástupci.

Tabulka 4: Vybrané silice a další těkavé látky typické pro chmel [11]

Uhlovodíky nepolární	Ostatní bezkyslíkaté sloučeniny		
	Isopren		
	Bezokyslíkaté terpeny	monoterpeny	Alifatické (myrcen)
			Alicyklické (α -pinen)
		seskviterpeny	Alifatické (farnesen)
			Alicyklické (humulen)
		diterpeny	Alifatické (dimyrcen)
Alicyklické (a-pinen)			
Chmelové silice	Ostatní bezkyslíkaté sloučeniny obsahující síru		Dimethyltrisulfid
Kyslíkaté látky (polární)	Kyslíkaté terpeny	monoterpeny seskviterpeny diterpeny	Epoxidy (myrcenepoxid)
			Alkoholy (linalool)
			Hydroperoxidy
			Aldehydy (geranial)
			Ketony (humuladienon)
			Kyseliny (myrcenová kyselina)
			Estery (octan geranylu)
Ostatní kyslíkaté látky			Epoxidy (hexanol)
			Aldehydy (isopentanal)
			Ketony (dekan-2-on)
			Kyseliny (isovalerová kyselina
			Estery (2-methylbutyl-isobutyrát)
			Laktony
			Etery (1,1-dimethoxyethan)
Terpeny obsahující kyslík a síru			Epoxidy (8,9-epithiohumulen)
Ostatní látky obsahující kyslík a síru			Estery (S-methylthiohexanoát)

Myrcen

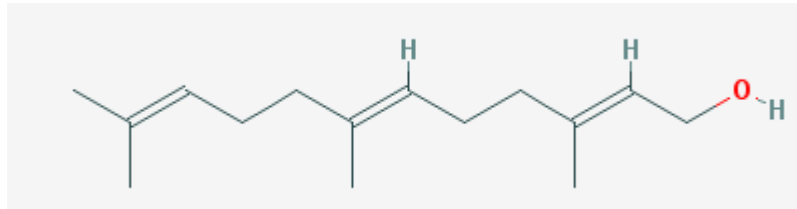
Myrcen je významnou složkou esenciálních olejů vícero rostlinných druhů, například bobkový list, konopí, divoký tymián, petržel, kardamom nebo chmel. Podle struktury molekuly patří mezi monoterpeny. [21]



Obrázek 2: Myrcen [21]

Farnesol

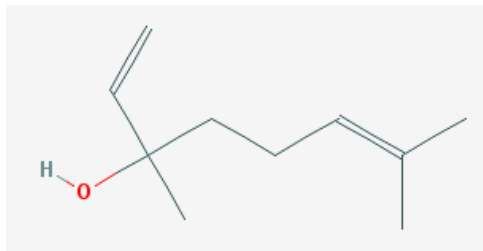
Farnesol můžeme najít v mnoha rostlinných matricích, například v citronové trávě nebo v růži, sensoricky se projevuje jako květinové aroma. Je to acyklický seskviterpen s hydroxylovou skupinou, v metabolismu slouží jako meziprodukt a signální molekula v syntéze cholesterolu. [24]



Obrázek 3: Farnesol [22]

Linalool

Linalool má jedno stereoizomerní jádro, tvoří dva přirozené stereoizomery, které byly identifikovány v mnoha druzích květin a koření, například ve skořici, mátě, růži nebo citrusech. Má příjemnou vůni po květinách, jemně kořeněnou. [23]



Obrázek 4: Linalool [23]

Frakce sirných sloučenin

Sírné sloučeniny vykazují negativní chuť a vůni již v nízkých koncentracích [11]. Zvýšené koncentrace sirných sloučenin jsou nalézány ve chmelu ošetřeném sirným postřikem nebo bylo-li síření použito jako posklizňová konzervace. Typickými zástupci jsou dimethylsulfid, dimethyltrisulfid, a další. [11]

1.2.3.5 Minerální látky

Popelovina zaujímá běžně 7-10 % sušiny, význačný je vysoký obsah draslíku. Měď, mangan a zinek mohou při vyšších koncentracích ovlivnit růst kvasnic a koloidní stabilitu piva. [11]

Tabulka 5: Obsah anorganických látek v chmelu [11]

Anorganická látka	Množství [mg·kg ⁻¹]
Draslík	8 000-44 000
Vápník	7 000-25 000
Hořčík	2 000-7 000
Železo	60-1 100
Měď	15-12 000
Zinek	25-100
Mangan	40-230
Fosforečnany	6 000-21 000
Sírany	2 000-55 000
Křemičitany	7 500-25 000
dusičnany	4 800-11 900

1.2.3.6 Vybraní zástupci chmelů

Magnum

Z obchodního hlediska se chmel Magnum řadí mezi chmely s vysokým obsahem α -hořkých kyselin. Literatura uvádí například obsah hořkých kyselin 13,0 %, z toho kohumulonu 24-25 %. [11]

Výrobce uvádí následující údaje: [24]

- α -kyseliny: 14,90%
- Aroma: bez zřetelného aroma, čistá hořkost
- Pivovarská charakteristika: hořká odrůda chmele s velmi dobrými agronomickými vlastnostmi, průměrným aroma, používaná pro dodání základní hořkosti
- Doporučené použití a chmelení: první chmelení
- Pivní styly: piva typu ALE, stout, lager
- Původ: Magnum je německá vysokoobsažná odrůda chmele pěstovaná od roku 1993

Cascade

Z obchodního hlediska se chmel Magnum řadí mezi aromatické chmely. Literatura uvádí například obsah hořkých kyselin 5,7 %, z toho kohumulonu 33-40 % a farnesenu 4-8 %. [11]

Vybraný výrobce uvádí na svých stránkách tyto údaje: [24]

- Alfa kyseliny: 5,70%
- Aroma: květinové a citrusové
- Pivovarská charakteristika: aromatická odrůda chmele s vyváženou hořkostí, květinové a citrusové aroma, často používaná pro „studené chmelení“
- Doporučené použití a chmelení: třetí chmelení, studené chmelení
- Pivní styly: převážně americké typy „ALE“, IPA, porter

1.2.4 Kvasinky

V pivovarství se používají převážně kvasinky rodu *Saccharomyces*. Přirozeně se vyskytují převážně na měkkém ovoci. V potravinářském průmyslu se využívají k výrobě piva, vína, pečiva nebo sýrů. [25]

Mezi spodní pivovarské kvasinky se řadí druhy *Saccharomyces cerevisiae*, *S. calshbergensis*, popřípadě *S. uvarum*. Svrchní pivovarské kvasinky jsou výlučně vybrané kmeny *S. cerevisiae*. [11]

Tabulka 6: Taxonomické zařazení druhu *Saccharomyces cerevisiae* [11]

Nadříše	Eukaryota
Říše	Fungi
Kmen	Ascomycotina
Podkmen	Saccharomycotina
Třída	Saccharomycetes
Řád	Saccharomycetales
Čeleď	Saccharomycetaceae
Rod	<i>Saccharomyces</i>
Typový druh	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Pivovarské kvasinky mají mírně oválný tvar, jsou 6–10 µm dlouhé, 5–8 µm široké. Povrch jedné buňky je přibližně 150 µm², na 100 l kvasící mladiny vychází celkový povrch buněk mezi 200-900 m². [17]

1.2.4.1 Vybraný typ kvasinek kmen US-05

Kmen US-05 je oblíbenou volbou pro svrchně kvašená piva. Vybraní dodavatelé tohoto kmenu kvasinek o svém produktu uvádějí následující informace:

„Nechávají vyniknout vůně a hořkosti amerických chmelů. Tento typ kvasinek je českými sládky nejvíce používán. Svrchní kvasnice používané v Americe, piva typu Ale, ..., teplota kvašení 15–22°C.“ [26]

„Pomáhají produkovat velice dobře vyvážená piva s nízkými diacetylenovými hodnotami a čistou, čerstvou chutí. Sedimentace je nízká až střední. Stupeň prokvašení – střední. Pro druhy piv: Mild Ale, American Pale Ale, Brown Ale, Scottisch Ale Light, Porter, Classic Stout.“ [27]

1.3 Výroba piva

1.3.1 Příprava mladiny

Sladina je vyrobena ve varně ze sladu a vody technologickým procesem, který se skládá z vystírání, rmutování, scezování a vyslazování. V průběhu vystírání se šrotovaný slad smísí s varní vodou. Hlavním cílem rmutování je enzymaticky naštěpit část zásobních polysacharidů na zkvasitelné cukry. Využívá se speciálního teplotního režimu, který je optimalizovaný na funkci štěpných enzymů α - a β -amylasy. V průběhu rmutování dochází i k přeměnám dalších látek. Před scezováním dílo obvykle necelou

půlhodinu odpočívá. Scezování odděluje sladinu od mláta, mláto zároveň slouží jako filtrační koláč, mohou ale být použity i speciální sladinové filtry. Poté se mláto ještě vyslazuje dalším objemem vody, aby bylo dosaženo žádané stupňovitosti mladiny. [11]

Povaření sladinu s chmelem se projevuje několika fyzikálními, biologickými a biochemickými důsledky. Odpaří se přebytečná voda a nežádoucí těkavé látky. Mladina je sterilizována, jsou inaktivovány enzymy ze sladu. Hořké kyseliny a další látky z chmele jsou extrahovány do díla a částečně přeměněny, především dochází k izomeraci α - a β -hořkých kyselin. Vlivem vysoké teploty a přítomnosti sacharidů a dusíkatých látek dochází ke tvorbě produktů Maillardových reakcí. Dusíkaté látky o vyšší molekulové hmotnosti koagulují a koaguláty jsou po chmelovaru odstraněny společně s chmelem. Varem se také vytváří další redukující látky, ustanovuje se redoxní potenciál mladiny a zajišťují se oxidační reakce. Je zvýšena acidita díla. [11]

Po chmelovaru se chmelové mláto a vysrážené kaly nechají usadit a mladina je přečerpána, někdy i přefiltrována. Mladina je zchlazena na teplotu kvašení. Dílo je provzdušněno kvůli zvýšení přítomnosti kyslíku na začátku kvašení. Pozdější přítomnost kyslíku je nežádoucí, snižuje antioxidační vlastnosti piva a způsobuje tak rychlejší stárnutí. Následně je mladina zaočkována kvasnou kulturou. [11]

1.3.2 Technologie studeného chmelení

Ke studenému chmelení se přistupuje za účelem zvýšení chmelového aroma. Používají se vysoce aromatické chmely, například Citra, Cascade, Kazbek, Galaxy, Simcoe i Žatecký červeňák. Chmelové aroma přechází při chmelovaru do mladiny jen v omezené míře a z většiny odchází s párou do okolního prostředí, proto byly vypracovány technologické postupy dodatečné úpravy obsahu chmelového aroma v pivu: [28]

- Pozdní chmelení s přidavkem mezi koncem chmelovaru a počátkem kvašení.
- Studené chmelení během hlavního kvašení.
- Studené chmelení během konce hlavního dokvašování nebo během ležení.

Přidáme-li chmel do díla později, dochází k nižšímu stupni izomerizace hořkých látek. Silice oproti chmelovaru méně těkají a více zůstávají v pivu. Na tomto místě je nutné zmínit i negativní aspekty studeného chmelení, mezi které patří vystavení piva přístupu kyslíku a riziko kontaminace piva v důsledku extrakce nechtěných látek z chmele. Přístup kyslíku k pivu způsobuje oxidaci látek piva rychlejší stárnutí díla. Mezi nežádoucí senzoricky aktivní látky extrahované z chmele patří zejména kovové ionty, mohou se projevit i dusičnany nebo residua pesticidů. Existuje také riziko mikrobiologické kontaminace z chmele. [11] [29]

Chmelení za studena po ukončení hlavního kvašení zjišťuje vysoký přechod silic z chmele do piva tak, že silice v pivu v co největší možné míře zůstávají. Při studeném chmelení neisomerizují α -hořké kyseliny, přesto k nárůstu hořkosti dochází v různé míře v závislosti na délce ležení chmelu v pivu a na použité odrůdě chmelu. Za hořkost jsou odpovědné také další látky, například polyfenoly. [28]

Během studeného chmelení dochází také ke změnám koncentrací dalších látek. Unikají plyny a další těkavé látky, pivo může ve větší či menší míře oxidovat, protože hladina již není chráněna pěnou a metabolismus kvasinek již není tak aktivní, jako při hlavním

kvašení. Protože chmel nebývá před použitím sterilizován a chmelovar již neproběhne, existuje riziko vnesení infekce do piva. [28]

Po technologické stránce vnáší studené chmelení vlivem další manipulace s dílem riziko nežádoucí oxidace. Výhodou je, že v průběhu ležení chmele sedimentují mrtvé buňky kvasinek, které jsou při následném stočení piva odstraněny společně s chmelem. [28]

1.3.3 Konzervace piva

Pivo je konzervováno několika přirozenými mechanismy: [25]

- Kvasinky v prostředí uplatňují kompetitivní působení, eliminují ostatní mikroorganismy tím, že nastaví v prostředí ideální podmínky pro svůj růst a množení, ve kterých se ostatní mikroorganismy ve významné míře nemohou uplatnit.
- V průběhu chmelovaru je zajištěno důkladné povaření díla, díky kterému jsou zničeny i případné spory mikroorganismů a mladina je zakvašena ve sterilní podobě.
- Chmelové pryskyřice, silice, alkohol a rozpuštěný oxid uhličitý také vykazují konzervační účinky.

1.4 Analytické složení piva

V pivu bylo zjištěno přes 1 000 různých látek. Většinu tvoří voda, dále je zastoupeno množství různých organických látek a anorganických iontů.

Tabulka 7: Složení méně stupňového piva [19]

Analyt	Obsah analytu [g ve 100 ml]
Voda	92-95
Alkohol	2,5-3,5
Sacharidy celkové	1,5-3,0
Z toho cukry	<0,2
Proteiny	0,2-0,6
Tuky	-
Minerály	0,2-0,3
Vláknina	0,3-1,0

V následujících podkapitolách jsou popsány jen stanovované látky.

1.4.1 Anorganické látky

Prvková analýza piva prokázala rozmanité složení anorganické složky piva, látky jsou rozděleny do skupiny makroelementů, mikroelementů a minoritních minerálních látek: [11]

- Makroelementy: hořčík, draslík, vápník, fosfor, síra, chlor
- Mikroelementy: kobalt, bor, kadmium, molybden, vanad, nikl, chrom, jód
- Minoritní minerální látky: železo, zinek, mangan

Kovy, polokovy, metaloidy mají v pivu inhibiční nebo toxický vliv, prakticky se jedná o stříbro, rtuť, selen, palladium, tellur, arsen, nikl, osmium a lithium. [11]

1.4.1.1 Vybrané biogenní prvky – železo a měď

Železo a měď v pivu nejsou zdravotně závadné, nicméně působí jako katalyzátor oxidace labilních složek. Také se mohou negativně projevit v senzorických vlastnostech piva kovovou příchutí. Zvýšená koncentrace železa a mědi mívá původ v aplikování většího množství pesticidů při pěstování suroviny nebo při použití měďnaté nádoby. [30] [29]

Železo

Železité a železnaté ionty se v přírodních vodách vyskytují v malé koncentraci. Obsah železa nad $0,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ zhoršuje kvalitu sladu, protože vyšší množství železa při srovnatelných ostatních podmínkách způsobuje tmavší barvu sladu, zpomaluje zcukření sladu, snižuje plnost chuti piva a kazí charakter hořkosti piva. Množství železa nad $0,1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ naopak působí příznivě na biosyntézu enzymů dýchacího řetězce v buňkách kvasinek. Železo se z díla z velké části vyloučí v mlátě a v kalech. Pšenice obsahuje $33\text{-}66 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ železa, pšeničná mouka $12\text{-}25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. DDD – okolo $10\text{-}15 \text{ mg}$ na den dle věku a pohlaví. [11] [30]

Měď

Měďnaté ionty způsobují stejné negativní účinky jako železnaté, ovšem jsou toxičtější pro kvasinky. Měďnaté ionty ve vodě pocházejí z užitých technologických zařízení nebo jsou přítomny jako rezidua pesticidů. Jsou toxické pro kvasinky a také se účastní radikálových reakcí, což má negativní vliv na redoxní stabilitu piva. [11] [30]

1.4.1.2 Toxické prvky

Rostliny přijímají toxické prvky z půdy kořenovým systémem, část je také přijata listy z atmosféry. Obsah toxických prvků v rostlinných orgánech je sestupný v tomto pořadí: kořeny, listy, stonky, plody, semena. Při vstřebávání je důležitá hodnota pH a redoxní potenciál půdy. Relativní mobilita kadmia, olova a rtuti vzrůstá v kyselém a v oxidačním prostředí. [30] Dále jsou podrobněji rozvedeny pouze stanovované prvky, které jsou pro pivovarství významné.

Olovo

Může poškodit reprodukční schopnost a plod v těle matky. Může poškodit kojence prostřednictvím mateřského mléka. Při dlouhodobé nebo opakované expozici má negativní vliv také na ledviny a mozek. Dále poškozuje játra, krev, kardiovaskulární a nervový systém. [30] [31]

Olovo se také používá k výrobě plechů a vodovodních trubek. V přírodních vodách se vyskytují jen stopová množství. V přírodních nekontaminovaných vodách, jako jsou řeky a jezera, se obvykle nachází $0,1\text{-}10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ olova. V nekontaminovaných půdách nacházíme okolo $5\text{-}40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Ječmen obvykle obsahuje $0,03\text{-}0,27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ olova. [30]

Kadmium

Kadmium má karcinogenní účinky. Existuje podezření na genetické poškození, poškození reprodukční schopnosti a plodu v těle matky. Při prodloužené nebo opakované expozici vdechováním způsobuje poškození plic, ledvin a kostí. Má negativní vliv také na játra a krevní tlak. [32] [30]

Kadmium se používá k pokovování jako antikoroziční ochrana. Sulfid kademnatý našel využití jako pigment, kademnaté soli mastných kyselin se přidávají při výrobě polyvinyl chloridu. Kontaminace kadmiem se pohybuje v nižších koncentracích než u olova. V přírodních vodách se kadmium vyskytuje jen ve stopovém množství. V nekontaminovaných vodách je obvyklá koncentrace okolo $0,07\text{--}0,8\ \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. V tělech vodních živočichů se toxický prvek hromadí, koncentrace se pohybuje až kolem $100\ \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. V nekontaminovaných půdách je koncentrace kadmia vyšší, literatura uvádí $0,2\text{--}1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Ječmen obsahuje přibližně $0,004\text{--}0,04\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ kadmia. [30]

Rtuť

Intoxikace rtuť způsobuje poruchy centrálního nervového systému, při opakované nebo dlouhodobé expozici poškození ledvin. Výrobce zmiňuje také nebezpečí selhání krevního oběhu. Rtuť se v těle metabolizuje na metylртуť, která má prokázané teratogenní účinky. [30] [33]

Rtuť se používá nebo používala například v nátěrových hmotách, pesticidech nebo v elektrotechnice. Koncentrace v přírodních vodách, v čistých řekách a jezerech, se pohybuje kolem $0,01\text{--}0,2\ \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. V nekontaminovaných půdách bylo zjištěno množství rtuti $0,02\text{--}0,2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Rostliny obsahují desetiny až desítky $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Koncentrace rtuti v ječmeni byla zjištěna $1\text{--}6\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. [30]

1.4.1.3 Dusičnany

Legislativní limit dusičnanů v pitné vodě je $50\ \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, v řadě států dokonce snížen na $25\ \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Zvýšený obsah v povrchových vodách je způsoben intenzivním hnojením. Dusičnany samy toxické nejsou, ale při redukci na dusitany jsou toxické pro kvasinky. [11]

Přítomností dusičnanů v pivu mohou vznikat nitrosaminy. Byly prokázány karcinogenní účinky některých nitrososloučenin. Některé z nitrosaminů mají i další negativní dopady na lidské zdraví [11] [36]

1.4.2 Organické látky

Tabulka 8: Hmotnostní zastoupení a energetická hodnota nejvýznamnějších látek v přepočtu na 1 l piva: [35]

Látka	Obsah
Bílkoviny	4 g
Celkové sacharidy	27 g
Jednoduché cukry	4 g
Ethanol	37 g
Tuk	stopy
Energetická hodnota	1 600 kJ (380 kcal)

1.4.2.1 Karbonyly

Karbonylové látky v pivu vznikají několika typy reakcí: oxidací alkoholů na aldehydy, Streckerovou degradací aminokyselin, aldolovou kondenzací, degradací hořkých kyselin, oxidací nenasycených mastných kyselin, maillardovými reakcemi a syntézou a hydrolýzou esterů. Vybrané karbonylové látky mohou sloužit jako indikátory stárnutí piva. Bylo například zjištěno, že produkty Maillardových reakcí vykazují v průběhu stárnutí lineární nárůst koncentrací. Za indikátory stárnutí piva lze považovat 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, furfural a fenylacetaldehyd. [36] [39]

1.4.2.2 Hořké kyseliny, silice

Silice a hořké kyseliny přecházejí do piva z chmele, jsou popsány v kapitole 2.2.3.4. Konkrétní zastoupení látek je závislé na použité odrůdě chmele a na zvolené technologii. [11]

1.4.2.3 Stárnutí piva

Stárnutí piva je dynamický biochemický proces, jehož reakce probíhají po celou dobu skladování piva. Látky se v průběhu procesu mění, některé jsou senzorycky aktivní, jiné ne. Koncentrace některých látek roste, až dosáhne maxima, poté se odbourává. Způsobů odbourání je více, látky se mění na jiné nebo se rozpadávají. Reakce mohou být samovolné i enzymatické. Radikálová teorie popisuje poškození piva radikály, které vznikají reakcí kyslíku a například kovových iontů. Vliv má také působení světla na pivo, zejména při skladování. Z hlediska sensorického se složky oxidačního aroma postupně vyvíjejí a zase vytrácejí, v průběhu přeměn jsou některé složky oxidačního aroma senzorycky aktivní, jiné nikoli. Nejdříve se vyvíjejí oxidační chuť a vůně po kartonu, lepence, po černém rybízu nebo po kočce. Dalším pokročením procesu přecházejí do sladkých tónů na sirupovou, medovou až karamelovou. Hořkost postupem času klesá a získává drsnější a více ulpívající charakter. [29]

Obsah antioxidantů v pivu má klíčovou roli na oxidaci a stárnutí piva. V průběhu technologické přípravy piva je třeba co nejvíce zamezit provzdušnění ve fázích, kde není přímo žádoucí. Jedná se zejména o čerpání mrtutí a ponechávání volné hladiny horké

mladiny v pánvi po ukončení chmelovaru, také prodlužování chmelovaru nad 90 minut. Další důležitou operací je z hlediska oxidace stáčení piva. Důležitou roli zaujímají také parametry kvašení a zrání piva. [29]

Indikátorem stárnutí piva jsou vybrané karbonylové sloučeniny, viz výše. [36]

1.5 Senzorická analýza

V potravinářském a nápojovém průmyslu se senzorické hodnocení využívá k vyhodnocení ogranoleptického charakteru zkoumaných výrobků. Významnou pozici zaujímá při uvádění nových výrobků na trh a jako kontrolní mechanismus při hodnocení kvality výrobků na výstupu výrob, neboť mnohé odchylky od standardu kvality jsou senzoricky identifikovatelné. [29]

1.5.1 Specifika senzorické analýzy piva

Senzorická analýza je nedílnou součástí hodnocení piva. Pivo je po chemické stránce velice složitý nápoj a žádná analytická metoda není tak komplexní, jako posouzení lidskými smysly. Senzorický vjem je složen hlavně z vůně a chuti, ale uplatňuje se i zrak. Také hmatový vjem v ústech zaznamenává tzv. říz neboli obsah oxidu uhličitého, a trpkost. Obvykle se posuzuje především celková vyváženost piva, zařazení senzorického profilu piva do pivního stylu odpovídajícímu receptuře a posouzení chutí a vůní jako celku. [29]

1.5.2 Vliv surovin na senzorický profil piva

1.5.2.1 Slad

Slad je zdrojem především sacharidických látek, na základě toho má vliv na senzorický profil piva. [29]

Použité slady

- Slad plzeňského typu má typickou chuť světlého piva. [8]
- Slad vídeňského typu je nositelem výrazné sladové vůně a chuti. [8]
- Slad CaraBelge je charakteristický jemnou karamelovou chutí, tóny sušeného ovoce a oříšků. [8] [26]

1.5.2.2 Voda

Kvalita vody a její složení je důležitý parametr senzorického profilu piva. Nevhodné složení negativně ovlivňuje proces rmutování a kvašení, následkem toho i senzorický profil piva. [29]

1.5.2.3 Kvasinky

Kvasinky umožňují fermentaci, vyrábí alkohol a spotřebovávají extrakt. Negativně se mohou projevit v pozdějších stádiích skladování piva jedním z typů biologické degradace, zvaným autolýza. Následkem vznikají negativní chutě a vůně, jako acetaldehydová a různé druhy sirných chutí. [29]

1.5.2.4 Chmel

Chmel je odpovědný za hořkou chuť a chmelové aroma piva. Ze sensorického hlediska jsou významné chmelové pryskyřice odpovědné za hořkou chuť a silice za příjemné různorodé chmelové aroma. Skupina aromatických chmelů, tzv. flavour hops, se vyznačuje vyšší hořkostí a zároveň vyšším obsahem chmelových silic. Jsou vhodné pro dodání hořkosti i chmelového aroma, pro pozdní i studené chmelení. [29]

Použité chmely

- Magnum je hořká odrůda chmele s průměrným aroma, používaná pro dodání základní hořkosti. [40]
- Cascade je aromatická odrůda chmele s vyváženou hořkostí s velmi výrazným květinovým a citrusovým aroma, často používaná pro chmelení za studena. [38]

Senzorické hodnocení svrchně kvašeného piva typu americký American IPA

American India Pale Ale má plnou chuť a může mít silné chmelové aroma. Pivo má střední sladovou plnost. Chuť i aroma piva je silně chmelová, středně až silně ovocně esterová. Diacetyl není až na velmi malé koncentrace přípustný. Vůně je charakteristická osvěžující chmelová s pryskyřičnými, citrusovými, květinovými a ovocnými tóny. [29]

1.5.3 Podmínky sensorické analýzy piva

Norma ČSN EN ISO 8589 zpracovává všeobecné pokyny pro uspořádání zkušebních místností, ve kterých probíhá sensorická analýza. [39]

1.5.3.1 Sensorická laboratoř

Uspořádání sensorické laboratoře upravuje ČSN EN ISO 8589 Sensorická analýza - Obecné pokyny pro uspořádání sensorického pracoviště [42]. Nesetkáme-li se s úplně ideálními podmínkami, musí být dodrženy minimálně tyto základní principy: [39]

- Průběh bez rušivých vlivů, za známých a kontrolovatelných podmínek
- Musí být minimalizovány rušivé vlivy, které mohou narušit úsudek hodnotitelů
- Vzorky musí být podávány anonymně, je zakázáno v průběhu diskutovat o hodnocení parametrů.

Zkušební místnost

Zkušební místnost obvykle obsahuje dvě řady boxů pro jednotlivé hodnotitele. Každý box by měl obsahovat stůl se židlí, světlo, polici, případně počítač a kohoutek s pitnou vodou. Místnost by měla být vybavena okny s mléčným sklem, podlaha linoleová, která neabsorbuje pachy a tlumí zvuky chůze. Stěny, podlaha a nábytek jsou vhodné světlé a barevně neutrální. Je nutné správné a dostatečné osvětlení místnosti. Je přihlíženo také ke klimatickým podmínkám degustační místnosti, k hodnocení piva je doporučováno 21 °C a přiměřená vlhkost. [39]

Navazující místnosti

Na zkušební místnost dle doporučení normy ČSN EN ISO 8589 přímo navazuje místo pro skupinovou práci hodnotitelů a kuchyňka s přípravným prostorem je přímo propojena se zkušebnou uzavíratelným průchodem. Je vhodné do dalších vedlejších místností umístit kancelář a zasedací místnost, kde probíhá diskuze o vzorcích. Velmi vhodným prostorem je šatna pro uložení nadbytečného oblečení účastníků degustace, je nutné zajistit, aby degustace nebyla ovlivněna cizími pachy z oblečení. [39]

Příprava vzorků

Prostor k přípravě vzorků musí bezprostředně navazovat na zkušební místnost, protože vzorky nesmí být ovlivněny dalším transportem. Prostor musí být větraný, z materiálů, které neabsorbují ani neuvolňují pachy. Přípravna musí být vybavena vhodným nádobím a úložným prostorem, dostatečně prostornou lednicí. [39]

1.5.3.2 Podávání vzorků

Degustační sklenice

Sklo je ideální materiál k degustacím, je inertní vůči pachům, přesto je však nutné použít aromaticky neutrální mycí prostředek. Do laboratorní výbavy se standardně doporučuje k degustaci piva jednak bezbarvé a průhledné sklo dle metodiky EBC, pak také druhý typ nádobí, neprůhledné pohárky, nezbytné pro rozdílová hodnocení. Optimální objem nádob je 200-300 ml. [29] [39]

Množství a teplota vzorku

Dle metodiky EBC a na některé další zkoušky je přiměřené množství vzorku 150 ml. Nejlépe do poloviny sklenice, je nutné, aby v ní zbyl volný objem na zakroužení a na uvolnění voňavých látek nad hladinou. Je vhodné nalévat pivo s minimem pěny, aby se z piva mohly uvolňovat aroma. Ideální teplota piva se pohybuje v intervalu 9-11 °C. [29] [43]

Pořadí vzorků

První se podává vzorek na rozpití, dále obvykle vzestupně podle extraktu původní mladiny; světlá piva se podávají před tmavými, až poté piva speciální. Z hlediska správného úsudku degustátorů jsou vhodné série čtyř až šesti vzorků, hodnotitelé by se měli posouzení vzorků věnovat maximálně hodině v kuse, poté se projevuje únava smyslů, klesá soustředění a tím i správný úsudek. Po hodině je vhodné zařadit přestávku 15-30 min. Z hlediska lepší reprodukovatelnosti výsledků se doporučuje vyhradit degustacím stabilní den v týdnu a stabilní hodinu, zařadit degustace jako nedílnou součást pracovní náplně. Je také nezbytné pracovat v klidu a nespěchat. Tyto zásady souvisí s nastavením biorytmu hodnotitele. [29]

Degustační sousto

Je-li receptor déle stimulován podnětem, nastane adaptace receptoru neboli zahlcení. Receptor pak nedokáže správně vyhodnotit množství nebo dokonce přítomnost

stimulantu. K zamezení nebo alespoň minimalizaci tohoto typu fyziologické únavy se používají degustační sousta. K pivu se doporučuje kombinace pečiva, salámu a sýra. Salám má být nekořeněný, méně slaný a vysoce homogenizovaný. Sýr je doporučený plátkový, nekořeněný a nearomatizovaný, nevhodný je plísňový. Ideální pečivo je neutrální, nesmí být slané ani sladké. Doporučeny jsou rohlíky nebo housky. [30]

Rušivé vlivy

Nejvýznamnějšími rušivými vlivy, které mohou mít negativní vliv na senzorické posouzení vzorku, jsou hluk, pachy, vizuální podněty a znalost identity vzorků. [31]

- Hluk a výměna informací mezi experty: uzavřená místnost, zákaz mluvení, telefonování. Jednotlivé boxy jsou odděleny, na klid dohlíží vedoucí panelu.
- Pachy: v senzorické laboratoři je odsavač pachů, experti jsou poučeni, nejsou výrazně navoněni a dodržují osobní hygienu.
- Vizuální rozptýlení: místnost je vybavená podle ČSN ISO 8589, je neutrální barvy, pohodlné boxy zaručující klid na posuzování. [42]
- Znalost identity vzorku před posuzováním: vzorky jsou kódovány, jejich příprava probíhá v oddělené místnosti. Za účelem zachování objektivity je nutná anonymita vzorků. Hodnotitelé by se měli původ a pořadí vzorků dovědět až na závěrečné diskuzi. [30]

1.5.3.3 Degustační komise (Senzorický panel)

Složením senzorického panelu se taktéž zabývá norma ČSN EN ISO 8586. Dle stupně senzorického vzdělání se rozlišují tři kategorie posuzovatelů: Laičtí posuzovatelé, vybraní posuzovatelé a odborní senzoričtí posuzovatelé. Odborní senzoričtí posuzovatelé, profesionální posuzovatelé prokazatelně ovládají senzorické hodnocení, mají senzorickou citlivost, výcvik a zkušenosti, jsou schopni provádět opakované senzorické posuzování se stabilními výsledky. [42]

Můžeme se setkat také s tím, že v degustační komisi máme speciálně vnímavé členy pro určité jevy, například vnímání diacetylu. Těm pak dáváme přednost v těchto konkrétních případech. [30]

Předpoklady odborných hodnotitelů

Odborní hodnotitelé musí prokázat své fyziologické předpoklady, dostatečně vyvinuté chuťové, čichové a další receptory a psychické předpoklady, především mít ochotu věnovat se hodnocení a umět se přizpůsobit kolektivnímu sjednocování panelu, respektovat metodiku a umět hodnotit vzorky objektivně. Zkouška je vedena také dle normy ČSN EN ISO 8586. [30] [42]

Vedení senzorického panelu

Vedoucí, stejně jako ostatní posuzovatelé, se podílí na hodnocení vzorku. Kromě této standardní činnosti připravuje časový harmonogram testu, řízeně podává informace o vzorku tak, aby ve správné míře napomohl hodnocení a zároveň zachoval anonymitu vzorku. Po ukončení degustace může následovat diskuze, která má za cíl zkvalitňování senzorického panelu. [30] [42]

1.6 Principy použitých analytických metod

1.6.1 Chemická analýza

1.6.1.1 Základní analýza piva

Potenciometrické stanovení pH

Hodnota pH je záporná hodnota logaritmu koncentrace vodíkových iontů v molech na litr v roztoku. Koncentrace analytu se v potenciometrii stanovuje pomocí napětí, které je vlivem složení roztoku vytvořeno na indikační elektrodě, jejíž potenciál je závislý na aktivitě stanovované látky v roztoku. Ta je spojena s referenční elektrodou analyzovaným roztokem, tedy solným můstkem. Referenční elektroda je za daných podmínek konstantní, nezávisle na změnách koncentrace stanovované látky. Kvůli závislosti na teplotě je přidáno teplotní čidlo. Měření je prováděno pod prahovým napětím bez průtoku proudu.

Měření pH skleněnou elektrodou využívá vlastnosti skleněné membrány, na které se tvoří potenciál, jehož velikost závisí na koncentraci vodíkových iontů. Podle metodiky EBC 9.35. [44] [37]

Obsah alkoholu, extraktu, stupně prokvašení a energetické hodnoty metodou denzitometrickou a NIR

Extrakt původní mladiny

Denzitometricky je změřena hustota roztoku. Obsah alkoholu je změřen blízkou infračervenou spektrometrií (714-2500 nm), kde má své maximum. Na základě těchto údajů se vypočítá pomocí Ballingova vzorce extrakt původní mladiny a následně další hodnoty. [45] [46]

$$p = \frac{100 \cdot (2,0665A + E_s)}{100 + 1,0665A} [\%] \quad (1)$$

kde p je původní extrakt mladiny, E_s je hmotnostní procento skutečného extraktu piva (po korekci obsahu alkoholu). [19] [47]

Extrakt mladiny

Extrakt původní mladiny m_E se měří v hmotnostních procentech neboli ve stupních Plato. Zdánlivý extrakt je vypočten pouze z rozdílu hustoty vzorku a destilované vody. [45] [37]

$$m_E = \frac{\rho_r - \rho_v}{\rho_r} \quad (2)$$

kde ρ_r je hustota roztoku a ρ_v je hustota destilované vody.

Pro přesnější výsledky se využívá započtení korekce obsahu alkoholu, čímž se zjistí původní obsah extrahovaných látek. Tato veličina je nazývána skutečný (nezkvašený) extrakt a vyjadřuje ji Ballingův vzorec.

$$m_E = \frac{100 \cdot (2,0665 \cdot m_A + m_{ES})}{100 + 1,0665 \cdot m_A} \quad (3)$$

kde m_A je hmotnostní zlomek alkoholu a m_{ES} je hmotnost skutečného nezalkvašného extraktu. Procentuální zastoupení skutečného extraktu je pak vztaženo k hmotnosti roztoku. [45] [37] [48]

Alkohol

Alkohol objemový je přímo změřen pomocí blízké infračervené spektrometrie. Alkohol hmotnostní m_A je pomocí hustoty přepočítán z objemového. [45] [37] [48]

Prokvašení

Zdánlivé prokvašení je procentuální vyjádření úbytku naměřeného extraktu oproti dosažitelnému stupni prokvašení. Skutečné prokvašení je procentuální vyjádření úbytku naměřeného extraktu oproti původnímu, zde je také započtena korekce obsahu alkoholu. [45] [37] [49]

Stanovení hořkosti UV-VIS dle metody EBC 9.8

Metodou UV-VIS jsou stanoveny α -hořké kyseliny, v hodnotě mohou být ale naměřeny i další látky. V měřeném spektru naopak zjistíme obsah jen některých β -hořkých kyselin. [50]

Spektrofotometrie UV-VIS

Pomocí monochromatického záření v oblasti ultrafialového a viditelného světla lze kvalifikovat a kvantifikovat mnoho chemických sloučenin.

UV-VIS spektrofotometr patří mezi konstrukčně jednodušší analytická zařízení. Zdroj polychromatického záření je pomocí soustavy čoček a zrcadel monochromatizován. Monochromatický paprsek prochází vrstvou analytu o dané tloušťce. Paprsek procházející analytem je porovnán s paprskem, který prošel referenčním prostředím. Při výpočtu je tedy od hodnoty absorbance analyzovaného vzorku odečtena absorbance vzorku referenčního prostředí.

Výpočet obsahu stanovovaného analytu je proveden pomocí Lambert-Beerova zákona:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (4)$$

kde ε je molární dekadický absorpční koeficient, který je charakteristický pro každou stanovovanou látku; c je výsledná koncentrace analytu; d je tloušťka vrstvy, kterou prozáří paprsek o charakteristické vlnové délce; A je absorbance.

Absorbance je dekadický logaritmus poměru intenzity monochromatického záření vstupujícího do analyzovaného prostředí a záření vystupujícího z měřeného prostředí: [52]

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right) \quad (5)$$

1.6.1.2 Atomová absorpční spektrometrie, stanovení obsahu vybraných kovů

AAS je vhodná pro kvantitativní analýzu přibližně 60-70 převážně kovových prvků. Metoda je optická, založená na měření absorpce elektromagnetického záření v rozmezí vlnových délek 190-850 nm. Při kvantitativním stanovení jednotlivých kovů se používají monochromatické lampy. Atomizace analyzovaného vzorku probíhá v plameni, do kterého je zavedena směs paliva, okysličovadla a vzorku. Palivo před smísením s okysličovadlem prochází zmlžovačem.

Zdrojem elektromagnetického záření jsou lampy o specifickém složení emisního elektromagnetického spektra. Na atomizovaný vzorek působí elektromagnetické záření o určité vlnové délce. Vzorek absorbuje část elektromagnetického záření k excitaci atomů. Záření, které nebylo pohlceno, prochází dále k fotocitlivé vrstvě, vznikající elektrický signál je převeden k fotonásobiči a zaznamenán.

Intenzita záznamu vzorku se porovnává s kalibrační přímkou nebo s vnitřní kalibrací. Výpočet obsahu analytu probíhá pomocí Lambert-Beerova zákona a spektrofotometrické metody UV-VIS, která je popsána výše. [43] [52]

1.6.1.3 HPLC-UV ke stanovení hořkých látek a dusičnanů

Vysoce účinná kapalinová chromatografie je jednou z nejčastěji používaných a nejúčinnějších separačních metod. V chromatografické koloně dochází k selektivní distribuci analytů mezi dvě nemísitelné fáze, mobilní a stacionární. Látky ve vzorku mají různý vztah k oběma fázím, následkem toho jsou některé zadržovány více a některé méně. Tento vztah vyjadřuje distribuční konstanta K_D , kde c_s je koncentrace daného analytu ve stacionární fázi a c_m koncentrace daného analytu ve fázi mobilní. Jev je vyjádřen vztahem:

$$K_D = \frac{c_s}{c_m} \quad (6)$$

Kvalitativní charakteristika separovaného analytu je určena retenčním časem t_r . Je to čas od nástřiku vzorku po maximum píku, kvantita je určena plochou píku. Mrtvý retenční čas t_0 je čas složky, která není v koloně nijak zadržována, odpovídá tedy době průtoku čisté mobilní fáze. Redukovaný retenční čas t'_r je kvalitativní charakteristika analytu bez započtení mrtvého času. Vztah je vyjádřen rovnicí:

$$t'_r = t_r - t_0 \quad (7)$$

Účinnost kolony je bezrozměrná veličina značená N . Je závislá na konstantou násobeném kvadratickém poměru retenčního objemu V_R a šířky píku v základně w . [51]

$$N = konst \cdot \left(\frac{V_R}{w} \right)^2 \quad (8)$$

μ -HPLC je výrazně rychlejší, ale méně přesná než klasická vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Tyto vlastnosti vycházejí z odlišnosti konstrukce chromatografické kolony, kolona je především kratší. UV-VIS spektrofotometrie již byla popsána výše.

Instrumentace kapalinového chromatografu

Kapalinový chromatograf se skládá z osmi základních částí: zásobník mobilní fáze, odplynovač, směšovač mobilní fáze a vzorku, vysokotlaké čerpadlo, dávkovač, kolona, detektor a stanice ke zpracování dat.

Mobilní fázi je obvykle třeba odplynit, protože uvolňování bublinek z mobilní fáze způsobuje kolísání tlaku v koloně. To má za následek neopakovatelné retenční časy a snížení citlivosti detekce. Odplynění má několik technologických variant, například var za sníženého tlaku, ultrazvuk nebo probublání inertním plynem. [51]

Vzorek je dávkován do proudu mobilní fáze a unášen kolonou, kde dochází k separaci analytů v závislosti na rozdílné interakci k mobilní a stacionární fázi.

Chromatografická kolona se skládá obvykle z kovového pláště a stacionární fáze. Délka kolony je obvykle 10-300 mm, vnitřní průměr bývá 2,1-5 mm. Stacionární fáze je složena z částic o velikosti 1-10 μm . [51]

Používají se stacionární a mobilní fáze různé polarity, obvykle je jedna z fází polární a jedna nepolární. Pro stacionární fázi jsou typické substituované siloxany, pro mobilní různá rozpouštědla, případně jejich směs nebo ultračistá voda.

Analyt je detekován na základě rozdílu intenzity signálu čisté mobilní fáze a intenzity signálu z kolony v retenčních časech.

Analytické detektory dělíme na destruktivní a nedestruktivní. Z destruktivních je častý tandem s hmotnostní spektrometrií. Mezi nedestruktivní řadíme například spojení s UV-VIS detektorem. Výhodou této možnosti je, že za tímto detektorem může následovat další, neboť analyt není pozměněn. [51]

1.6.1.4 Stanovení silic a karbonylů metodou GC-MS

Spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie zajišťuje velmi kvalitní výsledky. Plynová chromatografie zajišťuje velmi účinnou separaci a hmotnostní spektrometrie přesnou detekci separovaných složek.

Společně s HPLC patří mezi nejužívanější separační metody. Je velmi vhodná k analýze plynných, nízkomolekulárních a těkavých látek, protože snadno přecházejí do plynného stavu. Prakticky se plynová chromatografie využívá především k separaci organických látek s nižším bodem varu.

Separace pomocí plynové chromatografie

Separace v koloně plynového chromatografu probíhá na základě rozdílného vztahu analytu k stacionární fázi, k fázi mobilní je analyt narozdíl od kapalinové chromatografie inertní.

Základní části plynového chromatografu

Plynový chromatograf se skládá z několika základních částí: zásobník mobilní fáze, termostat, směšovač mobilní fáze a vzorku, dávkovač, kolona, detektor a stanice ke zpracování dat.

Zásobník plynné fáze musí obsahovat plyn inertní vůči složkám analytu. Z fyzikálních vlastností je důležitá vhodná hustota a viskozita.

Termostat zajišťuje regulaci příkonu tepla v prostoru kolony dle nastaveného teplotního programu. Zvýšení teploty způsobí zvýšení tlaku par analytů a snížení retenčního času.

Zařízení k regulaci tlaku – tlak má vliv na kvalitativní i kvantitativní analýzu, proto je potřeba přesně držet tlak i průtok dle návrhu experimentu. K efektivitě provedení je velmi účinné vytvoření tlakového spádu před kolonou.

Účelem dávkovacího zařízení, dávkovače neboli injektoru je zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Správné provedení operace přímo ovlivňuje přesnost výsledků. Nesmí ovšem ovlivnit podmínky v koloně, protože operace musí být reprodukovatelná. Nejčastěji je vzorek vpraven injekční stříkačkou přes pryžové septum.

Plynová chromatografie využívá dvou typů kolon, kapilární a náplňové. Kapilární kolony jsou určeny pro menší objem průtoku a kolona je dutá, stěna je pouze potažena specifickou vrstvou. Stacionární fáze náplňové kolony je vyrobena obdobně, jako náplň kolony do kapalinového chromatografu, z částecek o různé polaritě.

Detekce analytu probíhá kontinuálně na základě změn detekované veličiny v mobilní fázi oproti čistě mobilní fázi. Detektor je volen na základě několika klíčových vlastností, mezi které patří zejména citlivost, šum signálu, odezva, hmotnostní průtok mobilní fáze s analytem. Velkou výhodou jsou rychlá odezva a vysoká citlivost detektoru.

Posledním článkem je zařízení k zaznamenání a zpracování signálu. Jako vyhodnocovací zařízení slouží počítač se specializovaným softwarem. [54]

Detekce pomocí hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je destruktivní analytická metoda. Analyty se ionizují, při čemž se dělí na menší molekuly a dále se separují na základě poměru m/z . Díky tomu může být určena molekulová hmotnost, zároveň jsou díky fragmentům získány informace o struktuře.

Hmotnostní detektor se skládá z iontového zdroje, analyzátoru, samotného detektoru a datasytému. Nezbytný je vakuový systém, který zajistí dostatečně nízký tlak vnitřního prostředí zařízení. Po vstupu do hmotnostního spektrometru dochází k převedení analytu na ionty. Ionizace má několik technologických provedení, časté způsoby jsou elektrosprej, chemická ionizace za atmosférického tlaku, foto ionizace za atmosférického tlaku, u pevných vzorků se používá technika MALDI. Ionizované elektrony jsou separovány v analyzátoru na základě poměru hmotnosti iontu a jeho náboje. Analyzátoři jsou schopné tuto charakteristiku rozlišit. Existují různé konstrukce, častou volbou je kvadrupólový analyzátor.

Ionty prošlé analyzátořem dopadají na detektor, generuje se elektrický proud, ten dále prochází přes elektronový násobič, který slouží jako zesilovač signálu. Konečná měřená veličina je změna napětí. [55]

1.6.2 Senzorická analýza

Při senzorickém hodnocení piva se zpravidla postupuje podle postupu uvedeném v následující tabulce.

Tabulka 9: Schéma postupu při senzorickém hodnocení piva [31]

Krok		Deskriptory	Poznámka
0	Nalítí vzorku		Nemíchat, maximálně minutu před předáním hodnotiteli
1	Přičichnutí z větší dálky	Základní aroma – chmelové, kvasnicové, ovocné; případná závažná vada	
2	1. napití	Říz	Cyklus čtyř napití lze vrátit a opakovat
3	2. napití	Plnost	
4	3. napití	Hořkost a její podrobnější deskriptory	
5	4. napití	Trpkost, sladkost, kyselost	
6	Zamíchání		
7	Přičichnutí a napití	Podrobný profil vůně po opadnutí pěny	

1.6.2.1 Vybrané základní senzorické charakteristiky piva

Říz

Řízem se rozumí vjem mechanoreceptorů a receptorů bolesti v ústech, které reagují na perlivost piva způsobenou změnu rovnovážného stavu koncentrací oxidu uhličitého a kyseliny uhličitě, který se v tomto případě mění ve prospěch kyseliny uhličitě. Na vnímání řízu se podílí také způsob vazby oxidu uhličitého na další látky v pivu, dále obsah koloidů, fosfátů a pH piva. V ideálním případě je vjem řízu piva osvěžujícího charakteru, avšak příliš silný říz bývá hodnocen negativně. [31]

Plnost

Pocit plnosti piva lze přirovnat k hutnosti nebo „chlebnatosti“. Pivo označované jako málo plné vyvolává pocit prázdne, vodnaté chuti. Piva s vyšší plností bývají ta s vyšším obsahem původního extraktu v mladině, piva méně prokvašená nebo piva s vyšším podílem zbytkových sacharidů. U piv vyšší stupňovitosti je stupeň prokvašení částečně kompenzován vyšším obsahem alkoholu. Za plnost piva jsou z velké části odpovědné také dusíkaté látky o vyšší molekulové hmotnosti (nad 10 kDa). Senzorické ohodnocení plností tak nemusí vždy korelovat se stupněm původního obsahu extraktu v mladině. [31]

Trpkost

Trpká chuť je vnímána obdobně jako hořká, je ale mnohem více svíravá. Po senzorní stránce za ní stojí polyfenolické sloučeniny, které mají svůj původ převážně ve sladu. Vjem je vysvětlován vznikem komplexu fenolické látky a peptidu v ústech, který vyvolává vjem na mechanoreceptoru navázaném na trojklanný nerv. [52] [31]

Chuť

Sladká

Sladká chuť v pivu má několik možných původců. Hlavními jsou cukry, tedy jednoduché sacharidy vyvolávající sladký vjem v ústech. Sladká chuť je způsobena zejména nezkrvašenými sacharidy, často oligosacharidy maltoriosu a maltotetrosu. Některá piva mohou být přislazována umělými nebo přírodními sladidly. U málo prokvašených piv se ve velké míře projevují peptidy, estery, vyšší alkoholy a karbonylové látky. [31]

Kyselé

S výjimkou některých speciálních typů piv není výrazná kyselost žádoucí. Kyselé chuť je způsobena z většiny obsahem nižších mastných kyselin, například mléčné, citronové, jablečné, octové, šťavelové, jantarové nebo glutarové. Nižší pH piva nemusí nutně znamenat vyšší senzorickou kyselost. [49] Vnímání kyselé chuti může být maskováno nižším stupněm prokvašení piva. [31]

Hořká

U hořkosti hodnotíme intenzitu, vývoj hořkosti a charakter. Intenzita hořkosti je komplexní vjem, nezahrnuje pouze obsah hořkých kyselin v pivu. Jednotlivé látky se liší svojí mírou hořkosti, navíc může docházet k synergickým a antagonistickým efektům ve spojení s dalšími sloučeninami obsaženými v pivu. Dusíkaté látky, které nebyly dobře odseparovány při stáčení piva v usazeném hrubém kalu, navyšují intenzitu hořkosti. [53] [54] [31]

Vývoj hořkosti piva má charakteristický průběh. Po nabrání do úst a polknutí následuje fáze kulminace hořkosti, vjem hořkosti ještě stoupá přibližně 15 s. Následně se intenzita vjemu postupně zeslabuje, tato fáze se nazývá dozívání hořkosti. [31]

Charakter hořkosti se posuzuje na stupnici od velmi jemného po drsný a ulpívající. Je posuzován celkový senzorický vliv charakteru hořkosti na celkový senzorický dojem piva, má úzkou souvislost s typem piva a charakterem dané značky. [31]

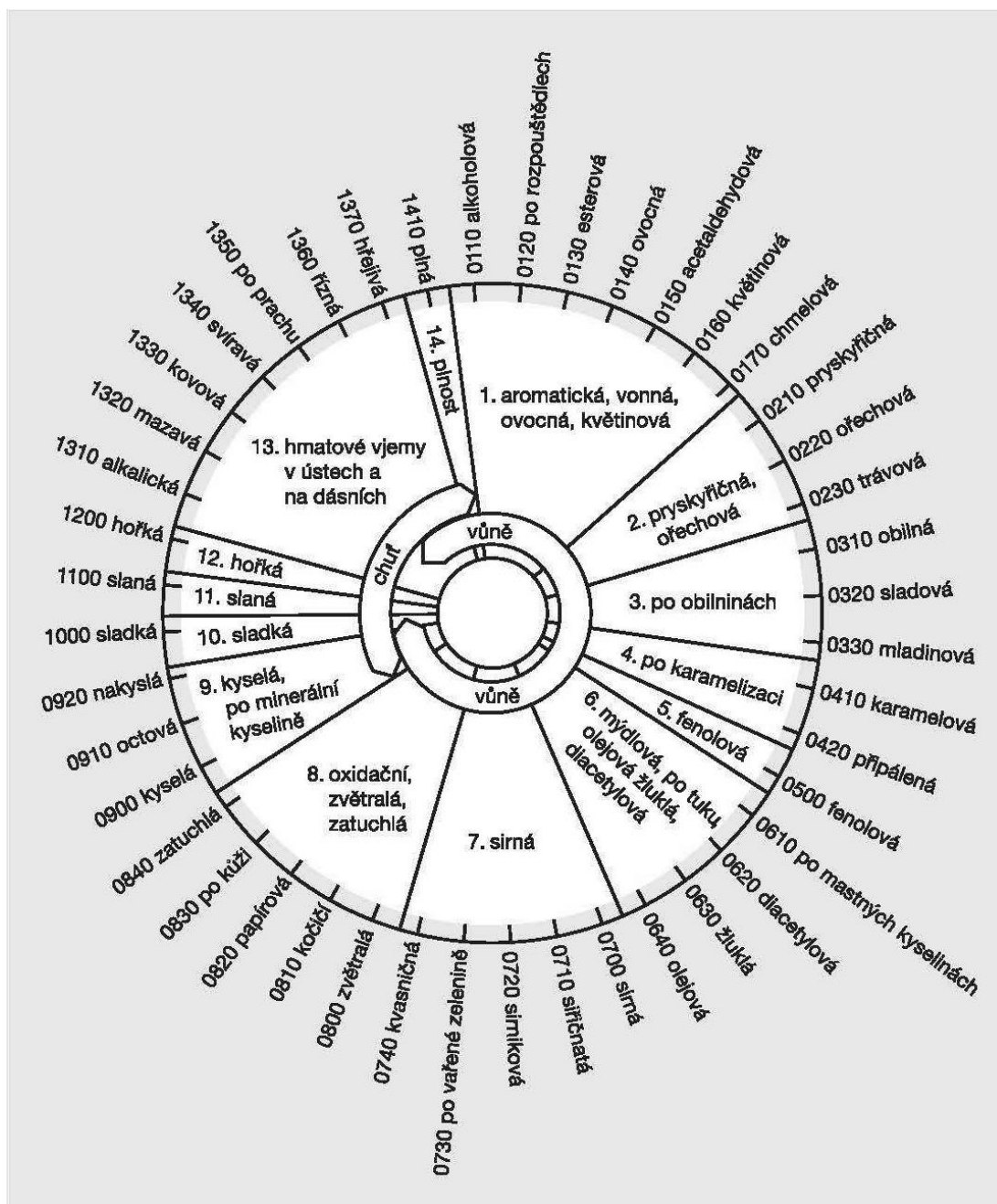
Vůně, aroma, „flavor/flavour“

Vůně je vjem zachycený při přičichnutí, jedná se o posouzení plynné složky vzorku, která se uvolňuje nad hladinu. Oproti tomu aromatem v senzorické analýze rozumíme vjem, který zachytí čichový orgán po polknutí nápoje, tedy přecházejí z dutiny ústní do dutiny nosní. Pro český ležák jsou charakteristické 4 základní vůně, a to chmelová, esterová/ovocná, kvasničná a karamelová. Svrchně kvašená piva, která často obsahují původem americké chmely, mívají rozmanitější aroma a flavour. [31]

1.6.2.2 Charakteristika deskriptorů, systém kruhového schéma EBC

Systematický přehled chutí a vůní piva byl vyvinut v osmdesátých letech minulého století pod pojmem kruhové schéma EBC. Tento unifikovaný systém je používán odborníky po celém světě. Deskriptory jsou rozděleny do čtrnácti základních chutí a vůní, ve kterých je dále specifikováno 44 nadřazených a 78 podřadných termínů. Z toho množství termínů jsou zde popsány ty stěžejní. Základní principy metodiky EBC jsou: [37] [31]

- Každý samostatně identifikovatelný vjem má vlastní název
- Podobné vjemy jsou umístěny společně
- Jsou vyloučeny duplicitní vjemy (až na 5 definovaných výjimek)
- Termíny, které jsou vnímány subjektivně, nejsou zahrnuty (např. dobrý, vyvážený, nevyrovnaný)
- Většina těchto vjemů je určena snadno dostupným srovnávacím standardem nebo definovaným postupem přípravy [53]



Obrázek 4: Kruhové schéma EBC vyjadřující stěžejní chutě a vůně piva [13]

V následující části jsou deskriptory metodiky EBC popsány stručně, metodika EBC potom uvádí podrobnější vysvětlení.

Třída 1. Aromatická, vonná, ovocná, květinová

Esterová, ovocná, alkoholová, po rozpouštědlech

Tyto chutě jsou způsobeny vysokým obsahem esterů nebo alkoholů, které vznikají přirozenou cestou v průběhu kvašení. Nejvýznačnějšími původci jsou ethylacetát, isoamylacetát, estery máselné a hexanové kyseliny. [31]

Acetaldehydová

Acetaldehyd je přítomen ve větší míře v mladém pivu, ale v průběhu dokvašení se odbourává. Acetaldehydové aroma vzniká vlivem bakteriální infekce. Při podprahovém množství může být vnímáno synergicky s dalšími estery. [31]

Chmelová

Chmelové aroma se týká širokého spektra chmelových silic a hořkých kyselin. Piva se zvýrazněným chmelovým aroma mívají pro hodnocení této senzorké oblasti vlastní systém hodnocení. Pro zachování spektra silic se přidávají až před koncem chmelovaru, nebo až po skončení chmelovaru. Chmelové aroma se v průběhu stárnutí piva vytrácí. [31]

Literatura popisuje pro jednodušší hodnocení čtyři základní skupiny chmelových aromat, ovocné, bylinné, pryskyřičné a ostatní. Na aromatické chmely je však lépe aplikovatelné podrobnější dělení, popsané v následující tabulce.

Tabulka 10: Klasifikace chmelových aromat [59]

Skupina aromat	Aromata
Mentolová	Máta peprná, meduňka, šalvěj, kovová, kafr
Čajová	Zelený čaj, heřmánek, černý čaj
Zelené ovoce	Hrušky, kdoule, jablko, angrešt, esterová, „koňakový olej“ (z hroznů)
Citrusová	Grapefruit, pomeranč, limetka, citron, bergamot, citronová tráva, zázvor
Svěží zeleň (trávnová)	Zelená tráva, rajčatový list, paprika
Zeleninová	Celer, pórek, cibule, artyčoky, česnek
Smetanová, karamelová	Máslo, čokoláda, jogurt, perník, med, smetana, karamel, káva
Dřevitá, aromatická	Tabák, koňak, barik, kůže, tonkový bob, svízel, pryskyřice, kadidlo, myrta
Kořenitá, bylinná	Maggi, černý pepř, chilli, kari, jalovec, majoránka, estragon, kopr, levandule, anýz, lékořice, fenykl
Červené bobule	Černý rybíz, borůvky, maliny, ostružiny, jahody
Sladké plody	Banán, vodní a ananasový meloun, broskve, meruňka, mučenka, sušené ovoce, švestka, ananas, bílé želé
Květinová	Heřmánkový květ, konvalinka, jasmín, jablonoňový květ, růže, pelargonie

Třída 2. Trávová, listová, slámová, po seně, pryskyřičná, oříšková

Původcem těchto vůní je použití špatně skladovaných sladů. Trávové a pryskyřičné vůně také patří mezi aroma některých chmelových odrůd. [31]

Třída 3. Obilná

Obilná, po pluchách, moučná

Tato aroma jsou způsobena zvýšeným obsahem hydroxylových a karbonylových látek. [53] [54] [31]

Sladinová, mladinová

Příčin těchto aromat je více. Literatura zmiňuje vyšší teplotu při rmutování (82–83 °C) [15] nebo nízký odpar při varu mladiny, případně nízký stupeň prokvašení mladiny. Toto aroma může být propojeno se sytější barvou piva, prázdnější chutí a nižším řízem piva. [31]

Třída 4. Karamelová, pražená

Karamelová

Tmavší piva často vykazují karamelové aroma. Použití pražených sladů je spojeno s přítomností některých charakteristických heterocyklických látek, příčinou může být také tepelný rozklad sacharidů při varu mladiny. [31]

Připálená

Připálená chuť a vůně vzniká při varu rmutů a při chmelovaru, pokud je rozdíl teplot mezi dílem a stěnou nádoby příliš vysoký. [31]

Kouřová

Některá speciální piva se vyrábí z nakuřovaných sladů, pak je kouřové aroma cílená součástí piva. [31]

Třída 5. Fenolová

Fenolová, chlorfenolová, karbolová, medicínální

Zdrojem těchto nepříjemných přípachů bývá použití chlorované vody nebo chybný postup sanitace prostředky, které obsahují halogeny a reagují s fenoly přirozeně se vyskytujícími v pivu. Další možností vzniku je bakteriální kontaminace. [31]

Hřebíčková

Hřebíčkové aroma bývá u některých typů piv hodnoceno pozitivně. Dokresluje charakteristické aroma pšeničného piva. [31]

Třída 6. Mýdlová, mastná, diacetyl, olejová, žluklá

Diacetylová, po másle

Diacetyl vzniká jako meziprodukt metabolismu aminokyselin kvasného kmene, nicméně během ležení je odbouráván a v hotovém pivě klesá jeho koncentrace pod práh vnímání. Diacetyl také produkují bakterie rodu *Lactobacillus* nebo *Pediococcus*. [31]

Mýdlová, po vosku, po oleji, po mazivech, po tuku, po sýru, žluklá, zatuchlá, fekální

Vznikají následkem zvýšené koncentrace nižších až středně velkých mastných kyselin. Technologickou příčinou může být například zanechání velkého množství kalů v mladině, pokročilá autolýza kvasnic nebo bakteriální infekce. [31]

Třída 7. Sirná

Po sirovodíku, po zkažených vejcích

Vznikají přirozenou metabolickou degradací aminokyselin obsahujících síru. Z piva odchází společně s dalšími kvasnými plyny. [31]

Sirná, po vařeném zelenině, po dimethylsulfidu, cibulová

Původ těchto vůní je velmi rozmanitý. Může se jednat o zvýšený obsah sirných sloučenin v surovinách (pesticidy, sírany ve vodě) nebo o bakteriální infekci. [31]

Merkaptanová, po svítíplynu

Thioly (dříve merkaptany) mají charakteristický zápach po svítíplynu. [31]

Světelná, letinková

Tento negativní přípach vzniká působením složek viditelného světla pod 550 nm, fotochemickou reakcí iso- α -kyselin a látek obsahujících síru. [31]

Kvasničná

Kvasničný přípach poukazuje většinou na závadu technologického procesu. U některých piv je jemné kvasničné aroma žádoucí, avšak mají-li tato piva hrubší kvasničný charakter, jedná se o negativně hodnocený jev. [31]

Autolyzační

Piva znehodnocená autolýzou kvasinek obsahují vyšší množství aminokyselin, peptidů, nukleových kyselin, vitamínů a enzymů. Samo autolyzační aroma je způsobeno některými sirnými sloučeninami [13] a některými nižšími mastnými kyselinami.

Třída 8. Oxidační, stará, plesnivá

Oxidace piva se týká široké škály látek. Může vzniknout v průběhu celého procesu od použití zoxidovaných surovin až po skladování piva, nicméně za nejvíce rizikový je považován proces stáčení. [31]

Oxidační, pasterizační, stará

Typickými zástupci jsou zde C₅–C₁₂ karbonylové sloučeniny, které jsou odvozené od mastných kyselin. [31]

Papírová, po lepence

Za papírové a lepenkové chutě a vůně je odpovědných několik aldehydických látek. [31]

Po kočce, po černém rybízu, po plísni, zemitá

Za aroma, které je cítit jako po kočce, stojí látka *p*-methan-8-thion-3-on. Plísňové aroma pochází od chloranisolů, které pocházejí ze zaplísňených sladů, případně kontaminovaných stáčecích nádob. [31]

Třída 9. Kyselá, octová

Kyselá, nakyslá, octová

Chuťové vjemy spojené s kyselou chutí jsou zpracovány v kapitole 2.6.2.1.

Třída 10. Sladká

Chuťové vjemy spojené se sladkou chutí jsou zpracovány v kapitole 2.6.2.1.

Třída 11. Slaná

Chlorid sodný má práh vnímání $0,2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. V pivu může být přítomen vlivem vody nebo sladu. [31]

Třída 12. Hořká

Hořká příchut' bývá obvykle popisována zvlášť a podrobněji než ostatní chutě, nebývá zařazována mezi cizí aroma piva. [31] Vnímání hořké chuti je podrobně zpracováno v kapitole 2.6.2.1.

Třída 13. Hmatový vjem v ústech a na dásních

Alkalická

Nedokonalé vymytí alkalického detergentu z lahví může způsobit alkalickou příchut', která má dále vliv i na další chuťové vlastnosti piva. [31]

Kovová

Za kovovou příchut' je z části odpovědné železo, senzory aktivní je pouze dvojmocné. Kovové aroma také vykazují některé organické sloučeniny. [31]

Adstringentní, trpká, svíravá

Je vyvolána synergickým působením fenolů a proteinů na chuťové papily. [31]

Hřejivá

Z velké části se na hřejivém pocitu podílí ethanol, který má dolní prahovou hodnotu vjemu 1,4 %, dále některé vyšší alkoholy. [31]

Třída 14. Plnost

Chuťové vjemy spojené s plností jsou zpracovány v kapitole 2.6.2.1.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použitý materiál

3.1.1 Použitá zařízení

3.1.1.1 Technologická příprava vzorků a pomocné přístroje

- Váha s přesností na 0,01 kg (Sartorius)
- Laboratorní váhy s přesností na 1 g
- Laboratorní váhy s přesností na 0,1 g
- Magnetické míchadlo MR Hei-Mix S (Heidolph)
- Třepačka na zkumavky Zx³ (P-LAB a.s.)
- Destilační aparatura – BÜCHNI Distillation Unit K-350 (BÜCHNI)
- Laboratorní třepačka (Karel Dvořáček)
- Analytické váhy (AND A&D Company; Limited)
- Ultrazvuk (TESLA)
- Přístroj pro přípravu ultračisté vody MILLI Q RG (Millipore)

3.1.1.2 Analytické přístroje a programy zpracující data

- **Základní analýza obsahu extraktu, alkoholu, stupně prokvašení a množství energie:** Anton Paar DMA 4500; DMA 4500 – Hyper Terminal
- **Stanovení pH:** Metter Toledo (stanovení pH)
- **Stanovení silic, karbonylů:** Thermo Electron Corporation: Tri Plus (sampler), Trace GC Ultra, DSQ II (hmotnostní spektrometr); Thermo Xcalibur Qual Browser
- **Stanovení hořkosti spektrofotometricky:** Specord[®] 200 PLUS (stanovení hořkosti); WinASPECT PLUS
- **Stanovení hořkých kyselin:** Agilent Technologies 1260 Infinity II; HPLC-Acquisition
- **Stanovení dusičnanů:** Thermo Fisher Scientific Dionex Ultimate 3000 RS Pump UHPLC⁺ Focused; Chromeleon 7
- **Stanovení rtuti:** AMA 254 Advanced Merkury Analyser (stanovení rtuti); AMA Analysis
- **Stanovení kadmia, olova, železa a mědi:** Sestava Varian: Ultra A Boosted Lamp Supply, AA240 FS Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer, GTA 120 Graphite Tube Atomiser (); AA 240FS

3.1.2 Použité chemikálie a suroviny

3.1.2.1 Technologická příprava vzorku

- Pivo Cascade IPA (Létající pivovar Pivečka)
- Chmel Cascade pelety 100
- Desinfekce – hydroxid sodný k přípravě 2% roztoku (Lach-ner)
- Doslazení – Maltosa k přípravě roztoku o koncentraci 2 g·l⁻¹ (Ogar)

3.1.2.2 Chemikálie k senzomické analýze

Standardní roztoky

- 4-ethylfenol (Sigma Aldrich)
- Dusičnan rtuťnatý (CetiPUR)
- Ostatní kovové kontaminanty: Kadmium, olovo, železo a měď (CetiPUR)
- Dusičnan amonný (Merck KGaA)
- Konduktometrická hodnota: mezinárodní kalibrační extrakt ICE 3
- Hořké kyseliny: Iso Alfy: DHCA-Iso, ICS-I3 62,3 % (Labor Veritas), International Calibration Standard Extract ICE3, total alfa 44,64, total beta 24,28 (Labor Veritas)
- Standardy ke stanovení karbonylů: Acetaldehyd (Merck), Aceton (Scharlau), 2-methylpropanal (Sigma Aldrich), 3-methylbutan-2-on (Sigma Aldrich), 2-methylbutanal (Sigma Aldrich), 3-methylbutanal (Sigma Aldrich), t-2-butenal (Sigma Aldrich), Hexanal (Sigma Aldrich), 2-furfuraldehyd (Sigma Aldrich), Heptanal (Sigma Aldrich), Oktanal (Sigma Aldrich), 3-fluorobenzaldehyd (interní standard; (Sigma Aldrich), Benzaldehyd (Sigma Aldrich), Fenylacetaldehyd (Sigma Aldrich)
- Standardy ke stanovení silic: α - a β -pinen (Sigma Aldrich), Limonen (Sigma Aldrich), Myrcen (Sigma Aldrich), Linalool (Sigma Aldrich), β -karyofylen (Sigma Aldrich), 4-terpineol (Sigma Aldrich), β -farnesen (Sigma Aldrich), β -ion (Sigma Aldrich), β -karyofylenepoxid (Sigma Aldrich), Farnesol (Sigma Aldrich)

Ostatní chemikálie

- Methanol (Honeywell)
- Hexan (Honeywell)
- 2,2,4-trimethylpentan (Honeywell)
- Dichlormethan (Sigma Aldrich)
- hydrochlorid o-(2,3,4,5,6-pentafluorbenzyl)hydroxylaminu (PFBOA·HCl) (Sigma Aldrich)
- Thiosíran sodný (Sigma Aldrich)
- Standardy látek v čistém stavu k analýze karbonylů a těkavých látek (Sigma Aldrich)
- Silicon Anti-Foaming Agent (Merck KGaA)
- Kyselina sírová (Merck KGaA)
- Fosforečnan sodný (Merck KGaA)
- Kyselina chloristá (Merck KGaA)
- Kyselina chlorovodíková 35 % (Merck KGaA)
- Octan olovnatý (Merck KGaA)
- Ethanol (Lach-ner)
- DuraCal Buffer pH 7,00 a 4,01 (Hamilton)
- Dusík (Air Products)
- Acetylen (Air Products)
- Helium (Air Products)

3.1.3 Další pomůcky

3.1.3.1 Technologická příprava vzorku

- Sudy 30 l
- Pípa
- 30 l kvasná nádoba na ležení standardu a stáčení standardu i vzorků
- 4 barely 50 l na ležení vzorků
- Hadice na dno barelu
- Stáčecí tyčinka na plnění lahví
- Stříkačka na aplikaci maltosového roztoku
- Pivní lahve 0,5 l hnědé
- Zátky na lahve

3.1.3.2 Chemická analýza vzorku

- Běžné laboratorní nádobí
- Hořké kyseliny - HPLC 125/4 Nucleodur 100-5 C18 ec (délka 100 m, vnitřní průměr 4 mm, velikost částic 5 µm, enkapovaná)
- Silice - Teflonový filtr, kolona Extrelut[®] NT 20 (IKA[®] RET)
- Filtrační papír – Grade 1289
- Dusičnany – kovová chromatografická kolona Separon HEMA BIO 1000 Ω (3x150 mm, 10 µm, Tessek)
- Karbonyly a silice a další těkavé látky v chmelu – kapilární kolona TR-WAX MS (délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, velikost částic 0,25 µm; výrobce TRACE[™])
- Silice a další těkavé látky v pivu – kapilární kolona RTx-5Sil MS Integra Guard (délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, velikost částic 0,25 µm; výrobce Restek)

3.1.4 Senzorická analýza

- Laboratoř akreditovaná pro senzorickou analýzu
- Sklenice 0,3 l
- Osobní počítač s DEGU App
- Sousto: rohlík tukový 2 ks, vepřová šunka nejvyšší jakosti 92 % masa (Le&CO), Šumavský Eidam 30% plátky (Mlékárna Klatovy a.s.)
- pitná voda z městského rozvodu

3.2 Instrumentace a použité postupy

3.2.1 Příprava vzorků piva

3.2.1.1 Pivečka Cascade IPA

Výrobce Létařský pivovar Pivečka uvedl v průvodní dokumentaci tyto údaje:

- Pivní styl dle BJCP: American IPA
- Extrakt původní mladiny: 15 %
- Hořkost: 52 IBU

- Obsah alkoholu: 6,7 % obj.
- Pivo je nefiltrované

Pivo bylo vyrobeno ze směsi sladů plzeňského (sladovna Záhlinice), vídeňského (sladovna Záhlinice) a CaraBelge (Weyermann), do chmelovaru byly použity chmely Magnum a Cascade, do studeného chmelení $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ chmelu Cascade. Byly použity kvasinky US-05.

3.2.1.2 Studené chmelení

Jako základ pokusu bylo použito pivo Cascade IPA z Létajícího pivovaru Pivečka. Pivo bylo chmeleno za studena $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ chmelem Cascade.

60 l piva bylo rovnoměrně rozděleno na 5 aliquotů. První aliquot byl ponechán bez studeného chmelení a zbylé čtyři byly za studena dochmeleny $6 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ po dobu 3, 9, 15 a 21 dní při teplotě $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Byl použit opět chmel Cascade.

Jednotlivé aliquoty byly po určeném počtu dní studeného chmelení stočeny do hnědých púllitrových pivních lahví a přidáno 5 ml 66% roztoku maltosy. Aliquot standard byl stočen po třech dnech zároveň s prvním studeně chmeleným aliquotem. Pivo nebylo filtrováno. Vzhledem k absenci rysek na lahvích byl obsah každé lahve kontrolován váhově, bylo plněno s přesností $\pm 5 \text{ g}$ piva. Plné lahve byly uloženy do stejného prostoru, ve kterém souběžně probíhalo studené chmelení ostatních vzorků a ležely zde ještě další týden.

Týden po posledním lahfování byly vzorky umístěny do chladicího boxu, ve kterém byla udržována teplota 0°C . Zde vzorky setrvaly, dokud nebyly použity k analýzám. Analýza čerstvého piva proběhla 7. – 12. 2. 2018 a o dva měsíce později 4.-9. 4. 2018.

3.2.2 Chemická analýza

3.2.2.1 Stanovení extraktu zdánlivého a skutečného, relativní hustoty, alkoholu, prokvašení zdánlivého, skutečného a původního extraktu piva metodou denzitometrickou a NIR. Stanovení energetické hodnoty výpočtem z naměřených hodnot.

Odplyněný a zfiltrovaný vzorek byl přelit do kyvety a vložen do přístroje. Denzitometr ve spojení s alkolyzerem měří hustotu vzorku a obsah alkoholu, ostatní hodnoty jsou dopočteny. Kalibrace je prováděna periodicky specializovaným technikem dle požadavků výrobce. Jako standard byla použita destilovaná voda.

Analýza je provedena spektrofotometricky v oblasti blízké infračervené spektrometrie (NIR) na přístroji Anton Paar DMA 4500, vlnová délka není výrobcem specifikována, přístroj měří automaticky. Metoda je akreditovaná na VÚPS.

3.2.2.2 Potenciometrické stanovení pH

Odplyněný a zfiltrovaný vzorek byl ponechán jednu hodinu na odstání a byl přímo použit k měření pH. Přístroj byl kalibrován pomocí 7,00 a 4,01 pufru, použit byl také pufr o 4,6 stupně pH, který byl připraven z roztoku primárního ftalanu draselného $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}$ ($20,322 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) a 12,0 ml 0,1 N NaOH do objemu 50,0 ml. Metoda je akreditovaná na VÚPS. [40]

3.2.2.3 Stanovení vybraných kontaminujících kovů pomocí atomové absorpční spektrofotometrie

Stanovení rtuti

Obsah rtuti byl analyzován na jednoúčelovém atomovém absorpčním spektrometru (AAS), podle akreditované metody VÚPS. Vzorek piva byl zfiltrován, vzorek chmele jemně namlet. Kalibrace přístroje je prováděna periodicky dvakrát ročně. Rtuť byla analyzována atomovým absorpčním spektrometrem při vlnové délce 253,7 nm. Metoda je akreditovaná na VÚPS. [41]

Stanovení kadmia, olova, železa a mědi

Obsah kadmia, olova, železa a mědi byl analyzován také pomocí atomové absorpční spektrometrie. Vzorek byl nasán trubičkou přímo z kádinky do přístroje. Kalibrační křivka byla sestavena zároveň za pomoci standardních roztoků. Kadmium bylo stanovováno při 228,8 nm, olovo při 217,3 nm, železo při 248,3 nm, měď při 324,8 nm. Metoda je akreditovaná na VÚPS. [42] [43]

3.2.2.4 Dusičnany

Dusičnany v chmelu

Jemně namleté chmelové pelety byly povařeny v ultračisté destilované vodě. Suspenze byla zfiltrována a převedena do odměrné baňky. Takto připravený roztok byl stanoven metodou HPLC-UV. [60]

Dusičnany v pivu

Přefiltrovaný a odplyněný vzorek byl stanoven metodou HPLC-UV. [SOP11]

Stanovení HPLC-UV

Dusičnany byly stanoveny na HPLC přístroji Thermo Fisher Scientific Dionex Ultimate 3000 RS Pump UHPLC⁺ Focused. Separace proběhla v izokratickém módu na chromatografické koloně Separon HEMA BIO 1000 Ω (3x150 mm, 10 μ m), mobilní fáze tvořená roztokem fosforečnanu sodného a kyseliny chloristé o pH 2,5. Objem nástřiku vzorku byl 10 μ l, průtok mobilní fáze byl 0,7 ml·min⁻¹. Dusičnany byly detekovány při 210 nm. Metoda je akreditovaná na VÚPS. [60]

3.2.2.5 Stanovení karbonylových sloučenin metodou GC-MS

Vzorek byl nejprve odplyněn na ultrazvukové lázni, poté bylo upraveno pH piva na 4,4 stupně. Ke vzorku byl přidán interní standard a derivatizační činidlo PFBOA·HCl (hydrochlorid o-(2,3,4,5,6-pentafluorbenzyl)hydroxylaminu), derivatizace probíhala jednu hodinu. Poté byl vzorek vytřepán do hexanu a promyt roztokem kyseliny sírové. Hexanová fáze byla analyzována metodou GC-MS. [56]

Stanovení karbonylových látek v pivu i chmelu bylo provedeno na plynovém chromatografu s hmotnostní spektrometrií na přístroji Thermo Electron Corporation: Tri Plus, Trace GC Ultra, DSQ II. Pro separaci byla použita kapilární kolona TR-WAX

MS (30 m x 0,25 mm, velikost částic 0,25 μm ; TRACE™). Objem nástřiku vzorku byl 1 μl . Mobilní fáze byla tvořena heliem čistoty 5.0, průtok mobilní fáze byla - 1,2 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Teplota nástřiku byla 250 $^{\circ}\text{C}$. Metoda je zavedená, ale neakreditovaná. [56]

3.2.2.6 Hořkost

Stanovení hořkosti metodou UV-VIS (EBC 9.8)

Vzorek byl třepán 20 minut na třepačce za účelem odplynění. Z odplyněného vzorku bylo pipetou odebráno 10 ml do 100 ml odměrné baňky, přidáno 0,5 ml 6M kyseliny chlorovodíkové a 20 ml 2,2,4-trimethylpentanu (iso-oktan), vzorek byl promíchán. Po oddělení fází byla odebrána organická fáze, převedena do kyvety a analyzována UV-VIS spektrometrem při vlnové délce 275 nm, jako standard bylo použito čisté rozpouštědlo 2,2,4-trimethylpentan. Výpočet jednotky hořkosti:

$$JH = 50 \cdot A \quad (9)$$

kde JH je jednotka hořkosti a A naměřená absorbance isooktanového extraktu.

Metoda je akreditovaná na VÚPS. [43] [37]

Stanovení α - a iso- α -hořkých kyselin metodou HPLC-UV ve vzorcích pív

Příprava vzorku

50 ml vzorku piva bylo odpěněno pomocí ultrazvuku. 5 ml vzorku bylo přečištěno pomocí extrakce na pevné fázi (SPE kolonka). Strata-X 33 μm 60 $\text{mg} \cdot 3\text{ml}^{-1}$ (Phenomenex).

SPE kolonka byla dvakrát propláchnuta 2,5 ml methanolu a 2,5 ml destilované vody. Poté bylo přidáno 5 ml vzorku piva. Poté byla kolonka promyta 1,5 ml 5% roztoku methanolu a kolona vysušena proudem dusíku. Analyt byl eluován 5 ml čistého methanolu a převeden do vialky. [62]

Stanovení

Separace hořkých kyselin byla provedena na přístroji Agilent Technologies 1260 Infinity II; HPLC-Acquisition s UV detekcí. Byla použita chromatografická kolona Nucleodur 100-5 C18 ec, (125 x 4 mm, 5 μm ; Machery Nagel). Kolona byla temperována při 35 $^{\circ}\text{C}$. Mobilní fáze, která měla průtok 0,8 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$, byla tvořena dvěma fázemi, fází A (750 ml methanolu, 240 ml ultračisté vody, 10ml kyseliny fosforečné a 1 ml 0,1 M EDTA) a fází B (methanol). Separace probíhala v gradientovém módu (0 – 17 min. 100 % A, 17,1–30 min. 65 % A, 30,1 – 35 min. 100 % A. Hořké kyseliny byly detekovány při vlnové délce 270 nm. [62]

Koncentrace hořkých kyselin byla vypočtena metodou vnitřního standardu, výpočet provádí software automaticky v závislosti na zadaných hodnotách kalibračních úrovní a množství přidaného interního standardu. Metoda je zavedená na VÚPS, ale neakreditovaná. [62]

3.2.2.7 Stanovení silic plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometrem

Příprava vzorku pro stanovení silic ve chmelu

Těkavé látky byly extrahovány na fluidním loži. Na teflonový filtr bylo nanášeno 2,00 g jemně namletého chmele. Byl přidán ethanolový roztok interního standardu,

proběhly 4 cykly extrakce při 117 °C za celkovou dobu 1,5 hodiny. Roztok byl převeden do odměrné baňky (50 ml), následně nanesen na extrakční kolonku Extrelut® NT 20. Silice byly z kolonky extrahovány směsí dichlormethanu a hexanu v poměru 1:1. Výsledný roztok byl převeden do vialky. Metoda je zavedená na VÚPS, ale neakreditovaná. [63]

Silice v pivu

K roztoku piva byl přidán interní standard, roztok byl poté destilován na přístroji BÚCHI Distillation Unit K-350. Destilace piva byla prováděna 2 minuty do odměrné baňky s roztokem dichlormethan:hexan 1:1. Získaný destilát byl třepán 1 hod na třepačce (250 otáček za minutu) a chlazen 1 hodinu v lednici. Po oddělení fází byla organická vrstva podrobena GC-MS analýze. [64]

Stanovení pomocí plynové chromatografie (GC-MS)

Stanovení silic v pivu i chmelu bylo provedeno na GC-MS Thermo Electron Corporation: Tri Plus, Trace GC Ultra, DSQ II. Byla použita kapilární kolona TG-WAXMS (délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, velikost částic 0,25 µm; výrobce Thermo Scientific). Objem nástřiku na kolonu byl 1 µl, jako mobilní fáze bylo použito helium čistoty 5.0, průtok mobilní fáze byla - 1,2 ml·min⁻¹. Teplota injektoru byla 250 °C. Výpočet obsahu analytu provádí software automaticky v závislosti na zadaných hodnotách kalibračních úrovní a množství přidaného interního standardu. Metoda je zavedená na VÚPS, ale neakreditovaná. [64]

3.2.2.8 Statistické vyhodnocení výsledků

Data byla zpracována v programu Microsoft Excel. Jako výsledek byla vždy uvedena průměrná hodnota ze dvou paralelních stanovení. Podle spolehlivosti metod byly vypočteny intervaly spolehlivosti.

Shluková analýza, heat mapa

Heat mapa byla vytvořena z dat zpracovaných metodou shlukové analýzy. Shluková analýza třídí data podle podobnosti Z skóre a následně je dělí do kategorií, které onu podobnost vystihují v podobě dendrogramu. Z skóre je vypočteno dle následujícího vzorce:

$$Z_i = \frac{x_i - x}{\sigma} \quad (10)$$

kde x_i je daná hodnota, pro kterou je Z skóre vypočteno, x je průměrná hodnota a σ je směrodatná odchylka hodnot v dané skupině. [65]

3.2.3 Senzorická analýza

Metoda je zpracovaná podle norem ČSN 56 0186-2, ČSN EN ISO 5495, ČSN EN ISO 4120, ČSN EN 8587 a metodiky EBC [67]. Hodnocení bylo zaměřeno na celkový profil piva a na aroma chmelu Cascade. Stanovované parametry analýzy chmelových aromat vycházejí z předchozích studií. [66] [66]

Část parametrů byla určena na základě dřívějších zkušeností Výzkumného ústavu. Pro všechny parametry byl využit nucený výběr na uzavřené dělené stupnici

v definovaném rozsahu. Parametry byly zaneseny do webové aplikace DEGU App, která umožňuje lokální úpravu testovaných parametrů. Degustátoři zaznamenávali svá hodnocení přímo na svém pracovním místě do webové aplikace v počítači.

Přehled deskriptorů v experimentu ve vztahu k jejich vzniku

Analyzované deskriptory a podoba hodnocení parametrů byly sestaveny podle metodiky EBC a dalších zdrojů, které se zabývají senzorickou analýzou piva. Konečná podoba je doplněna o praktické zkušenosti z předcházejících analýz.

Základní charakteristika piva

Použitá základní charakteristika výborně slouží k hodnocení českých ležáků, metoda je vhodná i pro svrchně kvašená piva. [67]

Základní parametry byly hodnoceny na stupnici 0-5, dělené po 0,5 stupně. Byl hodnocen říz, plnost, hořkost, hořkost-kulminace, hořkost-doznívání, hořkost-charakter, trpkost, sladká a kyselá chuť. [67]

Všeobecné parametry

Na stupnici 1-5 dělené po 0,5 stupni byla hodnocena vyváženost piva. Na stupnici 1-9 dělené po 0,5 stupni byla hodnocena obliba piva a jeho celkový dojem. [67]

Vývoj intenzity hořkosti

Byl hodnocen vývoj intenzity hořkosti v čase na stupnici 0-5, dělené po 1 stupni. Parametr byl zaznamenáván vteřinu před polknutí, ve chvíli polknutí, dále po polknutí v časech 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 12 vteřin. [67]

Charakter hořkosti

Charakter hořkosti byl zjišťován na stupnici 0-5 dělené po 1 stupni ve chvíli polknutí a 40 s po polknutí. [67]

Doplňující parametry základní charakteristiky

Většina parametrů vychází z metodiky EBC, ostatní jsou doplněny podle praktické zkušenosti. Parametry jsou hodnocené na stupnici 0-5 v rozsahu 0,5 stupně. Byly hodnoceny následující deskriptory: Chmelová, ovocná/esterová, kvasničná, parfémová, karamelová, připálená, obilná, diacetylová, sirupová, mladinová, dimethylsulfidová, kovová, po rozpouštědlech, papírová, autolyzační, zatuchlá, stará, sirná, světlá, fenolová, medicínalní, žluklá, „nevím, ale vadí mi“, alkoholová, chuť a vůně saponátu, medová, jarová. [67]

Chmelové silice

Byly hodnoceny chutě a vůně celková citrusová, citrusová – citronová, citrusová – pomerančová, citrusová – grepová, dále ovocná, trávová, dřevitá, bylinná, květinová a mentolová. Byla použita stupnice 0-5 dělená po jednom stupni s nucenou volbou hodnoty.

3.2.3.1 Statistické hodnocení výsledků

Jednoduché statistické prvky:

- Ořezaný průměr z deseti hodnot na osm, byla vyloučena jedna nejvyšší a jedna nejnižší hodnota
- Směrodatná odchylka hodnot, které nebyly vyloučeny

Analýza hlavních komponent

Analýza hlavních komponent se zabývá zpracováním dat o více než třech rozměrech, u kterých se předpokládá, že mají mezi sebou silnou korelaci. Hlavní komponenty vznikají jako lineární kombinace původních hodnot. Hodnoty jsou uspořádány podle rozptylu, hlavní komponenty jsou vybrány podle nejvyššího rozptylu dat. Ostatní data mohou být zanedbána

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem experimentální části bylo analyzovat širší spektrum látek ve vzorcích svrchně kvašeného studeně chmeleného piva pro získání senzomického a sensorického profilu výsledných piv.

Hotové pivo bylo analyzováno týden po stočení posledního vzorku do lahví. Další analýzy proběhly na stejných vzorcích o dva měsíce později. Čerstvé pivo je označeno „I“, dva měsíce staré pivo „II“. Čerstvá i 2 měsíce stará piva byla analyzována jak chemicky, tak sensoricky, výsledky byly porovnány.

Tabulka 11: Charakteristika a pojmenování vzorků.

Název vzorku	Studené dochmelení	Charakteristika dodatečného studeného chmelení
Referenční	0 g·l ⁻¹	Bez přídavku
Pivo 3	6,65 g·l ⁻¹	3 dnů
Pivo 9	6,36 g·l ⁻¹	9 dní
Pivo 15	6,43 g·l ⁻¹	15 dní
Pivo 21	6,44 g·l ⁻¹	21 dní

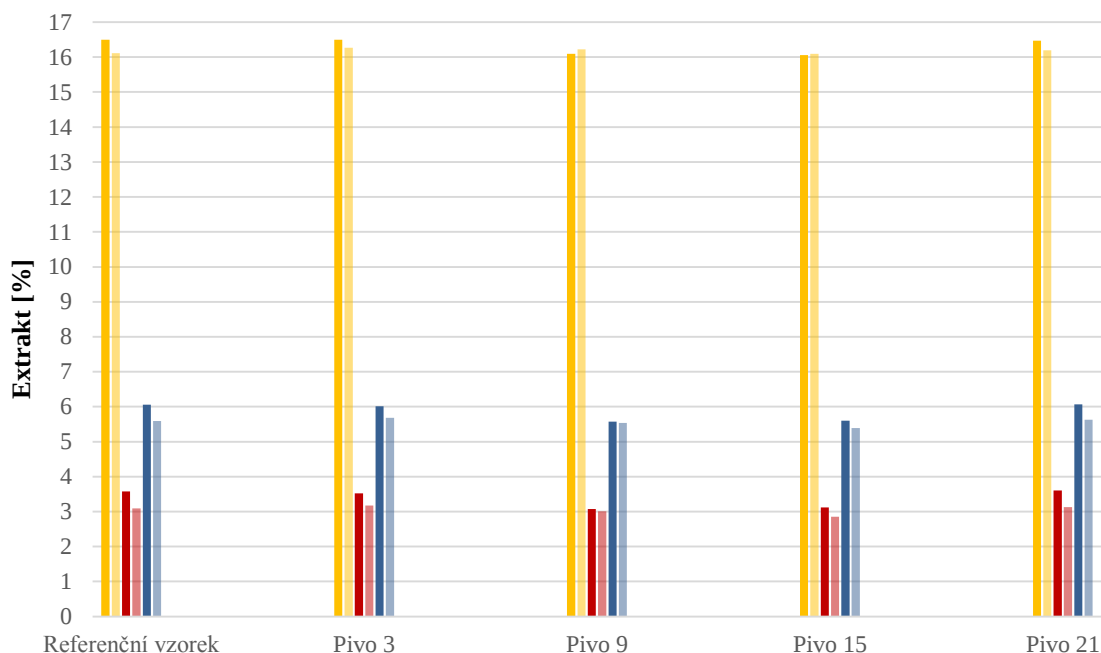
4.1 Chemická analýza

V čerstvém pivu byla provedena základní analýza, která zahrnovala stanovení pH, extraktu, alkoholu, stupně prokvašení, energetické hodnoty a hořkosti. Pomocí spektrální analýzy bylo provedeno stanovení těžkých kovů, a to olova, kadmia, rtuti, dále železa, mědi a dále kapalinovou chromatografií obsah dusičnanů. Chromatograficky byly stanovovány karbonylové sloučeniny, vybrané hořké kyseliny a silice. O dva měsíce později byly provedeny stejné analýzy shodnými metodami s výjimkou stanovení kovů a dusičnanů.

Při analýze chmelu byly stanovovány analogickou metodou kontaminující kovy, dusičnany, hořké kyseliny, silice a další těkavé látky.

4.1.1 Stanovení extraktu, alkoholu, stupně prokvašení

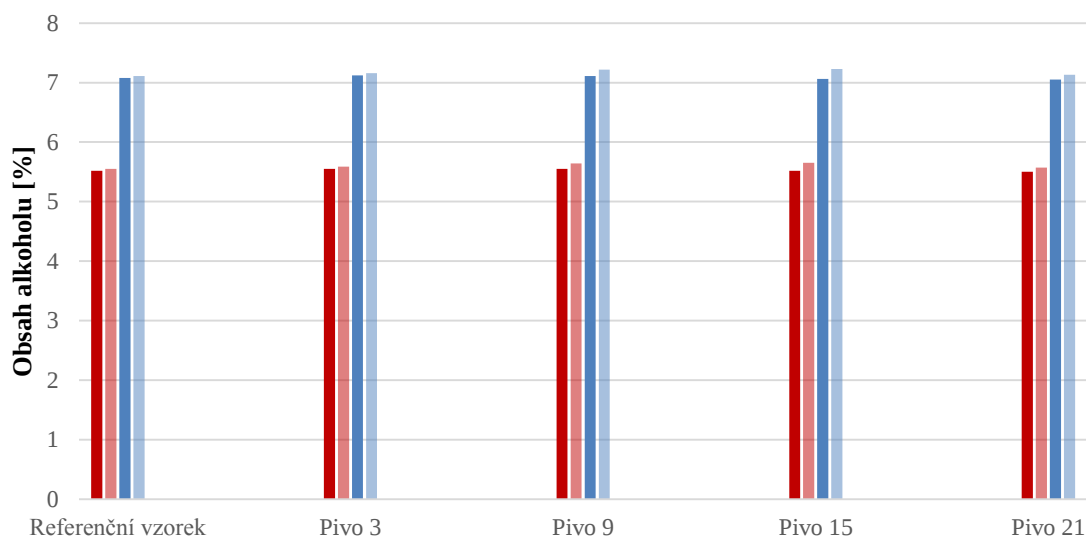
Extrakt



Graf 1: Grafické znázornění naměřených hodnot extraktu původní mladiny (žlutá), extraktu zdánlivého (červená) a skutečného (modrá). Sytější odstínem je znázorněno čerstvé pivo, světlejším dva měsíce staré pivo. Nejistota měření je 0,06 jednotky %. Vypočtené nejistoty měření a zdrojová data jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.1.

- V grafu je zjevný rozdíl mezi extraktem původní mladiny a hodnotami prokvašeného extraktu, který je způsobený metabolickou přeměnou sacharidického substrátu na ethanol, oxid uhličitý a další metabolity.
- Hodnoty zdánlivého extraktu oproti skutečnému jsou nižší, protože je započtena korekce hustoty o alkohol.
- Extrakt původní mladiny u vzorků I a II se liší, i při započtení nejistoty měření, příčina nebyla zjištěna.
- Výrobce uvádí extrakt původní mladiny 15 %. Při lahvování bylo dodáno 3,3 g maltosy v 5 ml objemu na lahev, ale nefiltrované pivo nadále kvasilo v lahvi.

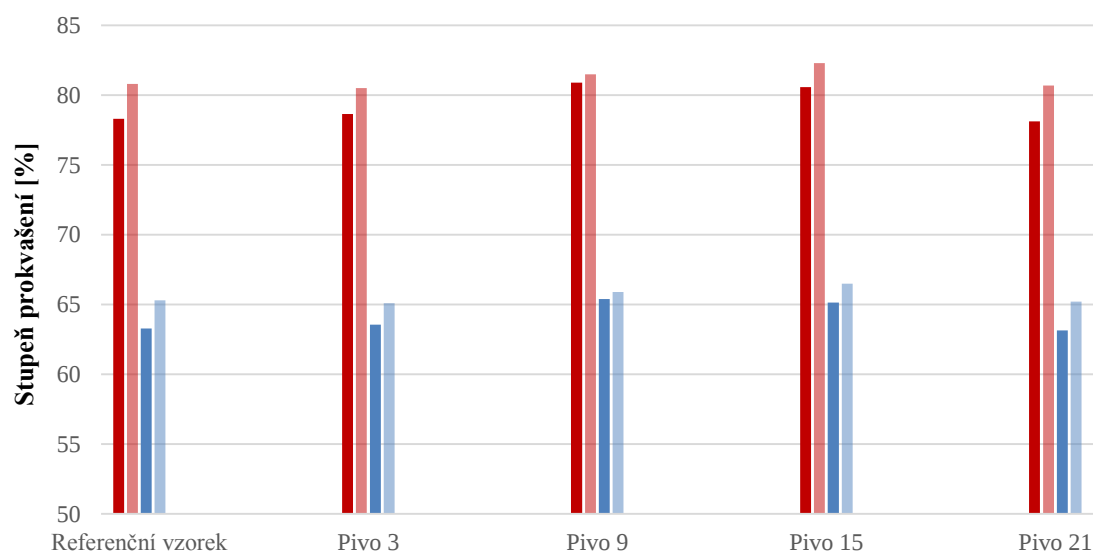
Alkohol



Graf 2: Koncentrace alkoholu v jednotlivých vzorcích. Hmotnostní procento je znázorněno červeně, objemové modře. Sytější odstínem je znázorněno čerstvé pivo, světlejším dva měsíce staré pivo. Nejistota měření je 0,04 procentního stupně hmotnostního obsahu, 0,05 procentního stupně objemového obsahu. Vypočtené nejistoty měření jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.1.

- Alkohol má nižší hustotu než pivo, proto jsou hodnoty vyjádřené v objemových procentech vyšší než hodnoty vyjádřené v hmotnostních procentech.
- Mírný nárůst množství alkoholu všech vzorků dva měsíce starého piva způsobený dokvácením v lahvi.

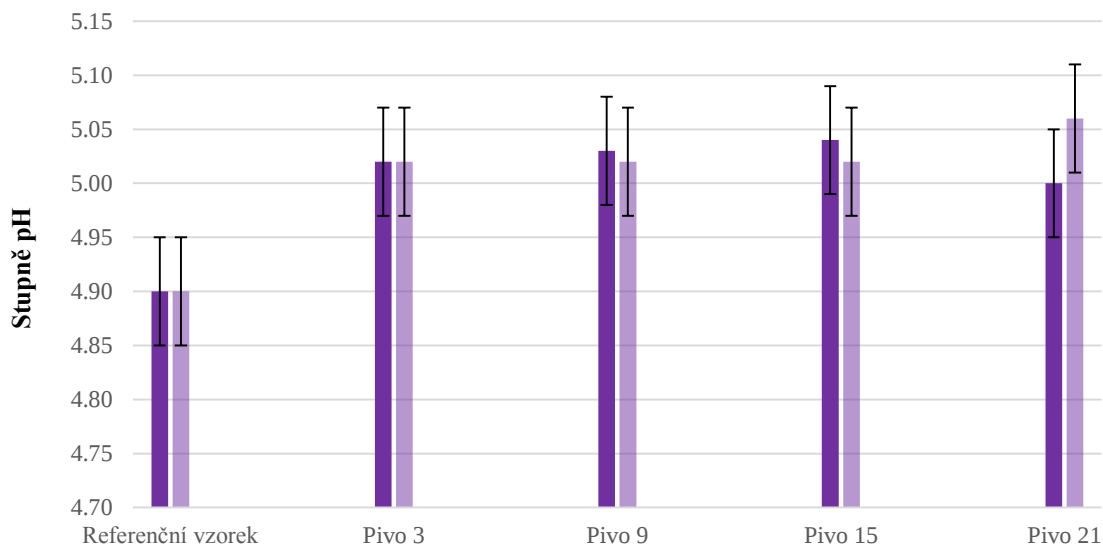
Stupeň prokvašení



Graf 3: Grafické znázornění naměřených hodnot zdánlivého prokvašení (červená) a skutečného (modrá). Sytější odstínem je znázorněno čerstvé pivo, světlejším dva měsíce staré pivo. Nejistota měření je 0,04 procentního stupně hmotnostního obsahu, 0,05 procentního stupně objemového obsahu. Vypočtené nejistoty měření jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.1.

- Kvasinky vykazují u všech vzorků metabolickou aktivitu i při skladování v 0 °C, stupeň prokvašení se zvedl přibližně o 1-2 %.
- Hodnoty skutečného prokvašení oproti zdánlivému jsou nižší, protože je započtena korekce hustoty o alkohol.

4.1.2 Stanovení pH



Graf 4: Grafické znázornění pH jednotlivých vzorků. Sytější odstínem je znázorněno čerstvé pivo, světlejším dva měsíce staré pivo. Tabulka s naměřenými hodnotami je vložena v příloze 7.1.

- Dochmelením stoupl pH dochmelených vzorků oproti referenčnímu přibližně o 0,1 stupně. Referenční vzorek a Pivo 3 byly stáčeny ve stejný den a podmínky se lišily pouze dochmelením Piva 3.
- Obdobný experiment použil do whirlpoolu nachmelený ležák, pivo bylo po hlavním kvašení přefiltrováno a stočeno. Autor uvádí, že jev se nepodařilo z dostupných informací vysvětlit. [44]. Druhý obdobný experiment použil 5 komerčních vzorků bylo po 3 dny dochmeleno při 16 °C., byl zjištěn nárůst o 0,14 stupně pH u všech vzorků. Takto hodnota odpovídá mým naměřeným výsledkům. Čím delší byla doba studeného chmelení, tím více kleslo pH. [45]
- pH se ve dvouměsíčním odstupu změnilo v řádu několika setin stupně, při započtení nejistoty jsou tyto rozdíly neprůkazné. Interval nejistoty měření se překrývají i u posledního vzorku, kde je rozdíl mezi hotovým pivem a dva měsíce starým pivem největší. Disproporce hodnot ve dvouměsíčním intervalu se zvyšuje s délkou studeného chmelení.
- Pufrací kapacita piva pravděpodobně nestačí na obsah bazických látek vyloučených z dávky chmele, která byla v poměru k běžné praxi vysoká.

4.1.3 Kontaminující kovy

Výsledky naměřené v pivu byly porovnány s hodnotami uvedenými ve vyhlášce č. 305/2004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách. Vyhláška byla k 1. 10. 2012 zrušena. Výsledky

byly porovnány také s vyhláškou č. 252/2004 Sb. kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody [12]. Limity pitné vody nejsou pro pivo závazné, pouze doporučené.

Limity pro obsah kontaminujících kovů ve chmelu nejsou stanoveny. Naměřené hodnoty byly porovnány se studií, která analyzovala vybrané těžké kovy ve vzorcích chmele. [46]

4.1.3.1 Železo

Tabulka 12: *Výsledky analýzy obsahu železa ve chmelu a ve vzorcích piva.*

Vzorek	Jednotka	Naměřená hodnota	Nejistota dolní mez	Nejistota horní mez	Nejistota metody měření [%]
Referenční	mg·l ⁻¹	0,016	0,013	0,019	20
Pivo 3	mg·l ⁻¹	0,017	0,014	0,020	20
Pivo 9	mg·l ⁻¹	0,013	0,010	0,016	20
Pivo 15	mg·l ⁻¹	0,022	0,018	0,026	20
Pivo 21	mg·l ⁻¹	0,014	0,011	0,017	20
Chmel	mg·kg ⁻¹	75,20	60,16	90,24	20

- Limit pro pivo ve vyhlášce č. 305/2004 byl 20 mg·kg⁻¹, současný limit pro pitnou vodu je 0,20 mg·l⁻¹. Naměřené hodnoty nedosahují ani jednoho limitu.

4.1.3.2 Měď

Tabulka 13: *Výsledky analýzy obsahu mědi ve chmelu a ve vzorcích piva.*

Vzorek	Jednotka	Naměřená hodnota	Nejistota dolní mez	Nejistota horní mez	Nejistota metody měření [%]
Chmel	mg·kg ⁻¹	2,66	2,45	2,87	8
Referenční	mg·l ⁻¹	0,175	0,149	0,201	15
Pivo 3	mg·l ⁻¹	0,176	0,150	0,202	15
Pivo 9	mg·l ⁻¹	0,167	0,142	0,192	15
Pivo 15	mg·l ⁻¹	0,160	0,136	0,184	15
Pivo 21	mg·l ⁻¹	0,160	0,136	0,184	15

- Limit pro pivo ve vyhlášce č. 305/2004 byl 5 mg·kg⁻¹, současný limit pro pitnou vodu je 1,000 mg·l⁻¹. Naměřené hodnoty nedosahují ani jednoho limitu.
- Průměrná hodnota uvedená ve studii je 308 mg·kg⁻¹. [59]

4.1.3.3 Olovo

Tabulka 14: Výsledky analýzy obsahu olova ve chmelu a ve vzorcích piva.

Vzorek	Jednotka	Naměřená hodnota	Nejistota metody měření [%]
Chmel	mg·kg ⁻¹	< 0,2	8
Referenční	mg·l ⁻¹	< 0,03	8
Pivo 3	mg·l ⁻¹	< 0,03	8
Pivo 9	mg·l ⁻¹	< 0,03	8
Pivo 15	mg·l ⁻¹	< 0,03	8
Pivo 21	mg·l ⁻¹	< 0,03	8

- Limit pro pivo ve vyhlášce č. 305/2004 byl 0,05 mg·kg⁻¹, současný limit pro pitnou vodu je 10 µg·l⁻¹. Naměřené hodnoty nedosahují limitu detekce ani jednoho z legislativních limitů nebo jsou pod mezí detekce.
- Průměrná hodnota uvedená ve studii je 1,3 mg·kg⁻¹. [59]

4.1.3.4 Kadmium

Tabulka 15: Výsledky analýzy obsahu kadmia ve chmelu a ve vzorcích piva.

Vzorek	Jednotka	Naměřená hodnota	Nejistota dolní mez	Nejistota horní mez	Nejistota metody měření [%]
Chmel	mg·kg ⁻¹	< 0,02	-	-	8
Referenční	mg·l ⁻¹	0,005	0,0046	0,0054	8
Pivo 3	mg·l ⁻¹	< 0,005	-	-	8
Pivo 9	mg·l ⁻¹	< 0,005	-	-	8
Pivo 15	mg·l ⁻¹	< 0,005	-	-	8
Pivo 21	mg·l ⁻¹	< 0,005	-	-	8

- Limit pro pivo ve vyhlášce č. 305/2004 byl 0,05 mg·kg⁻¹, současný limit pro pitnou vodu je 5 µg·l⁻¹. Naměřené hodnoty jsou pod mezí detekce a nepřesahují ani jeden z limitů.
- Průměrná hodnota uvedená ve studii je 0,053 mg·kg⁻¹. [59]

4.1.3.5 Rtuť

Tabulka 16: Výsledky analýzy obsahu rtuti ve chmelu a ve vzorcích piva

Vzorek	Jednotka	Naměřená hodnota	Nejistota dolní mez	Nejistota horní mez	Nejistota metody měření [%]
Chmel	mg·kg ⁻¹	0,0053	0,0050	0,0056	6
Referenční	mg·l ⁻¹	< 0,0005	-	-	6
Pivo 3	mg·l ⁻¹	< 0,0001	-	-	6
Pivo 9	mg·l ⁻¹	< 0,0001	-	-	6
Pivo 15	mg·l ⁻¹	< 0,0001	-	-	6
Pivo 21	mg·l ⁻¹	< 0,0001	-	-	6

- Limit pro pivo ve vyhlášce č. 305/2004 byl $0,003 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, současný limit pro pitnou vodu je $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Naměřené hodnoty nedosahují ani jeden z limitů nebo jsou pod mezí detekce.
- Průměrná hodnota uvedená ve studii je $308 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. [59]
- Z naměřených hodnot nebyl zjištěn zvýšený obsah sledovaných kovů v pivu se studeným chmelením oproti referenčnímu vzorku, tudíž nelze potvrdit předpoklad kontaminace piva v důsledku delšího kontaktu se chmelem v průběhu studeného chmelení.

4.1.4 Dusičnany

Tabulka 17: *Výsledky analýzy obsahu dusičnanů ve chmelu a ve vzorcích piva.*

Vzorek	Jednotka	Naměřená hodnota	Nejistota dolní mez	Nejistota horní mez	Limit	Nejistota metody měření [%]	Splnění limitu [%]
Chmel	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	11 028	10 532	11 525	11 000	4,5	100,3
Referenční	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	170,95	164,12	177,79	50	4	342
Pivo 3	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	225,34	216,33	234,35	50	4	451
Pivo 9	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	227,51	218,41	236,61	50	4	455
Pivo 15	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	219,58	210,80	228,36	50	4	439
Pivo 21	$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	220,73	211,90	229,56	50	4	441

- Dusičnany přešly do piva hned již v průběhu prvních tří dní studeného chmelení, koncentrace dusičnanů u vzorků s delší dobou studeného chmelení nenarůstala.

4.1.4.1 Legislativní dopad zvýšené hodnoty dusičnanů v pivu

Doporučený limit obsahu dusičnanů v pivu je $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ jako u pitné vody, kde je ovšem závazný. Dle naměřených výsledků je překročený 3,4 násobně. Naměřená hodnota u chmele je také překročená, ovšem při započtení nejistoty měření spadá část intervalu pod horní hranici limitu.

Incident byl přijat dle metodiky HACCP a systému managementu kvality ČSN EN ISO 9001/2016 jako skoronehoda (z anglického „nearmiss“) a případ byl analyzován metodou „Analýza kořenové příčiny“. V pivovaru byla stanovena a přijata následující nápravná opatření: [60] [61]

1. Byla provedena kontrola obsahu dusičnanů v ostatních vstupních surovinách, tedy ve vodě a ve sladu, kde jsou závazná hodnota dusičnanů $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ pro pitnou vodu a doporučené hodnoty $2\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ pro ječný slad, která je uvedena také ve zrušené vyhlášce č. 305/2004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách.
2. Z důvodu podezření na překročení limitu dusičnanů ve chmelu $11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ byla provedena kontrola dodavatele Cascade a ostatních chmelů.
3. Byla provedena kontrola obsahu nitrosaminů v pivech dle doporučeného limitu $0,001\,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

4. Byl proveden přepočet obsahu chmele v pivu dle horních limitů dusičnanů ve chmelu a ostatních vstupních surovinách.
5. Byly zrevidovány výstupní kontroly a zavedeno kontrolní titrační stanovení obsahu dusičnanů v surovinách.

4.1.5 Karbonyly

Tabulka 18: Naměřené hodnoty vybraných karbonylových sloučenin v $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Nejistota měření metody je 25 % hodnoty. V tabulce je vypočtena procentuální změna hodnoty vzorku II oproti hodnotě vzorku I. Fialově jsou vyznačeny buňky s klesající hodnotou, žlutě se stoupající.

Analyt		Referenční	Pivo 3	Pivo 9	Pivo 15	Pivo 21
Actaldehyd	I	33338	38918	76494	203929	134752
	II	34688	38983	43143	72233	176616
	%	104	100	56	35	131
Aceton	I	126	228	172	201	206
	II	135	203	231	201	246
	%	107	89	135	100	119
2-methylpropanal	I	80,5	178	145	115	137
	II	111	132	173	63,9	183
	%	138	75	119	56	134
3-methylbutan-2-on	I	2,42	3,54	2,81	3,60	3,52
	II	3,79	5,52	6,27	6,46	6,84
	%	157	156	223	179	194
2-methylbutanal	I	13,3	36,3	23,2	13,4	25,3
	II	18,9	22,8	30,1	8,22	19,5
	%	142	63	130	61	77
3-methylbutanal	I	46,7	87,9	71,4	52,8	96,7
	II	54,6	61,6	83,2	28,2	74,1
	%	117	70	117	53	77
trans-but-2-enal	I	0,50	0,70	0,56	0,77	0,79
	II	0,49	0,63	0,64	0,72	1,12
	%	98	90	114	93	143
Hexanal	I	1,32	2,48	1,55	1,32	1,58
	II	1,57	1,79	2,22	1,08	1,80
	%	119	72	144	82	114
Heptanal	I	1,02	2,18	1,30	1,22	1,48
	II	1,16	1,32	1,65	0,62	1,27
	%	114	60	127	51	86
Oktanal	I	1,96	2,53	1,99	2,11	2,25
	II	1,59	1,07	1,43	0,74	1,15
	%	81	42	72	35	51

Tabulka 18: Pokračování

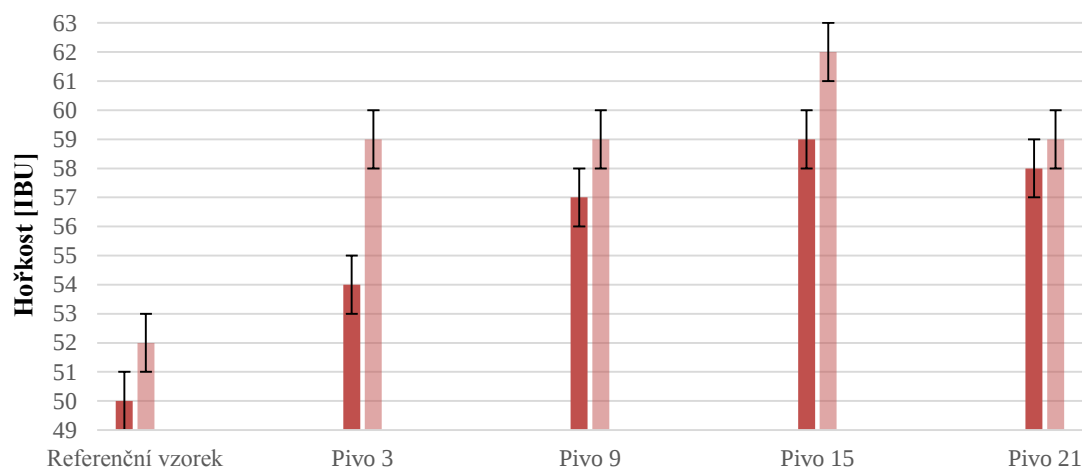
Furan-2-karbaldehyd	I	<1	<1	<1	<1	<1
	II	<1	<1	<1	<1	<1
	%	-	-	-	-	-
trans-okt-2-enal	I	0,17	0,14	0,11	0,10	0,12
	II	0,07	0,07	0,08	0,06	0,14
	%	42	47	67	57	116
Trans-nonen-2-al	I	0,22	0,16	0,21	0,20	0,18
	II	0,10	0,10	0,12	0,22	0,14
	%	48	63	56	115	79
Benzaldehyd	I	4,63	6,09	4,08	4,12	3,86
	II	3,75	4,85	5,78	3,63	4,75
	%	81	80	142	88	123
Fenylacetaldehyd	I	65,0	115	85,1	67,1	78,9
	II	62,5	75,4	92,3	32,9	68,2
	%	96	65	108	49	86

- Hodnoty acetaldehydu byly naměřeny poměrně vysoké v poměru k českému ležáku, be kterém bývá běžně naměřeno do 20 mg·l⁻¹.
- 2-methylpropanal, 3-methyl-2-butanon, 2- a 3-methylbutanal a lze říci i fenylacetaldehyd mají ve srovnání s českými ležáky výrazně vyšší hodnoty už u čerstvého ležáku.
- nízké hodnoty furan-2-karbaldehydu dokazují, že pivo bylo skladováno v chladu, tedy s nízkou tepelnou zátěží.
- Dochmelená piva nejví rozdílu vůči referenčnímu vzorku.
- 3-methylbutan-2-on vykazuje výrazně vyšší nárůst oproti ostatním sledovaným látkám.
- Výrazný trend u ostatních látek není vidět (s výjimkou poklesu u oktanal), naměřené změny se většinou vejdou do nejistoty metody. Z uvedených výsledků nicméně nelze s jistotou potvrdit, že neproběhla oxidace vzorků, je možné, že se tak stalo už u čerstvého piva nebo že se projevila změnami jiných látek než sledovaných.

4.1.6 Hořké látky

4.1.6.1 Stanovení hořkých látek metodou EBC 9,8

Stanovení hořkosti piva bylo provedeno podle všeobecně uznávané a používané metodiky EBC 9.8. Výsledky jsou vyjádřeny v jednotkách IBU, kde jedna jednotka je rovna 1 mg iso- α -hořkých kyselin v jednom litru piva. Naměřené hodnoty jsou vloženy v příloze 7.1.

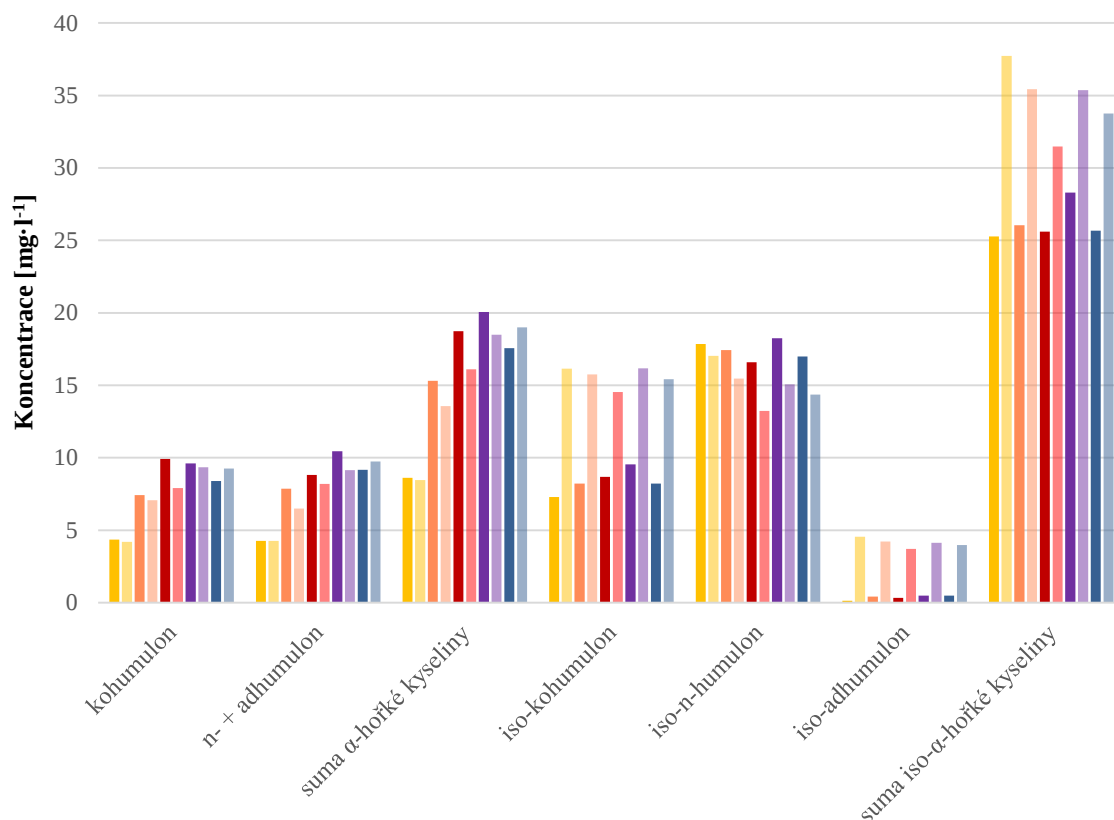


Graf 5: Grafické znázornění konduktometrické hodnot. Sytější odstínem je znázorněno čerstvé pivo, světlejším dva měsíce staré pivo. Nejistota měření je 1 IBU. Tabulka s naměřenými hodnotami je vložena v příloze 7.1.

- Výrobce udává hořkost 52 IBU, v referenčním vzorku byla naměřena nižší hodnota i při započtení nejistoty měření.
- U všech vzorků je vidět nárůst hořkosti mezi vzorky I a II, vzorky analyzované o dva měsíce později mají vyšší naměřenou hořkost.
- Pivo 21 se vymyká stoupajícímu trendu IBU a má nižší IBU než Pivo 15.
- Studie, která zaznamenala zvýšení pH po studeném chmelení, zjistila u stejných vzorků, že jednotky IBU se ve srovnání s referenčním vzorkem mírně zvyšují. K experimentu byl použit do whirlpoolu nachmelený ležák, pivo bylo po hlavním kvašení přefiltrováno a stočeno. Hořkost byla stanovována také metodou EBC 9.8, Autor uvádí, že jev se nepodařilo z dostupných informací vysvětlit. [62]

4.1.6.2 Stanovení vybraných α - a iso- α -hořkých kyselin HPLC-UV

Nejistota metody je 5 % pro stanovení α -hořkých kyselin a 10 % pro stanovení iso- α -hořkých kyselin. Tabulka s naměřenými a dopočtenými hodnotami je vložena v příloze 7.1.



Graf 6: Grafické znázornění analýzy vybraných α - a iso- α -hořkých kyselin, u obou skupin je uveden také součet hodnot. Sytějším odstínem je znázorněno čerstvé pivo, světlejším dva měsíce staré pivo.

- Celkový součet některých analogů neisomerizované a isomerizované formy hořkých kyselin vzorku I neodpovídá součtu látek ve vzorku II.
- Protože metoda není optimalizovaná na silně chmelená piva, lze předpokládat, že pravděpodobně došlo k přesycení kapacity kolony vzorkem. Při dalším výzkumu je možné naředit vzorek, použít dvě kolony za sebou nebo kolonu s větší kapacitou.
- Za daných podmínek nebylo možno experiment opakovat, výsledky mohou sloužit jako podklad k dalšímu zkoumání.
- Druhý obdobný experiment použil 5 komerčních vzorků bylo po 3 dny dochmeleno při 16 °C., Studie dále uvádí, že nárůst pH spojený se studeným chmelením koreluje s úbytkem iso- α -hořkých kyselin. Čím delší byla doba studeného chmelení, tím více kleslo pH. [57]
- I přes chybu měření vykazují α -hořké kyseliny obdobný trend nárůstu jejich obsahu s dobou studeného chmelení od referenčního vzorku po Pivo 15, Pivo 21 i v této analýze vykazují pokles koncentrace hořkých kyselin.

- Koncenrace iso-kohmulonu a iso-adhumulonu ve vzorcích II výrazně stoupla, nicméně výsledky obsahu neisomerizovaných analogů těchto látek ve vzorcích II nevykazují ekvivalentní pokles koncentrace. Nárůst isomerizovaných forem α -hořkých kyselin při teplotě 0 °C není v literatuře dosud popsán.
- Nejvýraznější nárůst můžeme vidět u iso-adhumulonu, Proces isomerace závisí na rychlostní konstantě, teplotě a času, Příspěvek času zde teoreticky může mít vliv.

4.1.7 Stanovení silic v pivu i chmelu

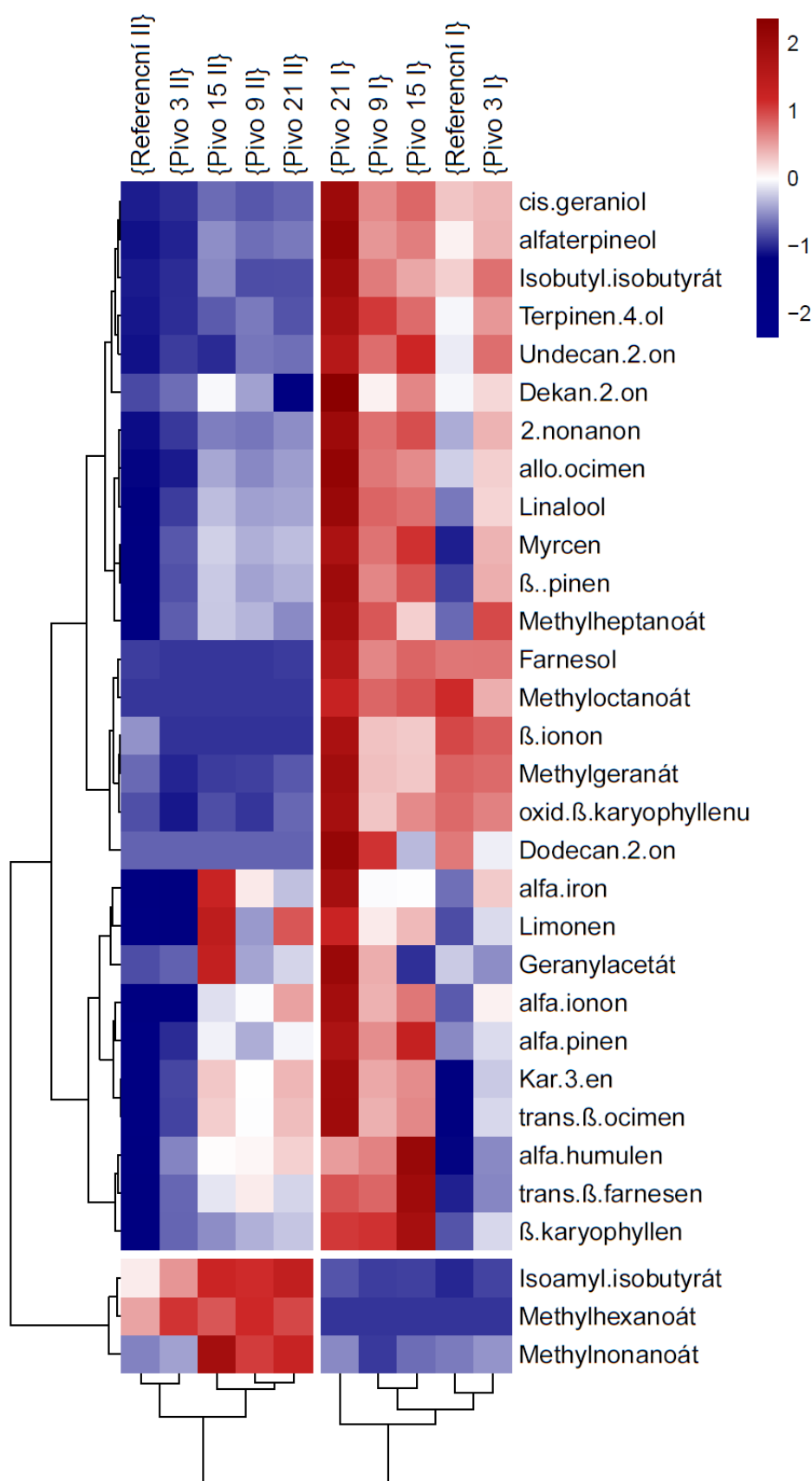
Silice ve chmelu a v pivu byly stanoveny plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometrem. Silice, které se chmelech stanovují standardně, byly identifikovány i kvantifikovány v čerstvém pivu a ve dva měsíce starém pivu. V rámci sledování změn během studeného chmelení byly v pivu identifikovány další látky.

Tabulka 19: Naměřené hodnoty silic, které byly kvantifikovány, Měření bylo provedeno v čerstvém a dva měsíce starém pivu. Nejistota měření při kvantifikaci byla dle zavedené metody 25 % hodnoty.

Analyt			Obsah silic v pivu (µg·l ⁻¹)										Chmel (mg·kg ⁻¹)
Název	CAS číslo	Retenční čas [s]	Referenční		Pivo 3		Pivo 9		Pivo 15		Pivo 21		
			I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
α-pinen	80-56-8	4,18	2,14	1,03	2,56	1,66	3,41	2,32	4,19	2,67	4,67	2,69	7,39
Isobutyl-isobutyrát	97-85-8	5,07	9,46	4,70	11,3	5,00	11,1	5,54	10,3	6,56	15,7	5,56	3,05
β-pinen	127-91-3	5,25	1,33	0,63	3,36	1,43	3,69	2,02	4,12	2,30	5,80	2,13	17,4
Myrcen	123-35-3	6,05	191	110	534	254	616	350	702	386	858	365	3275
Methylhexanoát	106-70-7	6,37	<0,5	1,19	<0,5	1,53	<0,5	1,56	<0,5	1,42	<0,5	1,47	0,26
Isoamyl-isobutyrát	2050-01-3	6,48	1,81	8,56	2,62	11,4	2,45	14,9	2,53	15,3	3,13	16,3	52,5
Limonen	5989-27-5	6,54	19,1	11,3	27,8	14,2	31,4	23,8	34,9	49,0	46,2	42,0	34,3
trans-β-ocimen	3779-61-1	7,05	15,2	12,9	25,9	18,7	32,3	27,8	34,6	30,7	48,8	31,6	3,05
Kar-3-en	13466-78-9	7,30	10,3	8,45	17,1	12,8	22,2	18,9	23,4	21,1	33,0	21,7	3,08
Methylheptanoát	106-73-0	7,78	2,24	1,59	3,65	2,19	3,58	2,53	3,03	2,61	4,40	2,37	1,64
Allo-ocimen	673-84-7	8,87	66,8	38,1	81,3	41,1	95,8	56,8	92,6	61,1	141	59,7	5,59
2-nonanon	821-55-6	9,04	4,03	1,82	6,37	2,42	7,44	3,29	8,00	3,40	11,18	3,60	4,25
Methyloktanoát	111-11-5	9,04	0,85	<0,5	0,69	<0,5	0,78	<0,5	0,80	<0,5	0,87	<0,5	1,31
Methylnonanoát	1731-84-6	9,40	0,53	0,54	0,57	0,60	<0,5	1,21	0,50	1,56	0,55	1,30	0,94
Dekan-2-on	693-54-9	10,16	1,33	1,05	1,41	1,11	1,37	1,19	1,56	1,33	2,15	<1	12,8
Linalool	78-70-6	10,63	298	172	463	245	580	334	568	360	822	339	43,0
Methyldecanoát	110-42-9	11,13	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,96
Undecane-2-on	112-12-9	11,17	2,92	1,05	4,55	1,42	4,55	1,93	5,29	1,27	6,07	1,86	60,0
β-karyophyllen	87-44-5	11,24	3,33	0,61	7,07	3,83	15,0	5,96	19,6	4,96	14,8	6,55	355

Tabulka 19: Pokračování.

Analyt			Obsah silic v pivu (µg·l ⁻¹)										Chmel (mg·kg ⁻¹)
Název	CAS číslo	Retenční čas [s]	Referenční		Pivo 3		Pivo 9		Pivo 15		Pivo 21		
			I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
Terpinen-4-ol	562-74-3	11,47	12,1	5,33	16,0	6,02	19,3	8,33	17,5	7,40	24,0	7,14	20,1
trans-β-farnesen	18794-84-8	11,74	3,35	2,64	4,84	4,37	9,15	6,90	12,8	6,21	9,49	5,97	568
α-humulen	6753-98-6	11,87	10,8	5,20	29,0	28,2	64,5	46,1	106	45,4	60,3	52,2	737
Methylgeranát	1189-09-9	12,00	21,9	11,5	21,6	9,30	18,5	10,2	18,2	10,1	29,3	11,0	47,7
α-terpineol	98-55-5	12,00	38,5	18,6	44,2	19,9	47,0	25,9	49,2	28,5	74,3	26,9	61,5
Dodecan-2-on	6175-49-1	12,07	1,44	<1	1,14	<1	1,59	<1	1,05	<1	1,98	<1	12,0
Geranylacetát	105-87-3	12,47	1,40	1,17	1,29	1,21	1,68	1,33	1,11	2,06	2,36	1,42	10,8
cis-geraniol	106-25-2	12,92	76,9	24,2	80,1	27,0	89,4	35,0	96,9	38,6	144	37,4	21,2
Tridecan-2-on	593-08-8	12,91	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	83,7
α-ionon	127-41-3	13,27	0,57	<0,5	0,80	<0,5	0,89	0,77	0,98	0,74	1,30	0,91	1,13
β-ionon	14901-07-6	13,92	0,99	0,54	0,96	<0,5	0,79	<0,5	0,78	<0,5	1,24	<0,5	2,57
α-irone	79-69-6	14,00	1,03	0,86	1,28	0,89	1,20	1,23	1,20	1,53	1,69	1,13	0,29
oxid β-karyophylenu	1139-30-6	14,32	18,8	8,86	18,0	7,28	15,7	8,13	17,7	8,82	25,5	9,58	150
Farnesol	4602-84-0	16,71	106	20,6	106	<20	102	<20	111	<20	151	20,1	55,2



Graf 7: V grafu je znázorněn vztah vzorků piv a obsahu kvantifikovaných silic. Vložená data jsou analyzována ve dvou dendrogramech a propojena teplotní mapou. Analýza shluku je provedena podle faktoru Z, který je vypočítán z obsahu analytů ve vzorcích piva.

- Vztah jednotlivých silic a vzorků pív je rozdělen do čtyř základních kvadrantů. Analýza shluku tímto odlišila Pivo I a Pivo II. Z analyzovaných silic byly odlišeny tři, které jeví odlišný trend hodnot koncentrace ve vzorcích pív.
- Vzorky pív jsou seřazeny dle podobnosti, nicméně nejnižší úroveň dvou podobných vzorků program již nerozlišuje.
- Nejpodobnější jsou vzorky pív Referenční I a Pivo 3 I.
- Koncentrace silic v bílé barvě jsou průměrné v rámci hodnot naměřených pro jednotlivá piva, modrá škála jsou podprůměrné hodnoty koncentrace, červená nadprůměrné.
- V čerstvém pivu většina hodnot stoupá s dobou studeného chmelení, v Pivu II naopak většina hodnot stoupá.
- Většina hodnot v pivu II klesá oproti pivu I.
- V jiné studii piva chmeleného za studena chmelem Cascade byly analyzovány látky α -terpineol, citral 2, β -farnesen, geraniol, citronellol, terpinen-4-ol, β -damascenon, eugenol, nerol, karyofylen, beta-ionon, citronelal, linalool, geranyl acetát, limonen, β -myrcen, α -pinen, β -pinen, isobutyl-isobutyrate, citral, methyl-heptanoát, cis-3-hexen-1-ol, karyofylen-oxid. [47]
- Další studie analyzovala ve chmelu Cascade sloučeniny myrcen, linalool, geraniol, geranyl isobutyrate karahana ether [48]

4.1.7.1 Další látky s obdobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi

Vzhledem k neúplnému profilu chmelových silic byly v chromatogramech nalezeny další látky, jejichž odezva se v závislosti na délce studeného chmelení měnila, avšak nemohly být kvantifikovány výše uvedeným způsobem, jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 20: Těkavé látky nalezené ve vzorcích piva navíc oproti standardům běžně používaným na VÚPS k analýze silic. Spolehlivost je údaj uvedený databází programu Thermo Xcalibur Qual Browser, která byla použita k identifikaci neznámých analytů.

Retenční čas [s]	Spolehlivost [%]	Název	CAS
4,34	55	Ethylbutyrát	Dohledat
5,47	81	Isoamylacetát, banana oil	123-92-2
6,64	42	Pentan-1-ol	71-41-0
7,59	40	Octadien	6994-89-4
8,45	Blíže neurčeno		
11,37	10	Non-1-en	124-11-8
12,63	23	Dimethyloctenol	40607-48-5
12,75	Blíže neurčená sloučenina s aromatickým jádrem		
12,99	30	Fenylester kyseliny octové	Dohledat
13,80	40	Fenylethanol	Dohledat
14,68	95	Oktanová kyselina	124-17-02
15,54	46	Methoxyvinylphenol	7786-61-0

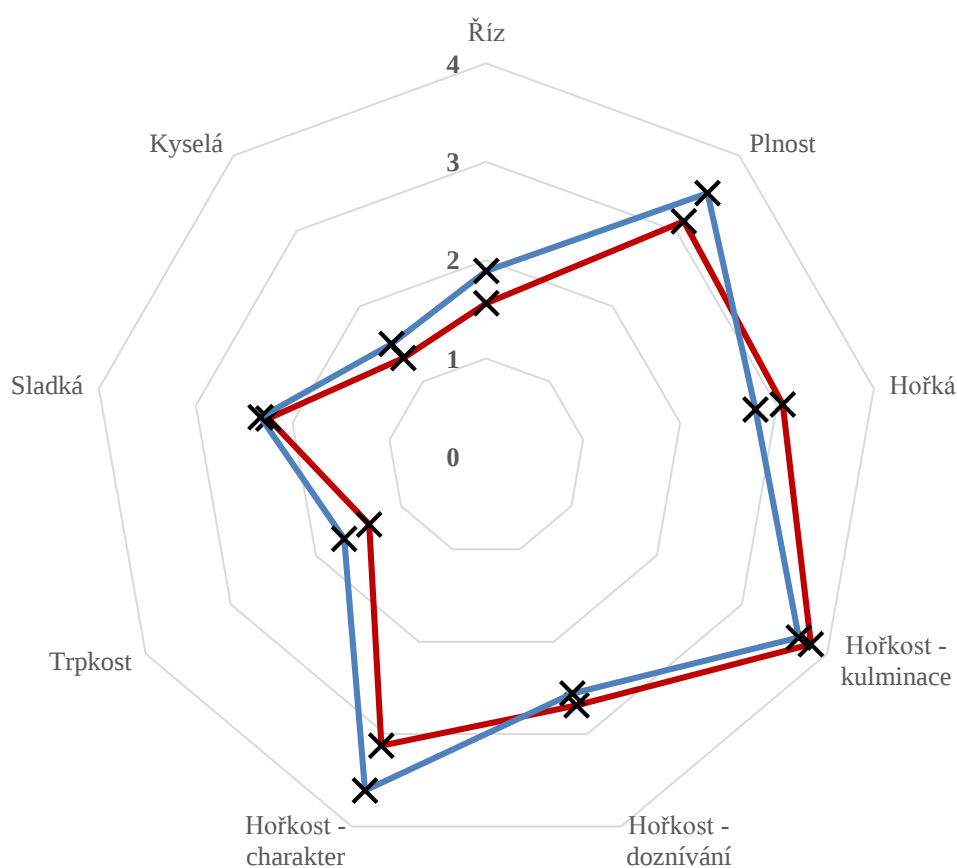
4.2 Senzorická analýza, vybrané vztahy sensorické analýzy k výsledkům chemické analýzy

Zkouška byla provedena formou sensorického hodnocení specializovanou sensorickou komisí dle normy ČSN ISO 8586:2014, Metoda je akreditovaná, s výjimkou hodnocení chmelových aromat.

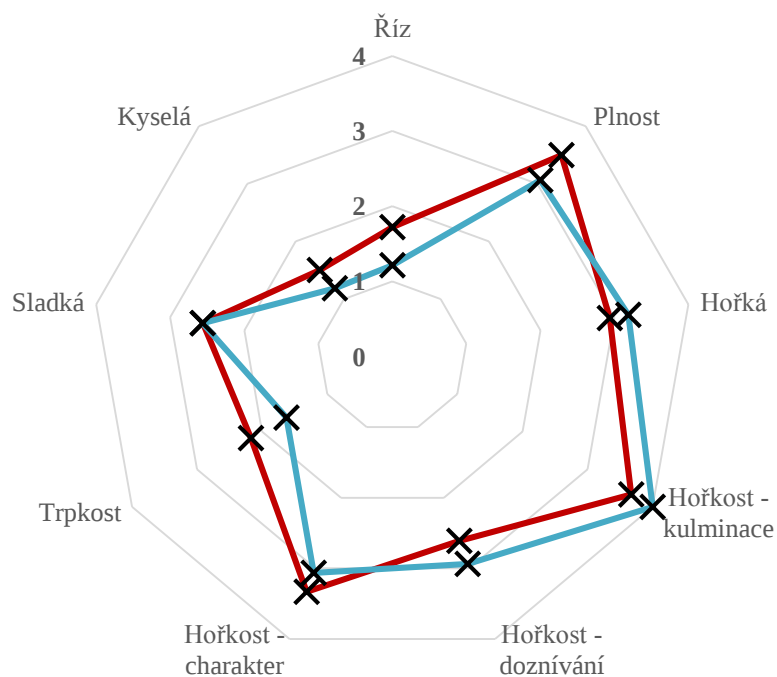
4.2.1 Základní charakteristiky piva

4.2.1.1 Povinné parametry

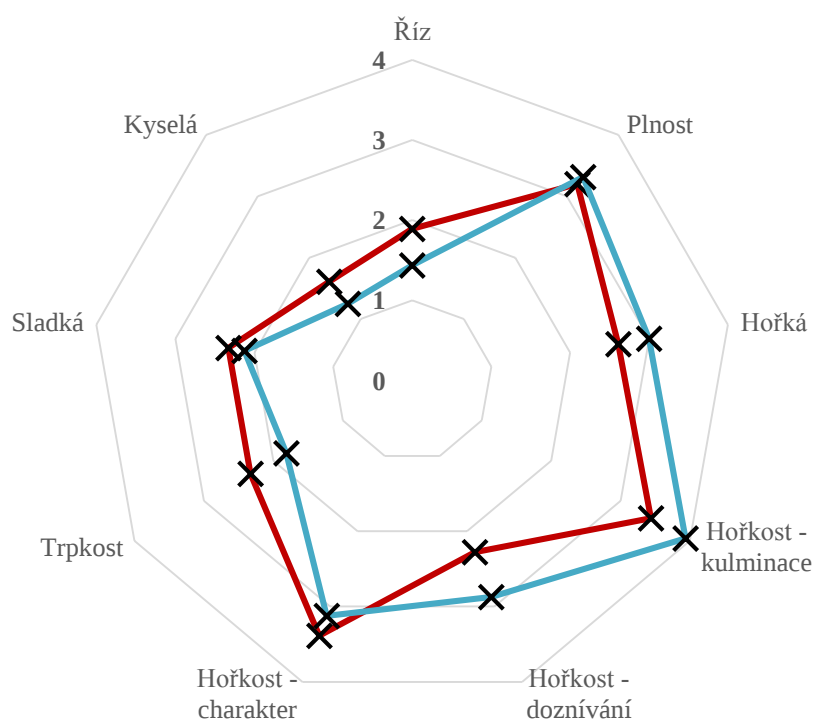
Ke zpracování dat byl použit ořezaný průměr z 10 vzorků. Směrodatné odchylky jsou vloženy v tabulce v příloze. Zdrojová data a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.2.



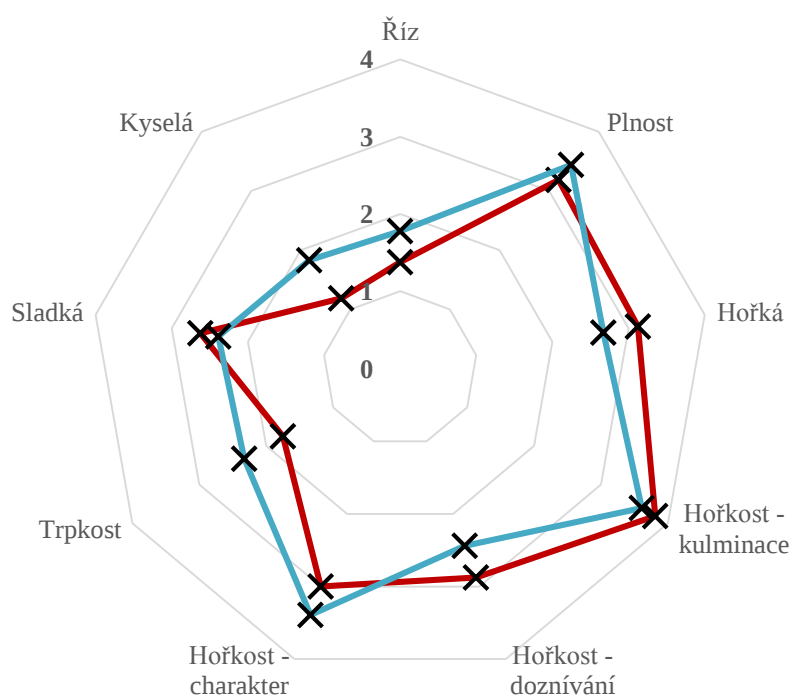
Graf 8: Povinné základní parametry Referenčního vzorku. Modře je vyznačeno Pivo I, hnědě Pivo II.



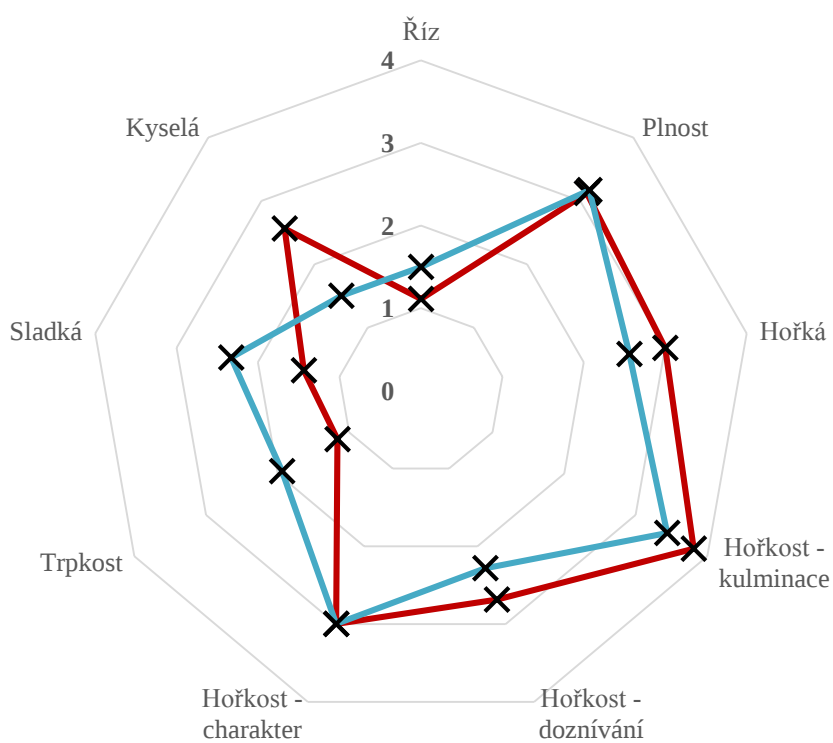
Graf 9: Povinné základní parametry vzorku Pivo 3. Modře je vyznačeno Pivo 3 I, hnědě Pivo 3 II.



Graf 10: Povinné základní parametry vzorku Pivo 9. Modře je vyznačeno Pivo 9 I, hnědě Pivo 9 II.

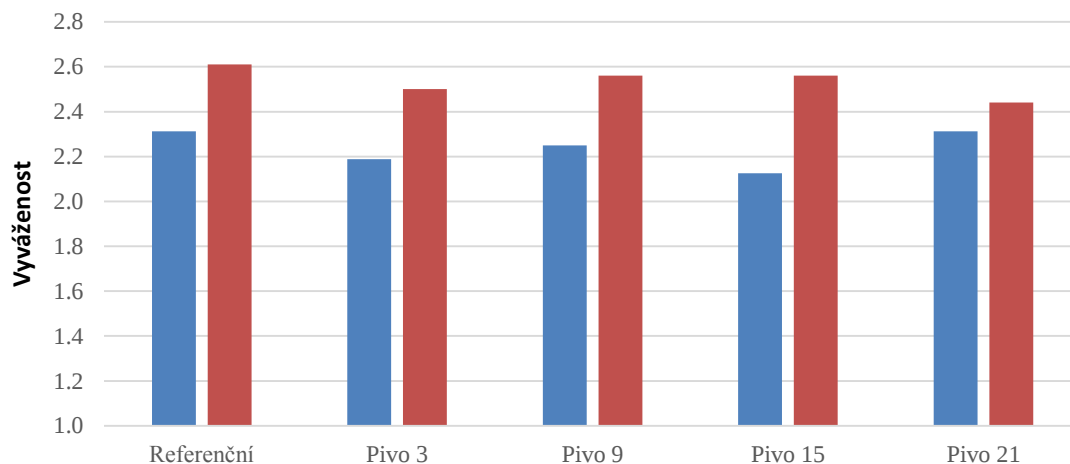


Graf 11: Povinné základní parametry vzorku Pivo 15. Modře je vyznačeno Pivo 15 I, hnědě Pivo 15 II.

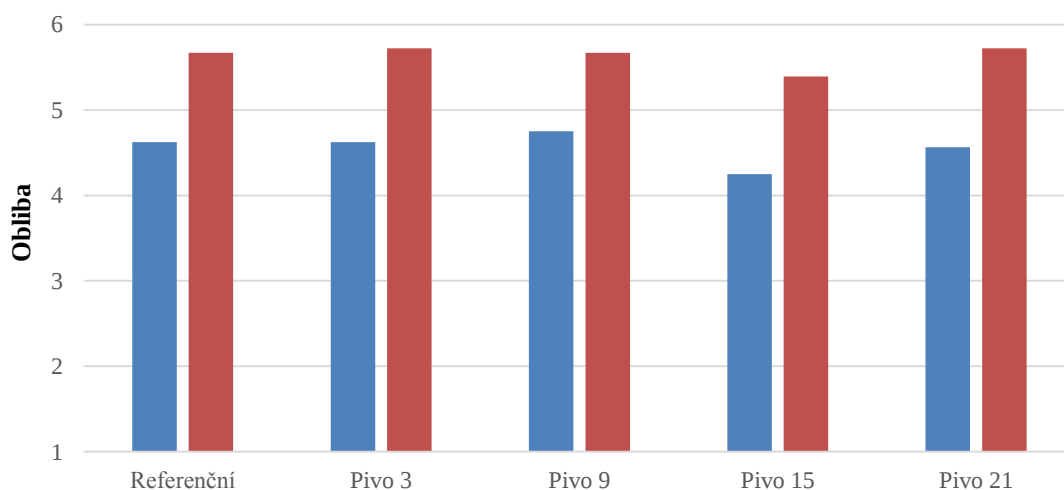


Graf 12: Povinné základní parametry vzorku Pivo 21. Modře je vyznačeno Pivo 21 I, hnědě Pivo 21 II.

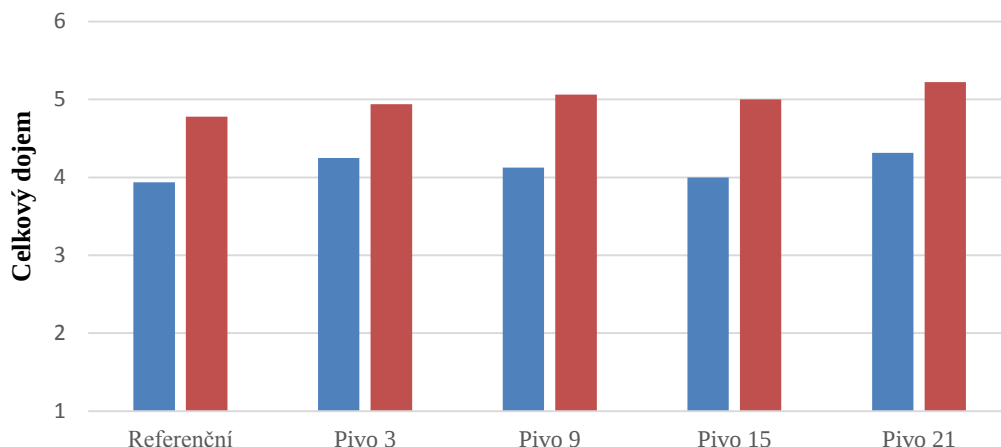
- U některých parametrů v hvězdicových grafech, ale i v následujících grafech celkového hodnocení, je v pivo II vidět standardní odchylka od piva I, například říz nebo oblība. Vliv může mít dvouměsíční odstup ve zrání piva nebo odlišné složení komise. Zdrojová data a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.2.



Graf 13: Vyváženost, byla hodnocena na stupnici 1-5. Modře je vyznačeno Pivo I, hnědě Pivo II.



Graf 14: Oblība, byla hodnocena na stupnici 1-9. Modře je vyznačeno Pivo I, hnědě Pivo II.



Graf 15: Celkový dojem, byl hodnocena na stupnici 1-9. Modře je vyznačeno Pivo I, hnědě Pivo II.

4.2.1.2 Nepovinné parametry

Deskriptory diacetyl, dimethylsulfid, skupina světlá, fenolová, medicínální a žluklá byly z tabulky vynechány úplně, protože nebyly hodnotiteli nalezeny v žádném ze vzorků. Degustátorům byla ponechána volná pole s možností přidání vlastních deskriptorů.

- Ve vzorcích dva měsíce starého piva bylo degustátory nalezeno výrazně více nepovinných parametrů, pozitivních i negativních.
- Náznaky chutí, které mohou být způsobeny bakteriální kontaminací, u analýz II narosly, například po rozpouštědlech, stará, parfémová, sirupová.
- V pivu 3 identifikovalo 8 z 10 hodnotitelů přípach po rozpouštědlech.

Tabulka 21: Výsledky hodnocení nepovinných parametrů. Při zaznamenání deskriptoru třemi a více hodnotiteli byl použit ořezaný průměr. Pokud byl deskriptor zaznamenán méně než čtyřmi hodnotiteli, byl vložen symbol „*“, Pokud parametr zaznamenán nebyl, pole zůstalo volné. + jsou označeny pozitivní parametry, – negativní. Deskriptory vyznačené červeně vykazují výrazný márůst v Pivu II oproti Pivu I.

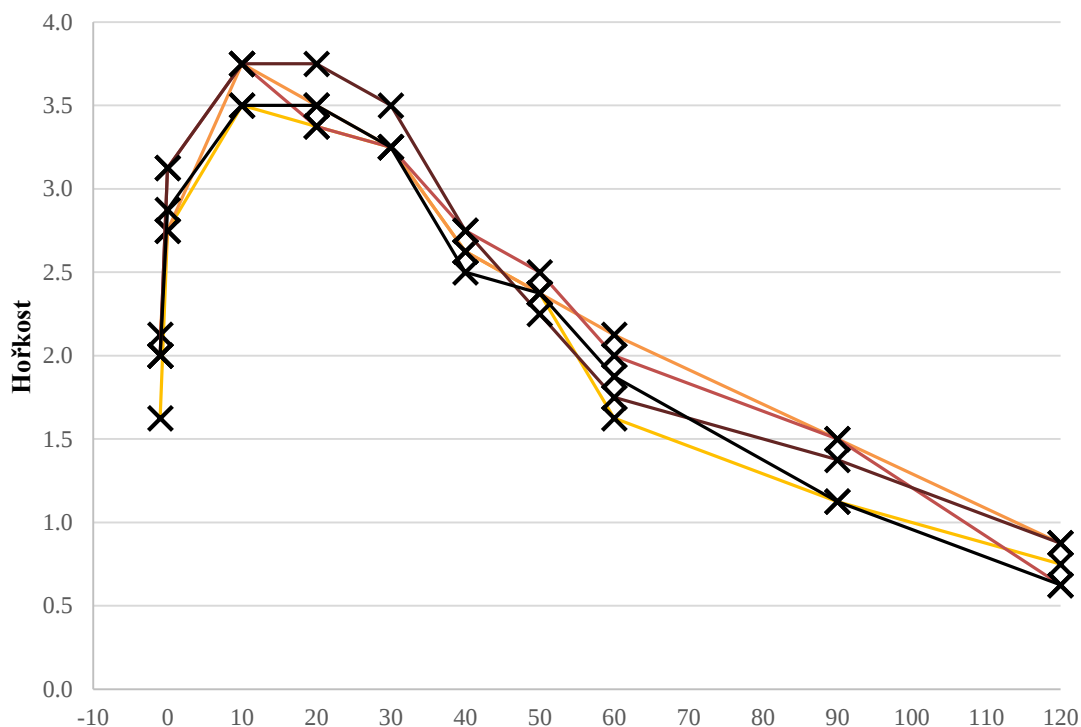
Deskriptor	Ref I		Ref. II		Pivo 3 I		Pivo 3 II		Pivo 9 I		Pivo 9 II		Pivo 15 I		Pivo 15 II		Pivo 21 I		Pivo 21 II	
	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet	průměr	Počet
+ chmelová	2,93	7	2,72	10	3,00	7	2,44	9	2,25	7	2,5	9	2,25	7	2,44	9	2,31	7	2,06	9
+ ovocná/esterová	2,00	6	1,61	9	1,8	5	1,78	9	0,94	5	1,73	9	0,69	5	1,78	9	0,81	5	1,39	8
+ kvasničná	*	3	*	2	*	3	*	2	*	2	*	2	*	2	*	1	*	2	*	2
– parfémová	*	2	0,56	5	*	1	0,33	4	*	1	0,55	4	*	1	0,56	5	*	1	0,56	6
– karamelová	*	3	0,44	4	*	2	0,78	6	*	3	0,91	6	*	2	0,33	4	*	3	*	3
– připálená	*	1	0,44	5	*	1	0,78	6	*	1	0,91	6	*	1	0,56	5	*	2	0,44	4
– obilná	*	1							*	1			*	1						
– sirupová	*	1	1,18	6	*	1	0,78	4	*	2	0,91	4	*	2	0,67	5	*	2	0,44	4
– mladinná									*	1			*	1						
– kovová			*	1	*	1	*	1			*	1	*	1						
– po rozpouštědlech	*	1	1,56	9			1,44	8	*	2	1,45	8	*	2	1,33	8	*	2	1,11	7
– papírová			*	1			*	1			*	1	*	1					*	1
– autolyzační									*	1			*	1	*	1				
– zatuchlá			*	1					*	1			*	1					*	1
– stará	*	1	0,6	6	*	1	0,89	5	*	1	0,91	5	*	1	0,56	6	*	1	0,89	7
– sirná					*	2			*	2			*	2			*	1		
– nevím, ale vadí mi			*	1			*	1			*	1			*	1			*	1

Tabulka 22: Další parametry nalezené hodnotiteli. Průměr nebyl vypočten z důvodu nízké statistické spolehlivosti.

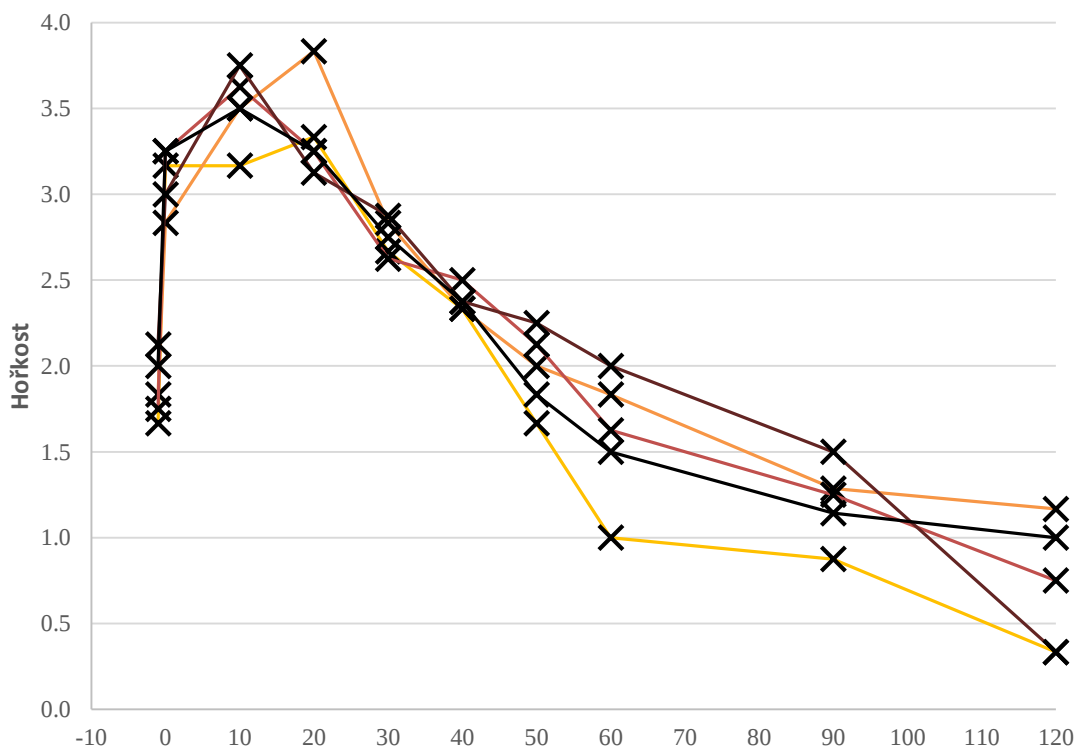
Deskriptor	Ref I		Ref. II		Pivo 3 I		Pivo 3 II		Pivo 9 I		Pivo 9 II		Pivo 15 I		Pivo 15 II		Pivo 21 I		Pivo 21 II	
	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet	průmě	Počet
alkoholová									*	1			*	1			*	1	*	2
chuť, vůně saponátu													*	1					*	1
medová	*	1			*	1	*	1	*	1	*	1	*	1	*	1	*	1		
jarová													*	1						
vůně čpavku							*	1			*	1			*	1				

4.2.2 Vývoj hořkosti

Zdrojová data a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.2.



Graf 16: Vývoj hořkosti I.

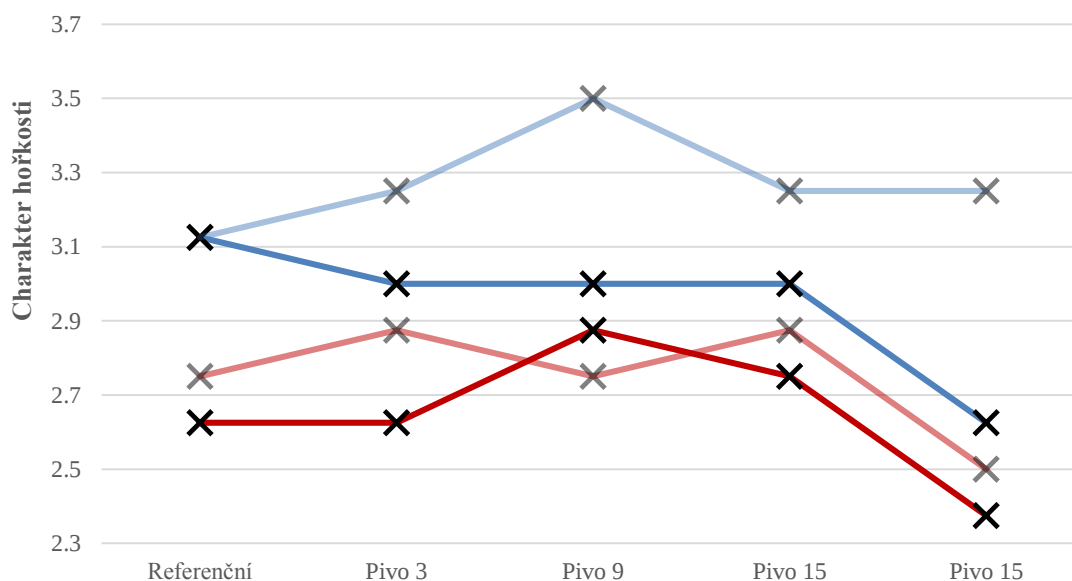


Graf 17: Vývoj hořkosti II

- U všech vzorků byl zjištěn standardní průběh nástupu a poklesu intenzity hořkosti.

- Při srovnání časových průběhů hořkosti čerstvých piv a piv 2 měsíce starých je patrný výrazný rozdíl projevu maximální intenzity. U čerstvého piva je maximum intenzity mezi 10 a 20 s, kolem 30 s byl zjištěn jen mírný pokles. U starších piv byla intenzita hořkosti většiny vzorků maximální již kolem 10 s, kolem 30 s je již patrný značný pokles.
- Starší piva byla hodnocena jako rozdílnější než piva čerstvá.

4.2.3 Charakter hořkosti



Graf 18: Charakter hořkosti vzorku piva ve chvíli polknutí a 40 s po polknutí, Modře je vyznačen charakter hořkosti ve chvíli polknutí, hnědě 40 s po polknutí. Analýzy I jsou vyznačeny sytě, analýzy II světleji. Zdrojová data a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.2.

- Výrazně stoupla hořkost po polknutí, hořkost 40 s po polknutí se dle hodnocení degustátorů jeví mírně nižší, avšak obdobná.

4.2.3.1 Vztah hořkosti a kyselosti

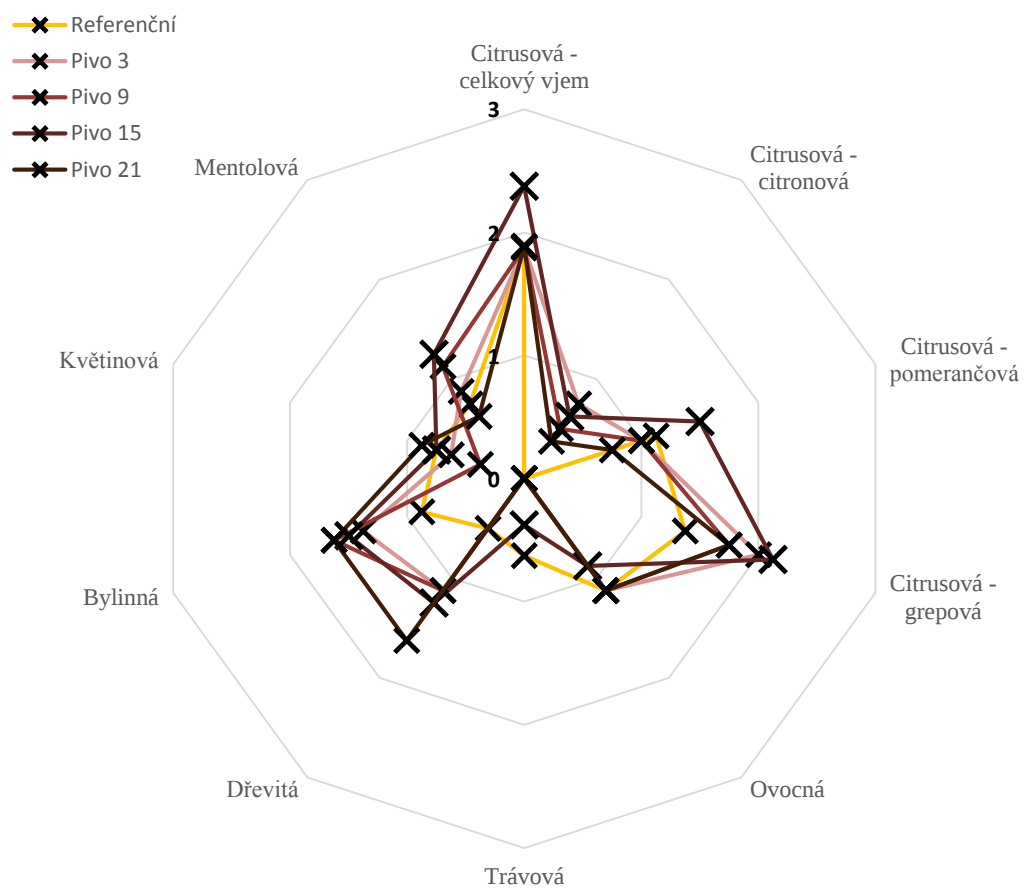
- Podle americké studie z roku 2016 zvýšení pH koreluje se sensorikou vnímanou hořkostí, informace byla zjištěna na základě porovnání se vzorkem obohaceným o kyselinou sírovou. [45]

4.2.4 Charakteristika chutí a vůní chmelových silic

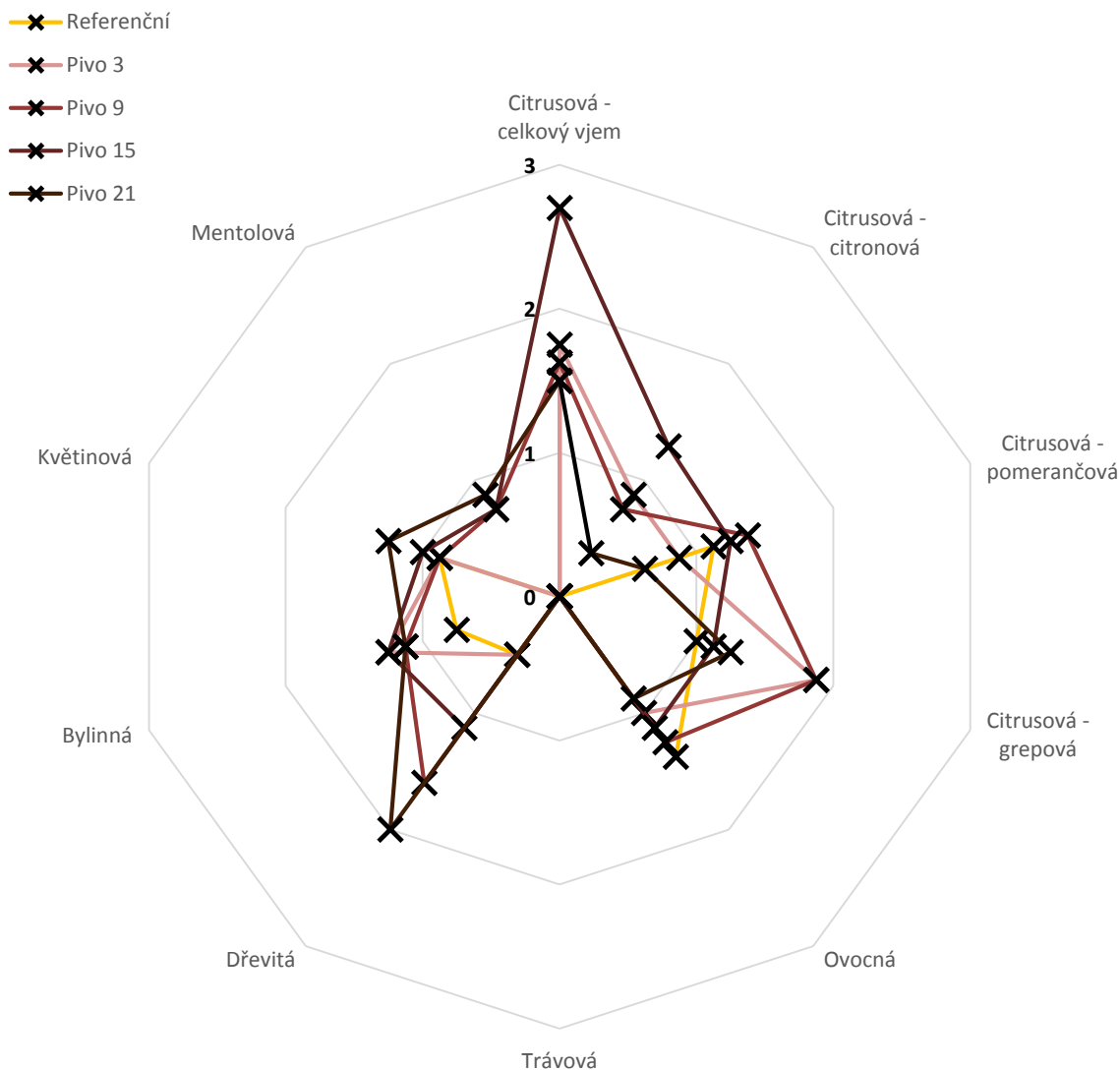
Pokud byl parametr hodnocen třemi a méně hodnotiteli, byl do grafů zaznamenán jako nulová hodnota. Zdrojová data a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.2.

4.2.4.1 Hvězdicový graf

Hvězdicové grafy chutí a vůní byly sestaveny z analýz Piva I, ve výsledcích Piva II se projevilo více rušivých vlivů. Grafy vyobrazují charakteristický profil civa chmeleného za studena chmelem Cascade.



Graf 19: Zjištěný profil vůní čerstvého piva chmeleného zastudena chmelem Cascade..



Graf 20: Zjištěný profil chutí čerstvého piva chmeleného zastudena chmelem Cascade..

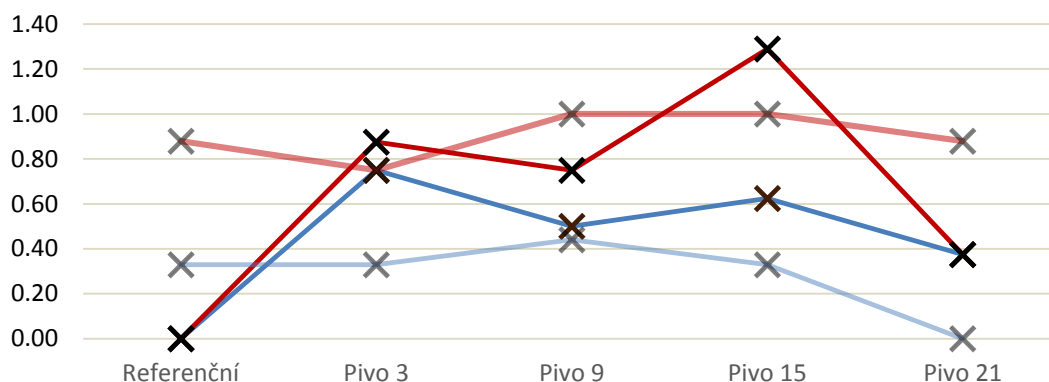
- Graf chutí vzorků se jeví více zaoblený, chutě byly hodnoceny jako pestřejší než vůně.
- Bylinná, citronová a grepová, vůně výrazně stouply se studeným chmelením. Po chuti byly studeným chmelením zvýrazněny chutě citronová a bylinná.
- Na vůni jsou nejintenzivnější celková citrusová, grepová a dřevitá, na chuti se přidává bylinná a dřevitá.

4.2.4.2 Vyobrazení výsledků jednotlivých chutí a vůní

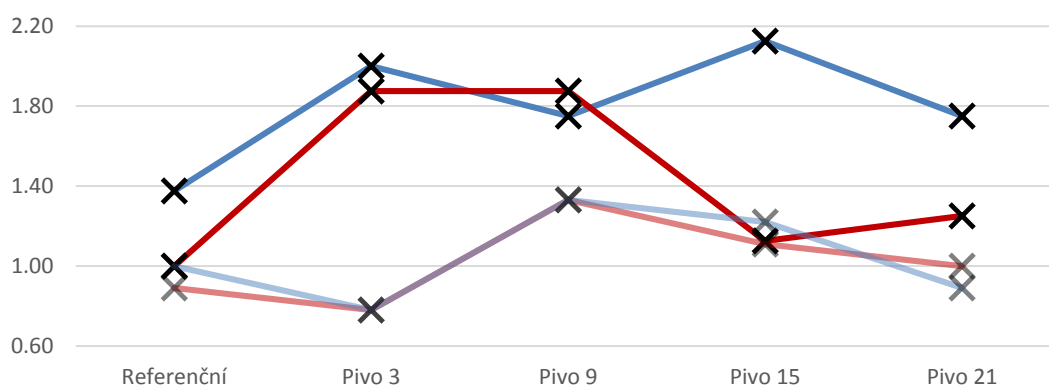
Grafy obsahující u jednoho z osmi deskriptorů chuť i vůni v obou dobách analýzy vykazují několik jevů, které jsou zde popsány, a ke kterým je uveden názorný příklad z naměřených výsledků. Ostatní výsledky a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce v příloze 7.2.

- Chutě a vůně Piva I byly hodnoceny výrazněji než vzorky Piva II.
- V Pivu I jsou znatelné dva trendy v řadě od referenčního vzorku po Pivo 21. Druhý trend vykazuje postupný nárůst také, ovšem nejintenzivněji bylo hodnoceno Pivo

9 nebo 15, následující vzorky už se jevily jako méně intenzivní. Tento trend vykazují více ovocné chutě a vůně, například všechny citrusové.

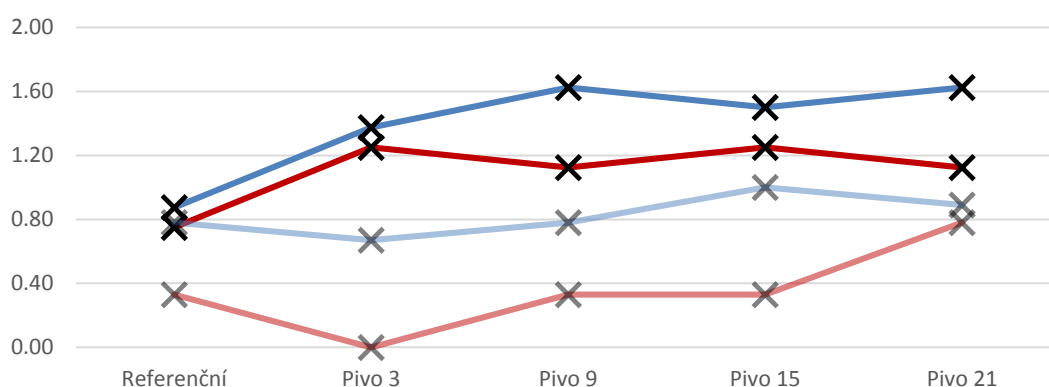


Graf 21: Citrusová - citronová, Modrá chuť, hnědá vůně, I sytá, II světlá



Graf 21: Citrusová - grepová, Modrá chuť, hnědá vůně, I sytá, II světlá

- Květinová a zemitější chutě a vůně, například dřevitá a bylinná jeví postupný nárůst intenzity chuti a vůně společně s délkou studeného chmelení, Pivo II je u těchto deskriptorů spíše slabší oproti Pivu I.

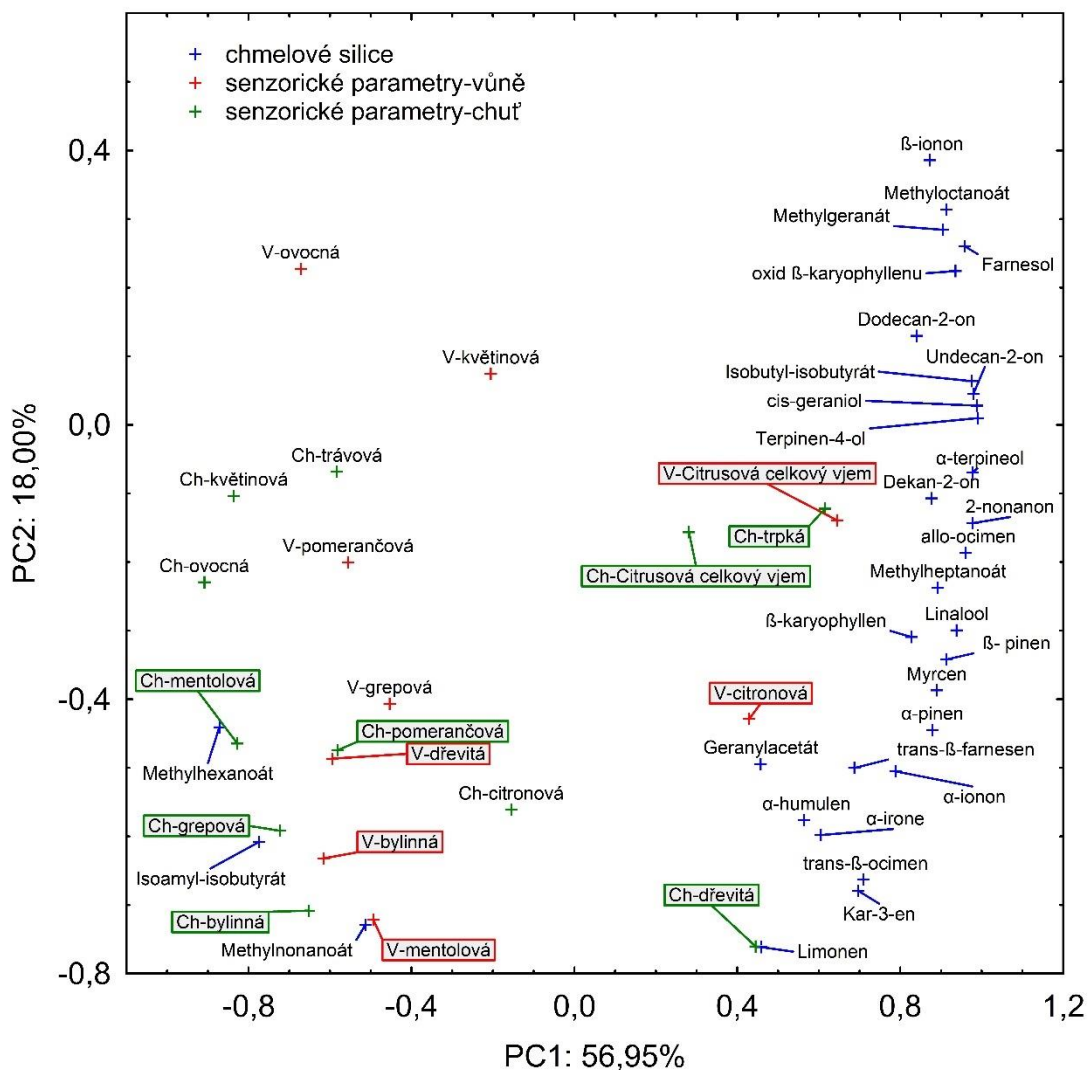


Graf 22: Bylinná, Modrá chuť, hnědá vůně, I sytá, II světlá

4.2.4.3 Porovnání výsledků senzomického a senzorického stanovení

Silice a další těkavé látky analyticky ve vzorcích narůstají s delším časem studeného chmelení. U posledního vzorku ovšem u části parametrů ustupuje intenzita vjemu, tento jev je popsán termínem maskování.

Vyobrazení pomocí analýzy hlavních komponent



Graf 23: PCA graf

- Celkový vjem citrusových chutí a vůní a citronová vůně byly určitým způsobem spřaženy s většinou chmelových silic.
- Vůně bylinná, mentolová, dřevitá a grepová a chutě bylinná, pomerančová a mentolová byly sdružené spíše s estery, jako jsou isoamyl-iso-butyrate, methylhexanoát nebo ethylnonanoát.
- U ostatních chutí a vůní nebyla nalezena korelace se stanovovanými látkami.

5 Závěr

Cílem diplomové práce bylo analyzovat přídavek chmele do svrchně kvašeného piva ve formě studeného chmelení. Komerční produkt byl upraven studeným chmelením s různou dobou kontaktu piva a chmele v průběhu studeného chmelení.

Experimentální část je zaměřena na senzorickou a senzomickou analýzu. Dále byly provedeny základní analýzy extraktu, stupně prokvašení a obsah alkoholu a také byly stanoveny vybrané kontaminující kovy a dusičnany. Pro analýzu bylo vybráno pivo Cascade IPA a chmel Cascade Pelety 100.

Nefiltrované pivo dozrávalo 2 měsíce při teplotě 0 °C. Obsah alkoholu stoupl v průměru o 1,5 % a úměrně tomu klesl obsah extraktu sladu a zvýšil se stupeň prokvašení. Dusičnany obsažené ve chmelu se v pivu velmi snadno rozpouští.

Experimentálně bylo prokázáno překročení doporučeného obsahu dusičnanů v pivu jak v referenčním nedochmeleném vzorku, tak v ostatních vzorcích. Doporučený limit dusičnanů pro pivo je 50 mg·l⁻¹. Tento limit byl překročen 3,5 až 4,5krát.

Závazný povolený limit dusičnanů ve chmelu je 11 g·kg⁻¹ a analýzou byl stanoven obsah 11,028 g·kg⁻¹, který ještě spadá do nejistoty měření. Chce-li sládek hodnotu doporučenou pro pivo dodržet, je třeba předem propočítat přídavek studeného chmelení nebo udělat kontrolní analýzy.

Dále byl stanoven celkový profil silic v pivu a kromě běžně používaných standardů byly nalezeny další látky stejných fyzikálně-chemických vlastností. Výsledky silic ve vzorcích piva byly porovnány analýzou shluku. Koncentrace většiny silic za dva měsíce ležení poklesla, avšak tři látky isoamyl-isobutyřát, methylhexanoát a methylnonanoát vykazovaly opačný trend a jejich koncentrace se zvýšila.

Byla provedena analýza vybraných karbonylových sloučenin. V průběhu ležení výrazně stoupl obsah 3-methylbutan-2-onu o 56 – 123 % původní hodnoty a ostatní karbonylové sloučeniny vykazovaly nárůst nebo pokles na 50 % hodnoty v čerstvém pivě.

Délka studeného chmelení mezi 15 a 21 dní už nemá po senzorické stránce pozitivní vliv na ovocná aromata chmele, naopak vystupují aromata zemitější. Rovněž u starších vzorků piv bylo prokázáno více negativních deskriptorů, než u čerstvě dochmelených vzorků.

Některé výsledky a jevy v nich se nepodařily dostatečně průkazně porovnat s dostupnou literaturou. Současný stav odborné literatury v oblasti svrchně kvašeného a studeně chmeleného piva je v našich podmínkách hůře dostupné, než literatura pojednávající o klasických českých ležácích.

Při stáčení piva k dochmelování je vhodné pivo vážit a ne měřit objemově, kvůli přesnější koncentraci chmele. Oproti referenčnímu vzorku stoupl pH ve vzorcích piva po dochmelení o 0,13 stupně.

Navazující studie na VÚPS bude studovat kinetiku přechodu jednotlivých silic do piva při dynamickém studeném chmelení. Cílem bude zefektivnit studené chmelení (dávka chmele, čas ležení s chmelem). Vzorky budou hodnoceny chemickou a senzorickou

analýzou se zaměřením na změny senzorického charakteru během stárnutí piva. Dalším námětem pro budoucí práce je optimalizace stanovení dusičnanů v pivu, protože u vyzrálých vzorků piva byly naměřeny hodnoty iso- α -hořkých kyselin výrazně vyšší než u čerstvého piva.

Dej Bůh štěstí!

6 Bibliografie

- [1] Quantitative Sensomics Profiling of Hop-Derived Bitter Compounds Throughout a Full-Scale Beer Manufacturing Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Münster: American Chemical Society, 2010, 58(13), 7930–7939. DOI: 10.1021/jf101326v. ISSN 0021-8561.
- [2] TOELSTED, Simone a Thomas HOFMANN. Sensomics Mapping and Identification of the Key Bitter Metabolites in Gouda Cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Freising, 2008, 56(8), 2795-2804. DOI: 10.1021/jf7036533. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf7036533>
- [3] EA-4/09 G:2017: Akreditace laboratoří působících v oblasti senzorického zkoušení: Dokument doplňující EN/ISO/EIC 17025. Praha: Český institut pro akreditaci, 2018. b.r.
- [4] Označování piva. Bezpečnost potravin: Informační centrum bezpečnosti potravin [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství [cit. 2018-03-31]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92077.aspx>
- [5] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 335/1997 Sb., kterou se provádí §18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí. In: *Sbírka zákonů Česká Republika*. 1997, ročník 1997, číslo 335.
- [6] BASAŘOVÁ, Gabriela, V. Psota, J. Šavel, P. Basař, R. Paulů, K. Kosař, P. Dostálek a kol. *Sladařství: teorie a praxe výroby sladu*. Praha: Havlíček Brain Team, 2015. ISBN 978-80-87109-47-2.
- [7] Slad plzeňský český 10 kg: Plzeňský (český) slad. *Sladovna Záhlinice. Pivotéka.cz* [online]. [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.pivoteka.cz/slad-plzensky-cesky-10kg-spl110>
- [8] Světlé slady / Plzeňský slad. *Sladovna Klusáček: Kounice* [online]. Kounice, b.r. [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: http://eshop.sladovna-kounice.cz/Plzensky-slad-c2_4_2.htm
- [9] Slad vídeňský 1 kg: Vídeňský slad Záhlinice. *Pivotéka.cz* [online]. [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.pivoteka.cz/slad-vidensky-1kg-sv15>
- [10] WEYERMANN MALT: ORIGINAL SUPERB BAVARIAN AND BOHEMIAN TWO-ROW MALTS. In: *Weyermann* [online]. b.r. [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: https://www.weyermann.de/downloads/eng/Weyermann_Product_Information_GB_05_2017.pdf
- [11] Carabelge. *Sladovna Klusáček: Kounice* [online]. [cit. 2018-04-19]. Dostupné z: <http://eshop.sladovna-kounice.cz/Carabelge-d147.htm> [online]

- [12] WEYERMANN® MALT: ORIGINAL SUPERB BAVARIAN AND BOHEMIAN TWO-ROW MALTS. In: *Weyermann* [online]. 2017-05 [cit. 2018-05-06]. Dostupné z: https://www.weyermann.de/downloads/eng/Weyerman_Product_Information_GB_05_2017.pdf
- [13] BASAŘOVÁ, Gabriela, Jan ŠAVEL, Petr BASAŘ a Tomáš LEJSEK. *Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva*. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2010. ISBN 987-80-7080-734-7.
- [14] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. In: *Sbírka zákonů Česká republika*. 2004, číslo 252.
- [15] NARZISS, L. *Die Technologie der Würzebereitung*. 6. Aufl. Stuttgart: Enke, 1985. ISBN 34-328-5006-9.
- [16] BURGESS, A. H. *Hops*. New York: Interscience Publishers Inc., 1964. 300 s. b.r.
- [17] POLLOCK, James Richard Allan. VOL. 2. *Brewing science*. London: Academic Press, 1981. ISBN 01-256-1002-5.
- [18] RYBÁČEK, V. (1980). *Chmelářství*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství.
- [19] BASAŘOVÁ, Gabriela, Jaroslav ČEPIČKA, Alice DOLEŽALOVÁ, Miroslav KAHLER, Jan KUBÍČEK, Michaela POLEDNÍKOVÁ a Jan VOBORSKÝ. *PIVOVARSKO-SLADARSKÁ ANALYTIKA /3/*. Praha: MERKANTA, 1993.
- [20] VERZELE, M. 100 years of hop chemistry and its relevance to brewing. *Journal of the Institute of Brewing*. 1986, 92(1), 32-48.
- [21] HOUGH, J., D. BRIGGS, R. STEVENS a T. YOUNG. *Malting and Brewing Science*. 2. Londýn: Chapman&Hall, 1982. ISBN 0-12-165902.
- [22] TRESSL, Roland, Lothar FRIESE, Friedrich FENDESACK, and Hans KOEPLER. Studies of the volatile composition of hops during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26, no. 6 (1978): 1426-1430.
- [23] Myrcene: Compound Summary for CID 31253. *PubChem: Open CHemistry Database* [online]. Washington, USA: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/myrcene#section=Top>
- [24] Farnesol: Compound Summary for CID 445070. *PubChem: Open Chemistry Database* [online]. Washington, USA: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/farnesol#section=Top>
- [25] Linalool: Compound Summary for CID 6549. *PubChem: Open Chemistry Database* [online]. Washington, USA: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6549#section=Top>

- [26] Carabelge. *Sladovna Klusáček*: Kounice [online], [cit, 2018-05-04]. Dostupné z: <http://eshop.sladovna-kounice.cz/Carabelge-d147.htm>
- [27] BURSOVÁ, Šárka, Lenka NECIDOVÁ a Marta DUŠKOVÁ. *Mikrobiologie potravin a mikrobiologické laboratorní metody*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, 114 s. ISBN 978-80-7305-741-1.
- [28] PIVOVARSKÉ KVASNICE SAFALE US-05. *Pivotéka.cz* [online]. Olomouc: Pivotéka.cz, 2018 [cit. 2018-05-07]. Dostupné z: <https://www.pivoteka.cz/kvasnice-safale-us-05-svrchni-160222>
- [29] Kvasnice – Safale US-05. *Svoboda Fraňková spol. s.r.o.* [online]. Žatec: Svoboda Fraňková spol. s.r.o., 2018 [cit. 2018-05-07]. Dostupné z: <https://www.svoboda-frankova.cz/dalsi-produkty/susene-kvasnice/safale-us-05/>
- [30] NOVOTNÝ, Petr, Radek MICHEL a Jiří VALA. *Pivařka: Tajemství domácího pivovarství*. 1. Brno: Jota, 2017. ISBN 978-80-7565-108-2.
- [31] OLŠOVSKÁ, Jana, ŠTĚRBA, Karel ŠTĚRBA, Martin SLABÝ a František FRANTÍK, Ladislava SOUKUPOVÁ, ed., Iva SKŘIVÁNKOVÁ. *Senzorická analýza piva*. První. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., 2017. ISBN 978-80-86576-74-9.
- [32] VELÍŠEK. Jan, *Chemie potravin* 2. 1. vyd. Tábor: OSSIS. 1999. ISBN 80-902391-4-5.
- [33] Lead: Laboratory Chemical Safety Summary for CID 5352425. *PubChem: Open Chemistry Database* [online]. Washington, USA: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23931#datasheet=lcss&ion=Top>
- [34] Cadmium: Laboratory Chemical Safety Summary for CID 23973. *PubChem: Open Chemistry Database* [online]. Washington, USA: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cadmium#datasheet=lcss&ion=Top>
- [35] Mercury: Laboratory Chemical Safety Summary for CID 23931. *PubChem: Open Chemistry Database* [online]. Washington, USA: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23931#datasheet=lcss&ion=Top>
- [36] 4-Hydroxybutylbutylnitrosamine: Laboratory Chemical Safety Summary for CID 19665. *PubChem: Open Chemistry Database* [online]. Washington, USA: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/19665#datasheet=lcss§ion=Top>

- [37] [CONTRIBUTIONS BY S. AASTRUP ... ET AL.], . *Proceedings of the 28th EBC congress, Budapest 2001*. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, 2001. ISBN 9070143216.
- [38] OLŠOVSKÁ, J., K. ŠTĚRBA, T. VRZAL a M. JURKOVÁ. Senzorické stárnutí piva. *Kvasný průmysl*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2016, 2016(62), 250-258. DOI: 10.18832/kp2016027. ISSN 2570-8619.
- [39] VANDERHAEGEN, B., H. NEVEN, H. VERACHTERT a G. DERDELINCKX. The Chemistry of Beer Aging - a critical review. *Food Chemistry*. Heverlee: Elsevier, 2005, 2005(95), 358-381. ISSN 0308-8146.
- [40] Magnum. *Sladovna Klusáček*: Kounice [online]. [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: <http://eshop.sladovna-kounice.cz/Magnum-100g-d306.htm> [online].
- [41] Cascade. *Sladovna Klusáček*: Kounice [online]. [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: <http://eshop.sladovna-kounice.cz/Cascade-100g-d173.htm> [online].
- [42] ČSN EN ISO 8589:2007 (560036). *Senzorická analýza: Obecné pokyny pro uspořádání senzorickisoého pracoviště*. 2. Praha: Český normalizační institut, 2008.
- [43] EBC ANALYSIS COMMITTEE. *Analytica-EBC*. Norimberk: Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag, 2003. ISBN 978-341-8007-595.
- [44] ČEJKA, P. a V. KELLNER. *Stanovení pH potenciometricky*. 3. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2013, 3 s. Soubor SOP pro akreditované zkoušky. SD 17 - SOP 5.
- [45] ČEJKA, P. a V. KELLNER. *Stanovení extraktu zdánlivého a skutečného, relativní hustoty, alkoholu, prokvašení zdánlivého a skutečného a původního extraktu piva metodou denzitometrickou a NIR a energetické hodnoty výpočtem z naměřených hodnot*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2013, 6 s. Soubor SOP pro akreditované zkoušky. SD 17 - SOP 2.
- [46] *Instruction Manual DMA 4500/5000: Density/Specific Gravity/Concentration Meter Software Version: V5.012.c* [online]. Graz: Anton Paar, 2005 [cit. 2018-04-01]. Číslo dokumentu: XDLIB07Q.fm. Dostupné z: https://archive-resources.coleparmer.com/Manual_pdfs/DMA4500.pdf
- [47] ČESKÁ REPUBLIKA. *Vyhláška č. 468/2003 Sb., o stanovení vzorce pro výpočet extraktu původní mladiny před zakvašením a metodách určení extraktu původní mladiny*. In: . Praha, 2003, ročník 2003, číslo 468.
- [48] ČSN 56 0186-6: *Metody zkoušení piva. Stanovení skutečného extraktu a výpočet konvenčního extraktu původní mladiny*. Praha, 1986.
- [49] ČSN 560186 – 5. *Metody zkoušení piva. Stanovení alkoholu*. Praha, 2012.
- [50] ČEJKA, Pavel a Jana OLŠOVSKÁ. *Stanovení dosažitelného prokvašení*. 2. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2013, 4 s. Soubor SOP pro akreditované zkoušky. SD 17 - SOP 22. b.r.

- [51] ČEJKA, Pavel a Vladimír KELLNER. *Stanovení hořkých látek spektrofotometricky*. 5. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2013, 3 s. Soubor SOP pro akreditované zkoušky. SD 17 - SOP 3.
- [52] PERKAMPUS, Heinz-Helmut. *UV-VIS spectroscopy and its applications*. 1st ed. Berlin: Springer, 1992. Springer laboratory.
- [53] NOVÁKOVÁ, L. a M. DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 978-80-260-4243-3
- [54] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie II*. Vyd. 1. V Brně: Vutium, 2000, 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [55] ČÁSLAVSKÝ, Josef. *Hmotnostní spektrometrie*. FCH VUT Brno, 2016. b.r.
- [56] NAURATO, Nicholas, Peggy WONG, Ying LU, Karol WROBLEWSKI, and Anders BENNICK. "Interaction of tannin with human salivary histatins." *Journal of agricultural and food chemistry* 47, no. 6 (1999): 2229-2234. b.r.
- [57] NARZISS, L. *Der Einfluss de Keimungsfaktoren auf den Ablauf des Malzungsprocesses und die Quality der Malze*. Proceedings of the 12th EBC Congress, Interlaken 1969. Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1970, s. 77-98.
- [58] NARZISS, L. *Die Technologie der Malzbereitung*. 6. Auflage. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1976. ISBN 3-432-85006-9.
- [59] MUNOZ, A., C. SCHONBERGER, E. WIESSEN, M. ZUNKEL a M. DREXLER. *Sensory Training for Hops and Hop Intensive Beers - Let's speak One Language*. 12 th Trends in Brewing. Gent., 2016.
- [60] FRANTÍK, František. *Stanovení Hg pomocí jednoúčelového analyzátoru rtuti v nápojích a surovinách*. 4. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2013, 3 s. Soubor SOP pro akreditované zkoušky. SD 17 - SOP 15.
- [61] JURKOVÁ, Marie. *Stanovení dusičnanů v nápojích a surovinách metodou HPLC-UV*: Soubor SOP pro akreditované zkoušky. 4. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2013. ISBN SD 17 - SOP 11.
- [62] ČULÍK, Jiří a Tomáš HORÁK. *Karbynyly GC-MS - polární kolona*. 2. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2010, 9 s. Neakreditovaná metoda - AZL - PÚ. CG-MS 1.
- [63] JURKOVÁ, Marie. *Isomery Iso-alfa kyselin v pivu a v mladínách*: 1. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. 2011. 4 s. Neakreditovaná metoda – č. 4.
- [64] ČULÍK, Jiří a Karel ŠTĚRBA. *Silice ve chmelu GC-MS - polární kolona*. 2. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2014, 9 s. Neakreditovaná metoda - AZL - PÚ. CG-MS 3.
- [65] *Silice v pivu GC-MS – polární kolona*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. 1 s. Neakreditovaná metoda.

- [66] HENDL, J. *Přehled statistických metod: Analýza a metaanalýza dat*. 4. Praha: Portál, 2012. ISBN 978-80-262-0200-4.
- [67] *Senzorická zkouška*. 2. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. 2016. 19 s. Soubor SOP pro akreditované zkoušky. SD 17 - SOP 25.
- [68] HIERONYMUS, Stan. Cascade – a study in hop terroir. In: *Appellation Beer: celebrating beer from a place* [online]. *Appellation Beer*, 2018, 28.2.2015 [cit. 2018-04-19]. Dostupné z: <http://appellationbeer.com/blog/cascade-a-study-in-hop-terroir/>
- [69] FORSTER, A. a A. GAHR. On the Fate of Certain Hop Substances during Dry Hopping. *Brewing Science*. Hopfenveredlung St Johann GmbH, 2013, 2013(66), 93-103. ISSN 2050-0416.
- [70] MAYE, John, Robert SMITH a Jeremy LEKER. Humulinone Formation in Hops and Hop Pellets and Its Implications for Dry Hopped Beers. *Technical Quarterly*. New York, USA, 2016, 2016(1), 1-6.
- [71] KROFTA, Karel. Výskyt vybraných těžkých kovů ve chmelu. *Kvasný průmysl*. 1994, 40(11), 330-333.
- [72] *Všeobecné požadavky na systém analýzy nebezpečí a stanovení kritických kontrolních bodů (HACCP) a podmínky pro jeho certifikaci: Dokument doplňující EN/ISO/EIC 17025*. Praha: Ministerstvo zemědělství: Sekce potravinářských výrob - Úřad pro potraviny, 2010. ISBN Čj.: 18559/2010-17000.
- [73] ČSN EN ISO 9001:2016 (01 0321). *Systémy managementu jakosti - Požadavky*. 5. Praha: Český normalizační úřad, 2016.
- [74] PARKIN, Ellen a Thomas SHELLHAMMER. Toward Understanding the Bitterness of Dry-Hopped Beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* Corvallis: Oregon State University, 2017, , 363-369. DOI: 10.1094/ASBCJ-2017-4311-01.
- [75] SHELLHAMMER, Thomas. *Influence of Hop Oil Content and Composition on Hop Aroma Intensity in Dry-Hopped Beer*. 2016. DOI: doi.org/10.1094/ASBCJ-2016-4123-01.
- [76] PEACOCK, Val. Chemistry of Hop Aroma in Beer. *ASBC Journal: Department of Agricultural chemistry*. 1981, 39(4).

Seznam použitých zkratk

- AAS – atomová absorpční spektrometrie
- AIPA – American Indian Pale Ale; Americká varianta IPA
- ČSN – Česká státní norma
- EBC – European Brewery Convention; Evropská pivovarská konvence
- EN ISO (norma) – Mezinárodní evropská norma
- GC-MS – plynová chromatografi s hmotnostním spektrometrem
- HACCP – mezinárodní potravinářská hygienická norma
- HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
- IBU – mezinárodní jednotka hořkosti
- KTJ – je kolonie tvořící jednotku
- MH – mezní hodnota
- NMH – je nejvyšší mezní hodnota
- PFBOA·HCl – hydrochlorid *o*-(2,3,4,5,6-pentafluorbenzyl)hydroxylaminu
- UV – ultrafialové záření
- VÚPS – Výzkumný ústav pivovarský a sladařský

7 Přílohy

7.1 Chemická analýza

Tabulka 23: Naměřené hodnoty extraktu původní mladiny, extraktu zdánlivého a skutečného

Parametr	Extrakt zdánlivý			Extrakt skutečný			Extrakt původní mladiny		
Jednotky	% hm,			% hm,			% hm,, stupně Plato		
Nejistota měření	0,02			0,06			0,06		
Hodnota / mez nejistoty	Hodnota	Dolní	Horní	Hodnota	Dolní	Horní	Hodnota	Dolní	Horní
Referenční I	3,58	3,56	3,60	6,06	6,00	6,12	16,50	16,44	16,56
Referenční II	3,09	3,07	3,11	5,59	5,53	5,65	16,11	16,05	16,17
Pivo 3 I	3,52	3,50	3,54	6,01	5,95	6,07	16,50	16,44	16,56
Pivo 3 II	3,17	3,15	3,19	5,68	5,62	5,74	16,27	16,21	16,33
Pivo 9 I	3,07	3,05	3,09	5,57	5,51	5,63	16,09	16,03	16,15
Pivo 9 II	3,01	2,99	3,03	5,54	5,48	5,60	16,22	16,16	16,28
Pivo 15 I	3,12	3,10	3,14	5,6	5,54	5,66	16,06	16,00	16,12
Pivo 15 II	2,85	2,83	2,87	5,39	5,33	5,45	16,09	16,03	16,15
Pivo 21 I	3,6	3,58	3,62	6,07	6,01	6,13	16,47	16,41	16,53
Pivo 21 II	3,13	3,11	3,15	5,63	5,57	5,69	16,19	16,13	16,25

Tabulka 24: Množství alkoholu ve vzorcích vyjádřené hmotnostním a objemovým procentem

Parametr	Alkohol hmotnostní [hmotnostní %]			Alkohol objemový [objemové %]		
Nejistota měření	0,04			0,05		
Hodnota / mez nejistoty	Hodnota	Dolní	Horní	Hodnota	Dolní	Horní
Referenční I	5,52	5,48	5,56	7,08	7,03	7,13
Referenční II	5,55	5,51	5,59	7,11	7,06	7,16
Pivo 3 I	5,55	5,51	5,59	7,12	7,07	7,17
Pivo 3 II	5,59	5,55	5,63	7,16	7,11	7,21
Pivo 9 I	5,55	5,51	5,59	7,11	7,06	7,16
Pivo 9 II	5,64	5,60	5,68	7,22	7,17	7,27
Pivo 15 I	5,52	5,48	5,56	7,06	7,01	7,11
Pivo 15 II	5,65	5,61	5,69	7,23	7,18	7,28
Pivo 21 I	5,50	5,46	5,54	7,05	7,00	7,10
Pivo 21 II	5,57	5,53	5,61	7,13	7,08	7,18

Tabulka 25: *Stupeň prokvašení zdánlivého a skutečného*

Parametr	Prokvašení zdánlivé [%]			Prokvašení skutečné [%]		
Nejistota měření	0,6			1,2		
Hodnota/mez nejistoty	Hodnota	Dolní	Horní	Hodnota	Dolní	Horní
Referenční vzorek I	78,30	77,70	78,90	63,28	62,08	64,48
Referenční vzorek II	80,8	80,20	81,40	65,3	64,10	66,50
Pivo 3 I	78,65	78,05	79,25	63,56	62,36	64,76
Pivo 3 II	80,5	79,90	81,10	65,1	63,90	66,30
Pivo 9 I	80,9	80,30	81,50	65,39	64,19	66,59
Pivo 9 II	81,5	80,90	82,10	65,9	64,70	67,10
Pivo 15 I	80,58	79,98	81,18	65,13	63,93	66,33
Pivo 15 II	82,3	81,70	82,90	66,5	65,30	67,70
Pivo 21 I	78,13	77,53	78,73	63,14	61,94	64,34
Pivo 21 II	80,7	80,10	81,30	65,2	64,00	66,40

Tabulka 15: *Naměřené hodnoty pH [stupně pH], nejistota měření je určena metodou na 0,05 stupně pH,*

Vzorek	Hodnota	Dolní mez nejistoty	Horní mez nejistoty
Referenční vzorek I	4,90	4,85	4,95
Referenční vzorek II	4,90	4,85	4,95
Pivo 3 I	5,02	4,97	5,07
Pivo 3 II	5,02	4,97	5,07
Pivo 9 I	5,03	4,98	5,08
Pivo 9 II	5,02	4,97	5,07
Pivo 15 I	5,04	4,99	5,09
Pivo 15 II	5,02	4,97	5,07
Pivo 21 I	5,00	4,95	5,05
Pivo 21 II	5,06	5,01	5,11

Tabulka 26: Výsledky obsahu hořkých kyselin ve všech vzorcích čerstvého a dva měsíce starého piva, Koncentrace látek jsou uvedeny v $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, Nejistota měření není vypočtena, neboť výsledky nejsou průkazné,

Vzorek	Kohumulon	n- a adhumulon	α -hořké kyseliny	Iso-kohumulon	iso-n-humulon	iso-adhumulon	iso- α -hořké kyseliny
Referenční I	4,35	4,26	8,61	7,29	17,85	0,13	25,27
Referenční II	4,19	4,27	8,46	16,14	17,04	4,56	37,74
Pivo 3 I	7,43	7,87	15,3	8,22	17,42	0,41	26,05
Pivo 3 II	7,07	6,49	13,56	15,75	15,46	4,22	35,43
Pivo 9 I	9,92	8,82	18,74	8,69	16,58	0,34	25,61
Pivo 9 II	7,91	8,19	16,1	14,54	13,24	3,7	31,48
Pivo 15 I	9,61	10,44	20,05	9,55	18,25	0,49	28,29
Pivo 15 II	9,34	9,15	18,49	16,18	15,06	4,13	35,37
Pivo 21 I	8,4	9,16	17,56	8,22	16,98	0,48	25,68
Pivo 21 II	9,26	9,74	19	15,42	14,35	3,98	33,75

7.2 Senzorická analýza

Tabulka 27: Hodnoty charakteru hořkosti ve chvíli polknutí a 40 s poté.

Vzorek	Parametr	0 s I	0 s II	40 s I	40 s II
Referenční	řezaný průměr	3,13	3,13	2,63	2,75
	Směrodatná odchylka	0,84	0,35	0,52	0,71
Pivo 3	řezaný průměr	3,00	3,25	2,63	2,88
	Směrodatná odchylka	0,76	0,46	0,52	0,35
Pivo 9	řezaný průměr	3,00	3,50	2,88	2,75
	Směrodatná odchylka	0,76	0,54	0,84	0,89
Pivo 15	řezaný průměr	3,00	3,25	2,75	2,88
	Směrodatná odchylka	0,76	0,46	0,46	0,35
Pivo 21	řezaný průměr	2,63	3,25	2,38	2,50
	Směrodatná odchylka	0,52	0,46	0,76	0,54

Tabulka 28: *Vývoj hořkosti v čase u všech vzorků I i II.*

čas (s)	Referenční I		Referenční II		Pivo 3 I		Pivo 3 II		Pivo 9 I		Pivo 9 II		Pivo 15 I		Pivo 15 II		Pivo 21 I		Pivo II	
	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka	řezaný průměr	směrodatná odchylka
-1	1,63	0,74	1,67	0,52	2,13	0,64	1,83	0,75	2,00	0,93	1,75	0,89	2,00	0,76	1,75	0,886	2,00	0,76	2,00	0,76
0	2,75	0,89	3,17	0,75	2,75	0,71	2,83	0,75	3,13	0,64	3,25	0,89	3,13	0,64	3,25	0,886	2,88	0,64	3,25	0,46
10	3,50	0,54	3,17	0,41	3,75	0,71	3,50	0,55	3,75	0,46	3,63	0,52	3,75	0,46	3,63	0,516	3,50	0,54	3,50	0,54
20	3,38	0,52	3,33	0,52	3,50	0,76	3,83	0,41	3,38	0,52	3,25	0,52	3,75	0,71	3,25	0,516	3,50	0,54	3,25	0,46
30	3,25	0,46	2,67	0,52	3,25	0,46	2,83	0,41	3,25	0,46	2,63	0,52	3,50	0,54	2,63	0,516	3,25	0,46	2,75	0,46
40	2,63	0,52	2,33	0,82	2,63	0,52	2,33	0,82	2,75	0,46	2,50	0,55	2,75	0,46	2,50	0,548	2,50	0,54	2,38	0,52
50	2,38	0,74	1,67	0,52	2,38	0,52	2,00	0,89	2,50	0,54	2,13	0,75	2,25	0,71	2,13	0,753	2,38	0,74	1,83	0,75
60	1,63	0,52	1,00	0,89	2,13	0,64	1,83	0,75	2,00	0,76	1,63	0,82	1,75	0,46	1,63	0,816	1,88	0,35	1,50	1,23
90	1,13	0,35	0,88	0,64	1,50	0,76	1,29	0,95	1,50	0,92	1,25	0,75	1,38	0,74	1,25	0,753	1,13	0,76	1,14	1,07
120	0,75	0,46	0,33	0,52	0,88	0,64	1,17	0,58	0,63	0,92	0,75	0,52	0,88	0,64	0,75	0,516	0,63	0,52	1,00	1,13

Tabulka 29: Základní parametry povinné

	Deskriptor	Referenční		Pivo 3		Pivo 9		Pivo 15		Pivo 21	
		Průměr	směrodatná odchylka	Průměr	směrodatná odchylka	Průměr	směrodatná odchylka	Průměr	směrodatná odchylka	Průměr	směrodatná odchylka
Pivo I	Říz	1,89	0,60	1,21	0,64	1,44	0,68	1,78	0,67	1,50	0,79
	Plnost	3,50	0,35	3,06	0,62	3,31	0,53	3,44	0,30	3,17	0,61
	hořká	2,78	0,51	3,19	0,26	3,00	0,65	2,67	0,61	2,56	0,46
	Hořkost - kulminace	3,67	0,56	4,00	0,27	3,94	0,62	3,61	0,42	3,44	0,53
	Hořkost - doznívání	2,56	0,53	2,94	0,82	2,88	0,79	2,44	0,39	2,28	0,51
	Hořkost - charakter	3,61	0,55	3,06	0,56	3,13	0,52	3,39	0,33	3,00	0,25
	trpkost	1,67	0,56	1,63	0,65	1,81	0,46	2,33	0,50	1,94	0,58
	Sladká	2,33	0,35	2,56	0,62	2,13	0,44	2,39	0,33	2,33	0,56
	Kyselá	1,50	0,79	1,19	0,58	1,25	0,58	1,83	0,56	1,50	0,50
	Vyváženost	2,61	0,70	2,19	0,26	2,25	0,27	2,56	0,46	2,44	0,30
	Obliba	5,67	1,62	4,63	1,19	4,75	1,16	5,39	1,17	5,72	0,94
	Celkový dojem	4,78	1,12	4,25	1,10	4,13	0,86	5,00	0,79	5,22	0,87
Pivo II	Říz	1,56	0,73	1,72	0,67	1,89	0,78	1,38	0,75	1,11	0,76
	Plnost	3,13	0,58	3,5	0,35	3,20	0,82	3,19	0,64	3,13	0,68
	hořká	3,06	0,56	2,94	0,38	2,61	0,96	3,13	0,44	3,00	0,58
	Hořkost - kulminace	3,81	0,59	3,67	0,66	3,44	0,73	3,81	0,75	3,81	0,79
	Hořkost - doznívání	2,69	0,80	2,61	0,42	2,28	0,75	2,88	0,64	2,69	0,70
	Hořkost - charakter	3,13	0,52	3,33	0,56	3,39	0,42	3,00	0,60	3,00	0,76
	trpkost	1,38	0,52	2,17	0,5	2,33	0,56	1,75	0,71	1,17	0,80
	Sladká	2,25	0,53	2,56	0,46	2,33	0,73	2,63	0,60	1,44	0,42
	Kyselá	1,31	0,42	1,5	0,79	1,61	0,56	1,19	0,53	2,56	0,62
	Vyváženost	2,31	0,37	2,5	0,5	2,56	0,51	2,13	0,23	2,31	0,37
	Obliba	4,63	1,13	5,72	1,2	5,67	1,00	4,25	0,70	4,56	0,46
	Celkový dojem	3,94	0,56	4,94	0,92	5,06	1,17	4,00	1,13	4,31	0,71

Tabulka 30: Pivo I silice. * m=ně než 3 hodnotitelé dali víc než 0

Deskriptory		Referenční I		Pivo 3 I		Pivo 9 I		Pivo 15 I		Pivo 21 I	
		Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka
Chuť	Citrusová - celkový vjem	1,88	0,64	1,88	0,64	1,88	0,83	2,38	0,92	1,89	0,60
	Citrusová - citronová	*	*	0,75	0,64	0,50	0,53	0,63	0,74	0,38	0,52
	Citrusová - pomerančová	1,13	0,83	1,00	0,93	1,00	0,53	1,50	0,53	0,75	0,93
	Citrusová - grepová	1,38	0,74	2,00	0,76	1,75	0,89	2,13	0,99	1,75	0,76
	Ovocná	1,13	0,99	1,13	0,76	1,13	0,71	0,88	0,64	1,13	0,64
	Trávová	0,63	0,52	*	*	*	*	0,38	0,52	*	
	Dřevitá	0,50	0,76	1,13	0,99	1,13	0,99	1,25	0,71	1,63	0,92
	Bylinná	0,88	0,83	1,38	0,52	1,63	0,52	1,50	0,53	1,63	0,92
	Květinová	0,75	0,71	0,63	0,52	0,38	0,52	0,75	0,52	0,88	0,64
	Mentolová	0,75	0,71	0,88	1,13	1,13	1,25	1,25	1,28	0,63	0,74
Vůně	Citrusová - celkový vjem	1,50	0,53	1,75	0,89	1,63	0,52	2,70	2,67	1,50	0,76
	Citrusová - citronová	*	*	0,88	0,83	0,75	0,71	1,29	1,77	0,38	0,52
	Citrusová - pomerančová	1,13	0,99	0,88	0,83	1,38	0,52	1,25	2,46		0,71
	Citrusová - grepová	1,00	0,53	1,88	0,83	1,88	0,64	1,13	0,64		0,46
	Ovocná	1,38	1,19	1,00	0,53	1,25	0,74	1,13	0,83	0,88	0,64
	Trávová	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0,74
	Dřevitá	0,50	0,76	0,50	0,74	1,60	0,71	1,13	0,83	2,00	1,07
	Bylinná	0,75	0,71	1,25	0,89	1,13	0,35	1,25	0,46	1,13	0,83
	Květinová	0,88	0,64	0,88	0,64	0,88	0,64	1,00	0,64	1,25	0,76
	Mentolová	*	0,46	0,00	0,33	0,75	0,89	0,75	1,04	0,88	0,89

Tabulka 31: Senzorické hodnocení silic v Pivu I silice. * méně než 3 hodnotitelé dali víc než 0

Deskriptory		Referenční II		Pivo 3 II		Pivo 9 II		Pivo 15 II		Pivo 21 II	
		Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka	Průměr	Směro- datná odchylka
Chuť	Citrusová - celkový vjem	1,89	0,93	2,25	0,46	2,50	0,53	2,38	0,52	1,63	3,09
	Citrusová - citronová	0,33	0,50	0,33	0,50	0,44	0,73	0,33	0,50	*	*
	Citrusová - pomerančová	0,44	0,73	0,56	0,73	0,67	0,87	0,56	0,73	0,67	0,71
	Citrusová - grepová	1,00	1,00	0,78	0,97	1,33	0,87	1,22	0,97	0,89	2,18
	Ovocná	0,38	0,50	0,56	0,73	0,56	0,88	0,44	0,73	0,33	1,39
	Trávová	*	-	*	-	*	-	*	*	*	-
	Dřevitá	0,88	0,83	0,88	1,07	1,38	0,92	1,50	0,93	1,50	2,56
	Bylinná	0,78	0,67	0,67	0,71	0,78	0,67	1,00	0,87	0,89	0,60
	Květinová	0,56	0,88	*	-	*	-	*	-	0,44	0,53
	Mentolová	*	-	*	-	*	-	*	-	0,56	0,88
Vůně	Citrusová - celkový vjem	2,50	0,76	1,89	1,05	2,75	0,71	2,63	0,74	2,38	0,74
	Citrusová - citronová	0,88	0,99	0,75	0,71	1,00	0,93	1,00	0,93	0,88	2,62
	Citrusová - pomerančová	0,56	0,73	1,00	0,87	0,56	0,88	0,44	0,73	0,88	1,13
	Citrusová - grepová	0,89	0,78	0,78	0,83	1,33	1,00	1,11	0,93	1,00	0,87
	Ovocná	1,00	1,00	1,38	0,52	0,67	0,87	0,67	0,87	1,13	0,83
	Trávová	*	-	*	-	*	-	*	*	*	-
	Dřevitá	0,50	0,76	0,63	0,52	*	*	0,67	0,87	0,56	0,88
	Bylinná	0,33	0,50	*	*	0,33	0,50	0,33	0,50	0,78	0,67
	Květinová	0,38	0,52	0,75	0,89	0,63	0,74	0,75	0,71	0,63	2,31
	Mentolová	*	-	*	-	*	-	*	*	*	-